

## • 个案分析 •

## 直结肠癌合并化脓拟杆菌血流感染 1 例报道及文献复习\*

赵晓杰<sup>1</sup>, 孔菲菲<sup>2</sup>, 许晶晶<sup>1</sup>, 姜飞<sup>1</sup>, 赵树龙<sup>1</sup>, 马萍<sup>1</sup>, 康海全<sup>1△</sup>  
 徐州医科大学附属医院: 1. 检验科; 2. 肿瘤科, 江苏徐州 221000

**关键词:** 化脓拟杆菌; 血流感染; 直结肠癌

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.10.028

**文章编号:** 1673-4130(2021)10-1274-03

**中图法分类号:** R446.5

**文献标志码:** C

化脓拟杆菌为革兰阴性无芽孢厌氧菌, 是条件致病菌, 其引起血流感染是非常罕见的现象。近期, 徐州医科大学附属医院收治 1 例直结肠癌患者, 并从其血培养中分离出化脓拟杆菌, 现报道如下。

### 1 临床资料

患者女, 53 岁, 因“腹泻伴大便带血 1 年余”于 2019 年 5 月 27 日入院。患者既往体健。1 年前无明显诱因出现腹泻伴大便带血, 血呈暗红色附于大便表面; 大便变细, 大便次数增多为每天 4~5 次, 伴里急后重感, 排便时不伴疼痛, 无肛门下坠感, 无恶心、呕吐, 无腹痛、腹胀, 无发热。饮食睡眠尚可, 小便未见明显异常。查体: 神志清, 精神可, 腹平坦, 未见胃肠型及蠕动波, 无腹壁静脉曲张; 肝脾肋下未扪及, Murphy 氏征阴性, 移动性浊音阴性。直肠指检: 未触及明显肿物, 退出指套有血染。辅助检查: 外院肠镜示距肛门 6 cm 处见一肿物, 占肠壁 1 周。病理检查提示: 直结肠腺癌。

入院后完善相关检查, 肿瘤标记物癌胚抗原(CEA)为 38.9 μg/L, 腹部增强 CT 和腹部 MR 提示直结肠中上段占位性病变, 直肠周围脂肪受累, 直肠周围多发增大淋巴结, PET-CT 提示直结肠中上段管壁明显增厚, PDG 摄取升高, SUVmax 约为 6.2。结合患者肠镜病理及影像学检查结果诊断: 直结肠癌伴腹膜后、盆腔多发淋巴结转移。患者于 6 月 7 日进行局部放射治疗, 拟定计划 PTV 50 Gy/25 f, 并同步口服卡培他滨治疗, 因阵发性快速室上性心律失常频繁发作, 中断放化疗, 放射累计剂量: 24 Gy/12 f。6 月 17 日起患者出现发热, 最高体温达 39.6 °C, 伴畏寒、寒战; 血常规示: 白细胞计数为  $6.8 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞百分比为 0.91; 降钙素原为 0.05 μg/L, C 反应蛋白为 61.0 mg/L。患者发热后立即送标本进行血培养, 经验性应用左氧氟沙星和哌拉西林/他唑巴坦, 效果差, 仍反复出现高热, 6 月 23 日血培养报阳, 经鉴定为化

脓拟杆菌, 应用甲硝唑 500 mg q8h iv 和头孢哌酮/舒巴坦钠 2 g q12h iv, 6 月 26 日再次做两套血液培养, 血培养阴性, 患者症状明显改善, 但仍有低热, 最高体温达 37.6 °C。复查血常规: 白细胞计数为  $7.5 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞百分比为 0.89; C 反应蛋白为 65.5 mg/L。查腹部彩超发现直肠周围有一脓肿, 对直肠脓肿进行经皮穿刺置管引流, 细菌培养提示大肠埃希菌感染, 根据药敏分析结果予以甲硝唑 500 mg q6h iv 和头孢哌酮/舒巴坦钠 4g q12h iv 治疗, 7 d 后患者体温恢复正常出院。

### 2 讨论

化脓拟杆菌是一种无芽孢厌氧革兰阴性棒状菌, 在血琼脂平板上培养 48 h 后生长为直径为 1 mm 的浅灰色、圆形、光滑、无溶血的菌落。1983 年 BENNO 等<sup>[1]</sup>首次从猪的粪便和脓肿分泌物中分离化脓拟杆菌, 随后有研究报道其存在于狗<sup>[2]</sup>和猫<sup>[3]</sup>的口腔菌群中。该菌已被确定为狗或猫咬伤后引起严重人类伤口感染的重要病原体<sup>[4]</sup>。但该菌引起的菌血症和组织感染很少报道, 2011 年 MADSEN 等<sup>[5]</sup>报道了 1 例猫咬伤后患者血液中培养出化脓拟杆菌的病例, 该菌株对青霉素、哌拉西林/他唑巴坦、美罗培南、甲硝唑和克林霉素敏感。本研究中病例为晚期直结肠癌患者, 经过放射治疗 10 d 后血液中检出化脓拟杆菌。本病例为肠道肿瘤患者合并化脓拟杆菌血流感染, 而且无狗或猫咬伤或接触史, 在国内报道较少, 值得临床重视。

大肠埃希菌是临床分离的革兰阴性杆菌中最为常见的菌种之一, 也是最为常见的血流感染病原菌之一<sup>[6]</sup>。大肠埃希菌血流感染多来自尿路、肠道等感染灶。2011 年中国细菌耐药监测网显示血标本临床分离菌中大肠埃希菌最为常见, 居最常见细菌的第 2 位<sup>[7]</sup>。本研究中于肿瘤放化疗患者脓肿穿刺液中检出大肠埃希菌, 药敏分析结果显示对左氧氟沙星耐

\* 基金项目: 江苏省“六大人才高峰”高层次人才基金项目(WSN-091); 江苏省徐州市科技技术项目(KC19160)。

△ 通信作者, E-mail: hqk811029@163.com。

本文引用格式: 赵晓杰, 孔菲菲, 许晶晶, 等. 直结肠癌合并化脓拟杆菌血流感染 1 例报道及文献复习[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(10):

药,对哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮/舒巴坦钠敏感,经过脓肿引流,并根据药敏分析结果选择头孢哌酮/舒巴坦钠治疗 7 d 后体温恢复正常。张彩丽等<sup>[8]</sup>报道聚酮合酶基因阳性大肠埃希菌可产生多聚乙酰胺结构的细菌毒素,从而对真核细胞产生遗传毒性,可通过局部炎症反应微环境损伤 DNA,加速细胞衰老,促进肿瘤细胞增殖等,这一系列病理、生理反应参与结肠癌的发生和发展。本病例检出的大肠埃希菌是否对该直肠癌患者病情发展起促进作用还需要进一步研究。

检索 1980—2020 年文献,以 *Bacteroides pyogenes* 为关键词在 PubMed 对英文文献进行检索,以化脓拟杆菌为关键词在万方数据库对中文文献进行检索,检索到的文献均为英文文献,2014 年 DARWAZEH 等<sup>[9]</sup>报道了第 1 例因化脓拟杆菌而引起腹股沟软组织感染的病例,该患者有糖尿病史,无动物咬伤史,仅有狗接触史,该菌对大多数抗厌氧菌感染的抗菌药物敏感。该病例提示对于免疫功能低下的患者如果有狗或猫的接触史,即使没有动物咬伤史,也应怀疑其有感染化脓拟杆菌的可能,并应使用适当的抗菌药物。另有研究报道,1 例肝脓肿患者使用哌拉西林/他唑巴坦 2.25 g q6h,经过 12 d 的治疗,在其肝脓肿和血液中都无法检测到化脓拟杆菌<sup>[10]</sup>。本研究中患者放疗 10 d 后出现发热,血培养结果提示革兰阴性菌感染可能性较大,经验性采用左氧氟沙星和哌拉西林/他唑巴坦治疗 5 d 效果不佳,第 6 天鉴定结果为化脓拟杆菌,参考《热病》应用甲硝唑和头孢哌酮/舒巴坦钠治疗,用药 4 d 后症状明显好转但仍有低热,穿刺液培养鉴定为大肠埃希菌,根据药敏分析结果调整剂量,用药 7 d 后患者无发热,血培养阴性。以上诊疗过程提示临床在遇到肠道肿瘤放疗患者不明原因发热时,应考虑是否存在化脓拟杆菌引起的菌血症,同时在面对反复难治性的发热患者时应该查找是否存在感染灶,如存在感染灶,单纯的抗菌药物治疗效果并不理想,应积极寻找感染灶、清除感染灶,并采集标本进行培养,然后根据药敏分析结果选择有效的抗菌药物治疗。

本研究中,患者混合感染化脓拟杆菌和大肠埃希菌,这种不寻常的肠道机会性致病菌感染提示如果患者存在肠梗阻、结肠炎或肿瘤等导致腹腔微环境改变的疾病,应高度警惕是否存在厌氧菌和需氧菌的混合感染。作为人类和动物肠道微生物菌群的组成部分,厌氧菌可以在跨越宿主的保护屏障后引起感染<sup>[11]</sup>。脓肿形成是革兰阴性厌氧菌感染最常见的临床表现,本病例中化脓拟杆菌也是在直肠脓肿形成后在患者血液中检出。厌氧菌包括拟杆菌属,对青霉素衍生物和 β-内酰胺酶抑制剂(阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦)、碳青霉烯类抗菌药物(亚胺培南、美罗培南、多利培南、厄他培南)和甲硝

唑的组合敏感<sup>[12]</sup>。在以前报道的病例中,静脉注射青霉素和口服苯氧甲基青霉素治疗化脓拟杆菌是有效的<sup>[13]</sup>。静脉注射哌拉西林/他唑巴坦也用于化脓拟杆菌继发性肝脓肿菌血症<sup>[10]</sup>。但本病例使用左氧氟沙星和哌拉西林/他唑巴坦治疗效果欠佳,可能与合并大肠埃希菌感染有关。

新辅助放化疗已经成为局部晚期直肠癌的标准治疗,靶向药物联合新辅助放化疗也得到了较理想的结果,但在杀伤癌细胞的同时,会对机体的骨髓造血系统和造血微环境造成损伤,导致粒细胞甚至全血细胞减少,发生骨髓抑制,进而易出现感染、骨折及骨折不愈合等并发症。本研究提示,结肠癌患者在放化疗期间出现发热等感染症状时,应考虑到化脓拟杆菌感染的可能性。在细菌体外药敏分析结果出来之前或无法做厌氧菌药敏分析试验时,可考虑选择对化脓拟杆菌采用甲硝唑联合头孢哌酮/舒巴坦钠等药物进行抗感染治疗。

### 参考文献

- [1] BENNO Y, WATABE J, MITSUOKA T, et al. *Bacteroides pyogenes* sp. nov. *Bacteroides suis* sp. nov. and *Bacteroides helcogenes* sp. nov. New Species from Abscesses and Feces of Pigs[J]. *Syst Appl Microbiol*, 1983, 4(3):396-407.
- [2] FORSBLOM B, LOVE D N, SARKIALA-KESSEL E, et al. Characterization of anaerobic, gram-negative, nonpigmented, saccharolytic rods from subgingival sites in dogs [J]. *Clin Infect Dis*, 1997, 25(suppl2):s100-s106.
- [3] SAKAMOTO M, OSHIMA K, SUDA W, et al. Draft genome sequences of three strains of *bacteroides pyogenes* isolated from a cat and swine[J]. *Genome Announc*, 2014, 2(1):e1242-e1243.
- [4] LAU JILLIAN S Y, KORMAN TONY M, YEUNG A, et al. *Bacteroides pyogenes* causing serious human wound infection from animal bites[J]. *Anaerobe*, 2016, 42:172-175.
- [5] MADSEN I R, JUSTESEN U S. Bacteremia with *Bacteroides pyogenes* after a cat bite [J]. *J Clin Microbiol*, 2011, 49(8):3092-3093.
- [6] 吕媛,李耘,薛峰,等. 卫生部全国细菌耐药监测网(Mohnar-in)2011—2012 年度血流感染细菌耐药监测报告[J]. *中国临床药理学杂志*, 2014, 30(3):278-288.
- [7] 李光辉,朱德妹,汪复,等. 2011 年中国 CHINET 血培养临床分离菌的分布及耐药性[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2013, 13(4):241-247.
- [8] 张彩丽,朱元民. 聚酮合酶基因阳性大肠埃希菌与结肠癌的相关性[J]. *中华消化杂志*, 2019, 39(2):138-140.
- [9] DARWAZEH G, HANI M B. *Bacteroides tectum* causing perineal and groin soft tissue infection in a diabetic patient exposed to dogs[J]. *Am Surg*, 2014, 80(1):10-11.
- [10] PARK J E, PARK S Y, SONG D J, et al. A case of *Bacteroides pyogenes* bacteremia secondary to liver abscess

[J]. Anaerobe, 2016, 9(2): 78-80.

[11] NAGY E. Anaerobic infections: update on treatment considerations[J]. Drugs, 2010, 70(7): 841-858.

[12] BROOK I. Spectrum and treatment of anaerobic infections[J]. J Infect Chemother, 2016, 22(1): 1-13.

[13] MADSEN I R, JUSTESEN U S. Bacteremia with Bacteroides pyogenes after a cat bite[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(8): 3092-3093.

(收稿日期: 2020-09-02 修回日期: 2020-12-23)

• 个案分析 •

## 1 株人感染柯萨奇病毒 A 组 16 型 B1b 亚型的分离和鉴定\*

杜加亮, 刘艳, 于晴川, 张永, 赵荣荣, 赵岩, 韩菲, 刘悦越<sup>△</sup>

中国食品药品检定研究院, 北京 102629

**关键词:** 柯萨奇病毒; 手足口病; 乳鼠; RD 细胞

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.10.029

**文章编号:** 1673-4130(2021)10-1276-05

**中图法分类号:** R446.5

**文献标志码:** C

柯萨奇病毒 A16 (CV-A16) 是小 RNA 病毒科肠道病毒属的成员, 是引起婴幼儿手足口病 (HFMD) 的常见病原体之一<sup>[1]</sup>。CV-A16 是含有约 7.4 kb 基因组的正义单链 RNA 病毒, 其基因组包含 5' 端非翻译区 (5' UTR)、结构蛋白编码区 P1、非结构蛋白编码区 P2/P3 及 3' 非翻译区 (3' UTR)。P1 编码 4 种结构蛋白 (VP1、VP2、VP3、VP4), P2 和 P3 分别编码 7 种非结构蛋白 (2A、2B、2C、3A、3B、3C、3D)<sup>[2]</sup>。随着研究的不断深入, 在分子流行病学方面, 基于 VP1 基因的完整序列, CV-A16 可以在系统发育上分为 A、B、C 和 D 4 个基因组<sup>[3-6]</sup>。基因组 B 可以进一步分为 B1~B4 这 4 个基因亚型, 其中 B1 基因亚型还可以细分为 B1a~B1d<sup>[3,7]</sup>。在基础研究方面, 利用反向遗传学技术构建感染性克隆<sup>[8]</sup>, 能够在体外对病毒基因组进行突变、缺失、嵌合等操作后, 获得表型、性状发生变化的拯救病毒, 为研究其基因的结构与功能、病毒复制机制、致病机制及筛选候选疫苗提供了崭新的途径。在疾病预防控制方面, 单价肠道病毒 71 型 (EV-A71) 疫苗无法预防其他病原体引起的 HFMD 及其他相关疾病, 应研发多价 HFMD 疫苗<sup>[9]</sup>, 而 EV-A71 和 CV-A16 交替或共同流行可引发世界多个国家或地区 HFMD 暴发。本研究从 CV-A16 的分离、鉴定、系统进化分析、检测方法建立和全基因组克隆构建等方面进行了一系列研究, 以期对 CV-A16 病毒的分子流行病学和基础研究提供有利的工具。

### 1 材料与方法

**1.1 细胞** RD 细胞为人恶性胚胎横纹肌瘤细胞, 为本实验室保存。细胞培养液为含有 1% (v/v) L-谷氨酰胺 (200 mmol/L)、2.5% (v/v) NaHCO<sub>3</sub> 溶液

(7.5%)、10% (v/v) 胎牛血清和 1% (v/v) 双抗的 Gibco D-MEM 培养液。

**1.2 材料** 一步法荧光定量 PCR 试剂盒 (RR064) 和一步法反转录 PCR (RT-PCR) 试剂 (RR057) 购自 TaKaRa 公司, QIAamp Viral RNA Mini 试剂盒购自 QIAGEN 公司。粪便处理液为含有终浓度为 500 U/mL 青霉素和 500 μg/mL 链霉素的磷酸盐缓冲液 (PBS)。

**1.3 病毒分离** 粪便标本来源于临床诊断为 HFMD 和实验室诊断为 CV-A16 感染的患者。取粪便标本 1 g 加入 10 mL 粪便处理液中, 涡旋混匀 30 s, 4 000 r/min 离心 30 min, 取上清, 除菌过滤后接种于 RD 细胞。在倒置显微镜下每日观察细胞病变情况, 7 d 后观察若未出现细胞病变, 盲传两代, 直至出现超过 75% 的细胞病变后, 将其在 -70 °C 以下冻存。

**1.4 分离毒株的分子生物学鉴定** 步骤 1.3 中的冻存液反复冻融 3 次后, 吸取 200 μL, 按照 QIAamp Viral RNA Mini 试剂盒说明书的步骤提取病毒 RNA。按照一步法反转录 PCR 试剂 (RR057) 说明书, 利用 CV-A16 特异性引物 CA-VP1-F 和 CA-VP1-R (终浓度均为 10 μmol/L), 进行一步法反转录 PCR 扩增 VP1 基因 (反应条件为 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 50 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 35 个循环; 72 °C 充分延伸 7 min), 探针引物信息见表 1。目的条带经 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定后测序验证, 并参照文献与 GenBank 中的已知基因型和亚型的毒株序列进行比对, 利用 Mega 软件构建 Neighbour-joining 系统进化树。

**1.5 病毒滴度检测** 将长成致密单层的 Vero 细胞

\* 基金项目: 国家科技重大专项 (2018ZX09739-002)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: yylliu@nifdc.org.cn。

本文引用格式: 杜加亮, 刘艳, 于晴川, 等. 1 株人感染柯萨奇病毒 A 组 16 型 B1b 亚型的分离和鉴定[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(10):