

(5);481-487.

[3] 阳茂春,陆爱英,李山,等. 免疫酶法与 ELISA 法检测 EB 病毒 VCA-IgA 的比较[J]. 标记免疫分析与临床,2009,16(2):93-95.

[4] 苏犁云,徐锦,孙家娥,等. EB 病毒感染实验室诊断方法探讨[J]. 检验医学,2006,21(5):513-516.

[5] 蒋卫红,赵素萍,尹志华,等. 定量和定位检测 EB 病毒在

鼻咽癌组织中的感染状态[J]. 癌症,2005,24(7):796-800.

[6] Gross AJ, Hochberg D, Rand WM, et al. EBV and systemic lupus erythematosus: a new perspective[J]. J Immunol,2005,174(11):659-667.

(收稿日期:2010-10-15)

• 临床研究 •

血培养仪 VersaTREK-240 检测血样本结果分析

郝金中,张红升(河南省安阳市人民医院输血科 455000)

【摘要】 目的 了解败血症患者病原菌分布及其常见病原菌耐药情况。**方法** 患者血培养标本经美国 Versa-TREK 血培养仪培养,分离所得菌株用英国先德 ARIS 2X 进行鉴定药敏,比较前 5 位细菌耐药特征。**结果** 204 株病原菌中,医院感染菌共 194 株,占 98.7%;以凝固酶阴性葡萄球菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、白色假丝酵母菌、阴沟肠杆菌为主,病原菌对常用抗菌药物的耐药率较高,且医院感染菌的多重耐药率高于院外感染菌。**结论** 临床需及时掌握败血症的细菌分布及其对抗菌药物的耐药现象和动态变化,对合理应用抗菌药物具有重要意义。

【关键词】 败血症; 细菌培养; 抗药性,细菌

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.06.025 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)06-0695-03

败血症是严重的全身性感染,病情复杂且死亡率较高,血培养是确立败血症的重要依据,明确败血症的病原菌,对临床有针对性地抗菌治疗至关重要,随着科技的发展,培养方法也从手工、半自动发展到全自动血培养仪的临床应用,提高了病原菌检出率,缩短了检测时间,为临床诊治败血症提供了快速、准确的病原菌诊断,为此,采用 VersaTREK240 血培养仪对 1 630 份临床标本进行检测,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源与采集

1.1.1 标本来源 来自本院 2009 年 1 月至 2010 年 6 月急诊及各病区患者临床血液标本 1 630 份。

1.1.2 标本采集 要求在抗生素使用前,发热初期或寒战时,间隔 10 min 采血两瓶。采血量应按成人 5~10 mL,儿童 3~5 mL 为宜,骨髓采集量常为 1~2 mL,立即注入专用需氧瓶。

1.1.3 仪器与试剂 一次性全封闭 VersaTREK240 系统专用需氧血培养瓶,全自动血培养系统(VersaTREK240),全自动微生物鉴定系统(ARIS2X)、药敏板、鉴定卡为英国先德公司产品。

1.2 标本处理

1.2.1 采集患者的血液标本,按 VersaTREK240 操作程序加入血培养瓶,该仪器温度保持在 35 ℃对每一个培养瓶进行 24 h 每 12 分钟自动连续检测。

1.2.2 阳性培养瓶处理 凡系统报告为阳性时,应及时转种血琼脂平板、麦康凯平板、巧克力平板,置 35 ℃培养 18~24 h,同时涂片做革兰染色、镜检,并将结果通知临床作为血培养的一级报告,将分离的菌株按操作程序做鉴定及药敏试验,经 16~24 h 后作最终报告。

1.2.3 阴性培养瓶处理 培养监测 7 d 后显示阴性瓶者,按常规步骤卸瓶,涂片镜检并盲种于血琼脂平板、麦康凯平板、巧克力平板置 35 ℃培养 18~24 h 后,若无细菌生长,方可报告无菌生长。

1.3 耐药菌检测 D-Test MRS ESBLs 采用 CLSI 2008 年推

荐的确证方法。

1.4 质量控制 采用金黄色葡萄球菌 ATCC25923、大肠埃希菌 ATCC25922 和铜绿假单胞菌 ATCC27853 进行药敏质控(购于省临床检验中心)。

1.5 数据分析 用 WHONET-5 软件进行分析。

2 结果

2.1 病原菌的分布 血样本总阳性率 11.9%。在检出的 204 株病原菌中,革兰阴性杆菌占 46.1%(94/204),其中大肠埃希菌 23.5%(48/204);革兰阳性球菌占 45.1%(92/204),以凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)为主,占 29.4%(60/204),其次为金黄色葡萄球菌占 11.8%(24/204);白色假丝酵母菌占 5.9%(12/204)。见表 1。

表 1 204 株微生物种类分布及构成比

细菌名称	株数	构成比 (%)	细菌名称	株数	构成比 (%)
革兰阴性杆菌	94	46.1	溶血葡萄球菌	15	7.3
大肠埃希菌	48	23.5	腐生葡萄球菌	7	3.4
阴沟肠杆菌	13	6.4	人葡萄球菌	6	2.9
铜绿假单胞菌	10	4.9	头葡萄球菌	6	2.9
鲍氏不动杆菌	8	3.9	其他 CNS	4	2.0
肺炎克雷伯菌	8	3.9	粪肠球菌	3	1.5
落氏不动杆菌	2	1.0	屎肠球菌	2	1.0
嗜麦芽窄食单胞菌	2	1.0	酪黄肠球菌	1	0.5
木糖氧化产碱杆菌	1	0.5	肺炎链球菌	1	0.5
芳香沙雷菌	1	0.5	停乳链球菌似马亚种	1	0.5
聚团多源菌	1	0.5	真菌	18	8.8
革兰阳性球菌	92	45.1	白色假丝酵母菌	12	5.9
金黄色葡萄球菌	24	11.8	热带假丝酵母菌	5	2.5
表皮葡萄球菌	22	10.8	季也蒙假丝酵母菌	1	0.5

2.2 细菌对抗菌药物的耐药率、耐甲氧西林葡萄球菌(MRS)的检出率 革兰阳性细菌对常用的首选抗菌药如青霉素、红霉素耐药率均大于 70%;革兰阴性细菌对氨苄西林、头孢唑啉耐药率均大于 90%。分离的主要病原菌对抗菌药物的耐药率见表 2、3。

表 2 革兰阳性菌对常用抗菌药物的耐药率

抗生素	CNS(<i>n</i> =56)		金黄色葡萄球菌(<i>n</i> =24)	
	株数	耐药率(%)	株数	耐药率(%)
青霉素	56	100.0	24	100.0
氨苄西林	51	91.1	22	91.7
苯唑西林(2%NaCl)	45	80.4	16	66.7
阿莫西林/舒巴坦	45	80.4	16	66.7
奎奴普汀/达福普汀	2	3.6	4	16.7
红霉素	41	73.2	17	70.8
克拉霉素	41	73.2	17	70.8
克林霉素	20	35.7	11	45.8
加替沙星	21	37.5	15	62.5
丙沙环星	25	44.6	17	70.8
庆大霉素	20	35.7	11	45.8
氯霉素	15	26.8	12	50.0
利福平	7	12.5	5	20.8
万古霉素	0	0.0	0	0.0

表 3 革兰阴性菌对常用抗菌药物的耐药率(%)

抗菌药物	大肠埃希菌(<i>n</i> =48)		阴沟肠杆菌(<i>n</i> =13)	
	株数	耐药率(%)	株数	耐药率(%)
氨苄西林	45	93.8	13	100.0
丁胺卡那	5	10.4	3	23.1
氨基南	34	70.8	7	53.8
头孢唑啉	42	87.5	12	92.3
复方磺胺	45	93.8	8	61.5
头孢曲松	40	83.3	5	38.5
头孢哌酮	37	77.1	7	53.8
头孢他啶	33	68.9	4	30.7
头孢吡肟	24	50.0	2	15.4
庆大霉素	37	77.1	7	53.8
亚胺硫霉素	0	0.0	0	0.0
头孢西丁	12	25.0	13	100.0
左氧氟沙星	34	70.8	3	23.1
妥布霉素	33	78.9	7	53.8

2.3 D-试验阳性率 84 株葡萄球菌属中,12 株(14.3%)为结构型耐药(CMLS),即对红霉素和克林霉素同时耐药;30 株(35.7%)为诱导型耐药(IMLS),即对红霉素耐药对克林霉素敏感,但 D-试验阳性。其中在红霉素耐药、克林霉素敏感体外表型中,显示诱导型克林霉素耐药在金黄色葡萄球菌、CNS 中

的比例分别为 53.8%(7/13)、63.8%(23/36)。葡萄球菌对红霉素和克林霉素不同耐药表型的菌株耐药率及 D-试验结果见表 4。

2.4 MRS 和产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)的检出率 血标本中共检出 CNS 60 株,其中 MRSCNS 有 45 株,检出率为占 80.4%。金黄色葡萄球菌 24 株,其中 MRSA 有 16 株,检出率为 61.5%。大肠埃希菌 48 株,其中产生 ESBLs 菌 16 株,检出率为 33.3%。

表 4 葡萄球菌对红霉素和克林霉素不同耐药表型的菌株耐药率及 D-试验结果[*n*(%)]

葡萄球菌属	<i>n</i>	红霉素、克林霉素均耐药	红霉素耐药 D-试验阳性	克林霉素敏感 D-试验阴性
金黄色葡萄球菌	24	11(45.8)	8(33.3)	4(16.7)
CNS	56	20(35.7)	22(39.3)	14(25.0)

3 讨 论

VersaTREK240 自动血培养系统,温度保持在 35℃,,样本置入后系统 24 h 连续监测样本每 12 分钟检测一次,集培养、检测于一体,完全排除了人为干预且为非介入性检测,减少了污染机会,可及时发现阳性结果,为尽快检出病原菌奠定了基础。血培养孵育时间,阳性报警时间与国内外报道一致^[1]。VersaTREK240 系统检出时间快,24 h 检出率为 78.4%,48 h 检出率为 94.2%,60 h 检出率为 100.0%,从而更及时地为临床诊治提供实验依据。

败血症指细菌侵入血液循环,并在其中繁殖和产生毒素所造成的严重全身性感染,有时还在体内产生迁移病灶引起新的感染。内源性低毒力条件致病菌的检出率则逐年呈上升趋势^[2]。本试验检测结果显示:金黄色葡萄球菌对常用的一线抗菌药如青霉素、氨苄青霉素、红霉素、克拉霉素等耐药率均大于 70.0%,而 CNS 耐药情况更严重,除对万古霉素、奎奴普汀/达福普汀、利福平有较低的耐药率(<20.0%)外,对其他的抗生素耐药率更高。革兰阴性细菌对氨苄西林、头孢唑啉等耐药率均大于 90%。大肠埃希菌对 β -内酰胺类抗菌药的耐药率逐年增高^[3],ESBLs 检出率 33.3%(16/48),致病性不容忽视,由于临床大量使用抗生素,特别是第 3 代头孢菌素,产 ESBLs 菌株呈上升趋势,因此进行病原菌的耐药性检测对指导临床合理用药十分重要。

近年来,大环内酯类、林可酰胺类抗菌药物被广泛用于治疗 MRS 引起的感染,特别是林可酰胺类抗菌药物克林霉素,其是 MRS 感染患者的一种常用选择^[4]。但 MRS 耐药率不断增高,且常有体外克林霉素敏感而临床治疗失败的病例发生。发现克林霉素存在诱导耐药现象,葡萄球菌属对大环内酯类抗菌药物的耐药机制主要有两种,即主动泵出和核糖体靶位改变。由 erm 基因介导的耐药又可以分为诱导型和结构型两种,结构型耐药是指被测菌株对红霉素和克林霉素均耐药,诱导型则对红霉素耐药而对克林霉素敏感,因此诱导型克林霉素耐药用标准的 K-B 法无法检测,需要使用 D-试验才能检测出。

本试验检测结果显示 24 株金黄色葡萄球菌和 60 株 CNS 中,结构型耐药菌株(即对红霉素和克林霉素均耐药)分别占 36.4%和 40.0%;诱导型耐药菌株(即对红霉素耐药对克林霉素敏,但 D-试验阳性)分别占 53.8%和 63.8%。D-试验被用于临床实验室检测红霉素对克林霉素的诱导耐药性,主要目的是避免不恰当使用克林霉素导致治疗失败。如果不做 D-试验,

则不能正确报告。根据 CLSI 规定, D-试验阴性, 可报告克林霉素敏感; 但当 D-试验阳性时, 报告克林霉素耐药, 而不报 MIC 值。为避免临床不合理使用克林霉素, 微生物实验室应常规开展 D-试验, 以保证克林霉素耐药检出的准确性, 指导临床医生更合理地使用抗菌药物^[5]。

总之, CNS、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、阴沟肠杆菌、白色假丝酵母菌是败血症的主要病原菌, 病原菌对抗菌药物的耐药性较高, 多药耐药菌株比较常见, 应引起高度重视。应依据细菌药敏结果、感染的途径及近年来本地区病原菌的变迁情况来选择抗菌药物, 以达最大的疗效, 减少耐药性的发生。

参考文献

[1] 朱成宾, 窦露, 夏勇祥. BacT/Alert 3D 血培养仪临床应用

- 评价[J]. 中华医院感染学杂志 2008, 18(8): 1198-1200.
- [2] 陈杏春, 赵丽. 血培养标本中病原菌的种类分布及其耐药性分析[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 19(19): 2650-1652.
- [3] 张才仕, 杨莲, 刘平. 大肠埃希菌产超广谱 β 2 内酰胺酶耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(3): 340-341.
- [4] 詹燊. 葡萄球菌属 D-试验阳性率调查及其临床意义[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(15): 2029-2029.
- [5] 魏绪廷, 杨霞. 葡萄球菌属对红霉素和克林霉素的诱导耐药性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(7): 921-923.

(收稿日期: 2010-10-11)

• 临床研究 •

云浮地区无偿献血者 RhD 阴性血型库的建立与临床应用

李惠玲, 蒋海燕, 郭矿玲(广东省云浮市中心血站 527300)

【摘要】 目的 了解云浮地区无偿献血者 Rh 血型分布规律, 建立无偿献血者 RhD 阴性血型库, 以满足临床需求, 保障输血安全。**方法** 采用 RhD 初筛试验及确证试验对 2005 年 1 月至 2009 年 12 月共 87 000 例无偿献血者血标本进行 RhD 血型鉴定, 经初筛和确证试验为 RhD 阴性的血标本用抗-C、抗-c、抗-E、抗-e 进行 Rh 血型抗原分型; 并建立 RhD 阴性献血者资料库, 采用计算机管理系统对资料库定期进行更新和维护; 对确认为 RhD 阴性的血液分别制备成悬浮红细胞、新鲜冷冻血浆, 普通冷冻血浆, 冷沉淀, 浓缩血小板等血液成分并贮存及时应用于 RhD 阴性受血者。**结果** 经 RhD 初筛试验及确证试验鉴定为 RhD 阴性献血者 235 例 (0. 27%), 其中 O 型 93 例 (39. 57%), A 型 65 例 (27. 66%), B 型 62 例 (26. 38%), AB 型 15 例 (6. 38%); Rh 抗原表型为 ccdee 和 Ccdee 者占 84. 26%; 5 年来共向临床 RhD 阴性受血者供应 RhD 阴性血液 248 U, 未发生溶血性输血不良反应及产生同种抗体。**结论** 建立 RhD 阴性献血者资料库, 提供 Rh 血型抗原表型相配合献血者的血液, 不仅可有效预防溶血性输血反应, 而且可以避免产生同种抗体, 并提高血液输注的疗效; 还可为云浮地区科学、合理地开发和利用血液资源, 确保临床用血的需要和安全发挥更为重要的作用。

【关键词】 RhD 阴性; 血型; 供血者

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 06. 026 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)06-0697-02

Rh 血型系统是红细胞血型系统中最复杂的血型系统, 有 50 多种抗原, 且具有高度多态性。在临床实践工作中, 对 RhD 阴性受血者通常主张选择 RhD 阴性血液进行输注, 因此, 临床对 RhD 阴性血液有一定的需求量。而我国汉族人群中 RhD 阴性的频率仅为 0. 2%~0. 5%^[1], 在我国 RhD 阴性血液属于稀有血型, 因此, RhD 阴性血液的采集和供给往往十分困难, 常常难以满足临床用血的需要。在紧急情况下, 如果给 RhD 阴性受血者输入 RhD 阳性的血液, 有 2/3 的受者会产生抗-D, 给以后的输血带来困难。除 D 抗原外, Rh 系统常见的抗原还有 C、c、E、e, 输入不相容的该类血液也会产生免疫性同种抗体, 已知占不规则抗体发生率的 50% 以上^[2]。因此, 建立 RhD 阴性血型库, 掌握更多的 Rh 阴性献血者信息并保存 Rh 阴性血液, 可以有效预防溶血性输血反应, 避免产生同种免疫性抗体, 并提高血液输注的疗效。为此, 作者将 2005 年 1 月至 2009 年 12 月筛选的 RhD 阴性无偿献血者汇集成信息库, 供临床使用的情况报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 2005 年 1 月至 2009 年 12 月采自云浮地区志愿无偿献血者, 符合《献血者健康检查要求》, 年龄 18~55 岁, 有自然分布的随机性和代表性。采血时留取献血者血标本, 经

EDTA-K₂ 抗凝。

1.2 方法 按照国家卫生部颁布《中国输血技术操作规程》(血站部分)^[3]进行。用 IgM 型抗-D 筛选试剂筛查无偿献血者血标本。对初筛结果为 RhD 阴性血标本, 以 3 种不同批号或不同来源的抗-D 单克隆试剂采用间接抗球蛋白方法进行确证实验。并进一步对鉴定为 RhD 阴性的标本进行抗-C、抗-c、抗-E、抗-e 进行 Rh 血型分型和红细胞不规则抗体筛选试验。

1.3 试剂和仪器 IgM-D 筛选试剂(由上海血液生物医药有限责任公司提供), 3 种不同批号或不同来源的抗-D 单克隆试剂抗-C、抗-c、抗-E、抗-e、抗球蛋白试剂(上海血液生物医药有限责任公司提供)、ABO 标准试剂红细胞由本站血型参比试验室自制。KA-2200 离心机(日本 KUBOT), 生物显微(Olympus-CX21)。

1.4 成分制备 按《血站成分血制备要求》将 RhD 阴性血液按计划制备成悬浮红细胞、新鲜冷冻血浆, 普通冷冻血浆, 冷沉淀, 浓缩血小板等血液制品。

1.5 建立 RhD 阴性献血者血型库 供临床使用综合储存献血者信息资料, 形成电子数据库, 内容包括姓名、性别、民族、出生年月、身份证号、通讯地址、联系电话及 ABO 血型等详细信息, 将各献血者的 Rh 血型资料、ABO 血型等个人信息分别录