

- [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(1): 43-48.
- [3] 褚海青, 李惠萍, 何国钧. 铜绿假单胞菌的耐药机制[J]. 中国抗感染化疗杂志, 2003, 3(1): 54-56.
- [4] Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1995, 39(6): 1211-1233.
- [5] 汪复, 朱德妹, 胡付品, 等. 2008 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(5): 321-329.

- [6] 宁明哲, 张之峰, 沈瀚, 等. 2005~2008 年铜绿假单胞菌耐药情况变迁分析[J]. 医学研究杂志, 2010, 39(1): 91-93.
- [7] 王辉, 陈民钧. 1994~2001 年中国重症监护病房非发酵糖细菌的耐药变迁[J]. 中华医学杂志, 2003, 83(5): 385-390.
- [8] 马越, 李景云, 张新妹, 等. 2002 年临床常见细菌耐药性监测[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(1): 38-44.

(收稿日期: 2011-04-10)

• 个案与短篇 •

1 例脑脊液中表型特异的地衣芽孢杆菌的生化特征及其分子生物学鉴定

马 翔¹, 聂署萍², 温小玲³, 赵 娟¹, 朱焕金³, 邹 燕¹, 陆学东²

(1. 广东省广州市花都区爱医院检验科 510800; 2. 广东医学院附属深圳市福田区福田人民医院检验医学部 518000; 3. 广东省广州市花都区妇幼保健院 510800)

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 15. 070

文献标识码: C

文章编号: 1673-4130(2011)15-1783-02

2010 年 8 月本室从 1 例患儿脑脊液中分离出地衣芽孢杆菌(BL), 因该菌的表型特征特别, 进一步做了鉴定, 现报道如下。

1 临床资料

患儿, 男, 1 月龄, 因咳嗽 10 多天, 体温 37.7℃ 1 d, 抽搐 2 次入院。手指血白细胞计数 $12.01 \times 10^9/L$, 嗜中性粒细胞 16.7%、淋巴细胞 68.2%、单核细胞 14.1%、嗜酸性粒细胞 0.5%、嗜碱性粒细胞 0.5%。无菌抽取脑脊液培养出纯生长的地衣芽孢杆菌。脑脊液常规: 外观微浊, 潘氏试验阴性, 白细胞计数 $0.04 \times 10^9/L$ 。脑脊液生化: 葡萄糖 2.2 mmol/L, 氯化物 121 mmol/L, 蛋白 409 mg/L。患儿自行转院。

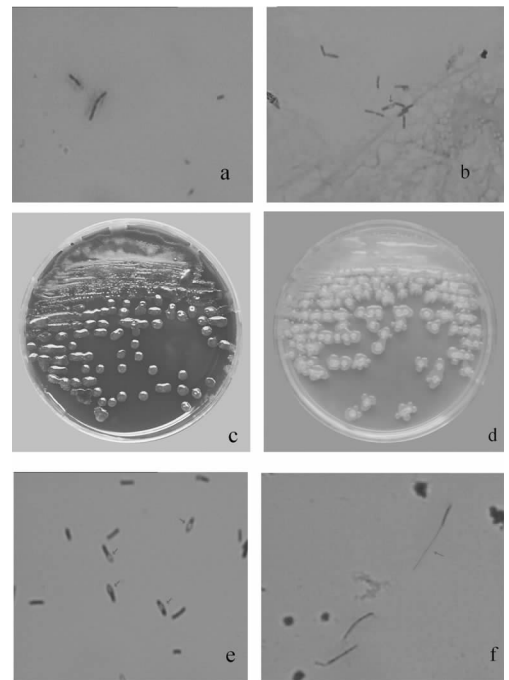
2 方 法

2.1 细菌分离^[1] 脑脊液 3 000 r/min 离心 15 min, 取沉渣革兰染色找到阳性杆菌, 见图 1-a, 芽孢染色找到芽孢杆菌, 见图 1-b。取沉淀物划线接种巧克力琼脂(CA)、哥伦比亚血琼脂(CBA)平板放 35℃ 孵育(其中 CA 平板放 5%~10% CO₂ 产气袋中), 24 h 后, CBA 平板上的菌落直径 2 mm 左右, 圆形、凸起、光滑、边齐、湿润、黏稠、水滴样(见图 1-c)。但在 CA 平板上菌落稍小而干燥。陈旧的菌苔呈干燥的“衣壳”样。进一步观察特征如下: 将 CBA 平板生长物划线接种营养琼脂(NA)、水解酶蛋白琼脂(MH)、麦康凯(MC)平板各 2 个, 分别放普通和 5%~10% CO₂ 产气袋中培养 24 h, MC 平板上无细菌生长。在 NA 和 MH 平板上除具有 CBA 平板菌落的特征外, 特别是在 MH 平板(CO₂ 环境)的菌落为典型“油煎蛋”, 见图 1-d。温度生长试验, 30~60℃ 生长良好, 25℃ 以下和 65℃ 以上不生长(接种 NA 平板, 培养 48 h)。芽孢染色可见中生和次端生芽孢, 芽孢略膨出菌体, 见图 1-e, 该菌动力活泼(压滴法), 鞭毛染色可见 1 根明显长于菌体的端鞭毛, 见图 1-f。

2.2 生化检定 葡萄糖 O/F 发酵型, H₂O₂ 酶强阳性。接种 API 50CH(为 49 种糖醇发酵试验)以及 API 20E(肠杆菌科细菌鉴定用), 均为法国梅里埃公司生产, 按说明书操作。35℃ 孵育 24 h, 将生化结果输入法国梅里埃公司的 ATB 半自动微生物分析仪得到鉴定结果。经 API 50CH 鉴定为地衣芽孢杆菌, 联合 API 20E(前 12 项试验), 也鉴定为地衣芽孢杆菌。

2.3 分子生物学鉴定 提取细菌总 DNA, 在 16S rDNA 保守区域设计引物扩增 16S rDNA 基因, 然后使用 Beckman

CEQ8800 PCR 仪进行测序, 再将 DNA 测序结果与相应的数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行对比, 与地衣芽孢杆菌同源性为 100%(FJ655808.1)。



a: 沉渣中革兰阳性杆菌; b: 沉渣芽孢染色找到芽孢杆菌; c: CBA 平板上的菌落; d: 油煎蛋菌落; e: 菌落芽孢; f: 单根鞭毛。

图 1 细菌学分离结果

3 讨 论

除严格致病的炭疽芽孢杆菌外, 其他芽孢杆菌也从胸水、脑脊液、血液等临床标本中分离出来^[2-5]。芽孢杆菌的确认可通过芽孢染色, 据介绍相差显微镜更便于芽孢的观察, 可用含 5 mg/L 硫酸锰的营养琼脂转种促使芽孢形成^[5]。相对于其他细菌, 芽孢杆菌的分类鉴定缺少易于测定的常规特征, 临床实验室准确鉴定到种仍有困难。一些简便可行的试验有助于区别, 如: 地衣芽孢杆菌和蜡芽孢杆菌兼性厌氧, 而枯草芽孢杆菌严格需氧。通过菌落特征、芽孢形态以及位置的观察, 结合 API 50CH 以及 16S rDNA 测序是芽孢杆菌广泛应用的鉴定

方法^[5]。据报道电镜下地衣芽孢杆菌有单根鞭毛^[4]。

此株地衣芽孢杆菌在 API 50CH 中反应典型,该菌经表型特征和 16S rDNA 测序,明确了菌种的鉴定。此外,地衣芽孢杆菌黏稠、水滴样菌落、陈旧培养物出现干燥的“衣壳”以及“油煎蛋”形菌落也有助于鉴别。

地衣芽孢杆菌也在环境中存在,其临床意义的确定需注意分离株是否纯生长或优势生长,多次检出并结合临床症状分析才能确定致病性。此患儿因转院,未做进一步观察,临床和实验室需重视。

参考文献

[1] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:

• 个案与短篇 •

1 例脑膜癌的脑脊液细胞学诊断

许绍强

(广东三九脑科医院,广州 510510)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.071

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2011)15-1784-02

患者黄某,男,46岁,因“左侧肢体无力、发作性抽搐、记忆力下降、反应迟钝3月余”来本院就诊。患者于2010年10月10日无明显诱因出现左侧自体力,行头颅CT示:“左侧放射冠区腔隙性脑梗死”。10月12日患者出现昏迷及发作性肢体抽搐。10月13日查PET-CT示:“脑炎及双肺炎症”。经治疗,患者于10月28日清醒,左侧肢体力量逐渐恢复,无肢体抽搐发作,但出现记忆力下降,反应迟钝,为求进一步诊治,遂来本院就诊。患者有长期吸烟史,入院神经系统检查未见明显异常。

1 临床资料

1.1 影像学检查 胸片示左下肺纹理走行紊乱;头颅MRI示:(1)颅内多发异常信号影,考虑为脑白质变性及脱髓鞘病灶;(2)双侧额顶叶及双侧小脑半球脑沟变窄,信号异常,建议MRI增强进一步检查。

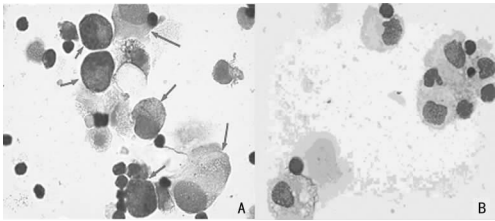
1.2 实验室检查 血常规、血生化、大小便常规未见明显异常。脑脊液生化:蛋白3.78g/L(升高),糖4.5mmol/L(阴性),氯化物115.8mmol/L(升高),乳酸48.7mg/dL(升高),丙氨酸氨基转移酶40.6U/L(升高),乳酸脱氢酶373U/L(升高),肌酸激酶9.1U/L(升高)。脑脊液常规+结核杆菌(TB)+隐球菌+细胞学检测:外观淡黄、透明,蛋白(++++),细胞总数 $41\times 10^6/L$,白细胞 $18\times 10^6/L$,常规分类显示以单个核为主,未发现TB及隐球菌;脑脊液细胞学检查示:淋巴细胞53%,激活淋巴细胞17%,单核细胞3%,激活单核细胞27%,发现肿瘤细胞,细胞学诊断提示“异常脑脊液细胞学,细胞学呈淋巴-单核细胞反应型,激惹现象明显,可见明显异型细胞,脑膜癌的可能性大,建议加做CSF肿瘤标记物检测,建议动态观察。”脑脊液肿瘤标志物3项:癌胚抗原(CEA)7960ng/mL(明显增高),甲胎蛋白(AFP) $<0.242\text{ ng/mL(N)}$,人绒毛膜促性腺激素(HCG) $<1\text{ mIU/mL(N)}$ 。

结合临床资料、影像学检查及实验室检查结果,脑膜癌诊断成立,考虑胃肠道肿瘤脑膜转移的可能性大。患者家属拒绝进一步检查和治疗,1月25日主动要求出院。

东南大学出版社,2006:741-743。

- [2] 崔晓梅,邵惠臣,刘凤英,等.1例地衣芽孢杆菌败血症菌种鉴定[J].中华检验医学杂志,1990,13(3):214.
- [3] 李萍,谢在梅,延文梅.胸水中分离出地衣芽孢杆菌[J].中华检验医学杂志,1996,19(2):141.
- [4] 张维国,周宇光,李远志,等.脑膜炎奈瑟菌与地衣芽孢杆菌L型混合感染1例[J].中华检验医学杂志,1996,19(4):314.
- [5] 徐建国,梁国栋,邢来君,等.临床微生物学手册[M].北京:科学出版社,2005:94-511.

(收稿日期:2011-02-21)



A:箭头所指为肿瘤细胞;B:淋巴细胞及激活单核细胞。

图1 脑脊液细胞学检查结果(10×100)

2 讨论

脑膜癌的临床表现复杂多样,缺乏典型的症状、体征,主要表现为脑、颅神经、脊神经受累症状。临床上经常是亚急性或慢性起病,最常见的首发症状为头痛、恶心、呕吐和脑膜刺激征,在病程发展过程中还可有精神异常、智能减退等脑功能受损表现^[1]。本病例无头痛、恶心、呕吐和脑膜刺激征表现,但却出现了记忆力下降、反应迟钝、精神异常、智能减退等脑功能受损表现,后者与文献报道相符。国外报道,经病理证实的脑膜癌病例中,2/3患者头部MRI增强有阳性发现^[2],而1/3的患者有可能被漏检。本病例,外院CT、PET-CT及本院头颅MRI(未作增强)均未能提示脑膜病变的可能,充分说明了脑膜癌诊断的困难和复杂性。

脑膜癌病临床表现缺乏特异性,误诊、漏诊率高。脑脊液细胞学检查对脑膜癌病的诊断具有特殊的价值^[3],脑脊液细胞学检查发现肿瘤细胞是确诊脑膜癌病的金标准,其敏感度为75%~90%,特异度为100%^[4]。随着脑脊液细胞学检查的普及,以及单克隆抗体免疫细胞化学染色的应用^[5],使脑膜癌病的诊断准确率大幅度提高。本病例脑脊液细胞学特点呈淋巴-单核细胞反应型,表现为激活型淋巴及激活型单核细胞增多,肿瘤细胞核大畸形,核浆比例增大,胞浆深染,呈强嗜碱性,胞核深染,核仁明显,部分细胞可见瘤状突起。与国内吴小妹等^[6]报道一致。本病例未用单克隆抗体免疫细胞化学染色进行辅助诊断,而直接采用CSF肿瘤标记物检测方法进行检测,