

综上所述,笔者认为 LAP 升高可作为判断肝癌合并肝细胞损伤的指标之一;对胰腺癌和胆管癌患者,LAP 升高可提示伴有胆道梗阻;LAP 不宜作为肝癌、胆管癌、胰腺癌的诊断标志物。

参考文献

[1] Yoon HY, Shim SH, Baek LJ, et al. Small-molecule probe using dual signals to monitor leucine aminopeptidase activity[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2011, 21(8): 2403-2405.

[2] Shen Y, Wang F, Lan D, et al. Biochemical properties and potential applications of recombinant leucine aminopeptidase from bacillus kaustophilus CCRC 11223[J]. Int J Mol Sci, 2011, 12(11): 7609-7625.

• 经验交流 •

[3] 胡芳,司平,袁剑锋.亮氨酸氨基肽酶的临床应用进展[J].国际检验医学杂志,2012,33(19):2362-2363.

[4] 王忠. LAP 和  $\beta$ 2-MG 在乙型肝炎肝硬化和酒精性肝硬化鉴别诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(7): 744-745.

[5] 陈红. 亮氨酸氨基肽酶在肝病中的变化探讨[J]. 医学信息: 中旬刊, 2010, 5(12): 3453-3454.

[6] 宋佩君,翁彭剑,高国生. 血清亮氨酸氨基肽酶检测在肝病中的临床价值[J]. 现代实用医学, 2010, 22(11): 1300-1301.

[7] 纪晓霞,陈林. 亮氨酸氨基肽酶的基础研究及临床应用[J]. 海峡药学, 2011, 23(12): 175-177.

(收稿日期:2013-11-14)

同种细菌不同菌株微生物敏感性试验结果差异的研究

张 宁<sup>1</sup>,徐佳宁<sup>2</sup>

(辽宁中医药大学附属医院检验科,辽宁沈阳 110032)

**摘要:**目的 调查临床送检的细菌培养标本中是否存在同种细菌不同菌株微生物敏感性试验结果不一致的现象,为临床抗菌药的使用提供可靠依据。**方法** 随机选择临床送检的经初步鉴别需要进行微生物敏感性试验的细菌培养样本 40 例,从每例标本的培养基上选取形态相同的 2 个菌落分别进行分纯培养,再将分纯培养后的细菌分别经 BD PHOENIX 全自动微生物鉴定药敏分析系统进行细菌鉴定,同时将每种细菌选用 9 个临床常用的抗菌药采用纸片扩散法(K-B)进行微生物敏感性试验。**结果** 40 例标本中分离出的细菌包括金黄色葡萄球菌(7 组)、粪肠球菌(2 组)、大肠埃希菌(10 组)、阴沟肠杆菌(2 组)、肺炎克雷伯菌(6 组)、铜绿假单胞菌(9 组)、鲍氏不动杆菌(4 组)。存在微生物敏感性试验结果不一致的有 12 组样本,分别是:金黄色葡萄球菌 2 组(28.6%),铜绿假单胞菌 4 组(44.4%),大肠埃希菌 3 组(30.0%)及肺炎克雷伯菌 3 组(50.0%),组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。革兰阳性球菌、革兰阴性杆菌的不一致发生率分别为 22.2%(2/7)、32.3%(10/21),二者差异也无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 尽可能分离目的菌单个菌株进行微生物敏感性试验十分必要。

**关键词:**微生物敏感性试验; 抗药性;细菌; 变异

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.09.065 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2014)09-1218-03

随着各种广谱抗菌药的广泛应用,细菌的耐药性也逐渐趋于复杂化,而细菌的隐匿耐药性常会导致临床抗菌药治疗的失败<sup>[1]</sup>。因此,及时、准确而又全面的细菌耐药性分析对于临床抗菌药物的选择和治疗方案的调整是至关重要的。本研究随机选取 40 例细菌培养标本,对同例标本、同种细菌、不同分离株进行微生物敏感性试验,探讨试验结果不一致的发生情况。

1 材料与方法

**1.1 标本及菌株来源** 40 例标本(共 80 株试验菌株)来自本院 2013 年 3~6 月门诊及住院患者的痰液、脓液、分泌物、尿液及血液标本;质控菌株为:大肠埃希菌(ATCC25922)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、铜绿假单胞菌(ATCC27853)。

**1.2 培养基及药敏纸片** 培养基:哥伦比亚血琼脂培养基、麦康凯培养基、MH 琼脂培养基均购自贝瑞特生物技术有限公司。药敏纸片:左氧氟沙星(levofloxacin,LEV),5  $\mu$ g/片,环丙沙星(ciprofloxacin,CIP) 5  $\mu$ g/片,苯唑西林(Oxacillin,OX) 1  $\mu$ g/片,青霉素(penicillin,P) 10 U/片,氨苄西林(ampicillin,AMP) 10  $\mu$ g/片,哌拉西林(piperacillin,PRL) 100  $\mu$ g/片,氨苄西林/舒巴坦(ampicillin-sulbactam,SAM) (10/10)  $\mu$ g/片,头孢唑林(cefazolin,KZ) 30  $\mu$ g/片,头孢西丁(cefoxitin,FOX) 30  $\mu$ g/片,头孢噻肟(cefotaxime,CTX) 30  $\mu$ g/片,阿莫西林/克拉维酸(amoxicillin/clavulanic acid,AMC) (20/10)  $\mu$ g/片,头孢他啶(ceftazidime,CAZ) 30  $\mu$ g/片,头孢吡肟(cefepime,

FEP) 30  $\mu$ g/片,氨曲南(aztreonam,ATM) 30  $\mu$ g/片,美洛培南(meropenem,MEM) 10  $\mu$ g/片,亚胺培南(imipenem,IPM) 10  $\mu$ g/片,庆大霉素(gentamicin,CN10) 10  $\mu$ g/片,高浓度庆大霉素(gentamicin,CN120) 120  $\mu$ g/片),妥布霉素(tobramycin,TOB) 10  $\mu$ g/片,阿米卡星(amikacin,AK) 30  $\mu$ g/片,红霉素(erythromycin,E) 15  $\mu$ g/片,米诺环素(minocycline,MH) 30  $\mu$ g/片,替考拉宁(teicoplanin,TEC) 30  $\mu$ g/片,万古霉素(vancomycin,VA) 30  $\mu$ g/片,利福平(rifampicin,RD) 10  $\mu$ g/片,利奈唑胺(linezolid,LZD) 30  $\mu$ g/片,复方磺胺甲恶唑(sulfamethoxazole,SXT) (1.25/23.75)  $\mu$ g/片,克林霉素(clindamycin,DA) 2  $\mu$ g/片,多黏菌素 B(polymyxin B,PB) 300 U/片,以上药敏纸片均为英国 OXOID 公司产品。

**1.3 纳入试验的菌株选择及处理** 随机从经培养后初步判定为需要进行微生物敏感性试验的临床标本中选择样本,从每例标本中的若干个目的菌菌落中随机分离出 2 株菌,分别进行分纯、鉴定及微生物敏感性试验,将同例标本中分离出的、鉴定结果一致的 2 株菌作为 1 组纳入研究对象,对每组内的细菌选用相同的 9 个抗菌药物进行微生物敏感性试验,然后对结果进行比较,如组内的 2 株菌对同一种药物出现“敏感”、“中介”或“耐药”的不一致,只要有 1 种药物出现,则将改组判定为“微生物敏感性试验结果不一致”,否则判为“微生物敏感性试验结果一致”。

**1.4 鉴定及微生物敏感性试验** 细菌鉴定使用 BD PHOENIX 全自动微生物鉴定药敏分析系统(美国 BD 公司)。微生物敏感性试验使用纸片扩散法(Kirby-Bauer, K-B), 抑菌环直径用游标卡尺测量, 细菌对药物的敏感、中介及耐药的判定标准参照美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)2012 版规定。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析, 计数资料用率表示, 率的比较采用  $\chi^2$  检验, 以  $\alpha=0.05$  为检验水准, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

40 例标本中分离出的细菌包括金黄色葡萄球菌(7 组)、粪肠球菌(2 组)、大肠埃希菌(10 组)、阴沟肠杆菌(2 组)、肺炎克雷伯菌(6 组)、铜绿假单胞菌(9 组)、鲍氏不动杆菌(4 组)。存在微生物敏感性试验结果不一致的有 12 组样本, 分别是: 金黄色葡萄球菌 2 组(28.6%), 铜绿假单胞菌 4 组(44.4%), 大肠埃希菌 3 组(30.0%)及肺炎克雷伯菌 3 组(50.0%), 组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。革兰阳性球菌、革兰阴性杆菌的不一致发生率分别为 22.2%(2/7)、32.3%(10/21), 二者差异也无统计学意义( $P>0.05$ )。

检出 7 组金黄色葡萄球菌, 选择的药物包括 LZD、E、DA、LEV、OX、VA、RD、KZ、SXT。有 2 组出现了微生物敏感性试验结果不一致的情况, 其中一组有 2 种药物(E 和 DA)出现了“敏感”与“耐药”的不一致, 另一组有 1 种药物(LEV)出现了“敏感”与“中介”的不一致, 其他 5 组试验结果一致。

检出 9 组铜绿假单胞菌, 选择的药物包括 ATM、PRL、MEM、CTX、CIP、CN10、TOB、AK、PB。有 4 组出现了微生物敏感性试验结果不一致的情况, 其中一组有 2 种药物(ATM 和 PRL)出现了“敏感”与“耐药”的不一致, 该组同时还有 2 种药物(CTX 和 MEM)出现了“敏感”与“中介”的不一致; 有 1 组有 2 种药物(ATM 和 MEM)出现了“敏感”与“耐药”不一致; 有 1 组有 1 种药物(PRL)出现了“敏感”与“中介”不一致; 有 1 组有 1 种药物(ATM)出现了“敏感”与“中介”不一致, 其他 5 组试验结果一致。

检出 6 组肺炎克雷伯菌, 选择的药物包括 FOX、AMC、CN10、CIP、PRL、CTX、CAZ、FEP、IPM。有 3 组出现了微生物敏感性试验结果不一致的情况, 其中 1 组有 2 种药物(FOX 和 CN10)出现了“敏感”与“耐药”的不一致; 有 1 组有 1 种药物(AMC)出现了“敏感”与“耐药”的不一致; 有 1 组有 1 种药物(FOX)出现了“敏感”与“中介”不一致, 其他 3 组试验结果一致。

检出 10 组大肠埃希菌, 选择的药物包括 AK、AMC、CN10、LEV、AMP、CTX、CAZ、FEP、MEM。有 3 组出现了微生物敏感性试验结果不一致的情况, 其中 2 组有 1 种药物(AMC)出现了“敏感”与“中介”不一致; 有 1 组有 1 种药物(FEP)出现了“敏感”与“中介”不一致, 其他 7 组试验结果一致。

检出 2 组阴沟肠杆菌, 微生物敏感性试验的药物同大肠埃希菌, 各组试验结果一致。

检出 2 组粪肠球菌, 微生物敏感性试验的药物包括 LEV、P、AMP、CN120、TEC、RD、LZD、SXT、VA。各组试验结果一致。

检出 4 组鲍氏不动杆菌, 微生物敏感性试验的药物包括 LEV、FEP、MEM、CTX、MH、CN10、SXT、AK、SAM, 各组试

验结果一致。

## 3 讨 论

Jones<sup>[2]</sup>的报道很早就指出, 细菌耐药性变异是抗菌药治疗失败的重要原因之一。近年来有研究显示, 铜绿假单胞菌不同形态的菌落存在微生物敏感性试验结果不一致的情况, 及早发现它们的耐药性变异具有重大意义<sup>[3]</sup>。但实际上, 很多临床微生物检验工作者在进行微生物敏感性试验时, 很容易忽略同一标本中待检目的菌针对某种药物的敏感株与耐药株同时存在的情况<sup>[4]</sup>, 使本该及早检出的耐药株没有被及时检出。

本研究随机选取 40 例标本, 经鉴定共有 7 个种属的细菌, 它们均为临床常见分离菌属。金黄色葡萄球菌组、铜绿假单胞菌组、肺炎克雷伯菌组和大肠埃希菌组均存在不同程度的微生物敏感性试验结果不一致情况, 发生该情况的标本共计 12 例, 且以  $\beta$ -内酰胺类药物出现该情况的居多, 原因可能为: (1)成组的 2 个被检测菌落可能来自不同克隆, 患者可能有院内感染; (2)成组的 2 个被检菌落可能来自相同克隆, 但由于某些原因(如抗菌药选择压力、生存环境的变化等), 使得耐药表型不同; (3)抑菌环直径测量操作的人为误差; (4)可能与  $\beta$ -内酰胺类药物的广泛使用导致细菌出现了复杂的耐药机制有关<sup>[5-6]</sup>等。阴沟肠杆菌组、粪肠球菌组及鲍氏不动杆菌组则未出现微生物敏感性试验结果不一致情况, 与文献<sup>[7]</sup>的报道不完全相符, 可能与本研究观察的标本例数、检测的药物种类较少, 以及本院与其他医院或地区在临床选择用药方面的差异等因素有关。

从本研究的结果可以看出, 在对某些临床标本进行分纯目的菌时, 仅分纯 1 个目的菌落进行微生物敏感性试验会在一定程度上造成其他不同试验结果的目的菌株的漏检, 因此, 有必要将更多的目的菌单个菌落分离出来并进行较全面的微生物敏感性试验。另外, 如果标本中混有其他非目的菌, 而目的菌能被挑取分离的单个菌落数目很有限时, 也应该把这些有限的菌落尽可能都进行分纯培养及微生物敏感性试验, 才能最大限度地减少漏检耐药株的情况发生。然而, 更多的分纯和微生物敏感性试验势必会增加试验的成本, 若想在不断增加成本的基础上又减少耐药菌株的漏检率, 与临床医师进行积极有效的沟通是不可或缺的, 如临床医师根据试验结果选用“敏感”的抗菌药物进行治疗, 而患者在一定时期内又不见好转时, 则应考虑到隐匿性耐药菌株存在的可能性, 此时可全面检测患者标本目的单个菌落的药物敏感情况。

总之, 在实际工作中, 尽可能多地分纯目的菌的单个菌落并进行微生物敏感性试验对及时发现耐药株很有帮助。本研究由于条件所限, 还有很多不够完善之处, 如研究的标本数量和菌株数量较少; 未对细菌的耐药基因进行研究等, 因此尚需更深度地进行试验观察和研究。

## 参考文献

- [1] 蔡畅, 胡苏萍. 呼吸机相关性肺炎抗生素治疗失败问题的分析[J]. 中国医师杂志, 2003, 5(1): 138-140.
- [2] Jones RN. The current and future impact of antimicrobial resistance among nosocomial bacterial pathogens[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 1992, 15(2 Suppl): S3-10.
- [3] 黄露萍, 向万忠. 同一标本中两种铜绿假单胞菌药敏试验分析[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(1): 37-38.
- [4] 姚开虎, 佟月娟, 俞桑洁, 等. 分离肺炎链球菌主群与耐药亚群的简易方法[J]. 中国抗感染化疗杂志, 2004, 4(5): 278-282.
- [5] 弗朗索瓦. 抗菌药物临床应用-从抗菌谱到临床处方[M]. 上海: 上

海科学技术出版社, 2006.

(3):238-240.

[6] 董宗祈.  $\beta$ -内酰胺类抗生素耐药性的产生及其对策[J]. 中国当代  
儿科杂志, 2000, 2(5):364-366.

(收稿日期: 2014-01-09)

[7] 侯琦, 马筱玲. 细菌的异质性耐药[J]. 临床输血与检验, 2003, 5

• 经验交流 •

# 乌鲁木齐市 2 560 例泌尿生殖道支原体感染及耐药性分析

王艳军<sup>1</sup>, 雷海云<sup>2</sup>

(1. 武警新疆生产建设兵团指挥部医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830063;  
2. 水磨沟区人民医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830063)

**摘要:**目的 通过调查本地区泌尿生殖道支原体感染及耐药现状, 为临床医师合理用药提供依据。方法 选择乌鲁木齐市泌尿生殖道感染患者 2 560 例, 标本严格按照规定采集, 并进行支原体培养, 采用支原体分离培养药敏试剂盒进行微生物敏感性试验。结果 2 560 例泌尿生殖道感染患者支原体阳性 2 265 例(88. 5%), 其中, Uu 阳性 1 472 例(57. 5%), Mh 阳性 146 例(5. 7%), Uu 合并 Mh 阳性 942 例(36. 8%); 女性患者支原体阳性 2 189 例(88. 7%), 男性患者支原体阳性 76 例(81. 7%), 两者差异有统计学意义( $P<0.05$ )。支原体对 12 种抗菌药的敏感性以 JOS 最强, 敏感率为 94. 2%, 其次为 TET、DOX 和 MIN, 敏感率分别为 91. 3%、89. 2%和 85. 6%; 以 CIP 敏感性最差, 其敏感率仅为 11. 2%。结论 乌鲁木齐市泌尿生殖道支原体感染主要以 Uu 为主, 对支原体感染的治疗应根据微生物敏感性试验结果合理使用抗菌药, 防止耐药株的产生。

**关键词:**支原体感染; 微生物敏感性试验; 解脲支原体; 人型支原体  
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 09. 066 文献标识码: B 文章编号: 1673-4130(2014)09-1220-02

支原体在自然界中分布广泛, 感染人类的支原体主要以解脲支原体(*Ureaplasma urealyticum*, UU)和人型支原体(*Mycoplasma hominis*, Mh)最常见, 多引起非淋球菌性尿道炎、前列腺炎、附件炎、肾盂肾炎、阴道炎、宫颈炎、盆腔炎、不孕不育、自然流产、死胎及早产等<sup>[1-2]</sup>。支原体为条件致病菌, 仅在某些条件下引起机会性感染, 并且常与其他致病菌共同致病。通过回顾分析 3 年来在本院就诊的 2 560 例泌尿生殖道感染患者的支原体检测及微生物敏感性试验, 以了解乌鲁木齐市生殖道支原体感染与耐药情况, 为临床用药提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2010 年 5 月至 2013 年 5 月于本院妇科门诊及男科就诊的泌尿生殖道感染患者 2 560 例, 其中, 男 93 例, 女 2 467 例; 年龄 20~48 岁, 均为乌鲁木齐市常住人口。  
**1.2 标本采集** 由临床医师严格按照规定采集。必须在进行药物治疗前采集标本, 男性患者用无菌拭子插入尿道 2~3 cm 处, 女性患者插入宫颈 1~2 cm 处, 停留 10~20 s 后缓慢旋转拭子(>360°)取出, 以便获得较多的细胞。采集男性标本时, 应先消毒尿道, 采集女性标本, 先擦去宫颈口多余黏液。男、女拭子均置无菌试管送检, 尽快接种。不可在室温或普通冰箱久存, 以免拭子干燥而致支原体活力降低, 甚至死亡。

**1.3 主要试剂** 支原体分离培养药敏试剂盒(珠海迪尔生物工程有限公司)主要由支原体培养基和检测卡组成。培养基含马血清、尿素、酚红指示剂、酵母提取液、生长因子及混合抗菌药等物质, 稀释液中有精氨酸及支原体基础肉汤, 当 Mh 和 Uu 生长时, 精氨酸和尿素分解生成的碱性物质导致 pH 值升高, 培养基颜色由黄色变成红色。培养基内添加的抑菌剂可抑制细菌和真菌生长。每份检测卡包括阳性对照孔、阴性对照孔、药敏孔及分离培养孔, 药敏孔包括如下抗菌药物, (1)大环内酯类: 罗红霉素(roxithromycin, ROX)、红霉素(erythromycin, ERY)、交沙霉素(josamycin, JOS)、阿奇霉素(azithromycin, AZI)、克拉霉素(clarithromycin, CLA); (2)四环素类: 四环素(tetracycline, TET)、盐酸多西环素(doxycycline, DOX)、盐酸

米诺环素(minocycline, MIN); (3)喹诺酮类: 左氧氟沙星(levofloxacin, LEV)、环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)、氧氟沙星(ofloxacin, OFL)、司巴沙星(sparfloxacin, SPA)。每种抗菌药物包括高浓度和低浓度 2 个培养孔。

**1.4 检测方法** 严格按照试剂盒说明书的要求进行操作。取出培养基和药敏板条, 平衡至室温后, 用无菌吸头吸取培养基 100  $\mu$ L 加入阴性空白孔; 将采集的标本拭子插入培养瓶, 在靠近液面上方的瓶壁挤压旋转拭子数次, 使拭子中样本渗入; 充分混匀接种标本的培养基, 分别取 100  $\mu$ L 加入检测卡除阴性空白孔外的各孔中, 轻轻震荡检测卡使孔内药物溶解; 各孔滴加 2 滴无菌矿物油, 盖上检测卡盖, 置 35~37  $^{\circ}$ C 孵箱培养, 在 24、48 h 分别观察结果。

**1.5 结果判断** 阴性空白对照孔不变色、阳性对照孔由黄色变成红色为阳性, 两者都不变色为阴性; 药敏孔中同一种药物上、下两孔都不变色为敏感; 上孔不变色、下孔变红色为中介; 上、下两孔都变红色为耐药。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS15.0 软件进行统计学分析, 计数资料用率表示, 率的比较采用  $\chi^2$  检验, 以  $\alpha=0.05$  为检验水准, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 支原体检测结果** 2 560 例泌尿生殖道感染患者支原体阳性 2 265 例(88. 5%), 其中, Uu 阳性 1 472 例(57. 5%), Mh 阳性 146 例(5. 7%), Uu 合并 Mh 阳性 942 例(36. 8%); 女性患者支原体阳性 2 189 例(88. 7%), 男性患者支原体阳性 76 例(81. 7%), 两者差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 见表 1。

表 1 2 560 例支原体培养的阳性情况[n(%)]					
性别	n	Uu 阳性	Mh 阳性	Uu+Mh 阳性	总阳性
男	93	52(55.9)	7(7.5)	17(18.3)	76(81.7)*
女	2 467	1 420(57.6)	139(5.6)	630(25.5)	2 189(88.7)
合计	2 560	1 472(57.5)	146(5.7)	647(25.3)	2 265(88.5)

\*:  $P<0.05$ , 与女性比较。