

## · 临床经验 ·

## 质谱仪鉴定血流感染草螺菌 1 例及文献复习

贾明利<sup>1</sup>, 杨 婧<sup>2</sup>, 赵 斌<sup>3</sup>

**[摘要]** 目的 报道 1 例社区感染草螺菌误鉴定及相关文献复习内容,为临床解决同类问题提供指导。方法 采用常规细菌鉴定仪器 VITEK 2 鉴定卡及药敏试验卡、质谱分析仪对 1 例社区感染患者分离菌株进行鉴定,并对已报道该菌株感染相关病例文献进行复习总结。结果 细菌鉴定仪器 VITEK 2 鉴定该菌株结果为洋葱伯克霍尔德菌,质谱仪鉴定为草螺菌属;复习文献结果发现,多篇文献报道临床上草螺菌常常被误鉴定为洋葱伯克霍尔德菌,该菌可以造成医院内感染,也可造成社区感染,主要感染对象为免疫功能受损的肿瘤患者、肺纤维囊性病患者及部分老年患者。结论 草螺菌中的某些菌种是重要的机会致病菌,可引起免疫力低下或老年人医院内感染和社区感染。尽快改进临床常用细菌鉴定系统或者推广质谱仪在微生物鉴定上的应用是准确诊断草螺菌感染的有效途径。

**[关键词]** 血流感染;草螺菌;质谱仪

**[中图分类号]** R94

**[文献标志码]** B

**[文章编号]** 1672-271X(2017)02-0193-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1672-271X.2017.02.021

草螺菌属(*Herbaspirillum* sp), 氧化酶阳性、非发酵革兰阴性杆菌,具动力,该属菌现已知有 10 个菌种,与包括洋葱伯克霍尔德菌和其他植物相关的细菌同属  $\beta$ -变形菌纲(*Betaproteobacteria*),多数具有固氮作用,可定植于各种植物<sup>[1]</sup>。既往的研究报道主要集中于植物固氮作用研究,很少作为人类病原体报道。自 Baldani 等<sup>[2]</sup>证实临床分离菌株中存在该菌属菌株后,文献报道该菌感染的病例逐渐出现<sup>[3-9]</sup>。近来,我们在临床上从 1 例发热的成年女性患者血液中分离出一株草螺菌,现报道如下并对相关文献进行复习。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 患者女,73 岁,由于反复高烧就诊于急诊科,既往无高血压或糖尿病等疾病。体格检查,体温 38.6℃,脉搏 105 次/min;实验检查血液白细胞计数  $14.1 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞 94.7%。

**1.2 仪器与试剂** Vitek 2 Compact 细菌自动鉴定仪及配套 GN 鉴定卡、GN09 药敏试验卡(法国梅里埃公司);Bruker BioTyper 质谱仪(德国 Bruker 公

司);Roche 480 II 实时荧光定量 PCR 仪(瑞士 Roche 公司)。BD 9240 自动血培养仪器及配套血液细菌培养瓶(美国 BD 公司);16S rDNA PCR 检测试剂盒(大连宝生物工程有限公司)。

**1.3 细菌分离与鉴定** 严格无菌操作抽取患者双臂静脉血各 10 mL,分别注入两个血培养瓶,即刻放入血培养仪器进行孵育培养。细菌的 16S rDNA PCR 扩增程序按照试剂盒说明书进行,扩增产物送大连宝生物工程有限公司测序。将测序结果与 GenBank 数据库比对分析。

## 2 结果

**2.1 细菌分离培养鉴定** 血培养瓶于 BD9240 自动化系仪器孵育 33 h 后阳性报警,涂片见革兰阴性杆菌,接种于血琼脂上孵育 24 h 后,见小、半透明、凸起和无溶血菌落。用 VITEK2,GN 鉴定卡鉴定为洋葱伯克霍尔德,药敏结果对多数药物敏感(见表 1),鉴于社区获得血流感染中较少见到该菌,进一步用质谱仪鉴定,结果提示为草螺菌属(*Herbaspirillum aquaticum* 或者 *Herbaspirillum huttiense*,得分 2.112,分值>1.8 即为鉴定结果可靠),为验证仪器鉴定的准确性,对该分离菌株进行 16S rDNA 基因扩增、序列分析,结果与 GenBank 数据库比对,提示与草螺菌属(*Herbaspirillum* spp)序列一致性为 99.9%,表明质谱仪鉴定结果准确。

**2.2 细菌药敏结果** 该菌药敏实验标准参照 CLSI 中其他非发酵革兰阴性杆菌药敏试验标准,部分文献给出了多种药物对草螺菌的药敏结果,见表 1。

作者单位: 1. 124010 盘锦,辽宁省盘锦市中心医院检验科;  
2. 110840 沈阳,沈阳军区总医院感染控制科;  
3. 210002 南京,南京军区南京总医院医务部

通信作者: 赵 斌, E-mail: 156126607@qq.com

引用格式: 贾明利,杨 婧,赵 斌.质谱仪鉴定血流感染草螺菌 1 例及文献复习[J].东南国防医药,2017,19(2):193-195.

表 1 本例草螺菌药敏结果与文献报道结果对照

药物	本例	文献[4]	文献[5]	文献[6](28株)
氨苄西林	R	R	—	96%R
哌拉西林	S	S	S	—
庆大霉素	R	R	R	—
阿米卡星	S	S	S	—
头孢唑啉	S	S	S	—
头孢噻肟	S	S	S	—
头孢他啶	S	S	S	96%S
环丙沙星	S	S	S	65%S
亚胺培南	S	S	S	—
复方新诺明	S	—	S	96%S
四环素	S	—	S	60%S

S 代表敏感,R 代表耐药

2.3 文献报道草螺菌感染情况汇总 共检索出近年来草螺菌感染病例文献 7 篇,分别由五家机构报道,有 3 篇为美国多家单位联合研究肺囊性纤维化患者分离草螺菌的相关研究,见表 2。

表 2 近年来文献报道草螺菌感染情况

患者类型	n	年龄(岁)	标本类型	可能原因
血液病	8	2~67	血液	侵入性治疗
肺癌	1	53	痰	未明
卵巢癌	1	53	血液	侵入性治疗
纤维囊性变	28	1~59	痰、血液	3 例社区,余为医院感染
蜂窝织炎、菌血症 (肝硬化患者)	1	50	血液	活水暴露
社区获得	2	73,46	血液	接触植物

所有文献报道中,该菌株的初始鉴定均不正确,所用细菌鉴定系统包括法国梅里埃公司 VITEK、API 鉴定系统,BD 公司 Phoenixd 细菌鉴定系统,以及 MicroScan 细菌鉴定系统和其他商业化的细菌快速鉴定系统。文献报道中,85% 以上菌株被误鉴定为洋葱伯克霍尔德菌复合体(*Burkholderia cepacia* complex),此外还有罗尔斯顿菌(*Ralstonia*),人类苍白杆菌(*Ochrobactrum anthropi*),亲铜菌 *Cupriavidus pauculus*,)或者是无法给出鉴定结果<sup>[9]</sup>。

3 讨 论

3.1 常规微生物鉴定方法误鉴定是既往草螺菌感染报道少见的主要原因 本例中,草螺菌被 VITEK 细菌鉴定仪器误鉴定为伯克霍尔德菌,其他文献报道多数报道也是被误鉴定为伯克霍尔德菌,也有皮氏罗尔斯通等菌或鉴定仪提示为无法鉴定,这可能

与该菌发现较晚,其生化反应与伯克霍尔德菌等菌属接近等因素有关。随分子生物学技术逐渐成熟,欧洲微生物专家 Baldani 等<sup>[2]</sup>用分子鉴定技术回顾性对 1978 年起从多个国家收集的临床分离菌株进行了 DNA 杂交鉴定,初次证实草螺菌属中第 3 种 DNA 型可以从临床标本中分离到,随着 16SrDNA 扩增测序技术和质谱仪的推广,近年来才有了资料较完整的临床病例报道。本例中,质谱鉴定仅鉴定到属,主要是因为质谱仪鉴定数据库还不完善。此外,16S rDNA 测序也无法完全区分 *H. aquaticum* 和 *H. huttiense* 菌种,有待于进一步的生物学特性研究。

3.2 草螺菌感染流行病学调查

3.2.1 患者人群 已报道草螺菌感染患者年龄分布从 1 岁到 73 岁,包括纤维囊性病、肿瘤(实体瘤、血液病等)、肝硬化患者及散在的社区院内感染病例(老年患者),标本来源有痰,血液等标本<sup>[3-9]</sup>。

3.2.2 感染源 纤维囊性病患者中,有一部分为可疑为医院感染,这些患者住院期间有多种侵入性治疗,脉冲场凝胶电泳结果提示感染菌高度同源),但随后的流行病学调查(医院设施、环境等)未获得证据支持;另 3 例较明确为社区发病患者,感染菌株有明显不同的 PFGE 模式,但感染源也不确定<sup>[6]</sup>。文献报道的另外几例社区感染患者,其感染源被高度怀疑与水系暴漏、接触植物有关。流行病学调查从饮用水系统分离得到该菌<sup>[10]</sup>,充分证明该菌属与人类日常生活有密切接触,更有甚者,有文献报道用分子生物学鉴定技术在一些透析系统中检出该菌存在<sup>[11]</sup>。上述研究表明,机体有可能通过医院内感染(静脉输液等侵入性治疗),呼吸道<sup>[6,9]</sup>,环境污染撕裂的皮肤<sup>[8]</sup>或摄食未煮熟的蔬菜产品进入人体<sup>[4]</sup>。

3.2.3 致病性 Marques 等<sup>[12]</sup>体外研究证实,来源于人体的分离菌株,在粘附性、细胞毒性等方面显著高于环境中的野生株。关键点,本文报道病例与其他文献报道病例,尤其是血流感染患者,均有白细胞升高,发热等反应,且未发现同时感染其他病原体的证据,经适当的抗生素治疗后,患者感染症状均消失,基本痊愈。上述这些事实提示,草螺菌中的某些菌种,对于肺纤维微囊性病、肿瘤、肝硬化等患者及某些老年患者来说是一种潜在的机会致病菌。

3.3 草螺菌药物敏感性及临床治疗 在美国 CLSI 药敏试验指南中无明确的草螺菌药敏试验标准,参照其他非发酵、非苛养革兰阴性杆菌药敏实验标准,可见多篇文献报道中,该菌对头孢菌素、碳青霉

烯、复方新诺明等敏感性高,对哌拉西林-他唑巴坦、氟喹诺酮、四环素类药物也较为敏感,主要对庆大霉素、氨苄西林等耐药。文献报道中,患者多以静脉滴注头孢菌素或哌拉西林-他唑巴坦加口服多西环素或复方新诺明治愈<sup>[5-9]</sup>。

综上,草螺菌中的某些菌种可能是一种重要的机会致病菌,可引起免疫力低下或老年人医院内感染和社区感染。尽快改进临床常用细菌鉴定系统或者推广质谱仪在微生物鉴定上的应用<sup>[13]</sup>,是准确诊断草螺菌感染的有效途径。现阶段常规鉴定方法鉴定为洋葱伯克霍尔德菌,但药敏结果表现为对氨苄西林、庆大霉素耐药,对大多数头孢菌素、碳青霉烯类等多数药物敏感时,应怀疑草螺菌感染,送菌株到有条件的医院进行质谱鉴定。

#### 【参考文献】

- [1] Baldani JI, Baldini VL, Seldin L, *et al.* Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium[J]. *Int J Syst Bacteriol*, 1986, 36(1): 86-93.
- [2] Baldani JI, Pot B, Kirchhof G, *et al.* Emended description of *Herbaspirillum*; inclusion of *Pseudomonas rubrisubalbicans*, a mild plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. nov.; and classification of a group of clinical isolates (EF group 1) as *Herbaspirillum* species 3[J]. *Int J Syst Bacteriol*, 1996, 46(3): 802-810.
- [3] Ziga ED, Druley T, Burnham CA, *et al.* *Herbaspirillum* species bacteremia in a pediatric oncology patient[J]. *J Clin Microbiol*, 2010, 48(11): 4320-4321.
- [4] Chen J, Su Z, Liu Y, *et al.* *Herbaspirillum* species: a potential pathogenic bacteria isolated from acute lymphoblastic leukemia patient[J]. *Curr Microbiol*, 2011, 62(1): 331-333.
- [5] Regunath H, Kimball J, Smith LP, *et al.* Severe community-acquired pneumonia with bacteremia caused by *Herbaspirillum aquaticum* or *Herbaspirillum huttiense* in an immune-competent adult[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(9): 3086-3088.
- [6] Chemaly RF, Dantes R, Shah DP, *et al.* Cluster and sporadic cases of *herbaspirillum* species infections in patients with cancer[J]. *Clin Infect Dis*, 2015, 60(1): 48-54.
- [7] Suwantarat N, Adams LL, Romagnoli M, *et al.* Fatal case of *Herbaspirillum seropedicae* bacteremia secondary to pneumonia in an end-stage renal disease patient with multiple myeloma[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2015, 82(4): 331-333.
- [8] Tan MJ, Oehler RL. Lower extremity cellulitis and bacteremia with *Herbaspirillum seropedicae* associated with aquatic exposure in a patient with cirrhosis[J]. *Infect Dis Clin Pract*, 2005, 13(5): 277-279.
- [9] Spilker T, Uluer AZ, Marty FM, *et al.* Recovery of *Herbaspirillum* species from persons with cystic fibrosis[J]. *J Clin Micro*, 2008, 46(8): 2774-2777.
- [10] Chen L, Jia RB, Li L, *et al.* Bacterial community of iron tubercles from adinking water distribution system and its occurrence in stagnant tapwater[J]. *Environ Sci Process Impacts*, 2013, 15(7): 1332-1340.
- [11] Gomila M, Gascó J, Gil J, *et al.* A molecular microbial ecology approach to studying hemodialysis water and fluid[J]. *Kidney Int*, 2006, 70(9): 1567-1576.
- [12] Marques AC, Paludo KS, Dallagassa CB, *et al.* Biochemical characteristics, adhesion, and cytotoxicity of environmental and clinical isolates of *Herbaspirillum* spp.[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(3): 302-308.
- [13] Desai AP, Stanley T, Atuan M, *et al.* Use of matrix assisted laser desorption ionisation-time of flight mass spectrometry in a paediatric clinical laboratory for identification of bacteria commonly isolated from cystic fibrosis patients[J]. *J Clin Pathol*, 2012, 65(9): 835-838.

(收稿日期:2016-12-26; 修回日期:2017-01-23)  
(本文编辑:叶华珍)