

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.16.055

应用 MALDI-TOF MS 快速鉴定骨折术后人型支原体血流感染 1 例报道

段雪红¹, 朱超^{2△}, 范宁¹, 袁亚迎³

1. 陕西省咸阳市第一人民医院检验科, 陕西咸阳 712000; 2. 陕西中医药大学附属医院骨科, 陕西咸阳 712000; 3. 陕西省咸阳市第一人民医院重症医学科, 陕西咸阳 712000

关键词: 人型支原体; 骨折; 血流感染; 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱

中图法分类号: R446.5

文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2020)16-2429-03

人型支原体(Mh)主要寄居于生殖道, 21%~53%性成熟女性子宫颈或阴道内可分离出 Mh, 男性尿道携带率低^[1]。主要通过性接触引起泌尿生殖道感染, 本文介绍 VITEK[®] MS 全自动快速微生物质谱检测系统(简称 VITEK[®] MS 质谱仪)应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)技术快速鉴定 1 例男性患者骨折术后 Mh 血流感染, 现报道如下。

1 临床资料

患者, 男, 38 岁, 因车祸致全身多处损伤, 2019 年 5 月 24 日以“多发伤、右侧肱骨外科颈骨折、右侧肩胛骨骨折、右侧股骨粉碎性骨折、骨盆骨折、右侧肋骨骨折、失血性休克、肺挫裂伤”收住入院。患者病危, 给予补液、输注血液制品、抗炎止痛、预防血栓等对症治疗, 6 月 3 日行“右侧股骨外科颈骨折及右侧股骨骨折切开复位内固定术”, 6 月 4 日患者开始出现高热, 最高体温达 39.8℃, 辅助检查: 降钙素原(PCT)、白细胞、C-反应蛋白(CRP)炎症指标均升高, 结果见表 1。临床给予美罗培南、万古霉素抗感染治疗, 效果不佳。6 月 4、6 日血培养均检出 Mh。调整抗菌药物改用头孢他啶+阿奇霉素抗感染治疗, 6 月 14 日后未出现发热, 6 月 15 日患者转入骨科治疗, 并给予阿奇霉素 0.5 g 次/日, 继续抗感染治疗 10~14 d。于 7 月 17 日治愈出院。

2 细菌培养及鉴定

6 月 4、8 日各送一套(需氧+厌氧)血培养, 置 BACT/ALERT 3D 血培养仪(法国生物梅里埃公司)进行培养, 两套血培养中需氧瓶分别于 1.98 d 和 1.68 d 报告阳性, 厌氧瓶培养阴性。两次阳性血培养瓶直接涂片革兰染色均未查到细菌。转种哥伦比亚血琼脂平板(郑州安图公司)置 35℃, 5%CO₂ 培养箱培养, 48 h 后未见明显菌落, 涂片革兰染色未见细菌。菌落直接涂布至靶板, 然后加 VITEK[®] MS-CHCA 配套基质液 1 μL 直至自然干燥, 接着将标本准备工

作站输入标本信息并发送至数据采集工作站经 VITEK[®] MS 质谱仪检测, 鉴定结果为 Mh, 置信度为 99.9%。继续培养至 96 h 后, 可见灰白色, 直径约 0.1~0.2 mm 湿润菌落, 见图 1。涂片后革兰染色仍未查到细菌, 菌落再次经 VITEK[®] MS 质谱仪鉴定为 Mh, 置信度为 99.9%。2 次血培养阳性菌株经 VITEK[®] MS 质谱仪鉴定的 Mh 的 7 个主蛋白质量峰值和置信度见表 2, 2 株 Mh 相对分子质量的质谱图见图 2。

表 1 患者 2019 年不同时间段实验室检查结果与体温变化

日期	白细胞($\times 10^9$)	CRP(mg/L)	PCT(ng/mL)	体温(℃)
5月24日	10.50	8.80	1.08	36.7
5月29日	12.20	146.92	0.19	36.9
6月3日	23.77	168.60	0.18	37.1
6月4日	16.03	188.50	0.24	39.1
6月6日	16.35	238.40	18.66	39.8
6月9日	16.61	156.80	4.57	38.8
6月13日	11.37	89.30	0.43	38.0
6月14日	10.02	43.90	0.24	37.0
6月22日	7.33	28.10	0.13	36.8
7月2日	6.66	12.88	0.06	36.4

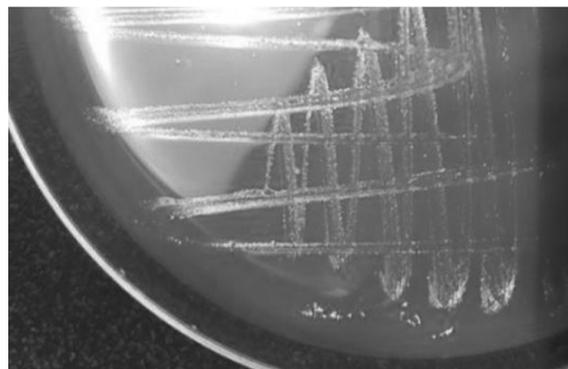
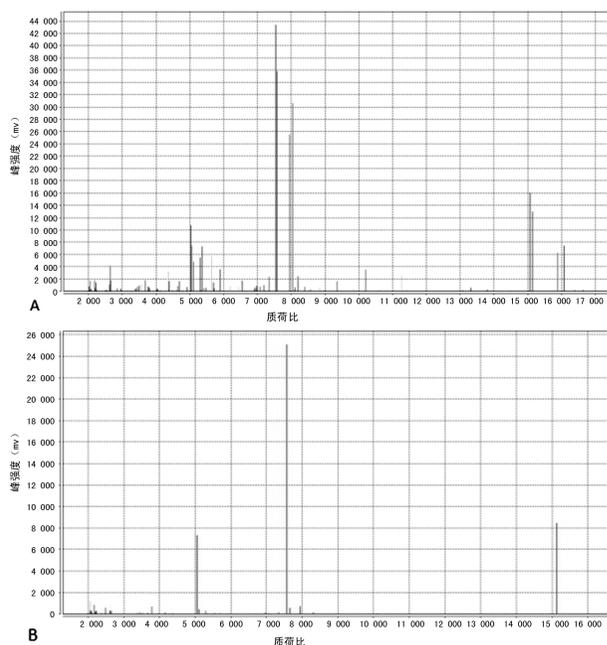


图 1 Mh 哥伦比亚血琼脂培养 96 h 菌落

△ 通信作者, E-mail: 229642480@qq.com.

表2 2株 Mh 的7个主蛋白质量峰值和置信度

菌株	7个主蛋白质量峰值							置信度(%)
	峰值1	峰值2	峰值3	峰值4	峰值5	峰值6	峰值7	
1	3 780.794	5 043.167	5 553.622	7 337.034	7 566.945	10 091.616	15 129.137	99.9
2	5 044.068	5 622.735	6 535.358	7 337.486	7 568.130	10 194.000	11 242.700	99.9



注:A表示菌株1;B表示菌株2。

图2 2株 Mh 相对分子质量的质谱图

3 讨论

Mh为泌尿生殖系统常见的定植菌,在一定条件下可引起泌尿生殖道感染,如尿路感染、宫颈炎、盆腔炎等,一般情况是无法穿透泌尿生殖道黏膜下层^[2]。有报道,从约10%产后发热妇女的血标本中可分离到Mh,认为Mh可引起一些流产后或正常分娩后的妇女发热,而且也有Mh引起妇科及产科患者血流感染的报道,其他血流感染报道少见^[3-5]。在常规细菌培养中检出的人源性致病性支原体,多数病例是偶然发现的,并非因怀疑支原体感染而作的针对性检测发现的。有研究指出,Mh也可通过穿透黏膜侵入血流并播散到全身各组织和器官,引起泌尿生殖道外的感染,除妇科、产科术后菌血症外,神经外科术后Mh血流感染、手术切口感染或咽炎等也有发生^[2,6-7]。此外,国外有病例报道Mh可引起心肺移植术后感染导致移植失败或神经外科术后脑膜炎等严重后果^[8-9]。

本例患者6月3日行骨科“右侧股骨外科颈骨折及右侧股骨骨折切开复位内固定术”后开始出现高热,最高体温达39.8℃,PCT、白细胞、CRP指标升高,两套血培养需氧瓶中均检出Mh,手术切口渗出液普通细菌培养2d未生长。而常规的细菌培养很可能在Mh生长所需的时间(4d甚至更长)到达之前就已

经把培养基丢弃了^[3]。欧内玉^[10]分析22株非生殖道标本中分离的Mh,其中12株为手术切口,包括脑外伤头部切口5株,骨折切口3株,妇产科手术切口4株。文献^[6]报道的3株Mh致手术切口感染,其中2株分离自骨折术后创口分泌物。所以,本例患者不排除Mh经手术切口侵入血流。

本例患者初始给予美罗培南、万古霉素抗感染治疗后效果不佳,持续发热,6月6日炎症指标及体温达高峰。由于本室未开展支原体药敏试验,按照文献^[5]的治理方案给予“头孢他啶+阿奇霉素”联合治疗,6月14日后未出现发热。

Mh分离培养困难,血平板上生长缓慢,至少需要培养48h才可出现细小针尖样的不典型的小菌落,革兰染色菌体不着色,不能根据菌落形态或特殊的生化表型对其进行鉴定。MALDI-TOF MS是近年发展起来的一种新型软电离质谱技术,应用于微生物鉴定已经获得重大发展,在我国已经形成临床微生物质谱应用专家共识^[11]。主要应用于临床常见细菌、念珠菌的鉴定,而对于其余病原微生物如支原体、分枝杆菌、丝状真菌鉴定的实际情况正处于探索阶段^[12]。本文2株Mh经VITEK®MS质谱仪分析,其7个主蛋白质量峰值相似,置信度99.9%,虽未采用PCR技术对比,但有研究者应用MALDI-TOF MS技术对创伤口标本分离的Mh快速鉴定并与16SrRNA基因序列分析对比,结果一致^[12-13]。

综上所述,Mh血流感染的临床特征无特异性,分离培养困难且革兰染色不着色,极易漏检,实验室应特别关注血培养报阳时较平缓的生长曲线,若患者有手术操作,相关感染指标升高、体温持续升高且广谱抗菌药物治疗效果不佳时,应考虑Mh感染的可能,延长标本培养时间,同时采用MALDI-TOF MS对菌落进行快速鉴定,有利于及早明确病原菌,指导临床合理用药。

参考文献

- [1] 倪语星,尚红. 临床微生物学检验[M]. 5版. 北京:人民卫生出版社,2015:260.
- [2] 吴丽莎,朱红军,陈乐川. 神经外科术后人型支原体血流感染一例[J]. 中华临床感染病杂志,2016,9(6):538-539.
- [3] 赵秋彦,盘宗敏,梁国泉,等. 不良妊娠患者支原体感染及

药敏的分析[J]. 中国妇幼健康研究, 2015, 20(3): 496-498.

[4] 叶金艳, 屈平华, 杜玉海, 等. 人型支原体在生殖道外感染中的分离与特征[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(7): 653-655.

[5] 穆柳青, 孟华蓉, 陈伟, 等. 人型支原体致产妇产菌血症 1 例[J]. 临床检验杂志, 2016, 34(11): 880.

[6] 池细倂, 高世华, 李国玉, 等. 人型支原体致手术切口感染临床特征[J]. 检验医学, 2018, 33(9): 859-861.

[7] 靳履前. 人型支原体咽炎 1 例报告[J]. 中国皮肤性病学杂志, 1999, 13(3): 43.

[8] HOPKINS P M, WINLAW D S, CHHAJED P N, et al. Mycoplasma hominis infection in heart and lung transplantation[J]. J Heart Lung Transplant, 2002, 21(11): 1225-1229.

[9] WATSON L, PANG Y M, MITCHELL S, et al. Myco-

plasma hominis meningitis in a 24 week premature neonate: case report and short literature review[J]. J Pediatr Pharmacol Ther, 2008, 13(4): 251-254.

[10] 欧内玉. 人型支原体血流感染及其他部位感染的研究[J]. 医学检验与临床, 2016, 27(2): 90-91.

[11] 中国临床微生物质谱共识专家组. 中国临床微生物质谱应用专家共识[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(10): 2149-2152.

[12] 林豪芸, 梁训宏, 陈茶, 等. 采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱鉴定血液中分离的人型支原体[J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38(11): 774-776.

[13] 吴开进, 熊利巧. 应用 MALDITOF-MS 技术对创伤口标本分离的人型支原体快速鉴定及药敏分析[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2019, 8(2): 1-3.

(收稿日期: 2019-12-09 修回日期: 2020-07-13)

• 案例分析 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2020.16.056

异基因骨髓移植后微柱凝胶法与试管法血型鉴定不一致 1 例报道

魏少平, 周菁, 邵军乐, 高晓艳, 白杨

河北燕达陆道培医院输血科, 河北三河 065201

关键词: 异体骨髓移植; 血型鉴定; 试管法; 微柱凝胶法

中图法分类号: R722.1

文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2020)16-2431-02

异基因骨髓移植成败的关键是人类白细胞抗原配型问题, 因此骨髓移植时就会存在受体-供体血型不一致情况。骨髓移植后干细胞在受体内成活逐渐恢复造血功能, 供体红细胞抗原逐渐替代受体红细胞抗原, 供受体血型不断转化, 这个阶段内受体内血型在受体血型、受体血型和供体血型共存、供体血型中动态变化, 这段时间内会出现血型正反定型不一致问题, 为临床申请用血造成一定的困难。血型鉴定的方法有微柱凝胶法和试管法。微柱凝胶法以操作简便、灵敏度高、特异性强、自动化程度高、易于判读被广泛使用, 而试管法以操作繁杂、不便保存、判读结果有误差而被淘汰。但骨髓移植后患者血型处于动态转变期, 开始时血型抗原会很弱, 血清抗体滴度会很低, 若使用微柱凝胶法进行血型鉴定时可能会出现假阴性, 导致血型鉴定有误, 而试管法可避免微柱凝胶法的缺点, 因此移植期间需确保血型鉴定的准确性。现将本院 1 例移植后患者血型正反定型不一致的观察报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者, 女, 14 岁, 血型 O 型、RH 血型 D 抗原阳性 (RHD), 3 年前因发烧、肝脾和淋巴结肿大入住外院。外院检测骨髓涂片示原幼淋巴细胞占

92%, 其免疫表型为 CD19⁺、CD10⁺、CD34⁺, 融合基因检测均为阴性, 临床诊断为急性 B 淋巴细胞白血病。于外院多次化疗好转后复发, 后又行嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法 (CAR-T) 治疗后完全缓解, 于 2019 年 1 月 8 日来本院拟行异基因造血干细胞移植, 供者为患者父亲, 其血型为 A 型 RHD 阳性, 患者与其父亲 5/10 半相合移植。2019 年 1 月 22 日入仓, 移植前 10 d 至移植前 1 d 预处理, 2019 年 2 月 1 日进行干细胞移植, 输入单个核细胞 (MNC) 的数量: 9.2×10^8 /kg, 造血干细胞的数量 CD34⁺: 4×10^6 /kg, 移植后 1 d 至移植后 12 d 等待植活, 移植期间常规使用美罗培南、舒普深、达托霉素抗炎、抗病毒治疗和甲强龙免疫抑制剂, 对受者采用大剂量的放疗和化疗可以抑制 B 淋巴细胞产生血清凝集素, 移植后通过监测红细胞血型和血清凝集素效价的方法来评价干细胞的移植效果。

1.2 试剂 抗 A、抗 B 标准血清抗体和 ABO 型试剂红细胞均由上海血液生物有限责任公司提供, 微柱凝胶卡和 A1、B 试剂红细胞由 Diagnostic Grifols, S. A. 公司提供。

1.3 方法 ABO 血型鉴定、抗体滴度的测定方法均按照文献[1]标准的实验方法进行操作。