

限公司)按说明进行操作。

1.2.4 诊断标准 按 BV 的诊断标准初诊断的患者不作任何治疗,嘱咐其停止性生活 3d 后复诊。BV 的诊断标准:(1)均匀而稀薄的分泌物;(2)分泌物 pH 值大于 4.5~4.7;(3)分泌物胺试验阳性;(4)分泌物涂片革兰染色检出线索细胞^[4]。4 项指标中,存在其中 3 项(第 4 项是必备指标)即可诊断为 BV。

1.3 统计学方法 采用 χ^2 检验。

2 结 果

超高倍显微镜检测法、BV 快速诊断法、革兰染色法检测结果见表 1。

表 1 3 种检测方法结果				
方法	<i>n</i>	阳性例数	阳性率(%)	<i>P</i>
超高倍显微镜检测法	946	169	17.9	>0.05
BV 快速诊断法	946	183	19.3	>0.05
革兰染色法	946	141	14.9	>0.05

946 例标本应用超高倍显微镜法、革兰染色法分别检出线索细胞 169 例、141 例,阳性率分别为 17.9%、14.9%,两种方法相比差异无统计学意义($P>0.05$)。两种方法的符合率为 96.5%。946 例标本中被确诊者共 188 例,占 19.9%。其中查出线索 177 例,占 18.7%。多胺法试验阳性者 183 例,占 19.3%,11 例线索细胞阴性患者,多胺试验皆为阳性。而 5 例多胺试验阴性者,其线索细胞皆为阳性,故两者结合同时检测,可大大提高阳性检出率。

3 讨 论

BV 的特征是阴道生态环境的改变,阴道菌群紊乱,正常、健康的阴道乳酸杆菌优势被高浓度的阴道加德纳杆菌、各种厌氧菌及人型支原体所取代,并占主导地位。使正常的菌群发生变化,从而导致 BV 的发生。

从阴道分泌物中查找线索细胞诊断细菌性阴道炎是门诊较为常用的检查方法。本文应用 ACT-2000 型超高倍显微镜直接取样涂片镜检,可直接观察到上皮细胞被短小杆菌侵袭的现象。该法对线索细胞的检出率与革兰染色法相比差异无统计学意义,且操作简便,标本无须染色,不用油镜。患者随到随检,检测时间短(一般为 15 min),费用低,非常适用于门诊患者

检查。但应该指出的是:该法是在显微镜下得出的结论,它受外界因素干扰较大,与工作人员的检测水平和责任心密不可分。革兰染色法由于需要染色,操作麻烦,检查较费时,不适用于在繁忙的门诊检验。通过对比分析,超高倍显微镜检测法具有快速、简便、成本低、直观等优点,是一种值得推广的实验室诊断方法。

同时对 946 例标本进行 BV 快速测试,结果 BV 实验阳性率为 19.3%,查找线索细胞阳性率为 17.9%,这说明两种方法差异无统计学意义($P>0.05$)。而 BV 检出率比涂片查线索细胞检出率略高的原因可能是:BV 快速诊断法简单、快速、方便^[5],但存在着个别标本的假阳性和假阴性。这与标本采集量、加入量及细菌构成比有关。如果在快速诊断的基础上再进行涂片查线索细胞,使结果更可靠、准确。同时,BV 快速测试法携带方便,适宜深入基层进行健康人群体检。

细菌性阴道病严重危害妇女身体健康,BV 的检测和涂片查线索细胞是诊断细菌性阴道病的主要依据。它为临床医生提供了可靠、准确的实验数据,作为检验工作者应该提高检验技术,使用高质量试剂盒及敏感性强、特异性高,准确度、精密度好的实验方法,提高检出的阳性率,防止漏检,减少假阳性、假阴性例数,更好地为患者服务。

参考文献

[1] 王则宇,杨红云,王艳晓,等.细菌性阴道病实验室检测现状和存在问题[J].中国皮肤性病学杂志,2004,18(3):187-188.
[2] 梁爱巧,郭步平.阴道炎的病因分析[J].山西职工医学院学报,2003,18(3):1819.
[3] 张卓然.临床微生物学和微生物检验[M].3版.北京:人民卫生出版社,2006:1.
[4] 宋绍业,农少云.纸片法胺试验检测加德纳菌[J].中华检验医学杂志,2000,23(5):293-294.
[5] 张莉.细菌性阴道病快速检测法的临床应用评价[J].临床和实验医学杂志,2006,5(11):1759-1760.

(收稿日期:2011-02-24)

• 临床研究 •

临床 1 021 株细菌耐药监测分析

周锋荣(湖南省耒阳市人民医院检验科 421800)

【摘要】 目的 调查临床感染细菌类型及其耐药趋势。**方法** 采用湖南天地人生物技术有限公司鉴定卡,采用 K-B 纸片扩散法,英国 Oxoid 公司的药物敏感纸片。**结果** 本院分离的 1 021 株感染菌前 5 位依次是大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、不动杆菌属。碳青霉烯类、喹诺酮类和氨基糖苷类药对革兰阴性杆菌保持低水平耐药,第一至三代头孢对革兰阴性杆菌高水平耐药,且有上升趋势。**结论** 通过对细菌耐药性的监测,指导临床合理使用抗菌药物。

【关键词】 细菌; β -内酰胺酶; 耐药趋势

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.15.045 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)15-1873-03

抗菌药物的滥用导致耐药菌株引起的感染日益严重,临床发现了许多难以治疗的感染。为了解本院临床细菌感染类型及其耐药趋势,对从本院 2008 年 1 月至 2011 年 1 月住院和门

诊患者标本中分离的 1 021 株细菌进行分析。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2008 年 1 月至 2011 年 1 月本院住院及门诊

感染患者的血液、痰、粪便、清洁中段尿、伤口分泌物等各种临床标本共分离培养阳性菌 1 021 株。

1.2 标本处理 严格按照《全国临床检验操作规程》第 2 版执行采样,并立即送微生物实验室培养。血液标本采样后放入 Bact/Alert3D60 全自动血培养分析仪中培养。痰、清洁中段尿和伤口分泌物接种哥伦比亚血平板和中国兰培养基。粪便接种 SS 平板和麦康凯平板。于 35 ℃ 培养 18~24 h。

1.3 细菌的鉴定 观察菌落形态,进行革兰染色并进行初步实验,然后采用湖南天地人生物技术有限公司的鉴定卡将细菌鉴定到种。

1.4 药物敏感试验 采用世界卫生组织推荐的 K-B 纸片扩散法,贝瑞特生物技术(郑州)有限责任公司的 M-H 平板,英国 Oxoid 公司的药物敏感纸片。结果按照美国临床实验室标准化协会标准(2009 年)判读^[1]。参考菌株:金黄色葡萄球菌 ATCC25923,大肠埃希菌 ATCC25922,铜绿假单胞菌

ATCC27853。

2 结 果

2.1 1 021 株细菌的构成比 本院临床标本分离菌前 5 位分别为大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、不动杆菌属。见表 1。

表 1 临床感染常见细菌构成表[n(%)]

细菌	合计	2008 年	2009 年	2010 年
大肠埃希菌	209	52(17.50)	76(22.89)	81(20.66)
肺炎克雷伯菌	145	37(12.46)	47(14.16)	61(15.56)
铜绿假单胞菌	123	21(7.01)	40(12.05)	62(15.82)
金黄色葡萄球菌	81	30(10.10)	28(8.43)	23(5.87)
不动杆菌属	49	13(4.38)	19(5.72)	17(4.34)

表 2 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌常用药物耐药率及耐药变迁

抗菌药物	大肠埃希菌			肺炎克雷伯菌		
	2008 年(n=52)	2009 年(n=76)	2010 年(n=81)	2008 年(n=52)	2009 年(n=76)	2010 年(n=81)
氨苄西林	46(88.5)	73(96.1)	75(92.6)	19(51.4)	41(87.2)	56(91.8)
氨曲南	23(44.2)	47(61.8)	47(58.0)	17(45.9)	14(29.8)	28(45.9)
头孢哌酮	42(80.8)	62(81.6)	64(79.0)	10(27.0)	11(23.4)	23(37.7)
头孢他啶	12(23.1)	30(39.5)	40(49.4)	5(13.5)	8(17.0)	23(37.7)
头孢噻肟	36(69.2)	53(69.7)	61(75.3)	9(24.3)	10(21.3)	21(34.4)
头孢噻吩	41(78.8)	64(84.2)	74(91.4)	22(59.5)	19(40.4)	37(60.7)
头孢吡肟	30(57.7)	48(63.1)	56(69.1)	7(18.9)	11(23.4)	29(47.5)
左氧氟沙星	26(50.0)	15(19.7)	5(6.2)	6(16.2)	2(4.3)	0(0)
美洛培南	3(5.8)	0(0)	0(0)	2(5.4)	2(4.3)	1(1.6)
阿米卡星	4(7.7)	2(2.6)	0(0)	4(10.8)	0(0)	0(0)
头孢曲松	37(71.2)	52(68.4)	62(76.5)	10(27.0)	10(21.3)	22(36.0)
哌拉西林/他唑巴坦	12(23.1)	8(10.5)	25(30.9)	4(10.8)	6(12.8)	18(29.5)
氨苄西林/舒巴坦	27(51.9)	22(28.9)	50(61.7)	6(16.2)	6(12.8)	28(45.9)

表 3 金黄色葡萄球菌常用药物耐药率及耐药变迁[n(%)]

抗菌药物	2008 年(n=30)	2009 年(n=28)	2010 年(n=23)
阿齐霉素	21(70.0)	16(57.1)	19(82.6)
氨苄西林/舒巴坦	2(6.7)	18(64.3)	17(73.9)
苯唑青霉素	22(73.3)	14(50.0)	17(73.9)
复方新诺明	18(60.0)	10(35.7)	14(60.9)
红霉素	21(70.0)	16(57.1)	18(78.3)
环丙沙星	9(30.0)	8(28.6)	11(47.8)
克林霉素	16(53.3)	11(39.3)	15(65.2)
洛美沙星	11(36.7)	9(32.1)	11(47.8)
美洛培南	2(6.7)	16(57.1)	17(73.9)
青霉素	30(100.0)	27(96.4)	23(100.0)
庆大霉素	8(26.7)	6(21.4)	14(60.9)
头孢他定	10(33.3)	19(67.9)	17(73.9)
头孢唑肟	3(10.0)	14(50.0)	17(73.9)
万古霉素	0(0)	0(0)	0(0)
左氧氟沙星	5(16.7)	3(10.7)	9(39.1)

2.2 肠杆菌科常用药物耐药率及耐药变迁 大肠埃希菌对第一至三代头孢类药有较高水平耐药,并有逐年增长趋势。碳青酶烯类、喹诺酮类和氨基糖苷类药对大肠埃希菌高度敏感。肺炎克雷伯菌对第一至三代头孢类药耐药有增长趋势。对碳青酶烯类、喹诺酮类和氨基糖苷类药高度敏感。见表 2。

2.3 金黄色葡萄球菌常用药物耐药率及耐药变迁 金黄色葡萄球菌对万古霉素 100%敏感,对喹诺酮类敏感性高。对青霉素近 100%耐药。其他药物耐药逐年增长,形势不容乐观。见表 3。

2.4 非发酵菌常用药物耐药率及耐药变迁 非发酵菌对碳青酶烯类、喹诺酮类和氨基糖苷类药敏感性高。第一至三代头孢敏感性较低。见表 4。

2.5 产酶菌的变迁 革兰阴性杆菌产酶率越来越高。金黄色葡萄球菌也保持较高水平。见表 5。

表 4 铜绿假单胞菌和不动杆菌属常用药物耐药率及耐药变迁[n(%)]

抗菌药物	铜绿假单胞菌			不动杆菌属		
	2008 年(n=21)	2009 年(n=40)	2010 年(n=62)	2008 年(n=13)	2009 年(n=19)	2010 年(n=17)
阿米卡星	4(19.1)	1(2.5)	2(3.2)	1(7.7)	2(10.5)	10(58.8)
氨曲南	7(33.3)	8(20.0)	26(41.9)	6(46.2)	0(0)	0(0)
美洛培南	2(9.5)	0(0)	18(29.0)	0(0)	2(10.5)	8(47.1)
庆大霉素	3(14.3)	13(32.5)	8(12.9)	3(23.1)	7(36.8)	10(58.8)
头孢吡肟	5(23.8)	7(17.5)	21(33.9)	3(23.1)	8(42.1)	7(41.2)
头孢哌酮	7(33.3)	12(30.0)	17(27.4)	3(23.1)	0(0)	0(0)
头孢曲松	7(33.3)	20(50.0)	26(41.9)	4(30.8)	7(36.8)	9(52.9)
头孢噻肟	6(28.6)	17(42.5)	26(41.9)	3(23.1)	9(47.4)	8(47.1)
头孢他定	5(23.8)	8(20.0)	23(37.1)	3(23.1)	5(26.3)	10(58.8)
左氧氟沙星	1(4.8)	4(10.0)	4(6.5)	3(23.1)	1(5.3)	2(11.8)
哌拉西林/他唑巴坦	2(9.5)	9(22.5)	34(54.8)	5(38.5)	5(26.3)	11(64.7)

表 5 产酶菌的变迁(%)

细菌	超广谱 β-内酰胺酶			耐甲氧西林金黄色葡萄球菌		
	2008 年	2009 年	2010 年	2008 年	2009 年	2010 年
大肠埃希菌	46.1	53.9	62.2	—	—	—
肺炎克雷伯菌	22.2	20.0	37.9	—	—	—
金黄色葡萄球菌	—	—	—	50.0	28.6	43.5

注：—表示无数据。

3 讨 论

通过对本院感染细菌类型、构成、耐药及耐药变迁分析可见革兰阴性杆菌在本院感染中占有很大比例。革兰阴性杆菌总体构成比依次为 41.4%、55.3%、56.2%，有上升的趋势。产酶菌的比例也年年新高。产生 β-内酰胺酶(BLA)是革兰阴性杆菌对 β-内酰胺类抗生素耐药的主要机制^[2-4]。因此要想有针对性的选药、用药,首先要了解 BLA。根据 Ambler 的分子结构分类和 Bush 的功能分类方法,可将 BLA 分成 1~4 类(或 A、B、C、D 类)。Ⅰ类头孢菌素酶:由染色体介导的酶,产生菌主要是革兰阴性杆菌,对第一至三代头孢菌素和单酰胺类、头霉素类、氨基糖苷类及抗假单胞青霉素类均耐药,但对碳青霉烯类、第四代头孢菌素和喹诺酮类敏感,对酶抑制剂耐药。Ⅱ类是质粒介导的酶:分 8 个亚类,除 2d 亚类其他均为 A 类,包括革兰阳性菌的青霉素酶,TEM 和 SHV 酶及其衍生物组成的超广谱 BLA 等。该类酶常见病原菌为金黄色葡萄球菌、肠球菌、大肠埃希菌、假单胞菌、不动杆菌。对羟氨苄青霉素、羧噻吩青霉素、哌拉西林、第一至三代头孢菌素及氨曲南耐药,对 BLA 抑制剂复合制剂敏感。Ⅲ类为金属酶:是几乎可水解所有 β-内酰胺类抗生素,包括碳青霉烯类抗生素的金属酶。但对氨曲南敏感,酶活性可被乙二胺四乙酸抑制。Ⅳ类为染色体介导的青霉素酶,此酶耐克拉维酸。其中最主要的是第Ⅱ类^[5]。随着第三代头孢菌素及其他 β-内酰胺类抗生素的广泛使用,产酶菌增加很快。世界上许多国家和地区都有产酶菌流行的报道,国内也有许多产酶菌的报道。因此国内外专家一致认为广

谱头孢菌素类,尤其是第三代头孢菌素的广泛使用产生的选择性压力,是导致产酶菌增加的主要原因。因此掌握耐药菌株的耐药特性及用药对策,才会使临床用药更加合理化、科学化。在本院大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和非发酵菌对碳青霉烯类、喹诺酮类和氨基糖苷类药敏感性高,这与国内某些报道相符^[6]。对第一至三代头孢敏感性低。金黄色葡萄球菌对万古霉素 100%敏感,对喹诺酮类敏感性高。因此临床可选用碳青霉烯类和喹诺酮类药作为治疗耐药菌的首选药。

由于 BLA 的产生,耐药菌株的日益增多,给临床用药带来了极大困难。所以能不能掌握耐药菌株的耐药特性及用药对策,建立适当的检测方法和报告制度,及时、准确地向临床提供合理用药方案,是微生物工作者努力工作的方向,更是不可推卸的责任。

参考文献

[1] CLSI. M100-S19:Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement[S]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009.

[2] 邵海枫. Ampc 酶的研究进展[J]. 临床检验杂志, 2002, 20 (特刊): 61-62.

[3] 左艳君, 杨冉, 李捷, 等. 产超广谱 β-内酰胺酶细菌耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(9): 655-656.

[4] 党丹京. 细菌耐药机制研究新进展[J]. 临床和实验医学杂志, 2009, 8(9): 134-135.

[5] 倪语星. 革兰阴性菌 β-内酰胺酶的耐药性问题[J]. 中华检验医学杂志, 2001, 24(4): 201-203.

[6] 阳宇, 王大果, 欧逸华. 尿路感染病原菌中产超广谱 β-内酰胺酶菌的药敏分析[J]. 中南药学, 2009, 7(4): 311-313.

(收稿日期: 2011-04-17)