

泌尿道解葡萄糖苷棒状杆菌的分离、鉴定和药敏分析^Δ

韦柳华*, 罗国兰, 李梦薇, 林盛张, 周格琛, 邹 燕(广西医科大学第四附属医院检验科, 广西柳州 545005)

中图分类号 R978.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)04-0496-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.04.16

摘要 目的:对临床分离的解葡萄糖苷棒状杆菌进行鉴定和药敏分析,为临床用药提供参考。方法:将从我院泌尿系统结石致尿路感染患者中段尿标本中分离得到的2株菌株接种至哥伦比亚血平板和麦康凯平板上,观察其生长情况并计数;采用基质辅助激光解析飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)检测菌株的蛋白质谱图;提取菌株DNA,采用聚合酶链反应扩增其16S核糖体RNA(rRNA)序列,对片段大小约为1 500 bp的目标条带进行双向测序,并与GenBank数据库进行Blast比对,鉴定菌种;采用Etest法监测2株菌株的耐药情况。结果:2株菌株在哥伦比亚血平板上生长(菌落数 $>10^5$ CFU/mL),在麦康凯平板上不生长;均为革兰氏阳性棒状杆菌,多呈栅栏样或八字形排列。MALDI-TOF-MS鉴定其均为解葡萄糖苷棒状杆菌,可信度为99.9%,在m/z 2 431、3 089、3 364、3 378、4 200、5 508、6 302、6 637、6 730、6 946、12 603处出现特征峰;Blast比对结果显示,2株菌株与GenBank中已知解葡萄糖苷棒状杆菌的序列同源性超过98%。药敏试验结果显示,菌株1对头孢曲松、环丙沙星耐药,对青霉素G等其他14种抗菌药物敏感;菌株2对头孢曲松、红霉素、环丙沙星、四环素、克林霉素耐药,对头孢噻肟中介,对其他10种抗菌药物敏感。结论:2株菌株均为解葡萄糖苷棒状杆菌,对常用抗菌药物的耐药性有所差异。该菌为罕见的泌尿道病原菌,且呈多重耐药,临床应根据菌株鉴定及药敏试验结果合理选用抗菌药物。

关键词 尿路感染;解葡萄糖苷棒状杆菌;基质辅助激光解析飞行时间质谱;鉴定;药敏试验

参考文献

- [1] 耿直. 观察性研究与混杂因素[J]. 统计与信息论坛, 2004, 19(5): 13-17.
- [2] 陈耀龙, 李幼平, 杜亮, 等. 医学研究中证据分级和推荐强度的演进[J]. 中国循证医学杂志, 2008, 8(2): 127-133.
- [3] BYAR DP, SIMON RM, FRIEDEWALD WT, et al. Randomized clinical trials: perspectives on some recent ideas [J]. *N Engl J Med*, 1976, 295(2): 74-80.
- [4] CONCATO J. Observational versus experimental studies: what's the evidence for a hierarchy? [J]. *NeuroRx*, 2004, 1(3): 341-347.
- [5] FLAY BR. Efficacy and effectiveness trials (and other phases of research) in the development of health promotion programs [J]. *Prev Med*, 1986, 15(5): 451-474.
- [6] 黄卓山, 罗艳婷, 刘金来. 真实世界研究的方法与实践 [J]. 循证医学, 2014, 14(6): 364-368.
- [7] 曹越, 尹庆锋, 曾宪涛. 真实世界研究概述[J]. 武警医学, 2017, 28(4): 400-403.
- [8] 徐菲, 刘国恩. 真实世界研究与药物经济学评价[J]. 中国药物经济学, 2015, 10(10): 8-10.
- [9] 李欣, 石文典. 内部效度、外部效度及其关系[J]. 心理研究, 2009, 2(1): 9-12.
- [10] TUNIS SR, STRYER DB, CLANCY CM. Practical clinical trials: increasing the value of clinical research for decision making in clinical and health policy [J]. *JAMA*, 2003, 290(12): 1624-1632.
- [11] MORTON SC, COSTLOW MR, GRAFF JS, et al. Standards and guidelines for observational studies: quality is in the eye of the beholder [J]. *J Clin Epidemiol*, 2016. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2015.10.014.
- [12] TOOTH L, WARE R, BAIN C, et al. Quality of reporting of observational longitudinal research [J]. *Am J Epidemiol*, 2005, 161(3): 280-288.
- [13] MOHER D, HOPEWELL S, SCHULZ KF, 等. CONSORT 2010 说明与详述: 报告平行对照随机临床试验指南的更新 [J]. 中西医结合学报, 2010, 8(8): 701-741.
- [14] DAVID M, KENNETH FS, DOUGLAS GA, 等. CONSORT 声明: 提高平行随机试验报告质量的修订建议 [J]. 中国循证医学杂志, 2005, 5(9): 702-707.
- [15] STROBE 声明: 队列研究报告写作清单①: 对文题、摘要、引言、方法的写作要求 [J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(22): 4000-4008.
- [16] 王波, 詹思延. 如何撰写高质量的流行病学研究论文第一讲: 观察性流行病学研究报告规范: STROBE 介绍 [J]. 中华流行病学杂志, 2006, 27(6): 547-549.
- [17] 曹卫华. 横断面研究在临床研究中的应用 [J]. 北京大学学报(医学版), 2010, 42(6): 659-660.
- [18] 韩梅, 陈薇, 曹卉娟, 等. 比较效果研究常用方法之二: 队列研究设计 [J]. 现代中医临床, 2015, 22(3): 20-23.
- [19] 于河, 李赞华, 刘建平. 观察性研究在中医临床研究中的应用: 2: 病例对照研究设计与报告 [J]. 中医杂志, 2008, 49(7): 598-601.
- [20] BENSON K, HARTZ AJ. A comparison of observational studies and randomized, controlled trials [J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(25): 1878-1886.
- [21] BERGER ML, DREYER N, ANDERSON F, et al. Prospective observational studies to assess comparative effectiveness: the ISPOR good research practices task force report [J]. *Value Health*, 2012, 15(2): 217-230.

^Δ 基金项目: 柳州市科学研究与技术开发计划项目(No.2014G020403)

* 副主任技师。研究方向: 病原微生物学。电话: 0772-3811217。E-mail: weiluhua2005@163.com

(收稿日期: 2017-03-17 修回日期: 2018-01-04)

(编辑: 陈 宏)

Isolation, Identification and Drug Sensitivity Analysis of *Corynebacterium glucuronolyticum* from Urinary Tract

WEI Lihua, LUO Guolan, LI Mengwei, LIN Shengzhang, ZHOU Gechen, ZOU Yan (Dept. of Laboratory, the Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi Liuzhou 545005, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To identify and analyze drug sensitivity of *Corynebacterium glucuronolyticum* isolated from clinic, and to provide reference for clinical drug use. METHODS: Two strains isolated from the urine specimens of urolithiasis-induced urinary tract infection patients in our hospital were inoculated into Columbia blood plate and the MacConkey plate. The growth of strains was observed and counted. Protein mass spectrometry of strains was detected by MALDI-TOF-MS. DNA of strains was extracted, and PCR was used to amplify the 16S ribosome RNA (rRNA) sequence. Bi-directional sequencing of 1 500 bp target bands was conducted. Blast comparison between it and GenBank database was conducted to identify bacterial strain. Drug resistance of 2 strains was monitored by Etest assay. RESULTS: Two strains grew on the Columbia blood plate (with colony forming unit $>10^5$ CFU/mL) and did not grow on the MacConkey plate. Two strains were Gram-positive *Corynebacterium* and showed palisading or eight type arrangement. Two strains were *C. glucuronolyticum* by MALDI-TOF-MS identification, with reliability of 99.9%. The characteristic peaks of m/z 2 431, 3 089, 3 364, 3 378, 4 200, 5 508, 6 302, 6 637, 6 730, 6 946, 12 603 appeared. Blast comparison showed that the sequence homology of 2 strains compared with *C. glucuronolyticum* strain known in GenBank were higher than 98%. Results of drug sensitivity test showed that strain 1 was resistant to ceftriaxone and ciprofloxacin, and sensitive to 14 other antibiotics as penicillin G; strain 2 was resistant to ceftriaxone, erythromycin, ciprofloxacin, tetracycline and clindamycin, moderately sensitive to cefotaxime, and sensitive to 10 other antibiotics. CONCLUSIONS: Two strains are *C. glucuronolyticum*, and drug resistance of them to commonly used antibiotics is different. The strains are rare pathogen of urinary tract and show multidrug resistance. Antibiotics should be selected according to the results of strain identification and drug sensitivity test.

KEYWORDS Urinary tract infection; *Corynebacterium glucuronolyticum*; MALDI-TOF-MS; Identification; Drug sensitivity test

棒状杆菌是革兰氏阳性、需氧或兼性厌氧杆菌, 常定植于人体皮肤和黏膜表面^[1]。虽然棒状杆菌可引起尿路感染, 但是由解葡萄糖苷棒状杆菌引发的感染极为罕见^[2-4]。解葡萄糖苷棒状杆菌生长缓慢, 容易漏检(尤其当检出量较小时), 且对多种抗菌药物耐药, 给临床诊断和治疗增加了难度^[5]。该菌可从有以下易感因素的患者的尿液中分离, 包括曾接受过泌尿系统手术、长时间留置导尿管、住院期间长期使用广谱抗菌药物、肾移植术后行免疫抑制剂治疗、发生全身炎症反应等^[6]。若患者出现排尿困难和血尿, 尤其是在肾移植或泌尿系统手术后, 建议进行解葡萄糖苷棒状杆菌筛查, 以排除其致泌尿道感染的可能, 以免延误诊断和治疗时机^[7]。本文以2例泌尿系统结石所致尿路感染患者中段尿中分离出的解葡萄糖苷棒状杆菌作为研究对象, 对其进行分离、鉴定和药敏试验, 以期为临床诊断和治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 菌株来源

2株菌株均是从2016年我院泌尿系统结石致尿路感染患者的中段尿标本中分离所得。

1.2 材料

哥伦比亚血平板、麦康凯平板[梅里埃(上海)生物制品有限公司, 批号分别为1004849840、1004820630]; 含5%羊血的M-H培养基(温州康泰生物科技有限公司, 批号: PD200365); VITEK MS型基质辅助激光解析

飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)仪、靶板(VITEK MS-DS)和基质液(VITEK MS-CHCA)以及质控菌株大肠埃希菌(ATCC 8739)均由法国生物梅里埃公司提供; ABI 7500型聚合酶链反应(PCR)仪(美国Applied Biosystems公司); TIANamp Bacteria DNA Kit细菌基因组DNA提取试剂盒(离心柱型, 北京天根生化科技有限公司); PCR反应相关试剂(包括引物、Taq mix等, 美国Thermo Scientific公司); 16S核糖体RNA(16S rRNA)引物合成由北京六合华大基因公司完成; Alphamager HP型凝胶成像系统(美国ProteinSimple公司); BX53型显微镜(日本奥林巴斯株式会社); Etest条由温州康泰生物科技有限公司提供。

1.3 细菌培养和计数

1.3.1 细菌培养 将尿液标本混匀, 用定量接种环取上述标本各10 μ L, 分别接种于哥伦比亚血平板和麦康凯平板中, 于35 $^{\circ}$ C下孵育24~48 h, 观察细菌生长情况。

1.3.2 细菌计数 统计平板上的菌落数, 将菌落数 $\times 10^2$ 计为每毫升尿液中所含的细菌数(CFU/mL); 若菌落生长过多无法精确计数, 则计为 $>10^5$ CFU/mL。细菌培养和计数按照《全国临床检验操作规程》(第4版)^[8]进行。

1.4 MALDI-TOF-MS鉴定

用1 μ L定量接种环将质控菌株涂布至靶板上的校准点位, 然后取待测菌株菌落1~2个, 涂布至靶板点位上, 每点位各加入基质液1 μ L, 室温干燥后放入MAL-

DI-TOF-MS 仪中,以获取待测菌株的全细胞蛋白质谱图;然后将待测菌株的质谱图 and 数据库已知菌种的质谱图进行比较,获得鉴定结果。结果判定参照 MALDI-TOF-MS 结果判断标准——结果可信度 >60%,仅有 1 个鉴定选项,为好的鉴定;可信度 >60%,但有 2~4 个鉴定选项,为低分辨率的鉴定,需要补充水解七叶苷试验^[9]予以区分;可信度 <60%;有 4 个以上鉴定选项或无鉴定选项,为不能鉴定。

1.5 16S rRNA 测序

按照 TIANamp Bacteria DNA Kit 细菌基因组 DNA 提取试剂盒操作说明书进行 DNA 提取,并对提取的 DNA 进行 PCR 扩增。PCR 正向引物 27F:5'-AGAGTTT-GATCMTGGCTCAG-3',反向引物 1492R:5'-TACGGY-TACCTTGTTACGACTT-3'。扩增体系含 2×Taq mix 15 μL、正向引物(10 μmol/L)2 μL、反向引物(10 μmol/L)2 μL、DNA 模板 1 μL、ddH₂O 10 μL,加无菌纯水至 30 μL。反应条件为 95 °C 预变性 3 min,95 °C 变性 30 s,55 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 1 min,共 35 个循环;最后 72 °C 再延伸 10 min。取 PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳,于凝胶成像系统上成像。将片段大小约为 1 500 bp 的目标条带送至北京六合华大基因公司进行双向测序。测序结果在美国国立生物技术信息中心(NCBI)GenBank 数据库(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)中进行 Blast 比对,将序列同源性 >97%(按 16S rRNA 基因序列)的菌株归为同一菌种^[10]。

1.6 药敏试验

采用 Etest 法进行药敏试验。用无菌棉签挑取待测菌株菌落 3~5 个置于无菌盐水中,配制成相当于 0.5 麦氏浊度单位的菌悬液。用无菌棉签蘸取上述菌液均匀涂布在含 5% 羊血的 M-H 培养基上(操作方法同纸片扩散法),静置 3~5 min 后,将 Etest 条垂直插入培养基中,于 35 °C 下孵育 16~20 h,读取椭圆形抑菌圈边缘与 Etest 条交叉处的药物浓度,即该药对该菌株的最低抑菌浓度(MIC)。药敏试验数据采用 WHONET 5.6 软件进行处理,其结果判定参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)2015 年的标准^[11]。

2 结果

2.1 培养结果

2 株菌株在哥伦比亚血平板上生长,在麦康凯平板上不生长。孵育 24 h 时,菌落较小;孵育 48 h 时,菌落明显增加,且呈奶白色,较为黏稠;细菌菌落数均超过 10⁵ CFU/mL。挑取菌落行革兰氏染色镜检,显微镜下为革兰氏阳性棒状杆菌,排列不规则,多呈栅栏样或八字形排列,详见图 1。

2.2 MALDI-TOF-MS 鉴定结果

经 MALDI-TOF-MS 鉴定为解葡萄糖苷棒状杆菌,可信度为 99.9%,且仅有 1 个鉴定选项。该菌在 *m/z* 2 431、

3 089,3 364,3 378,4 200,5 508,6 302,6 637,6 730,6 946、12 603 处出现特征峰,详见图 2。

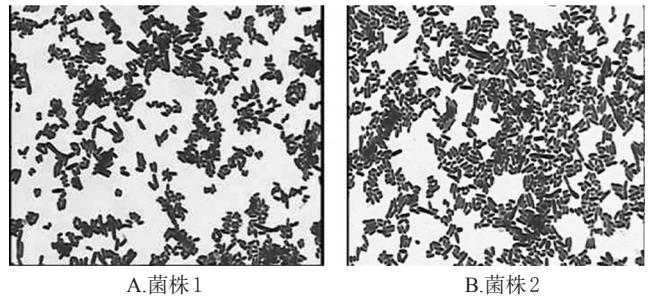


图 1 2 株菌株的显微成像图(孵育 48 h,×1 000)

Fig 1 Micrographs of 2 strains (incubated for 48 h,×1 000)

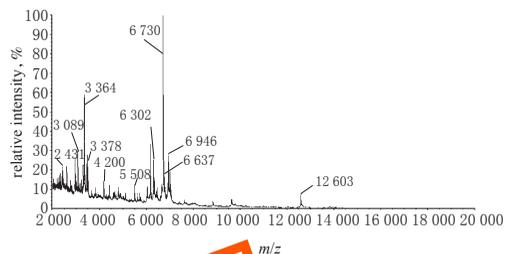


图 2 葡萄糖苷棒状杆菌的蛋白质谱图

Fig 2 Protein mass spectrometry of *C. glucuronolyticum*

2.3 16S rRNA 测序结果

将 2 株菌株的 16S rRNA 测序结果(图 3)与 GenBank 数据库进行 Blast 比对。结果显示,2 株菌株与 GenBank 中已知解葡萄糖苷棒状杆菌(基因登录号:GG667131.1)的序列同源性超过 98%,属于同一菌种,详见图 4。

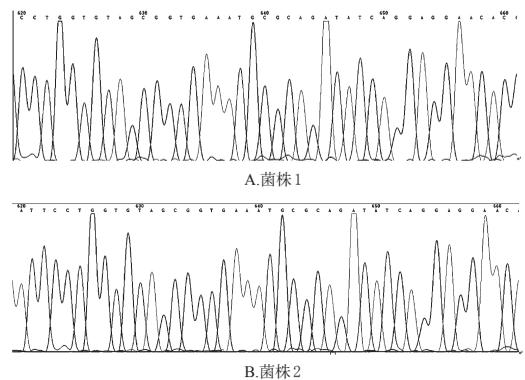


图 3 2 株菌株 16S rRNA 测序结果

Fig 3 Sequence detection results of 16S rRNA of 2 strains

Alignments @Overlaid ... GenBank ... Database lists of results						
Description	Max score	Total score	Query E	Ident E	Accession	
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i> strain DSM 44125, whole genome shotgun sequence	1823	1823	99%	0.0	99%	NC_070992.1 GG667131.1
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i> ATCC BAA-1742 whole genome shotgun sequence	1820	2441	99%	0.0	99%	NC_032046.2
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i> ATCC BAA-1742 whole genome shotgun sequence	1820	2235	99%	0.0	99%	NC_032046.1
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i> strain DSM 44610, complete genome	1471	5939	99%	0.0	93%	NC_025313.1

A. 菌株 1

Alignments @Overlaid ... GenBank ... Database lists of results						
Description	Max score	Total score	Query E	Ident E	Accession	
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i> strain DSM 44125, whole genome shotgun sequence	1916	1916	99%	0.0	99%	NC_070992.1 GG667131.1
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i> ATCC BAA-1742 whole genome shotgun sequence	1711	3411	99%	0.0	95%	NC_032046.1
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i> ATCC BAA-1742 whole genome shotgun sequence	1700	2546	99%	0.0	95%	NC_032046.2
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i> strain DSM 44610, complete genome	1579	1579	99%	0.0	94%	NC_025313.1

B. 菌株 1

图 4 2 株菌株的 Blast 比对结果

Fig 4 Blast comparison results of 2 strains

2.4 药敏试验结果

菌株1对头孢曲松、环丙沙星耐药,对青霉素G等其他14种抗菌药物敏感;菌株2对头孢曲松、红霉素、环丙沙星、四环素、克林霉素耐药,对头孢噻肟中介,对其他10种抗菌药物敏感,详见表1。

表1 2株菌株的耐药情况

Tab 1 Drug resistance of 2 strains

抗菌药物	菌株1		菌株2	
	MIC, $\mu\text{g/mL}$	耐药性 ^[11]	MIC, $\mu\text{g/mL}$	耐药性 ^[11]
青霉素G	0.064	敏感	0.5	敏感
头孢吡肟	0.25	敏感	1	敏感
头孢噻肟	0.25	敏感	2	中介
头孢曲松	4	耐药	32	耐药
亚胺培南	0.016	敏感	0.25	敏感
美罗培南	0.32	敏感	1	敏感
万古霉素	0.25	敏感	0.25	敏感
庆大霉素	0.25	敏感	2	敏感
红霉素	0.064	敏感	16	耐药
环丙沙星	>32	耐药	>32	耐药
多西环素	0.064	敏感	4	敏感
四环素	0.25	敏感	16	耐药
克林霉素	0.064	敏感	>256	耐药
复方磺胺甲噁唑	0.016	敏感	0.125	敏感
利福平	0.064	敏感	<0.064	敏感
利奈唑胺	0.064	敏感	0.064	敏感

3 讨论

解葡萄糖苷棒状杆菌引起的感染较为少见,可引起非淋菌性尿道炎、结痂性膀胱炎、前列腺炎、肉芽肿性乳腺炎等^[6,12-13]。该菌也可从血液和腹腔液中分离,但极为罕见^[13];此外,该菌除可从人泌尿生殖道中检出外,还可从另外一种哺乳动物猪的泌尿生殖道中检出^[14]。

棒状杆菌引起的感染往往具有争议,因为大多数棒状杆菌是皮肤定植菌。本研究从2例泌尿系统结石患者的尿液标本中分离得到了2株解葡萄糖苷棒状杆菌。患者多次送检尿液标本,病原菌大量生长,尿沉渣分析显示其存在菌尿,且尿白细胞增高,故考虑该菌可能是一种潜在的泌尿道病原菌。文献报道解葡萄糖苷棒状杆菌可引起青年男性尿道炎,该菌可从有临床症状的患者中分离,不能视为泌尿生殖道的定植菌^[13]。因此,当棒状杆菌在临床标本中优势大量生长或者在生理无菌部位大量生长时应评估其致病性,并进行鉴定。同时,解葡萄糖苷棒状杆菌生长缓慢,应延长培养时间,避免漏检^[5]。

棒状杆菌和疾病之间的关系依赖于菌种的准确鉴定^[15]。然而,棒状杆菌鉴定到种却较为困难,传统的生化鉴定方法操作烦琐、耗时,且无法提供可靠的结果^[1]。分子测序技术是鉴定棒状杆菌的“金标准”,但耗时长、成本高,且需要检测人员接受专门培训,故不能在临床微生物实验室常规使用^[1]。因此,一些基层医院微生物实验室鉴定棒状杆菌往往局限于种属或描述性报告(如:革兰氏阳性杆菌)。棒状杆菌不能准确鉴定,其临床意义

可能被低估,治疗将被延误^[7]。MALDI-TOF-MS是一种新型微生物鉴定技术,在鉴定细菌和酵母菌上具有准确、快速、方便、成本低、高通量的优点^[16]。多项研究显示,MALDI-TOF-MS能准确将棒状杆菌鉴定到种,且速度极快,每株菌株的鉴定在10 min内即可完成^[1,17]。MALDI-TOF-MS技术提高了微生物实验室的工作效率,对帮助认识棒状杆菌潜在的致病性、及时诊断和治疗具有重要价值。

目前,关于解葡萄糖苷棒状杆菌的药敏试验数据报道较少。国外文献报道,该菌对 β -内酰胺类、万古霉素、复方磺胺甲噁唑、利福平、利奈唑胺敏感,对克林霉素、红霉素、四环素耐药;对庆大霉素、环丙沙星的MIC范围广泛,药敏试验结果不定,可能是敏感、中介或耐药^[5,13,18]。本研究药敏试验结果显示,菌株1对头孢曲松、环丙沙星耐药;菌株2则表现出多重耐药性,对头孢曲松、红霉素、环丙沙星、四环素、克林霉素均耐药,对头孢噻肟中介,与国外文献报道^[13]的结果相近。值得关注的是,2株菌株对红霉素、四环素、克林霉素、头孢噻肟的耐药性存在差异。笔者认为,菌株2对红霉素耐药的机制可能与药物作用靶位的改变有关,该菌携带核糖体甲基化酶基因(如 $ermA$),可使红霉素作用的核糖体蛋白甲基化,药物作用靶位核糖体50S亚基蛋白改变,药物与靶位的亲和力下降,导致耐药。另外,由于大环内酯类、林可酰胺类和链阳菌素B等3种抗菌药物在细菌的核糖体上有相似的作用位点,因此在此机制作用下,可导致菌株对大环内酯类、林可酰胺类和链阳菌素B交叉耐药^[19-20]。菌株2对四环素耐药的机制可能为:(1)核糖体保护蛋白基因(如 $tetW$)的表达增强,大量生成的核糖体保护蛋白与核糖体相互作用,保护细菌的蛋白质合成不受药物影响^[19];(2)细菌产生四环素类药物泵出基因(如 $tetAB$),其表达的膜蛋白具有排出四环素-阳离子复合物的作用,使菌体内药物浓度降低^[20]。2株菌株对头孢噻肟的敏感性不同,机制可能与青霉素结合蛋白(PBP)和第三代头孢菌素的亲和力下降、PBP增多或产生新的PBP使抗菌药物失去活性等因素有关^[21]。另外,2株菌株对环丙沙星耐药很可能是由 $gryA$ 基因突变引起的^[22]。鉴于2株解葡萄糖苷棒状杆菌药敏试验结果差别较大,实验室有条件时应进行药敏试验,以指导抗菌药物的合理选择。本次分离的2株菌株均来自于泌尿外科病区的不同患者。其中,1例患者(分离出菌株1)经验性使用环丙沙星治疗1周,症状无改善,尿培养仍检出该菌,后依据药敏试验结果调整为复方磺胺甲噁唑治疗1周,症状明显改善,再次尿培养示无细菌生长,患者痊愈出院。另1例患者(分离出菌株2)在经验性使用环丙沙星治疗无效的情况下,医师依据以往经验和药敏试验结果更换为复方磺胺甲

噁唑,虽然该药MIC(0.125 μg/mL)并非最低,但治疗效果较好,患者痊愈。

综上所述,解葡萄糖苷棒状杆菌是一种罕见的泌尿道病原菌,由该菌所致的感染应引起临床的重视。该菌对多种抗菌药物耐药,可导致诊断及治疗时机的延误。因此,微生物实验室应尽量进行菌株鉴定和药敏试验,为患者的临床治疗提供参考。MALDI-TOF-MS技术在棒状杆菌的鉴定上具有快速、准确、操作简便等优势,是一种新型微生物鉴定技术,有望在不久的将来取代传统的微生物鉴定方法。但本研究纳入的解葡萄糖苷棒状杆菌数量极少,药敏试验数据尚不能全面反映该菌的耐药特征,加之鉴于该菌的高耐药性及其对临床的影响,继续对解葡萄糖苷棒状杆菌进行耐药性监测非常必要。

参考文献

- [1] ALIBI S, FERJANI A, GAILLOT O, et al. Identification of clinically relevant *Corynebacterium* strains by Api Coryne, MALDI-TOF-mass spectrometry and molecular approaches[J]. *Pathol Biol:Paris*, 2015, 63(4/5):153-157.
- [2] LO S, THIAM I, FALL B, et al. Urinary tract infection with *Corynebacterium aurimucosum* after urethroplasty stricture of the urethra: a case report[J]. *J Med Case Rep*, 2015. DOI:10.1186/s13256-015-0638-0.
- [3] SALJOGHI R, LIPSKER A, CAILLET K, et al. Encrusted uretero-pyelitis: case report[J]. *Urol Case Rep*, 2016, 21(7):58-60.
- [4] TRINCHIERI A. Urinary calculi and infection[J]. *Urologia*, 2014, 81(2):93-98.
- [5] CURRY CR, SALUJA K, DAS S, et al. Encrusted cystitis secondary to *Corynebacterium glucuronolyticum* in a 57-year-old man without predisposing factors[J]. *Lab Med*, 2015, 46(2):136-139.
- [6] SORIANO F, TAUCHI A. Microbiological and clinical features of *Corynebacterium urealyticum*: urinary tract stones and genomics as the Rosetta Stone[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2008, 14(7):632-643.
- [7] KHAN FR, KATMAWI-SABBAGH S, ENGLAND R, et al. Alkaline cystitis: a delayed presentation post transurethral resection of prostate: a case discussion and literature review[J]. *Cent European J Urol*, 2012, 65(1):43-44.
- [8] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].4版.北京:人民卫生出版社,2015:634-635.
- [9] Patrick RM, Euen TB, Michael AP, et al. 临床微生物学手册:上册[M].徐建国,梁国栋,邢来君,等.译.北京:科学出版社,2005:458-459.
- [10] 刘涛华,王颜颜,牟丽丽,等. 11株临床诺卡菌16S rRNA及药敏分析[J]. 贵阳医学院学报,2016,41(3):268-271.
- [11] 王辉,任健康,王明贵. 临床微生物学检验[M].北京:人民卫生出版社,2015:570.
- [12] DOBINSON HC, ANDERSON TP, CHAMBERS ST, et al. Antimicrobial treatment options for granulomatous mastitis caused by *Corynebacterium* species[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(9):2895-2899.
- [13] GALAN-SANCHEZ F, AZNAR-MARIN P, MARIN-CASANOVA P, et al. Urethritis due to *Corynebacterium glucuronolyticum*[J]. *J Infect Chemother*, 2011, 17(5):720-721.
- [14] DEVRIESE LA, RIEGEL P, HOMMEZ J, et al. Identification of *Corynebacterium glucuronolyticum* Strains from the urogenital tract of humans and pigs[J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(12):4657-4659.
- [15] COYLE MB, LIPSK BA. Coryneform bacteria in infectious diseases: clinical and laboratory aspects[J]. *Clin Microbiol Rev*, 1990, 3(3):227-246.
- [16] 木尼热·马合苏提,向阳,刘涛,等.两种细菌鉴定仪对临床分离细菌鉴定结果的对比分析[J]. 中华医院感染学杂志,2015,25(16):3604-3606.
- [17] VILA J, JUIZ P, SALAS C, et al. Identification of clinically relevant *Corynebacterium* spp., *Arcanobacterium haemolyticum* and *Rhodococcus equi* by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(5):1745-1747.
- [18] FUNKE G, PÜNTER V, VON GRAEVENITZ A. Antimicrobial susceptibility patterns of some recently established coryneform bacteria[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996, 40(12):2874-2878.
- [19] 李科,张德纯,张名均,等.多重耐药纹带棒状杆菌的耐药机制研究[J]. 中国抗生素杂志,2014,39(5):361-364.
- [20] 曹俊敏,杨雪静,王原.棒杆菌属细菌分类鉴定的方法学比较及对四环素与大环内酯类抗菌药物耐药机制的研究[J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(2):241-244.
- [21] 胡静仪.常见革兰阳性菌的耐药机制研究进展[J]. 临床合理用药杂志,2009,2(24):117-119.
- [22] 杨雪静,曹俊敏,张伟珍,等.棒杆菌属细菌药敏试验方法学评价及对喹诺酮类药物主要耐药机制的研究[J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(6):1235-1238.

(收稿日期:2017-02-21 修回日期:2017-11-27)

(编辑:张元媛)