

• 个案分析 •

单核细胞增生李斯特菌致糖尿病性尿毒症 患者严重脓毒血症 1 例并文献复习

肖华亮, 陈宗耀[△], 刘 晓, 邹彦娇, 袁成良
四川省德阳市人民医院检验科, 四川德阳 618000

关键词:单核细胞增生李斯特菌; 脓毒血症; 氨苄西林

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.22.028

中图法分类号:S852.61

文章编号:1673-4130(2021)22-2813-04

文献标志码:C

单核细胞增生李斯特菌(LM)是一种革兰阳性杆菌,常引起新生儿、孕妇、肿瘤患者等高危人群的感染,可导致菌血症、脑膜炎等疾病^[1-2],国内有关糖尿病性尿毒症患者感染该菌的报道较少,现将 1 例糖尿病性尿毒症患者合并 LM 血流感染的诊疗经过报道如下。

1 临床资料

患者,男,63 岁,因“发热乏力 2 d 余”于 2020 年 11 月 17 日入院。患者入院前 2 d 余,无明显诱因出现头晕、腹胀、发热(未监测体温),伴乏力、食欲减退,未予以重视,入院前 1 d 患者于院外行血液透析治疗,透析前体温正常,透析下机后患者自觉乏力加重,伴行走不稳,测得体温 40℃,遂至本院行进一步治疗。入院后行胸部 CT 提示:双肺散在少许钙化灶及纤维小结,左肺上叶尖段少许肺大泡;左心增大;所见左肾萎缩。患者 2 型糖尿病病史 7 年余,平时皮下注射赖脯胰岛素(每日 3 次,每次 7 U)控制血糖,血糖平时未规律监测。4 年前患者诊断为慢性肾脏病 V 期,开始规律血液透析,目前患者每周 3 次透析治疗。诊断高血压 4 年余,血压最高达 200/110 mm Hg,平时口服苯磺酸氨氯地平片(每日 2 次,每次 5.0 mg)、美托洛尔(每日 1 次,每次 25.0 mg)控制血压,自诉血压控制尚可。患者生于四川省,偶有吸烟,已戒酒 7 年余,平时有食用剩饭剩菜的习惯。

入院时患者无腹痛、腹泻、咳嗽等症状。体格检查:体温 37.0℃,脉搏 90 次/分,呼吸 21 次/分,血压 147/81 mm Hg。营养尚可,体型正力型,神志清楚,步入病房,右上肢可见动静脉内瘘,未闻及血管杂音,可扪及血管震颤,心肺腹检查未见明显异常。

入院后完善相关检查。血生化及体液检测结果:空腹血糖(GLU)17.16 mmol/L,尿素(Urea)13.84 mmol/L,肌酐(Crea)747.6 μmol/L,大便隐血定性(OB)弱阳性;血常规结果:血红蛋白(Hb)111 g/L;术前感染性疾病筛查、肝功能、电解质、凝血检测等未见明显异常,其余相关炎症指标检查结果见表 1。微生物检查结果:入院当日即送血培养(双瓶双侧送检),入院后第 2 天(2020 年 11 月 18 日)4 瓶血培养瓶均报阳,报阳时间分别是 18.3、18.6、18.8、20.7 h。将 4 瓶血培养瓶血液直接涂片镜检显示:革兰阳性杆菌(图 1),并转种于哥伦比亚血琼脂平板、巧克力平板和麦康凯平板(郑州安图),置于 5% CO₂ 孵育箱、35℃ 培养 24 h,2020 年 11 月 19 日血平板出现圆形、光滑、有狭窄 β 溶血环的灰白色菌落(图 2),而巧克力、麦康凯平板未见细菌生长,挑取血平板上单个菌落行革兰染色镜检显示:革兰阳性杆菌(图 3)。手工辅助生化显示:动力、乳糖、葡萄糖、触酶、麦芽糖、蔗糖、七叶苷、甲基红、VP 试验、CAMP 试验阳性,甘露醇、靛基质、硝酸盐还原试验、木糖试验均阴性。

表 1 炎症指标检查结果

项目	正常值	检测日期(2020 年)							
		11 月 17 日	11 月 19 日	11 月 20 日	11 月 22 日	11 月 24 日	11 月 27 日	12 月 01 日	12 月 31 日
PCT(ng/mL)	0.00~0.05	23.65	77.66	—	—	27.33	7.98	1.92	0.01
白细胞计数(WBC, ×10 ⁹ /L)	4~10	6.12	—	5.79	4.04	7.69	3.31	4.92	5.02
超敏 C 反应蛋白(hs-CRP, mg/L)	0.5~10.0	106.11	—	121.91	73.89	38.67	18.10	4.26	2.31

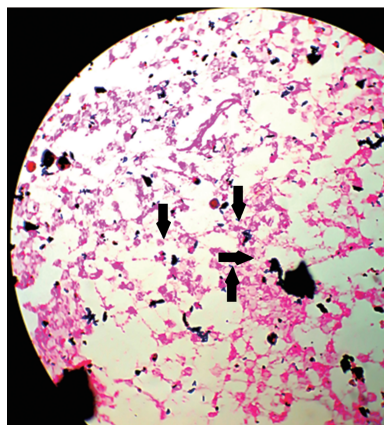
[△] 通信作者, E-mail: 943164604@qq.com。

本文引用格式:肖华亮,陈宗耀,刘晓,等.单核细胞增生李斯特菌致糖尿病性尿毒症患者严重脓毒血症 1 例并文献复习[J].国际检验医学杂志,2021,42(22):2813-2816.

续表 1 炎性指标检查结果

项目	正常值	检测日期(2020 年)							
		11 月 17 日	11 月 19 日	11 月 20 日	11 月 22 日	11 月 24 日	11 月 27 日	12 月 01 日	12 月 31 日
血小板计数(PLT, $\times 10^9/L$)	100~300	48	—	36	41	86	128	167	156
中性粒细胞百分比(NEUT%, %)	40~75	81.9	—	82.0	65.2	57.9	48.6	55.9	56.3
体温($^{\circ}C$) [*]	36.0~37.3	37.5	37.3	37.2	37.2	37.1	37.2	36.8	36.5

注: * 表示取患者每日最高体温为当日的体温值; — 表示该项无数据。



注: 箭头所指为革兰阳性杆菌。

图 1 血培养瓶涂片革兰染色

根据革兰染色结果及菌落形态特征, 选取单个菌落调制成 0.5 麦氏浊度菌悬液, 使用法国梅里埃 VITEK 2 Compact GP 卡上机鉴定结果为: LM(可信度 $\geq 95.0\%$)。并用清洁竹签挑取单个纯菌落抹至靶板, 加入 $1 \mu L$ 70% 的甲酸水溶液, 室温干燥后, 加入 $1 \mu L$ 基质液, 然后放室温干燥, 最后用德国布鲁克 MALDI-TOF MS 系统分析, 多次鉴定结果为 LM(MALDI 得分 2.26, 作为鉴定到种), 此菌的蛋白指纹图谱见图 4。同时由四川金域医学检验中心采用 16S rRNA 基因测序技术进一步鉴定, 使用 BLAST 软件将所测分离菌的基因序列与 GenBank 数据库中的序列进行同源性分析, 结果均显示为 LM(图 5)。根据欧洲抗菌药物敏感性试验委员会标准, 2020 年 11 月 20 日使用纸片扩散法(K-B 法)行药敏试验显示: 该菌对氨苄西林、青霉素 G、美罗培南、红霉素敏感, 对复方磺胺甲噁唑耐药。

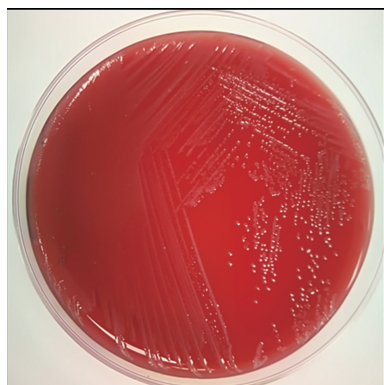


图 2 血培养瓶转种血平板上培养 24 h 后菌落形态

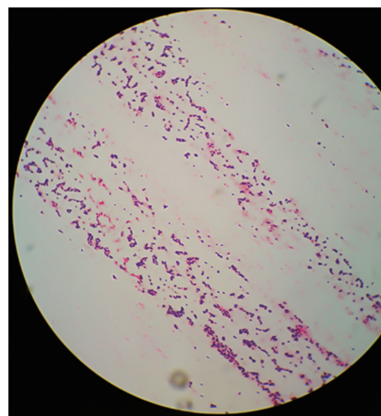


图 3 血平板上菌落为革兰阳性杆菌

患者入院诊断为“脓毒血症、慢性肾脏病 V 期、肾性贫血、2 型糖尿病、糖尿病肾病、高血压 3 级, 很高危组”。患者炎性指标高, 但感染原发灶尚不明确, 暂予以头孢哌酮舒巴坦($2.0 g/8 h$ 静脉滴注)覆盖革兰阴性菌及部分革兰阳性菌抗感染治疗, 仍然以赖脯胰岛素(每日 3 次, 每次 7 U 皮下注射)控制血糖并完善血培养等检查, 继续规律透析。2020 年 11 月 18 日完善腹部及泌尿系统彩超显示: 肝囊肿、胆囊壁息肉样病灶, 双肾测值小, 请结合肾功能。前列腺稍增大。余未见明显异常。2020 年 11 月 19 日患者感浑身乏力, 睡眠较差, 血压 $174/81 mmHg$, 虽然该患者既往合并高血压病史, 但此血压高于平时检测值的 30%, 且患者自入院以来血小板一直低于 $100 \times 10^9/L$, 急查降钙素原(PCT)为 $77.66 ng/mL$, 故修正诊断为“脓毒血症(重度)”。2020 年 11 月 20 日由于患者病情加重, 出现乏力、头昏等症状, 考虑有颅内及其他部位迁徙性感染的可能, 完善颅脑 CT 显示双侧额窦、筛窦及上颌窦炎症, 余未见明显异常, 同时患者无头痛、呕吐、嗜睡等明显的神经病理症状, 暂时排除神经系统感染, 密切观察。鉴于血培养回报: LM, 根据《热病: 桑福德抗微生物治疗指南(第 44 版)》及药敏试验结果, 故调整抗感染方案为: 氨苄西林($4.0 g/8 h$ 静脉滴注)抗感染治疗, 并维持该治疗方案。2020 年 12 月 3 日患者无发热等感染征象, 相关炎性指标持续好转, 复查血培养未见异常, 故停用静脉氨苄西林, 改口服氨苄西林($4.0 g/8 h$)继续抗感染治疗。由于患者随意加餐, 导致血糖波动较大($5.4 \sim 30.9 mmol/L$), 故调整为优泌乐 25(早 20 U、晚 18 U 餐前皮下注射)控制血糖。患者血小板恢复正常, 相关炎性指标持续

降低,最终于 2020 年 12 月 5 日出院。出院后患者继续口服氨苄西林抗感染治疗 1 个月。1 个月后随访患者无发热,相关炎性指标未见明显异常。

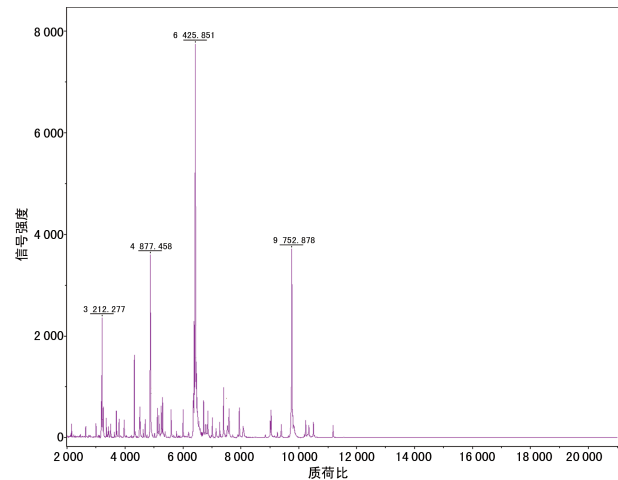


图 4 分离出的 LM 蛋白指纹图谱

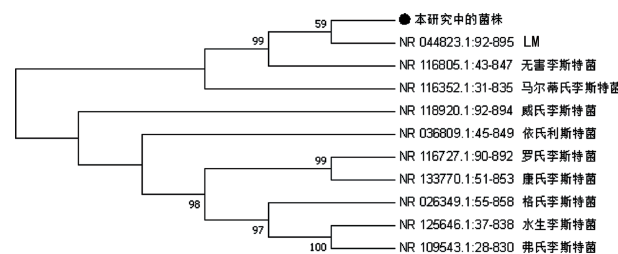


图 5 分离出的 LM 系统进化树

2 讨 论

LM 在自然环境中广泛存在,包括水、土壤、乳制品、肉类、海鲜、变质的食物等,是人类重要的食源性病原菌之一,其感染潜伏期较长,中位潜伏期为 8(1~67)d^[3]。免疫功能正常的健康人群若大量(通常是 10^6 个)摄入 LM 时可被感染并出现临床症状^[4]。欧盟委员会建议将食物中 LM 的水平保持在 100 CFU/g 以下^[5]。对于伴有糖尿病、肝病、艾滋病等疾病的高危人群,即使少量摄入 LM 也可出现侵袭性感染。

本案例患者糖尿病病史长,血糖控制差,文献报道糖尿病患者会出现胃酸分泌减少、胃 pH 值升高,从而导致食源性病原体由于在高 pH 水平的胃液中不能被有效杀灭而存活^[6-8]。再加上糖尿病患者小肠自主神经病变会导致胃肠道蠕动减慢^[6],更使得 LM 感染的风险大大增加。研究表明,LM 通过侵袭蛋白内质 B 与宿主酪氨酸激酶受体结合,从而感染不同种属的哺乳动物,并且通过侵袭蛋白内质 A 特异性结合器官组织的 E-钙黏蛋白侵入肠道上皮细胞,然后通过血液系统和淋巴系统到达靶器官、肝脏、脾脏等,导致脓毒血症、脑膜炎等严重感染性疾病^[9]。虽然此患者没有明显的消化道症状,而且通过多项检查未发现明显的感染灶,但患者有食用过夜剩饭剩菜的习惯,加上长期血液透析治疗,抵抗力低下,因此可能存在 LM 由胃肠道感染的途径。

脓毒血症一般伴有发热、气促、精神状态改变等临床症状,同时 WBC、PCT 等炎性指标明显升高,本

例患者入院前反复高热,入院后相关检测指标达到重度脓毒血症的标准^[10],入院当天根据临床经验给予头孢哌酮舒巴坦抗感染治疗,但抗感染效果较差,PCT、hs-CRP 水平不断升高(PCT 水平最高达 77.66 ng/mL),值得注意的是患者自从入院后未出现明显发热,相关炎性指标却不断升高,这可能与该患者年老且合并多种基础疾病,免疫反应差有关,临床也有相似病例报道,因此有一定的迷惑性,应当引起警惕^[11]。入院后第 2 天患者 4 瓶血培养瓶均报阳,因此排除污染可能,经质谱鉴定为 LM 并立即通知临床,临床治疗该菌的首选方案是阿莫西林、氨苄西林和青霉素 G,且要足量足疗程(至少 3 周)直到完全根除^[12],而氨苄西林疗效明确,无肝肾损害等副作用且价格相对便宜,根据指南《热病:桑福德抗微生物治疗指南(第 44 版)》同时结合药敏试验结果最终更换为氨苄西林抗感染治疗,由于患者病情重、免疫力差,故住院期间总共进行了 17 d 静脉及口服氨苄西林抗感染治疗,病程中积极控制血糖、规律透析,患者各项指标恢复良好,出院后继续口服氨苄西林 1 个月加强抗感染治疗,回访显示患者预后良好。此外本例患者抵抗力差,需警惕颅内感染,但完善头颅 CT 未见明显异常且没有出现明显的神经病理症状,故排除颅内感染,文献指出 LM 能够侵袭神经元细胞造成严重颅内感染,病死率为 20%~50%,而氨苄西林联合氨基糖苷类抗菌药物如庆大霉素具有协同作用,可提高脑膜炎的治疗效果,但由于肾损伤的原因还存在一定争议^[12]。最新的研究显示,头孢曲松联合氨苄西林能增加氨苄西林的体外活性,因此可能是治疗 LM 侵袭性感染的另一种有效选择^[13]。对于像本例患者之类的血液透析患者,抗菌药物的选择及用量应个体化掌握,同时权衡疗效与副作用,定期监测肝肾功能、电解质等指标并及时调整治疗方案。

本例患者合并的基础疾病、病程经过及治疗方案与卢兴兵等^[14]、张丽等^[15]、王珊等^[16]的报道均不相同,但治疗过程大体都可概括为:经验性抗感染失败→病原菌检出、更换抗感染方案→治愈。已有相关研究证实针对 LM 不适当的经验性抗菌药物治疗会导致病情加重^[17]。一旦证实或高度怀疑是 LM 感染,应当尽快调整治疗方案,使用合适的抗菌药物进行治疗。因此,对 LM 的快速鉴定显得尤为重要,由于 16S rRNA 基因测序检测技术对实验室及检测人员要求较高,操作复杂,成本高,目前较难在基层实验室普及。而相较于传统生化表型细菌鉴定技术及细菌自动生化鉴定仪器,质谱鉴定技术具有简便、快速、准确、细菌库广等特点,相关研究显示了 MALDI-TOF MS 系统可对 LM 进行有效检测和鉴定,能使临床医生至少提前 24 h 获得准确的鉴定结果,为临床合理用药提供有力的支持^[18]。

综上所述,笔者认为有以下几方面值得总结:(1)感染性疾病要重视病原学的搜寻,积极运用血培养、

PCT 检测等手段来提高临床工作者的诊疗准确度,基层医院要从自身实际情况出发选择合适的治疗方案;(2)病原学的鉴定要重视时效性,微生物工作者应不断提高自身的水平,灵活运用各种检查技术及时准确地鉴定出病原菌;(3)加强检验科与临床的沟通,若检出少见菌、罕见菌要及时主动通知临床,积极地参与到临床疾病的诊治中,结合患者病史资料、临床症状等共同判断,更好地为患者服务。

参考文献

- [1] LOW J C, DONACHIE W. A review of listeria monocytogenes and listeriosis[J]. Vet J, 1997, 153: 9-29.
- [2] HERNANDEZ-MILIAN A, PAYERAS-CIFRE A. What is new in listeriosis? [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 358051.
- [3] GOULET V, KING L A, VAILLANT V, et al. What is the incubation period for listeriosis? [J]. BMC Infect Dis, 2013, 13(1): 11.
- [4] VÁZQUEZ-BOLAND J A, KUHN M, BERCHE P, et al. Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants[J]. Clin Microbiol Rev, 2001, 14(3): 584-640.
- [5] NAKAMURA F, NASU R. Listeria monocytogenes septicemia and meningoencephalitis associated with relapsed and refractory follicular lymphoma[J]. J Infect Chemother, 2020, 26(6): 619-621.
- [6] TELZAKE E, GREENBERGM S, BUDNICKL D, et al. Diabetes mellitus-a newly described risk factor for infection from salmonella enteritidis[J]. J Infect Dis, 1991, 164(3): 538-541.
- [7] BAVISHI C, DUPONT H L. Systematic review: the use of proton pump inhibitors and increased susceptibility to enteric infection[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2011, 34(11/12): 1269-1281.
- [8] KVISTHOLM J A, SIMONSEN J, ETHELBERG S. Use of proton pump inhibitors and the risk of listeriosis: a nationwide registry-based case-control study[J]. Clin Infect Dis, 2017, 64(7): 845-851.
- [9] REGAN T, MACSHARRY J, BRINT E. Tracing innate immune defences along the path of listeria monocytogenes infection[J]. Immunol Cell Biol, 2014, 92(7): 563-569.
- [10] 中华医学会重症医学分会. 中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27(6): 401-426.
- [11] 白重阳, 顾炳权. 降钙素原预警脓毒血症一例[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(6): 1661.
- [12] LIANG J J, HE X Y, YE H. Rhombencephalitis caused by listeria monocytogenes with hydrocephalus and intracranial hemorrhage: a case report and review of the literature[J]. World J Clin Cases, 2019, 7(4): 538-547.
- [13] LEPE J A, RODRÍGUEZ-VILLODRES A, MARTÍN-GUTIÉRREZ G, et al. In vitro study of synergy of ampicillin with ceftriaxone against listeria monocytogenes [J]. Rev Esp Quimioter, 2019, 32(5): 465-468.
- [14] 卢兴兵, 戴仲秋, 王彦兮, 等. 透析患者发生产单核细胞李斯特菌血流感染一例[J]. 华西医学, 2020, 35(8): 1015-1017.
- [15] 张丽, 齐军, 吴宗勇, 等. 1 例肿瘤患者产单核细胞李斯特菌血流感染分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(13): 1663-1664.
- [16] 王珊, 郭玉金. 肺癌化疗后产单核细胞李斯特菌血流感染 1 例[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(5): 485-486.
- [17] HOF H. An update on the medical management of listeriosis[J]. Expert Opin Pharmacother, 2004, 5(8): 1727-1735.
- [18] 龚艳清, 陈信忠, 杨俊萍, 等. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在李斯特菌检测和鉴定中的应用[J]. 食品科学, 2012, 33(6): 209-214.
- [19] 黄艳飞, 常峥, 白婕, 等. 丝状真菌质谱鉴定前处理方法及应用[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(30): 2379-2383.
- [20] BILLE E, DAUPHIN B, LETO J, et al. MALDI-TOF MS andromas strategy for the routine identification of bacteria, mycobacteria, yeasts, aspergillus spp and positive blood cultures[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(11): 1117-1125.
- [21] HETTICK J M, GREEN B J, BUSKIRK A D, et al. Discrimination of penicillium isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry fingerprinting[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2008, 22(16): 2555-2560.
- [22] CASSAGNE C, RANQUE S, NORMAND A C, et al. Mould routine identification in the clinical laboratory by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. PLoS One, 2011, 6(12): e28425.
- [23] SULEYMAN G, ALANGADEN G J. Nosocomial fungal infections: epidemiology, infection control, and prevention [J]. Infect Dis Clin North Am, 2016, 30(4): 1023-1052.
- [24] 苍金荣, 王翠, 王曦, 等. “双甲酸夹心”快速样本前处理方法的建立及在丝状真菌质谱鉴定中的初步应用[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(3): 21-23.

(收稿日期: 2021-01-12 修回日期: 2021-06-17)

(收稿日期: 2021-03-12 修回日期: 2021-08-10)

(上接第 2812 页)

culture conditions based on ribosomal proteins[J]. Infect Drug Resist, 2017, 10: 499-506.

- [16] CLARK A E, KALETA E J, ARORA A, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology[J]. Clin Microbiol Rev, 2013, 26(3): 547-603.
- [17] LAU A F, DRAKE S K, CALHOUN L B, et al. Development of a clinically comprehensive database and a simple procedure for identification of molds from solid media by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(3): 828-834.