

ESBLs 菌株的相关监测研究,以控制 SHV 型 ESBLs 菌株的传播。

参考文献

[1] Liu HH, Wang YL, Wang G, et al. The prevalence of Escherichia coli strains with extended spectrum beta-lactamases isolated in China[J]. Front Microbiol, 2015, 6(3): 335.

[2] Abolfazl G, Neda S, Dariush S, et al. Phenotypic and Molecular Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamase Produced by Escherichia coli, and Klebsiella pneumoniae Isolates in an Educational Hospital[J]. Jundishapur J Microbiol, 2014, 7(10): e11758.

[3] Canton R, Novais A, Valverde A, et al. Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe[J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14(1): 144-153.

[4] Sibhghatulla S, Jamale F, Shazi S, et al. Risk factors for acquisition of extended spectrum beta lactamase producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in North-Indian hospitals[J]. Saudi J Biol Sci, 2015, 22(1): 37-41.

[5] Mojtaba M, Shahin NP, Taghi ZS, et al. Occurrence of SHV, TEM and CTX-M β -Lactamase Genes Among Enteropathogenic Escherichia coli Strains Isolated From Children With Diarrhea [J]. Jundishapur J Microbiol, 2015, 8(4): e15620.

[6] Ronaghi M, Karamohamed S, Pettersson B, et al. Real-time DNA sequencing using detection of pyrophosphate release[J]. Anal Biochem, 1996, 242(1): 84-89.

[7] 黄源芳, 宋晓红, 尹亚非, 等. 焦磷酸测序检测产 ESBLs 革兰阴性菌的 SHV 基因型[J]. 检验医学, 2012, 27(10): 824-829.

[8] Poirel L, Lebossi E, Castro M, et al. Nosocomial outbreak of extended-spectrum beta-lactamases SHV-5-Producing isolates of Pseudomonas aeruginosa in Achens Greece[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(20): 2277-2279.

[9] 蔡朝民, 程明刚, 刘香萍, 等. 产 ESBLs 肺炎克雷伯杆菌 SHV 型 β -内酰胺酶临床研究[J]. 中国热带医学, 2013, 13(12): 1528-1529.

[10] 李虹玲, 刘文恩, 陈腊梅, 等. 湖南地区 SHV 型超广谱 β -内酰胺酶的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(11): 1328-1331.

[11] Shu JC, Chia JH, Kuo AJ, et al. A 7-year surveillance for ESBL-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae at a univer-

sity hospital in Taiwan; the increase of CTX-M-15 in the ICU[J]. Epidemiol Infect, 2010, 138(2): 253-263.

[12] 陈聪, 叶英, 江洋, 等. 安徽地区 PMQR 基因阳性大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌中 ESBLs 流行特征的研究[J]. 中国抗菌药物杂志, 2013, 38(3): 239-244.

[13] Li JL, Ji XL, Deng XH, et al. Detection of the SHV genotype polymorphism of the extended-spectrum β -actamase-producing Gram-negative bacterium[J]. Biomedical Reports, 2015, 3: 261-265.

[14] Mazzariol A, Roelofsens E, Koncan R, et al. Detection of a New SHV-Type Extended-Spectrum β -Lactamase, SHV-31, in a Klebsiella pneumoniae Strain Causing a Large Nosocomial Outbreak in The Netherlands [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(3): 1082-1084.

[15] Rodríguez J, Alcalá J, Cisneros JM, et al. Escherichia coli producing SHV-type extended-spectrum β -lactamase is a significant cause of community-acquired infection[J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 63(4): 781-784.

[16] Ko KS, Lee JY, Baek JY, et al. Predominance of an ST11 extended-spectrum β -lactamase-producing Klebsiella pneumoniae clone causing bacteraemia and urinary tract infections in Korea [J]. J Med Microbiol, 2010, 59(7): 822-828.

[17] Trent G, James S, Monica H, et al. Detection of SHV-Type Extended-Spectrum Beta-Lactamase in Enterobacter Isolates [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(1): 298-299.

[18] Perilli M, Segatore B, Mugnaioli C, et al. Persistence of TEM-52/TEM-92 and SHV-12 Extended-Spectrum β -Lactamases in Clinical Isolates of Enterobacteriaceae in Italy [J]. Microb Drug Resist, 2011, 17(4): 521-524.

[19] Kacmaz B, Unaldi O, Sultan N, et al. Drug resistance profiles and clonality of sporadic Shigella sonnei isolates in Ankara, Turkey [J]. Brazilian J Microbiol, 2014, 45(3): 845-849.

[20] Rezai MS, Salehifar E, Rafiei A, et al. Characterization of Multi-drug Resistant Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Escherichia coli among Uropathogens of Pediatrics in North of Iran [J]. Bio Med Res Interna, 2015, 30(1): 7-9.

(收稿日期: 2015-10-28)

• 综 述 •

基层医院嗜血杆菌检测方法及其耐药性的研究应用

梁建芬¹综述, 吴开进²审校

(1. 贵港市第二人民医院检验科, 广西贵港 537132; 2. 玉林市红十字会医院检验科, 广西玉林 537000)

关键词: 嗜血杆菌; 分离鉴定; 生物型; 抗菌药物耐药性

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.07.030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)07-0946-03

嗜血杆菌引起人类机会性感染致病越来越受到临床关注, 主要有流感嗜血杆菌(haemophilus influenzae, HI)和副流感嗜血杆菌(hemophilus parainfluenzae, HPI), 国内对嗜血杆菌研究也有 60 年历史。嗜血杆菌初次培养对营养要求高, 在血平板上不生长或易被革兰阳性球菌抑制, 不易培养。在基层医院由于缺乏可培养菌的分离培养条件, 如专用培养基、CO₂ 环境、

人员业务水平所限而不能辨别菌落等因素影响, 实验室往往忽略嗜血杆菌分离而导致其检出率极低, 对其致病性、分布、分型及耐药研究应用较少, 本文就此作简单的综述。

1 嗜血杆菌检测分离培养

1.1 直接涂片染色镜检 革兰染色镜检对具有特殊形态的病原微生物检查是一种快速有效的方法, 在基层实验室里仍然是

作者简介: 梁建芬, 女, 主管检验师, 主要从事微生物检验研究。

十分重要的病原微生物检测手段。对呼吸道原始标本进行革兰染色,如镜检见短小呈丝状体或线状体阴性杆菌可初步怀疑为嗜血杆菌。由于嗜血杆菌本身就存在多形态特点,呈高度的异质性,抗菌药物使用也会引起细菌变异,镜检出典型嗜血杆菌形态的几率逐渐下降,因此,涂片检查嗜血杆菌存在局限性。

1.2 选择培养基分离 传统使用普通巧克力平板分离嗜血杆菌的结果往往不太理想,许多改良的巧克力琼脂培养基有效提高嗜血杆菌的分离率^[1-2]。除了巧克力培养基外,国内已研制出不含巧克力的嗜血杆菌专用培养基(温州市康泰生物科技有限公司生产),更容易分辨嗜血杆菌生长菌落形态。基层医院可根据成本核算情况购买成品,避免自制巧克力培养基质量难控问题,而市售巧克力平板的质量良莠不一,使用前需用标准菌株进行质量评价。选择好培养平板后,将标本同时接种在血平板、嗜血杆菌培养基上,严格三区划线,接种以保证长出单个菌落,置 5%~10%CO₂ 环境中(无 CO₂ 箱也可用稍大的烛缸代替)35℃培养 24~48 h^[3]。

1.3 鉴定 嗜血杆菌在血平板上不生长,巧克力平板上生长为无色或灰白色,圆形、透明、光滑、湿润的菌落,革兰染色为阴性短小杆菌。“卫星现象”可鉴别 HI 和 HPI,在血平板上 HI 和 HPI 的“卫星现象”都能出现,用 X 因子和 V 因子纸片在 M-H 平板上,仅有 HPI 出现“卫星现象”。Barbe 等^[4]用 API-NH 鉴定条能准确鉴定绝大部分临床分离的 HI,API-NH 鉴定试条是成熟的商品化试剂盒,因操作简便而广泛应用于临床实验室。API-NH 不仅能快速鉴定细菌并可对嗜血杆菌进行生物分型,能够满足基层实验室的要求。

2 嗜血杆菌分布

研究嗜血杆菌的分布,主要是了解嗜血杆菌的流行情况,为预防控制和治疗感染提供临床资料。嗜血杆菌的分布因研究对象和方法不同,结论不尽一致。陈东科等^[5]研究发现嗜血杆菌分布与性别无关,而与寄生部位有关。张玉妥等^[6]对健康人群中 HI 带菌情况调查发现,不同年龄群口咽部 HI 带菌率具有明显差异,学龄前儿童、学龄儿童、成人 HI 检出率分别为 39.8%、20.7%、7.0%,年龄越小带菌率越高,高带菌率人群会成为 HI 感染的高危人群。王冬国等^[7]调查儿科住院患者嗜血杆菌分布结果,年龄在 4 月至 2 岁的患儿有 2/3 以上能够检出 HI 或 HPI,并且 HPI 的检出率也逐步升高,带菌率表明儿科住院患者必须切实控制呼吸道感染的传播。吴开进等^[8]报道 318 例重症手足口病儿童细菌分离状况,其中嗜血杆菌的分离率为 20.1%。目前基层医院对嗜血杆菌分布的研究资料不多,因此,有必要积极开展相关研究工作,有利于基层医院对嗜血杆菌感染的预防控制和治疗提供制定策略依据。

3 嗜血杆菌分型

正确的分型是嗜血杆菌致病性和流行调查研究基础,通常有以下几种方法:血清学分型,生物分型法,外膜蛋白分型,基因分型等。血清学分型的特点为快速简便,其局限性在于荚膜多糖抗原抗原性较弱,较难制备高特异性的抗血清,不易推广;外膜蛋白分型,基因分型等分型方法虽然有较好的前景,但受限于常规实验室条件,目前基层医院仍难以普及。生物分型方法简单,并且试剂商品化,是一种比较经典的方法,根据嗜血杆菌对吡啶、脲酶、鸟氨酸脱羧酶 3 个生化反应不同,嗜血杆菌被分为生物型 I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII 8 个型。1982 年 Holmes 等^[9]用 API 20E 可以对 HI 进行生物分型。Landgraf 等^[10]在对 1 015 份脑脊液分离的 HI 进行生物学分型研究中,

I 型占 70.9%,II 型占 27.5%。赖国祥等^[11]报道儿童感染组和健康组咽拭子分离的鼻咽部 HI 学龄前组生物分型均以 VI 型(分别为 37.5%和 61.1%)占优势,学龄组则均以 I 型(分别为 25.0%和 41.2%)占优势,与解静平等^[12]报道的肺炎患儿分离株和健康儿童咽拭子培养株均以 II 型为主(分别占 49%和 45%)不同。有研究资料表明,儿童携带的 HI 有致病的倾向,致病菌株以 HI 血清 b 型为主,生物学分型和血清型与 HI 疾病有一定的关系^[13-15]。基层医院采用简易的生物分型方法是值得推广。

4 嗜血杆菌耐药性

嗜血杆菌耐药性在国外研究得比较早,1972 年欧洲首次发现 HI 对氨苄西林耐药之后,在世界各地相继被报告,并有逐年上升趋势,Kohno 等^[16]对 HI 作一项全球性抗菌药物耐药监测调查,结果显示 HI 耐药率在不同国家差别较大,最低意大利为 1.8%,韩国为 64.7%。国内研究和报道最多的也是 HI 对氨苄西林耐药性,2002 年杨永弘等^[17]监测 HI 对氨苄西林的平均耐药率为 9.6%(4.8%~14.4%),2010 年 Mohnarin 报告 HI 对氨苄西林的耐药率上升至 45.0%^[18]。HI 对氨苄西林耐药率在感染患者年龄也有差异,CHINET 2010 年监测显示儿童分离的 HI 对氨苄西林的耐药率为 35.1%^[19]。HI 对氨苄西林的耐药机制,除了细菌产生 β-内酰胺酶所致外,部份 β-内酰胺酶阴性流感嗜血杆菌株也出现对氨苄西林耐药状况,主要是菌株细胞壁上一种或多种青霉素结合蛋白发生改变,引起青霉素结合蛋白与靶位亲和力降低,其次是外膜蛋白改变导致耐药^[20],这些新耐药机制出现给临床选择抗菌素带来挑战。

HI 对四环素、复方磺胺甲恶唑的耐药率较高,有资料表明 HI 对这两种抗菌素的耐药是 HI 基因突变所致^[20]。CHINET 2010 年监测 HI 对头孢克洛、头孢呋辛、头孢噻肟耐药率分别为 2.3%、20.8%、15.2%^[19]。随着广谱抗菌药物的广泛应用,HPI 耐药率也不断增加。有报道 HPI 对氨苄西林为 42.5%~65.2%^[18,21],HPI 对氨苄西林的耐药性主要与产生 β-内酰胺酶有关,其机制由质粒介导,部分为质粒接合子,并携带完整的 TnA 型转座子及其他耐药基因;国内报道从儿童分离的 HPI 产酶率差异也大,最高报道为 37.8%^[22],产酶株的增加也是导致 HPI 出现多重耐药性的重要因素。

5 结束语

随着微生物检验技术快速的发展,一些半自动或全自动的微生物鉴定仪器和药敏分析系统在基层医院得到应用,使微生物检测变得简易、快捷。因此,除了完成常见的简单的鉴定药敏报告外,基层医院加强苛养菌的培养及其耐药性监测研究是细菌学常规检验一种要求。

参考文献

- [1] 陈东科,胡云建,张秀珍.嗜血杆菌分离培养基的评价与应用[J].中华检验医学杂志,2001,24(1):28-30.
- [2] 谭萍,张松,赖秀花.改良流感嗜血杆菌培养基的研究[J].实用预防医学,2003,10(2):150-151.
- [3] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:836-837.
- [4] Barbe G, Bsbolat M, Bpeufgras JM, et al. Evaluation of API-NH, a new 2-hour system for identification of *Neisseria* and *Haemophilus* species and *Moraxella catarrhalis* in a routine clinical laboratory [J]. Clin Microbiol, 1994, 32(1):187-189.

[5] 陈东科, 胡金树, 许宏涛, 等. 嗜血杆菌在儿童上呼吸道中的分布差异及耐药趋势分析[J]. 中华流行病学杂志, 2007, 28(10): 1044.

[6] 张玉妥, 张艳芳, 季建军, 等. 健康人群中流感嗜血杆菌带菌情况调查[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(8): 723-724.

[7] 王冬国, 李莹, 赵琪, 等. 儿科住院患者流感、副流感嗜血杆菌的检测与药物敏感试验[J]. 中国微生态学杂志, 2006, 18(4): 302-303.

[8] 吴开进, 林世恒, 许斌, 等. 318 例重症手足口病患儿咽拭子病原菌培养结果及药敏分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(1): 228-231.

[9] Holmes, RL, DeFranco LM, Otto M, et al. Novel method of biotyping *Haemophilus influenzae* THAT USES *api 20E*[J]. J Clin Microbiol, 1982, 15(11): 1150-1152.

[10] Landgraf IM, Vieira M. Biotypes and Serotypes of *Haemophilus influenzae* from patients with meningitis in the city of Sao Paulo Brazil [J]. Clin Microbiol, 1993, 31(3): 743-745.

[11] 赖国祥, 叶礼燕, 李玉德, 等. 儿童下呼吸道流感嗜血杆菌感染的临床调查[J]. 中华儿科杂志, 1997, 35(11): 590-592.

[12] 解静平, 薛冰, 王丽红, 等. 儿童流感嗜血杆菌血清型及生物分型研究[J]. 临床儿科杂志, 1997, 15(4): 238-239.

[13] 张鸿文, 叶礼燕, 陈新民, 等. 健康学龄前儿童咽部流感嗜血杆菌血清分型及其与季节关系的研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2002, 17(3): 164-165.

[14] 华春珍, 孙莉颖, 李建平, 等. 杭州某幼儿园作健康儿童流感嗜血杆菌携带状况及其血清分型[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28

(4): 398-400.

[15] 陈辉, 孟晓军, 俞慕华, 等. 深圳市学龄前儿童流感嗜血杆菌带菌情况及分型研究[J]. 中国实用医药杂志, 2009, 27(4): 82-84.

[16] Kohno S, Hoban D. Comparative in vitro activity of telithromycin β -lactamase antimicrobial against bacterial pathogens from community-acquired respiratory tract infection: data from the first year of PROTEKT(1999-2000)[J]. J Chemother, 2003, 15: 335-341.

[17] 杨永弘, 陆权, 邓力, 等. 四地儿童肺炎链球菌、流感嗜血杆菌抗菌药物敏感性检测(2000~2001 年)[J]. 中华儿科杂志, 2002, 40(4): 461-466.

[18] 吕媛, 马序竹, 崔兰卿. 2010 年度卫生部全国细菌耐药监测报告: 流感嗜血杆菌与副流感嗜血杆菌报告[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(24): 5144-5146.

[19] 张泓, 孔菁, 王传清, 等. 2010 中国 CHINET 流感嗜血杆菌和卡他莫拉菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012, 12(3): 180-184.

[20] 钱夏婧, 华春珍, 景伟兴, 等. 流感嗜血杆菌耐药模式监测及耐药机制研究[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34: 262-264.

[21] 李云. 45 株副流感嗜血杆菌感染及耐药性调查[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(1): 29-30.

[22] 田爱丽, 于爱民. 儿童上呼吸道感染副流感嗜血杆菌的鉴定及耐药性分析[J]. 中国医药导报, 2010, 7(1): 71-73.

(收稿日期: 2015-10-11)

• 综 述 •

肺曲霉的临床诊断进展

万秋风, 谷兴丽, 刘光明 综述, 徐思成 审校

(新疆医科大学第一附属医院 RICU, 新疆乌鲁木齐 830000)

关键词: 侵袭性; 肺曲霉; 诊断; 进展

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 07. 031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)07-0948-03

侵袭性肺真菌感染(invasive pulmonary fungal infection, IPFI)尤其是侵袭性肺曲霉(invasive pulmonary aspergillosis, IPA)是由各种曲霉菌属感染肺部组织^[1]而导致的、是临床工作中较为常见的严重的机会性感染,有较高发病率及病死率^[2]。造成病死率高的罪魁祸首即 IPA 的早期诊断十分困难,因其临床表现缺乏特异性,这使得 IPA 临床治疗难以进行。由此,我们不难得出这样的结论:IPA 的早期诊断对该病的临床治疗及预后有着至关重要的意义,而且明确的阴性诊断可让患者免除因治疗价格昂贵而带来的经济负担及有可能导致严重毒副作用的抗真菌药物的过分使用。

曲霉(aspergillosis, A)是一种腐生菌,医院感染中较为常见,它也是正常人体皮肤表面的常驻真菌群。曲霉也是重症患者常见的条件致病菌,其种群数量有 13 种之多。曲霉菌属普遍存在于大自然中,它能够漂浮在空气中,经由呼吸道进入人体内部诱发感染,因此曲霉感染常常发生于肺部。根据临床经验我们知道:重度慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)也是曲霉菌属感染的高危因素之

一^[3]。其他患者中如有下列情况者:(1)白细胞数量明显降低。(2)体温:38℃或 36℃,并伴以下情况之一:此前一个月内有免疫抑制类药物治疗史或皮质类固醇患者^[4];此前 2 个月内出现中性粒细胞数量降低持续一周以上;有 IPFI 病史;有移植抗宿主病;持续用糖皮质激素 3 周以上;长期有基础疾病;大创伤或重大手术后;大面积烧伤^[5];长期住 ICU 或长期卧床者;长时间机械通气;体内留置导管;静脉营养或长期广谱抗菌物应用等^[6]都是肺曲霉的高危人群。曲霉感染在临床上多见于侵袭性曲霉病(IA)和曲霉瘤(*A. tuberculatus*)^[7]。临床工作中以往诊断 IPA 的方法如组织病理学检查,由于多种原因,导致诊断 IPA 受到诸多局限^[8]。临床经验告诉我们:血清学、分子生物学联合影像学检查作为早期诊断 IPA 的重要方法。

1 免疫学检测技术

1.1 血清 GM 检查 半乳甘露聚糖(galactomannan, GM)曲霉细胞壁的主要成分且具有一定的抗原性。GM 是临床工作中第一个用于 IPA 感染快速检测的抗原^[9],在 IPA 感染过程中,曲霉菌属释放抗原性物质进入人体血液循环,并且能够在