

DOI: 10.3969/cjz.j.issn.1002-2694.2012.06.022

# 诺卡氏菌研究进展

张 媛<sup>1,2</sup>, 张媛媛<sup>2</sup>, 李振军<sup>2</sup>, 万康林<sup>2</sup>

**摘要:** 目的 诺卡氏菌是一种新发的人兽共患病病原, 呈全球性分布, 它能引起不同程度的人类疾病。近年来, 病例报道明显增加, 但大多数人对该菌不熟悉, 本文就诺卡氏菌的分布、感染途径、致病性、分类及鉴定等做一综述。

**关键词:** 诺卡菌; 分类; 鉴定

中图分类号: R378

文献标识码: A

文章编号: 1002-2694(2012)06-0628-07

## Research progress on *Nocardia*

ZHANG Yuan<sup>1,2</sup>, ZHANG Yuan-yuan<sup>2</sup>, LI Zhen-jun<sup>2</sup>, WAN Kang-lin<sup>2</sup>

(1. Pathogenic Biology Institute, University of South China, Hengyang 421001, China;

2. Institute of Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention / State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control, Beijing 102206, China)

**ABSTRACT:** *Nocardia* is an emerging zoonotic pathogen and is worldwide distributed. *Nocardia* can cause severe disease in human. In recent years, case reports of *Nocardia* are on the rise, however, most people are not familiar with this pathogen. This paper summarizes the distribution of *Nocardia*, the routes of infection, classification and identification.

**KEY WORDS:** *Nocardia*; classification; identification

Corresponding author: WAN Kang-lin, Email: wankanglin@icdc.cn

诺卡氏菌(*Nocardia*, N.)是一种广泛存在于土壤、海水、淡水、尘埃中的细菌。它属于细菌界, 放线菌门, 放线菌纲, 放线菌亚纲, 放线菌目, 棒状杆菌亚目, 诺卡菌科, 诺卡菌属。以前曾将放线菌目归为真菌, 这是由于放线菌目含有真菌特有的气生菌丝, 后来通过研究其细胞壁, 特别是对膜磷脂和肽聚糖组成分析, 确定该菌目为需氧型细菌<sup>[1]</sup>。

诺卡氏菌是一种机会致病菌, 不是人体正常菌群, 不呈内源性感染。诺卡氏菌病(Nocardiosis)是由诺卡氏菌引起的一种急性或慢性化脓性或肉芽肿性病变<sup>[2]</sup>, 多由呼吸道吸入病原菌或经外伤感染引起, 常见于免疫缺陷病人。在美国, 每年大约有500~1 000例诺卡氏菌病的新发病例<sup>[3]</sup>; 法国每年大约有150~250例诺卡氏菌病例<sup>[4]</sup>, 意大利每年有90~130例诺卡氏菌病例<sup>[5]</sup>。我国于1980年首次报道了诺卡氏菌病例<sup>[6]</sup>。

通讯作者: 万康林, Email: wankanglin@icdc.cn

作者单位: 1. 南华大学病原生物学研究所, 衡阳 421001;  
2. 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所/传染病预防控制国家重点实验室, 北京 102206

## 1 分布及命名

诺卡氏菌是一种腐生型细菌, 能够降解植物体, 从中获得生长所需的碳源、氮源。它广泛存在于空气、土壤、海水、淡水、腐烂的植被及动物的排泄物中。在自然界中几乎随处可见, 在沙滩、游泳池、房间土壤、花园土壤均有发现<sup>[1]</sup>。1888年兽医 Edmond Nocardia 从一例患淋巴腺炎的牛身上分离出诺卡氏菌, 1889年 Trevisan 将此生物体命名为鼻疽诺卡氏菌(*N. farcinica*), 并对其主要特征进行了描述<sup>[7]</sup>。1890年, Eppinger 报道了由诺卡氏菌引起的第一例人类感染病例, 患者是一位罹患肺炎和脑脓肿的病人<sup>[1]</sup>。据报道迄今为止已发现了一百余种诺卡氏菌<sup>[8]</sup>, 已正式命名的诺卡氏菌就有63种<sup>[9]</sup>。宿主感染诺卡氏菌后的临床表现有很大不同, 诺卡菌既能通过皮肤伤口引起局部感染, 也能引起严重的肺部疾患或广泛的中枢神经系统病变<sup>[7]</sup>。目前已知对人致病的主要有4种: 星形诺卡氏菌(*N. asteroides*)、鼻疽诺卡氏菌(*N. farcinica*)、豚鼠诺卡氏菌(*N. otitidiscauriarum*)和巴西诺卡氏菌(*N. transvalensis*), 约70%为星形诺卡氏菌感染。

## 2 感染途径及致病性

感染诺卡氏菌的最常见途径是经呼吸道。通常通过呼吸道吸入孢子或断裂的菌丝片段<sup>[7]</sup>。其次是通过伤口感染,多见于器官移植感染,开放性胸外科手术后感染,开放性骨折处皮肤发生诺卡氏菌感染,在车祸伤后感染,隆胸术后感染<sup>[6]</sup>。其次是继发于其他疾病而感染,比如继发于系统性红斑狼疮<sup>[8]</sup>,淋巴瘤,白血病,长期应用免疫抑制剂后<sup>[7]</sup>。诺卡氏菌还可能通过院内感染,国外有过报道<sup>[1]</sup>。诺卡氏菌的感染有地理差异和季节差异<sup>[10]</sup>。

诺卡氏菌病是散发性疾病,在全世界散在分布。本病发生于任何人种、职业、年龄,成年人发病率较高,且多为男性,男性和女性的发病比为3:1,但认为这种差别是由于男性更易暴露于感染造成的,而与性别上的遗传差异无明显相关<sup>[11]</sup>。人与人之间的传播较少见<sup>[12]</sup>。当机体免疫力低下,严重肺部疾患或手术外伤时可引起机会性感染。

诺卡氏菌中最常见的致病菌为星形诺卡氏菌,70%以上的病例由其引起<sup>[11]</sup>。鼻疽诺卡氏菌是毒力较强的诺卡氏菌。诺卡氏菌在不同生长阶段毒力不同,在对数生长期的细胞壁含有分枝菌酸,它能够增强诺卡菌的毒力,也可能影响诺卡氏菌聚集在某些组织的能力。感染诺卡氏菌后,宿主的嗜中性粒细胞能够抑制诺卡氏菌但不能杀死诺卡氏菌。活化的巨噬细胞能够激发细胞免疫,从而杀死诺卡氏菌<sup>[8]</sup>。

在不同国家,主要致病菌株不同。巴西诺卡氏菌的分布呈现明显的地域性,它常分布于热带、亚热带地区,在美国主要见于西南部和东南部<sup>[8]</sup>。Saubolle等发现在干燥温暖的气候条件下诺卡氏菌病更易流行,并认为这可能是由于在这种干燥、多风的条件下,更利于机体吸人气溶胶<sup>[13]</sup>。在美国,最常见的致病菌为星形诺卡氏菌(狭义上的);在日本,最常见的致病菌株为星形诺卡氏菌(*N. asteroides* complex)复合体;在德国,最常见的致病菌株为鼻疽诺卡氏菌<sup>[14]</sup>。

### 2.1 人类疾病

2.1.1 肺部疾病 诺卡氏菌引起的大多数肺部疾患是由于机体吸入了空气中的孢子或菌丝片段所致,故经呼吸道传播进入机体是最常见的感染途径<sup>[7]</sup>。肺诺卡氏菌病常见于免疫缺陷或免疫损害病人,如艾滋病病人、系统性红斑狼疮病人、糖尿病病人、酒精中毒病人、器官移植者等,部分病例常伴有长期的肺部疾患,如哮喘、支气管扩张等。肺诺卡氏菌病X线胸片表现无特异性,常表现为单个或多个

圆形、光滑的结节,也可表现为大片渗出、实变、肿块、后壁空洞等多种形态,可伴有脓肿、胸腔积液。主要临床表现为:咳嗽、咳痰,脓痰或血痰,发热、寒战、食欲下降、体重减轻、胸部阵痛、呼吸困难等<sup>[1]</sup>。

2.1.2 播散性疾病 有一半的肺诺卡氏菌病患者会伴随肺外疾病与损害,局部的肺部疾病可能经血液播散引起肺以外部位的损害。免疫力低下者如恶性肿瘤患者、糖尿病患者、酒精中毒者、艾滋病患者、肾脏损害者、风湿性疾病患者及长期应用皮质类固醇和免疫抑制剂治疗者,更容易引起肺外播散。可导致心包炎、纵膈炎等,也可播散到皮肤、中枢神经系统、皮下组织等。由诺卡氏菌感染引起的中枢神经系统损害,通常会在脑部形成一个或多个肿块,主要呈现颅内压增高的症状,如:头痛、恶心、呕吐、精神萎靡等,个别患者还可能引起癫痫<sup>[7]</sup>。

2.1.3 皮肤疾病 诺卡氏菌引起的皮肤性疾病与肺部疾病不同,它常见于免疫功能正常机体。所有诺卡氏菌种均能导致皮肤疾病,但约有80%的皮肤诺卡氏菌病和皮下诺卡氏菌病是由巴西诺卡菌引起。皮肤感染常会涉及淋巴系统,主要临床表现为皮下蜂窝组织炎及结节形成,成人多见于下肢,儿童多见于面部。结节大小不等,小的似黄豆大小,大的似鸡蛋大小。结节表面红肿,部分患者结节坚硬,部分患者结节柔软,有弹性感。结节破溃后可形成深部溃疡<sup>[6]</sup>。我国曾有群发性皮肤诺卡氏菌病的报道,国外未见过此类报道。

足菌肿(mycetoma)是诺卡氏菌引起的最常见的皮肤性疾病,足菌肿系皮肤和皮下组织的一种慢性化脓性肉芽肿性疾病<sup>[15]</sup>,伴有瘘管形成和流出带有颗粒的脓液,有时甚至侵犯临近骨髓和器官。病原菌通过破损处侵入皮肤,引起丘疹、脓疱或结节,不断扩大,随后结节软化,破溃,流出带有不同颜色的颗粒。这些颗粒呈淡黄色、黑色、或红色,类似硫磺样颗粒,称为色素颗粒。诺卡菌可能通过血液循环扩散至肺或其它部位,主观感觉除痛或局部不适外,无全身性症状<sup>[7]</sup>。患者男多于女,中年最多。本病多发于热带、潮湿和多雨的地区和季节,亚洲的印度,非洲的苏丹及中美洲的墨西哥最为多见<sup>[16]</sup>,我国亦有报道<sup>[15]</sup>。绝大多数诺卡氏菌均能引起足菌肿,但是巴西诺卡氏菌是最常见的病原体。产生足菌肿的主要原因是赤脚走路所致,常见于非洲<sup>[7]</sup>。

2.1.4 其他 诺卡氏菌除了引起上述疾病外,还可能引起葡萄膜炎、渗出性脉络膜炎、视网膜脓肿、视网膜脱离、虹膜炎、角膜炎、腹膜炎、菌血症、积脓症、心包炎、滑膜炎、感染性心内膜炎、小肠诺卡氏菌病、

空肠诺卡氏菌病等。有关诺卡氏菌引起的角膜炎近年来常有报道<sup>[1]</sup>, 在正常人中是由于眼部小创伤引起, 比如在白内障摘除术后; 在免疫力低下患者是通过血行播散导致。诺卡的眼部感染常有高死亡率, 幸存者也会眼部全盲<sup>[7]</sup>。

**2.2 动物疾病** 诺卡氏菌还能造成动物感染, 可以感染牛、马、狗、猪、鸟、猕猴、考拉、狐狸、猫鼬, 还可以感染猫、鱼等。星形诺卡氏菌是需氧放线菌中最常见的动物病原体。我国就曾有过鱼类感染诺卡氏菌的报道, 星形诺卡氏菌是第一个被发现的可引起鱼类感染的诺卡氏菌<sup>[17]</sup>。诺卡氏菌引起的最常见的动物疾病为牛乳腺炎, 主要表现为产奶量下降。诺卡氏菌所致牛乳腺炎主要由星形诺卡氏菌引起<sup>[1]</sup>。

### 3 培养条件和生长特点

诺卡氏菌是专性需氧菌, 在 25 ℃~40 ℃均能生长, 然而不同种的诺卡氏菌其最适生长温度不同<sup>[7]</sup>。诺卡氏菌对培养基没有特殊选择性, 在多种培养基上均能生长。目前可培养诺卡氏菌的培养基有血琼脂培养基、沙保弱培养基、巧克力培养基、亚硫酸盐培养基、牛心浸液血琼脂、脑心浸液培养基、罗氏培养基、胰蛋白胨大豆肉汤培养基等。诺卡氏菌培养的特点之一是初代生长缓慢, 故对怀疑该菌感染的患者应该适当延长培养时间, 一般应至少培养两周; 培养的另一个特点是, 涂片时难以将该菌挑起和移动, 这是由于诺卡氏菌的营养菌丝与培养基结合紧密, 故难以挑起和移动<sup>[18]</sup>。

### 4 生物学分类

诺卡氏菌目前还没有国际公认的一种分类方法, 目前的分类方法存在着混淆和争议。Wallace 于 1988 年将 78 株星形诺卡氏菌根据药敏实验结果进行分类, 分为 6 型(星形诺卡药敏试验 I-VI)<sup>[19]</sup>。而随着研究技术的进步和分类方法的发展, 许多原先归为诺卡氏菌属的细菌已经从诺卡氏菌属中分离出来, 形成了新的属或归为其他菌属中。这些菌属中和诺卡菌亲缘关系紧密的细菌属包括棒状杆菌属(*Corynebacterium*)、戈登氏菌属(*Gordona*)、红球菌属(*Rhodococcus*)、束村氏菌属(*Tsukamurella*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*)和链霉菌属(*Streptomyces*)<sup>[7]</sup>。近年来, 许多新的诺卡氏菌株时有发现, 故原先的分类方法已不能满足当前的分类需求。现在比较规范的分类方法是 2006 年 Brown-Elliott 发表的分类方法<sup>[7]</sup>, 将诺卡氏菌分为 9 个群, 分别是

(1) 星形诺卡氏菌复合体 (*Nocardia asteroides Complex*), 分型属于原星形诺卡药敏试验 VI 型; (2) 脓肿诺卡氏菌 (*Nocardia abscessus*), 分型属于原星形诺卡药敏试验 I 型; (3) 短链/少食诺卡氏菌复合体 (*Nocardia brevicaetena/paucivorans Complex*), 分型属于原星形诺卡药敏试验 II 型, 它包括短链诺卡菌、少食诺卡氏菌; (4) 新星诺卡氏菌复合体 (*Nocardia nova Complex*), 分型属于原星形诺卡药敏试验 III 型, 它包括非洲诺卡氏菌 (*Nocardia africana*), *Nocardia kruczakiae*, 新星诺卡氏菌 (*Nocardia nova*), *Nocardia veterana*, 和未命名种; (5) 南非诺卡氏菌复合体 (*Nocardia transvalensis Complex*), 分型属于原星形诺卡药敏试验 IV 型; (6) 鼻疽诺卡氏菌 (*Nocardia farcinica*), 分型属于原星形诺卡药敏试验 V 型; (7) 星形诺卡氏菌 (*Nocardia asteroides*), 分型属于原星形诺卡药敏试验 VI 型, 但是与其他药敏试验 VI 型诺卡氏菌对氨苄西林抵抗不同, 它对氨苄西林敏感; (8) 巴西诺卡氏菌 (*Nocardia brasiliensis*) 和假巴西诺卡氏菌 (*Nocardia pseudbrasiliensis*); (9) 豚鼠诺卡氏菌复合体 (*Nocardia otitidiscaecatarum Complex*), 原称为 *Nocardia caviae*。

### 5 鉴定方法

**5.1 传统方法** 传统方法鉴定诺卡氏菌主要是依据染色特征, 同时结合生化鉴定方法。

#### 5.1.1 染色

5.1.1.1 革兰染色 诺卡氏菌革兰染色阳性, 镜下观察到菌体呈分枝状或串珠状的细密如丝排列, 诺卡菌镜下形态与以色列放线菌相似, 但菌丝末端不呈棍棒状膨胀, 菌丝可缠绕成团, 形成类似放线菌的颗粒<sup>[20]</sup>。诺卡菌为抗酸性、弱抗酸性或在生长的某一阶段具有抗酸性。诺卡氏菌除了同分枝杆菌属的其他细菌一样含有结核硬脂酸(tuberculostearic acid)以外, 它还含有短链(40~60 个碳)的分枝菌酸(mycolic acid)<sup>[2]</sup>。经革兰染色出现特征性的分枝状或串珠状, 可作为识别诺卡氏菌的依据。临床样本, 涂片经革兰染色能观察到典型的分枝形态, 周围被急性炎症细胞所包裹, 这是临床标本的典型特征<sup>[7]</sup>。

5.1.1.2 抗酸染色 诺卡氏菌为抗酸性或弱抗酸菌、或在生长的某一阶段具有抗酸性, 抗酸染色为弱阳性, 若脱色时间延长, 则抗酸染色为阴性, 呈现蓝色<sup>[1]</sup>。目前常用改良抗酸染色方法, 改良抗酸染色与传统的抗酸染色相比, 是用 1% 的硫酸作为脱色

剂替代 3% 的盐酸乙醇<sup>[7]</sup>。抗酸染色结果与培养诺卡氏菌的培养基类型及诺卡氏菌的培养时间均有关。当菌丝断裂后,在显微镜下可呈现球状或杆状的菌丝断裂体<sup>[7]</sup>。故而抗酸染色的结果仅能作为辅助性诊断,而不能作为最终的诊断依据。

**5.1.2 生化鉴定** 诺卡氏菌不分解腺嘌呤、次黄嘌呤、黄嘌呤、酪氨酸,不水解酪蛋白、产尿素酶,产β-内酰胺酶,枸橼酸盐、液化明胶、尿素分解实验均为阳性,不发酵葡萄糖和甘露醇<sup>[18]</sup>,硝酸盐还原除鼻疽诺卡氏菌为阴性外,其他均为阳性<sup>[8]</sup>。

生化鉴定的方法并不是一种可靠的方法,并非每次都得到期望的结果,对于近年来发现的特征菌群,比如新星诺卡氏菌等分类群不能进行鉴定<sup>[7]</sup>。生化鉴定方法费时费力,并不能快速鉴定出诺卡氏菌,通常会对诊断诺卡氏菌造成延误。

**5.2 分子生物学方法** 传统方法鉴定诺卡氏菌费时、费力,且有时难以获得准确结果。分子生物学技术的发展特别是聚合酶链反应(PCR)方法的建立,为快速有效诊断诺卡氏菌提供了可能。目前基因鉴定技术主要包括 PCR-直接测序方法,随机扩增多态性 DNA (RAPD, random amplified polymorphic DNA)、脉冲场凝胶电泳 (PFGE)、PCR-限制性片段长度多态性 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)、核酸探针技术、实时荧光定量 PCR、焦磷酸 DNA 测序技术、核糖体分型技术等。这些方法均具有检测快、操作简单、敏感性强、价格低廉的特点。

**5.2.1 PCR** 自 1983 年由 Kary Mullis 发明<sup>[21]</sup>以来,显示出了灵敏度高、特异性强、检测快速等特点。现在常用于区分诺卡菌和分枝杆菌的靶基因有:sod, recA, rpoB, hsp65, 16S-23S ITS<sup>[22]</sup>, 16SrRNA<sup>[23]</sup>, 16SrDNA<sup>[24]</sup>, groEL<sup>[7]</sup>, secA1<sup>[25]</sup> 基因等。

**5.2.2 RAPD** 美国科学家 Williams 和 Welsh 于 1990 年分别研究提出的,又称任意引物 PCR。我国曾在 2004 年用随机扩增多态性 DNA 技术扩增四种不同诺卡氏菌的基因组,发现这四种诺卡氏菌有一些相同的片段,但总体上其 DNA 片段图谱存在较大差异。Exmelin 等用随机扩增多态性 DNA 技术和 rRNA 基因限制性图谱技术,从 5 株不相关的菌株中区分出鼻疽诺卡氏菌<sup>[26]</sup>。

**5.2.3 PFGE** 1984 年 Schwartz 和 Cantor 首先报道了用脉冲场凝胶电脉分离酵母染色体获得成功以来,PFGE 以其重复性好、分辨力强而被誉为细菌分子生物学分型技术“金标准”<sup>[27]</sup>。

PFGE 的大致原理为细菌包埋于琼脂块中,用

适当的内切酶在原位对整个细菌染色体进行酶切,酶切片段在特定的电泳系统中通过电场方向不断交替变换及合适的脉冲时间等条件下,使不同大小的 DNA 片段得到良好的分离。PFGE 中内切酶的选用至关重要,所采用的内切酶常为寡切点酶,这种酶切后的片段少而大,适合于作 PFGE 分型分析。

应用脉冲场凝胶电泳对诺卡氏菌进行分型的报道很少,Blümel 等确定了从德国一家医院的手术室分离出的 18 株诺卡氏菌属于同一个地方性基因型<sup>[28]</sup>。Louie 等用 PFGE 和 RAPD 方法对星形诺卡氏菌感染是否为假暴发进行了调查<sup>[29]</sup>。

**5.2.4 PCR-RFLP** 又称 PRA。PCR-RFLP 的基本原理是用 PCR 扩增目的 DNA,扩增产物再用特异性内切酶消化切割成不同大小片段,直接在凝胶电泳上分辨。不同等位基因的限制性酶切位点分布不同,产生不同长度的 DNA 片段条带。此项技术大大提高了目的 DNA 的含量和相对特异性,而且方法简便,分型时间短。

早在 1994 年,Lungu 等用 *groEL* 基因的 PRA 方法,从分枝杆菌属中,鉴定分离出了诺卡氏菌<sup>[30]</sup>。1995 年,Steingrube 和他的同事等用诺卡氏菌 *hsp65* 基因的 439bp 的片段进行 PRA 分析<sup>[21]</sup>,发现 PRA 在从分枝杆菌中分离鉴定出诺卡氏菌有较好的效果。与传统方法相比,这种方法节省时间、节省人力、敏感性高。

在诺卡氏菌 *hsp65* 基因中没有切点的限制性内切酶有: *BanII*、*BsaWI*、*BsrBI*、*BssHII*、*BstEII*、*EagI*、*FseI*、*HpaI*、*NciI*、*NheI*、*NotI*、*PvuII*、*RsaI*、*StuI* 和 *XhoI*;有一个切点的限制性内切酶有:*AatII*、*AciI*、*AlwNI*、*AviII*、*BanI*、*BglII*、*BsiEI*、*BstNI*、*EagI*、*HinfI*、*NaeI*、*NarI* 和 *SstII*;有两个切点的限制性内切酶有: *CfoI*、*HaeII*、*HaeIII*、*Tth111I*<sup>[23]</sup>。其他应用过的限制性内切酶有 *BsaHI* 和 *MspI* 等。

Conville 等用 16SrRNA 基因 999bp 的片段进行了 PRA 分析<sup>[25]</sup>,从临床菌株中准确地鉴定出诺卡氏菌,用 16SrRNA 基因 PRA 分析鉴定出的结果与用 *hsp65* 基因 PRA 分析鉴定出的结果一致。Laurent 等用 16SrRNA 基因 596bp 的片段进行分析<sup>[31]</sup>,发现在这 596bp 的片段中,其 DNA 有 *MlnI* 限制性酶切位点,但没有 *SacI* 限制性内切酶位点的菌株属于诺卡氏菌属;而其 DNA 不能扩增出片段的菌株不属于诺卡氏菌属;此 596bp 的片段中有一个 *SacI* 限制性内切酶位点和/或没有 *MlnI* 限制性酶切位点,表明可能是非特异性扩增,需要通过传统

鉴定方法进行进一步确认。

PCR-RFLP 方法与传统方法相比,节约了时间,但是它需要做琼脂糖凝胶电泳,计算出分离片段的大小,有时由于酶切图谱相似,也为菌种的鉴别造成了困难。

**5.2.5 SmartCycler PCR 方法** SmartCycler PCR 方法即荧光定量 PCR 方法。PCR-RFLP 方法与传统方法相比,节约了时间,但是它需要做琼脂糖凝胶电泳,计算出分离片段的大小,有时由于酶切图谱相似,也为菌种的鉴别造成了困难。荧光定量 PCR 方法,该方法花费时间少,灵敏度高,特异度高。Alfaresi 等用荧光定量 PCR 方法鉴别人 10 株诺卡氏菌标准菌、28 株诺卡氏菌临床株、5 株结核分枝杆菌临床株、3 株链霉菌临床株、3 株束杆菌临床株和 3 株红球菌临床株,所有的诺卡氏菌都被准确地鉴定出来,这种方法的敏感性为 90%,特异性为 100%<sup>[32]</sup>。

### 5.2.6 其他方法

**5.2.6.1 焦磷酸测序 (Pyrosequencing) 技术** 为新一代 DNA 序列分析技术,该技术无须进行电泳,DNA 片段也无须荧光标记,操作极为简便。焦磷酸测序技术近年来也开始初步应用到诺卡氏菌中,用于鉴定不同的临床相关诺卡氏菌株<sup>[7]</sup>。

**5.2.6.2 HPLC 技术** 即高效液相色谱法,也用于诺卡氏菌的研究之中,但是它没有鉴定诺卡氏菌到种的能力。

**5.2.6.3 基因组测序技术** 目前已对四株诺卡氏菌进行了基因测序分析,分别为 *Nocardia aobensis*, *Nocardia* sp. 107, *Nocardia* sp. C-14-1 和 *Nocardia farcinica* IFM10152。唯一一株完成全基因组测序工作的是 *Nocardia farcinica* IFM10152,它是从日本的一位男性的支气管中分离出来,在 2004 年由 Ishikawa J 等<sup>[33]</sup>完成了测序工作。此鼻疽诺卡氏菌的基因组是一个长度为 6 021 225 个碱基对、含有 5 881 个基因的环状染色体,其中 GC 含量约为 71%。鼻疽诺卡氏菌还含有两个质粒 pNF1 和 pNF2。pNF1 为 184027 个碱基对长度,由 160 个基因构成。pNF2 由 93 个基因构成,约 87 093 个碱基对长度<sup>[33]</sup>。

## 6 诊断、治疗及预后

肺部诺卡菌病的主要临床表现为脓肿形成、肺部结节、胸膜积液,X 线胸片表现为大片渗出、实变、结节、厚壁空洞、肿块等多种形态,与其他肺部疾病无特异性差异,这不仅为诺卡氏菌病的及时准确诊断带来了困难,而且诺卡氏菌病常被误诊为细菌性

肺炎、结核病、组织胞浆菌病、放线菌病、细菌性脓肿等。结合软组织脓肿和脑脓肿可增加感染诺卡氏菌的怀疑<sup>[34]</sup>。

诺卡氏菌病的治疗主要依赖化学治疗<sup>[1]</sup>。磺胺类药物是目前治疗诺卡氏菌病的一线治疗药物,首选复方磺胺甲恶唑<sup>[34]</sup>。阿米卡星、碳青霉烯类、三代头孢类药物可作为重度感染患者或过敏或免疫力极其低下患者的替代治疗药物。阿米卡星在与其他抗生素特别是碳青霉烯类、三代头孢、三甲氧苄氨嘧啶-磺胺甲恶唑(TMP-SMX, 即复方磺胺甲恶唑)联合使用时可发挥协同作用增加其他药物活性。单纯应用复方磺胺甲恶唑,治疗效果并不理想,三甲氧苄氨嘧啶和磺胺甲恶唑的联合应用效果强于单纯应用其中一种药物<sup>[34]</sup>。临床医生根据经验得出目前的药物治疗推荐三联用药,即复方磺胺甲恶唑、阿米卡星和头孢曲松钠或亚胺培南<sup>[3]</sup>。由于诺卡氏菌经常会侵入脑部,造成脓肿,有较高的死亡率,而播散性诺卡氏菌病症状出现晚,而且常会通过血液播散,造成致死性感染。全身性诺卡菌病的死亡率为 7%~44%;如果感染了菌血症,死亡率达到 50%;如果是严重的免疫损害者,死亡率高达 85%<sup>[1]</sup>。所以早期诊断利于及时治疗并减少不可逆性损伤。

## 7 耐药性研究

虽然甲氧苄氨嘧啶-磺胺甲恶唑(TMP-SMX)被认为是治疗诺卡氏菌感染的最有效药物,但仍有报道提示有极少诺卡氏菌耐药菌株的存在。诺卡氏菌通常对 β-内酰胺类、大环内酯类、氨基糖苷类抗生素和利福平耐药<sup>[35]</sup>,目前最常研究的是诺卡氏菌对利福平的耐药机制。诺卡氏菌通过多个基因和多种途径抵抗利福平的作用,最主要的是 *rpoB2* 基因的作用。

对鼻疽诺卡氏菌 IFM10152 进行全基因测序发现,鼻疽诺卡氏菌含有两个不同的 RNA 聚合酶亚基 β 亚单位基因,分别是 *rpoB* 基因和 *rpoB2* 基因,这两个基因在核苷酸水平上有 88.8% 的相似性,它们分别编码 RpoB 蛋白和 RpoB2 蛋白,诺卡氏菌 RpoB 蛋白与利福平敏感有关,而诺卡氏菌 RpoB2 蛋白与利福平抵抗有关<sup>[35]</sup>。细菌对利福平耐药,通常与 *rpoB* 基因的突变有关,但诺卡氏菌对利福平耐药,与 *rpoB* 基因的突变无关,而与 *rpoB2* 基因有关。Ishikawa J 研究发现 *rpoB2* 基因有至少两种作用机制,能提高诺卡氏菌对利福平的耐药作用<sup>[35]</sup>。一种机制是, *rpoB2* 基因编码的 RpoB2 蛋白,在利福平存在的条件下,替代 RpoB 蛋白,通过氨基酸置换作用,降低其与利福平的结合能力,发挥耐药作

用;另一种机制是 RpoB2 蛋白与聚合酶结合,引起可能存在于整个基因组中的利福平耐药潜伏基因的表达。(1525-05)除 *rpoB2* 基因,(hsp-23)诺卡氏菌的 *rox* 基因在对利福平耐药方面也发挥重要作用<sup>[36]</sup>,此 *rox* 基因编码的一种利福平单氧酶,能够将利福平转化为一种低抗菌活性的化合物 N-羟基-4-氧化利福平,能够降低利福平的抗菌作用。另外,诺卡氏菌还能产生多种利福平修饰性酶,发挥磷酸化、糖基化和核糖基化作用,使利福平失活或结构改变<sup>[36]</sup>。

## 8 诺卡氏菌的其他作用

红色诺卡氏菌细胞壁骨架又称胞必佳,是红色诺卡氏菌菌体经破碎,化学提取后而制成的冻干粉针剂。主要成分为诺卡氏菌霉菌酸,阿拉伯半乳聚糖和粘肽。胞必佳是一种新型的生物免疫调节剂,它能抑制癌细胞,增强巨噬细胞,T 细胞和自然杀伤细胞的活性,还能诱导机体产生干扰素、淋巴因子激活的杀伤细胞和肿瘤坏死因子,并参与抗癌作用。据报告,胞必佳治疗恶性胸腔积液,具有良好的疗效,不良反应低,并且更安全、简便<sup>[37]</sup>。

诺卡氏菌霉菌素(*nocardicins*)是 1976 年报道的一种从 *Nocardia uniformis* 亚种 *Nocardia tsuyamensis* 提取出的单环 β 内酰胺抗生素,它是第一个有抗菌活性的单环 β-内酰胺衍生物<sup>[38]</sup>。它有较强的抗菌活性。

康乐霉素 C 是一种新型的免疫抑制剂,属于利福霉素族,它是诺卡氏菌的发酵产物。

康乐霉素在体内和体外都有抗金黄色葡萄球菌的作用,在体外对结核分枝杆菌也有作用<sup>[39]</sup>。康乐霉素对 T 细胞有免疫作用,也能抑制 B 细胞增殖。它常用于治疗器官移植后的免疫排斥反应,也用于自身免疫性疾病的治疗。

类胡萝卜素以其营养、保健和药用的作用和其天然色泽,广泛的用作食品、化妆品和饲料添加剂。我国在江苏如东沿海滩涂淤泥中分离到的一株诺卡氏菌具有较强的产类胡萝卜素能力。

## 参考文献:

- [1] McNeil MM, Brown JM. The medically important aerobic actinomycetes: epidemiology and microbiology [J]. Clin Microbiol Rev, 1994, 7, 7(3): 357-417. DOI: 10.1128/CMR.7.3.357
- [2] Wang HJ, Xu L, Liu J, et al. A case of *Nocardia peritonitis* [J]. Chin J Infect Chemother, 2010, 10(1): 68-69. (in Chinese)
- [3] Beaman BL, Burnside J, Edwards B, et al. Nocardial infections in the United States, 1972-1974[J]. J Infect Dis, 1976, 134(3): 286-289. DOI: 10.1093/infdis/134.3.286
- [4] Boiron P, Provost F, Chevrier G, et al. Review of nocardial infections in France 1987-1990[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1992, 11(8): 709-714. DOI: 10.1007/BF01989975
- [5] Farina C, Boiron P, Ferrari I, et al. Report of human nocardiosis in Italy between 1993 and 1997[J]. Eur J Epidemiol, 2001, 17(11): 1019-1022. DOI: 10.1023/A:1020010826300
- [6] Zhang X, Xu YT, Li SR. A case of *Nocardia* infection after breast augmentation surgery[J]. J Third Mil Med Univ, 2000, 22(8): 723. (in Chinese)
- [7] 张玄, 徐咏涛, 李世荣. 隆乳术后诺卡菌感染一例[J]. 第三军医大学学报, 2000, 22(8): 723.
- [8] Brown-Elliott BA, Brown JM, Conville PS, et al. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy[J]. Clin Microbiol Rev, 2006, 19 (2): 259-282. DOI: 10.1128/CMR.19.2.259-282.2006
- [9] Xi LY, Lu CM, Zeng FQ, et al. Subcutaneous and brain abscesses caused by *Nocardia farcinica* infection in a patient with Systemic Lupus Erythematosus[J]. Chin J Dermatol, 1999, 32(5): 297-299. (in Chinese)
- [10] Yamamura H, Tamura T, Sakiyama Y, et al. *Nocardia amamiensis* sp. nov., isolated from a sugar-cane field in Japan[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2007, 57(Pt 7): 1599-1602. DOI: 10.1099/ijss.0.64829-0
- [11] King AS, Castro JG, Dow GC. *Nocardia farcinica* lung abscess presenting in the context of advanced HIV infection: Spontaneous resolution in response to highly active antiretroviral therapy alone[J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2009, 20 (3): e103-e106.
- [12] Zhu WF, Zhuang H. Medical Microbiology [M]. Beijing: Peking University Medical Press, 2007: 337-338. (in Chinese)
- [13] 朱万孚, 庄辉. 医学微生物学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2007: 337-338.
- [14] Wang X, Zhou T, Deng D, et al. A case of cutaneous nocardiosis with involvement of the trachea, anterior mediastinum and sternum[J]. Case Rep Dermatol, 2010, 2(3): 177-182. DOI: 10.1159/000321635
- [15] Saubolle MA, Sussland D. Nocardiosis: review of clinical and laboratory experience[J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(10): 4497-4501. DOI: 10.1128/JCM.41.10.4497-4501.2003
- [16] Chedid MB, Chedid MF, Porto NS, et al. *Nocardia* infections: report of 22 cases[J]. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 2007, 49 (4): 239-246. DOI: 10.1590/S0036-46652007000400009
- [17] Liang J, Yang HL, Liu ZR, et al. Mycetoma caused by *Nocardia asteroides* [J]. J Clin Dermatol, 2006, 35(10): 650-651. (in Chinese)
- [18] 梁洁, 杨慧兰, 刘仲荣, 等. 星形诺卡菌性足菌肿[J]. 临床皮肤科杂志, 2006, 35(10): 650-651.
- [19] Tellez I, Franco-Paredes C. A woman with chronic subcutane-

- ous swelling of the right foot associated with sinus tracts discharging yellow grains[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2010, 4(9): e772. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000772
- [17] Yuan SP, Wang GL, Jin S. Review of pathogenic *Nocardia* in cultured fish[J]. Microbiology, 2006, 33(2):137-141. (in Chinese)
- 袁思平, 王国良, 金珊. 养殖鱼类致病诺卡氏菌研究进展[J]. 微生物学通报, 2006, 33(2):137-141.
- [18] He XQ, Wang B. A case caused by *Nocardia brasiliensis* detected from pus[J]. People's Military Surg, 2008, 51(5):302. (in Chinese)
- 贺先奇, 王冰. 从脓液中检出巴西诺卡菌一例[J]. 人民军医, 2008, 51(5):302.
- [19] Wallace RJ Jr, Steele LC, Sumpter G, et al. Antimicrobial susceptibility patterns of *Nocardia asteroides*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1988, 32(12):1776-1779. DOI: 10.1128/AAC.32.12.1776
- [20] Pan L, Zhan QY, Tong CH. A case of pulmonary nocardiosis [J]. Chin J Infect Chemother, 2010, 10(3):226-227. (in Chinese)
- 潘玲, 詹庆元, 童朝辉. 诺卡菌肺部感染一例[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(3):226-227.
- [21] Severine T. The polymerase chain reaction in the diagnosis of infectious diseases[J]. Vet Clin Pathol, 2010, 39(3):261-262. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2010.00254.x
- [22] Rodriguez-Nava V, Couble A, Devulder G, et al. Use of PCR-restriction enzyme pattern analysis and sequencing database for hsp65 gene-based identification of *Nocardia* species[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(2):536-546. DOI: 10.1128/JCM.44.2.536-546.2006
- [23] Steingrube VA, Wilson RW, Brown BA, et al. Rapid identification of clinically significant species and taxa of aerobic actinomycetes, including *Actinomadura*, *Gordona*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, and *Tsukamurella* isolates, by DNA amplification and restriction endonuclease analysis[J]. J Clin Microbiol, 1997, 35(4):817-822.
- [24] Wada R, Itabashi C, Nakayama Y, et al. Chronic granulomatous pleuritis caused by nocardia: PCR based diagnosis by nocardial 16S rDNA in pathological specimens[J]. J Clin Pathol, 2003, 56(12):966-969. DOI: 10.1136/jcp.56.12.966
- [25] Conville PS, Zelazny AM, Witebsky FG. Analysis of *secA1* gene sequences for identification of *Nocardia* species[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44 (8): 2760-2766. DOI: 10.1128/JCM.00155-06
- [26] Exmelin L, Malbruny B, Vergnaud M, et al. Molecular study of nosocomial nocardiosis outbreak involving heart transplant recipients[J]. J Clin Microbiol, 1996, 34(4):1014-1016.
- [27] Olive DM, Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms[J]. J Clin Microbiol, 1999, 37(6):1661-1669.
- [28] Blümel J, Blümel E, Yassin AF, et al. Typing of *Nocardia farcinica* by pulsed-field gel electrophoresis reveals an endemic strain as source of hospital infections[J]. J Clin Microbiol, 1998, 36(1):118-122.
- [29] Louie L, Louie M, Simor AE. Investigation of a pseudo-outbreak of *Nocardia asteroides* infection by pulsed-field gel electrophoresis and randomly amplified polymorphic DNA PCR[J]. J Clin Microbiol, 1997, 35(6):1582-1584.
- [30] Lungu O, Della Latta P, Weitzman I, et al. Differentiation of *Nocardia* from rapidly growing *Mycobacterium* species by PCR-RFLP analysis[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 1994, 18(1):13-18. DOI: 10.1016/0732-8893(94)90128-7
- [31] Laurent FJ, Provost F, Boiron P, et al. Rapid identification of clinically relevant *Nocardia* species to genus level by 16S rRNA gene PCR[J]. J Clin Microbiol, 1999, 37(1):99-102.
- [32] Alfaresi M, Elkosh A. Rapid identification of clinically relevant *Nocardia* species using real-time PCR with SYBR Green and melting-curve analysis[J]. J Med Microbiol, 2006, 55 (12): 1711-1775. DOI: 10.1099/jmm.0.46593-0
- [33] Ishikawa J, Yamashita A, Mikami Y, et al. The complete genomic sequence of *Nocardia farcinica* IFM10152[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(41):14925-14930. DOI: 10.1073/pnas.0406410101
- [34] Wang ZL, Guo JX, Li J. Actinomycoses and *Nocardia* pulmonary infections[J]. Contemporary Med, 2007, 17(124):144-147. (in Chinese)
- 王争力, 郭金雄, 李健. 肺放线菌病与肺诺卡菌病的回顾及进展[J]. 当代医学, 2007, 17(124):144-147.
- [35] Ishikawa J, Chiba K, Kurita H, et al. Contribution of *rpoB2* RNA polymerase subunit gene to rifampin resistance in *Nocardia* species[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(4): 1342-1346. DOI: 10.1128/AAC.50.4.1342-1346.2006
- [36] Hoshino Y, Fujii S, Shinonaga H, et al. Monoxygenation of rifampicin catalyzed by the *rox* gene product of *Nocardia farcinica*: structure elucidation, gene identification and role in drug resistance[J]. J Antibiot (Tokyo), 2010, 63(1):23-28. DOI: 10.1038/ja.2009.116
- [37] Tang L, Zheng J, Huang JH, et al. *Nocardia rubra* cell-wall skeleton in treatment of pleural effusion [J]. Herald Med, 2004, 2(32):108-109. (in Chinese)
- 唐亮, 郑健, 黄捷晖, 等. 红色诺卡菌细胞壁骨架治疗恶性胸腔积液 50 例[J]. 医药导报, 2004, 2(32):108-109.
- [38] Kelly WL, Townsend CA. Mutational analysis of *nocK* and *nocL* in the nocardicin a producer *Nocardia uniformis*[J]. J Bacteriol, 2005, 187(2):739-746. DOI: 10.1128/JB.187.2.739-746.2005
- [39] Li Q, Yao ZY, Yao ET, et al. Taxonomic study on the kanglemycin producing microorganism, *Nocardia mediterranei* var. *kanglensis* 1747-64[J]. Chin J Natibiotics, 1995, 20(4):246-248. (in Chinese)
- 李群, 姚振宇, 姚恩泰等. 康乐霉素产生菌-地中海诺卡氏菌康乐变种的分类鉴定[J]. 中国抗生素杂志, 1995, 20(4):246-248.