

CA125 水平异常增高不仅见于女性卵巢癌、子宫内膜癌等肿瘤,还可见于其他肿瘤和非肿瘤疾病,如月经期、妊娠等生理状态^[7-9]。

研究者分析的数据显示,血清 CA125 异常的疾病涉及人体多个系统组织,包括生殖系统疾病、肝脏疾病、肺部疾病、胰腺疾病、淋巴组织疾病、胃部疾病、支气管疾病、其他部位的损伤。CA125 异常的 359 例患者中非肿瘤疾病发生率为 71.87%,以妇科疾病、消化道疾病、肝脏疾病、肺部疾病发生率较高。CA125 异常的 359 例患者中恶性肿瘤疾病发生率为 22.84%,以肝癌、消化道癌、妇科恶性肿瘤、肺癌发生率较高。数据表明,无论非肿瘤组、恶性肿瘤组、还是良性肿瘤组,妇科疾病都占了大多数。妇科疾病在非肿瘤疾病组中占了 23.64%,在恶性肿瘤中占了 19.51%,良性肿瘤组中全部为妇科良性肿瘤疾病,与文献^[10-11]报道相符。

CA125 增高不仅见于卵巢癌,也见于其他多种良恶性肿瘤及非肿瘤疾病。近年来的一些研究显示,CA125 是肝癌高灵敏的肿瘤标志物,但特异度较差。肝癌发生率占了恶性肿瘤的 24.39%,是 CA125 异常的患者中疾病发生率最多的一种疾病。有报道称,CA125 是一项较好的原发性肝癌诊断标志物,但需与其他肿瘤标志物联合检测以提高诊断异常率。有学者指出,CA125 可被单克隆抗体 OC125、13020 和 1459 等识别,肺腺癌细胞免疫鼠得到的是 13020 和 1459,故 CA125 抗原分子有肺腺癌的抗原决定簇,推测 CA125 可作为肺腺癌肿瘤标志物。CA125 在肺癌的诊断上也有较高的应用价值,在腺癌中水平显著高于鳞癌和小细胞癌($P<0.05$)。CA125 在肺恶性肿瘤检测中有较大的辅助诊疗意义,本结果显示,CA125 异常的非肿瘤病发生率中肺部疾病占了 10.08%,恶性肿瘤疾病发生率中肺癌占了 14.63%与报道符合。仲召阳等^[8]研究指出,CA125 在结直肠癌中的表达强度显著高于良性疾病组和正常对照组。本次结果中结直肠癌一共 9 例,在消化道癌中占 45%,在恶性肿瘤中占 10.98%与报道相符。

本研究表明,多种疾病能引起 CA125 异常反应,CA125 特异度较差,与文献^[7]报道相符。血清 CA125 既非卵巢癌的特异性标志物,也不是恶性肿瘤的特异标志物,只不过在卵巢癌

的异常率较高一些,临床应用利用 CA125 确诊疾病时需结合临床症状和其他检查作出合理的诊断^[1]。

参考文献

[1] 易琳,刘兴明,林丁,等.血清 CA153、CA125、CEA 联合检测在乳腺癌诊断中的价值[J].重庆医科大学学报,2012,37(9):802-805.

[2] Gubbels JA, Claussen N, Kapur AK, et al. The detection, treatment and biology of epithelial ovarian cancer[J]. J Ovarian Res, 2010, 3(1):8.

[3] 王艾丽,栾正云,李梅,等.男性患者血清 CA125 水平增高的临床意义[J].临床检验杂志,2008,26(3):212-213.

[4] Ueda Y, Enomoto T, Kimura T, et al. Serum biomarkers for early detection of gynecologic cancers[J]. Cancers(Basel), 2010, 2(2): 1312-1327.

[5] Donach M, Yu Y, Artioli G, et al. Combined use of biomarkers for detection of ovarian cancer in high-risk women [J]. Tumour Biol, 2010, 31(3):209-215.

[6] Yurkovetsky Z, Skates S, Lomakin A, et al. Sevelopment of a multimer assay for early detection of ovarian cancer[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(13):2159-2166.

[7] 王影,张晓霞,费军伟,等.血清 CA125 在妇科疾病诊断中的临床意义[J].中国妇幼保健,2009,24(9):1188-1190.

[8] 仲召阳,王东,李增鹏,等.多肿瘤标志物蛋白质芯片检测系统对结直肠癌诊断的临床意义[J].重庆医学,2007,36(23):2406-2408.

[9] Moore RG, MacLaughlan S, Bast RC Jr. Current state of biomarker development for clinical application in epithelial ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 2010, 116(2):240-245.

[10] Anand R, Markman M. Elevated Serum CA-125 in a Patient with Follicular Lymphoma and a History of Ovarian Cancer[J]. Case Rep Oncol, 2011, 4(1):172-174.

[11] 张春智,张西雁,李霞,等. CA125 与腺苷脱氨酶在结核性胸膜炎患者中的临床意义[J].重庆医学,2010,39(12):1550-1551.

(收稿日期:2013-11-08)

阴沟肠杆菌 β-内酰胺酶的检测与分型

许海俐¹,夏永祥²,史 亚³,程东庆^{3△}

(1. 江苏省第二中医院检验科,江苏南京 210017;2. 南京市第一医院检验科,江苏南京 210006;
3. 浙江中医药大学生命科学院,浙江杭州 310053)

摘要:**目的** 了解该地区临床细菌感染分离的标本中阴沟肠杆菌对抗菌药物的耐药性以及细菌产 β-内酰胺酶的类型。**方法** 在该地区医院通过细菌培养分离阴沟肠杆菌 88 例,用纸片扩散法进行药敏测定;通过改良三维实验检测临床耐药菌高产 β-内酰胺酶及其分型。**结果** 在研究菌株中,有 17 例菌株单产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs),占 19.32%。有 20 例菌株单产 AmpC 酶,占 22.73%。有 5 例菌株同时产 AmpC 酶和 ESBLs,占 5.68%。有 47 例菌株 AmpC 酶和 ESBLs 均不产生,占 52.27%。**结论** 该地区临床分离的阴沟肠杆菌存在普遍耐药,将近一半的耐药菌产 AmpC 酶或/和 ESBLs,尚有 52.27%的菌产生其他 β-内酰胺酶。

关键词:阴沟肠杆菌; 抗药性,微生物; β-内酰胺酶类

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.059 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2014)05-0630-03

阴沟肠杆菌广泛存在于自然界中,在人和动物的粪便、水、泥土、植物中均可检出,是肠道正常菌种之一,但可作为条件致

△ 通讯作者,E-mail:723335299@qq.com。

病菌。随着头孢菌素的广泛使用,阴沟肠杆菌已成为医院感染越来越重要的病原菌,其引起的细菌感染性疾病,常累及多个器官系统,包括皮肤软组织感染、泌尿道感染、呼吸道感染以及败血症等。由于阴沟肠杆菌能产生 ESBLs 和 Amp C 酶,耐药情况严重,给临床治疗带来了新的挑战^[1-3]。由于不同地区、不同医院抗菌药物的使用及其耐药趋势存在差异,本研究以临床感染标本分离的阴沟肠杆菌为对象,调查本地区 β-内酰胺酶的类型及流行情况,以期能为临床治疗及控制耐药株的产生和传播提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 收集江苏省第二中医院和南京医科大学附属医院南京市第一医院 2011 年 6 月至 2012 年 12 月间,医院临床送检标本中培养鉴定的阴沟肠杆菌,细菌的鉴定采用全自动微生物分析仪 Vitek-60。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC 25922、肺炎克雷伯菌 ATCC 700603(仅作为产 ESBLs 阳性的质控菌株),阴沟肠杆菌 029M(仅作为高产 AmpC 酶的阳性菌株)。

1.2 仪器与试剂 全自动细菌鉴定及药敏分析仪 Vitek-60,细菌鉴定及药敏分析仪 ATB, YXQ-LS-75S II 型立式压力蒸汽灭菌锅, SPX-280 型智能生化培养箱, ZHWY-2102 型恒温培养震荡器, DYY-6B 型稳压稳流电泳仪, TLG-16B 高速台式离心机。

1.3 方法

1.3.1 耐药图谱分析^[4] 将待检菌接种于普通营养琼脂平板, 37℃培养 16~18 h 后, 悬浮于 3 mL 生理盐水中, 混合后与菌液比浊管比浊, 调整浊度与比浊管(0.5 麦氏单位)相同。用无菌棉签蘸取菌液, 在管壁上挤去多余菌液, 用棉签涂布于整个 M-H 培养基表面。待平板上的水分被琼脂完全吸收后再贴纸片。

培养和结果判断为平皿倒置, 孵育 18~24 h 后取出, 用游标卡尺测量抑菌圈直径, 从平板背面测量最接近的整数毫米数并记录, 根据抑菌环直径判断标准(mm)判断耐药、敏感、中介, 计算耐药率公式为耐药率=耐药菌株数/总菌株数×100%。

1.3.2 β-内酰胺酶提取物制备^[5] 将 1 个菌落种入 5 mL 胰蛋白大豆汤中, 35℃摇床过夜, 4℃4 000 r/min 离心 20 min, 弃上清液, 沉淀物放-80℃冻融, 反复 5 次。加入 1.5 mL 0.01 mol 磷酸缓冲液(pH 7.0)混匀, 4℃12 000 r/min 离心 20 min, 取部分上清液, 经 MH 琼脂平板常规细菌培养阴性后, 于-20℃保存备用。

1.3.3 β-内酰胺酶的分型检测^[5] 取 1.5×10⁵ cfu/mL 大肠埃希菌 ATCC 25922 菌液均匀涂布于直径 15 cm 的 MH 琼脂平皿, 待菌液吸收后, 在相应位置分别贴上亚胺培南、头孢噻肟、头孢他啶和头孢唑啉 4 种抗菌药物纸片; 采用专用槽刀在图示位置挖槽, 分别于槽内加入相应的待测样本, 待槽内液体完全吸收后置平皿于 35℃温箱过夜培养 18~24 h, 根据抑菌圈情况判定酶水解底物谱及对酶抑制剂敏感的差异是否产 β-内酰胺酶及其类型。以大肠埃希菌 ATCC 25922 为阴性质控菌, 肺炎克雷伯菌 ATCC 700603 作为产 ESBLs 阳性的质控菌株, 阴沟肠杆菌 029M 为高产 AmpC 酶的阳性菌株。

2 结果

2.1 阴沟肠杆菌的耐药图谱分析结果 阴沟肠杆菌对 8 种的抗菌药物的耐药率超过了 50%, 为复方磺胺甲噁唑、呋喃妥因、哌拉西林、左氧沙星、环丙沙星、头孢呋肟、头孢他啶、头孢哌酮。4 种超过 70%, 为呋喃妥因、环丙沙星、头孢呋肟、头孢哌酮。显示其具有高耐药与多重耐药的特点。见表 1。

表 1 阴沟肠杆菌对 13 种抗菌药物的药敏结果[n(%)]		
药品名	敏感	耐药
阿米卡星	45(51.3)	43(48.7)
复方磺胺甲噁唑	32(36.4)	56(63.6)
呋喃妥因	8(9.1)	80(90.9)
哌拉西林	33(37.5)	55(62.5)
美罗培南	72(81.8)	16(18.2)
左氧沙星	36(40.9)	52(59.1)
环丙沙星	18(20.4)	70(79.6)
磷霉素	63(71.6)	25(28.4)
头孢吡肟	62(70.5)	26(29.5)
头孢呋肟	26(29.5)	62(70.5)
头孢他啶	34(38.6)	54(61.4)
头孢哌酮	25(28.4)	63(71.6)
氨曲南	50(56.8)	38(43.2)

2.2 β-内酰胺酶分型结果 本研究通过改良三维试验, 采用大平皿法对临床阴沟肠杆菌中的所产 β-内酰胺酶进行了检测和分型, 分类出 AmpC 酶、ESBLs 及组合酶型; 产酶株绝大多数为多耐药株。其中, 22.73% 的菌株单产 AmpC 酶, 19.32% 的菌株单产 ESBLs, 5.68% 的菌株同时产 AmpC 酶和 ESBLs, 52.27% 的菌株为未知类型。

3 讨论

阴沟肠杆菌既可产生 ESBLs, 又可产生 Amp C 酶, 导致其对多种抗菌药物高度耐药, 给临床治疗带来困难^[6]。对 88 株阴沟肠杆菌的药敏检测显示为对复方磺胺甲噁唑、呋喃妥因、哌拉西林、左氧沙星、环丙沙星、头孢呋肟、头孢他啶、头孢哌酮这 8 种抗菌药物的敏感率均在 50% 以下, 对呋喃妥因、环丙沙星、头孢呋肟、头孢哌酮 4 种抗菌药物的敏感率均在 30% 以下。因此, 在治疗阴沟肠杆菌感染时, 应根据药敏试验和耐药机制检测报告选药, 避免滥用抗菌药物^[7]。如果阴沟肠杆菌产生 ESBLs, 则首选碳青霉烯类抗菌药物如亚胺培南, 复合制剂如头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/三唑巴坦钠等和头霉素类抗菌药物也可选用, 但需加大剂量, 喹诺酮类抗菌药物应根据各地的药敏情况来选用^[8]; 如果阴沟肠杆菌产生 Amp C 酶, 可选用碳青霉烯类抗菌药物如亚胺培南和第四代头孢菌素如头孢吡肟、头孢匹罗^[9]; 如果阴沟肠杆菌同时产上述两种酶, 则应选用碳青霉烯类抗菌药物进行治疗。第三代头孢菌素不推荐使用于阴沟肠杆菌感染, 因为它极易筛选出高产 Amp C 酶的去阻遏突变菌落, 导致耐药菌流行^[10]。

目前检测革兰阴性菌的 β-内酰胺酶的方法分为 3 大类: 体外敏感性试验方法、分子生物学方法和酶粗提液水解底物方法^[11]。酶粗提液水解底物方法(即三维试验)直接运用酶提取液, 排除了其他耐药机制的干扰, 是目前公认的检测 Ampc 酶的经典方法^[12]。本研究通过改良三维试验, 采用大平皿法对阴沟肠杆菌中的所产 β-内酰胺酶进行了检测和分型, 分类出 AmpC 酶、ESBLs 组合酶型; 产酶株绝大多数为多耐药株。此方法要求不高, 所以适合进一步推广用于临床监测。但在研究中发现, 尚有 52.27% 的菌株所产的耐药酶为未知类型, 因此, 尚有待于建立其他更加有效、适合临床实际的耐药酶分型方法。

参考文献

[1] 吕春兰,李沛,郝爱军. 阴沟肠杆菌感染的临床分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(7):1494-1496.

[2] 李智伟,向阳,赵辉,等. 1 175 株阴沟肠杆菌耐药性变迁特点[J]. 新疆医科大学学报,2012,(10):1379-1382.

[3] 周青雪,程东庆. 阴沟肠杆菌产 β -内酰胺酶的研究进展[J]. 中国抗菌药物杂志,2011,36(12):881-884.

[4] 凌步致. 阴沟肠杆菌的药物敏感性分析[J]. 现代医药卫生,2011,27(6):816-818.

[5] 杜蓉,冯萍,陈慧莉,等. 三维试验的改良及对鲍曼不动杆菌的产酶现状和耐药性分析[J]. 中国抗菌药物杂志,2009,34(5):309-312.

[6] Jacoby GA. AmpC beta-lactamases[J]. Clin Microbiol Rev,2009,22(1):161-182.

[7] Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria;Enterobacteriaceae[J]. Am J Med,2006,119(6 Suppl 1):S20-28.

[8] Mezzatesta ML,Gona F,Stefani S. Enterobacter cloacae complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance[J]. Future Microbiol,2012,7(7):887-902.

[9] Stock I,Grüger T,Wiedemann B. Natural antibiotic susceptibility of strains of the Enterobacter cloacae complex[J]. Int J Antimicrob Agents,2001,18(6):537-545.

[10] Zhou Z,Li L,Yu Y,et al. The status of drug resistance and ampC gene expression in Enterobacter cloacae[J]. Chin Med J(Engl),2003,116(8):1244-1247.

[11] Su PA,Wu LT,Cheng KC,et al. Screening extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacter cloacae and Serratia marcescens using antibiogram-based methods[J]. J Microbiol Immunol Infect,2010,43(1):26-34.

[12] Thomson KS. Detection of gram-negative β -lactamase producing pathogens in the clinical lab[J]. Curr Pharm Des,2013,19(2):250-256.

(收稿日期:2013-12-18)

• 经验交流 •

隐球菌性脑膜炎的脑脊液检查结果分析

许绍强,陈玲玲,姜楠,肖海华,周小坚
(广东三九脑科医院检验医学中心,广东广州 510510)

摘要:**目的** 分析隐球菌性脑膜炎脑脊液检查结果特点,提高对疾病的实验诊断水平。**方法** 回顾分析广东三九脑科医院 2008 年 8 月至 2013 年 3 月期间明确诊断为隐球菌性脑膜炎的 46 例患者的脑脊液检查结果,包括脑脊液常规+细胞学、脑脊液生化、隐球菌二项(墨汁染色+荚膜多糖抗原乳胶凝集试验)及隐球菌培养等。**结果** 首次脑脊液常规:80%以上呈无色透明,96%的病例蛋白定性不超过(2+),白细胞计数 72%呈轻中度增高,白细胞分类单个核比例 20%~96%不等,中位数为 68%。墨汁染色:37 例(占 80%)第 1 次送检即找到隐球菌。13 例做了隐球菌荚膜多糖抗原乳胶凝集试验,其中 12 例第 1 次送检即阳性,1 例第 3 次才出现阳性(同时第 3 次镜下才发现隐球菌)。24 例做了细胞学检查,18 例呈混合细胞反应型,6 例呈淋巴-单核细胞反应型,21 例镜下发现隐球菌。脑脊液生化:总蛋白(TP)均值(1.29±0.79) g/L;葡萄糖(GLU)均值(1.81±1.12) mmol/L;氯化物(Cl⁻)均值(116±7) mmol/L;乳酸(LAC)均值(44±18)mg/dL;腺苷脱氨酶(ADA)均值(3.9±1.9)U/L。16 例做了隐球菌培养,7 例阳性。**结论** 隐球菌性脑膜炎患者脑脊液检查有一定的特征性,常规、生化、细胞学、墨汁染色、隐球菌荚膜多糖抗原及隐球菌培养等多项同时检测可提高隐球菌的阳性检出率。

关键词:隐球菌性脑膜炎; 脑脊液; 实验室技术和方法
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.05.060 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2014)05-0632-03

隐球菌性脑膜炎是由新型隐球菌感染脑膜和(或)脑实质所致。我国发病率低,由于其症状的不典型性,临床上容易误诊有报告可误诊为结核脑、病毒脑、神经症、脊髓肿瘤等,误诊率可高^[1],病死率高达 10%~40%^[2]。早期诊断,采取规范的抗真菌治疗是治疗本病的关键。本研究对 46 例隐球菌性脑膜炎患者的脑脊液检测结果进行分析,旨在提高对本病实验室诊断的认识和临床诊断水平。

1 资料与方法

1.1 一般资料 广东三九脑科医院 2008 年 8 月至 2013 年 3 月明确诊断为隐球菌性脑膜炎的 46 例患者,男性 28 例(占 61%),女性 18 例(占 39%),年龄 8~69 岁,平均年龄(40±15)岁,中位年龄 42 岁。纳入的诊断标准:亚急性或慢性起病,患者头痛,伴有低热、恶心、呕吐和脑膜刺激征表现;腰椎穿刺检查提示颅内压高、细胞数高、蛋白高、糖低;病原学检查脑脊液涂片发现隐球菌或培养见隐球菌生长。脑脊液监测指标:包括脑脊液常规、脑脊液细胞学、脑脊液生化、隐球菌二项(墨汁染

色+荚膜多糖抗原乳胶凝集试验)等。

1.2 仪器与试剂 总蛋白、葡萄糖、乳酸、ADA 生化检测试剂盒(北京柏定生物工程有限公司),隐球菌荚膜多糖抗原乳胶凝集检测试剂(美国 IMMY 公司),印度墨汁及瑞-姬氏复合染色液(珠海贝索生物技术有限公司),沙氏真菌肉汤(广州市迪景微生物科技有限公司),一次性尿沉渣细胞计数板,奥林巴斯显微镜,奥林巴斯 AU640 全自动生化分析仪,FMU-6 细胞玻片离心机等。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 脑脊液标本均经腰穿获得,用一次性无菌带盖试管送检,每管约 1~2 mL。第 1 管用作隐球菌培养,第 2 管用作隐球菌二项检测,第 3 管用作生化检测,第 4 管用作常规及细胞学检测,半小时内送检。

1.3.2 检测方法 脑脊液常规按全国检验操作规程要求进行检测;隐球菌荚膜抗原试验严格按照说明书要求进行操作;脑脊液生化在奥林巴斯 AU640 全自动生化分析仪上进行检测;