

测血浆中 PLT 的聚集时,如果能用方便快捷的酶标仪代替血小板聚集仪,将会极大地方便检验人员。

HSR 反映了 PLT 在低渗环境中因水进入发生变形后又恢复其原有正常形态的能力,在 PLT 悬液中加入水,悬液即处于低渗状态,水渗入 PLT,PLT 的体积随即发生肿胀,光透射增强;如果 PLT 功能正常,就能逐出细胞内的水份,其体积又能恢复到正常状态,于是光的折射率增强,A 值降低。PLT 这一体积膨胀又恢复的变化是由细胞内一系列的复杂活动和细胞膜离子通道变化及外部刺激所引起。与其他动物细胞一样,在低渗环境中,PLT 通过产生一系列反应使自身体积肿胀后再恢复正常,这主要是通过降低细胞内各种离子的浓度来维持 PLT 的体积,通常这种反应通过腺苷三磷酸(ATP)来完成。即在低渗溶液中细胞通过渗透吸水作用使水进入,细胞发生肿胀,此时细胞钙离子(Ca^{2+})浓度很快下降, Ca^{2+} 浓度下降导致细胞 ATP 的释放,ATP 与 G-蛋白-磷脂酶 C 相连接,而后 G-蛋白腺苷酸脱氢酶与 Ca^{2+} 受体连接,导致细胞膜上钾离子(K^{+})、氯离子(Cl^{-})通道开启, K^{+} 、 Cl^{-} 同向转移, K^{+} 、氢离子(H^{+})泵关闭。这一系列信号传导导致 K^{+} 、 Cl^{-} 和水又从细胞内移出,于是细胞的体积又恢复正常^[5-6]。检测 HSR 就是通过检测 PLT 体积膨胀时光透射变强,而 PLT 体积恢复时光透射又变弱,来评价 PLT 的体外功能,以细胞反应恢复率表示。PLT 在低渗环境中体积膨胀到最大时所需时间约为 18 s。应用酶标仪测定 HSR 时,加入 PRP 后混匀 8 s,再放入酶标仪进行吸光度监测,这段时间大约需要 10 s;PLT 体积从最大恢复到正常所需时间约为 15 min,故检测时间设定在 15 min。值得注意的是,环境温度对 HSR 的测定有较大影响,22 ℃ 保存的 PLT 悬液在测定前需预温至 37 ℃ 后再行测定。

本研究结果显示,酶标仪和血小板聚集仪两种方法测定 HSR 无明显差异,与文献[6-10]报道的 40%~80% 结果比较吻合,说明酶标仪是可以用于测定 HSR 的。酶标仪是实验室常用仪器,采用酶标仪测定 PLT 的 HSR,其方法简单,所需样

• 临床研究 •

品少,重复性完全能达到要求,结果准确,检测迅速,可同时测定多份样品。对于没有血小板聚集仪的实验室,可以选择用酶标仪进行 HSR 检测。

参考文献

[1] 谢如锋. 血小板体外质量评价及其临床意义[J]. 中国输血杂志, 2007,20(3):261-263.

[2] Holme S,Moroff G,Murphy S. A multi-laboratory evaluation of in vitro platelet assays;the tests for extent of shape change and response to hypotonic shock[J]. Transfusion,1998,38(1):31-40.

[3] Gigout T,Blondel W,Didelon J,et al. Development and evaluation of an automatic method for the study of platelet osmotic response [J]. Technol Health Care,1998,5(7):371-380.

[4] 黄成垠,肖建宇,蒋妮真,等. 2 种血小板低渗休克反应测定方法的比较研究[J]. 中国输血杂志,2008,21(7):514-516.

[5] 孙晓红,赵凤绵,韩卫,等. 酶标仪与分光光度计测定血小板抗低渗休克反应的对比分析[J]. 河北医药,2013,35(6):928-929.

[6] Rebullà P,Bertolini F,Holme S,et al. In vitro assessment of the quality of stored platelet concentrates[J]. Transfus Med Rev, 1994,8(1):29-36.

[7] 韩玮,刘景汉,欧阳锡林,等. 两种血小板保存箱保存富血小板血浆效果的比较[J]. 中国输血杂志,2004,17(5):301-303.

[8] Ringwald J, Walz S, Zimmermann R, et al. Hyperconcentrated platelets stored in additive solution:aspects on productivity and in vitro quality[J]. Vox Sang,2005,89(1):11-18.

[9] 赵凤绵,孙晓红,张爱红,等. 采用 HSR 方法测定手工汇集浓缩血小板在不同保存温度下的保存效果[J]. 中国输血杂志,2008,21(2):116-118.

[10] 王红,刘嘉馨,雷宇,等. 2 种国产血小板滤器滤除白细胞对体外血小板功能的影响[J]. 中国输血杂志,2011,24(4):323-326.

(收稿日期:2015-10-06)

肺心病患者上呼吸道感染产超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌的检测

王向臣

(山东省烟台市烟台山医院检验科,山东烟台 264001)

摘要:目的 检测反复呼吸道感染(RRI)慢性肺心病患者咽拭子培养产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)病原菌,回顾分析其耐药性。**方法** 收集 2012 年 10 月至 2015 年 1 月于该院就诊的 1 098 例老年肺心病伴 RRI 患者咽拭子标本进行培养,用法国生物梅里埃细菌分析软件对患者进行菌株鉴定及药敏试验,结果按美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准判读,并进行统计分析。**结果** 共检出大肠埃希菌 197 株、肺炎克雷伯菌 156 株,其中产 ESBLs 菌株的检出率分别为 44.16%、30.77%。产 ESBLs 菌株较非产 ESBLs 菌株有更强的耐药性,两者对亚胺培南、哌拉西林/舒巴坦及阿米卡星高度敏感,但对三代以下头孢类抗菌药物呈多重耐药性。**结论** 慢性肺心病合并 RRI 患者产 ESBLs 病原菌检出率较高,该类细菌对头孢类抗菌药物呈较高耐药性,依据细菌培养结果及药敏试验进行治疗是治疗成功的关键。

关键词:肺心病; 上呼吸道感染; 超广谱 β-内酰胺酶; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.042 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)05-0672-03

反复呼吸道感染(RRI)是老年慢性肺心病患者的常见病,其发病率约为 25%。一般认为,老年人由于机体抵抗力下降及自身免疫功能降低,易患上呼吸道感染,尤其在春冬季节,因昼夜温差变化大,这一现象更加明显。RRI 已经成为严重影响

老年人群身体健康及生活质量的公共卫生问题。有研究认为,由于受凉、淋雨、过度疲劳等因素,导致老年人呼吸道局部防御能力降低,使得原本存在于上呼吸道的病原体能够迅速繁殖并侵入人体导致感染。RRI 以病毒感染最为常见,细菌感染次

之,而细菌感染又以产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)细菌感染最为严重,因为该类细菌不仅对青霉素类、头孢菌素类和氨基南等抗菌药物高度耐药,对氨基糖苷类、喹诺酮类、磺胺类等抗菌药物的耐药性也明显高于其他细菌,尤其多重耐药菌株的出现给患者治疗带来了挑战^[1-3]。本研究针对本市老年肺心病合并 RRI 患者,对产 ESBLs 菌株的耐药性进行检测分析,为临床诊疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 一般资料 2012 年 10 月至 2015 年 1 月来本院就诊的老年肺心病伴 RRI 患者 1 098 例,男 675 例,女 423 例,年龄 62~78 岁,平均(65.5±6.8)岁。RRI 诊断标准:每年上呼吸道感染不少于 5 次,且每 2 次重复感染间隔不少于 7 d。取标本前嘱患者用无菌生理盐水反复漱口后,由临床医生取专用无菌拭子在患者咽部反复擦拭 2~3 次后置无菌管内送检。

1.2 仪器与试剂 法国生物梅里埃细菌分析软件、普通培养箱、标准麦氏浊度比色管、无菌加样枪;试剂为法国生物梅里埃公司产品。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922 冻干指示标准菌株、肺炎克雷伯菌 ATCC70603 为 ESBLs 阳性对照菌,所有标准质控菌株均购自上海市嘉科微生物研究中心。药敏纸片采用上海生物制品研究所制品,均购自烟台市临床检验中心。

1.3 方法

1.3.1 细菌检测方法 所有送检标本参照《全国临床检验操作规程》(第 3 版)^[4]的相应程序进行细菌培养,挑选分离出可疑的致病菌菌落,转种于相应平板,置于 37℃培养 18~24 h 后得到纯培养菌株,按要求将该菌株配制成规定的麦氏浓度后,转种于法国生物梅里埃 API 细菌分析专用鉴定及药敏试验板上,再经过 37℃培养 18~24 h 后,将生化反应试条置于法国生物梅里埃细菌分析软件行自动判读,判读标准参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)标准,得出细菌鉴定结果。

1.3.2 产 ESBLs 菌检测 采用单纸片扩散初筛法,常规纸片法药敏试验符合以下标准之一为产 ESBLs 菌株。头孢泊肟:10 微克/片小于或等于 22 mm;头孢他啶:30 微克/片小于或等于 22 mm;氨基曲南:30 微克/片小于或等于 27 mm;头孢噻肟:30 微克/片小于或等于 27 mm;头孢曲松:30 微克/片小于或等于 25 mm。

1.4 统计学处理 采用细菌耐药性监测软件 WHONET5.4 进行药敏结果分析,计数资料以百分率表示,采用 χ^2 检验进行比较分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 产 ESBLs 菌株检出情况 在分离出的所有革兰阴性菌中,大肠埃希菌 197 株,肺炎克雷伯菌 156 株,其中产 ESBLs 大肠埃希菌检出率为 44.16%(87/197),产 ESBLs 肺炎克雷伯菌检出率为 30.77%(48/156)。

2.2 大肠埃希菌产 ESBLs 与非产 ESBLs 菌株耐药性比较见表 1。

表 1 产 ESBLs 与非产 ESBLs 大肠埃希菌耐药率比较(%)

抗菌药物	产 ESBLs 菌株 (n=87)	非 ESBLs 菌产 (n=197)	χ^2	P
头孢他啶	33.65	1.12	8.58	0.031
阿莫西林/克拉维酸	31.96	13.34	5.63	0.027
阿米卡星	21.47	4.82	5.14	0.041
头孢吡肟	49.80	11.54	6.47	0.031

续表 1 产 ESBLs 与非产 ESBLs 大肠埃希菌耐药率比较(%)

抗菌药物	产 ESBLs 菌株 (n=87)	非 ESBLs 菌产 (n=197)	χ^2	P
头孢呋辛	97.12	2.11	9.89	0.013
亚胺培南	15.66	16.69	0.45	0.068
头孢唑林	99.78	11.10	7.58	0.023
头孢噻肟	100.00	0.78	9.97	0.014
庆大霉素	59.62	65.57	4.38	0.064
哌拉西林/他唑巴坦	18.21	13.54	0.87	0.056

2.3 肺炎克雷伯菌产 ESBLs 与非产 ESBLs 菌株耐药性比较见表 2。

表 2 产 ESBLs 与非产 ESBLs 肺炎克雷伯杆菌耐药率比较(%)

抗菌药物	产 ESBLs 菌株 (n=48)	非产 ESBLs 菌株 (n=156)	χ^2	P
头孢他啶	38.57	16.25	5.62	0.021
阿莫西林/克拉维酸	25.56	21.30	0.68	0.062
头孢呋辛	95.74	25.40	8.54	0.025
头孢噻肟	54.65	0.00	8.86	0.026
庆大霉素	31.85	29.24	0.87	0.057
头孢吡肟	33.86	12.40	4.36	0.031
头孢唑林	97.76	18.35	8.62	0.028
哌拉西林/他唑巴坦	12.54	11.50	0.84	0.059
阿米卡星	6.15	6.35	0.36	0.064
亚胺培南	15.17	12.60	0.45	0.067

3 讨论

多重耐药菌株的出现导致临床治疗失败的现象日益严重,肠杆菌科细菌是革兰阴性致病菌中的重要病原菌,其中以大肠埃希菌为主,尤其在儿童、老年群体等抵抗力低下的人群中表现更为突出。经常性监测本地区各种致病菌的感染趋势,掌握其药敏规律,对临床治疗各类感染有着重要的现实意义。

有研究认为,由于 β -内酰胺类抗菌药物尤其是第 2、3 代头孢菌素的广泛应用,加速了产 ESBLs 菌株的出现,进而导致了对低代头孢类抗菌药物多重耐药菌株的出现^[5-6]。ESBLs 是细菌质粒介导的能水解氧氨基 β -内酰胺类抗菌药物,并可被 β -内酰胺酶抑制剂所抑制的一类酶,能够产生此酶的细菌对第 3 代头孢菌素,如头孢他啶、头孢噻肟、头孢哌酮及氨基南等能够因水解而产生耐药性,从而导致治疗失败。老年肺心病患者由于抵抗力低下而更易导致此类细菌感染,提示临床医生在面对这类患者且治疗效果不佳时,应该考虑该类细菌感染的可能性。

β -内酰胺酶是指能催化水解 6-氨基青霉烷酸、7-氨基头孢烷酸及 N-酰基衍生物分子中 β -内酰胺环酰胺键的灭活酶,产 β -内酰胺酶是细菌对 β -内酰胺类抗菌药物耐药的主要机制。一般而言,革兰阴性菌主要产生 AmpC 酶、青霉素酶、广谱 β -内酰胺酶或 ESBLs 等,其基本特征是对第 3 代或以下头孢类抗菌药物呈高度耐药,部分酶活性可被克拉维酸灭活。本研究主要讨论肺心病患者合并 RRI 时产 ESBLs 细菌的耐药特征,

为临床医生治疗该类患者提供指导。产 ESBLs 菌株检出率逐年上升,已经成为除耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和耐万古霉素肠球菌(VRE)以外的院内感染的主要病原菌,本研究显示,在老年肺心病患者中,大肠埃希菌及肺炎克雷伯菌产 ESBLs 菌总检出率超过 40%,明显高于资料报道的普通感染性患者产酶 ESBLs 菌的检出率^[7],提示临床医生在面对体弱的老年上呼吸道感染患者时,应该注意对该类细菌的监测。

耐药性方面,产 ESBLs 与非产 ESBLs 大肠埃希菌药敏结果比较,表现各不相同,总体来看产 ESBLs 菌株较非产 ESBLs 菌株有更强的耐药性,主要变现为对低代头孢类抗菌药物有更强的抵抗性,尤其是对头孢噻肟的耐药率高达 100.00%,值得引起关注。提示临床医生在治疗该类患者时,应该尽量避开使用此类抗菌药物。而对阿米卡星、亚胺培南、哌拉西林/他唑巴坦等抗菌药物则表现出较高的抑菌活性,对阿莫西林/克拉维酸、头孢他啶亦表现出较好的抑菌效果,提示临床医生在未做细菌培养或培养结果未出来时,可以作为治疗此类患者的经验性用药。在老年肺心病上呼吸道感染患者中,肺炎克雷伯菌也表现出较高的检出率,其产 ESBLs 菌株的检出率高达 30.77%,表明肺炎克雷伯菌已经成为导致老年肺心病上呼吸道感染患者反复发作的重要病原菌,值得临床关注。耐药性方面,产 ESBLs 肺炎克雷伯菌较非产 ESBLs 菌株有较高的耐药性,对低代头孢类抗菌药物也表现出较强的耐药性,但对哌拉西林/他唑巴坦、阿米卡星、亚胺培南则表现出较为理想的敏感性,与文献^[8]报道相近,这可能与阿米卡星等抗菌药物不良反应较大而较少使用有关,也可能与各地用药习惯有一定关联。

有报道显示,菌株流行区病原接触、预防性使用抗菌药物不当、经验性治疗及长期小剂量使用碳氢酶烯类抗菌药物等都可能增加感染产 ESBLs 细菌的风险^[9-10]。为此,杜绝滥用抗菌药物,减少经验性用药,依据细菌培养结果及药敏试验提示加强对院内环境、设施和对侵袭性诊疗消毒措施的管理,可以有效控制多重耐药菌的传播。对于免疫功能低下、合并产 ES-

• 临床研究 •

BLs 细菌感染的败血症老年患者,基于病原菌培养及药物敏感性试验来指导抗菌药物的正确使用及控制感染,显得尤为重要。

参考文献

- [1] 姚毅,严谦,严仔敦,等.产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2011,9(3):132-133.
- [2] 王娇.老年肺部感染 56 例临床分析[J].辽宁医学院学报,2011,32(2):139-140.
- [3] 骆瑛,叶华进,李晴宇.92 例老年肺部感染患者抗菌药物合理应用分[J].医药导报,2011,3(4):314-315.
- [4] 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,2006:675-680.
- [5] 李万华,秦惠宏,张泓,等.产 ESBLs 大肠埃希氏菌和肺炎克雷伯菌儿童分离菌株的耐药性和基因型检测[J].中国感染与化疗杂志,2009,9(5):355-357.
- [6] D'Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, et al. CTX-M-type β -lactamases: a successful story of antibiotic resistance[J]. Int J Med Microbiol, 2013, 303(6/7): 305-317.
- [7] Pierce KE, Peter H, Bachmann TT, et al. Rapid detection of TEM-type extended-spectrum β -Lactamase (ESBL) mutations using lights-on/lights-off probes with single-stranded DNA amplification[J]. J Mol Diagn, 2013, 15(3): 291-298.
- [8] 鲍连生,董宗祈,虞涛,等.儿童感染菌中 1913 株产超广谱 β -内酰胺酶型别特点及耐药性研究[J].临床儿科杂志,2009,27(6):540-544.
- [9] 徐圣君,赵晓平.老年脑卒中患者并发肺部感染 60 例临床分析[J].中国实用神经疾病杂志,2013,16(24):22-24.
- [10] 李桂贤.小儿反复呼吸道感染与微量元素相关性探讨[J].微量元素与健康研究,2012,29(6):20-21.

(收稿日期:2015-10-06)

微粒子化学发光法检测 TPO-Ab 及 TG-Ab 的实验室性能验证

耿伏生,张卫庆,苏丽霞,李艳宁
(安阳市灯塔医院,河南安阳 455000)

摘要:目的 对 A2000 微粒子化学发光仪检测甲状腺球蛋白抗体(TG-Ab)及甲状腺过氧化物酶抗体(TPO-Ab)的性能进行实验室评价,从而验证该仪器检测这两种甲状腺抗体的可靠性。方法 参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)相关文件的要求,对仪器检测 TG-Ab 及 TPO-Ab 的参数进行精密密度、准确度、携带污染率及线性范围的评价分析。结果 微粒子化学发光仪检测这两种甲状腺抗体的精密密度、准确度、样本携带污染率、线性范围均在允许范围之内。结论 该微粒子化学发光仪检测 TG-Ab 及 TPO-Ab 的性能符合质量要求,测定结果准确可靠,可对批量标本实现快速处理,基本上满足实验室需要。

关键词:甲状腺过氧化物酶抗体; 甲状腺球蛋白抗体; 微粒子化学发光; 性能验证

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.043

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)05-0674-03

甲状腺过氧化物酶抗体(TPO-Ab)及甲状腺球蛋白抗体(TG-Ab)是临床医师辅助诊断自身免疫性甲状腺疾病常用的实验室检查指标。有关文献报道显示,这两种抗体联合检测可提高甲状腺疾病诊断的正确率^[1]。由于检测手段的限制,常采用放射免疫法(RIA)来检测,近几年来,随着医疗技术的进步和革新,化学发光法检测甲状腺抗体成为可能,特别是微粒子化学发光和电化学发光的应用,更加提高了检测的灵敏度和特

异度,并丰富了甲状腺疾病诊断的新方法^[2]。A2000 微粒子化学发光仪是由郑州安图绿科生物有限公司生产的一款完全具备自主知识产权的化学发光仪,为验证该设备及其配套试剂检测 TG-Ab 及 TPO-Ab 的可靠性,笔者参照美国临床实验室标准化协会(CLSI)制订的方案对其精密密度、准确度、线性范围、携带污染率等指标进行评价分析,以验证主要指标性能是否满足实验室需要。