

• 个案分析 •

类鼻疽伯克霍尔德菌致尿路感染合并败血症 1 例*

李 晋, 鲁卫平, 黎 敏, 臧 婉, 周道红, 王 艺, 幸 运, 李 进, 马珊珊, 唐 霜, 张峰领[△]

(陆军军医大学第三附属医院检验科, 重庆 400042)

关键词: 类鼻疽伯克霍尔德菌; 败血症; 尿路感染

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.05.036

中图法分类号: R446.5

文章编号: 1673-4130(2018)05-0638-03

文献标识码: C

类鼻疽伯克霍尔德菌(BP)可引起地方性传染疾病—类鼻疽病,其主要的传染途径是由皮肤伤口接触、吸入或食入受污染的土壤、水或尘土而受感染。主要侵犯的器官是肺部,常造成肺炎、肺部空洞,也可能侵犯肝、脾、肾、皮肤等器官,本病平均潜伏期为 9~21 d,也有长达数月或数年者^[1]。该病临床表现多样化,与鼻疽伯克霍尔德菌引起的感染表现极为相似,极易出现误诊。其主要流行区域位于东南亚和澳大利亚北部等热带及亚热带地区。在我国,主要的疫源地位于海南、福建、广东、广西、香港、台湾等北纬 25°以南的亚热带地区^[2]。重庆属于非疫源地,为加强实验室人员及临床医生对该病的认识,现将 2017 年 5 月实验室从 1 例感染发热的患者血液及尿液标本中首次分离出的类鼻疽伯克霍尔德菌病例进行分析报道。

1 病例资料

患者,男,55 岁,系重庆市某区居民。因“血糖升高 15 年,乏力 1 月,发热伴尿频、尿急,尿痛 3 d”入院。患者于 15 年前因无明显诱因出现乏力、消瘦和血糖升高等症状在他院诊断为“糖尿病”,给予诺和龙 1 片口服 3 次/日,二甲双胍 1 片口服 3 次/日控制血糖,血糖控制不佳,于 2 年前无明显诱因出现头晕、视物模糊、左拇指麻木等症状来本院完善相关检查后确诊为“2 型糖尿病、糖尿病周围神经病变、右眼糖尿病视网膜病变、高血压 1 级极高危组、脑梗死、双侧颈动脉斑块形成、血脂紊乱、右眼白内障(初期)”。给予降糖、营养神经等治疗明显好转出院,除此外患者因车祸伤“左锁骨、右胫骨平台骨折切开复位、骨植内固定左膝前交叉韧带修复术、左眼因外伤眼球假体术、神经性皮炎十余年”。1 月余前患者于泰国旅游后自觉全身乏力,倦怠,头晕等症状较前加重,视物旋转,伴步态不稳,无耳鸣、头痛、胸闷、胸痛,未进行进一步诊治,5 d 前患者出现恶心、腹胀、无呕吐、无腹痛、腹泻;3 d 前,患者出现全身发热,大汗,伴寒战,尿频、尿急、尿痛、无腰痛、茶色尿、来本院高血压内分泌科门诊诊治后以“糖尿病、脑梗死”收入院,入院诊断“2 型糖尿

病、糖尿病周围神经病变、有眼糖尿病视网膜病变、高血压 1 级极高危组、脑梗死、泌尿系统感染”,患者于 2017 年 5 月 21 日在本院高血压内分泌科入院治疗。实验室检查:血常规, HGB 93 g/L、RBC $3.21 \times 10^{12}/L$ 、WBC $12.28 \times 10^9/L$ 、NEUT 82.5%、CRP 240.4 mg/L,其他指标正常;尿常规, LEU +++、PRO ++、GLU ++++、BLD ++、镜检 RBC 88 个/ μL 、镜检 WBC 1 450 个/ μL ;患者入院后间断发热伴尿路刺激,结合其他检验项目,于入院当日取样血培养及尿培养标本,均分离出类鼻疽伯克霍尔德菌,通知临床实施隔离措施,上报感控机构进行下一步治疗措施。根据药敏结果调整患者治疗方案,选用头孢他啶(每日 6 g,分 2 次静脉滴注)进行起始强化治疗,时间持续 2 周,后经家属要求转院治疗,1 个月后随访患者情况,得知状况良好,继续长程抗生素治疗中(长程治疗采用口服复方磺胺甲噁唑联合四环素,时间为 3~6 个月)^[3]。

2 方 法

2.1 细菌分离培养 取尿液标本接种于血平板和麦康凯平板(均为赛默飞公司),置于 35℃ 培养;无菌采集血液标本接种 2 套(双侧采血)血培养瓶置于 Bact/ALERT 3D 120 全自动血培养仪(法国生物梅里埃公司)检测。2 套需氧血培养瓶均报告阳性,平均报阳时间 32.3 h,直接涂片革兰染色显示为革兰阴性杆菌,厌氧血培养瓶培养 5 d 无细菌生长。将阳性瓶内培养液转种于血平板,置于 5% CO₂、35℃ 培养;48 h 后与尿液培养(尿液菌落计数大于 10×10^4 CFU/mL)均生长出相同菌落:血平板上中等大小菌落,湿润、半透明、凸起,可产生灰黄色色素、有些菌株可呈现皱褶、形似“车轮状”,出现 β 溶血^[4]。在麦康凯平板上亦可生长菌落散发特有的气味,易被误认为同属其他菌种(泰国或洋葱伯克霍尔德菌)^[5]。细菌革兰染色镜下形态:革兰阴性短小杆菌。菌落及镜下形态分别见图

* 基金项目:全军医学科研“十二五”面上项目(CWS13J039)。

[△] 通信作者, E-mail: zhangfengling.shen@163.com。

本文引用格式:李晋,鲁卫平,黎敏,等.类鼻疽伯克霍尔德菌致尿路感染合并败血症 1 例[J].国际检验医学杂志,2018,39(5):638-640.

1、2。



图 1 培养 48 h 血平板菌落形态

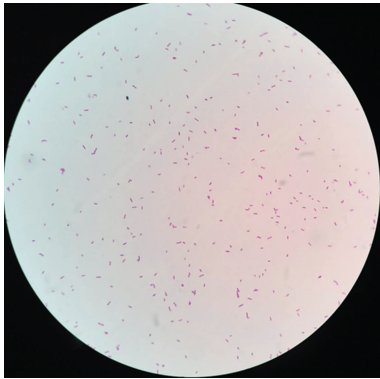


图 2 细菌革兰染色结果(×1 000)

2.2 细菌生化鉴定 采用 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪(法国生物梅里埃公司)及配套 GN 卡进行细菌鉴定,结果为类鼻疽伯克霍尔德菌,生物编码为:0003451513500211,鉴定率为 99%。采用 Vietk MS 质谱系统进行复核菌种鉴定,结果仍为类鼻疽伯克霍尔德菌,鉴定率为 99.9%。

2.3 分子生物学鉴定 以细菌基因组 DNA 为模板,参照文献合成 16S rRNA 基因引物。上游引物为 5'-GAT CAT GGC TCA GAT TGA AC-3';下游引物为 5'-CTA CGG TTA CCT TGT TAC GA-3',扩增产物长度为 1397 bp。PCR 反应采用 Ex Taq(大连宝生生物公司)试剂盒。25 μ L 反应体系:2 $\times$ Ex Taq Prex 12.5 μ L,10 μ mol/L 上、下游引物各 0.5 μ L,模板 1 μ L,ddH₂O 10.5 μ L。扩增条件:94 $^{\circ}$ C 5 min;94 $^{\circ}$ C 30 s,55 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 1 min(35 个循环);72 $^{\circ}$ C 10 min。扩增产物由深圳华大基因公司进行双向测序,测序结果与 GenBank 核酸数据库进行 BLAST 序列比对,显示该序列与类鼻疽伯克霍尔德菌(GenBank No. CP004379.1 和 CP004380.1)相似度为 100%。

2.4 药敏试验 采用 VITEK 2 Compact 配套 AST-GN13 药敏卡(法国生物梅里埃公司)进行药物敏感性试验,结果显示:该菌株对头孢他啶、亚胺培南、左氧氟沙星和复方磺胺甲噁唑敏感;对氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、头孢唑啉、头孢曲松、头孢替坦、头孢吡肟、氨曲南、阿米卡星、庆大霉素、妥布霉素、环丙沙星、呋喃妥因耐药^[6]。

3 讨论

类鼻疽伯克霍尔德菌可感染人和动物,在 2006 年被美国疾控中心列为 B 类病原体,具有强烈的致病性,可作为生物恐怖制剂。类鼻疽伯克霍尔德菌引起的类鼻疽病发病初期可出现畏寒、发热、头痛、胸痛、腹痛、尿频、尿急、尿痛等非特异性表现,特别在非流行地区,极易误诊^[7]。

本实验室从 1 例尿路感染合并败血症患者的尿液和血液标本中分离出类鼻疽伯克霍尔德菌,通过常规的生化鉴定和质谱蛋白谱分析鉴定菌株为类鼻疽伯克霍尔德菌,作为细菌鉴定的金标准——基因序列分析结果也证实菌株为类鼻疽伯克霍尔德菌。这是本实验室首次分离出该菌株。结合患者的病历资料分析患者的易感因素为新近疫区接触史(泰国旅游)和基础疾病史(糖尿病),为患者感染提供临床数据支持。从患者入院到分离出病原菌,历时 5 d,及时确定病原体源于临床与实验室及时沟通协作。实验室在分离出细菌时除常规鉴定手段外,及时送检细菌进行测序分析,从分子生物学层面最终及时确认该患者的病原菌。

目前随着对类鼻疽的研究越来越关注,对其检测和鉴定的技术越来越成熟,作为细菌鉴定的基础——分离培养耗时长,且由于类鼻疽伯克霍尔德菌生化反应缓慢和不稳定的特点,易错误鉴定成其他非发酵菌。同时由于某些仪器对伯克霍尔德菌和泰国伯克霍尔德菌无法进行分别,所以对于仪器鉴定结果,还需进行分子生物学检测进行最终确认。MALDI-TOF MS 技术可用于菌株的快速鉴定,为菌株的鉴定提供了新的方法和途径。虽然该菌株对头孢他啶、亚胺培南、左氧氟沙星和复方磺胺甲噁唑敏感,由于类鼻疽伯克霍尔德菌属于胞内寄生菌,药物不能渗入细胞内发挥有效作用浓度,所以需在常规剂量上加大药物浓度,在治疗过程中应注意长期规范治疗,以免细菌感染转为慢性,使得感染反复发作,不易治疗^[8]。该菌株在我国主要分布于海南、广西和广东省等北纬 25 $^{\circ}$ 以下的地区,其中以海南省相关报道多见,菌株引起的感染死亡率约为 13%^[9]。分离的菌株对多数抗菌药物耐药,其中对亚胺培南、头孢他啶和哌拉西林/他唑巴坦的耐药率较低,可作为经验用药治疗,喹诺酮类药物体外试验敏感,可作为次选的联合用药。

参考文献

- [1] LIMMATHUROTSAKUL D, WUTHIEKANUN V, AMORN-CHAI P, et al. Effectiveness of a simplified method for isolation of *Burkholderia pseudomallei* from soil[J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 78(3): 876-877.
- [2] 吴多荣, 朱雄, 黄会, 等. 海南地区类鼻疽伯克霍尔德菌 PFGE 分子分型及同源性分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2014(6): 516-518.

[3] 毛旭虎,胡治强.类鼻疽的实验室诊断及评价[J].第三军医大学学报,2016,38(11): 1200-1204.

[4] FRANCIS A, AIYAR S, YEAN C Y, et al. An improved selective and differential medium for the isolation of Burkholderia pseudomallei from clinical specimens[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2006, 55(2): 95-99.

[5] 段梦, 唱凯, 王艺, 等. 泰国伯克霍尔德菌错误鉴定 1 例[J]. 临床检验杂志, 2016, 34(3): 237-239.

[6] SAM I C, SEE K H, PUTHUCHEARY S D. Susceptibility of Burkholderia pseudomallei to tigecycline and other antimicrobials[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2010, 67(3): 308-309.

[7] HATCHER C L, MURUATO L A, TORRES A G. Recent Advances in Burkholderia mallei and B. pseudomallei Research[J]. Curr Trop Med Rep, 2015, 2(2): 62-69.

[8] ROESNITA B, TAY S T, PUTHUCHEARY S D, et al. Diagnostic use of Burkholderia pseudomallei selective media in a low prevalence setting[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2012, 106(2): 131-133.

[9] 蔡笃运, 贾杰. 104 例类鼻疽伯克霍尔德菌感染与耐药性分析[J]. 重庆医学, 2009, 38(18): 2362-2363.

(收稿日期:2017-09-09 修回日期:2017-11-11)

• 个案分析 •

不同类型脑卒中患者超敏 C 反应蛋白、D-二聚体、纤维蛋白原及炎症因子的相关性研究

汤伟胜, 彭 刚, 王 远, 张运超

(广东省梅州市蕉岭县人民医院检验科, 广东梅州 514100)

关键词:超敏 C 反应蛋白; D-二聚体; 纤维蛋白原; 脑卒中

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2018. 05. 037 中图法分类号:R446. 6; R741

文章编号:1673-4130(2018)05-0640-02 文献标识码:C

脑卒中是危害人类健康的常见脑血管疾病^[1]。本研究主要探讨血清生物化学指标超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、D-二聚体(DD)、纤维蛋白原(FIB)及炎症因子与不同类型脑卒中之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集蕉岭县人民医院 2012 年 1 月至 2015 年 1 月收治的脑卒中患者 317 例,纳入标准

为全国第四届脑血管病学术会议修订的诊断标准,并经脑 CT 或 MRI 检查证实。根据 TOAST 分级系统分成五型:大动脉粥样硬化性脑卒中(LAA)、心源性卒中(CE)、小动脉栓塞(SAA)、其他因素引起的脑卒中(SOE)和不明原因脑卒中(SUE)。各类型脑卒中患者基本资料见表 1,代谢指标见表 2。

表 1 各类型脑卒中患者基本资料

项目	LAA	CE	SAA	SOE	SUE
性别(男/女, n/n)	108/52	15/24	40/20	5/2	22/31
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	65.7 $\pm$ 10.6	68.73 $\pm$ 14.24	62.44 $\pm$ 11.99	39.33 $\pm$ 22.20	64.17 $\pm$ 12.73
高血压(n)	146	22	54	1	44
糖尿病(n)	55	12	15	1	15
抽烟(n)	25	8	15	2	20
喝酒(n)	25	7	12	1	17

表 2 各类型脑卒中患者代谢指标($\bar{x} \pm s$)

指标	LAA	CE	SAA
血糖(mg/dL)	123.4 $\pm$ 5.42	132.9 $\pm$ 4.38	123.5 $\pm$ 3.11
胰岛素(U/mL)	11.7 $\pm$ 0.17	8.4 $\pm$ 0.62	17.9 $\pm$ 1.37
总胆固醇(mg/dL)	158.2 $\pm$ 4.37	144.4 $\pm$ 6.02	175.7 $\pm$ 6.27
三酰甘油(mg/dL)	118.5 $\pm$ 1.37	82.4 $\pm$ 6.42	125.7 $\pm$ 5.19
LDL-C(mg/dL)	97.9 $\pm$ 0.88	83.0 $\pm$ 0.41	103.2 $\pm$ 0.19
HDL-C(mg/dL)	37.0 $\pm$ 1.28	37.2 $\pm$ 3.11	39.0 $\pm$ 1.17

1.2 方法 清晨空腹抽取静脉血 5 mL, 2 h 内送检完成测定。hs-CRP 检测采用免疫比浊法, DD 和 FIB 检测采用 Clauss 凝固法, 采用 ELISA 法检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白细胞介素-6 (IL-6) 水平, 操作过程严格按照说明书进行。采用日立 7600 全自动生化仪完成各项指标检测。

1.3 统计学处理 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 *t* (下转封 3)