

3 讨 论

白血病是造血系统的恶性疾病,俗称血癌,是国内十大高发恶性肿瘤之一,其特点表现为正常血细胞生成减少,周围血细胞发生质和量异常,导致血细胞数量和成分变化,从而引起血常规检查中一系列的指标异常。Beckman-Coulter 血液分析仪采用 VCS 三维检测技术对白细胞分类,可检测细胞体积和某些颗粒。该仪器警示信息对检出异常细胞具有良好的提示功能,但是由于白血病细胞的多态性和复杂性,仪器分类系统及标本本身存在问题等原因,均可使仪器分析结果出现偏差^[2]。本文结果表明,白血病患者初诊的血细胞成分和数量变化多样,102 例中,直方图大多异常且多样,异常率为 94.11% (96/102);警示有异常白细胞的为 94.11% (96/102),6 例无警示的其血涂片中 4 例有异常细胞。各种异常细胞警示的实际符合率不一,原始幼稚符合率为 98%,散点图异常率 99%,表明仪器对原始及幼稚细胞的判断准确性高。其中慢性粒细胞性白血病和慢性淋巴细胞性白血病变化较小,人工镜检符合率 100%,表明仪器对慢性粒细胞性白血病和慢性淋巴细胞性白血病判断准确率高。在急性白血病中,白细胞数升高占 2/3

• 个案与短篇 •

(60/90),超过 10 万的有 25 例,超过 30 万有 8 例,减少占 1/10 (9/90),M₃ 型占 6 例,正常的占 7/30 (21/90)。血红蛋白含量减少为 85 例,血小板含量减少 80 例,而血红蛋白或血小板含量增加的较少见。在慢性白血病患者中,除 2 例正常外,其余白细胞含量均增加,6/12 的血红蛋白含量下降,11/12 的血小板含量增加。目前,白细胞分类的金指标仍是血涂片显微镜检查,对于白细胞数正常、直方图正常、无警示信息的血标本,应警惕白血病的可能性,应仔细观察散点图和血涂片,以尽量减少白血病的漏诊和误诊。

参考文献

- [1] 江虹,曾婷婷,曾素根,等.自动全血细胞分析和白细胞分类复检规则的制定及评价[J].中华检验医学杂志,2007,30(9):996.
- [2] 李继红,杨敬芳.库尔特 STKS 血细胞分析仪白细胞分类异常的原因分析[J].临床检验杂志,2005,23(1):62-63.

(收稿日期:2011-10-10)

肠道沙门菌的分离鉴定及其药敏分析

徐伟红¹,陈士红²

(1.上海市长宁区同仁医院检验科 200050;2.上海市长宁区中心医院检验科 200335)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.01.064

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2012)01-0126-02

沙门菌属是一大群寄生于人类和动物肠道中的生化反应和抗原结构相似的革兰阴性杆菌,是危害人们健康的常见病原菌。通常可引起急性胃肠炎、食物中毒、菌血症、伤寒与副伤寒^[1]。为了解沙门菌对抗菌剂的敏感情况,作者对从临床样本中分离到的沙门菌做药物敏感实验,为治疗由沙门菌引起的疾病提供重要科学依据和参考,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 55 株菌株均来自本院肠道门诊 2009 年 1 月至 2010 年 10 月送检的粪便培养标本。

1.2 培养基与试剂 亚硒酸煌绿增菌液(SBG)、木糖-赖氨酸-脱氧胆酸琼脂培养基 XLD 平板、沙门菌选择产色平板、克氏双糖铁管,均由上海科玛嘉微生物科技有限公司提供。沙门菌诊断血清由兰州生物制品有限公司提供。VITEK32 全自动细菌检测及药敏分析仪,GNS-143 卡片(法国生物梅里埃公司产品)。控制菌株:大肠埃希菌(ATCC29213),铜绿假单胞菌(ATCC27853)。判定标准为美国临床和实验室标准化委员会(CLSI)标准。K-B 琼脂平板、药敏纸片由杭州天和生物制品有限公司提供。

1.3 方 法

1.3.1 标本处理 无菌采集肠道患者粪便标本,SBG 增菌培养后,接种于木糖-赖氨酸-脱氧胆酸琼脂培养基(XLD)平板 37℃ 培养 18~24 h,再将可疑菌落转种至 XLD、克氏双糖管,于 37℃ 培养 18~24 h 后,进行沙门菌选择产色平板证实,同时做沙门菌诊断血清凝集^[2]。

1.3.2 药敏实验 对 55 株沙门菌配制盐水菌液,使用 VITEK32 全自动细菌检测及药敏分析仪,结合 K-B 法药敏实

验。

2 结 果

2.1 沙门菌分布 本组菌株分离出肠炎沙门菌 12 株,占 21.8%;鼠伤寒沙门菌 9 株,占 16.4%;斯坦利沙门菌 6 株,占 11.0%;阿贡纳沙门菌 6 株,占 11.0%;山夫顿堡沙门菌 6 株,占 11.0%;德耳卑沙门菌 6 株,占 11.0%。

2.2 常用抗菌剂药敏实验 55 株沙门菌对 15 种抗菌剂药敏实验显示,该组沙门菌菌株对氨基甙、头孢匹美、头孢他啶、头孢曲松、环丙沙星、庆大霉素、亚胺培南、左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦、复方新诺明等高度敏感,敏感率 100.0%,氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦敏感率 50.0%,妥布霉素敏感率 90.0%,呋喃妥因敏感率 25.0%,头孢唑啉敏感率 0.0%。

3 讨 论

沙门菌属是肠杆菌科中的一个重要菌属,是一群形态、培养特性、生化反应相似的革兰阴性杆菌。本属菌种繁多,抗原结构复杂,现已发现近 2 500 个血清型,中国已发现近 200 个^[3]。因此,其培养与鉴定有较大难度,需充分注意其镜下形态、培养特性和生化反应,方不致于鉴定错误。

沙门菌侵入机体后,发病与否取决于细菌的型别、数量、毒力及机体的免疫状态,且各型沙门菌的致病力差别明显。有学者发现^[4],人体只有摄入大量的沙门菌($10^5 \sim 10^6$ cfu/mL)后才能引起健康人胃肠炎。原因是沙门菌经口腔进入人体后,需克服共生细菌的抑制和小肠黏膜吞噬细胞的作用,才能在肠道大量繁殖,进而引起局部微绒毛变性、黏膜固有层充血、水肿和点状出血等炎性反应,导致分泌物增加,并使肠蠕动增快,严重感染者可发生呕吐、腹泻等胃肠炎症状。如沙门菌直接侵犯肠

内集合淋巴结和孤立淋巴滤泡,经淋巴管可达肠膜淋巴结及其淋巴组织,并大量繁殖,便可发生类伤寒型症状。

本次菌株分离出沙门菌为肠炎沙门菌 12 株,鼠伤寒沙门菌 9 株,斯坦利沙门菌 6 株,阿贡纳沙门菌 6 株,山夫顿堡沙门菌 6 株,德尔卑沙门菌 6 株,合计占总菌株的 80.0% 以上。其中肠炎沙门菌占 21.8%,与相关报道相符^[5]。55 株沙门菌对 15 种常用抗菌剂药敏实验结果表明,沙门菌对氨基曲南、头孢匹美、头孢他啶、头孢曲松、环丙沙星、庆大霉素、亚胺培南、左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦、复方新诺明等高度敏感,均无耐药现象。这与王丽华^[6]报道的沙门菌对庆大霉素敏感率降到 41.15%,复方新诺明敏感率也在下降不相符,原因可能是存在地区差异或沙门菌的耐药性发生变异。庆大霉素及第一、二代头孢类虽对沙门菌有良好的敏感性,但由于其不易渗入细胞内,故临床疗效差^[7],不推荐使用。环丙沙星、左氧氟沙星等喹诺酮类抗菌剂有良好的细胞渗透^[8],抗菌谱广,敏感率高,临床可参考选用。本组实验对妥布霉素有轻度耐药,但敏感性较强。对氨苄西林、呋喃妥因等药物敏感性较差,已出现较强的耐药性,在实际使用中应尽量避免选用,若不得不选用,也需严格注意其疗效。

• 个案与短篇 •

实时荧光定量 PCR 对乙肝 DNA 检测的影响因素

林 森, 易 荣

(湖北省十堰市房县人民医院检验科 442100)

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.01.065

文献标识码: C

文章编号: 1673-4130(2012)01-0127-02

乙型病毒性肝炎(下称乙肝)是最常见的感染性疾病之一^[1-2],是由乙肝病毒(HBV)引起的、以肝脏炎性病变为主并可引起多器官损害的一种传染病,是中国当前流行最为广泛、危害性最严重的一种传染病。乙肝血清检测项目有:乙肝三系(又称乙肝两对半);前 S1、S2 抗原/抗体;HBV-DNA 定量测试等方法。实时荧光定量 PCR 技术是将荧光标志技术与 PCR 技术相结合,其检测 HBV-DNA 特异性高、快速、灵敏,故目前作为 HBV 增殖复制主要检测方法^[3-4]。目前,HBV-DNA 检测还没有统一的标准方法,同一份标本、不同仪器、不同试剂检测的结果相差比较大,甚至达到 1~2 个数量级。除了仪器和试剂因素外,实验室条件、标本因素、核酸提取方法等也是非常重要的因素。

1 实验室条件影响因素

临床基因扩增实验室采用 PCR 技术用于临床基因诊断,PCR 技术最大特点是具有较大扩增能力与极高的灵敏度,但令人头痛的问题是易污染,极其微量的污染即可造成假阳性的产生。《临床基因扩增检验实验室管理暂行办法(卫医发[2002]10 号)》明确规定实验室硬件要求,临床基因扩增检验实验室原则上分为四个单独的工作区域:试剂贮存和准备区;标本制备区;扩增反应混合物配制和扩增区;扩增产物分析区,如使用全自动封闭分析仪器检测,此区域可不设,以及各区配备标准,此外,软件要求包括人员培训和操作规程也做了要求。因此,临床基因扩增检验实验室技术验收和规范化管理是 PCR 技术本身需要,也是在临床上顺利应用该技术的前提。

参考文献

- [1] 洪秀华. 临床微生物学检验[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2004:212.
- [2] 朱超,许学斌. 沙门氏菌属血清型诊断[M]. 上海:同济大学出版社, 2009:390.
- [3] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 2 版. 南京:东南大学出版社, 1997:815-817.
- [4] 乔富渠. 沙门氏菌所致神经系统损害[J]. 右江医学, 1983, 33(1): 67-68.
- [5] 朱超,许学斌. 沙门氏菌属血清型诊断[M]. 上海:同济大学出版社, 2009:133-135.
- [6] 王丽华. 209 株沙门氏菌对 13 种抗生素的敏感性分析[J]. 华夏医学, 2000, 13(2): 101-102.
- [7] 吴财铭,孙延生. 344 株临床常见病原微生物分布及其耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(8): 851-854.
- [8] 吴蓉. 泌尿系感染病原体分布及耐药性监测[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 271-272.

(收稿日期:2011-10-10)

2 标本影响因素

2.1 抗凝血的影响 生理状态下,血清或者血浆中是含有基因组 DNA 片段的。在病理状态下,比如肝炎血清或血浆中 DNA 水平增加;感染病毒后也可出现病毒血症。HBV-DNA 检测一般都用血清或者血浆,因为血清或者血浆可以在感染乙肝病毒后出现乙肝病毒 DNA。EDTA 抗凝(紫管)血浆、枸橼酸钠(黑管)血浆都可以做 HBV-DNA PCR 检测。EDTA、枸橼酸钠虽然可以结合 Mg^{2+} ,但是在 PCR 体系中, Mg^{2+} 水平是充足的,不会受到影响。肝素是血液核酸检测常用的抗凝剂,但又被认为 PCR 反应的抑制剂^[5],肝素能抑制聚合酶的活性,极易造成假阴性结果。大量的实验证明,低水平肝素(<100 U/mL)水平对 HBV-DNA PCR 检测结果影响不大^[6]。中、高水平肝素(>500 U/mL)对 HBV-DNA PCR 检测有抑制作用,当肝素水平达 1 250 U/mL 时,直接煮沸裂解法和 NP240 煮沸裂解法已检测不到高水平 HBV-DNA。

2.2 标本存储的影响 由于标本量的限制以及 HBV-DNA 检测周期较长,大部分实验室不可能做到每天进行 HBV-DNA 检测,更不可能做到标本随到随做,因此,标本存储在 HBV-DNA 检测过程中也非常重要。临床标本中,HBV-DNA 是比较稳定的。室温和冰冻贮存条件下,HBV 标本的 HBV-DNA 水平差异无统计学意义($P>0.05$),即在 DNA 未降解前而干扰物质未大量产生时(如 48 h)的标本不会产生太大差异^[7]。由于细胞内的酶能够降解 DNA,因此,临床标本 HBV-DNA 的储存前提是及时分离血清或血浆。由于 DNA 在室温存在