

该检测程序相对耗时,是口岸食品和公共场所从业人员体检工作中最为耗时的一个检测项目,通常至少需要 3 个工作日的时间,直接影响体检对象领取体检结果的周期^[5-7]。随着分子生物学的发展,针对沙门氏菌检测的 RT-PCR 方法使沙门氏菌的检测周期缩短成为现实,但该方法在体检机构的应用情况仍需要评价^[3,8-10]。

此次评价将标本同时进行培养鉴定和 RT-PCR 检测,以分离培养的初检结果和再检测结果为金标准评价 RT-PCR,结果显示 RT-PCR 与金标准之间的 Kappa 值为 0.976,灵敏度为 98.40%(123/125),特异度为 99.99%(54 550/54 554)。说明 RT-PCR 检测从业人员沙门氏菌感染具有较高的灵敏度和特异性。从检测结果分析,RT-PCR 不同于培养鉴定的结果,其阳性检出率(0.23%)高于培养鉴定方法(0.21%)。分析其原因在于常规的分离培养是挑取可疑菌落进行鉴定和血凝试验的,因此存在漏检的可能;另外沙门氏菌亚型较多,非典型菌落形态的出现也可能造成检测结果的偏差^[10-11]。但 RT-PCR 具有高灵敏度的特点,且检测的是所选取标本中所有的 DNA 模板。因此,产生漏检的可能性要远远低于常规的分离培养方法。其次,从初检结果不一致标本的再检测情况来看,RT-PCR 检测为阳性的标本中有 73.3%(11/15)的标本能够得到分离培养阳性的结果,而这 11 例体检者如果单采用培养鉴定的方法检测无疑将会被漏检。存在 2 例培养鉴定为阳性标本而 RT-PCR 初次检测阴性的标本,挑取培养阳性的菌落再次进行核酸扩增时又表现为阳性,这一结果说明了采用 RT-PCR 检测也存在漏检的情况。笔者考虑其可能原因有以下两个方面:第一,增菌的时间,由于采用 RT-PCR 检测的增菌时间最短的是 3 h,这样一个时间能否达到 RT-PCR 方法的最低检测限需要进一步研究;第二,由于采用的是混合 10 份标本联合检测的方法,那么这种混合从某种意义上来说是取样量减少或是降低了单位体积增菌液中的沙门氏菌的数量,有可能达不到 RT-PCR 方法的最低检测限^[12]。因此,仍需考虑现有程序中增菌的时长和标本混合检测的方法可能会在一定程度上影响其检测结果。

参考文献

[1] 田桢干, 阎俊, 陆晔, 等. LAMP 技术快速检测沙门氏菌方法的研究 • 临床研究 •

法的建立及其应用[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2011, 34(5): 296-299.

[2] 中华人民共和国卫生部. GB4789. 4-2010 食品安全国家标准食品微生物学检验 沙门氏菌检验[S]. 北京: 国家质检总局, 2010.

[3] 谭南, 汪伟山, 林爱心, 等. 6 417 例感染性腹泻患者沙门氏菌感染情况分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(15): 2049-2050.

[4] 付汉维, 熊建辉, 吴凯, 等. 深圳市饮食及服务从业人员肠道沙门氏菌带菌调查[J]. 公共卫生与预防医学, 2012, 23(6): 113-114.

[5] 李欣, 董雪, 刘娜, 等. 从业人员预防性健康体检沙门/志贺氏菌检验 PCR 方法快速筛查的应用[J]. 辽宁大学学报(自然科学版), 2014, 41(2): 172-175.

[6] 韩毅, 孙燕萍, 周虹, 等. 实时荧光定量 PCR 法与分离培养法检测食品从业人员沙门菌和志贺菌的比较研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(2): 132-135.

[7] 史秀全. PCR 检测与鉴定沙门氏菌的研究进展[J]. 肉品卫生, 1998(9): 24-26.

[8] 刘晓晨, 徐品, 张默宇. 预防性体检便样中沙门氏菌的优化检测方法[J]. 口岸卫生控制, 2013, 18(3): 21-23.

[9] 汪武新, 韦炳扬, 刘海文, 等. 荧光 PCR 快速检测从业人员肠道致病菌结果分析[J]. 中国热带医学, 2011, 11(8): 971-972.

[10] 杨柳, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 分子生物学方法检测沙门氏菌的研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(9): 372-375.

[11] 杨柳青, 欧新华, 贾华云, 等. 长沙市沙门菌表型特征及 PFGE 分子分型[J]. 实用预防医学, 2016, 23(1): 39-42.

[12] 吴桂芬, 罗可天, 姚伯宁, 等. 荧光 PCR 技术批量快速筛查肠道致病菌混合样本的研究[J]. 中外医疗, 2014, 7(21): 181-182.

(收稿日期: 2017-01-28 修回日期: 2017-03-21)

208 株血培养大肠埃希菌的药物敏感性分析

张 华

(首都医科大学大兴教学医院检验科, 北京 102600)

摘要:目的 对 208 株血培养大肠埃希菌的药物敏感性进行分析和探讨。方法 收集该院 2014 年 3 月至 2016 年 3 月期间血培养分离的 208 株大肠埃希菌, 采用 AST-GN13 药敏卡进行药敏试验, 并验证是否为产超广谱 β -内酰胺酶菌株, 并对药敏结果进行分析和总结。**结果** 208 株血培养分离大肠埃希菌中, 产超广谱 β -内酰胺酶菌株 72 株(34.61%), 非产超广谱 β -内酰胺酶菌 136 株(65.38%)。产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌对绝大部分的抗菌药物的耐药性高于不产超广谱 β -内酰胺酶菌株。**结论** 检测大肠埃希菌的药物敏感性分析对于临床筛选抗菌药物具有重要的意义。

关键词: 血培养; 大肠埃希菌; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.09.049 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2017)09-1275-03

在临床上, 大肠埃希菌较为常见, 构成肠道杆菌的主要细菌之一, 它常见于人和动物的肠道, 在自然环境中也时而可见。

大肠埃希菌虽然是人类最主要的致病菌, 但是在正常条件下不会引发疾病^[1], 只有当肠外组织和器官发生病变时, 导致肠外

出现感染,如败血症、腹膜炎、泌尿系统感染、胆囊炎等才会致病。在当今社会,随着各类抗菌药物的普遍应用,使得产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌株的耐药性问题逐渐暴露,给临床治疗造成了严重的困扰,这对疾病治疗造成了较大的困难。有研究表明,分析大肠埃希菌的药物敏感性有利于提高抗菌药物的使用合理性^[2]。为了分析产 ESBLs 菌株和非产 ESBLs 菌株对抗菌药物的耐药性,本院对 208 株大肠埃希菌进行了试验,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集本院于 2014 年 3 月至 2016 年 3 月血培养分离的大肠埃希菌 208 株。

1.2 仪器与试剂 革兰阴性菌 GN 鉴定卡(法国生物梅里埃公司)、AST-GN13 药敏卡(法国生物梅里埃公司)、VITEK2 全自动细菌鉴定仪(法国生物梅里埃公司)。

1.3 方法

1.3.1 超广谱 β -内酰胺酶菌株的验证 ESB β L 系统自动对 208 株大肠埃希菌进行产 ESBLs 的鉴定,如果添加克拉维酸后头孢他啶或头孢噻肟比单纯的头孢他啶或头孢噻肟最低抑菌浓度(MIC)差值 ≥ 8 倍(3 个稀释度)即为产 ESBLs 的大肠埃希菌。

1.3.2 药敏试验方法 使用 AST-GN13 药敏卡(法国生物梅里埃公司)进行药敏试验,其中包含氨曲南、氨苄西林、头孢替坦、环丙沙星、复方磺胺甲噁唑、头孢吡肟、庆大霉素、呋喃妥因、左氧氟沙星、头孢曲松和头孢唑林、阿米卡星、美罗培南和亚胺培南等 15 种抗菌药物。

1.4 统计学处理 利用世界卫生组织细菌耐药性监测网软件 WHONET-50 进行统计分析^[4]。

2 结 果

通过血培养共分离得到大肠埃希菌 208 株,其中产 ESBLs 菌株 72 株(34.61%),非产 ESBLs 菌株 136 株(65.38%)。产 ESBLs 大肠埃希菌对绝大部分的抗菌药物的耐药性高于不产 ESBLs 菌株。产 ESBLs 大肠埃希菌对氨曲南、氨苄西林、头孢替坦、头孢唑林、头孢曲松和头孢他啶耐药率都为 100.00%,而对环丙沙星(93.05%)、头孢吡肟(75.00%)、复方磺胺甲噁唑(70.83%)、庆大霉素(66.67%)、呋喃妥因(62.50%)、左氧氟沙星(58.33%)的耐药率均高于 50%。非产 ESBLs 大肠埃希菌耐药率较高的依次为氨曲南、氨苄西林、头孢替坦、环丙沙星和复方磺胺甲噁唑,对头孢吡肟、庆大霉素、呋喃妥因、左氧氟沙星、头孢曲松和头孢唑林的耐药率均低于 50%。所有大肠埃希菌对阿米卡星、美罗培南和亚胺培南的耐药率均为 0.00%。见表 1。

表 1 大肠埃希菌对抗菌药物的耐药性				
抗菌药物	产 ESBLs 株 耐药率[n(%)]	非产 ESBLs 株 耐药率[n(%)]	总耐药率 [n(%)]	MIC (mg/L)
氨曲南	72(100.00)	122(89.70)	194(93.27)	≥ 64
环丙沙星	67(93.05)	90(66.17)	157(75.48)	≥ 4
头孢吡肟	54(75.00)	26(19.12)	80(38.46)	≥ 64
复方磺胺甲噁唑	51(70.83)	80(58.82)	131(62.98)	≥ 320
庆大霉素	48(66.67)	62(45.59)	110(52.88)	≥ 16
呋喃妥因	45(62.50)	46(33.82)	91(43.75)	≥ 32
左氧氟沙星	42(58.33)	28(20.59)	70(33.65)	≥ 8
阿米卡星	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	≥ 64

续表 1 大肠埃希菌对抗菌药物的耐药性				
抗菌药物	产 ESBLs 株 耐药率[n(%)]	非产 ESBLs 株 耐药率[n(%)]	总耐药率 [n(%)]	MIC (mg/L)
美罗培南	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	≥ 16
亚胺培南	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	≥ 16
氨苄西林	72(100.00)	120(88.23)	192(92.31)	≥ 32
头孢替坦	72(100.00)	110(80.88)	182(87.50)	≥ 64
头孢曲松	72(100.00)	42(30.88)	114(54.81)	≥ 64
头孢唑林	72(100.00)	41(30.15)	113(54.33)	≥ 64
头孢他啶	72(100.00)	17(12.50)	89(42.79)	≥ 64

3 讨 论

近年来,在医院就诊的患者中,由大肠埃希菌引起的感染越来越多,其感染率逐年升高,是医院感染病例的主要致病原因。有研究发现,大肠埃希菌的感染率仅低于铜绿假单胞菌和不动杆菌属,并且大肠埃希菌也成为医院临床标本中较常分离的细菌^[3-4]。大肠埃希菌能够对多种抗菌药物产生耐药性,其耐药机制可能是主要与菌株产生水解酶如 β -内酰胺酶(尤其是 ESBLs)、氨基糖苷钝化酶、靶位的变化如 DNA 回旋酶的靶位变化和细菌的膜通透性等有较大关系^[5-6]。

在本研究中,208 株大肠埃希菌中产 ESBLs 菌 72 株(34.61%),非产 ESBLs 菌 136 株(65.38%)。产 ESBLs 大肠埃希菌对绝大部分的抗菌药物的耐药性高于不产 ESBLs 菌株。产 ESBLs 大肠埃希菌对氨曲南、氨苄西林、头孢替坦、头孢唑林、头孢曲松和头孢他啶耐药率都为 100.00%,而环丙沙星、头孢吡肟、复方磺胺甲噁唑、庆大霉素、呋喃妥因、左氧氟沙星的耐药率均高于 50%。非产 ESBLs 大肠埃希菌耐药率较高的依次为氨曲南、氨苄西林、头孢替坦、环丙沙星和复方磺胺甲噁唑,对头孢吡肟、庆大霉素、呋喃妥因、左氧氟沙星、头孢曲松和头孢唑林的耐药率均低于 50%,而所有大肠埃希菌对阿米卡星、美罗培南和亚胺培南的耐药率均为 0.00%。ESBLs 包括 TEM 型、SHV 型和 CTX2m 型等,是一类能水解头孢菌素、单环类抗菌药物的 β -内酰胺酶,通过染色体突变和质粒介导由革兰阴性杆菌产生^[7]。大肠埃希菌可对多种抗菌药物产生耐药,常为多重耐药菌,包括对 β -内酰胺类、喹诺酮类、氨基糖苷类等抗菌药物耐药。产 ESBLs 大肠埃希菌是临床抗感染治疗中的棘手问题,因为这类菌不仅对许多抗菌药物具有耐药性,同时也可能会对其他具有不同作用机制的抗菌药物产生耐药性。而且产 ESBLs 大肠埃希菌较易发生其他类型的耐药基因突变,例如碳青霉烯酶染色体、高水平青霉素酶、质粒介导的 AmpC 酶等。产 ESBLs 是大肠埃希菌最常见的耐药机制之一,主要通过质粒介导,通过接合作用在病原菌间普遍传播,致使产生多重耐药^[8-9]。本研究药敏试验结果表明,本院血培养分离的大肠埃希菌对阿米卡星、美罗培南和亚胺培南的敏感性较低,能够作为临床用药的首选药物之一。血培养是作为诊断血流感染的重要依据^[10-11],若血培养大肠埃希菌耐药率较高,那么医生应通过检测药物敏感性从而合理选用抗菌药物对疾病进行治疗。

综上所述,产 ESBLs 大肠埃希菌的耐药性很强,已成为医院中主要的耐药问题。尤其在临床上,一些严重感染且反复发作的患者,由于药物耐药性很强,选择药物的种类就很少,使得治愈疾病变得较为困难,所以通过药敏试验,根据大肠埃希菌

的药物敏感性分析结果选择合适的药物显得尤为重要^[12]。在临床实际治疗过程中,通过此方法能够预防大肠埃希菌产生新的耐药性,对合理使用抗菌药物具有一定的临床实践意义。

参考文献

- [1] 徐学静,曹小利,张之烽,等.血培养大肠埃希菌的药物敏感性分析及 ESBLs 编码基因的流行性分析[J].现代检验医学杂志,2016,31(1):55-57.
- [2] 张艳,张平,杨选英.血培养分离菌的种类及药物敏感性分析[J].昆明医科大学学报,2012,33(11):119-122.
- [3] 郑望春,叶晓涛,张旭.血培养菌群分布与抗菌药物敏感性分析[J].临床血液学杂志(输血与检验),2013,26(2):234-237.
- [4] 王运铎,吕鹏,张毅华,等.940 株血培养分离菌的临床分布及抗菌药物敏感性分析[J].中国微生态学杂志,2015,27(5):584-587,592.
- [5] 刘景华,周凡,王璐,等.血液病患者 551 份血培养病原菌的敏感性分析[J].临床军医杂志,2012,40(1):117-119.
- [6] 娄峻,张耀辉,邱卫强,等.1 657 株泌尿系感染大肠埃希菌的临床研究

- 菌的耐药性分析[J].医药论坛杂志,2015,36(10):50-52.
- [7] 陈明慧,房杰,孙兰菊.676 株血培养病原菌种类分布及耐药性[J].中国中西医结合外科杂志,2014,20(5):496-500.
- [8] 李方,井森,孙春涛.产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌 120 例药敏分析[J].中国社区医师,2014,30(21):12-13,11.
- [9] 武坚锐,徐辉,孟晋华,等.2009—2013 年儿童医院血培养病原菌构成及耐药性变迁[J].中国感染控制杂志,2014,13(8):486-489.
- [10] 黄仁刚,杨兴祥,喻华,等.某院重症监护病房患者血培养病原菌分布和耐药性[J].寄生虫病与感染性疾病,2016,14(1):11-15.
- [11] 石天,余莹莹.泌尿道感染患者大肠埃希菌的分布及耐药性分析[J].海峡药学,2016,28(1):118-119.
- [12] 祝永佳,蒋逸群,董通雨.大肠埃希菌引起的泌尿系感染的耐药性分析[J].现代预防医学,2014,41(22):4174-4175.

(收稿日期:2017-01-30 修回日期:2017-03-23)

ABO 新生儿溶血病与 IgG 抗-A(B)抗体效价及血型的相关性分析

何 杜,阳 勇

(湖南省湘潭市第一人民医院输血科 411101)

摘要:目的 通过跟踪检测 O 型孕妇体内 IgG 抗-A(B)抗体效价,同时对其所生 ABO 血型不合新生儿进行新生儿溶血病(HDN)三项检测,分析效价与 ABO 新生儿溶血病(ABO-HDN)发病率的相关性。方法 采用微柱凝胶法对该院产科门诊 788 例夫妻 ABO 血型不合的孕妇在孕 16 周左右进行 IgG 抗-A(B)抗体效价检测,4~6 周后复查,以末次结果为统计数据;同时对 788 例新生儿做 ABO、Rh 血型、不规则抗体筛查,对 ABO 血型不合的新生儿做 HDN 三项实验。结果 以 128 作为效价的参考临界值,最终检出效价 ≥ 128 者 552 例,异常检出率为 70.5%(552/788);O/A 型 420 例, ≥ 128 者 328 例,异常检出率为 78.1%(328/420);O/B 型 280 例, ≥ 128 者 176 例,异常检出率为 62.8%(176/280);O/AB 型 88 例,IgG 抗-A ≥ 128 者 48 例,异常检出率为 54.5%(48/88),IgG 抗-B ≥ 128 者 36 例,异常检出率为 40.9%(36/88)。788 例新生儿中 ABO 血型不合 473 例,其中 95 例确诊为 ABO-HDN,发病率为 20.1%(95/472),效价 < 128 者均为阴性,效价 $\geq 1 024$ 者几乎 100%发病。确诊的 95 例 ABO-HDN 中 A 型明显多于 B 型。结论 效价的高低与 ABO-HDN 发病率有直接的相关性。

关键词: IgG 抗-A(B); 血型; 溶血病; 新生儿

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.09.050

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)09-1277-03

新生儿溶血病(HDN)主要是指由于母体内存在着与胎儿红细胞抗原相对应的 IgG 血型抗体,抗体通过胎盘作用于胎儿红细胞,导致不同程度溶血。临床主要表现为胎儿水肿、贫血、早产或死胎;新生儿表现为黄疸、贫血、肝脾肿大、水肿等,严重者可产生核黄疸等后遗症。有报道 ABO 溶血病(ABO-HDN)占新生儿溶血的 85.3%,ABO 血型不合夫妻所生新生儿发病率为 20%^[1]。因此对于夫妻 ABO 血型不合的孕妇在妊娠期间进行 IgG 抗-A(B)抗体效价检测,能提前预估疾病的发生率。针对高发可能的新生儿出生后宜尽早做 HDN 检测,早期诊断和治疗,能有效降低疾病对患儿所造成的伤害,对于提高婴儿生存质量具有重要的临床意义。本文对 788 例夫妻 ABO 血型不合的孕妇进行 IgG 抗-A(B)抗体效价检测,对 ABO-HDN 发生概率与效价的相关性进行跟踪分析,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 1 月至 2016 年 2 月在本院产科

门诊就诊,经检验确认为夫妻 ABO 血型不合的孕妇 788 例(年龄 20~43 岁)作为研究对象,孕妇均为 O 型,丈夫均为 A 型、B 型或 AB 型,且双方 Rh(D)均阳性,孕妇不规则抗体筛查阴性,进行 IgG 抗-A(B)抗体效价测定。对 ABO 血型不合新生儿进行 HDN 三项检测,分析 IgG 抗-A(B)抗体效价高低与 HDN 发生概率的相关性。

1.2 仪器与试剂 微电脑控制离心机(BaSo 2005-2)购自台湾 BaSo 公司;血型血清学多用离心机(TD-3A)、免疫微柱孵育器(FYQ 型)购自长春博研科学仪器有限责任公司;56℃恒温水浴箱(XMTD-20A)购自姜堰天力医疗器械有限公司。ABO、RhD、抗人球蛋白凝胶卡、0.2 mol/L 2-巯基乙醇(2-Me)购自长春博迅生物技术有限公司;A、B、O 标准红细胞及不规则抗体筛选细胞购自上海血液生物医药有限公司。

1.3 方法

1.3.1 血型血清学检测 受检孕妇在孕 16 周左右,对 IgG 抗-A(B)抗体效价进行测定:采集孕妇经 EDTA 抗凝的静脉血