

有待进一步探讨。

参考文献

- [1] 黄衍峰, 郑望春, 叶晓涛, 等. 凝血四项指标在孕妇正常分娩前后的变化及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(10): 897-898.
- [2] 张茉莉, 谢守军, 薛承岩. 影响活化部分凝血活酶时间测定的因素[J]. 河北医学, 2006, 12(11): 1196-1197.
- [3] 蒋灵霓. 凝血及纤溶实验室检验的影响因素及临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(2): 196-198.
- [4] 董仁康, 邓懋青. 凝血试验的临床影响因素分析[J]. 西南军医, 2007, 9(3): 79-80.
- [5] 诸静英, 程大卫, 邹静娟. 对两种 APTT 试剂正常参考值的评估[J]. 中国血液流变学杂志, 2002, 12(1): 57-59.
- [6] 王金行, 王国柱, 赵明, 等. PT 和 APTT 试验影响因素的讨论[J]. 辽宁医学杂志, 2002, 16(1): 25-27.

- [7] 李艳, 孙家祥. PT 及 APTT 试验相关影响因素探讨[J]. 西部医学, 2007, 19(3): 460-461.
- [8] 闫朝春, 金艳凤, 徐冬祥, 等. 酸碱度变化对实验室检测凝血 4 项指标结果的影响[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(9): 783-784.
- [9] 林娟, 门庆娟, 刘长青, 等. CA-500 系列全自动凝血仪原理及日常维护[J]. 医疗设备信息, 2002, 5: 54.
- [10] 许文荣, 谷俊侠. 临床血液学检验[M]. 南京: 东南大学出版社, 2001: 165-168.
- [11] 袁丽萍. 温度及试剂对 PT 与 APTT 测定结果的影响[J]. 山西职工医学院学报, 2008, 18(3): 41-42.
- [12] 刘继红. 影响凝血结果的因素分析[J]. 检验医学与临床, 2006, 3(6): 276.
- [13] 程红革, 李金万, 韦卉, 等. 凝血试验分析前影响因素及其标准化[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3): 298-301.

(收稿日期: 2011-05-09)

• 检验技术与方法 •

卡他莫拉菌的快速筛检及耐药性分析

伊茂礼, 吴金英, 李少君, 杨少虹, 林绍霞

(青岛大学医学院附属烟台毓璜顶医院检验科, 山东烟台 264000)

摘要:目的 介绍一种快速筛检卡他莫拉菌(MC)的方法并对其分离菌进行耐药性分析。方法 利用 MC 可以产生脂酶的特性, 用干化学分析仪检测对照菌株和可疑菌株的酯酶活性并用 Vitek2 Compact 全自动微生物鉴定系统来验证其特异性, 利用 ATB express 和 β -内酰胺酶纸片对确证菌株进行药敏试验及产 β -内酰胺酶检测。结果 MC 均具有较高的脂酶活性, 测定结果结合 MC 基本微生物学特点可以使 MC 得到快速的筛检。对所有 MC 分离株进行药敏试验显示, 阿莫西林/克拉维酸等加酶抑制剂的青霉素类药物可以作为临床首选经验用药。结论 MC 脂酶测定结果和微生物常规鉴定方法结合可使 MC 的筛检可靠、便捷、快速和经济, 值得有条件的临床实验室借鉴应用。

关键词: 抗药性; 卡他莫拉菌; 干化学法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.16.042

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)16-1872-02

卡他莫拉菌(*Moraxella catarrhalis*, MC) 为革兰阴性双球菌, 原属奈瑟菌属, 后改称卡他布兰汉菌。长期以来, MC 被认为是人类上呼吸道的正常寄居菌种, 直到 20 世纪 80 年代初才明确有致病性的 MC 是引起儿童上颌窦炎、中耳炎、肺炎的原因之一, 其重要性仅次于流感嗜血杆菌和肺炎链球菌^[1-2], 并且在儿科患者中分离率呈逐年上升的趋势^[3]。由于该菌与口咽部正常定植的非致病性奈瑟菌属革兰染色形态相同, 菌落相似, 在一些微生物实验室的呼吸道标本细菌培养中常被作为正常菌群而漏检。微生物脂肪酶指由微生物产生的一类水解油脂的酶类, 其水解底物一般是天然油脂, 其水解部位是油脂中脂肪酸和甘油相连接的酯链, 脂肪酶的检测即在胆汁盐的作用下, 利用辅脂肪酶促进脂肪酶吸附于底物颗粒, 随后脂肪酶催化不溶于水的三酰甘油酯水解^[4]。本文利用 MC 能产生乙酰酯酶的特点, 用干化学法检测临床标本细菌培养中出现的可疑菌的脂肪酶活性, 结合 MC 基本的微生物学特点, 使 MC 的筛选既快速、便利又经济。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 2009 年 1 月至 2011 年 10 月本院门诊及住院患者标本中分离到的疑似 MC 19 株, 其中标本类别为耳道分泌物 5 株, 血液 1 株, 痰液 10 株, 咽拭子 3 株。

1.1.2 对照试验菌株 来自临床标本中检出的 5 株非致病奈瑟菌属细菌。5 株奈瑟菌属细菌均来自痰标本, 氧化酶均阳

性, 菌落淡黄色, 形态皱缩干燥型 2 株, 光滑圆润型 3 株。

1.1.3 质控菌株 MC ATCC25238。

1.2 仪器与试剂 采用 Vitros LIPA 干片(美国强生公司), 奈瑟菌属及苛养菌 NH21346 鉴定卡(法国生物梅里埃), 奈瑟菌属及苛养菌药敏板条(法国生物梅里埃), VIT250 干化学分析仪(美国强生公司), Vitek2 Compact 全自动微生物鉴定仪(法国生物梅里埃), ATB express(法国生物梅里埃), Densi-check 比浊仪(法国生物梅里埃), β -内酰胺酶纸片(英国 Oxoid)。

1.3 方法

1.3.1 细菌分离培养 根据《全国临床检验操作规程》3 版进行标本处理及细菌分离培养。

1.3.2 MC 常规快速筛选 含羊血哥伦比亚琼脂或巧克力琼脂培养基上出现的可疑菌落即表现为菌落表面干燥、光滑、不透明, 呈白色或灰白色, 用接种环推动菌落不黏环, 整个菌落易从培养基刮下, 在生理盐水中可呈细纱状散开的菌落作为怀疑对象进行操作。

1.3.3 菌液配制 用无菌生理盐水将标准菌株配制不同麦氏单位菌液以确定检出限和线性范围; 可疑菌株和对照菌株各配制 3.0 麦氏单位和 1.0 麦氏单位的菌液, 3.0 麦氏单位菌液用 Vitek2 Compact 全自动微生物鉴定仪鉴定到种, 1.0 麦氏单位的菌液用 VIT250 干化学分析仪检测脂肪酶活性。

1.3.4 检出限 用无菌生理盐水将质控菌株 ATCC25238 作

一系列倍比稀释浓度,当菌液浓度为 0.05 麦氏单位时显示测定结果为 10,和本检测方法的最低检出限相当,即将 0.05 麦氏单位设为最低检出限。

1.3.5 线性范围的确立 将质控菌株 ATCC25238 分别配制 0.1、0.2、0.4、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、5.0、10 个不同麦氏单位,测定线性范围,结果表明,在 0.2~3.0 麦氏单位范围内浓度和峰面积呈线性相关,相关系数 r^2 为 0.995 9。本实验将 1.0 作为工作浓度。

1.3.6 β -内酰胺酶检测 确证菌株用 β -内酰胺酶纸片检测产 β -内酰胺酶情况,用 NH 药敏板条测定其对抗生素的敏感性。

2 结 果

2.1 将所有对照菌株均配制 1.0 麦氏单位的菌液上机检测,对 19 株可疑菌落,即表面干燥、光滑、不透明、呈白色或灰白色菌落,用接种环推动菌落不黏环,整个菌落易从培养基刮下,在生理盐水中可呈细纱状散开,配制 1.0 麦氏单位菌液上机检测,结果见表 1。

表 1 对照菌株和可疑菌株的酯酶活性结果

| 种类 | n | 鉴定结果 | 酯酶活性范围 1.0 麦氏单位(IU/L) | 平均值 (IU/L) |
|--------|---|------------|-----------------------|------------|
| 非致病奈瑟菌 | 5 | 奈瑟菌属某种 | <10 | <10 |
| 可疑菌株 | 9 | 确证为 MC16 株 | 39~102 | 58.8 |
| | | 解乳糖奈瑟菌 3 株 | <10 | <10 |

2.2 16 株确证菌株药敏情况,见表 2。

表 2 16 株 MC 的药物敏感情况 (%)

| 抗菌剂 | R | I | S |
|-----------|------|----|------|
| 氨苄西林 | 87.5 | 0 | 12.5 |
| 阿莫西林/克拉维酸 | 0 | 0 | 100 |
| 头孢噻吩 | 50 | 6 | 44 |
| 头孢克洛 | 13 | 7 | 80 |
| 头孢呋辛 | 6 | 19 | 75 |
| 头孢噻肟 | 0 | 0 | 100 |
| 四环素 | 19 | 0 | 81 |
| 复方新诺明 | 50 | 6 | 44 |
| 利福平 | 0 | 7 | 93 |
| 氯霉素 | 0 | 0 | 100 |
| 氧氟沙星 | 13 | 0 | 87 |

3 讨 论

MC 与许多严重的感染性疾病有关,如急性中耳炎、心内膜炎、脑膜炎、婴儿和儿童眼结膜炎、角膜炎、肺炎和败血症。资料显示,其已成为下呼吸道感染中除肺炎链球菌和流感嗜血杆菌以外的最常见病原菌^[1,5-6]。有实验室对其采用 32 乙酰唑啉纸片筛选,然后再运用全套的生化反应板条鉴定出来^[7],但由于效益问题难以购买纸片,而生化反应板条成本又昂贵,用于筛选鉴定不太现实。在科室具有干化学分析仪的试验条件下尝试利用于 MC 可以产生酯酶的特点,在常规筛检方法的前提下结合酯酶测定结果测定快速筛检 MC,试验预期非常理想。

本试验方法在菌液为 0.05 麦氏单位时即可检测到,可见方法灵敏度高,且线性范围宽,所有对照菌株及 1 株可疑的解乳糖奈瑟菌脂肪酶活性均小于 10 IU/L,而 1.0 麦氏单位单位菌液的脂肪酶检测结果的可疑菌株均远离检测限,均为 MC。说明本方法在结合最基本的微生物检验操作,如氧化酶试验、

革兰染色镜检、菌落形态观察即可鉴别,对鉴定 MC 特异性可高达 100.0%。该方法准确且操作方便、用时极短、成本低廉,在有条件实验室是值得推广的快速筛选鉴定 MC 的方法。

目前在世界范围内对 MC 的抗菌剂敏感性测定尚无统一方法及标准。本文采用生物梅里埃公司的流感嗜血及奈瑟菌属药敏板条对其耐药性进行检测,分离株除对头孢噻吩、氨苄西林及复方新诺明有较高耐药率外,对第二代头孢菌素、氧氟沙星、利福平、四环素敏感率较高,对阿莫西林/克拉维酸、氯霉素、第三代头孢菌素敏感率均为 100.0%。MC 产 β -内酰胺酶菌株迅速增加是 20 年来一个严重的现实问题,最近文献报道,在欧美国家,产 β -内酰胺酶的 MC 分离株已高达 90.0% 以上^[8]。其中氨苄西林耐药率高于罗蓉等^[9]报道的 51.0%。与段长恩和秦卫珍^[10]报道的一致。部分学者认为,MC 的产酶现象是其耐受 β -内酰胺酶类抗菌剂的主要机制,也可能与酶的种类和数量有关,故本地区临床经验用药可首选阿莫西林/克拉维酸等加酶抑制剂的青霉素类药物。总之,MC 作为一种条件致病菌,其耐药性尤其是青霉素类抗菌剂的耐药性日趋严重,应引起重视,并加强对该菌的耐药性监测。

本实验室在运用 MC 可产生酯酶的特性,用于干化学分析仪测定可疑菌的酯酶活性,结合 MC 基本的微生物特点使 MC 的筛选快速、便利且经济,可以快速为临床确定感染菌及有助于临床医生及时制定治疗方案。

参考文献

- [1] 王传清,王艺,王晓红. 2000 至 2006 年复旦大学附属儿科医院呼吸道感染患儿 4 种常见细菌分离率及耐药趋势[J]. 中国循证儿科杂志,2007,2(3):197-204.
- [2] 周颖杰,王明贵. 2005~2007 年儿科分离的流感嗜血杆菌、肺炎链球菌(包括血清型 19A)和卡他莫拉菌对常用抗菌药物的敏感性[J]. 中国感染与化疗杂志,2010,10(1):69.
- [3] 付盼,何磊燕,王爱敏,等. 2006 至 2009 年复旦大学附属儿科医院呼吸道感染患儿 5 种常见细菌构成比和耐药性分析[J]. 中国循证儿科杂志,2010,5(5):371-376
- [4] 郑毅,吴朝娟,叶海梅,等. 微生物脂肪酶活力测定方法之简述[C]. 2006 中国微生物学会第九次全国会员代表大会暨学术年会论文摘要集,2006.
- [5] Fickweiler U, Fickweiler K. The pathogen spectrum of acute bacterial rhinitis/sinusitis and antibiotic resistance[J]. HNO, 2005, 53(8):735-740.
- [6] Arri SJ, Fluegge K, Mueller U, et al. Antibiotic resistance patterns among respiratory pathogens at a German university children's hospital over a period of 10 years[J]. Eur J Pediatr, 2006, 165(1): 1-2.
- [7] 张之烽,沈瀚,宁明哲. 32 乙酰唑啉纸片法在呼吸道标本分离卡他莫拉菌中的应用[J]. 临床输血与检验, 2009, 11(1):64-65.
- [8] Verduin CM, Hol C, Fleer A, et al. Moraxella catarrhalis: from emerging to established pathogen[J]. Clin Microbiol Rev, 2002, 15(1):125-144.
- [9] 罗蓉,黄英,刘岚,等. 2004~2006 年重庆儿童呼吸道感染中粘膜炎莫拉菌分离株耐药性分析[J]. 中国抗生素杂志, 2008, 33(5): 293-296.
- [10] 段长恩,秦卫珍. 卡他莫拉菌 113 株感染分布及耐药结果分析[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(17):2947-2948.