

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.16.046

1 例危重症新型冠状病毒肺炎合并感染马尔尼菲篮状菌的检验数据动态分析*

王锦萍, 梁连辉, 陈述文

广东省中山市第二人民医院检验科, 广东中山 528400

关键词: 新型冠状病毒肺炎; 马尔尼菲篮状菌; 检验; 动态分析

中图分类号: R446

文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2021)16-2458-04

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)是一种直径为60~140 nm的 β 属冠状病毒,病毒颗粒有包膜,呈圆形、椭圆形,以呼吸道飞沫、密切接触和气溶胶为主要传播途径^[1-2]。由其引起的新型冠状病毒肺炎(COV-19)临床主要表现为发热、咳嗽、乏力等呼吸道感染症状,严重时可迅速发展为急性呼吸窘迫综合征。马尔尼菲篮状菌属于青霉菌属,易感于免疫功能缺陷或免疫功能抑制的患者,多发于艾滋病患者,并发于其他疾病较少,马尔尼菲篮状菌感染后其临床表现与COVID-19大致相同且起病隐匿,误诊率高,病死率高^[3-4]。本文就2020年2月本院收治的1例危重症COVID-19患者合并感染马尔尼菲篮状菌的检验数据进行回顾性分析并报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2020年2月本院收治的1例危重症COVID-19并发马尔尼菲篮状菌感染患者的标本,COVID-19诊断标准符合中华人民共和国国家卫生健康委员会制订的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版)》^[5]中相关的诊断标准。病例资料:患者,男,72岁,于2020年2月10日因CT检查两肺炎症,SARS-CoV-2核酸阳性,确诊COVID-19收治于本院,无基础疾病史,于2月21日病情加重上人工体外膜肺氧合机(EMCO);2月29日并发嗜麦芽窄食单胞菌感染,3月12日并发假丝酵母菌感染,5月2日血液检出马尔尼菲篮状菌,期间使用的抗菌药物包括头孢曲松/舒巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、亚胺培南、美罗培南、替考拉林、万古霉素、多黏菌素、卡泊芬净、米泊芬净等,自5月6日改用两性霉素B和伏立康唑治疗。

1.2 方法

1.2.1 微生物标本检验 血液、胆汁、腹水、胸腔积液抽取标本10 mL注入法国梅里埃血培养瓶;导管尖端、伤口分泌物、中段尿、痰液、肺泡灌洗液,置于无菌容器中,3层包装并置于贴有生物安全标志箱子立即送检。生物安全柜中,打开包装对无菌容器进行75%乙醇消毒。痰标本挑取黏稠标本进行涂片检查,紫外

线照射灭活病毒30 min,置于染片盒里进行革兰染色法初染后,后拿出生物安全柜进行后续染色。经革兰染色后若上皮细胞<10个/低倍视野、白细胞>25个/低倍视野为合格标本。

血液、胆汁、腹水、胸腔积液标本使用法国梅里埃血培养仪报阳转种血平板、麦康凯平板、沙保罗平板,其他标本直接接种沙保罗平板;血平板、麦康凯平板放于37℃孵育箱培养,沙保罗平板放于37℃和28℃孵育箱,经4~5 d培养分离后挑选可疑菌落,进行菌种鉴定及药敏试验。

1.2.1.1 血清曲霉菌半乳甘露聚糖(GM)检测 一次性真空管采集患者静脉血3~5 mL,3 000 r/min离心10 min分离血清备用,采用酶联免疫夹心法,使用特异性抗体检测GM,待测样本指数(I)=待测样本吸光度(A)值/临界值质控A值,结果判断 $I \geq 0.50$ 为阳性, $I < 0.50$ 为阴性。使用 β -内酰胺类抗菌药物,接受清蛋白等血液制品治疗及其他真菌感染(如青霉菌)有交叉反应,若有预防霉菌治疗则出现假阴性。

1.2.1.2 真菌(1-3)- β -D 葡聚糖检测 专用一次性无热源真空管采集患者静脉血3~5 mL,3 000 r/min离心10 min分离血清备用,2 h内检测。真菌(1-3)- β -D 葡聚糖特异性激活G因子,进而激活凝固酶原,凝固酶水解反应引起A值变化从而定量真菌(1-3)- β -D 葡聚糖水平。结果判断: < 70.00 pg/mL为阴性,70.00~95.00 pg/mL为可疑, > 95.00 pg/mL为阳性。

1.2.3 超敏C反应蛋白(hs-CRP)和降钙素(PCT)检测 一次性真空管采集患者静脉血3~5 mL,3 000 r/min离心10 min分离血清备用,采用干式荧光免疫法检测hs-CRP和PCT水平,hs-CRP参考区间为0.00~1.00 mg/L,PCT参考区间为 < 0.10 ng/mL。

1.2.4 结果与解释 血清GM、真菌(1-3)- β -D 葡聚糖、hs-CRP和PCT检测值均选取数值差异较大的两点,中间检测数值差异不大的数值不作显示。真菌(1-3)- β -D 葡聚糖、hs-CRP和PCT联合升高提示酵母菌感染;血清GM、hs-CRP和PCT联合升高提示曲霉菌

* 基金项目:中山市社会公益与基础研究项目(2020B1023)。

本文引用格式:王锦萍,梁连辉,陈述文.1例危重症新型冠状病毒肺炎合并感染马尔尼菲篮状菌的检验数据动态分析[J].检验医学与临床,2021,18(16):2458-2461.

感染,但若结合微生物培养结果可提示马尔尼菲篮状菌感染。

1.3 仪器 法国梅里埃公司 VTIEK MS 质谱仪,法国梅里埃公司血培养仪、培养箱,福建艾美益 A5000 全自动干式荧光免疫分析仪,天津丹娜生物 TECAN Sunrise 全自动酶免分析仪,TEOMEA2 生物安全柜,西安天隆 PCR 扩增仪。

1.4 生物安全防护 检验人员采取三级防护措施,穿隔离服,戴 N95 口罩和双层橡胶手套,配置负压独立房间及外排式 A2 生物安全柜。标本的接种及涂片,菌种鉴定及上质谱仪前处理、药敏试验前处理均在生物安全柜中操作,待靶板干燥 10 min 后移出生物安全柜上质谱仪,标本培养及药敏试验需要一层包装经 75%乙醇消毒后移出生物安全柜放入培养箱培养,在不影响鉴定结果的前提下,所用试剂在上机前必须经过紫外线照射 30 min 消毒。血清标本 3 000 r/min 离心 10 min 后打开离心机盖前需要静置 10 min,取出真空管打开盖子后需要静置 10 min 才可对标本进行操作,防止产生气溶胶污染,条件允许可尽量在生物安全柜中配置小型离心机操作。医疗废物必须按照医院高危医疗废物医疗条例进行高压灭菌处理。

2 结 果

2.1 微生物检查结果 COVID-19 并发真菌感染时间表见表 1。

表 1 COVID-19 并发真菌感染时间表		
日期	SARS-CoV-2 核酸结果	并发真菌感染
3 月 12 日至 3 月 19 日	阳性	白色假丝酵母菌
3 月 20 日至 3 月 22 日	阳性	近平滑假丝酵母菌
3 月 23 日至 5 月 1 日	阴性	近平滑假丝酵母菌
5 月 2 日至 5 月 10 日	阴性	马尔尼菲篮状菌

2.2 血清 GM 和真菌(1-3)-β-D 葡聚糖检测结果 GM 试验的检测结果从 3 月 10 日至 5 月 4 日,待测样本指数 I 一直在 0.50 以下,结果阴性,至 5 月 10 日,待测样本指数 I 突然增加到 5.00,结果阳性。真菌(1-3)-β-D 葡聚糖试验的检测结果从 3 月 10 日至 3 月 29 日,结果均在 70.00 pg/mL 以上,4 月 25 日起开始下降至 70.00 pg/mL,结果之后一直阴性。见图 1。

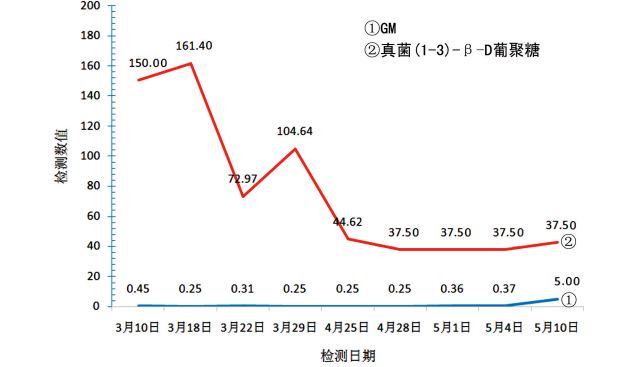


图 1 血清 GM 和真菌(1-3)β-D 葡聚糖检测曲线图

2.3 hs-CRP 和 PCT 检测结果 hs-CRP 检测结果的峰值出现在 3 月 18 日和 5 月 4 日,分别为 200.00 mg/L 和 139.92 mg/L,检测低值在 4 月 25 日为 45.11 mg/L,检测结果在病情稳定期高于正常范围的 50 倍左右,若在病情变化期高于正常范围的 80~200 倍。PCT 检测结果的峰值出现在 3 月 18 日,为 17.22 ng/mL,之后开始回落,直到 5 月 4 日出现上升趋势,从 5.29 ng/mL 上升到 5 月 10 日的 6.68 ng/mL,检测低值在 3 月 29 日为 1.63 ng/mL。检测结果在病情稳定期高于正常范围的 20 倍左右,若在病情变化期高于正常范围的 40~60 倍。见图 2。

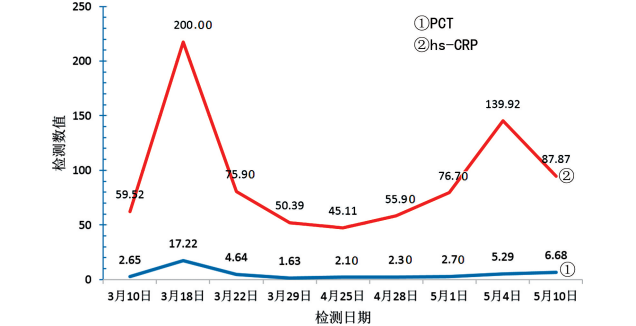


图 2 血清 hs-CRP 和 PCT 检测曲线图

3 讨 论

COVID-19 是一种高传染性呼吸道疾病,具有潜伏期长、临床症状多的特征,根据患者感染的病情分为无症状感染者、轻症型、普通型、重型、危重型。据报道,老年人重型 COVID-19 的发病率和病死率明显高于其他年龄组^[6-8]。老年重型 COVID-19 由于病情反复危重,使用抗菌药物治疗周期长,免疫功能低下,常采用长期导管治疗并不间断侵入性治疗手段等,并发病较常见。马尔尼菲篮状菌是唯一一种双相型青霉菌,微生物培养其菌落在 28℃培养为玫瑰红青霉样,在 37℃培养为酵母样,正因其具有深部感染的致病力,且感染形式多为血流感染,所以形成菌血症后可全身播散性传播,病情发展迅速,病死率高。谢宁^[9]报道显示,97%的马尔尼菲篮状菌感染者为免疫功能缺陷的艾滋病人群,但在 COVID-19 并发尚属首例,临床治疗首选两性霉素 B 联合使用伊曲康唑,有效率为 77.3%^[10]。

真菌(1-3)-β-D 葡聚糖是真菌中细胞壁的多聚糖组分,如假丝酵母菌、曲霉菌、镰刀菌等,是一种真菌广谱循环标志物。GM 是曲霉菌细胞壁的主要成分,其释放量与菌量成正比,反应感染的程度。相关报道显示,GM 试验对马尔尼菲篮状菌感染有一定的诊断价值^[11],与马尔尼菲篮状菌细胞壁有交叉反应。真菌(1-3)-β-D 葡聚糖试验结果跟真菌培养检出酵母样真菌的时间基本相符,GM 试验出现阳性的时间与马尔尼菲篮状菌培养出现时间相符。hs-CRP 是一种急性时相反应蛋白,可及时预测肺部的炎症反应状态及损伤情况,其作用时激活补体,加强吞噬细胞吞噬病原微生物的功能,当血清水平快速升高时,就是病原微

生物感染加重的表现。PCT 是一种无激素活性的糖蛋白,由甲状腺滤泡旁的 C 细胞分泌,当机体发生细菌感染时大量释放入血液,但在病毒感染时无变化,可用于细菌性肺炎的鉴别^[12-14]。但 hs-CRP 和 PCT 影响因素较多,肿瘤、组织损伤、自身免疫病等均会引起升高。在病情稳定期,hs-CRP 检测结果高于正常范围的 50 倍左右,PCT 检测结果高于正常范围的 20 倍左右,分别出现在 COVID-19 并发感染得到控制期和 COVID-19 阴转后病情好转期,hs-CRP 的升高可能与患者肺部损伤短时期内未完全康复或已造成不可逆性损伤有关。而 PCT 的升高可能与嗜麦芽窄食单胞菌一直未清除有关;hs-CRP 和 PCT 检测的峰值出现时间一致,并与微生物学培养出白色假丝酵母菌和马尔尼菲篮状菌时间基本吻合,其峰值对出现新并发感染有提示作用。

通过观察,真菌(1-3)- β -D 葡聚糖、hs-CRP 和 PCT 的峰值均出现在 3 月 18 日,为检出近平滑假丝酵母菌前 2 d,培养时间一般为 3~4 d,考虑为感染引起。后面曲线均有所回落。3 月 29 日真菌(1-3)- β -D 葡聚糖有一次小高峰但并没有引起 hs-CRP 和 PCT 的升高,考虑为患者自身免疫力的提高,可见在 3 月 23 日 SARS-CoV-2 阴转后,酵母样真菌定植,病情得到控制。从 4 月 28 日始,hs-CRP 逐步上升而 PCT 没有明显变化,但到 5 月 4 日 hs-CRP 和 PCT 同时出现高峰,PCT 检测值升高了一倍并维持高水平,距离 5 月 2 日血液检测出马尔尼菲篮状菌仅仅 2 d 时间,往前推 5 d 的送检时间,4 月 28 日即为马尔尼菲篮状菌血流感染期,hs-CRP 上升明显且迅速,PCT 上升却有所延后,而血清 GM 在 5 月 4 日的检测值为 0.37(阴性),5 月 6 日多部位标本检出马尔尼菲篮状菌,GM 检测值>5.00(阳性)。由此可见,马尔尼菲篮状菌血流感染期到全身散播感染仅为 10 d 左右,病情凶险,发展迅速。hs-CRP 和 PCT 第 1 次峰值(3 月 18 日)上升幅度较高,可能与 SARS-CoV-2 未除,同时并发细菌和新发假丝酵母菌相关,第 2 次峰值(5 月 4 日)上升幅度较第 1 次低,考虑 SARS-CoV-2 已除,但细菌和酵母样真菌定植,新发马尔尼菲篮状菌感染引起;两次升高中 hs-CRP 的幅度均较 PCT 高,这跟 COVID-19 引起肺部损伤引起 hs-CRP 基础升高有关,而 PCT 的升高跟肺部损伤和病毒无关,只跟细菌或真菌等感染有关。本文研究对象是一位老年危重型 COVID-19 并发感染马尔尼菲篮状菌患者,抗菌药物使用时间长达 3 个多月,头孢类、培南类和万古霉素类抗菌药物的使用广泛地抑制了大多数革兰阴性菌和革兰阳性菌的生长。因此,并发感染对这几类抗菌药物耐药的嗜麦芽窄食单胞菌,同时出现假丝酵母菌共同感染;卡泊芬净和米泊芬净是一种细胞毒作用药物,多用于恶性肿瘤患者,可同时作用于病毒、细菌、真菌及人体正常细胞,一直用于 COVID-19 整个治疗期间。由于嗜麦芽窄食单胞菌和白色假丝酵母

菌均为条件致病菌,若患者免疫功能提高有可能自愈,故临床一直致力于提升患者整体免疫力,未使用相应抗真菌药物,同时有 2 个月的导管侵入性治疗可能是马尔尼菲篮状菌潜伏生长,从而引起血流感染的原因。

总之,长期使用多种抗菌药物、细胞毒类药物治疗 COVID-19 并发感染和侵入性器械治疗是导致马尔尼菲篮状菌感染的原因,微生物检查是“金标准”,联合使用 hs-CRP、PCT 和 GM 检测可提前预测马尔尼菲篮状菌散播性感染。因此,在治疗 COVID-19 危重症时,临床若长期使用以上治疗手段,建议在后期治疗中加强微生物血培养、真菌(1-3)- β -D 葡聚糖、hs-CRP、PCT 和 GM 的检测,同时及早使用两性霉素 B 治疗,防止 COVID-19 并发马尔尼菲篮状菌感染。

参考文献

- [1] WU A, PENG Y, HUANG B, et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus originating in China[J]. Cell Host Microbe, 2020, 27(3): 325-328.
- [2] WHO. Report of the WHO-China joint mission on coronavirus disease 2019 (COVID-2019) [EB/OL]. (2020-03-02) [2020-03-21]. <https://www.linkedin.com/pulse/report-who-china-joint-mission-coronavirus-disease-2019-craig-chen>.
- [3] ZHENG J, GUI X, CAO Q, et al. A clinical study of acquired immunodeficiency syndrome associated penicillium marneffeii infection from a non-endemic area in China[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0130376.
- [4] 夏露, 蓝秀万, 温波, 等. 巨嗜细胞对马尔尼菲篮状菌免疫作用机制研究进展[J]. 中国真菌学杂志, 2021, 16(1): 60-64.
- [5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会办公厅, 国家中医药管理局办公室. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版). (2020-02-05) [2020-03-05]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202002/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [6] WANG D, HU B, HU C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia Wuhan, China [J]. JAMA, 2020, 323(11): 1061-1069.
- [7] CHEN N, ZHOU M, DONG X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 case of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study[J]. Lancet, 2020, 395(10223): 507-513.
- [8] HUANG C, WANG Y, LI X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. Lancet, 2020, 395(10223): 497-506.
- [9] 谢宁. 马尔尼菲青霉菌的分离鉴定和在临床标本重的分布[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(11): 1777-1778.
- [10] 王华光, 于晓佳. 临床药师参与人类免疫缺陷病毒抗体阴性马尔尼菲篮状菌病药物治疗 1 例[J]. 临床药物治疗杂志, 2020, 18(11): 75-77.
- [11] 磨立达, 奚少勇. 血清 GM 在 AIDS 合并马尔尼菲篮状菌血症中的表达及早期诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(3): 308-311.
- [12] 张艳平, 周鹏婕. C-反应蛋白联合降钙素原对慢性阻塞性

- 肺炎急性加重期中细菌感染的诊疗价值[J]. 中南大学学报(医学版), 2014, 39(9): 939-943.
- [13] 王军, 朱祥, 黄嫻, 等. 血清 C 反应蛋白和降钙素原在慢性阻塞性肺疾病急性加重期中的临床应用[J]. 当代医学, 2015, 21(35): 43-44.
- [14] 刘娜. 血清降钙素原和高敏 C 反应蛋白在慢性阻塞性肺疾病急性加重期早期诊断中的应用[J]. 中国医药导报, 2019, 16(20): 148-151.
- (收稿日期: 2020-10-11 修回日期: 2021-04-18)
- 案例分析 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2021. 16. 047

脾切除后继发血小板增多致假性高钾血症 1 例

卢海景, 张红凤, 王佳稳

福建省中医药大学附属泉州市正骨医院检验科, 福建泉州 362000

关键词: 继发血小板增多; 假性高钾血症; 脾切除

中图法分类号: R657. 6

文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2021)16-2461-03

高钾血症是危急值报告制度中的一项, 在检验科及临床医生中特别受重视。假性高钾血症是实验室检查血清钾高于正常上限, 但是机体内钾的水平在正常范围内, 用血浆测得钾水平是正常的, 即血清钾高于血浆钾 0.4 mmol/L 以上^[1]。假性高钾血症与高钾血症完全不同, 临床治疗处理也不相同, 因此, 需要认真鉴别。笔者工作中遇 1 例由外伤脾切除后继发血小板增多致假性高钾血症的病例, 现报道如下。

1 临床资料

1.1 病例资料 患者, 男, 63 岁, 以“摔伤致左膝肿痛、活动受限 9 h”为主诉入本院治疗。患者于 9 h 前摔伤, 当即感左膝剧痛, 并见左膝部进行性肿胀, 左膝屈伸困难, 不能站立及行走, 伴头部、左足、右膝局部皮破出血, 无骨质外露。伤时短暂人事不省, 具体受伤无法回忆, 无胸闷胸痛、恶心呕吐、呼吸气促、腹痛腹胀、腰背部疼痛、二便失禁、四肢冰冷、麻木、抽搐等不适。拟诊断为“左胫骨平台骨折”收入住院。既往诉 2 年前行膝关节微创手术(具体不详)。否认肝炎、肺结核等传染病病史, 否认糖尿病、肾病、心脏病等疾病病史, 否认其他重大外伤及手术史, 否认输血史, 未发现其他药物或食物过敏史, 预防接种史不详。个人出生并长期居住于原籍, 生活居住条件一般; 否认疫水、疫区涉足史; 否认放射线、毒物接触史; 否认烟酒不良等嗜好。否认有明显家族遗传疾病史。入院西医诊断: (1) 左胫骨平台骨折; (2) 全身多处皮擦伤。

1.2 病程资料 患者入院后第 1 天(2020 年 6 月 28 日)上午 11:00 诉左下腹疼痛, 查体可及左肋下缘压痛明显, 肉眼未及明显擦伤, 胸廓挤压征(一), 急查床旁腹部彩超示: (1) 肝多发囊肿; (2) 肝血管瘤; (3) 餐后胆囊显示不清; (4) 脾下及周边混合回声团, 脾损伤可能, 建议进一步检查; (5) 胰、脾、门静脉所见部分、双肾未见明显异常; (6) 腹腔少量积液。腹部增强 CT 检查: (1) 脾脏挫裂伤伴包膜下血肿, 腹腔少量积液; (2) 双侧胸腔少量积液。请外科会诊后, 建议转入外科给予对症治疗。

1.3 治疗过程 外科术前诊断: 腹部闭合性损伤-脾挫裂伤; 失血性休克代偿期; 左胫骨平台骨折、双侧额部少许硬膜下积液、双侧胸腔积液、全身多处皮擦伤、肝血管瘤、肝脏多发囊肿。急诊在全身麻醉下为患者行“剖腹探查+脾挫裂伤切除术+自体脾脏移植术+腹腔引流术”。术后诊断: 腹部闭合性损伤-脾挫裂伤; 失血性休克代偿期; 失血性贫血; 左胫骨平台骨折; 双侧额部少许硬膜下积液; 双侧胸腔积液; 全身多处皮擦伤; 肝血管瘤; 肝脏多发囊肿; 血小板异常待查。

1.4 实验室检查 患者首次(2020 年 6 月 28 日)检查血清钾 3.67 mmol/L, 血小板 $642 \times 10^9/L$, 后数次检查, 血清钾均在正常范围内。2020 年 7 月 13 日检查血清钾高达 6.30 mmol/L, 超警戒值上报临床, 血常规组在听取该患者血清钾危急值上报后, 反映患者血小板达到 $2\ 306 \times 10^9/L$ (检验科提示: 镜下可见血小板形态不规则, 颗粒不均匀, 大血小板可见。建议结合临床, 必要时检测 JAK2 基因排除原发性血小板增多), 为入院后检查高峰。因此, 考虑假性高钾血症后检测患者血浆钾为 4.06 mmol/L。相关实验室检查结果见表 1。

1.5 处理过程 患者 2020 年 7 月 13 日血清钾 6.30 mmol/L, 触及危急值, 检查标本外观黄色清亮, 无脂血、无溶血现象, 标本复查结果 6.24 mmol/L, 结果一致, 仪器运行正常, 室内质控正常, 故启动危急值上报制度, 上报临床医生。后血常规组提示该患者当日血小板高达 $2\ 306 \times 10^9/L$, 取凝血管检测血浆钾为 4.06 mmol/L, 考虑假性高钾血症可能。通知临床经管医生血清钾高超过警戒值, 但该患者血小板升高异常明显, 建议进行动脉血气或血浆钾检测, 由血清(促凝管)及血浆(肝素抗凝)同时检测血钾水平, 排除血小板升高引起的假性高血钾症, 并注意观察临床症状, 加查心电图等辅助检查。临床根据提示, 反映患者无高血钾症临床表现, 加查心电图也无相应变化, 进行观察, 必要时复查。2020 年 7 月 14 日早上患者同时采集普通生化管和肝素管进行血清钾和血浆钾检测,