

• 个案分析 •

苏黎世放线菌感染导致骶尾脓肿的临床分析*

张河林¹, 赵秀林², 尹卫国^{3△}, 罗 君¹

(1. 粤北人民医院检验科, 广东韶关 512026; 2. 粤北人民医院胃肠外科, 广东韶关 512026;
3. 广东省清远市人民医院检验科, 广东清远 511518)

关键词: 苏黎世放线菌; 骶尾脓肿; 药敏试验; 质谱仪
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2020. 16. 031 中图法分类号: R446. 5
文章编号: 1673-4130(2020)16-2046-03 文献标识码: C

放线菌病是一种罕见的侵袭性细菌性疾病, 已经被认识了一个多世纪, 由放线菌属细菌引起, 其致病微生物是一种定植于人的口腔、消化道和生殖道的厌氧或微需氧革兰阳性菌。尽管放线菌属细菌的毒性低, 但越来越多的放线菌被证实与感染相关, 衣氏放线菌被认为是这个家族中最常见的人类病原体^[1], 口腔颌面部、胸部和腹盆部位是最常见的感染部位。由苏黎世放线菌引起的骶尾脓肿却很少见, 笔者在 2019 年 6 月从 1 例急性骶尾炎患者的脓性分泌物中分离到 1 株苏黎世放线菌, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者为 15 岁在校女学生, 因“反复骶尾部肿痛 1 月余, 加重 5 d”入院。专科查体情况: 骶尾部见一大小约 5 cm×3 cm 的包块, 肤色潮红, 包块顶端见一脓点组织, 包块处触痛明显, 皮下包块与肛门无联系。用注射器抽取脓性分泌物约 10 mL 送微生物室检测。

1.2 真菌和细菌需氧培养 将标本分别接种于血平板、麦康凯琼脂平板和沙氏琼脂平板(郑州安图生物公司产品); 血平板和麦康凯琼脂平板置于 35℃ 含有 5% CO₂ 孵育箱中孵育过夜, 沙氏琼脂平板置于 28℃ 孵育箱中孵育过夜, 观察菌落生长情况。

1.3 细菌厌氧培养 用一次性 1 μL 接种环接种脓性分泌物标本于厌氧培养基后, 立即和厌氧产气袋及厌氧指示剂一起放入到厌氧培养袋(法国生物梅里埃公司产品)中并封口, 置于普通孵育箱中 35℃ 孵育过夜, 观察菌落生长情况。

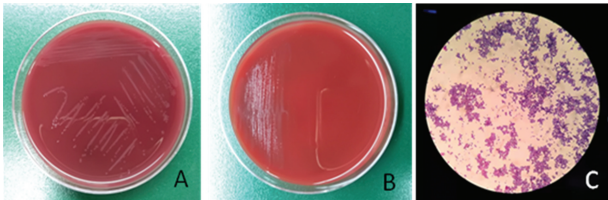
1.4 菌种鉴定 采用革兰染色法观察细菌形态, 应用德国布鲁克公司的质谱仪(Microflex LT MALDI-TOF MS)及其相关配套软件(MALDI Flex Control Analysis 和 MALDI Biotyper 3.0)进行蛋白质指纹图

谱采集和分析鉴定, 标本制备、检测及结果分析参照 Microflex LT MALDI-TOF MS 鉴定操作流程和标准化操作专家共识^[2]。

1.5 药敏试验及判断标准 采用微量肉汤稀释法检测青霉素 G、利奈唑胺、复方磺胺甲噁唑等 11 种抗菌药物的最小抑菌浓度(MIC)。按照冻干型细菌定量药敏测试盒(天津市金章科技发展有限公司)说明书操作, 将培养基置于普通孵育箱中 35℃ 孵育 24~48 h, 耐药结果在 24 h 后判读, 但对 β-内酰胺酶敏感的抗菌药物需要延长至 48 h。药敏折点参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)的 M45-A3 棒状杆菌判断标准^[3], 质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922(庆大霉素的质控菌株)和肺炎链球菌 ATCC 49619。

2 结 果

2.1 菌落及镜下形态 过夜培养后厌氧培养平板上可见直径约 1 mm 大小、灰白色、凸起、湿润的单一菌落, 需氧培养生长速度相对较慢, 菌落相对干燥, 且比较小(约 0.5 mm), 过氧化氢酶阴性, 涂片染色为革兰阳性杆菌。见图 1。



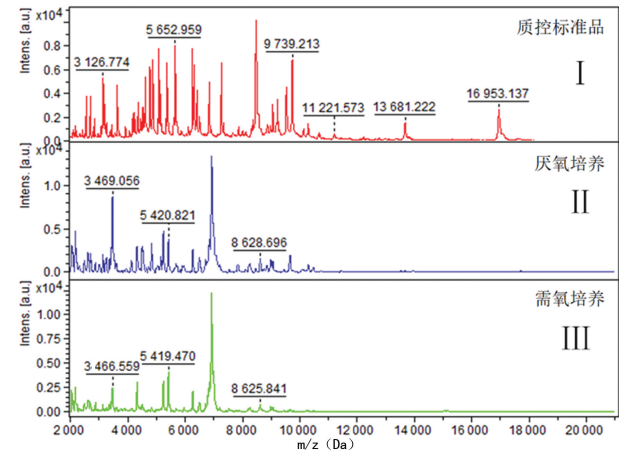
注: A 为厌氧环境; B 为普通环境; C 为显微镜下可见革兰染色阳性杆菌(油镜×1 000)。

图 1 血平板培养 24 h 及其革兰染色显微镜下所见图像

2.2 质谱仪鉴定 需氧培养和厌氧培养的两株菌经 Microflex LT MALDI-TOF MS 鉴定均为苏黎世放线菌(鉴定值分别为 2.163 和 2.278), 两株菌鉴定结果一致性分类均为 A, 但是从蛋白质指纹图谱中可以

* 基金项目: 广东省医学科研基金立项课题(B2019205); 广东省韶关市医药卫生科研计划项目(Y19047)。
△ 通信作者, E-mail: hyyinweiguo@hotmail. com。
本文引用格式: 张河林, 赵秀林, 尹卫国, 等. 苏黎世放线菌感染导致骶尾脓肿的临床分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(16): 2046-2048.

看出厌氧培养条件下菌株的蛋白质峰明显比需氧培养表达丰富,尤其是在 4 000~6 000 质荷比之间。蛋白质指纹图谱见图 2。



注:Ⅱ、Ⅲ为苏黎世放线菌;Ⅰ为质控标准品。

图 2 需氧和厌氧培养菌株的蛋白质指纹图谱

2.3 药敏试验 本次检出的苏黎世放线菌除了对克林霉素、庆大霉素、环丙沙星和复方磺胺甲噁唑耐药外,对青霉素 G、红霉素和头孢曲松等其他 6 种抗菌药物表现出较好的敏感性。质控菌株药敏试验均在控,结果见表 1。

表 1 苏黎世放线菌对常见抗菌药物的敏感性

抗菌药物	MIC(μg/mL)	药敏试验结果	质控菌株 MIC(μg/mL)
青霉素 G	0.030	S	0.25
头孢曲松	0.250	S	0.50
利奈唑胺	1.000	S	0.25
四环素	8.000	I	0.12
万古霉素	1.000	S	0.12
克林霉素	8.000	R	0.06
红霉素	0.125	S	0.03
庆大霉素	32.000	R	0.25*
环丙沙星	32.000	R	0.06
美罗培南	0.063	S	0.03
复方磺胺甲噁唑	320.000	R	10.00

注: * 庆大霉素的质控菌株为大肠埃希菌,编号 ATCC 25922,其余药物的质控菌株为肺炎链球菌,编号 ATCC 49619;S 为敏感;I 为中介;R 为耐药。

2.4 影像学检查 彩色多普勒超声显示,骶尾部肿痛处皮下见大小约 24 mm×16 mm 的以液性为主的混合声团,内见多个分隔光带回声,边界清,形态规则,内未见血流信号。彩色多普勒超声结果提示:骶尾部皮下混合性包块,透性差,囊肿? 性质待查。

3 讨论

骶尾脓肿是一种常见的直肠肛管周围组织及其间隙急性感染性疾病,常见于中青年人群,其发病因

素较为复杂,具体发病机制尚未完全阐明,临床表现主要为骶尾疼痛^[4]。现代医学认为,骶尾脓肿发病原因大部分是由非特异性的隐窝感染所致^[5]。本研究中患者骶尾部的体毛较多,目前学习压力大,抵抗力相对较差,长期以坐姿学习导致臀部和板凳之间的摩擦增多,促进局部感染和炎性反应的发生。苏黎世放线菌常定植于生殖道中,与骶尾部相邻近,增加了骶尾部感染的机会。苏黎世放线菌也可导致乳腺、卵巢、肺、脑、肝及各种软组织脓肿,甚至菌血症等^[6-9],且常伴有其他病原体感染,如脆弱拟杆菌、梭状梭菌和海氏嗜脓菌等^[7,10]。深部脏器放线菌病(肺脓肿、卵巢囊肿及肝脓肿等)在影像学方面常表现为恶性肿瘤的特征,甚至伴随着某些肿瘤标志物升高^[11-12],因此,常被误诊为恶性肿瘤。由于放线菌病具有非特异性的临床和影像学表现,因此,诊断具有挑战性。除了其比较罕见外,很难准确识别放线菌被认为是报告病例数量较少的主要原因。其他原因,如放线菌生长缓慢,经常在含有其他微生物的组织或体液中混合生长;经验性使用抗菌药物,抑制了多种菌感染中放线菌的生长;培养条件或培养时间不充分;生化鉴定系统的数据库有限,目前 3 种主流的生化鉴定卡中,有两种不能鉴定苏黎世放线菌等,导致苏黎世放线菌存在较高的培养失败率和鉴定错误率^[9]。因此,放线菌的存在很容易被临床医生和微生物检验技术人员忽视。

该患者在急性期因难以忍受坐姿学习时剧烈的骶尾痛而及时就诊,临床医生以正确的送检方式早期送检无菌手术标本,采用以快速准确著称的质谱技术进行临床微生物鉴定^[13],加上德国布鲁克的 Microflex LT MALDI-TOF MS 标准指纹图谱数据库中包含了苏黎世放线菌、麦氏放线菌等 31 种放线菌的指纹图谱等因素对最终的准确鉴定起到了很大帮助^[14]。苏黎世放线菌病的确诊比较困难,金标准还是细菌培养鉴定的方法,虽然病理组织学检测也可以确诊部分放线菌病,但主要是产硫磺颗粒的麦氏放线菌和衣氏放线菌,且不同菌株间病理组织学检测也有差异。马杜拉足肿菌及金黄色葡萄球菌等非放线菌微生物也可形成类似的颗粒,不产硫磺颗粒的放线菌不易与诺卡菌相鉴别,需要经验丰富的检验科技技术人员进行鉴别。随着粤北人民医院设备的更新和精准医疗的推进,2019 年 5 月粤北人民医院开始将 Microflex LT MALDI-TOF MS 用于临床菌株的快速鉴定,对少见细菌和真菌的鉴定能力有了很大的提升,为临床的早期诊断和治疗提供了可靠的依据,也为患者的治疗赢得了宝贵的时间。放线菌病是一种慢性疾病,虽然治疗并不困难,但不同放线菌对每种抗菌药物的敏感模式不一样,不同菌株间也有差异,通常

对 β -内酰胺类药物非常敏感,特别是青霉素 G 或阿莫西林。因此,青霉素 G 或阿莫西林被认为是治疗放线菌病的首选药物^[6]。当患者对青霉素类抗菌药物过敏时,可选用红霉素或克林霉素等其他抗菌药物,但有研究显示沙氏放线菌、欧洲放线菌及雷丁放线菌对红霉素和克林霉素不太敏感^[15]。另外,除了雷丁放线菌对环丙沙星较敏感以外,其他放线菌均表现出较高的耐药性^[16]。苏黎世放线菌对克林霉素的敏感度在 70% 左右^[15],但在本次研究中其对克林霉素耐药, MIC 值为 8.000 $\mu\text{g/mL}$,这与之前的报道相一致^[7]。由此可见,对于放线菌病的病原学鉴定及其药敏试验都非常必要,能为患者抗菌药物的选择及使用时间等个体化治疗提供可靠依据。放线菌不产生 β -内酰胺酶,不宜将阿莫西林与酶抑制剂(如克拉维酸)联合使用,除非涉及肠杆菌科细菌等混合感染。苏黎世放线菌虽然对甲硝唑耐药,但是建议治疗时与其联用,因为放线菌病常伴有其他厌氧菌感染。为了促进药物在脓肿和感染组织中的渗透,放线菌病患者常规疗法需要延长(6~12 个月)使用大剂量的青霉素 G 或阿莫西林。但最近的研究表明,更短的治疗时间就足够了,特别是在接受手术干预的情况下,抗菌治疗的持续时间可以缩短到 3 个月,甚至更短^[17]。本研究中的患者改用大剂量青霉素 G 800 万单位 q8 h 静滴 1 周,骶尾伤口愈合良好,且无脓性分泌物,出院后改用口服阿莫西林 0.5 g q8 h,截至本文完成还在随访中,无复发。

3 结 论

菌落及油镜下形态特点有助于临床微生物检验工作者对苏黎世放线菌的初步判断,而 Microflex LT MALDI-TOF MS 能够准确、快速地鉴定苏黎世放线菌。建议使用青霉素 G、头孢曲松等 β -内酰胺类抗菌药物作为治疗苏黎世放线菌病的首选药物。

参考文献

[1] TRISTAN F, FLORENT V, JUDITH K, et al. Actinomycosis: etiology, clinical features, diagnosis, treatment, and management[J]. Infect Drug Res, 2014, 7: 183-197.

[2] 胡继红, 马筱玲, 王辉, 等. MALDI-TOF MS 在临床微生物鉴定中的标准化操作专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(4): 241-249.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; M45 [S]. 3rd ed. Wayne, PA, USA: CLSI, 2016.

[4] 傅林平, 蔡敬泽, 潘学东, 等. 高位肛周脓肿患者切口感染病原学及炎症因子表达研究[J]. 中华医院感染学杂志,

2019, 29(14): 2181-2184.

[5] LEE E H, YANG H R, KIM J Y. Comparison of transperianal ultrasound with colonoscopy and magnetic resonance imaging in perianal Crohn disease [J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2018, 66(4): 614-619.

[6] FERNANDO C. Breast abscess due to Actinomyces turicensis in a non-puerperal woman [J]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2018, 36(6): 388-390.

[7] HAGIYA H, OGAWA H, TAKAHASHI Y, et al. Actinomyces turicensis bacteremia secondary to pyometra [J]. Int Med, 2015, 54(21): 2775-2777.

[8] 刘岩, 蒲增惠, 赵茂茂, 等. 耳廓苏黎世放线菌病首例报告及文献复习[J]. 中国感染控制杂志, 2019, 18(1): 85-88.

[9] KUNAL P, THERESE M D, JEFFREY M, et al. Actinomyces turicensis necrotizing soft-tissue infection of the thigh in a diabetic male [J]. Surg Infect, 2019, 20(5): 431-433.

[10] JNR G O, GATELEY C A. Primary actinomycosis of the breast caused by actinomyces turicensis with associated peptoniphilus harei [J]. Breast Dis, 2015, 35(1): 45-46.

[11] 吴春香, 少扬, 张小进. 放线菌性肝脓肿误诊为肝癌 1 例报告并文献复习[J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(8): 171-172.

[12] ONG C, BARNES S, SENANAYAKE S. Actinomyces turicensis infection mimicking ovarian tumour [J]. Singapore Med J, 2012, 53(1): e9-e11.

[13] YAMAMOTO S, TAKEGAWA H, TANIKE N, et al. Actinomycotic osteomyelitis of the mandible diagnosed using matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: a case report [J]. J Oral Maxillofac Surg, 2018, 76(10): 2122-2130.

[14] GARNER O, MOCHON A, BRANDA J, et al. Multi-centre evaluation of mass spectrometric identification of anaerobic bacteria using the VITEK® MS system [J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20(4): 335-339.

[15] STEININGER C, WILLINGER B. Resistance patterns in clinical isolates of pathogenic Actinomyces species [J]. J Antimicrob Chemother, 2016, 71(2): 422-427.

[16] BARBERIS C, BUDIA M, PALOMBARANI S, et al. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of actinomyces and related genera reveals an unusual clindamycin resistance among actinomyces urogenitalis strains [J]. J Glob Antimicrob Resist, 2017, 8: 115-120.

[17] CHOI J C, KOH W J, KIM T S, et al. Optimal duration of iv and oral antibiotics in the treatment of thoracic actinomycosis [J]. Chest, 2005, 128(4): 2211-2217.