

参考文献

[1] 宁敏,杜宇虹,杨华芝. 细胞化学染色在鉴别鳞癌、腺癌及未分化癌中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(4): 49.

[2] 丁运良. 恶性肿瘤细胞的形态及临床意义[J]. 实用医技杂志, 2005, 12(5): 1359-1260.

[3] 方芳,张伟,杨丽,等. 浆膜腔积液中转移性腺癌与间皮细胞病理学研究诊断[J]. 病理学杂志, 2006, 13(3): 169-171.

[4] 薛成军,韩绪娥,崔丽娟,等. 常规细胞形态学检查对浆膜腔积液的鉴别诊断价值[J]. 实用医药杂志, 2007, 24(9): 1052-1053.

[5] 王福斌,吴茅,周麟. 常规浆膜腔积液中转移性肿瘤细胞的形态学分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 24: 2745-2746.

[6] 方芳,杨丽,苏希来,等. 浆膜腔积液中转移癌原发部位的细胞学研究[J]. 中华病理学杂志, 2005, 4(10): 641-643.

[7] 常正义,潘云. 580 例浆膜腔积液脱落细胞学检查分析[J]. 右江民族医学院学报, 2002, 24(5): 745-746.

[8] 樊英,李龙芸. 良恶性胸腔积液的鉴别诊断[J]. 癌症进展杂志, 2005, 3(2): 134-136.

[9] 李志忠,刘锡范,李新香. 胸腔积液细胞学检查方法的对比研究[J]. 中华全科医师杂志, 2004, 3(1): 76-77.

[10] 王永才. 脱落细胞病理诊断学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2006: 46.

(收稿日期: 2010-10-26)

• 检验技术与方法

酸化离子水配制吡嗪酰胺药敏培养基的研究

胡云岚¹, 程冬娥², 申建维²

(1. 湖北省荆门市康复医院检验科 448000; 2. 武钢集团第二医院检验科, 武汉 430080)

摘要:目的 探讨满足吡嗪酰胺活性需要的同时, 研制使结核菌生长良好的吡嗪酰胺(PZA)药敏培养基。方法 以改良罗氏培养基为基础, 加大镁离子浓度, 去掉马铃薯淀粉, 用 pH 值 2.34、氧化还原电位为 1 174 mV 的酸化离子水配制 PZA 药敏培养基。按《结核病诊断细菌学检验规程》, 检测 120 株结核分枝杆菌对 PZA 的敏感性。结果 门诊分离的 60 株分枝杆菌, PZA 耐药率为 13.3%, 该院患者和深圳市慢性病医院分离的 15 株完全耐药的分支杆菌, 在此培养基上对 PZA 呈耐药性。结论 此培养基配制简单, 可与其他药敏试验同步进行, 易于推广应用。

关键词:吡嗪酰胺; 培养基; 分枝杆菌, 非典型性; 酸化离子
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.07.028 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2011)07-0785-02

根据中国结核病传染性患者多, 耐药菌感染患者多的特点^[1], 对患者做药敏检测必不可少。吡嗪酰胺(PZA)是具有灭菌、杀菌活性的一线药, 过去排除在常规药敏测试以外, 其原因在于它只能在酸性培养基中测试, 匡铁吉^[2]曾就酸性培养基做过数次配制, 都很有效, 但是由于操作略繁琐, 迄今未常规运行。进入基因时代以来, 虽然对 PZA 的耐药基因 pncA 在 5 年前已阐明^[3]。但 Davies 等^[4]研究表明, 除 pncA 之外尚有其他未发现的耐药机制, 只查基因型法(如 pncA)是不够、不可靠的, 还要靠表型法(如 BACTEC460)解决。但 BACTEC 设备昂贵, 培养基和试剂依靠进口, 费用高, 在发展中国家不能推广使用, 另外放射核素处理难度大, 也限制其应用, 因此本组试图用酸化离子水配制药敏培养基^[5]。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 实验标本由门诊、住院患者的痰液、尿液、分泌物分离的菌株以及由深圳慢性病医院提供完全耐药和临床分离株。

1.2 菌种来源 人型结核分枝杆菌强毒株(H37Rv), 牛型结核分枝杆菌、鸟分枝杆菌、胞内分枝杆菌、瘰疬分枝杆菌、偶发分枝杆菌、耻垢分枝杆菌, 以及耐 INH 1 μg/mL、SM 100 μg/mL、RFP 250 μg/mL、PAS 10 μg/mL、TH1321、INH、EMB、OFLX、CPM 低浓度和标准耐药株等, 由北京结核病研究所提供。

1.3 仪器与试剂 培养基 pH 的测定应用上海分析仪器厂生产的 pH S-2 型酸度计。PZA 粉剂由上海宜兴制药厂提供。

1.4 方法 酸化离子水通过特殊的白金钛合金电极, 在有隔膜的电解槽中将含有 0.05% 氯化钠的自来水, 电解成具有氧化还原电位 1 100 MV 以上、pH 值 2.7 以下的酸化离子水。在改良 L-J 培养基中加大镁离子的浓度, 去掉马铃薯淀粉, 2%

的孔雀绿水溶液减半^[5-6]。配制方法: 将固体成分用酸化离子水溶解, 冷却, 加全蛋液, 混匀, 加孔雀绿水溶液, 用当量的盐酸调 pH 5.3。凝固前将培养基制备成含 PZA 50、100 μg/mL 药物培养基。

1.5 药物敏感性测定 按照 1996 年中国防痨协会制定的《结核病诊断细菌学检验规程》进行^[7]。

2 结果

2.1 PZA 药敏培养基(凝固前)的最适 pH 值。酸化离子水配制的不含马铃薯淀粉的改良 L-J 培养基, 结果显示, 在不同 pH 值时含 PZA(10、50 μg/mL)或不含 PZA 的培养基上, 接种人型结核分枝杆菌 H37Rv, 4 周观察结果。当培养基凝固前 pH 值为 5.2~5.4 时, 人型结核分枝杆菌在对照管上生长良好, 在含 PZA 50 μg/mL 的培养基上不生长。因此, 选择 pH 值 5.2~5.4 为 PZA 药敏试验的最适酸碱度, 含 PZA 50 μg/mL 为低浓度耐药管, 见表 1。

表 1 标准菌株对 PZA 的药敏试验结果(4 周观察)				
菌株	含 PZA 药敏培养基 pH5.3(凝固前)			
	10 μg/mL	50 μg/mL	100 μg/mL	空白对照
H37RV	+	-	-	++
牛型结核分枝杆菌	+++	++	++	++
鸟分枝杆菌	++++	++++	++++	++++
胞分枝杆菌	++++	++++	++++	++++
偶发分枝杆菌	+++	+++	+++	+++
耻垢分枝杆菌	+++	+++	+++	+++
瘰疬分枝杆菌	+++	+++	+++	+++

2.2 某些标准分枝杆菌在含 PZA 培养基上的生长情况, H37Rv 在含 PZA 50 μg/mL 的酸化离子水配制的培养基上受

抑制,牛型结核分枝杆菌及其他 5 株非结核分枝杆菌在 100 $\mu\text{g/mL}$ 药物浓度下仍生长良好。

2.3 用 10~3 mg/mL 接种量在不含药的对照管上生长的菌落不呈融合状,菌落大且粗糙。

2.4 用酸化离子水配制的 PZA 药敏培养基,对 120 株临床分离株进行测定,其中 60 株门诊分离株中,有 3 株在低浓度管内(50 $\mu\text{g/mL}$)生长,5 株在高浓度管内(100 $\mu\text{g/mL}$)生长,PZA 耐药率为 13.3%。1 株标准的耐 INH 低浓度株,对 PZA 敏感,1 株耐 5 种药的标准株,对 PZA 耐药。从本组住院患者及深圳慢性病医院患者中分离的 60 株中,其中 15 株完全耐药,对 PZA 呈高浓度耐药。

3 讨 论

目前最常用的 PZA 药敏试验方法为 BACTEC 法,BACTEC 法虽然可靠,但它只能用于间接试验,需要纯培养物作初次分离,不能用于直接试验,要对放射性¹⁴C 作适当处理,近年来由于环保的原因,BACTEC-460 已基本停止使用,新一代的 BACTEC-9000 用荧光代替了 BACTEC-460 放射性核素,减少环境污染,但要更新 BACTEC 设备,费用更昂贵,仍难以推广应用。国内外学者也对 PZA 药敏培养基作了大量的研究工作,均由于培养基的配制成份复杂,试剂难以购买,而未能广泛应用。本培养基与其相比,配制方法简单,可与常规药敏同时进行。

酸化离子水成本低,制作方便。在 PZA 药敏培养基中镁离子浓度较罗氏培养基高一倍,孔雀绿水溶液的用量少一半,凝固前的 pH 值在 5.2~5.4,凝固后可保证药敏测试的要求。PZA 除对结核杆菌有抑制外,对其他细菌不起作用,对牛型结核菌和非结核分枝杆菌一般无作用^[7]。本培养基所测试的结果与上述结果一致。但是每次试验要用人型结核分枝杆菌作阴性对照,而阳性对照可用牛型结核分枝杆菌或鸟分枝杆菌、胞内分枝杆菌,以保证测试结果的准确性。如果 H37Rv 为阴性对照,牛型结核分枝杆菌为阳性对照,同时加种 PNB。在 PNB 上生长,而牛型分枝杆菌的阳性对照生长可确定为非结核分支杆菌生长,PNB 阴性,牛型分枝杆菌的阳性对照生长,能否考虑为牛型结核杆菌,由于本组的试验菌株数有限,有待于进一步证实。

• 检验技术与方法 •

重症监护病房病原菌分布情况及感染因素研究

徐 进,马淑慧
(河南省信阳市中心医院检验科 464000)

摘 要:**目的** 通过对重症监护病房(ICU)病原菌流行特征、相关感染因素的研究,为预防、控制感染提供依据。**方法** 应用回顾性调查方法,对 2008 年 4 月至 2009 年 12 月 ICU 患者送检标本和环境学标本的病原菌监测进行统计分析。**结果** 患者标本分离出的 672 株病原菌,主要是醋酸不动杆菌(55 株)、金黄色葡萄球菌(53 株)、鲍曼不动杆菌(43 株)、肺炎克雷伯菌(36 株)、铜绿假单胞菌(28 株)。672 株菌株来源于痰液(554 株)、血液(74 株)、脓液及分泌物(22 株)、尿液(12 株)和其他(10 株)。与以上相关的病原菌多次从 ICU 环境内的负压吸引器、呼吸机检出。**结论** 醋酸不动杆菌、金黄色葡萄球菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌是 ICU 感染的主要病原菌;ICU 的感染以呼吸道感染为主,其次为全身感染(血源感染)。吸引器、负压呼吸机是 ICU 病原菌感染、传播的主要因素。

关键词:重症监护病房; 病原; 疾病暴发流行; 细菌感染
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.07.029 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2011)07-0786-03

重症监护病房(intensive care unit,ICU)患者病情危重,病程长,抵抗力差,侵入性器械使用频繁,消毒隔离难以彻底,容易引起交叉感染及传播,与普通病房患者相比更容易发生各种感染,进而引起各类医院感染^[1-2]。为了解 ICU 病原菌流行特

有关细菌的接种量,本组采用了所规定的 10~3 mg ,与其他的药敏试验相同的菌量,有利于批量操作^[7]。4 周后报告结果,超过 4 周后 pH 值会有所升高,到第 8 周,高浓度管呈阳性生长。在酸化离子水配制药敏测试的 PZA 空白培养基上生长的结核分枝杆菌菌落,较改良 L-J 培养基上生长的,大且粗糙。H37Rv 在含 PZA 10 $\mu\text{g/mL}$ 的培养基上呈阳性生长,因此采用 50 $\mu\text{g/mL}$ 为低浓度管。

由于 PZA 已成为一线抗结核药物而被广泛应用,随之其耐药率也越来越高,对于结核病的治疗,研究人员已高度关注结核耐药性的检测^[8]。从本研究结果显示,该法操作简便、价格低廉,是一种可以广泛应用的方法。

参考文献

[1] 俞海蛟. 结核分枝杆菌耐药基因及检测方法的研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(1):51.

[2] 匡铁吉. 92 号土豆琼脂培养基用于吡嗪酰胺药敏试验的初步研讨[J]. 中国防痨通讯,1990,12(1):17.

[3] Scorpio A, Zhang Y. Mutations in pncA, agene-encoding pyrazinamidase nicotinamidase cause resistance to the ant-ituberculous drug PZA in tubercle bacillus[J]. Nature Medicine, 1996, 2(6): 662-667.

[4] Davies AP, Billgton OJ, Hugb ID, et al. Comparison of phenotypic and genotypic methods for pyrazinamide susceptibility testing with Mycobacterium tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(10): 3686-3688.

[5] Piddington DL, Kashkouli NA. Growth of mtuberculosis in a definecl medium is very restricted by acid pH and Mg^{2+} levels[J]. Infectiond Immunity, 2000, 68(8):4518-4522.

[6] 张莉,杨立涛. 李爱华,等. 两种罗氏培养基的临床应用比较[J]. 中国防痨杂志,1999,21(4):213.

[7] 中国防痨协会. 结核病诊断细菌学规程[S]. 中国防痨杂志,1996, 18(1):28.

[8] 韩敏. 结核病诊断和耐药性检测新技术[J]. 国际检验医学杂志, 2010,31(3):260.

(收稿日期:2010-10-07)