

- Tracheobronchial myeloid sarcoma[J]. J Bronchol Interv Pulmonol, 2020, 27(4): 297-300.
- [3] SCHAEFFER C V, MORAN T E, KENG M K, et al. Granulocytic sarcoma; a rare cause of wrist pain[J]. Ann Plast Surg, 2020, 85(1): 29-32.
- [4] SONG M, WANG H, YE Q. Increased circulating vascular endothelial growth factor in acute myeloid leukemia patients; a systematic review and meta-analysis[J]. Syst Rev, 2020, 9(1): 103.
- [5] DEL PRINVIPE M I, BUCCISANO F, SODDU S, et al. Involvement of central nervous system in adult patients with acute myeloid leukemia; incidence and impact on outcome[J]. Semin Hematol, 2018, 55(4): 209-214.
- [6] YAO H, PRICE T T, CANTELLI G, et al. Leukaemia hijacks a neural mechanism to invade the central nervous system[J]. Nature, 2018, 560(7716): 55-60.
- [7] BAYTAN B, EVIM M S, GÜNES A M, et al. Cerebellar granulocytic sarcoma; a case report[J]. Turk J Hematol, 2012, 29(4): 177-180.
- [8] RAMLAKHAN K P, GROENENDIJK F H, LEVIN M D, et al. An exceptional vulvar tumor; myeloid sarcoma of the labia majora[J]. Int J Gynecol Pathol, 2020, 39(2): 111-114.
- [9] CLAUSEN S, OBEROI M, LYNCH D, et al. Extramedullary myeloid sarcoma with symptoms of acute pancreatitis mimicking pancreatic carcinoma[J]. S D Med, 2020, 73(7): 305-307.
- [10] VILARINO A, CARRASCO M R, SOSA F P, et al. Central nervous system granulocytic sarcoma; report of 2 cases and review of the literature[J]. Neurocirugia, 2020, 31(1): 47-51.
- [11] LEE D, OMOFOYE O A, NUNO M A, et al. Treatment outcomes of intracranial myeloid sarcomas; a meta-analysis[J]. World Neurosurg, 2021, 148(4): 29-37.
- [12] ESPASA A, ZAMORA L, RIBERA J M. Granulocytic sarcoma; study of two cases by high throughput sequencing[J]. Med Clin (Barc), 2021, 156(6): 306-307.
- [13] HU Y G, DENG X H, LEI W, et al. Clinical characteristics and management of primary granulocytic sarcoma of the oral cavity; a case report and literature review[J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(43): e22820.
- [14] ZHOU L, ZHANG X, FENG S, et al. Urgent chemotherapy successfully rescues a near death patient of acute Intracranial hypertension caused by intracranial myeloid sarcoma[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13(1): 237-241.
- [15] SAIKA W, KAWAHARA M, TASHIRO H, et al. Immunohistochemical evaluation of BCL-2 expression in acute myeloid leukemia, myeloid sarcoma, and blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm[J]. Rinsho Ketsueki, 2020, 61(12): 1647-1653.
- [16] ZHOU T, BLOOMQUIST M S, FERGUSON L S, et al. Pediatric myeloid sarcoma; a single institution clinicopathologic and molecular analysis[J]. Pediatr Hematol Oncol, 2020, 37(1): 76-89.
- [17] ALLARD T, EZINE E, BAUDRY A, et al. Spontaneous remission of cutaneous myeloid sarcoma[J]. Ann Dermatol Venereol, 2020, 147(11): 755-759.
- [18] BEGNA K H, KITTUR J, YUI J, et al. De novo isolated myeloid sarcoma; comparative analysis of survival in 19 consecutive cases[J]. Br J Haematol, 2021, 195(3): 413-416.
- [19] ZHANG X, HUANG P, CHEN Z, et al. Vulvar myeloid sarcoma as the presenting symptom of acute myeloid leukemia; a case report and literature review of Chinese patients, 1999-2018[J]. Diagn Pathol, 2019, 14(1): 126.

(收稿日期: 2022-05-17 修回日期: 2022-10-15)

• 个案分析 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2023. 03. 036

呼吸道标本分离出罕见的腿伤凯斯特菌 3 例分析

卢雅敏, 毛文杰

广东省韶关市粤北人民医院检验科, 广东韶关 512026

关键词: 腿伤凯斯特菌; 呼吸道感染; 同源性
中图分类号: R446. 5 文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2023)03-0429-04

腿伤凯斯特菌是一种 2003 年才被发现的新的革兰阴性杆菌^[1]。在分类学上, 该菌隶属于产碱杆菌科, 其菌名源于比利时微生物学家凯斯特的名字。因该菌多分离自腿部伤口, 故命名为腿伤凯斯特菌或肢体凯斯特菌。截至目前, 在 PubMed 上以“Kerstersia gyiorum”为关键词检索与人类疾病相关的文献仅能检出 15 篇, 在万方医学和中国知网上有关该菌与人类疾病相关的中文报道仅 1 篇^[2], 因此临床对该菌的认识和了解还极其有限。2021 年 11 月至 2022 年 2

月, 本院共从来自临床的呼吸道标本检出 3 例腿伤凯斯特菌, 本研究对所有检出该菌的患者进行回顾性分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者 1, 男, 56 岁, 2021 年从高处摔下致颅脑外伤, 行硬膜外血肿清除术+器官切开术, 术后持续神志不清, 插导尿管, 持续卧床状态, 有咳嗽、咳痰, 2021 年 1 月 30 日入住本院神经外科 2 区。患者 2, 男, 63 岁, 于 2007 年车祸致颅脑损伤, 开颅术

后持续昏迷不醒,植物人状态,2021 年 1 月 13 日入住本院神经外科 2 区。患者 3,男,78 岁,2020 年 11 月因脑出血行开颅手术,术后间断神志障碍及四肢运动减退,于入院前 5 d 因出现氧饱和度低,抽搐,2022 年 1 月 20 日入住本院重症监护病房(ICU)。

1.2 方法

1.2.1 痰培养 将痰液标本分别接种于血平板、麦康凯平板和沙保罗平板(郑州安图生物公司产品),血平板和麦康凯平板置于 35℃ 含有 5%CO₂ 孵育箱过夜,沙保罗平板置于 28℃ 孵育箱过夜,24 h 后观察菌落生长情况。

1.2.2 菌种鉴定及药敏试验 采用革兰染色法进行细菌形态学观察,分别应用德国布鲁克公司基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱系统(MALDI-TOF-MS)和法国梅里埃公司 VITEK2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析系统进行细菌鉴定和药敏试验,应用布

鲁克质谱仪配套软件(MALDI Flex Control Analysis 和 MALDI Biotyper 3.0)进行蛋白质指纹图采集和分析鉴定。标本制备、检测和结果分析参照 MALDI-TOF-MS 和 VITEK2 Compact 鉴定操作流程和标准化操作专家共识。

1.2.3 同源性分析 应用布鲁克质谱仪配套软件 Bruker MALDI-Biotyper3.0 根据菌株的蛋白指纹图谱进行核心图谱(MSP)聚类分析并构建发育树。

2 结果

2.1 3 例患者的基本资料及实验室检查指标 3 例患者留取痰液标本当天的基本资料和相关炎症指标见表 1、2。3 例患者白细胞计数分别为正常(患者 1)、略高(患者 2)和降低(患者 3),粒细胞百分比仅患者 2 和患者 3 升高,3 例患者的降钙素原水平均有升高,C 反应蛋白在进行过该项检测的患者 2 和患者 3 中均显示增高。

表 1 3 例患者的基本资料

编号	年龄(岁)	性别	体温(℃)	呼吸(次/分)	脉搏(次/分)	是否使用抗菌药物	基础疾病	有无气管插管	转归
患者 1	56	男	37	20	77	否	无	有	好转
患者 2	63	男	39	22	106	否	无	有	好转
患者 3	78	男	36	24	89	否	高血压、糖尿病	有	死亡

表 2 3 例检出腿伤凯斯特菌的患者留取标本当天实验室检查指标

编号	白细胞计数 (×10 ⁹ /L)	粒细胞 百分比(%)	降钙素原 (ng/mL)	C 反应蛋白 (mg/L)	血培养
患者 1	4.46	61.7	0.054	—	阴性
患者 2	10.87	84.1	0.109	3.46	阴性
患者 3	2.01	85.7	1.290	16.15	阴性

注:—表示未做该项检查。

2.2 微生物学检查 孵育箱培养 24 h 后,血平板上出现扁平、浅灰色、呈磨砂质感的边缘扩散状菌落形态,麦康凯平板上的菌落也呈扩散状,菌落中间部分产薰衣草样色素。将纯的菌落革兰染色后观察,镜下为革兰阴性杆菌。手工生化反应显示:氧化酶实验阴性,过氧化氢酶强阳性。挑取纯菌落用 MALDI-TOF

MS 进行菌种鉴定,多次鉴定结果为腿伤凯斯特菌,且评分均为 2.2~2.4 分,鉴定结果可靠。进一步采用 16S rRNA 进行测序验证,所测基因序列与 Genbank 数据库中的序列进行同源性分析,鉴定为腿伤凯斯特菌。采用 Vitek2 compact 全自动细菌鉴定及药敏分析系统进行药敏试验,根据美国临床实验室标准协会其他非肠杆菌目细菌最小抑菌浓度(MIC)折点判断标准,3 株菌株药敏结果见表 3。

2.3 同源性分析 通过质谱仪的分析软件 Flexanalysis 获得了菌株的蛋白质指纹峰信息,见图 1。再将蛋白质指纹峰谱图导入 MALDI-Biotyper 3 软件进行聚类分析。从聚类分析图中可发现:3 株菌可分为 2 个大类,例 1 和例 2 亲缘关系非常接近,例 3 与例 1 和例 2 亲缘关系较远,见图 2。

表 3 3 株腿伤凯斯特菌药敏试验结果

抗菌药物	K1		K2		K3	
	MIC(μg/mL)	S/I/R	MIC(μg/mL)	S/I/R	MIC(μg/mL)	S/I/R
头孢吡肟	1	S	≤0.12	S	1	S
头孢他啶	1	S	4	S	1	S
哌拉西林/他唑巴坦	≤4	S	≤4	S	≤4	S
多西环素	1	S	≤0.5	S	1	S
环丙沙星	2	I	2	I	1	S

续表 3 3 株腿伤凯斯特菌药敏试验结果

抗菌药物	K1		K2		K3	
	MIC($\mu\text{g/mL}$)	S/I/R	MIC($\mu\text{g/mL}$)	S/I/R	MIC($\mu\text{g/mL}$)	S/I/R
阿米卡星	≤ 2	S	≤ 2	S	≤ 2	S
左氧氟沙星	1	S	1	S	1	S
美罗培南	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S	≤ 0.25	S
复方磺胺甲噁唑	≤ 20	S	≤ 20	S	≤ 20	S
米诺环素	≤ 1	S	≤ 1	S	≤ 1	S
氨曲南	4	S	16	I	4	S

注:K1、K2、K3 分别为菌株 1、菌株 2、菌株 3;S 为敏感;I 为中介;R 为耐药。

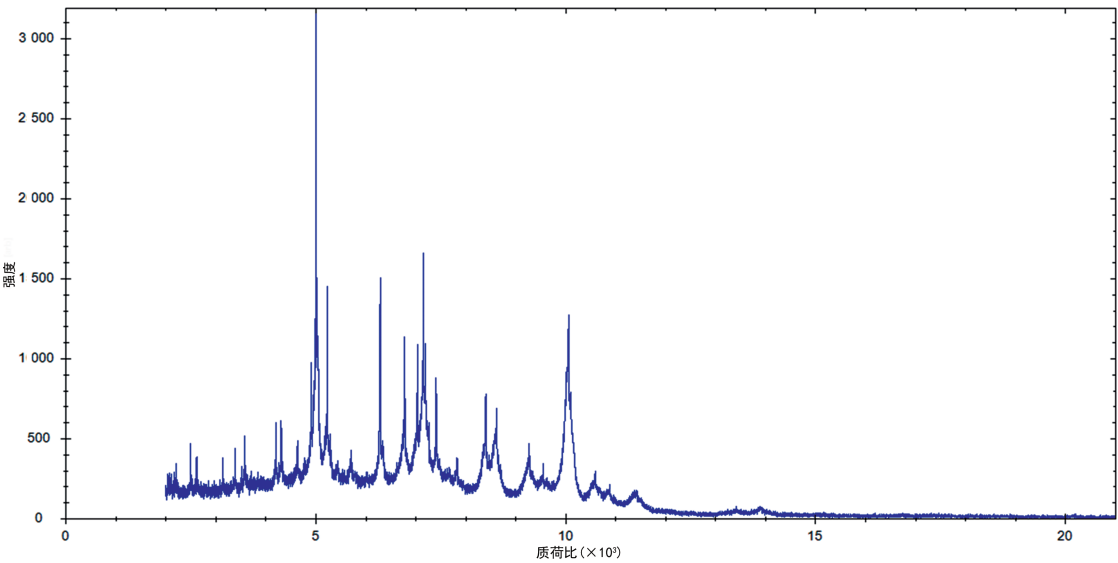


图 1 K1 菌株蛋白指纹图谱

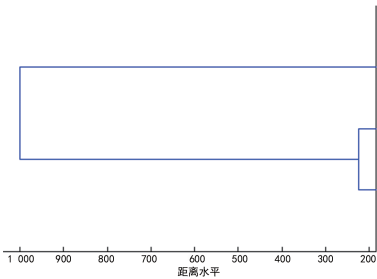


图 2 3 例患者核心图谱聚类分析树形图

3 讨 论

从 2003 年腿伤凯斯特菌被首次报道至 2022 年,在 PubMed 上能检索到的关于该菌与人类疾病相关的英文报道共 15 篇,涉及 19 个病例。包括了与下肢伤口感染相关的 6 例^[3-6],跟耳道感染相关的 9 例^[3,7-10],血流感染相关的 1 例^[4],其余有呼吸道感染 2 例^[11-12],尿路感染 1 例^[13]。根据培养结果调整抗菌药物使用后,多数患者症状缓解或治愈,部分患者在分离出该菌的同时也分离出其他不同种类的菌株,因此并不能完全确认该菌在患处的致病意义。国内发现并报道的仅四川省 2 例^[2,12]。本研究 3 例患者留取痰液标本当天患者 1 和患者 3 均无发热表现,仅呼吸道有痰液,肺部 X 线片提示有少许炎症,患者 1 的痰液标本在分离出腿伤凯斯特菌的同时也分离出铜绿

假单胞菌,患者 2 的痰液标本同时检出鲍曼不动杆菌。与先前多篇报道相似,腿伤凯斯特菌与其他细菌有伴随生长的情况^[3,11],因没有足够的证据支持腿伤凯斯特菌为病原菌,后续临床没有针对该菌采取相应的抗感染治疗方案。由此推测腿伤凯斯特菌在这 3 例患者身上,可能是上呼吸道的定植菌。笔者认为如果需要确定该菌是否是病原菌,则需要临床医生和实验室加强交流合作,查找出更多感染相关的证据,同时,需对其毒力因子和致病机制进行更深入的研究。

2015 年美国的 BOSTWLCK 等^[4]报道了 1 例腿伤凯斯特菌引起的败血症,这引起了人们对该菌更多的关注。2019 年研究者对来自中国的 1 例呼吸道分离的菌株进行了全基因组测序^[12],发现该菌携带有耐药基因和多种药物外排泵,巴西的 1 例慢性伤口感染的病例显示他们分离的 1 株腿伤凯斯特菌为环丙沙星耐药株^[14],笔者认为外排泵可能是该菌株对环丙沙星耐药的主要机制。本报道患者 1 和患者 2 检出腿伤凯斯特菌的时间为 2021 年 11 月,均住在本院神经内科 2 区,尽管已经咨询过临床科室这 2 例患者的诊疗过程是否有共同医护人员或诊疗器械物品,均被否认,但是因为二者住院时间存在交集,因此也不能完全排除腿伤凯斯特菌在这 2 例患者之间有传播的可

能。患者 2 于 2021 年 12 月 5 日后续治疗转移 ICU 二区病房,患者 3 是在 ICU 一区住院期间痰液中分离出的腿伤凯斯特菌,对检出的 3 株菌进行聚类分析时,患者 1 和患者 2 显示有高度同源性,而与患者 3 亲缘关系较远,推断患者 2 的菌株来源于同病区的患者 1。因此该菌的存在应引起临床和医院感染部门重视,防止耐药基因以腿伤凯斯特菌为载体在院内进行传播。综合本报道的 3 例患者和之前报道的呼吸道分离出腿伤凯斯特菌的报道,这些患者均有气管切开或长期机械通气的情况,因此无论腿伤凯斯特菌是否属于上呼吸道定植菌,都有导致下呼吸道感染的风险。本研究 3 例患者均为开颅术后长期卧床且昏迷的状态,既往也有报道称腿伤凯斯特菌多发生于患有慢性炎症、免疫力低下的患者^[6,11],这与本报道的 3 例患者情况是符合的。

腿伤凯斯特菌的鉴定自首次发现以来,主要通过 MALDI-TOF-MS 进行鉴定或通过测序 16S rRNA 进行识别。前期有研究通过 VITEK2 Compact 仪器法进行鉴定时,得出鉴定为不动杆菌属的概率为 34%,为荧光假单胞菌的概率为 33%^[8]。一方面因为目前多数商业性菌种库还未包含腿伤凯斯特菌,另外一方面腿伤凯斯特菌生化特征与粪产碱杆菌相似,利用生化反应检测原理进行菌种鉴定时极易混淆。但腿伤凯斯特菌氧化酶阴性、脲酶阴性、过氧化氢酶强阳性且具有特殊的气味,结合其扁平、边缘呈扩散状的菌落形态,临床微生物室在见到上述特征的菌株时要考虑为腿伤凯斯特菌的可能。当前该菌检出和报道不多见,一方面可能源于传统鉴定方法功能的有限性,另外一方面可能源于实验室对该菌的认知不足,在呼吸道标本中检出时往往被其他菌群掩盖或作为正常菌群处理。随着 MALDI-TOF MS 和 16S rRNA 测序技术的普及,在当今分子诊断时代,未来可能会有更多新的少见细菌被发现,而它们与人类疾病的关系也需要被一定义。

综上所述,尽管腿伤凯斯特菌当前仍属罕见,作为一种对当前多数抗菌药物都敏感但携带耐药基因的新的菌种,临床微生物室很容易将标本中分离出的腿伤凯斯特菌判定为污染,对于长期卧床需要机械通气的患者应予以关注,积极改善患者基础疾病,提高免疫功能,防止这类罕见菌种对免疫力低下患者造成感染,引起严重后果。同时,该菌在院内进行传播所带来的危害性不容小觑,临床应合理使用抗菌药物,强化医护人员、陪护人员手卫生,切实做好医院内感染控制工作。

参考文献

- [1] COENYE T, VANCANNEYT M, CNOCKAERT M C, et al. *Kerstesia gyiorum* gen. nov., sp. nov., a novel *Alcaligenes faecalis*-like organism isolated from human clinical samples, and reclassification of *Alcaligenes denitrificans* Rüger and Tan 1983 as *Achromobacter denitrificans* comb. nov.[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2003, 53(Pt 6): 1825-1831.
- [2] 肖华亮,袁成良,简苗苗,等. 罕见的腿伤克斯特菌致阑尾脓肿:个案报道并文献复习[J]. *中国感染控制杂志*, 2021, 20(12):1159-1165.
- [3] PENCE M. A, SHARON J, TEKIPPE E M, et al. Two cases of *Kerstesia gyiorum* isolated from sites of chronic infection[J]. *J Clin Microbiol*, 2013, 51(6):2001-2004.
- [4] BOSTWICK A D, ZHANG C, MANNINEN K, et al. Bacteremia caused by *Kerstesia gyiorum*[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(6):1965-1967.
- [5] GRENINGER A L, KOZYREVA V, TRUONG C L, et al. Draft genome sequence of *Kerstesia gyiorum* CG1, isolated from a leg ulcer[J]. *Genome Announc*, 2015, 3(5):e01036.
- [6] BARAN I, DÜZGÜN A P, MUMCUOĞLU I, et al. Chronic lower extremity wound infection due to *Kerstesia gyiorum* in a patient with Buerger's disease: a case report[J]. *BMC Infect Dis*, 2017, 17(1):608.
- [7] ÖZCAN N, SAAT N, BAYLAN M Y, et al. Three cases of Chronic Suppurative Otitis Media (CSOM) caused by *Kerstesia gyiorum* and a review of the literature[J]. *Infez Med*, 2018, 26(4):364-368.
- [8] ALMUZARA M N, BARBERIS C M, TRAGLIA G M, et al. Isolation of *Kerstesia gyiorum* from a patient with cholesteatomatous chronic otitis media[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(11):3809-3811.
- [9] ALMUZARA M N, BARBERIS C M, TRAGLIA G M, et al. Two cases of chronic suppurative otitis media caused by *Kerstesia gyiorum* in Tanzania: is it an underappreciated pathogen in chronic otitis media[J]. *Int J Infect Dis*, 2014, 29:251-253.
- [10] UYSAL E B, ÇELİK C, TUZCU N, et al. A case of chronic suppurative otitis media caused by *Kerstesia gyiorum* [J]. *APMIS*, 2015, 123(11):986-989.
- [11] DEUTSCHER M, SEVERING J, BALADA-LLASAT J M. *Kerstesia gyiorum* isolated from a bronchoalveolar lavage in a patient with a chronic tracheostomy[J]. *Case Rep Infect Dis*, 2014, 2014:479581.
- [12] LI Y, TANG M, WANG G X, et al. Genomic characterization of *Kerstesia gyiorum* SWMUKG01, an isolate from a patient with respiratory infection in China[J]. *PLoS One*, 2019, 14(4):e0214686.
- [13] OGAWA Y, SANG-TAE LEE S T, KASAHARA K, et al. A first case of isolation of *Kerstesia gyiorum* from urinary tract[J]. *J Infect Chemother*, 2016, 22(4):265-267.
- [14] PIRES B, DE OLIVERA B, DE OLIVERA P, et al. Ciprofloxacin-resistant *Kerstesia gyiorum* isolated from a chronic wound in Brazil: a case report[J]. *Wound Manag Prev*, 2020, 66(10):42-45.