

pancreatic cystic tumors [J]. Cancer, 1996, 78 (2): 237-243.

[7] 刘功传,胡乃中,徐刚. 消化系统肿瘤患者血清 CA50 和 CA199 免疫放射分析的比较[J]. 临床消化病杂志, 2000, 12(2):51-53.

[8] 闫丽坦,吴莉,孔超. 术后联合检测 CA50、CA199、CA242、CEA 在胰腺癌观察中的应用[J]. 中国健康文摘, 2011,8(1):50-52.

[9] 樊孝廉,王昆,曾昭林,等. 术前联合检测血清肿瘤标志物诊断消化系统肿瘤的临床价值[J]. 岭南现代临床外科, 2006,6(4):273-275.

[10] 杨雪梅,左向华,孙士欣,等. 3 项血清肿瘤标志物检测在结直肠癌诊断中的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2013,34 (16):2107-2108.

[11] 陈宁,谢芳. 肿瘤标志物 CA199、CEA 和 CA50 联合检测在消化道肿瘤诊断中的临床意义[J]. 中国初级卫生保健, 2013,27(1):115-116.

[12] 韦振元,王洁,杨永青. CA 系列对恶性肿瘤诊断临床表达的价值[J]. 放射免疫学杂志, 2002,15(2):84-86.

(收稿日期:2014-12-18 修回日期:2015-06-30)

• 临床探讨 •

老年医院肠杆菌科细菌耐药分析

翁绳凤,刘宏蕴,宋 洋,王 艳,商继周(北京老年医院检验科 100095)

【摘要】 目的 了解北京老年医院 2010~2012 年临床常见肠杆菌科细菌耐药情况及研究耐碳青霉烯类细菌基因类别。**方法** 收集该院 2010~2012 年临床分离的肠杆菌科细菌 1 528 株,对亚胺培南和美罗培南敏感性下降的菌株采用改良 Hodge 试验进行产碳青霉烯酶确认,PCR 扩增试验分析其耐药基因类别。**结果** 1 528 株肠杆菌科细菌中,排前 3 位的细菌是大肠埃希菌(48.49%)、肺炎克雷伯菌(22.84%)及变形杆菌属(18.39%)。其中大肠埃希菌对 3 代头孢菌素类和喹诺酮类药物耐药率达 80% 以上;阿米卡星及哌拉西林/他唑巴坦,头孢哌酮/舒巴坦(含酶抑制剂复合抗菌药)对主要肠杆菌科细菌仍保持较高的抗菌活性;对美罗培南耐药 5 株,亚胺培南中介敏感 4 株。经改良 Hodge 试验确证:4 株为产碳青霉烯酶株,均为肺炎克雷伯菌,PCR 检测均为碳青霉烯酶 blaKPC-2 基因型。**结论** 该院产碳青霉烯酶的肠杆菌科细菌均为肺炎克雷伯菌且均为 blaKPC-2 基因型。临床与实验室应加强监控,防止耐药基因的传播。

【关键词】 肠杆菌科; 碳青霉烯酶; 抗药性; 基因型

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.21.048 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)21-3250-03

老年人免疫功能低下,病情复杂,住院时间较长,广谱抗菌药物的不合理使用,造成耐药菌株的增加,已成为临床治疗棘手的问题。肠杆菌是临床重要医院感染菌,近年来肠杆菌科细菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药现象日趋增加^[1-2],给临床抗感染治疗带来极大困难。因此,本文对 2010 年至 2012 年临床分离的肠杆菌科细菌进行耐药分析并研究碳青霉烯酶 KPC 基因类别,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 菌株来源 收集本院 2010 年 1 月至 2012 年 12 月住院患者所有标本中分离出肠杆菌科细菌,共 1 528 株。剔除同一患者相同部位的重复菌株。

1.2 药敏试验 采用 Phoenix100 全自动分析仪进行药物敏感试验,K-B 纸片扩散法作为药敏补充试验。结果按美国 2010 年版 CLSI 中判读标准报告。抗菌药物纸片及药敏试验培养基 MH 琼脂均为英国 OXOID 公司产品。质控菌株为大肠埃希菌 ATC25922,肺炎克雷伯菌 ATCC700603。采用 WHONET5.6 进行耐药性分析。

1.3 碳青霉烯酶检测 对头孢噻肟、头孢曲松和头孢他啶中一种或多种耐药;美罗培南最低抑菌浓度(MIC)≥2 μg/mL;亚胺培南 MIC≥2 μg/mL,满足以上任一项的肠杆菌科菌株进行 Hodge 试验,确证是否产碳青霉烯酶。

1.4 改良 Hodge 试验 制备 0.5 麦氏浊度单位的大肠埃希菌 ATCC25922 菌液,10 倍稀释,用棉签取菌液均匀涂抹 M-H 平板,中间贴亚胺培南 10 μg 纸片,再用无菌接种环将待测菌

株从纸片边缘向外划线;阴性对照用 ATCC700603,阳性对照为 KPC-2 的肺炎克雷伯菌。35℃ 培养 16~18 h 后观察结果。

1.5 PCR 扩增及测序 Hodge 试验阳性的菌株送至北京大学临床药理研究所进行 PCR 扩增及测序,检测其耐药基因型。

2 结果

2.1 肠杆菌科细菌分离情况 1 528 株肠杆菌科细菌中,排前 3 位的细菌是大肠埃希菌 741 株(48.49%)、肺炎克雷伯菌 349 株(22.84%)及变形杆菌属 281 株(18.39%)。

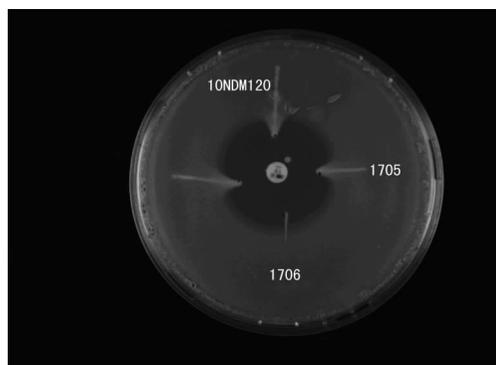
2.2 药敏试验结果 1 528 株肠杆菌科细菌中 759 株(49.67%)对第 3 代头孢菌素类(头孢噻肟)耐药,746 株(48.82%)对第 4 代头孢菌素类(头孢吡肟)耐药,5 株对美罗培南耐药,4 株对亚胺培南呈中介敏感性。其中 2 株为大肠埃希菌,7 株为肺炎克雷伯菌。碳青霉烯类(亚胺培南、美罗培南)、阿米卡星、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦(含酶抑制剂复合抗菌药)对主要肠杆菌科细菌仍保持较高的抗菌活性,菌株对头孢菌素类及氟喹诺酮类药物耐药性较高。结果见表 1。

表 1 2010~2012 年常见肠杆菌科分离菌耐药率(%)

抗菌药物	大肠埃希菌 (n=741)	肺炎克雷伯菌 (n=349)	变形杆菌属 (n=281)
阿米卡星	11.74	20.12	10.21
阿莫西林/克拉维酸	65.45	43.68	31.34
头孢噻肟	80.16	58.96	50.26

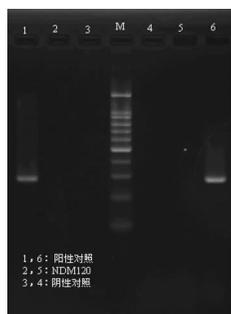
续表 1 2010~2012 年常见肠杆菌科分离菌耐药率(%)

抗菌药物	大肠埃希菌 (n=741)	肺炎克雷伯菌 (n=349)	变形杆菌属 (n=281)
复方磺胺甲恶唑	56.27	38.25	59.24
环丙沙星	85.36	46.93	73.47
哌拉西林/他唑巴坦	25.21	36.52	4.12
美罗培南	0.00	1.43	0.00
亚胺培南	0.00	1.14	0.00
头孢他啶	72.04	54.43	28.10
头孢吡肟	75.11	50.49	39.12
左氧氟沙星	83.42	38.25	67.35
头孢哌酮/舒巴坦	47.64	39.38	4.91
妥布霉素	63.72	39.62	37.44
庆大霉素	66.52	32.87	37.54



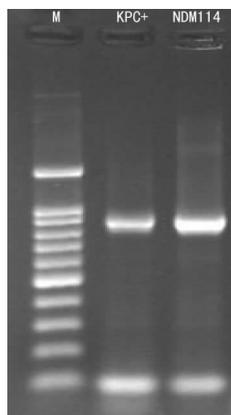
注:1705 为阳性对照,1706 为阴性对照。

图 1 改良 Hodge 试验结果



注:ndm-新德里金属酶。

图 2 PCR 扩增 ndm 基因结果



注:kpc-肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶。

图 3 PCR 扩增 blaKPC 基因结果

2.3 改良 Hodge 试验结果 4 株 Hodge 试验阳性,均为肺炎

克雷伯菌,与阳性对照一样,菌落出现矢状生长,其他菌株均为阴性。见图 1(以菌株编号 10NDM120 为例)。

2.4 PCR 扩增 blaKPC 及 DNA 测序比对 Hodge 试验阳性菌株送至北京大学临床药理研究所进行 PCR 检测。检测结果:实时定量荧光 PCR 法检测 ndm 基因为阴性,普通 PCR 法检测 kpc 基因为阳性。见图 2 和图 3。

3 讨论

本院大多数是老年患者,基础疾病多,容易反复感染,反复接受抗菌药物治疗更易出现耐药菌。研究数据也表明耐药率有所上升。如大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌,原本敏感性较高的头孢哌酮/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦现耐药率在 25%~50%;对头孢噻肟、头孢他啶、头孢吡肟的耐药率在 50%~81%,可能与这些药物过度使用有关。本研究结果同时发现大肠埃希菌对环丙沙星和左氧氟沙星耐药率在 80%以上;肺炎克雷伯菌耐药率也在 38%~50%。超过中国细菌耐药监测研究组的数据^[3](大肠埃希菌对环丙沙星、左氧氟沙星耐药率高达 50%~60%)。这是因为氟喹诺酮类药物为广谱抗菌药物,被作为感染预防手段广泛用于临床。阿米卡星对主要 3 种肠杆菌科细菌仍保持较高抗菌活性(耐药率在 10%~21%)。

目前,碳青霉烯类药物耐药的肠杆菌科细菌已在很多国家出现和被报道^[4-7],特别是产 KPC 和金属酶的肠杆菌科细菌在全球许多地区已出现暴发流行。鉴于此,CLSI 提出,当肠杆菌科细菌对一种或多种第 3 代头孢菌素耐药并对碳青霉烯类药物的 MIC 有升高(厄他培南、亚胺培南、美罗培南之一的 MIC $\geq 2 \mu\text{g/mL}$),需对菌株进行碳青霉烯酶表型确证试验^[8]。CLSI 认为改良 Hodge 试验在确证碳青霉烯酶时敏感度和特异度均超过 90%,虽然有报道称改良 Hodge 试验在检测产 KPC 型碳青霉烯酶菌株时会出现假阳性结果^[9],但灵敏度与特异度仍高于传统方法,而且操作相对简单,值得实验室推广,及早发现耐药株。

本研究中碳青霉烯类药物敏感性下降占 1.4%左右,发现耐亚胺培南或美罗培南肺炎克雷伯菌。近年来研究发现炎症、基础疾病,氟喹诺酮类药物的应用,广谱头孢菌素的应用及曾接受碳青霉烯类药物的治疗成为对碳青霉烯类药物耐药的肺炎克雷伯菌的独立危险因素^[10]。

KPC-2 首先在肺炎克雷伯菌中被发现^[11]。产 KPC-2 型碳青霉烯酶菌株在世界各地均有报道,已发现其宿主菌包括肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌、阴沟肠杆菌、沙门菌属和大肠埃希菌等肠杆菌科细菌^[12-15]。本次研究显示本院产碳青霉烯酶细菌均为肺炎克雷伯菌且基因型为 blaKPC-2,未发现其他产碳青霉烯酶肠杆菌科细菌。目前碳青霉烯类抗菌药物对常见肠杆菌科细菌仍保持较高的抗菌活性(耐药率低于 2%),是目前治疗多重耐药肠杆菌科细菌引起的严重感染的首选。但研究显示在本院这类药也在面临挑战,出现不同程度耐药。虽然出现例数不多,但也是预警信号,细菌耐药监测是一项长期而重要的工作,临床与实验室应重视对此类细菌的监测,防止耐药基因在细菌间传播。

参考文献

[1] Zarfel G, Hoenigl M, Wurstl B, et al. Emergence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in Austria[J]. Clin Microbiol Infect, 2011, 17(11):5-8.
 [2] 蒯守刚,邵海枫,王卫萍,等. 大肠埃希菌质粒型碳青霉烯

- 酶 KPC-2 检测与分析[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(10): 1120-1123.
- [3] 李家泰, 李耘, 齐慧敏, 等. 2002~2003 年中国革兰阴性细菌耐药性监测研究[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(1): 19-29
- [4] Vatopoulos A. High rates of metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece—a review of the current evidence[J]. Euro Surveill, 2008, 13(4): 1-6.
- [5] Oteo J, Delgado-Iribarren A, Vega D, et al. Emergence of imipenem resistance in clinical *Escherichia coli* during therapy[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 32(6): 534-537.
- [6] Kaczmarek FM, Dib-Hajj F, Shang W, et al. High-level carbapenem resistance in a *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate is due to the combination of bls (ACT-1) beta-lactamase production, porin OmpK35/36 insertional inactivation, and down-regulation of the phosphate transport porin phoE[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(10): 3396-3406.
- [7] 代芳芳, 赵秀英, 于艳华, 等. 慢性肝病患者胸腹水标本病原菌检测及耐药性分析[J]. 北京医学, 2013, 35(3): 164-167.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute. Method for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard—seventh edition. CLSI document M7-A7[M]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006.
- [9] 杨启文, 郑瑞, 王辉, 等. 改良 Hodge 试验检测肠杆菌科细菌碳青霉烯酶的性能评估[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(12): 451-455.
- [10] 胡付品. 碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌的耐药机制及其所致医院感染控制研究[D]. 上海: 复旦大学, 2010: 73-84.
- [11] Smith Moland E, Hanson ND, Herrera VL, et al. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolates[J]. J Antimicrob Chemother, 2003, 51(3): 711-714.
- [12] Bratu S, Mooty M, Nichani S, et al. Emergence of KPC-Possessing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, New York: epidemiology and recommendation for detection[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(7): 3018-3020.
- [13] Yisit H, Queenan AM, Rasheed JK, et al. Carbapenem-resistant strain of *Klebsiella oxytoca* harboring carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC-2[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(12): 3881-3889.
- [14] Hossain A, Ferraro MJ, Pino RM, et al. Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing enzyme KPC-2 in an Enterobacter spp[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(11): 4438-4440.
- [15] Urban C, Brandford PA, Tuckman N, et al. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* harboring *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase associated with long-term care facilities [J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(11): 127-130.

(收稿日期: 2015-02-25 修回日期: 2015-06-28)

• 临床探讨 •

血清神经元特异性烯醇化酶和血尿酸检测在急性脑梗死中的临床应用

黄翠波, 韦仕瑜(广西医科大学附属民族医院检验科, 南宁 530001)

【摘要】 目的 探讨急性脑梗死患者血清中的神经元特异性烯醇化酶(NSE)、血尿酸(UA)的浓度变化, 了解NSE、UA在急性脑梗死中的临床应用。方法 在入院当天把急性脑梗死患者按影像学检查提示的梗死病灶面积大小分为大面积梗死组(50例)、小面积梗死组(64例), 以健康对照组(100例)为对照, 分别测定各组研究对象的血清NSE、UA; 按神经功能缺损分为轻度损伤组、中度损伤组、重度损伤组, 分别测定各组NSE、UA浓度, 对所测结果进行相关性分析。结果 急性脑梗死患者血清中NSE、UA浓度在大面积梗死组与小面积梗死组、健康对照组间两两差异有统计学意义($P < 0.05$); NSE、UA浓度与入院时的轻度组、中度组、重度组存在正相关。结论 通过测定急性脑梗死患者血清中的NSE、UA浓度变化可判断梗死面积的大小, 同时NSE、UA浓度与病情严重程度呈正相关, 对急性脑梗死的早期诊断及病情的正确评估有指导性意义。

【关键词】 急性脑梗死; 神经元特异性烯醇化酶; 血尿酸

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.21.049 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)21-3252-03

随着我国社会老龄化的发展及人们膳食的改变, 脑血管病成为继心脏病后的一种高致死性疾病, 并呈逐年上升趋势, 这引起医务工作者的极大关注。神经元特异性烯醇化酶(NSE)在脑组织细胞中的活性最高, 是一种特异性的脑损伤标志物^[1], 血尿酸(UA)与心脑血管疾病密切相关。因此本研究通过监测急性脑梗死患者血清中NSE、UA的变化, 探讨两者在急性脑梗死中的应用价值。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2012年6月至2014年12月入住本院神经内科的急性脑梗死患者114例, 排除糖尿病、心脏病、癌症、自身免疫性疾病、痛风、血液病、感染等影响血尿酸水平的疾病, 近期未用过影响血尿酸药物的患者, 男64例、女50例, 平均年龄(62 ± 12)岁, 各患者头部CT或MRI影像学检查确诊脑梗死, 按影像学检查提示的梗死病灶面积大小分为: 大面