

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2018.09.016

· 论 著 ·

牙周梭杆菌血流感染一例报告并文献复习

温海楠¹, 谢守军¹, 陈东科², 赵建宏³

(1 承德医学院附属医院, 河北 承德 067000; 2 北京医院, 北京 100000; 3 河北医科大学第二医院, 河北 石家庄 050000)

[摘要] **目的** 了解牙周梭杆菌血流感染的检测方法及临床特征。**方法** 对 1 例牙周梭杆菌菌血症患者的临床表现、实验室检查结果进行分析,并结合相关文献复习牙周梭杆菌菌血症的检测方法。**结果** 该例患者为中性粒细胞缺乏合并发热,血培养检测出革兰阴性杆菌,该菌经基因测序鉴定为牙周梭杆菌,患者使用甲硝唑联合美罗培南抗感染治疗后康复出院。通过文献复习发现牙周梭杆菌引起的血流感染在国内外未见相关文献报道,在牙周梭杆菌菌株鉴定上,9 篇文献中 5 篇通过 DNA-DNA 杂交鉴定,3 篇通过 PCR 鉴定,2 篇通过 16S rRNA 序列分析鉴定。**结论** 牙周梭杆菌在血液病等免疫力低下的患者中可引起血流感染,常规方法鉴定困难,可以通过 PCR 和基因测序等方法对牙周梭杆菌引起的败血症进行鉴定。

[关键词] 牙周梭杆菌; 血流感染; 中性粒细胞缺乏

[中图分类号] R631+.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2018)09-0827-04

Bloodstream infection caused by *Fusobacterium periodonticum*: one case report and literature review

WEN Hai-nan¹, XIE Shou-jun¹, CHEN Dong-ke², ZHAO Jian-hong³ (1 Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde 067000, China; 2 Beijing Hospital, Beijing 100000, China; 3 The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

[Abstract] **Objective** To understand detection method and clinical characteristics of bloodstream infection caused by *Fusobacterium periodonticum* (FP). **Methods** Clinical manifestation and laboratory examination results of one case of bacteremia caused by FP was analyzed, detection methods of FP were reviewed with relevant literatures. **Results** This patient has neutropenia with fever, gram-negative bacillus was isolated from blood culture, the strain was identified as FP by gene sequencing, patient was discharged from hospital after received metronidazole combined meropenem for anti-infection treatment. Through literature review, it is found that there was no reported literature on bloodstream infection caused by FP. Identification of FP in 9 literatures showed that FP in 5 literatures were identified by DND-DND hybridization, 3 by PCR method, and 2 by 16S rRNA gene sequence analysis. **Conclusion** FP can cause bloodstream infection in patient with low immunity, it is difficult to be identified by conventional method, PCR and gene sequencing can be used for identification of septicemia caused by FP.

[Key words] *Fusobacterium periodonticum*; bloodstream infection; neutropenia

[Chin J Infect Control, 2018, 17(9): 827-830]

牙周梭杆菌(*Fusobacterium periodonticum*)由 Slots 等^[1]在 1983 年首次从口腔分离并确定其种属,由其引起的血流感染较为罕见,目前国内外未见报道。2015 年某院收治了 1 例血液病合并败血症

的患者,其血液中分离出牙周梭杆菌。微生物室工作人员对于此类血液中分离的少见菌,高度警惕,使用不同检验技术、检测方法对其进行鉴定,现对此进行报告,以期临床医生了解其致病特点并尽早对

[收稿日期] 2016-12-01

[作者简介] 温海楠(1987-),女(汉族),河北省承德市人,主管检验师,主要从事临床微生物检验研究。

[通信作者] 赵建宏 E-mail: zhaojh_2002@yahoo.com

患者进行诊治提供依据。

1 病历资料

1.1 病史 患者女性,61岁,7天前出现发热,体温最高 39.7℃,伴有发冷,无寒战,自行口服“对乙酰氨基酚 500 mg”后体温可降至正常。5天前再次出现发热,伴有口腔疼痛,自行口服“对乙酰氨基酚(具体不详)”后体温下降不明显。4天前出现牙龈出血,伴鼻衄,经检查后以“真性红细胞增多症、粒细胞缺乏症、口腔感染”于 2015 年 7 月 14 日入该院血液内科。既往真性红细胞增多症 1 年,“高血压病”病史 2 年,右侧基底节区脑内血肿微创清除术后 9 个月。

1.2 入院后检查 入院体格检查:体温 38.6℃,心率 110 次/分,呼吸 20 次/分,血压 140/80 mmHg,神清,精神差,右腕部皮肤可见瘀斑,浅表淋巴结未触及肿大。牙龈红肿渗血,咽无充血,扁桃体无肿大,胸骨无压痛。双肺呼吸音清,未闻及干、湿性啰音。心律齐,各瓣膜未闻及病理性杂音。腹部柔软,无压痛,肝肋下未触及,脾肋下 7 cm 可触及,质硬,无触痛。病理征阴性。

1.3 实验室检查 白细胞计数 $0.20 \times 10^9/L$,红细胞计数 $6.41 \times 10^{12}/L$,血红蛋白 154 g/L,血小板计数 $5 \times 10^9/L$,中性粒细胞绝对值 0,红细胞平均体积 72.2 fL,平均血红蛋白含量 24.0 PG,降钙素原(PCT)0.82 ng/mL。骨髓活检:HE 及 PAS 染色示骨髓增生极度活跃,BCR/ABL(P190、P210)融合基因未见异常。JAK2/V617F(71.21%)阳性、JAK2-EXON12 阴性、MPL-EXON10 阴性。血清 EPO 正常。

1.4 诊疗经过 住院期间共输注 B 型 Rh 阳性单采少白细胞血小板 20 U 预防出血,对相关血液病治疗。抗感染方面,入院后予以头孢曲松 2.0 g qd 抗感染治疗,2 天后患者体温无下降。7 月 16 日根据血培养危急值结果调整抗菌药物为甲硝唑联合美罗培南 1 g q8h,7 月 17 日体温最高 38.1℃,无发热寒战。继续抗感染治疗 3 天后无发热,复查血常规:白细胞计数 $15.61 \times 10^9/L$,红细胞计数 $5.58 \times 10^{12}/L$,中性粒细胞百分比 81.8%,血红蛋白 135 g/L,血小板计数 $135 \times 10^9/L$ 。于 7 月 23 日无感染症状出院。

1.5 血培养及细菌鉴定

1.5.1 血培养 于 7 月 14 日患者发热初始时抽取患者左、右上肢静脉血(8~10 mL)注入需氧和厌氧血培养瓶(双侧双瓶),置于法国生物梅里埃公司 BacT ALERT3D 全自动血培养仪内培养,左侧、右

侧厌氧瓶分别培养 28、25、27、12 h 后报警阳性,培养瓶内液体直接涂片革兰染色,可见革兰阴性、极长、弯曲、盘绕在一起的杆菌,见图 1,同时转种血平板、中国蓝平板置于厌氧袋内 35℃ 培养,24 h 后血平板可见针尖大小、灰白色、略干燥、无溶血的菌落,48 h 后菌落增大,直径约 0.5~1 mm,见图 2,菌落在生理盐水中呈块状、不乳化,双侧需氧瓶 120 h 报阴性。

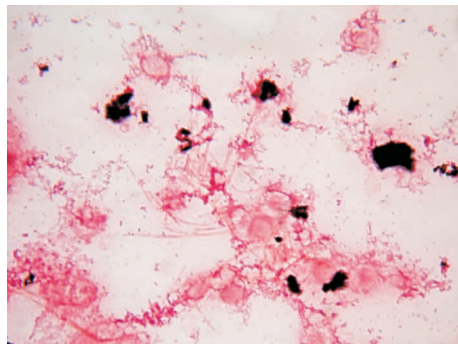


图 1 血培养涂片革兰染色($\times 1000$)

Figure 1 Gram-staining of blood culture($\times 1000$)

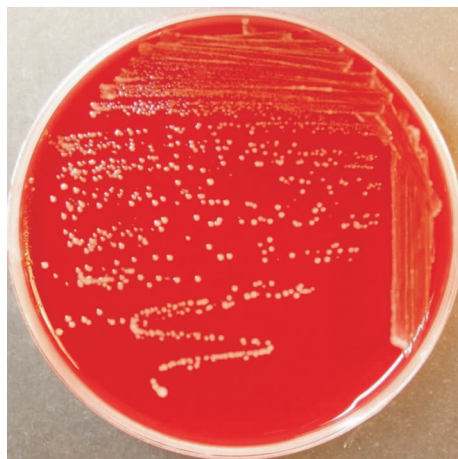


图 2 血平板转种物厌氧培养 48 h 后生长的菌落形态

Figure 2 Colony morphology on blood agar plate after 48 hours of anaerobic culture

1.5.2 细菌鉴定 菌落涂片染色为革兰阴性长杆菌,呈团排列,见图 3。参照文献[2]合成细菌通用引物进行扩增,引物序列为,F:5'-CCAGCAGC-CGCGGTAATACG-3',R:5'-ATCGG(C/T)TAC-CTTGTTACGACTTC-3'。PCR 反应体积为 25 μ L, Premix Taq 12.5 μ L,上下游引物各 1 μ L,模板 DNA 5 μ L,无菌双蒸水 5.5 μ L。扩增后将产物送至上海生工生物公司进行测序,测序结果在 PubMed-NCBI-BLAST 进行比对分析,结果为牙周梭杆菌。



图 3 纯培养涂片革兰染色(×1 000)

Figure 3 Gram-staining of pure culture (×1 000)

2 文献复习

以“*Fusobacterium periodonticum*”和“bacteremia”为关键词,通过 PubMed 数据库进行检索,未检索出关于牙周梭杆菌菌血症的相关报道。在中国知网、万方数据库以“牙周梭杆菌”为关键词检索,未检索出相关文献,无法结合该例患者的病例资料、临床表现、治疗转归等方面进行分析。单独以“*Fusobacterium periodonticum*”为关键词,检索到 9 篇相关文献。文献对该菌的介绍内容不多,主要介绍使用一定方法在特定部位检出该菌的情况,鉴定方法及分离部位汇总见表 1。

表 1 牙周梭杆菌相关文献汇总

Table 1 Summary of relevant literatures about *Fusobacterium periodonticum*

第一作者	标本数量	疾病	菌株分离部位	鉴定方法
Heller ^[3]	185	慢性牙周炎	齿龈下菌斑	DNA-DNA 杂交
Gmür ^[4]	71	坏死性溃疡性龈炎或牙龈炎	齿龈下菌斑或口腔表面	16S rDNA 序列分析
Siqueira ^[5]	27	急性牙髓脓肿	牙齿	DNA-DNA 杂交
Murad ^[6]	36	持续性牙髓感染	牙根管	DNA-DNA 杂交
Kubota ^[7]	30	牙周炎	齿龈下菌斑	PCR
Lauenstein ^[8]	36	慢性牙周炎	齿龈下菌斑	DNA-DNA 杂交
Park ^[9]	1	-	牙周梭杆菌 ATCC 33693	PCR
Jiang ^[10]	52	龋齿	唾液	16S rRNA 序列分析
de Carvalho ^[11]	10	重症机械通气患者	齿龈沟、舌	DNA-DNA 杂交
本病例	1	血流感染	血液	PCR

3 讨论

牙周梭杆菌引起的血流感染在国内外未见相关文献报道,该菌生长缓慢,菌落难于乳化,在实验室细菌培养鉴定中,很难对该菌进行快速的鉴定,并且该菌的相关文献及病例报道很难查找,因此本文对该菌的快速鉴定具有较为重要的诊断价值,本例通过 PCR 和基因测序判定为牙周梭杆菌引起的败血症。

牙周梭杆菌属是一类革兰染色阴性、无芽孢的细长梭形杆菌,对氧十分敏感,分离培养需要严格厌氧环境。Jiang 等^[10]在对儿童唾液进行 16S rRNA 菌群多样性分析中发现牙周梭杆菌是口腔中常见定植菌,在非龋齿人群中检出率高于龋齿组。该菌可正常定植在牙龈沟和牙周袋,当口腔免疫力低下、细菌组成和数量变化以及细菌易位可引起口腔和身体其他部位的感染^[12]。口腔感染是一种慢性感染性疾病,主要包括口腔溃疡、牙龈炎、牙周炎、牙髓炎、智齿冠周炎、齿龈脓肿等^[13],主要由厌氧菌引起,陈

东科等^[14]发现牙龈炎患者中梭杆菌引起的感染占 79.5%,本病例中的患者经诊断后发现口腔感染,并且出现齿龈红肿、出血,推测牙周梭杆菌是通过口腔感染入血引起败血症。

对 PubMed 数据库检索到的牙周梭杆菌的相关资料进行分析,在鉴定方法上,文献中的标本均未经培养,而是直接用分子生物学的方法在标本中对牙周梭杆菌进行检测。9 篇文献中除 1 篇文献^[9]使用 PCR 方法对牙周梭杆菌标准菌株进行鉴定不涉及口腔外,其余 8 篇文献均在口腔不同部位分离到牙周梭杆菌,其中 1 篇文献^[11]在重症机械通气患者中监测出牙周梭杆菌的定植,其余 7 篇文献中的牙周梭杆菌均在牙周炎或龋齿患者中分离,且分离部位均为口腔,推测牙周梭杆菌在口腔疾病中的作用不容忽视,但未提及具体致病机制,尚需进一步研究。

血液病患者往往免疫力极其低下,容易并发各种感染,如未及时救治,极易导致败血症、感染性休克甚至死亡,患者的预后高度依赖于早期发现、诊断及合理的治疗。本例患者感染初期为口腔感染,

早期抗菌药物治疗无效后进展为败血症,血流感染的牙周梭杆菌可能来源于口腔。根据 2016 年美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准,梭杆菌药敏需采用厌氧条件下琼脂稀释法,条件十分严格,根据 CLSI M100-100S 厌氧菌累积药物敏感性报告,梭杆菌对氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、美罗培南、甲硝唑、莫西沙星、克林霉素的敏感率均为 100%,本例患者用药调整为甲硝唑联合美罗培南治疗有效,入院初期使用头孢曲松抗感染治疗无效,可能与该菌对头孢曲松耐药等因素有关,具体机制还需进一步研究。由于中性粒细胞在病原菌引起的急性炎症反应中发挥着趋化、吞噬、杀菌作用,特别是对黏膜表面细菌^[15],因此,粒细胞缺乏症患者,应注意加强其口腔卫生,预防内源性感染引起的菌血症。本文结合病例对该菌的形态特点、培养特性、鉴定方法作了报告,将对于微生物工作人员提高此菌的鉴定能力,以及其感染患者的诊治起到至关重要的作用。

[参 考 文 献]

- [1] Slots J, Potts TV, Mashimo PA. *Fusobacterium periodonticum*, a new species from the human oral cavity[J]. J Dent Res, 1983, 62(9): 960-963.
- [2] Sarookhani MR, Ayazi P, Alizadeh S, et al. Comparison of 16S rDNA-PCR amplification and culture of cerebrospinal fluid for diagnosis of bacterial meningitis[J]. Iran J Pediatr, 2010, 20(4): 471-475.
- [3] Heller D, Silva-Boghossian CM, do Souto RM, et al. Subgingival microbial profiles of generalized aggressive and chronic periodontal diseases[J]. Arch Oral Biol, 2012, 57(7): 973-980.
- [4] Gmür R, Munson MA, Wade WG. Genotypic and phenotypic characterization of fusobacteria from Chinese and European patients with inflammatory periodontal diseases[J]. Syst Appl Microbiol, 2006, 29(2): 120-130.
- [5] Siqueira JF Jr, Rôças IN, Souto R, et al. Microbiological

evaluation of acute periradicular abscesses by DNA-DNA hybridization[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2001, 92(4): 451-457.

- [6] Murad CF, Sassone LM, Favari M, et al. Microbial diversity in persistent root canal infections investigated by checkerboard DNA-DNA hybridization[J]. J Endod, 2014, 40(7): 899-906.
- [7] Kubota M, Tanno-Nakanishi M, Yamada S, et al. Effect of smoking on subgingival microflora of patients with periodontitis in Japan[J]. BMC Oral Health, 2011, 11: 1.
- [8] Lauenstein M, Kaufmann M, Persson GR. Clinical and microbiological results following nonsurgical periodontal therapy with or without local administration of piperacillin/tazobactam [J]. Clin Oral Investig, 2013, 17 (7): 1645-1660.
- [9] Park SN, Park JY, Kook JK. Development of species-specific polymerase chain reaction primers for detection of *Fusobacterium periodonticum* [J]. Microbiol Immunol, 2010, 54 (12): 750-753.
- [10] Jiang S, Gao X, Jin L, et al. Salivary microbiome diversity in caries-free and caries-affected children[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(12), pii: E1978.
- [11] de Carvalho Baptista IM, Martinho FC, Nascimento GG, et al. Colonization of oropharynx and lower respiratory tract in critical patients: risk of ventilator-associated pneumonia[J]. Arch Oral Biol, 2018, 85: 64-69.
- [12] Moore WE, Moore LH, Ranney RR, et al. The microflora of periodontal sites showing active destructive progression[J]. J Clin Periodontol, 1991, 18(10): 729-739.
- [13] 卢萌. 口腔感染的病原菌及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(11):2458-2459.
- [14] 陈东科, 郭子杰, 胡云建, 等. 牙龈炎感染的厌氧菌群分布及对 β 内酰胺药物的敏感性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(3):144-146.
- [15] Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation[J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(3): 159-175.

(本文编辑:豆清娅、陈玉华)

(上接第 822 页)

- [23] 王惠芳, 来瑞平, 胡菽, 等. ATP 生物荧光法在医疗器械清洗质量评价中的应用[J]. 中国消毒学杂志, 2015, 32(7):647-648,653.
- [24] 陆焯, 胡国庆, 陆龙喜, 等. ATP 生物荧光技术快速测定细菌总数的应用研究[J]. 中国消毒学杂志, 2013, 30(7):613-615,618.
- [25] 杨惠英, 李骁骁, 张建设, 等. 应用 ATP 生物荧光检测法对医务人

员手卫生质量评价[J]. 中国消毒学杂志, 2015, 32(9):884-886.

(本文编辑:豆清娅、左双燕)