

· 临床检验研究论著 ·

胃癌患者化疗后引发黑曲霉菌血症的实验诊断和治疗*

尹秀云¹, 陈建魁^{1△}, 曾利军¹, 王琳¹, 于农¹, 宋世平¹, 林莉², 陈祎霏³, 黄媛¹, 金欣¹, 左向华¹

(1. 军事医学科学院附属医院检验科, 北京 100071; 2. 全军肿瘤中心, 北京 100071;

3. 北京大学医学部基础医学院, 北京 100191)

摘要:目的 探讨黑曲霉菌引起胃癌患者血流感染的实验诊断方法和治疗措施。方法 采用 BacT/Alert 3D 全自动血培养仪进行血培养; 仪器报警后, 结合 GM/G 试验、sCRP 和 PCT 等血清学结果, 将标本转种于沙氏培养基行真菌培养。根据其菌落特点和镜下形态等特征鉴定真菌种类, 采用 MIC 方法进行真菌体外药敏试验。结果 从该患者血培养标本中分离出真菌并鉴定为黑曲霉菌, 体外药敏试验显示对伏立康唑、卡泊芬净有较低的 MIC 值, 分别为 0.25 μg/mL、0.06 g/mL。遂选用伏立康唑治疗取得满意效果。结论 通过行血培养, 结合 GM 和 G 试验等血清学方法及 sCRP 和 PCT 等感染指标, 可指导曲霉菌的培养和鉴定。

关键词:胃癌; 化疗; 黑曲霉菌; 血流感染; 伏立康唑

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.22.037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)22-3022-02

Experimental diagnosis and treatment of Aspergillus niger infections in patient with stomach cancer*

Yin Xiuyun¹, Chen Jiankui^{1△}, Zeng Lijun¹, Wang Lin¹, Yu Nong¹,Song Shiping¹, Lin Li², Chen Yifei³, Huang Yuan¹, Jin Xin¹, Zuo Xianghua¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Cancer research center of PLA, the Affiliated Hospital

of Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China; 3. School of Basic Medical

Sciences, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract: Objective To discuss the laboratory diagnosis and therapeutic measures of bloodstream infection caused by Aspergillus niger in patients with gastric carcinoma after the chemotherapy. **Methods** The BacT/Alert 3D full-automatic blood culture instrument was used to culture the blood. After the microbial positive alarm, combining the serological results of GM, GKT, sCRP, PCT and other methods, the specimen of blood culture were inoculated in Sabouraud medium to do fungal culture. According to the bacterial colony and morphological characteristics under the microscope to identify the pathogenic fungi. And then employ the MIC way to do drug sensitive test of fungi in vitro. **Results** The vitro tests showed that the MIC of voriconazole and caspofungin to the aspergillus niger isolated from the specimen of culture blood were relatively lower, they were 0.25 μg/mL and 0.06 g/mL respectively. Voriconazole was chosen as treatment drug and achieved satisfactory results. **Conclusion** Through blood culture, combining the GM and GKT tests and other serological methods, plus sCRP and PCT infection index, all of these could help to guide the identification of Aspergillus niger.

Key words: gastric carcinoma; chemotherapy; Aspergillus niger; bloodstream infection; voriconazole

随着现代肿瘤治疗学的发展, 手术治疗和靶向药物治疗等现代治疗技术的应用, 使许多癌症患者得到了有效治疗, 提高了生存率。但在其治疗过程中, 患者的免疫功能常常受到损害而成为侵袭性曲霉菌感染的高危人群, 严重者可危及患者生命。本研究从化疗后胃癌患者的血培养标本中, 检出黑曲霉菌。临床医师根据药敏试验结果, 及时给予药敏试验敏感的伏立康唑足量全程抗真菌治疗, 使感染得到及时控制, 患者治愈出院, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者男, 62 岁, 无明显诱因排出大量黑便, 无鲜血, 无黏液脓血, 排便后出现恶心、呕吐, 呕吐物为咖啡色物质就诊。胃镜检查提示: 胃多发溃疡型肿瘤; 病理提示: (胃角) 低分化黏液腺癌浸润, 部分呈印戒细胞癌; (贲门口下方) 中-高分化腺癌浸润。随后在全麻下行胃癌根治、全胃切除术; 行 2 周期辅助化疗后出院。后因“消化道出血”行肝动脉栓塞术止血治疗。近来出现上腹部不适加重, 伴小便疼, 反复发热,

体温最高达 39.5 °C, 再次入院治疗。入院后体格检查: 双肺无干湿罗音, 呼吸音清晰, 贫血貌。实验室检查: 尿白细胞 2+, 尿红细胞 2+, 尿蛋白 1+; 血白细胞 $7.7 \times 10^9/L$, 中性粒细胞 0.657, 血红蛋白 78 g/L; 降钙素原 (PCT) 3.74 ng/mL; 血清超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 144.0 mg/L; 抽血 4 套行血细菌和真菌培养。临床考虑泌尿系感染, 不除外菌血症的可能。于是行左氧氟沙星+头孢呋辛抗感染治疗 2 d 后, 患者仍寒战、高热, 全身感染症状较重, 治疗效果欠佳, 将抗生素调整为美罗培南和万古霉素抗感染治疗; 复查 hs-CRP 下降至 45.0 mg/L, 但 PCT 逐渐升高至 9.45 ng/mL。1 周后, 患者无明显诱因再次出现畏寒、发热, 体温最高 39.5 °C。此时 2 瓶血培养中涂片均找到真菌菌丝, 疑似曲霉菌 (最终鉴定结果为黑曲霉菌); 其他检验结果: 半乳甘露聚糖 (GM) 检测和真菌 D-葡聚糖试验 (G 试验) 分别为 4.66 ng/mL、62.30 pg/mL, PCT 已升高至 72.67 ng/mL, hs-CRP 再次升高 (66 mg/L), 结合血流感染诊断标准^[2]综合考虑诊断为真菌性脓毒血症。于是停用美罗培南和

* 基金项目: 国家重大科学仪器设备开发专项资助项目 (2012YQ18011708); 国家科技重大专项课题资助项目 (2013ZX10004203)。作者简介: 尹秀云, 女, 副主任技师, 主要从事临床微生物学实验诊断工作。△ 通讯作者, E-mail: pla307lab@126.com。

万古霉素, 给予伏立康唑 200 mg 静滴 2 次/日。1 周后复查检验结果: 真菌 GM 试验降至正常 (0.16 ng/mL)、hs-CRP 降至 30 mg/L、PCT 较前明显下降 (4.04 ng/mL), 且患者情况较前明显改善, 检验结果提示感染较前明显好转, 说明抗真菌感染治疗有效。2 周后患者一般状况较好, 相关检验结果无异常, 患者出院继续服药巩固治疗。1 个月后复检, 已治愈。

1.2 试剂与仪器 培养基购自英国 Oxoid 公司, BacT/Alert 3D 和配套血培养瓶均购自美国 ORGANON TEKNIKA 公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 在患者寒颤或高热时, 双侧胳膊无菌操作抽取静脉血 4 套, 每瓶 10 mL, 迅速注入专用血培养瓶中, 混匀后立即送检。

1.3.2 病原微生物培养及分离 血培养瓶在 BacT/Alert 3D 全自动血培养仪中进行培养, 当仪器报警提示阳性时, 立即转种血琼脂平板、麦康凯平板和巧克力平板行细菌培养, 同时接种于沙堡弱培养基 (SDA) 和马铃薯培养基 (PDA) 行真菌培养, 且将标本涂片行革兰染色镜检并及时通知临床医生初步结果。用小培养法 (钢圈法) 观察真菌形态学: 培养基用 PDA, 25 °C 培养 7 d, 乳酸酚棉蓝染色观察结果。**1.3.3 真菌鉴定和药敏试验** 根据真菌培养的菌落特点和镜下形态鉴定致病真菌, 采用 MIC 方法进行真菌药敏试验。病原菌培养、鉴定和药敏试验严格按照《全国临床检验操作规程》进行。

2 结果

2.1 真菌学检查结果 (1) 直接镜检: 血培养仪器报警后取出培养瓶, 用注射器抽取标本涂片可见透明、呈 45° 角的分支菌丝。(2) 培养检查: 菌落特征, 在 SDA 培养基上菌落生长快, 表面黑色, 粉末状。显微镜特征, 小培养 (钢圈法) 镜下可见分生孢子头顶囊球形或近球形, 小梗双层, 第 1 层粗大, 第 2 层短小呈放射状排列, 布满整个顶囊, 黑色, 顶囊有链形孢子。根据以上特征, 该真菌鉴定为黑曲霉菌。

2.2 细菌学检查结果 仪器报警后血培养瓶中取出的标本直接镜检和培养检查均无细菌。

2.3 真菌药敏试验 4 种抗真菌药的结果为: 伏立康唑 0.25 μg/mL, 两性霉素 B 4.0 μg/mL, 伊曲康唑 0.5 μg/mL, 卡泊芬

净 0.06 μg/mL。

3 讨论

近年来, 随着免疫抑制剂的广泛应用, 曲霉菌所致的条件性感染发病不断上升, 已成为仅次于念珠菌感染的第 2 大深部真菌病^[2]。侵袭性曲霉病具有高发病率和高病死率, 然而, 利用自动化仪器进行血培养曲霉菌阳性的结果几乎未见报道^[3-4]。本研究根据 GM 和 G 试验以及 PCT 浓度的变化趋势, 结合临床表现初步判断为曲霉菌感染, 于是对该患者的血培养进行反复传代, 延长培养时间, 直至第 10 天仪器才报警提示阳性结果。随即取出培养物进行压片, 镜下看到透明、呈 45° 角的分支菌丝, 初步报告临床后, 继续转种培养行鉴定和药敏试验, 最终确定为黑曲霉菌感染。本研究结果提示, 在临床曲霉菌感染中要善于结合相关的实验结果指导工作。如 GM 和 G 试验是诊断侵袭性真菌感染可靠的指标, 曲霉菌感染时, PCT 会较细菌感染延迟上升; 而念珠菌相关的脓毒症在大多数情况下, PCT 浓度一般在 0.05 ~ 2.00 ng/mL 之间起伏, 不会有非常明显的升高。另外, 怀疑曲霉菌感染或其他真菌感染时, 要及时转种到固体培养基上进一步鉴定, 这样才能提高全自动血培养仪对曲霉菌血症的检出率, 为患者的诊治提供准确的实验室依据。

参考文献

[1] 周庭银, 倪语星, 王明贵. 血流感染实验诊断与临床诊治[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2011.
 [2] 张梦宇, 郑磊, 王前. 深部曲霉菌感染实验室诊断进展[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(10): 913-915.
 [3] 尹秀云, 陈建魁, 曾利军, 等. 临床微生物培养不合格标本的特点及解决对策[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(20): 2499-2501.
 [4] Rosa C, Araujo R, Rodrigues AG, et al. Detection of Aspergillus species in BACTEC blood cultures[J]. Med Microbiol, 2011, 60 (Pt 10): 1467-1471.

(收稿日期: 2013-06-18)

(上接第 3021 页)

时, 可能会形成比较大片段的染色体重复或缺失, 此类胚胎多以流产形式被自然淘汰, 因此 inv(9)(p12q13) 倒位携带者可以不做产前诊断。本文中的 4 例倒位型染色体均为臂间倒位, 未发现臂内倒位。

本文中染色体多态有 75 例, 占 17.2%。多态的类型分别有 9qh+, 9qh-, Yqh+, Yqh-, 16qh+, 16qh-, 21p+, 22p+, 15p+ 和 1qh+。在同一染色体核型 Y 染色体长度小于或等于 21 号染色体作为小 Y 的诊断标准, 用 Yqh- 表示。本研究 Yqh- 在反复自然流产或胚胎停育史夫妇的男性受检者的发生率高达 23.8%, 此高发生率提示 Yqh- 也可能是导致患者反复流产或胚胎停育的原因之一。Y 染色体异染色质区的变异可能导致细胞有丝分裂发生错误, 或因为位置效应使某些基因的表达受到干扰, 从而影响受精卵的分裂分化, 导致胚胎早期发育障碍而出现流产或停止发育等不良后果^[6]。

导致反复流产或胚胎停育的原因有很多, 如遗传基因缺陷、母体因素、内分泌因素、免疫功能异常和环境因素等, 其中染色体异常是导致自然流产的重要原因之一。因此, 对于临床上不明原因反复流产或胚胎停育的夫妇双方进行染色体检查,

不仅能对患者进行细胞遗传学诊断, 更重要的是为优生提供正确的诊断依据和指导, 降低出生缺陷, 防止染色体异常患儿的出生。

参考文献

[1] 曹贇孙, 陈晓燕. 妇产科综合征[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003.
 [2] Berkowitz BJ, Jones JG, Merkatz IR, et al. Ovarian conservation in placental site trophoblastic tumor[J]. Gynecol Oncol, 1990, 37 (2): 239-243.
 [3] Machtinger R, Godieb WH. Placental site trophoblastic tumor: outcome of five cases including fertility preserving management [J]. J Gynecol Oncol, 2005, 96(1): 56-61.
 [4] 夏家辉, 李麓芸. 染色体病[M]. 北京: 科学出版社, 1989.
 [5] 李文典, 刘莉, 周玉球, 等. 反复流产夫妇外周血染色体分析[J]. 中华妇产科杂志, 1997, 32(11): 697.
 [6] 张海霞. 染色体多态与遗传效应的研究[J]. 中国检验医学杂志, 2010, 11(3): 175-176.

(收稿日期: 2013-06-18)