

微生物的血培养阳性,尤其是存在牙源性操作并混合链球菌感染时,即使没有明显的心内膜炎临床症状,都应该引起高度重视,儿童作为一个特殊的免疫力低的群体更应引起重视。

参考文献

[1] REVEST M,EGMANN G,CATTOIR V,et al. HACEK endocarditis; state-of-the-art[J]. Expert Rev Anti Infect Ther,2016,14(5):523-530.

[2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; M45-A3 [S]. Wayne,PA,USA;2016.

[3] NORDHOLM A C,VOGG R O B,PERMIN H,et al. Eikenellacorrodens endocarditis and liver abscess in a previously healthy male,a case report[J]. BMC Infect Dis,2018,18(1):35.

[4] GONCALVES R J,MURINELLO A,GOMES DA SILVA S,et al. Hepatic Abscess due to Streptococcus anginosus and Eikenellacorrodens,Secondary to Gastric Perforation by a Fish Bone[J]. GE Port J Gastroenterol,2019,26(6):414-419.

[5] 杨守磊. 狗咬伤后噬蚀艾肯氏菌引起的血流感染 1 例报道[J]. 检验医学与临床,2019,16(2):287-288.

[6] PATEL K,PARK C,MEMON Z,et al. Eikenella Corrodens and Streptococcus anginosus co-infection causing skull base osteomyelitis and internal carotid artery lesion [J]. IDCases,2020,20:e00740.

[7] 李丽娟,王吉生,周华强,等. 侵蚀艾肯菌致儿童耳后脓肿 • 个案分析 •

1 例[J]. 中国感染与化疗杂志,2020,20(6):692-693.

[8] PENTON M,ORAA S S,ABDELHEMID A,et al. Head and neck infections in children due to Eikenellacorrodens: Report of three cases and review of literature[J]. Int J PediatrOtorhinolaryngol,2020,138:110287.

[9] 巢世兰,徐雯,刘国伟,等. 侵蚀艾肯菌致胸部感染 1 例并文献复习[J]. 国际检验医学杂志,2020,41,(6):766-768.

[10] HU L,LIN J,LI J,et al. Lung abscess secondary to lung cancer with Eikenellacorrodens and Streptococcus anginosus;a case report[J]. BMC Infect Dis,2020,20(1):351.

[11] CORREA MARTINEZ L,GONZALEZ VELASCO C,GAONA ALVAREZ C E,et al. Tuboovarian abscess due to Eikenellacorrodens[J]. Enferm Infecc Microbiol Clin,2018,36(5):319-320.

[12] 张洋洋,王巍. 噬蚀艾肯菌致小儿脑脓肿 1 例[J]. 中国微侵袭神经外科杂志,2019,24(7):328-329.

[13] WEI W,NIE H. Severe purulent pericarditis caused by invasive Eikenellacorrodens:case report and literature review[J]. BMC Infect Dis,2019,19(1):657.

[14] 赵姝洁,叶文春,方向明. 噬蚀艾肯菌导致成人急性化脓性甲状腺炎 1 例[J]. 四川医学,2020,41(8):886-889.

[15] TANAKA M,ARAKI K,HIGUCHI H,et al. Pediatric acute dacryocystitis due to Eikenellacorrodens:a case report[J]. J Infect Chemother,2020,26(5):510-512.

[16] SHARARA S L,TAYYAR R,KANAFANI Z A,et al. HACEK endocarditis;a review[J]. Expert Rev Anti Infect Ther,2016,14(6):539-545.

(收稿日期:2021-09-22 修回日期:2022-02-28)

1 例人血源性嗜低温弓形菌的分离鉴定与文献复习\*

贾 静,郭明发,徐 璐,杨俊文,杨俊梅<sup>△</sup>

郑州大学附属儿童医院/河南省儿童医院/郑州儿童医院检验科,河南郑州 450000

**关键词:**嗜低温弓形菌; MALDI-TOF MS; 菌血症

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2022.12.029

**文章编号:**1673-4130(2022)12-1533-04

**中图法分类号:**R446.5

**文献标志码:**C

嗜低温弓形菌属于弓形菌属,隶属于细菌域、变形菌门、ε-变形菌纲、弯曲菌目、弯曲菌科,目前属内已鉴定出 25 个物种<sup>[1]</sup>。弓形菌在需氧和厌氧环境中均可生长,革兰染色阴性,菌体呈弯曲或“S”形杆菌。弓形杆菌是一种重要的食源性人畜共患病原体,常见的

菌种主要有嗜低温弓形菌、布氏弓形菌、硝化弓形菌和斯氏弓形菌<sup>[2-3]</sup>。对该致病菌的快速鉴定与甄别可为患者诊断和有效治疗做出迅速处理。因此,本研究对 2018 年在河南省儿童医院就诊的 1 例溺粪患者发生血源感染后分离的细菌进行鉴定,以期对该类细菌

\* 基金项目:河南省医学科技攻关联合共建项目(LHGJ20190966)。

<sup>△</sup> 通信作者,E-mail:yangjunmei7683@163.com。

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.r.20220527.1812.006.html>(2022-05-31)

引起疾病的诊治提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患儿女,1 岁 3 个月,因“溺粪、心肺复苏术后 75 min”急诊入院。患儿 75 min 前玩耍时溺粪,3~4 min 后家属发现患儿面部朝上,伴青紫明显,意识丧失;立即给予清理呼吸道、拍背、胸外按压等治疗后送至当地县人民医院,给予“气管插管”及“胸外按压”等抢救治疗,未见明显好转,遂由当地 120 送入本院。急诊科以“溺水、呼吸衰竭”收入院。入院查体:体温 35.5℃,脉搏 50 次/分,心音极低,心率 50 次/分,呼吸 30 次/分,血压 53/26 mm Hg。血氧饱和度(SPO<sub>2</sub>)79%,浅昏迷,全身皮肤无黄染、出血点及紫癜,双侧瞳孔等大等圆,直径 4 mm,对光反射迟钝,复苏囊加压给氧下口唇发绀明显,四肢肌张力低,膝腱反射消失,布鲁金斯氏征阴性,双侧巴氏征阴性,双侧克氏征阴性,四肢末梢凉,毛细血管充盈时间(CRT)>5 s。颈软,双肺呼吸音低,可闻及密集细湿性啰音,未闻及明显病理性杂音。腹膨隆明显,腹软,肝脾肋下未触及,未触及包块,肠鸣音弱。入院实验室检查:白细胞计数 16.59×10<sup>9</sup>/L,中性粒细胞百分比 3.4%,淋巴细胞百分比 94.4%,C-反应蛋白定量 0.80 mg/L;肌酸激酶同工酶 11.01 ng/mL,B 型钠尿肽前体 140.5 pg/mL,肌钙蛋白 T 0.031 ng/mL;床旁血气提示酸碱度 6.918,血清葡萄糖 26 mmol/L,乳酸 10.0 mmol/L,钾 2.7 mmol/L 为危急值;血氨 138.7 μmol/L。支气管镜检查发现气管及各级支气管壁均有大量淡黄色斑块状物质附着,给予充分灌洗,附着物脱落,各级支气管均灌洗出浑浊淡黄色液体。床旁胸片可见两肺大片影,左肺透光度减低。入院第 2 天,复查胸片可见右上肺片状影较前显著,细菌毒素动态定量 124.5 pg/mL,肌酸激酶同工酶 61.830 ng/mL,B 型钠尿肽前体 20 443.000 pg/mL,肌钙蛋白 T 0.063 ng/mL,明显升高,考虑与溺粪引起感染和窒息相关。

1.2 仪器与试剂 哥伦比亚血琼脂平板、巧克力色血琼脂平板(郑州安图生物工程股份有限公司),全自动血培养仪及血培养瓶(美国 BD 公司),MALDI Bio-typer 微生物快速鉴定仪及靶板、基质液和甲酸(德国布鲁克公司)。

1.3 方法

1.3.1 细菌分离鉴定 该患者入院后 24 h 内进行双侧血培养检查。临床上严格按照血培养操作流程进行血培养标本采集,运用 BD 公司 BACTEC Plus Aerobic/F 血培养瓶机器进行检测。血培养机器连续培养 33 h 40 min 后报阳。

1.3.2 细菌的分离培养与革兰染色镜检 将血培养

瓶菌悬液离心后接种于哥伦比亚血琼脂平板及巧克力血琼脂平板,放置 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h,哥伦比亚血琼脂平板和巧克力血琼脂平板上均见细小突起,光滑湿润,边缘整齐的圆形菌落,挑取单个菌落革兰染色镜检。

1.3.3 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)检测 以乙腈:纯水:三氟乙酸(TFA)为 50:47.5:2.5 比例配制标准溶剂;取 Bruker HCCA 粉末(每管 2.5 mg)添加 250 μL 标准溶剂充分溶解备用。使用接种环取哥伦比亚血琼脂平板上培养的单个菌落,加 1 mL 70%乙醇振荡灭活,离心去上清液,再向沉淀中加入 70%甲酸 50 μL 及乙腈 50 μL,振荡离心取上清液待测。取 1 μL 上清液滴于靶板上晾干,再加上 1 μL 基质溶液,晾干后上机检测。

2 结果

2.1 细菌培养 哥伦比亚血琼脂平板上培养 24 h 后出现细小突起,光滑湿润,边缘整齐的单个圆形菌落,见图 1。细菌革兰染色阴性,见图 2,呈轻微弯曲,无芽孢特征,尿素酶试验阴性,氧化酶、触酶试验阳性。

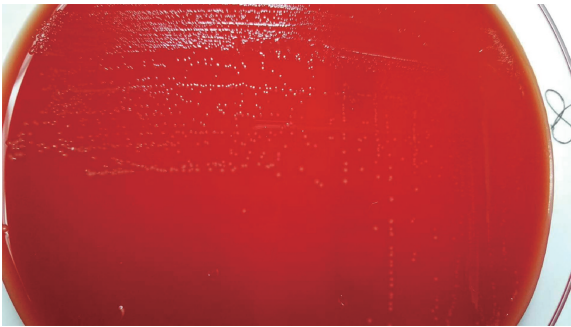


图 1 哥伦比亚血平板 35℃培养 24 h

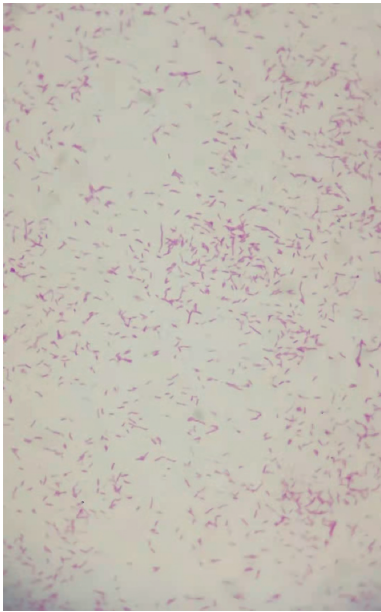


图 2 革兰染色镜检(油镜,×1 000)

2.2 细菌鉴定 MALDI-TOF-MS 鉴定结果显示该

分离株与已知菌库中嗜低温弓形菌一致,分值为 1.907,见图 3。

**2.3 治疗经过** 患儿入院后,监测生命体征,给予机械通气,心肺复苏及抢救药物应用,维持内环境稳定、抗感染、止血等综合治疗。入院第 3 天患儿突然出现心率下降至 60 次/分,予心肺复苏、抢救药物应用,后心跳为 0 次/分,血压测不出,SP<sub>O</sub><sub>2</sub> 测不出,抢救后患儿自主心率无恢复,家属要求自动出院。

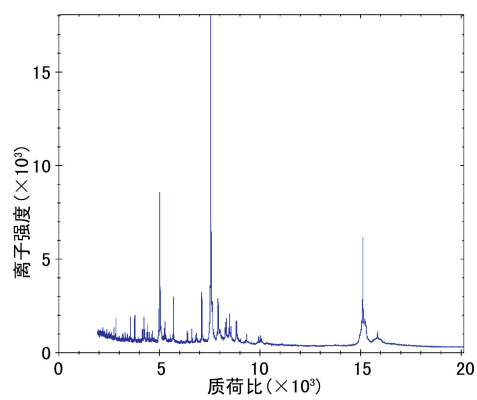


图 3 质谱菌落鉴定图谱

### 3 讨 论

与人类感染有关的弓形菌属主要有嗜低温弓形菌(群)和布氏弓形菌,这两种菌主要引起急性肠胃炎,布氏弓形菌还可引起肠外感染,包括菌血症、细菌性心内膜炎、腹膜炎等<sup>[4]</sup>。嗜低温弓形菌为微需氧细菌,适宜生长在中性或偏碱性环境中,主要存在于污水中,有潜在危害,人体接触后可危害身体健康<sup>[5]</sup>。该患儿入院检查显示白细胞计数增高,细菌毒素动态定量检测明显升高,两肺纹理粗,两肺可见大片影及斑片影等炎症体征,提示细菌感染,可引起菌血症,入院及时进行血培养检测。传统的细菌鉴定有一系列的流程和方法,耗时长,程序烦琐,通常还需要检测者具有一定的经验。MALDI-TOF-MS 是近几年发展起来的一种新型有机质谱技术,是利用蛋白质谱学的全新微生物快速检测和鉴定技术,鉴定方法快速、准确、可靠。目前国内运用 MALDI-TOF-MS 鉴定和检测微生物已经取得了很好的进展,尤其是在细菌的种属鉴定方面,已经可以很好地将菌株鉴定到种的水平。

近年来研究发现,嗜低温弓形菌是一种潜在的食源性和水源性病原体,可通过食品处理过程的交叉污染、食用受污染的动物源食品、受污染的饮用水或直接被粪便污染而发生感染<sup>[6-7]</sup>。BRÜCKNER 等<sup>[8]</sup>研究显示,嗜低温弓形菌和布氏弓形菌是引起人类胃肠炎的新型病原体,并利用肠杆菌基因间重复一致序列-聚合酶链反应(EICR-PCR)进行毒力基因测定,显示嗜低温弓形菌在体外有显著的细胞毒作用。国外的

调查显示,嗜低温弓形菌在鸡肉中的流行率明显高于猪肉和牛肉<sup>[9]</sup>。BARBOZA 等<sup>[6]</sup>报道 1 例 27 岁的哥斯达黎加女性,因食用鸡肉而罹患腹泻,并从其血性水样便中分离培养出嗜低温弓形菌。PUIG 等<sup>[10]</sup>报道 1 例西班牙儿童因食品污染导致嗜低温弓形菌肠道感染,患儿应用四环素类抗菌药物治疗完全恢复正常。BRÜCKNER 等<sup>[11]</sup>报道在德国门诊和住院患者粪便样本中,弓形杆菌属主要分离鉴定出布氏弓形菌和嗜低温弓形菌,对布氏弓形菌感染,环丙沙星可能作为首选药物。本例患儿有溺粪病史,嗜低温弓形菌存在于污水中,接触污水是一种潜在的感染方式<sup>[6,12]</sup>,患儿可能出现血流感染。弓形菌属在代谢上呈惰性,生长缓慢,很难通过生化测试来鉴定,因此对不同种的区分更多依靠分子生物学方法<sup>[1,6]</sup>。本研究采用 MALDI-TOF MS 对菌株进行分离鉴定,鉴定结果显示该分离株与已知菌库中嗜低温弓形菌一致,分值为 1.907,鉴定为嗜低温弓形菌。由于缺乏针对弓形菌耐药性的检测标准,造成目前对于弓形菌耐药性的真实判断难度较大<sup>[7]</sup>。王晨希<sup>[13]</sup>研究显示嗜低温弓形菌对常见的氨苄青霉、头孢菌素类表现出较强的耐药性。VAN DEN ABEELE 等<sup>[14]</sup>报道在梯度扩散法中观察到嗜低温弓形菌对氟喹诺酮类药物较高耐药性。FERA 等<sup>[15]</sup>报道体外试验中亚胺培南是最有效的 β-内酰胺类药物,头孢菌素中头孢吡肟表现出较高抗菌活性,而青霉素、氯霉素、万古霉素具有高水平耐药性。本研究因患儿放弃治疗未能进行相关药敏试验。

目前来自不同国家关于弓形菌属引起感染的报道越来越多,但仍然没有直接与这种病原体的感染和发病相关的毒力因子报道<sup>[16-17]</sup>。我国嗜低温弓形菌人体感染的相关报道较少,对于嗜低温弓形菌的抗感染治疗尚无经验可借鉴。本患儿因溺粪昏迷,患儿在粪池中窒息,嗜低温弓形菌可经过呼吸道进入患者体内导致菌血症,引发人体感染。临床医师对于有溺水、溺粪经历的患者,应该警惕该细菌感染可能。

### 参考文献

- [1] FERREIRA S, QUEIROZ J A, OLEASTRO M, et al. Insights in the pathogenesis and resistance of Arcobacter: A review[J]. Crit Rev Microbiol, 2015, 42(3): 364-383.
- [2] HÄNEL I, TOMASO H, NEUBAUER H. Arcobacter-an unterschätzter zoonotic pathogen[J]. Bundesgesundheitsbla, 2016, 59(6): 789-794.
- [3] SHANGE N, PIETER G, HOFFMAN L C, et al. Campylobacter and Arcobacter species in food-producing animals: prevalence at primary production and during slaughter[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2019, 35(9): 146.
- [4] HSU T D, LEE J. Global Distribution and Prevalence of

Arcobacter in Food and Water [J]. Zoonoses Public Health, 2016, 62(8): 579-589.

[5] RAMEES T P, DHAMA K, KARTHIK K, et al. Arcobacter: An emerging food-borne zoonotic pathogen, its public health concerns and advances in diagnosis and control-A comprehensive review [J]. Vet Q, 2017, 37(1): 136-161.

[6] BARBOZA K, CUBILLO Z, CASTRO E, et al. First isolation report of Arcobacter cryaerophilus from a human diarrhea sample in Costa Rica [J]. Rev Inst Med Trop São Paulo, 2017, 59: e72.

[7] 吴瑜凡, 王翔, 崔思宇, 等. 潜在食源性致病菌弓形菌在食品中的分布及检测研究进展 [J]. 食品科学, 2019, 40(7): 8.

[8] BRÜCKNER V, FIEBIGER U, IGNATIUS R, et al. Characterization of Arcobacter strains isolated from human stool samples: results from the prospective German prevalence study Arcopath [J]. Gut Pathog, 2020, 12: 3.

[9] ZACHAROW I, BYSTRON J, WALECKA-ZACHARSKA E, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of Arcobacter butzleri and Arcobacter cryaerophilus isolates from retail meat in Lower Silesia region, Poland [J]. Pol J Vet Sci, 2015, 18(1): 63-69.

[10] PUIG C, DÍAZ M M, BALBÍN J A, et al. First case of Arcobacter cryaerophilus in paediatric age in Spain [J]. Rev Esp Quimioter, 2021, 34(3): 259-260.

[11] BRÜCKNER V, FIEBIGER U, IGNATIUS R, et al. Preva-

lence and antimicrobial susceptibility of Arcobacter species in human stool samples derived from out- and inpatients: the prospective German Arcobacter prevalence study Arcopath [J]. Gut Pathogens, 2020, 12: 21.

[12] MERGA J Y, ROYDEN A, PANDEY A K, et al. Arcobacter spp. isolated from untreated domestic effluent [J]. Lett Appl Microbiol, 2014, 59(1): 122-126.

[13] 王晨希. 病原菌嗜低温弓形杆菌生物学特性及其去除效果研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2012.

[14] VAN DEN ABEELE A M, DIRK V, ELKE V, et al. Antimicrobial susceptibility testing of Arcobacter butzleri and Arcobacter cryaerophilus strains isolated from Belgian patients [J]. J Antimicrob Chemother, 2016, 71(5): 1241-1244.

[15] FERA M T, MAUGERI T L, GIANNONE M, et al. In vitro susceptibility of Arcobacter butzleri and Arcobacter cryaerophilus to different antimicrobial agents-ScienceDirect [J]. Int J Antimicrob Agents, 2003, 21(5): 488-491.

[16] 周贵兰, 王园园, 顾一心, 等. 斯氏弓形杆菌基于基因组序列遗传特征分析 [J]. 疾病监测, 2021, 36(1): 37-41.

[17] 周毓菁, 徐晶晶, 徐杰, 等. 高通量测序技术在慢性肾病患者刚地弓形虫感染诊断中的价值 [J]. 检验医学, 2021, 36(6): 596-599.

(收稿日期: 2021-10-23 修回日期: 2022-03-12)

(上接第 1530 页)

让同学们更好地理解这些病例的同时,能够加深他们对于这门学科的认识。卢娜等<sup>[5]</sup>研究发现采用病例导入式教学方法联合翻转课堂在妇产科教学中可以极大地激发学生的学习兴趣、提高理论知识掌握度、同时也可以增强临床思维能力、更好地发挥主观能动性、增强问题分析解决能力<sup>[5]</sup>。八年制临床医学生不仅要了解临床知识,同时对检验知识的正确分析也是做出正确临床判断所必需的,而对于未来想要在检验领域进行深入研究工作的学生必要的临床思维也是必不可少的<sup>[6]</sup>,通过新媒体微视频联合病例教学的方式,极大地提高了学生的参与积极性和解决问题的能力。

本研究采用新媒体微视频联合病例教学对临床八年制医学生对临床检验指标的正确理解及干扰识别等问题进行了探讨,明确了该种形式教学的促进作用,为目前新型冠状病毒肺炎疫情导致的无法面授问题提供了解决办法,未来应扩大此类型教学模式的应用。

参考文献

[1] 宋四新, 李晓迪, 王岚. 微视频联合 Teach-back 教学对呼

吸与危重症医学科技能带教效果的影响 [J]. 护理实践与研究, 2022, 19(5): 772-775.

[2] 李伟, 吴东璇, 刘臻臻, 等. 八年制医学教育的现状与改革 [J]. 眼科学报, 2022, 37(1): 76-82.

[3] 张国峰, 郭锐, 关海霞, 等. 重视化验单之外的信息: 由生物素干扰检验而被误诊为 Graves 病甲状腺功能亢进症的实例谈诊断甲状腺疾病的要素 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2017, 33(9): 723-729.

[4] 段旭初, 肖钦志, 刘东. “以问题为导向的互动病例教学法”在医学遗传学课程中的应用实践 [J]. 科教导刊, 2020(5): 123-124.

[5] 卢娜. 病例导入式教学法联合翻转课堂在妇产科教学中的应用及对学生学习兴趣的影响 [J]. 临床研究, 2020, 28(3): 190-191.

[6] 刘才冬, 董泽欣, 崔薇薇. 临床思维在医学检验带教教学改革中的应用 [J]. 检验医学与临床, 2018, 15(20): 3152-3153.

(收稿日期: 2021-10-12 修回日期: 2022-03-11)