

骨关节尖端赛多孢菌与偶发分枝杆菌感染 实验室诊断和临床治疗

王 曦¹, 苍金荣^{2a}, 归巧娣^{2b}, 周 楠^{2c}, 刘宗智^{2d} (1. 西安市红会医院关节病院, 西安 710054;
2. 陕西省人民医院, a. 检验科; b. 陕西省临检中心; c. 药学部; d. 骨科, 西安 710068)

摘要: **目的** 对1例骨关节尖端赛多孢菌与偶发分枝杆菌并发感染病例进行病原学诊断和治疗分析, 为临床少见菌感染诊治提供思路。**方法** 将左大腿及左膝外伤后膝关节红肿骨科住院患者作为研究对象, 采集其关节腔积液进行涂片染色、培养及质谱鉴定, 根据病原学鉴定结果给予用药指导。**结果** 患者关节腔引流液外观为脓性乳糜状, 涂片抗酸染色见大量白细胞和抗酸阳性呈柴捆状排列菌体; 革兰染色见大量白细胞及真菌菌丝; 荧光染色见团状菌丝。培养72h后血平板见丝状真菌菌落及细小、干燥的细菌样菌落, 质谱仪鉴定为偶发分枝杆菌和尖端赛多孢菌混合感染。给予左氧氟沙星+伏立康唑+阿米卡星静脉滴注治疗14天, 患者左膝关节肿胀明显减轻, 左下肢肌力正常出院。出院医嘱改左氧氟沙星+多西环素+伏立康唑口服, 因患者经济原因自行停药伏立康唑后复发再次入院, 行关节腔积液培养再次分离出尖端赛多孢菌。临床清创并继续给予左氧氟沙星+伏立康唑+阿米卡星静脉滴注治疗, 待症状改善后口服左氧氟沙星+多西环素+伏立康唑, 期间肝功能检测有轻度损害, 治疗方案改为口服左氧氟沙星+复方磺胺甲噁唑+伏立康唑直至出院, 持续治疗6月后患者左膝关节肿胀消失, 可自行站立行走, 复查血常规分析、C-反应蛋白、红细胞沉降率及肝肾功能均正常, 逐渐停用所有药物。该患者停药后再无复发。**结论** 骨关节少见菌混合感染应重视实验室涂片检查和病原体鉴定, 临床应该结合鉴定结果规范及足疗程治疗是患者治愈的关键。

关键词: 骨关节感染; 偶发分枝杆菌; 尖端赛多孢菌

中图分类号: R684.3; R446.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2021) 06-124-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.06.026

Laboratory Diagnosis and Treatment of Osteoarticular Infection Caused by *Scedosporium Apiospermum* and *Mycobacterium Fortuitum*

WANG Xi¹, CANG Jin-rong^{2a}, GUI Qiao-di^{2b}, ZHOU Nan^{2c}, LIU Zong-zhi^{2d}

(1. Xi'an Honghui Hospital Joint Disease Hospital, Xi'an 710054, China; 2a. Department of Clinical Laboratory;
2b. Shaanxi Provincial Clinical Examination Center; 2c. Department of Pharmaceutical; 2d. Department of
Orthopedics, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: Objective To analyze the etiological diagnosis and treatment of rare cases of osteoarticular infection caused by *Scedosporium apiospermum* and *Mycobacterium fortuitum*, and provide ideas for the diagnosis and treatment of rare bacterial infection. **Methods** A case of knee joint redness and swelling after left thigh and left knee trauma was taken as the research object. The joint cavity effusion was collected for smear staining, culture and mass spectrometry identification. Gave medication guidance according to the identification results. **Results** The appearance of the drainage fluid in the joint cavity was purulent chylous. A large number of leukocytes and acid fast positive bacteria were seen in the Ziehl-Neelsen smear. Gram staining showed a large number of leukocytes and fungal hyphae and cluster hyphae could be seen by fluorescence staining. After 72 hours of culture, filamentous fungal colonies and small and dry bacterial colonies were found on the blood plate. The mass spectrometer identified the mixed infection of *Scedosporium apiospermum* and *Mycobacterium fortuitum*. The patient was given Levofloxacin + Voriconazole + Amikacin intravenous drip for 14 days. The swelling of the left knee joint was significantly reduced, and the muscle strength of the left lower limb was normal. Levofloxacin + Doxycycline + Voriconazole was taken orally. Due to the patient's economic situation, he stopped taking voriconazole and was hospitalized again. Joint effusion culture report: *Scedosporium apiospermum*. After debridement, continue to give Levofloxacin + Voriconazole + Amikacin intravenous drip. After the symptoms improve, take Levofloxacin + Doxycycline + Voriconazole orally. During the period, check the liver function: ALT 166 U/L, AST 163 U/L, ALP 127 U/L and GGT 165 U/L. Take Levofloxacin + Sulfamethoxazole + Voriconazole orally until 6 months after discharge, the swelling of the patient's left knee joint disappeared. He could stand and walk by himself.

作者简介: 王曦(1987-), 男, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 骨关节疾病, E-mail:wanghua2298@126.com。

通讯作者: 归巧娣(1978-), 女, 主任医师, E-mail:guiqiaodi1028@163.com。

The blood routine, CRP, ESR and liver and kidney function were normal. All drugs were stopped one by one. The patient had no recurrence after drug withdrawal. **Conclusion** The rare mixed osteoarticular infection should pay attention to laboratory smear examination and pathogen identification. Combined with the identification results, clinical standardized and adequate course of treatment are the key to the cure of patients.

Keywords: osteoarticular infection; *Mycobacterium fortuitum*; *Scedosporium apiospermum*

骨关节感染是指细菌、病毒等微生物侵入关节腔内导致的关节炎症,患者多为抵抗力较弱的儿童以及老年人。关节感染最常见的原因是败血症,而外伤、手术、关节附近的软组织感染也是造成关节感染的原因。关节感染临床上分为急性感染性关节炎和慢性感染性关节炎,急性感染性关节炎可由细菌或病毒感染引起,而慢性感染性关节炎可由分枝杆菌、真菌和一些致病性较弱的细菌引起。随着新的诊疗技术应用及实验诊断水平的提高,苛氧菌、少见菌等感染的报道屡见不鲜。本文报道1例骨关节发生少见的尖端赛多孢菌与偶发分枝杆菌并发感染病例,从病原学诊断和临床治疗过程进行分析,为临床少见病原菌感染诊治提供思路。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2017年12月在陕西省某三甲医院骨科收治1例骨关节尖端赛多孢菌与偶发分枝杆菌并发感染病例作为研究对象。患者男性,46岁,体重60 kg,农民,2个半月前(2017-9-18)耕地时因旋耕机打伤,致左侧大腿及膝关节内侧软组织损伤,伤口与左膝关节相通,在当地医院行清创缝合术,术后3周伤口愈合良好,拆线;1个半月前(2017-10-21),患者左膝关节出现红肿伴有发热,体温38℃,外院给予头孢类抗生素对症治疗及关节腔穿刺培养(未培养出细菌),随后行“左膝关节冲洗引流术”,引流后体温恢复正常,但是后期引流欠佳时,体温再次升高。为求进一步诊治以“左膝关节术后感染”收住于骨科(2017-12-01)。入院时查体发现左下肢见膝关节内上方延伸约15 cm至膝关节前方愈合瘢痕,仍留有少许缝线,伤口愈合欠佳,膝关节无明显发红,稍肿胀,皮温略高,

左膝关节局部压痛,活动受限,双下肢末梢血运好。

1.2 仪器与试剂 革兰染色液、抗酸染色液、荧光染色液和棉兰染液(贝索);血平板、麦康凯平板、沙保弱平板和厌氧平板(郑州安图);基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(MALDI-TOF MS,美国BD公司)。

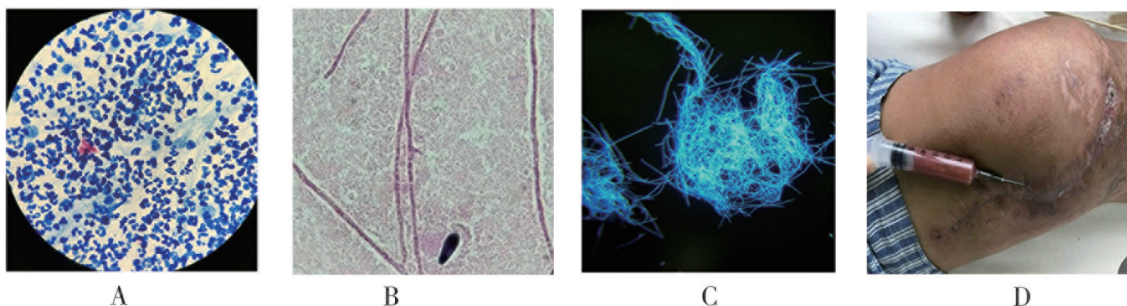
1.3 方法 患者入院后,采集静脉血进行血细胞分析、C反应蛋白(CRP)、红细胞沉降率和降钙素原(PCT)等指标检测,同时由骨科医师采用无菌操作抽取关节腔积液,立即送检验科微生物室进行涂片染色(革兰染色、抗酸染色、荧光染色)和培养。具体操作严格按照《全国临床检验操作规程》(第4版)进行。根据培养结果参考《热病》、《国家抗微生物治疗指南》及临床药师意见进行抗生素治疗。定期复查血细胞检测、肝肾功能及感染指标,及时调整用药。

2 结果

2.1 患者常规检查结果 血细胞分析:白细胞计数 $7.1 \times 10^9/L$,中性粒细胞百分比66%,红细胞计数 $4.14 \times 10^{12}/L$,血红蛋白119 g/L,血小板计数 $444 \times 10^9/L$;肝肾功能均正常;其他感染指标:红细胞沉降率85 mm/h,CRP 75.23 mg/L, PCT < 0.05 ng/mL, T-SPORT 阴性。

2.2 关节液病原学检查

2.2.1 直接涂片检查结果:见图1。患者关节腔引流液外观为脓血性乳糜状液体(图1D);直接涂片染色的结果:抗酸染色见大量白细胞和抗酸阳性呈柴捆状排列的菌体(图1A);革兰染色见大量白细胞及真菌菌丝和孢子(图1B);荧光染色见团状菌丝(图1C)。



注: A 抗酸染色; B 革兰染色; C 荧光染色; D 脓液性状

图1 关节腔脓液性状及涂片多种染色结果

2.2.2 培养与MALDI-TOF MS鉴定结果:见图2。关节腔积液接种于血平板、麦康凯平板、沙保弱平

板和厌氧平板,分别置于37℃和30℃,需氧和厌氧环境培养,逐日观察。培养72h后,37℃需氧血

因素。该病患系农民, 伤口被土壤污染造成感染, 环境因素在疾病发生发展中起重要作用。临床标本分离 NTM 一般考虑从无菌部位分离出的 NTM 多为致病菌, 从非无菌部位分离出的应首先排除标本污染, 呼吸道标本还要排除定植。该患者标本系无菌操作下采集, 同时多点取材, 培养均检见偶发分枝杆菌, 涂片也证实有抗酸阳性菌, 多考虑为致病菌而非污染菌。为提高抗酸阳性菌的检出率, 本研究还做了涂片荧光染色, 同样可检见团状菌丝。《指南》中对于快速生长型分枝杆菌, 推荐进行常规药敏试验的药物应包括阿米卡星、亚胺培南/西司他丁(仅限于偶发分枝杆菌)、多西环素、氟喹酮类药物、磺胺甲噁唑/甲氧苄啶、头孢西丁、大环内酯类和利奈唑胺等。微孔稀释法是目前 CLSI 推荐的药敏方法, 但该方法步骤相对复杂, 未在临床广泛应用。对于偶发分枝杆菌皮肤、软组织和骨病的推荐治疗策略为: 至少采用 2 种敏感药物, 疗程至少 4 个月, 骨病患者的疗程至少 6 个月, 对于病灶广泛、脓肿形成及药物疗效不佳者, 可采用外科清创术或异物清除处理。

尖端赛多孢菌是临床较常分离的赛多孢子菌, 是波氏假阿利什菌的无性型, 在土壤、污水、腐物等受污染的环境中广泛、长期存在。近年发现, 尖端赛多孢菌引起的感染大多为深部感染, 免疫功能缺陷人群中如艾滋病、器官移植、淋巴瘤、白血病、长期应用糖皮质激素或免疫抑制剂等患者容易并发该菌感染^[7-9], 但在免疫功能正常者中也有检出^[10]。尖端赛多孢菌可造成肺部、关节、眼部及中枢神经系统等多部位感染, 严重时可能造成致死性感染。尖端赛多孢菌对两性霉素 B、制霉菌素、伊曲康唑和酮康唑等抗真菌药物天然耐药或活性较低, 但对伏立康唑较为敏感。目前 CLSI M38-A2 方案尚未有关于尖端赛多孢菌药敏折点的判断标准, 同时尚未确定流行病学折点及临床折点。朱信霖^[11]查阅文献, 参考烟曲霉的 6 种抗真菌药流行病学折点进行判断发现: 伏立康唑 ($MIC_{50}=0.25 \mu\text{g/ml}$; $MIC_{90}=0.5 \mu\text{g/ml}$) 和米卡芬净 ($MIC_{50}=0.25 \mu\text{g/ml}$; $MIC_{90}=0.5 \mu\text{g/ml}$) 抗菌活性最高。本例患者采用伏立康唑治疗有效, 但抗真菌治疗周期较长, 停药指征严格, 前期该患者因为经济原因自行停药后复发, 给治疗带来了不必要的麻烦。

本例患者在田间劳动时发生意外感染偶发分枝杆菌和尖端赛多孢菌, 这两种病原体均广泛分布在土壤, 成为混合感染的共同“媒介”。但目前这两种菌混合感染尚不多见, 检出率较低。分析原因可能: ①两者均为临床少见菌感染, 生长相对较缓慢, 菌落较小, 容易忽视、漏诊。②基层实验室设备相

对落后, 人员经验不足、检查流程与操作不规范等。该患者起病初期在当地医院未培养出病原菌, 可能与此有关。一些实验室不重视脓液、引流液涂片检测。忽视涂片和培养相结合而造成漏诊。本实验室对标本涂片进行染色后发现: 抗酸染色见抗酸阳性呈柴捆状排列之菌体, 革兰染色见真菌菌丝, 荧光染色见团状菌丝。这为后期菌落观察及鉴定提供依据, 提高培养的阳性率, 同时缩短了报告时间。另外许多实验室诊断手段如分子诊断技术, 如通过分析同源 DNA 序列组成差异将细菌鉴定至种的水平, 是目前菌种鉴定的“金标准”。直接同源基因或序列比较方法、间接同源基因或序列比较方法、二代测序技术、基质辅助激光解析电离化/飞行时间质谱技术广泛应用于大型实验室, 大大缩短了鉴定时间, 为临床诊治提供依据。但基层实验室这些设备短缺也是造成诊断阳性率低下的原因。

由于目前国内并没有建立或未广泛开展偶发分枝杆菌和尖端赛多孢菌药敏试验标准, 我们主要根据《热病》、《国家抗微生物治疗指南》等推荐意见, 选择抗生素治疗。考虑到治疗这两种病原体感染需要长期使用抗生素, 治疗过程中应密切观察肝毒性、肾毒性等全身性副作用, 及时更改治疗方案。该患者使用左氧氟沙星+多西环素+伏立康唑一个月后, 血清转氨酶浓度升高, 考虑是多西环素及伏立康唑常见不良反应, 为此在制定第二次出院方案中, 选择复方磺胺甲噁唑替换多西环素, 以降低肝脏负担。长期用药患者的依从性也很关键, 该患者使用伏立康唑治疗 30 天后自行停药导致治疗失败, 再次规范、足疗程治疗 8 个月后, 真菌才彻底清除。因此, 对于长期使用抗生素的患者, 加强患者用药依从性, 监测药物不良反应, 都是提高抗感染治疗的成功率的关键。

总之, 对于深部无菌组织及骨关节感染的诊断, 首先需重视标本的留取, 特别是用药前标本的留取; 其次是标本中脓液直接涂片、多种染色方法的镜下找病原菌, 能有效、快速找到大致病原菌; 第三是分离培养、苛养菌培养、延长培养时间与仔细观察细菌的生长情况, 进一步验证直接涂片结果, 且为下一步的鉴定提供菌株; 第四是新的鉴定方法的使用, 如 MALDI-TOF MS 技术及基因测序技术的应用等, 提高了病原菌的鉴定准确性与时效性; 第五是需不断学习新知识, 更新理论知识, 学习少见菌及罕见菌的用药指南, 对指导临床用药治疗提供帮助。最后, 敏感药物的足量全程治疗是彻底治愈骨关节感染的关键, 否则感染会反复发作。

(下转第 175 页)