

象。晚幼红细胞含有细胞核,不被溶血素破坏,体积  $> 35$  fl, 仪器也就把它误当作 WBC 计数,从而得到了错误的计数结果。此时按常规稀释再用仪器计数也不能消除,人工计数即可避免此类问题<sup>[4]</sup>。

本文结果显示此类病例仪器法和显微镜法的测定结果差异有显著性( $P < 0.01$ ),在 WBC 分类中仪器的淋巴细胞百分率明显高于显微镜法。其干扰时直方图特点是:晚幼红细胞干扰直方图为一单峰,峰值约在 35 fl 左右,红系参数异常。涂片染色镜检:血片中存在大量的晚幼红细胞 6 例。晚幼红细胞不被溶血剂破坏,误当作 WBC 计数,证实直方图中异常峰为晚幼红细胞干扰<sup>[5]</sup>。血小板干扰直方图为双峰,在 35 fl 左右出现异常峰值。涂片染色镜检:血片中存在大量的巨血小板 2 例,血小板聚集 18 例,证实在 35 fl 左右出现异常峰值是由于以上

干扰所致,而另一峰为白细胞峰。由此可见,晚幼红细胞、血小板聚集或巨血小板是干扰血液分析仪计数白细胞的主要原因。对于这类问题只要复片镜检、人工计数即可得到真实的各项 WBC 参数,消除各方面的影响,为临床诊疗提供准确的数据。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [1] 王鸿利. 血液学和血液学检验[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 208.
- [2] 张遂一. 血液分析仪测定的白细胞计数严重失误 2 例报告和分折[J]. 上海医学检验杂志, 1997, 12(3): 187.
- [3] 杨锡花. AC-920 血液分析仪白细胞分类计数和人工镜检结果对照分析[J]. 滨州医学院学报, 1997, 20(1): 42.
- [4] 周谊民, 王 曦, 邢 晖, 等. 五分类血液分析仪对白血病白细胞与血小板分布图形的分析探讨[J]. 中华医学杂志, 1997, 21(2): 91~92.
- [5] 刘忠伦, 许东琳, 楚建军, 等. 血液分析仪白细胞直方图在血液病中的意义[J]. 淮海医药, 2001, 19(4): 265~267.

[ 文章编号 ] 1000-2200(2004)06-0566-02

· 检验医学 ·

## 下呼吸道感染标本流感嗜血杆菌分离鉴定及药敏分析

郝维敏

[ 摘要 ] 目的: 分离鉴定下呼吸道感染标本流感嗜血杆菌并行药敏分析, 为临床选用抗生素治疗提供依据。方法: 用改良哥伦比亚巧克力琼脂(ICCA)法, 分离流感嗜血杆菌, 对阳性者再做 $\beta$ -内酰胺酶试验。以 K-B 法进行药敏检测。结果: 67 例下呼吸道感染的患者标本中分离出流感嗜血杆菌 24 例, 阳性率 35.8%。其中 $\beta$ -内酰胺酶试验阳性者 3 例, 阳性率 12.5%。结论: 亚胺培南、阿莫西林-克拉维酸对此菌的抗菌活性较高, 敏感率达 100%, 而红霉素、复方磺胺甲噁唑等抗菌活性较低。

[ 关键词 ] 流感嗜血杆菌; 鉴定; 微生物敏感试验; 呼吸道感染

[ 中国图书资料分类号 ] R 378.41 [ 文献标识码 ] A

流感嗜血杆菌(*Haemophilus, Hi*)是一大群无动力、无芽胞、呈球杆状、杆状或长丝状等多形性的革兰阴性杆菌。根据其荚膜多糖的抗原性, 将流感嗜血杆菌分为六型(a~f), 其中 b 型致病力最强, 其荚膜抗原为多聚核糖核醇型磷酸盐(polyribosinitol phosphate; PRP)<sup>[1]</sup>, 主要存在于上呼吸道中, 因它的生长需要 V 和 X 因子, 故临床对其检出率较低。近年来, 国内外流感嗜血杆菌感染发病呈上升趋势, 且耐药率、耐药范围有所增加。20 世纪 60~70 年代, 氨苄西林为治疗 Hi 的首选药物, 用量大, 范围广。但随着产 $\beta$ -内酰胺酶的菌株不断增加, 氨苄西林耐药菌株随之出现, 并逐渐增加, 给治疗带来一定

的困难, 因此在全球范围内引起关注。现将从下呼吸道感染的标本中分离出的 Hi 进行药敏分析。

### 1 材料与方法

1.1 分离与鉴定 (1)标本收集: 2002 年 11 月~2003 年 10 月本院门诊就诊患有下呼吸道感染者 67 例, 且未用过抗生素。采取自然咯痰法, 清晨留取标本, 咳痰于无菌具塞玻璃瓶中, 收集后立即送检。67 例患者中, 男 36 例, 女 31 例; 年龄 4~83 岁。(2)培养基: 改良哥伦比亚琼脂(ICCA)按量称取哥伦比亚琼脂粉、胰蛋白粉、淀粉、酵母粉、琼脂粉, 加热溶解, 高压灭菌后冷却加脱纤维羊血和万古霉素, 制成含万古霉素的巧克力平板。质控菌 ATCC49249 及 ATCC49766。(3)检测方法: 标本接种于上述平板, 常规培养 8~12 h 后, 挑取可疑菌

[ 收稿日期 ] 2004-04-30

[ 作者单位 ] 安徽省宿州市立医院 检验科, 234000

[ 作者简介 ] 郝维敏(1968-), 女, 安徽宿州人, 主管检验师。

落,革兰染色镜检。如为  $G^-$  小杆菌,再做 V 因子、X 因子利用试验,然后用 APINH 条鉴定至种。APINH 条由梅里埃公司提供, V、X 因子纸片由 OXOID 公司提供。(4) $\beta$ -内酰胺酶试验:用色原纸片法将 Nitrolefin 纸片用无菌生理盐水浸湿,涂上菌落,观其颜色变化,1 min 内纸片变红为  $\beta$ -内酰胺酶阳性,否则为阴性。

## 1.2 药敏试验

1.2.1 培养基 嗜血杆菌专用培养基。其成分有:牛肉浸液、酸性酪蛋白分解物、淀粉、琼脂、酵母浸液、正铁血黄素和辅酶 I。以上试剂由 OXOID 公司提供。

1.2.2 方法 采用世界卫生组织推荐的 K-B 法,24 h 后量取抑菌圈直径,根据抑菌圈直径的大小判断结果。

## 2 结果

分离鉴定结果见表 1;药敏结果见表 2。

表 1 Hi 分离及  $\beta$ -内酰胺酶试验结果

实验名称	标本数(例)	阳性数(例)	阳性率(%)
Hi 分离	67	24	35.8
$\beta$ -内酰胺酶试验	24	3	12.5

表 2 24 株 Hi 对 10 种抗生素敏感性测定结果

抗菌药物	敏感株	敏感率(%)	耐药株	耐药率(%)
氨苄西林	21	87.5	3	12.5
头孢呋新	23	95.8	1	4.2
头孢唑林	22	91.7	2	8.3
头孢噻肟	23	95.8	1	4.2
氯霉素	21	87.5	3	12.5
红霉素	14	58.3	10	41.7
复方磺胺甲噁唑	9	37.5	15	62.5
环丙沙星	22	91.7	2	8.3
亚胺培南	24	100.0	0	0.0
阿莫西林-克拉维酸	24	100.0	0	0.0

## 3 讨论

Hi 为临床上常见的病原菌,主要存在于呼吸道。近年来发现与多种感染有关,主要有急性咽炎、喉炎、气管炎、肺炎、中耳炎、脑膜炎、心包炎及骨髓炎等,在引起肺炎的革兰阴性菌中本菌占第三位。但因其营养要求特殊,且需要 X、V 因子才能生长,再加上技术上的问题,分离率一直不高<sup>[3]</sup>。使用传

统的巧克力琼脂平板,由于杂菌多,很难观察。加入万古霉素后,可抑制杂菌生长,使阳性率有所提高。方正等<sup>[3]</sup>在巧克力平板的第二区以倒三角形的形式贴上万古霉素 V (30 mg)、杆菌肽 B (10 mg) 及克林霉素 C (2 mg),间距 1.5~2 cm,简称 ICCA-VBC。此法选择性高,生长的菌落易鉴别,大大提高了分离的阳性率。

本组研究药敏结果可见,Hi 的耐药率普遍较低,但对氨苄西林的耐药率却逐年增加,耐药主要集中在  $\beta$ -内酰胺酶阳性菌株上。1974 年分离出产 TEM-1  $\beta$ -内酰胺酶的氨苄西林耐药菌株。TEM-1 型酶是  $\beta$ -内酰胺酶的基本组成部分,所占比例大,为胞外酶。该酶对青霉素、氨苄西林和色原性先锋霉素具有很强的基质亲和性,所以大多数产酶菌对氨苄西林的最小抑制浓度 (MIC) > 8.0  $\mu$ g/ml,而非产酶菌对氨苄西林的耐药率极低。因此临床分离后的菌株作  $\beta$ -内酰胺酶的检测有其重要意义。少数  $\beta$ -内酰胺酶阴性的菌株对其耐药是由于青霉素结合珠蛋白的改变引起的。Hi 的另一个耐药为氯霉素乙酰转移酶 (CAT)。产生 CAT 的菌株并不多见,大多数 CAT 阳性菌株对氯霉素的 MIC > 8.0  $\mu$ g/ml,而 CAT 阴性菌株极少对其耐药,一般不作此酶的测定。

本实验结果显示,Hi 对红霉素、复方磺胺甲噁唑的敏感率较低,与 70 年代相比,敏感率下降 50% 以上。有报道<sup>[4]</sup>红霉素与单一磺胺类药物对此菌无抗菌活性,必须引起临床重视。而对三代头孢菌素——头孢噻肟、头孢呋新、头孢唑林等和环丙沙星的敏感率都较高,在 90% 以上,这些药的抗菌活性是肯定的,而对亚胺培南、阿莫西林-克拉维酸的敏感率为 100%。但有学者在一次 1 910 株嗜血杆菌研究中发现 13 株 (0.7%) 对阿莫西林-克拉维酸耐药,也应引起注意。因此,临床应根据实验检测结果合理选用抗生素。

### [ 参 考 文 献 ]

- [1] 钱利生. 医学微生物学 [M]. 上海: 复旦大学出版社, 2000: 158~159.
- [2] 俞树荣. 微生物学和微生物学检验 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 296.
- [3] 方正, 罗文佩, 修清玉, 等. 流感嗜血杆菌下呼吸道感染的实验和临床研究 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 1999, 22(4): 208~210.
- [4] 杜小玲, 王清涛. 38 株流感嗜血杆菌分离、鉴定及药敏分析 [J]. 临床检验杂志, 1996, 14(4): 205.