

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.09.007

## 非哺乳期肉芽肿性乳腺炎中亲脂性棒状杆菌的检测及抗菌药物的选择\*

杨 玮<sup>1</sup>, 齐 艳<sup>1</sup>, 杨慧芬<sup>2</sup>, 罗 华<sup>2</sup>

浙江省杭州市中医院:1. 检验科;2. 乳腺外科, 浙江杭州 310007

**摘 要:**目的 探讨非哺乳期肉芽肿性乳腺炎患者乳腺穿刺液标本中亲脂性棒状杆菌的分布及对抗菌药物的敏感性。**方法** 选择 2017 年 9 月至 2018 年 5 月该院收治的 20 例非哺乳期肉芽肿性乳腺炎患者为研究对象,收集经 48 h 培养阴性的乳腺穿刺液标本,通过延长培养时间及改变培养条件进行苛养菌的培养。采用 16S rRNA 测序分析和基质辅助激光解吸离子飞行质谱技术分别进行菌种的鉴定;采用 E-test 法对最低抑菌浓度(MIC)进行测定,采用欧洲药敏试验委员会(EUCAST)标准进行敏感性判读;采用 1%吐温-80 血平板进行对照的亲脂性试验。**结果** 共分离得到 20 株苛养菌,其中 16 株克氏棒状杆菌,1 株结核硬脂酸棒状杆菌,1 株棒状杆菌某些种,2 株厌氧菌(分别是黑尔嗜脲菌和贪婪丙酸杆菌)。1 株结核硬脂酸棒状杆菌对所有试验药物均高度敏感,其余 17 株棒状杆菌体外对青霉素类、大多数头孢类药物敏感,但对红霉素、克林霉素高度耐药,少部分菌株对左氧氟沙星高度耐药。亲脂性试验显示,所有棒状杆菌均具有良好的亲脂性。**结论** 亲脂性棒状杆菌,尤其是克氏棒状杆菌与非哺乳期肉芽肿性乳腺炎密切相关,亲脂性是其重要的致病因素。实验室须高度重视并改善培养条件及运用基质辅助激光解吸离子飞行质谱技术进行准确鉴定以提高培养检出率。临床治疗建议使用亲脂性较好且敏感的利奈唑胺等抗菌药物进行目标性治疗。

**关键词:**克氏棒状杆菌; 非哺乳期肉芽肿性乳腺炎; 亲脂性棒状杆菌

**中图分类号:**R446.5

**文献标志码:**A

**文章编号:**1672-9455(2021)09-1206-05

**Detection of lipophilic corynebacterium and selection of antibacterial drugs  
in non-lactation granulomatous mastitis\***

YANG Wei<sup>1</sup>, QI Yan<sup>1</sup>, YANG Huifen<sup>2</sup>, LUO Hua<sup>2</sup>

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Breast Surgery, Hangzhou

Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310007, China

**Abstract:** **Objective** To study the distribution of lipophilic corynebacterium in the breast puncture fluid of the patients with non-lactating granulomatous mastitis and its sensitivity to antibacterial drugs. **Methods** Twenty patients with non-lactating granulomatous mastitis treated in this hospital from September 2017 to May 2018 were selected as the study subjects. The pus samples after 48 h culture negative were collected and conducted the fastidious bacterial culture by extending the culture time and changing the culture condition. The 16S rRNA sequencing analysis and matrix assisted laser desorption ion flight mass spectrometry were used to bacterial identification. The E-test method was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the EUCAST standard was used for conducting the sensitivity interpretation. The control lipophilic experiment was performed by adopting the 1% tween 80 blood plate. **Results** There were 20 strains of isolated fastidious bacteria, including 16 strains of *Corynebacterium kroppenstedtii*, 1 strain of *Corynebacterium tuberculo-stearicum*, 1 strain of *Corynebacterium* sp and 2 strains of anaerobic bacteria (*Peptoniphilus harei* and *Propionibacterium avidum*). One strain of bacillus stearate was highly sensitive to all tested drugs, and other 17 strains of corynebacterium were sensitive to penicillin and most cephalosporins, but highly resistant to erythromycin and clindamycin, and a few strains showed high resistance to levofloxacin. The lipophilic experiments showed that all corynebacterium showed good lipophicity. **Conclusion** Lipophilic corynebacterium, especially *Corynebacterium kroppenstedtii* is closely related to non-lactation granulomatous mastitis. Lipophicity is an important pathogenic factor. The laboratory must pay great attention to improve the

\* 基金项目:浙江省基础公益研究项目(LGD20H190002);浙江省卫生和计划生育委员会基金项目(2018PY048)。

作者简介:杨玮,女,副主任技师,主要从事临床微生物鉴定及耐药机制方面的研究。

本文引用格式:杨玮,齐艳,杨慧芬,等.非哺乳期肉芽肿性乳腺炎中亲脂性棒状杆菌的检测及抗菌药物的选择[J].检验医学与临床,2021,18(9):1206-1210.

culture conditions and use matrix assisted laser desorption ion flight mass spectrometry for conducting the accurate identification in order to improve the detection rate of culture. Clinical treatment is recommended to use linezolid antibacterial drugs with good lipophilicity and sensitivity for conducting the goal-oriented treatment.

**Key words:** *Corynebacterium kroppenstedtii*; non-lactation granulomatous mastitis; lipophilic corynebacterium c

肉芽肿性乳腺炎 (GLM) 是以乳腺组织肉芽肿形成为主要病理表现的乳腺慢性炎症, 主要侵犯乳腺小叶, 故也常称为肉芽肿性小叶性乳腺炎。该病近年来发病率有所上升, 主要在育龄期女性产后几年发病, 为一种慢性局灶性炎症。有关病因学说包括自身免疫反应或者乳汁的超敏反应、局部创伤、口服避孕药以及微生物感染, 但至今其病因不明<sup>[1]</sup>。目前针对 GLM 患者的抗菌药物、激素及外科手术等治疗方法的效果往往有限, 病情易复发, 甚至根据影像学及临床表现易被误诊为结核性、真菌性乳腺炎或恶性病变, 给患者带来很大的痛苦<sup>[2]</sup>。造成这些问题的部分原因是其病原菌为苛养菌, 而常规实验室因培养基培养条件有限无法培养出, 或培养出来被忽视为皮肤定植菌, 或培养出来因实验条件有限无法鉴定, 从而不能提供准确的病原学证据以致误导了临床的诊治。2002 年以来, 国外陆续有报道, GLM 与感染有关, 尤其是与克氏棒状杆菌的感染有关<sup>[3-4]</sup>, 而国内文献罕见报道。本研究旨在探讨 GLM 患者乳腺穿刺液中分离出的亲脂性棒状杆菌的分布及对抗菌药物的敏感性, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2017 年 9 月至 2018 年 5 月杭州市中医院乳腺外科门诊收治的 20 例 GLM 患者为研究对象, 患者年龄 16~48 岁, 中位年龄 34 岁, 1 例为男性, 其他均为女性。患者均通过乳腺细针进行穿刺, 在穿刺液标本中分离得到 20 株纯培养、不重复菌株, 菌株均为常规 48 h 不生长, 但通过延长培养时间至 72~96 h 或厌氧培养分离得到。患者穿刺液标本均经病理诊断为 GLM。患者相关临床资料及病原菌鉴定结果见表 1。

**1.2 仪器与试剂** PCR 扩增仪 (德国 Biometra 公司); 3730 测序仪 (美国 ABI 公司); 基质辅助激光解吸离子飞行质谱仪 (MALDI-TOF-MS, 德国 Bruker 公司); Taq 酶及 PCR 反应相关试剂 (日本 TaKaRa 公司); 血平板, 1% 吐温-80 血平板, 1% 吐温-80 血 MH 平板 (上海科马嘉生物科技有限公司); E-test 药敏条 (温州市康泰生物科技有限公司); 厌氧发生袋 (法国生物梅里埃公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 质谱分子鉴定及 16S rRNA 测序分析** 20 株菌株经 1% 吐温-80 血平板转种培养 48 h 后, 进行 MALDI-TOF-MS 菌种鉴定, 同时对提取的总 DNA

进行 16S rRNA 通用基因 27f(5'-AGAGTTTGATC-CTGGCTCAG-3', 正向引物) 和 1492r(5'-GGTTAC-CTTGTTACGACTT-3', 反向引物) 序列的扩增。在 20.0  $\mu$ L 的 PCR 反应体系中含有 10 $\times$  PCR Buffer (2.5 mmol/L, 含 MgCl<sub>2</sub>) 2.0  $\mu$ L, dNTP (2.5 mmol/L) 1.6  $\mu$ L, 引物量为 8.0 pmol, Taq (5 U/ $\mu$ L) 0.1  $\mu$ L, 加入约 50.0 ng 的模板 DNA, 其余体积以无菌超纯水补足。PCR 扩增反应过程: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 50 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 循环 30 次, 最后再 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 扩增产物。序列 PCR 扩增、凝胶电泳扩增产物及对扩增产物进行测序, 再通过 GenBank 数据库进行比对, 分析菌种名称。

**1.3.2 药敏试验** 菌株经 1% 吐温-80 血平板、35 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 复活培养 48 h 后, 制备 0.5 麦氏浊度新鲜菌液, 用纤维聚酯棉签均匀涂布 3 遍至 1% 吐温-80 血 MH 平板上, 按照 E-test 药物塑脂条厂家说明进行药敏贴条, 置于 35 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养 48 h 后读取最低抑菌浓度 (MIC) 值, 根据欧洲药敏试验委员会 (EUCAST) 标准进行敏感性判读。

**1.3.3 亲脂性试验** 菌株同时转种血平板和 1% 吐温-80 血平板, 置于培养箱培养 48 h, 肉眼观察平板上单个菌落生长情况。如果 1% 吐温-80 血平板菌落直径比一般血平板大, 即判为亲脂性试验阳性。

**1.4 相关指标定义** LogP 系数是辛醇的化合物浓度与水中浓度的比值, 是亲油性量度的分布系数, 具有高 LogP 系数的抗菌剂优先分配给亲油性组织, 正数为亲脂性, 负数为亲水性。

## 2 结果

**2.1 质谱分子鉴定及 16S rRNA 测序分析** GLM 患者乳腺穿刺液分离到的 20 株菌株经过质谱分子鉴定及 16S rRNA 测序分析鉴定, 有 19 株结果一致, 其中 16 株均为克氏棒状杆菌, 1 株为结核硬脂酸棒状杆菌, 2 株为厌氧菌, 分别为黑尔嗜脓菌和贪婪丙酸杆菌。MALDI-TOF-MS 与 16S rRNA 测序结果高度一致, 准确性达 95% (19/20)。见表 1。

**2.2 药敏试验** 除 1 株结核硬脂酸棒状杆菌 (M9) 对所有受试的 12 种抗菌药物均表现为高度敏感外, 其余 17 株棒状杆菌的药敏表型基本相同。根据 2011 年欧洲药敏试验委员会 (EUCAST) 标准进行敏感性判读, 17 株棒状杆菌对青霉素 (P)、氨苄西林/舒巴坦 (SAM)、头孢呋辛 (CFM)、头孢曲松 (CRO)、米诺环

素(MH)、利奈唑胺(LZD)、万古霉素(VA)均敏感,而对红霉素(E)、克林霉素(DA) MIC 值大于 32. 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,耐药率均达到 94. 4%。部分菌株对左氧氟沙星(LEV)和四环素(TE)高度耐药,耐药率分别为 22. 2%、27. 7%。结合药物 Log P 系数综合分析,对于由亲脂棒状杆菌引起的非哺乳期 GLM 的感染,建

议选择脂肪组织分布较好的 LZD、复方磺胺甲噁唑(SXT)、P 等进行规范治疗。P、SAM、CXM、CRO、SXT、TE、DA、LZD、VA 的 LogP 系数分别为 0. 76、 $-2. 3/-1. 5$ 、 $-2. 3$ 、 $-1. 8$ 、 $1. 28/0. 79$ 、 $-3. 5$ 、 $1. 04$ 、 $0. 64$ 、 $-4. 4$ 。其余抗菌药物的 LogP 系数在相关文献中未查到。见表 2。

表 1 20 例 GLM 患者临床资料及乳腺穿刺液标本的病原菌鉴定

| 菌株号 | 分离时间             | 性别 | 年龄(岁) | 临床诊断    | MALDI-TOF-MS 鉴定 | 16S rRNA 核苷酸相似性[ $n/n(\%)$ ] | 16S rRNA 鉴定 |
|-----|------------------|----|-------|---------|-----------------|------------------------------|-------------|
| M1  | 2017 年 9 月 4 日   | 女  | 34    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 394(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M2  | 2017 年 9 月 6 日   | 女  | 29    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 394(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M3  | 2017 年 9 月 11 日  | 女  | 28    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 395/1 396(99)              | 克氏棒状杆菌      |
| M4  | 2017 年 9 月 22 日  | 女  | 33    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 394(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M5  | 2017 年 10 月 9 日  | 女  | 39    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 394(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M6  | 2017 年 10 月 25 日 | 女  | 30    | 乳腺炎     | 结核硬脂酸棒状杆菌       | 1 391/1 391(100)             | 棒状杆菌某些种     |
| M7  | 2017 年 11 月 2 日  | 女  | 34    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 394(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M8  | 2017 年 11 月 3 日  | 女  | 39    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 394(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M9  | 2017 年 11 月 6 日  | 女  | 46    | 乳腺炎     | 结核硬脂酸棒状杆菌       | 1 391/1 391(100)             | 结核硬脂酸棒状杆菌   |
| M10 | 2017 年 11 月 17 日 | 女  | 29    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 394(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M11 | 2017 年 12 月 4 日  | 女  | 32    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 397(99)              | 克氏棒状杆菌      |
| M12 | 2017 年 12 月 23 日 | 女  | 27    | 乳头溢液    | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 394(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M13 | 2018 年 1 月 9 日   | 女  | 33    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 394(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M14 | 2018 年 1 月 19 日  | 女  | 16    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 394(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M15 | 2018 年 3 月 1 日   | 女  | 37    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 393/1 396(99)              | 克氏棒状杆菌      |
| M16 | 2018 年 3 月 19 日  | 女  | 35    | 浆细胞性乳腺炎 | 克氏棒状杆菌          | 1 382/1 382(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M17 | 2018 年 3 月 21 日  | 女  | 31    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 380/1 380(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| M18 | 2018 年 5 月 9 日   | 女  | 29    | 乳腺炎     | 克氏棒状杆菌          | 1 394/1 394(100)             | 克氏棒状杆菌      |
| A1  | 2017 年 9 月 15 日  | 女  | 48    | 乳腺炎     | 黑尔嗜脓菌           | 1 395/1 396(99)              | 黑尔嗜脓菌       |
| A2  | 2017 年 10 月 15 日 | 男  | 45    | 乳腺炎     | 贪婪丙酸杆菌          | 1 396/1 396(100)             | 贪婪丙酸杆菌      |

表 2 18 株棒状杆菌对抗菌药物的 MIC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

| 菌株号 | P             | SAM           | CXM           | CRO    | LEV            | SXT    | MH     | TE             | E              | DA             | LZD    | VA     |
|-----|---------------|---------------|---------------|--------|----------------|--------|--------|----------------|----------------|----------------|--------|--------|
| M1  | 0. 250        | 0. 250        | 0. 500        | 1. 000 | 0. 125         | 0. 016 | 1. 000 | 16. 000        | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 0. 250 |
| M2  | $\leq 0. 064$ | $\leq 0. 064$ | 0. 125        | 0. 125 | 0. 125         | 0. 016 | 0. 500 | 16. 000        | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 0. 250 |
| M3  | 0. 125        | 0. 125        | 0. 250        | 0. 250 | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 1. 000 | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 250 | 0. 250 |
| M4  | 0. 125        | 0. 064        | 0. 250        | 0. 250 | 0. 250         | 0. 032 | 0. 500 | 4. 000         | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 0. 250 |
| M5  | 0. 250        | 0. 250        | 0. 500        | 1. 000 | 0. 125         | 0. 016 | 1. 000 | 16. 000        | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 0. 250 |
| M6  | 0. 125        | 0. 125        | 0. 125        | 0. 250 | 0. 250         | 0. 250 | 0. 500 | 1. 000         | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 0. 250 |
| M7  | 0. 250        | 0. 250        | 0. 500        | 1. 000 | 0. 125         | 0. 032 | 0. 500 | 8. 000         | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 0. 250 |
| M8  | 0. 250        | 0. 250        | 0. 500        | 2. 000 | 0. 125         | 0. 016 | 0. 500 | 8. 000         | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 0. 250 |
| M9  | $\leq 0. 064$ | $\leq 0. 064$ | $\leq 0. 064$ | 0. 125 | 0. 064         | 0. 125 | 0. 125 | 0. 064         | 0. 125         | 0. 250         | 0. 064 | 0. 250 |
| M10 | 0. 500        | 0. 250        | 1. 000        | 2. 000 | 0. 125         | 0. 016 | 0. 500 | 8. 000         | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 0. 250 |
| M11 | 0. 250        | 0. 250        | 0. 500        | 0. 250 | 0. 125         | 0. 016 | 1. 000 | 8. 000         | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 0. 250 |
| M12 | 0. 500        | 0. 500        | 1. 000        | 2. 000 | 0. 125         | 0. 016 | 1. 000 | 8. 000         | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 0. 250 |
| M13 | 0. 125        | 0. 064        | 0. 500        | 0. 250 | 0. 250         | 0. 016 | 0. 500 | 8. 000         | $\geq 32. 000$ | $\geq 32. 000$ | 0. 125 | 0. 250 |



续表 2 18 株棒状杆菌抗菌药物的 MIC(μg/mL)

| 菌株号 | P      | SAM    | CXM    | CRO    | LEV     | SXT     | MH     | TE     | E       | DA      | LZD    | VA    |
|-----|--------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|---------|---------|--------|-------|
| M14 | ≤0.064 | ≤0.064 | ≤0.064 | ≤0.064 | 0.125   | 0.016   | ≤0.064 | ≤0.064 | ≥32.000 | ≥32.000 | ≤0.064 | 0.250 |
| M15 | 0.500  | 0.250  | 1.000  | 0.500  | ≥32.000 | 0.064   | ≤0.064 | ≤0.064 | ≥32.000 | ≥32.000 | ≤0.064 | 0.250 |
| M16 | ≤0.064 | 0.064  | ≤0.064 | 0.125  | 0.250   | ≥32.000 | 1.000  | 8.000  | ≥32.000 | ≥32.000 | 0.125  | 0.250 |
| M17 | 0.500  | 0.500  | 1.000  | 1.000  | ≥32.000 | 0.016   | 0.500  | 8.000  | ≥32.000 | ≥32.000 | 0.125  | 0.250 |
| M18 | 0.500  | 0.500  | 1.000  | 1.000  | ≥32.000 | 0.016   | 1.000  | 16.000 | ≥32.000 | ≥32.000 | 0.125  | 0.250 |

注:M6 和 M9 为结核硬脂酸棒状杆菌,其余 16 株均为克氏棒状杆菌。

**2.3 亲脂性试验** 结果显示,16 株克氏棒状杆菌及 2 株其他种棒状杆菌亲脂性试验结果为强阳性,2 株厌氧菌延长培养时间后也具有一定的亲脂性。

3 讨 论

非哺乳期乳腺炎的病原菌构成较为复杂<sup>[5]</sup>,其诊治相对比较困难,主要依靠临床表现、B 超、病理检查、微生物培养。本研究对 GLM 患者的乳腺穿刺液培养 48 h 后报告阴性的标本通过延长培养时间及改变培养条件,共分离到罕见菌 20 株,其中 16 株均为克氏棒状杆菌,2 株为结核硬脂酸棒状杆菌,2 株为厌氧菌,体外试验提示所有棒状杆菌均表现了较好的亲脂性,这些均提示了克氏棒状杆菌等亲脂性革兰阳性菌在非哺乳期 GLM 中具有重要价值。由于乳腺组织具有富脂性,而常用抗菌药物多为亲水性,从而导致常规抗菌治疗疗效有限并易复发。本研究通过体外试验筛选出亲脂性较好且敏感性高的抗菌药物,从而可以指导临床进行合理使用。

克氏棒状杆菌是一种少见的革兰阳性亲脂性棒状杆菌,因该菌缺乏特征性的分支酸而在常规培养基培养 48 h 后难以生长,该菌在 GLM 的发病过程中具有重要作用,国外已有相关报道<sup>[3-4]</sup>。本研究分离得到的棒状杆菌均来自 GLM 患者的乳腺穿刺液且为纯培养,有 3 株菌株分别在其来源宿主中多次反复分离到,并且在大部分不同患者中均分离出同一种菌。由此可见,克氏棒状杆菌在 GLM 临床诊断中具有重要价值。因为克氏棒状杆菌具有亲脂性,也可见其在血液、心脏瓣膜、导管出口等富含脂肪组织部位感染的病例报道<sup>[6]</sup>。然而,目前大多数实验室对于常规培养基 48 h 不生长或者生长不良的菌株,或者生长出来但对其致病性不了解,常将其作为污染菌处理。同时,因目前使用的法国生物梅里埃 API、VITEK2,美国 BD 公司的 Phonix 等生化鉴定系统的数据库目录中尚缺乏该菌名称从而导致常规实验室无法培养及鉴定出该菌。本研究证实 MALDI-TOF-MS 分析结果与 16S rRNA 测序结果高度一致,准确性可达 95%,提示常规实验室应积极采用质谱仪才能准确进行菌种鉴定。鉴于该菌在 GLM 中的重要意义,进一步研发基于特异性免疫乳胶凝集或 PCR 探针等技术的快速诊断试剂盒,将有助于常规实验室对克氏棒状杆菌

的快速筛查。此外,本研究中也分离到 2 株结核硬脂酸棒状杆菌,亲脂性试验也为阳性,说明其在 GLM 中也具有一定的价值,与国外病例报道一致<sup>[7]</sup>。另外对于 M6 菌株两种试验方法重复鉴定结果不完全一致,可能与菌株本身特性或实验技术有关,仍需进一步研究证实。

此外,本研究纯培养分离到 2 株乳腺来源的厌氧菌,目前国内外报道少见,分别为菌株 A1 黑尔嗜脓菌和 A2 贪婪丙酸杆菌,亲脂性试验也为阳性。黑尔嗜脓菌是少见的革兰阳性厌氧球菌,实验室易误鉴定为不解糖嗜脓菌,但其独立引起乳腺炎罕见报道<sup>[8]</sup>。贪婪丙酸杆菌一般定植在人体皮脂腺丰富部位,是一种生长缓慢、低毒力但易被临床忽视的革兰阳性厌氧杆菌,该菌具有一种特殊的类似胞外聚合物的结构,有助于形成生物膜,抵抗免疫清除作用,最终导致慢性的顽固感染<sup>[9]</sup>。目前国外有乳腺外科手术后发生慢性化脓性感染的个案报道<sup>[10-11]</sup>,本研究的唯一男性 GLM 患者临床情况与杨晓芳等<sup>[12]</sup>报道相似。因此,临床微生物实验室要重视乳腺脓液中厌氧菌的培养,降低漏检率,更好地指导临床诊治。

此外,本研究通过提高培养基脂质成分,可使亲脂棒杆状菌培养 48 h 后生长良好,提示针对乳腺等富含脂肪组织部位病原菌的分离建议使用富脂性平板,将会极大提高特殊亲脂性微生物的检出率。本研究使用的 1%吐温-80 血平板,在培养后平板因吐温的脂溶性往往促进羊血溶血。因此,添加富脂奶制品等优化培养基的研发正在进行中。

本研究中棒状杆菌的体外药敏试验结果显示,除 E、DA 整体表现为高度耐药及部分菌株对 LEV 高度耐药外,其他药物均表现较低的 MIC。M9 菌株为结核硬脂酸棒状杆菌,其体外药敏试验表现为高度敏感,与国外报道不同<sup>[7,13]</sup>。然而目前针对 GLM 的抗菌药物治疗效果不佳,可能原因如下:导致乳腺感染的病原菌多为富脂性,而临床常用药往往为水溶性抗菌药物。本研究中 18 株亲脂性棒状杆菌对亲脂性较高的 DA 却表现为高度耐药,因此建议使用 Log P 系数尚可且 MIC 非常稳定的 LZD,与国外治疗成功的案例报道一致<sup>[14]</sup>。

参考文献

[1] ZHOU F, YU L X, MA Z B, et al. Granulomatous lobular

- mastitis[J]. *Chronic Dis Transl Med*, 2016, 2(1):17-21.
- [2] 周飞, 刘璐, 余之刚. 非哺乳期乳腺炎诊治专家共识[J]. *中国实用外科杂志*, 2016, 36(7):755-758.
  - [3] PAVIOUR S, MUSAAD S, ROBERTS S et al. *Corynebacterium* species isolated from patients with mastitis[J]. *Clin Infect Dis*, 2002, 35(11):434-440.
  - [4] KIVILCIM T, ALTINTOPRAK F, MEMIS B, et al. Role of bacteriological agents in idiopathic granulomatous mastitis: real or not[J]. *Eur J Breast Health*, 2018, 15(1):32-36.
  - [5] WOLFRUM A, KÜMMEL S, THEUERKAUF I, et al. Granulomatous mastitis: a therapeutic and diagnostic challenge[J]. *Breast Care (Basel)*, 2018, 13(6):413-418.
  - [6] WONG S C Y, POON R W S, CHEN J H K, et al. *Corynebacterium kroppenstedtii* is an emerging cause of mastitis especially in patients with psychiatric illness on antipsychotic medication[J]. *Open Forum Infect Dis*, 2017, 4(2):ofx096.
  - [7] DOBINSON H C, ANDERSON T P, CHAMBERS S T, et al. Antimicrobial treatment options for granulomatous mastitis caused by *corynebacterium* species[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(9):2895-2899.
  - [8] ABDULRAHMAN G O, GATELEY C A. Primary actinomycosis of the breast caused by *Actinomyces turicensis* with associated *Peptoniphilus harei*[J]. *Breast Dis*, 2015, 35(1):45-47.
  - [9] CORVEC S. Clinical and biological features of cutibacterium (formerly propionibacterium) avidum, an underrecognized microorganism[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2018, 31(3):e00064-e00067.
  - [10] SUMMA P G, YVON A, LARCHER L, et al. Propionibacterium avidum infection following breast reduction: high morbidity from a low-virulence pathogen[J]. *J Surg Case Rep*, 2015, 2015(2):rjv002.
  - [11] KRITIKOS A, PAGIN M, BORENS O, et al. Identification of Propionibacterium avidum from a breast abscess: an overlooked etiology of clinically significant infections[J]. *New Microbes New Infect*, 2015, 4:9-10.
  - [12] 杨晓芳, 郭凤丽, 周友全, 等. 贪婪丙酸杆菌致男性乳腺炎 1 例[J]. *临床检验杂志*, 2017, 35(5):400.
  - [13] BERNARD K A, PACHECO A L. In vitro activity of 22 antimicrobial agents against *Corynebacterium* and *Microbacterium* species referred to the Canadian National Microbiology Laboratory[J]. *Clin Microbiol News*, 2015, 37(23):187-198.
  - [14] GOTO M, MORIMOTO T, MIURA M, et al. Four cases of granulomatous mastitis[J]. *J Japan Surg Assoc*, 2012, 73(6):1331-1336.

(收稿日期:2020-03-20 修回日期:2020-08-20)

(上接第 1205 页)

## 参考文献

- [1] DANIELS G. Human blood groups[M]. 3rd ed. Oxford: Wiley-Blackwell Science, 2013:96-161.
- [2] WEI L, SHAN Z G, FLOWER R L, et al. The distribution of MNS hybrid glycoproteins with Mur antigen expression in Chinese donors including identification of a novel GYP. Bun allele[J]. *Vox Sang*, 2016, 111(3):308-314.
- [3] 梁宝华, 黄燕芬, 郑博金, 等. 输血前不规则抗体筛查在避免免疫溶血性输血反应中的预防效果分析[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(13):1880-1885.
- [4] 黄津明, 周小兰. 2 865 例新生儿溶血病脐带血检测结果分析[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(16):2316-2322.
- [5] MALLARI R A, CHAN A, POWERS R J, et al. Fetal inheritance of GP\* Mur causing severe HDFN in an unrecognized case of maternal alloimmunization[J]. *Transfusion*, 2020, 60(4):870-874.
- [6] 顾萍, 傅启华, 王静. 儿童抗-M 引起的血型鉴定困难分析 7 例[J]. *中国输血杂志*, 2015, 28(8):1009-1011.
- [7] 孙爱农, 魏双施, 廖艳婷, 等. 人源 Mur 血型抗体的鉴定和应用(附 1 例报告)[J]. *中国输血杂志*, 2016, 29(12):1327-1330.
- [8] FUNG M K, GROSSMAN B J, HILLYER C D, et al. AABB Technical manual[M]. 18th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks (AABB), 2014:138.
- [9] 常婧妍, 王鹏, 周敏榆, 等. 不同地区 MNS 血型系统与 M、N、S、s、Mur<sup>+</sup> 抗原基因型一致性分析[J]. *中国输血杂志*, 2019, 32(11):1148-1151.
- [10] LIN X, RUBIO G, PATEL J, et al. Hybrid glycoprotein and red blood cell antigen genotyping in Asian American type O blood donors with Mia phenotype[J]. *Transfusion*, 2019, 59(12):3767-3775.
- [11] CLARE M. The minimum requirements for red cell serological testing[J]. *ISBT Sci Series*, 2011, 6(1):189-192.
- [12] 孙爱农, 李乔, 向东, 等. 献血者 Mia 和 Mur 血型研究及 1 例 GP. Vw 结合子的检出[J]. *中国输血杂志*, 2018, 31(9):943-947.
- [13] 梁延连, 苏宇清, 喻琼, 等. 中国汉族人群红细胞 MNS 血型系统 M、N 抗原数量表达的研究[J]. *国际输血及血液学杂志*, 2010, 33(5):391-394.
- [14] 林杰, 郭杰, 林碧, 等. 温州地区汉族人群 MN 血型表现型分析及基因频率调查[J]. *临床血液学杂志(输血与检验)*, 2017, 30(3):447-449.
- [15] POOLE J, KING M J, MAK K H, et al. The Mi III phenotype among Chinese donors in Hong Kong: immunological and serological studies[J]. *Transfus Med*, 1991, 1(3):169-175.

(收稿日期:2020-12-16 修回日期:2021-02-17)