

## · 个案分析 ·

## 1 例高致病性类鼻疽伯克霍尔德菌的鉴定及溯源性分析\*

郑百慧, 黎敏, 鲁卫平, 李进<sup>△</sup>

(中国人民解放军陆军特色医学中心/陆军军医大学大坪医院检验科, 重庆 400042)

**关键词:** 类鼻疽伯克霍尔德菌; 鉴定; 溯源性分析**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.19.033**中图法分类号:** R446.5**文章编号:** 1673-4130(2019)19-2428-03**文献标识码:** C

类鼻疽是一种由类鼻疽伯克霍尔德菌感染引起的热带传染病。该病原菌主要侵犯人体肺部, 早期易出现发烧、寒战、咳嗽、恶心、呕吐、头痛、腹痛、肌肉痛等症状。类鼻疽伯克霍尔德菌侵入人体肺部后, 容易形成难治性肺炎、肺部空洞, 并可能短期内快速地发展为败血症而死亡。此外, 类鼻疽伯克霍尔德菌还可能引起脑膜炎、前列腺炎、尿路感染及肝脾等内脏的脓肿<sup>[1-2]</sup>。类鼻疽伯克霍尔德菌感染目前主要流行于泰国、越南、柬埔寨、菲律宾、澳大利亚等国家及我国海南、广东、广西、香港、台湾等地区。近期在印度、巴基斯坦和孟加拉国等也相继出现一些散在的类鼻疽伯克霍尔德菌感染病例报道<sup>[1-4]</sup>。本研究从 1 例感染发热的糖尿病患者血液和尿液标本中分离鉴定出类鼻疽伯克霍尔德菌, 为明确其诊断和溯源, 通过流行病学调查分析和多位点序列分型(MLST)分型等方法对该病例进行溯源性分析, 不仅为全面了解类鼻疽伯克霍尔德菌的分子流行病学特征奠定了基础, 还为预防该细菌的流行性传播提供建议。

## 1 病历摘要

患者, 男性, 55 岁, 于 2017 年 5 月 21 日在陆军特色医学中心高血压内分泌科诊断为“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 I 级极高危组、脑梗死、泌尿系统感染”。入院前先后给予诺和龙 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。询问病史, 患者于 1 月前去过泰国旅游, 回来后自觉全身乏力、倦怠、头晕等症状较前加重, 视物旋转, 伴行走不稳无耳鸣、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。入院后, 实验室检查: 血常规, 血红蛋白(HGB) 93 g/L、红细胞计数(RBC)  $3.21 \times 10^{12}/L$ 、白细胞计数

(WBC)  $12.28 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞百分比(NEUT) 82.5%、C 反应蛋白(CRP) 240.4 mg/L, 余正常; 尿常规, LEU +++、PRO ++、GLU ++++、BLD ++、镜检 RBC 88 个/ $\mu L$ 、镜检 WBC 1 450 个/ $\mu L$ ; 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。临床医生刚开始经验性使用阿莫西林克拉维酸钾治疗, 病情未见好转。待血培养和尿液培养细菌鉴定结果均提示为类鼻疽伯克霍尔德菌时, 课题组与专家组共同商讨决定按照类鼻疽治疗方案(静脉滴注泰能)进行治疗, 病情便迅速得以控制。由于本院未开设感染科, 与患者家属沟通后遂转入重庆某三甲医院感染科进行规范治疗, 15 d 后患者发热等不适症状缓解, 尿路感染症状消失, 顺利康复出院。治疗期间, 医院对该患者进行针对性隔离治疗, 有效地预防了类鼻疽病的院内感染暴发流行。

## 2 细菌分离鉴定

留取尿液标本接种于血平板和麦康凯平板, 37 °C 培养 24 h 后进行鉴定; 采集静脉血液标本于血培养瓶中, 置于全自动血培养仪进行检测。32.3 h 后血培养报阳, 取出阳性标本, 直接涂片革兰染色显示为革兰阴性杆菌, 同时将阳性标本转种于血平板, 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 24 h 后进行鉴定。用一次性接种环挑取 1~2 个尿培养和血培养阳性的单个菌落, 分别采用 Vitek-2 Compact GN 鉴定卡、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)、API 20NE 生化鉴定系统和 16S rRNA 基因序列分析等方法对其进行鉴定。采用 Vitek-2 Compact GN 鉴定卡进行细菌鉴定, 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 MALDI-TOF MS 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%。采用 API 20NE 生化鉴定

\* 基金项目: 全军后勤计划重大专项课题子课题(AWS14C003-2); 国家自然科学基金重点项目(81430053)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: jamlj1110@163.com。

本文引用格式: 郑百慧, 黎敏, 鲁卫平, 等. 1 例高致病性类鼻疽伯克霍尔德菌的鉴定及溯源性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(19):

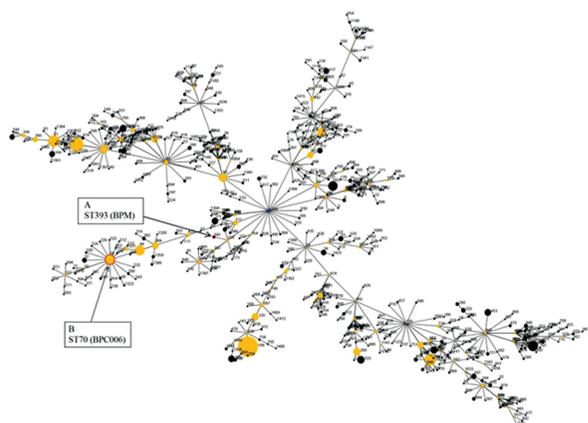
系统,结果显示阿拉伯糖同化实验阳性,检测结果见图 1。采用 16S rRNA 基因序列分析,结果显示该菌株序列与类鼻疽伯克霍尔德菌 (GenBank No. CP004379.1 和 CP004380.1) 相似度为 100%。

### 3 MLST 溯源性分析

以类鼻疽伯克霍尔德菌基因组 DNA 为模板,结合 MLST 基因分型的方法,通过使用 7 个保守基因引物 (ace, ghmD, gltB, lipA, lepA, nark, ndh) 进行 PCR 扩增反应<sup>[5-6]</sup>,将扩增产物送华大基因公司进行基因测序,再将测序结果在 <http://pubmlst.org/> 网站上进行管家基因序列对比,再利用 e-BURST 软件对该高致病性细菌进行溯源性分析,结果证实该高致病性细菌为 ST393 型类鼻疽伯克霍尔德菌。通过查阅文献发现,该菌株与 2015 年澳大利亚籍旅游者感染的类鼻疽伯克霍尔德菌为相同的 ST 型,且传染源均来自泰国<sup>[7]</sup>。此外,该 ST 型别与中国本土发现的类鼻疽伯克霍尔德菌 BPC006 (ST70) 亲缘性关系较远,再结合患者 1 个月前有去泰国旅游的经历,可判定该细菌为 1 例输入性的类鼻疽伯克霍尔德菌。该高致病性类鼻疽伯克霍尔德菌 MLST 基因分型的结果见图 2。



图 1 API 20NE 生化鉴定系统检测结果



注:正方形 A 内箭头示本次分离的类鼻疽菌株基因型 ST393 (BPM); 正方形 B 内箭头示我国类鼻疽伯克霍尔德菌代表基因型 ST70 (BPC006)

图 2 类鼻疽伯克霍尔德菌 MLST 基因分型 (e-BURST)

### 4 讨 论

通过对 1 例高致病性类鼻疽伯克霍尔德菌进行鉴定和溯源性分析,得到了很多重要的结论。近年来,随着旅游业的不断发展,世界范围内输入性类鼻疽病例的报道已屡见不鲜<sup>[8-10]</sup>。类鼻疽的流行和传播也日益广泛,已经不再是单纯的热带地区流行病,它可通过去疫区后携带感染而发病。这不仅给全球医疗卫生应急工作提出了新的挑战,同时也给未来类鼻

疽研究和诊断提出了新的要求。类鼻疽伯克霍尔德菌是一种人畜共患的高致病性细菌,它主要存在于热带地区的土壤和水中。泥土和水是类鼻疽的主要传染源,经常与泥土和水打交道的农民、渔民等都是其感染的主要对象,另外糖尿病等引起免疫功能低下者也容易感染类鼻疽伯克霍尔德菌<sup>[11-12]</sup>。在类鼻疽发病的初期,可出现畏寒、发热、头痛、咳嗽、咳痰、胸痛、腹痛、尿频、尿急、尿痛、骨关节疼痛等一些非特异性表现,极易被误诊为其他疾病。慢性患者常表现为局部化脓性感染,临床治疗比较困难;急性感染患者病情进展急进凶险,短期内即可迅速发展为急性肺炎、急性败血症同时可伴有多器官化脓性损害,如治疗不及时,极易导致多器官功能衰竭而死亡。而本例患者刚开始也出现不明原因发热,并且高烧持续不退而入院,患者入院后,医生刚开始经验性使用阿莫西林克拉维酸钾治疗,病情未见好转,待血培养和尿液培养细菌鉴定结果均提示类鼻疽伯克霍尔德菌时,课题组与专家组共同商讨后决定按照类鼻疽治疗方案 (静脉滴注泰能) 进行治疗,病情便迅速得以控制,为后期顺利康复出院提供了有力保证。此外,治疗期间,医院对其进行针对性隔离治疗,未出现类鼻疽院内感染病例。

本研究采用 Vitek-2 Compact GN 鉴定卡、MALDI-TOF MS、API 20NE 生化鉴定系统和 16S rRNA 基因序列分析等方法对临床分离的一株高致病性类鼻疽伯克霍尔德菌进行了准确的鉴定,并通过流行病学调查分析和 MLST 分型等方法对该高致病性类鼻疽伯克霍尔德菌进行了溯源性分析,结合相关研究确定为 1 例输入性类鼻疽病例。因此,通过对该病例的研究报道,提示临床医生应加强对类鼻疽伯克霍尔德菌的监测,更加清楚地知晓该菌的分子流行病学情况,同时医疗防疫人员应提高警惕,加强该病种防控。

### 参考文献

- [1] SALAM A P, KHAN N, MALNICK H, et al. Melioidosis acquired by traveler to Nigeria [J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(7): 1296-1298.
- [2] SAMY R P, STILES B G, SETHI G, et al. Melioidosis: clinical impact and public health threat in the tropics [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2017, 11(5): e0004738.
- [3] KINGSLEY P V, LEADER M, NAGODAWITHANA N S, et al. Melioidosis in Malaysia: a review of case reports [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2016, 10(12): e0005182.
- [4] GAUTHIER J, GEROME P, DEFEZ M A, et al. Melioidosis in travelers returning from Vietnam to France [J]. Emerg Infect Dis, 2016, 22(9): 1671-1673.
- [5] MCCOMBIE R L, FINKELSTEIN R A, WOODS D E. Multilocus sequence typing of historical Burkholderia

- pseudomallei isolates collected in Southeast Asia from 1964 to 1967 provides insight into the epidemiology of melioidosis[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(8):2951-2962.
- [6] 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, 20(6):516-518.
- [7] TEPARRUKKUL P, NILSAKUL J, DUNACHIE S A. Clinical epidemiology of septic arthritis caused by burkholderia pseudomallei and other bacterial pathogens in Northeast Thailand[J]. Amer J Tropical, 2017, 97(6):1695-1701.
- [8] SCHULTZE D, MUELLER B, BRUDERER T A, et al. A traveller presenting with severe melioidosis complicated by a pericardial effusion; a case report[J]. BMC Infect Dis, 2012, 12(1):242.
- [9] SAIDANI N, GRIFFITHS K, MILLION M A, et al. Melioidosis as a travel-associated infection: Case report and review of the literature[J]. Travel Med Infect Dis, 2015, 13(5):367-381.
- [10] 方瑶, 陈建国, 朱叶飞, 等. 1 例输入性类鼻疽病例的溯源分析[J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(11):1224-1225.
- [11] 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.
- [12] 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.

(收稿日期:2019-02-20 修回日期:2019-05-28)

## • 个案分析 •

## 小儿急性髓系白血病 M2a 成熟粒细胞浆中出现柴捆状奥氏小体 1 例报告

周百灵<sup>1</sup>, 雷庆龄<sup>2</sup>, 杜廷义<sup>1</sup>, 夏世梅<sup>1</sup>, 世淑兰<sup>1</sup>, 胥冀<sup>1</sup>, 奎莉越<sup>1△</sup>

(昆明市儿童医院:1. 检验科;2. 血液肿瘤科, 云南昆明 657900)

**关键词:**急性髓系白血病; 柴捆状奥氏小体; FLT3-ITD 突变**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.19.034**中图法分类号:**R733.71**文章编号:**1673-4130(2019)19-2430-03**文献标识码:**C

Auer 小体又称奥氏小体,其出现在形态学上标志着该细胞是起源于白血病细胞克隆<sup>[1]</sup>,在急性髓系白血病(AML)中具有高度特异性,是 AML 一个具有诊断意义的形态学特征<sup>[2]</sup>。奥氏小体常见于原始阶段细胞中,在成熟阶段出现奥氏小体是比较少见的。柴捆细胞的出现往往提示急性早幼粒细胞白血病(APL)<sup>[3]</sup>,而在 AML(非 APL)中发现成熟粒细胞浆中出现柴捆状奥氏小体的病例十分少见,现结合相关文献复习以提高对其的认识。

**1 病例资料**

患儿,男性,13 岁,因反复发热伴进行性面色苍白,乏力 20 余天。于 2016 年 5 月 17 日在外院行血常规示白细胞计数  $72.09 \times 10^9/L$ ,血红蛋白 89 g/L。为进一步诊治于 2016 年 5 月 19 日入本院,入院时面色苍白,颈部淋巴结肿大,肝脾无肿大。血常规:白细胞计数为  $24.5 \times 10^9/L$ ,血红蛋白 75 g/L,血小板计数为  $31 \times 10^9/L$ ,原始细胞比率为 40%。骨髓涂片示骨髓有核细胞增生明显活跃,分类原始粒细胞占 76%,此类细胞呈圆形或椭圆形,胞浆量中等呈淡蓝色,少部分浆中可见一条奥氏小体,核圆形,易见凹陷,核染色质粗颗粒状,核仁 1~4 个(图 1A)。组化

染色 POX 部分阳性。综合考虑为 AML-M2a。骨髓细胞免疫分型结果提示为急性髓系白血病(AML,非 M3)免疫表型,主要表达  $CD34^+$ ,  $CD117^+$ ,  $CD33^+$ , 未见明显的单核/红系/巨核系列分化标记物表达。白血病中 30 个融合基因筛查均为阴性,其中 PML-RARa 融合基因也为阴性。基因突变检测中检测到 FLT3-ITD 突变。染色体核型分析:46,XY,del(16)(q12),见图 2。患儿明确诊断后,按照 CCCG-AML-2015 方案进行化疗,诱导化疗药物为阿糖胞苷、依托泊苷及柔红霉素,对患者化疗后第 21 天及第 29 天行骨髓细胞学检查及 MRD 进行疗效评估。两个时间段均检出较高比例的原始粒细胞,同时在中性晚幼粒及杆状核粒细胞浆中可见较多 Auer 小体,甚至部分为柴捆状(图 1B、C)。第 21 天流式检测结果表明  $CD34^+$  肿瘤细胞占有核细胞总数约 22.1%,其免疫表型为  $CD34^+$ 、 $CD117^+$ 、 $CD33^-$ 、 $HLA-DR^+$  部分。回顾分析时发现患儿初诊骨髓片中其成熟中性粒细胞浆中偶见柴捆状奥氏小体(图 1A)。此时患儿一般情况较差,家属要求放弃治疗出院,后电话回访患儿已死亡。

△ 通信作者, E-mail:79769522@qq.com.