

脑膜败血伊丽沙白菌研究进展

陈杏春 综述, 农生洲 审校(广西壮族自治区人民医院检验科, 南宁 530021)

【关键词】 脑膜败血伊丽沙白菌; 生物特性; 药物敏感性; 耐药机制

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.23.069 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)23-3213-03

脑膜败血伊丽沙白菌广泛存在于自然环境中,由它引起的感染在临床上日益增多,尤其是它引起的新生儿脑膜炎常以暴发流行的形式出现,并同时呈现对头孢类、碳青霉烯类、氨基糖苷类等药物的多重耐药而越来越受到人们的关注。本文就目前对脑膜败血伊丽沙白菌的生物特性、药物敏感性、耐药机制及防治原则收集整理并综述如下。

1 概况介绍

脑膜败血伊丽沙白菌原归金黄杆菌属,2005 年 Kim 等根据 16SrRNA 基因序列分析认为脑膜败血金黄杆菌和米尔金黄杆菌与其他金黄杆菌属菌株存在种系上较大的差异,结合表型上的不同,将脑膜败血金黄杆菌和米尔金黄杆菌从金黄杆菌属中转移出来,归到新成立的伊丽沙白菌属,并分别命名为脑膜败血伊丽沙白菌和米尔伊丽沙白菌。脑膜败血伊丽沙白菌是非发酵革兰阴性需氧杆菌,无鞭毛、无动力、无芽孢。在营养琼脂和胰蛋白酶大豆琼脂上生长良好,在 5℃或 42℃孵育 2 周不生长。在营养琼脂平板上孵育 35℃24 h,形成直径 1.0~1.5 mm 的菌落,菌落白色、黄色或无色,半透明,圆形,边缘整齐。大部分菌株在麦康凯平板上生长。

2 分布、定植、致病力及感染

2.1 分布与定植 脑膜败血伊丽沙白菌广泛存在于自然界,如河水、海水、土壤及医院各种环境中(如水龙头、水池、氧气湿化瓶甚至消毒液中)而形成潜在感染源。Jiang 等^[1]从北京某医院 478 份医疗用具、物体表面、医务人员手中共分离到 26 株脑膜败血伊丽沙白菌,其中 13 株从洗涤槽、水龙头、排水沟分离出来。此外还在健康成人咽部及胃黏膜分离出脑膜败血伊丽沙白菌。李宏伟等研究显示,在胃炎、胃溃疡及健康人胃黏膜中均分离出大量的脑膜败血伊丽沙白菌,总检出率为 75.4%,经病理组织切片证实脑膜败血伊丽沙白菌在人体内对胃肠道无致病力,为胃黏膜正常菌群,并通过毒力试验证实脑膜败血伊丽沙白菌致病力不强。

患者也可以通过医护人员的护理而携带脑膜败血伊丽沙白菌。Maraki 等^[2]报道在一个新生儿重症病房有 4 例新生儿的气管插管和气管分泌物中分离到脑膜败血伊丽沙白菌,无 1 例患儿表现出临床感染症状,所有患儿均未接受针对脑膜败血伊丽沙白菌的治疗并存活了下来。这些研究表明脑膜败血伊丽沙白菌在新生儿体内的定植并不一定引起感染,但需要制订预防由脑膜败血伊丽沙白菌引起的暴发流行感染的措施。如果临床症状不能明确是否为感染,不能轻易下定植或感染的定义,以防延误患者治疗。

2.2 致病力 自从 1958 年由脑膜败血伊丽沙白菌引起新生儿脑膜炎暴发流行以来,由脑膜败血伊丽沙白菌引起的暴发流行从 1961 年开始时有报道。Issack 和 Neetoo^[3]统计从 2002 年 8 月至 2003 年 12 月在毛里求斯发生的脑膜败血伊丽沙白菌引起的脑膜炎暴发流行,8 例 6~20 d 婴儿从脑脊液中分离

到脑膜败血伊丽沙白菌,其中 7 例体质量低于 2 500 g,菌株表现为同样的耐药谱,除了 1 例患儿在确诊后死亡,其他经过静脉滴注哌拉西林和口服利福平 3 周后,2 例发展为脑积水,1 例死亡,1 例有较严重脑损伤后遗症。Ceyhan 等^[4]报道 2006 年 7 月至 2007 年 1 月 8 例新生儿和 5 例较大儿童的感染,其中 7 例新生儿为早产儿,3 例有脑膜炎,2 例有菌血症,5 例脓肿,1 例患有蜂窝组织炎和筋膜炎,2 例有呼吸困难的肺炎,所有脑膜败血伊丽沙白菌均分离自血培养,脑脊液分离出 4 株,9 例患者在应用抗菌药物后好转,4 例早产儿治疗无效死亡。国内目前尚无脑膜败血伊丽沙白菌引起的新生儿脑膜炎暴发流行的报道,仅有一些个例报道及散在发生的统计报道,缺乏患者相关资料^[5-6]。

2.3 感染 成人感染多发生于年龄大、体弱、免疫力相对较低,有严重基础疾病,大量广谱抗菌药物治疗,接受侵入性医疗操作的住院患者。此类患者多数从下呼吸道标本中分离出脑膜败血伊丽沙白菌,表现为肺部感染症状,主要为导管相关性肺炎^[7]。另外脑膜败血伊丽沙白菌还能引起感染性心内膜炎、蜂窝组织炎和社区获得性骨髓炎等^[8-10]。

3 药物敏感性与耐药机制

3.1 药物敏感性 一些资料认为脑膜败血伊丽沙白菌目前尚无美国临床实验室标准化协会(CLSI)药物敏感性解释标准,并建议采用琼脂稀释法或 E-test 法测定脑膜败血伊丽沙白菌药物敏感性^[11]。实际上,脑膜败血伊丽沙白菌适合用 CLSI 关于其他非肠杆菌科细菌的抑菌圈直径和最低抑菌浓度(MIC)解释标准(其他非肠杆菌科细菌是指除铜绿假单胞菌之外的假单胞菌和除不动杆菌属、洋葱伯克霍尔德菌、鼻疽克霍尔德菌、嗜麦芽芽生单胞菌之外的其他非苛养、非发酵葡萄糖的革兰阴性杆菌)。目前只有 MIC 法而没有 K-B 法解释标准。有资料表明,脑膜败血伊丽沙白菌对各种抗菌药物有很高的耐药性,呈多重耐药,对多种抗菌药物,如第 1~4 代头孢菌素、氟喹诺酮类、氨基糖苷类抗菌活性极低,而含酶抑制剂的复合抗菌药物及对通常用于治疗革兰阳性菌感染的抗菌药物,如利福平、红霉素、克林霉素、司帕沙星、复方磺胺甲恶唑、万古霉素、左氧氟沙星等有较高的体外抗菌活性^[12-14]。杨佰侠等^[12]的药敏试验结果显示,脑膜败血伊丽沙白菌对亚胺培南、美罗培南的耐药率达 72.0%,而对利福平和加替沙星、左氧氟沙星的耐药率均低于 16.0%。石青峰和高玲^[13]的研究中,脑膜败血伊丽沙白菌对哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、替卡西林/克拉维酸、环丙沙星的耐药率分别为 16.85%、19.10%、46.07%、38.20%,对其他常用 β -内酰胺类药物的耐药率均高于 85.00%,其中对亚胺培南的耐药率也达到 89.00%。

3.2 耐药机制 脑膜败血伊丽沙白菌的耐药机制除与膜屏障、外排泵及产生生物被膜等有关外,产生由染色体介导的 β -内酰胺酶是其耐药的主要原因。目前研究比较多的是脑膜败

血伊丽莎白菌生物被膜的产生和 β -内酰胺酶的产生。

3.2.1 与生物被膜的关系 脑膜败血伊丽莎白菌容易在各种医疗器械及导管上形成生物被膜,难以清除,而且一旦形成生物被膜,其形态结构、生理生化特性、致病性及对环境因素的敏感性等都与原浮游细菌有显著不同,对抗菌药物和宿主免疫系统的抵抗能力,从而引起许多慢性和难治性感染疾病的反复发作及院内感染发生^[15]。

3.2.2 与 β -内酰胺酶的关系 脑膜败血伊丽莎白菌能产生两种特殊酶:金属 β -内酰胺酶(MBL)和产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)。ESBLs 仅能水解所有 4 代头孢菌素和氨基糖苷类,而 MBL 是一种对 β -内酰胺类抗菌药物具有广泛水解作用的酶,能水解包括碳青霉烯类在内的所有 β -内酰胺类抗菌药物。脑膜败血伊丽莎白菌对碳青霉烯类药物的耐药主要由 MBL 介导,其活性不被克拉维酸等 β -内酰胺酶抑制剂所抑制,但可被乙二胺四乙酸所抑制。该 MBL 由染色体介导,不能通过细菌质粒等可移动基因元件发生菌株和菌种间传播。目前研究发现脑膜败血伊丽莎白菌的 MBL 由两种互不相干的基因 blaB 和 blaGOB 组成,blaB 和 blaGOB 各含有 14 个和 12 个等位基因。Yum 等^[16]研究显示,所有对碳青霉烯类药物耐药的脑膜败血伊丽莎白菌同时携带 blaB 和 blaGOB 两种耐药基因。张嵘等^[17]报道 100 株菌株中 61 株菌株产 MBL,其中 60 株菌株扩增到 MBL,51 株检测到 blaB 基因,有 36 株检测到 blaGOB 基因,产生一种 MBL 的 33 株,产生两种 MBL 的 27 株。杨伯侠等^[12]在 25 株脑膜败血伊丽莎白菌中仅有 3 株菌同时检测到携带这两种基因,并提出 25 株菌株对碳青霉烯类抗菌药物的耐药率达 72.0%,明显高于 MBL 检出率(56.0%),由此表明脑膜炎败血黄杆菌可能产生其他类型 MBL 或具有其他耐药机制,与国外资料有较大差异。González 和 Vila^[11]提出虽然脑膜败血伊丽莎白菌同时携带这两种 mbl 基因,但是起耐碳青霉烯类药物作用的只有 blaB 基因,因为 blaGOB 基因的活性被更高分子水平的 blaB 基因所掩盖。

4 治疗和预防原则

4.1 药物治疗 由于脑膜败血伊丽莎白菌通常呈现对多种抗菌药物的耐药性,针对脑膜败血伊丽莎白菌的药物选择很困难,而无效的药物有可能导致治疗失败。早期研究曾推荐使用万古霉素来治疗严重脑膜脓毒症金黄色葡萄球菌感染,但是体外试验中万古霉素的 MIC>16 $\mu\text{m}/\text{mL}$ 将导致治疗失败,而米诺环素、利福平、复方磺胺甲恶唑和氟喹诺酮具有更强的体外活性。Gungor 等报道即使他们在一次暴发流行中分离出来的所有脑膜败血伊丽莎白菌对环丙沙星在体外药敏试验中显示敏感,但治疗 6~7 d 后,有 3 例患者死亡,在改用万古霉素和利福平治疗后,3 例患者存活下来,但其中 1 例有脑积水的后遗症。Gokce 等^[18]还报道用头孢哌酮/舒巴坦治疗 1 例超低体质量脑膜炎患者。由此可见,治疗脑膜败血伊丽莎白菌引起的感染没有固定用药原则,抗菌药物的治疗应基于正确药敏试验出来的 MIC 结果。

4.2 预防 黄庆宁等^[19]经过多因素分析显示,在脑膜败血伊丽莎白菌感染患者中,静脉插管、血液透析、使用免疫抑制药物以及患有糖尿病是导致病死率增高的危险因素;临床医务人员应加强无菌操作规范,严格消毒隔离,做好手卫生,合理用药,减少脑膜败血伊丽莎白菌引起医院感染发生。

脑膜败血伊丽莎白菌虽然致病力不强,但因其存在于自然界和

各种医院环境中广泛分布,是威胁人类健康的条件致病菌之一,由其引起的菌血症、导管相关性肺炎、导管相关性血流感染有逐年上升趋势,尤其在重症监护病房。由于脑膜败血伊丽莎白菌具有多重耐药性,对大多数常用的抗菌药物都有抗药性,这给治疗脑膜败血伊丽莎白菌感染带来很大困难。因此,应注意加强无菌操作规范,预防院内感染及新生儿感染暴发流行;同时应加强对脑膜败血伊丽莎白菌耐药性监测,深入其病理机制研究,以便临床治疗上可以选择更为有效、合理的药物,为制订更为科学、合理的防治措施提供科学的理论依据。

参考文献

- [1] Jiang X, Wang D, Wang Y, et al. Occurrence of antimicrobial resistance genes sul and dfrA12 in hospital environmental isolates of *Elizabethkingia meningoseptica* [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2012, 28(11):3097-3102.
- [2] Maraki S, Scoulica E, Manoura A, et al. A *Chryseobacterium meningosepticum* colonization outbreak in a neonatal intensive care unit [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2009, 28(12):1415-1419.
- [3] Issack MI, Neetoo Y. An outbreak of *Elizabethkingia meningoseptica* neonatal meningitis in Mauritius [J]. *J Infect Dev Ctries*, 2011, 5(12):834-839.
- [4] Ceyhan M, Yildirim I, Tekeli A, et al. A *Chryseobacterium meningosepticum* outbreak observed in 3 clusters involving both neonatal and non-neonatal pediatric patients [J]. *Am J Infect Control*, 2008, 36(6):453-457.
- [5] 董琼, 黄琴美. 50 株脑膜炎败血黄杆菌的分布及耐药性分析 [J]. *检验医学与临床*, 2009, 6(20):1727-1728.
- [6] 陈建飞, 钟志宏. 脑膜炎败血黄杆菌致医院获得性感染的临床特征及耐药性分析 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2012, 22(8):1895-1896.
- [7] Weaver KN, Jones RC, Albright R, et al. Acute emergence of *Elizabethkingia meningoseptica* infection among mechanically ventilated patients in a long-term acute care facility [J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2010, 31(1):54-58.
- [8] Bomb K, Arora A, Trehan N. Endocarditis due to *Chryseobacterium meningosepticum* [J]. *Indian J Med Microbiol*, 2007, 25(2):161-162.
- [9] Tuon FF, Campos L, Duboc de Almeida G, et al. *Chryseobacterium meningosepticum* as a cause of cellulitis and sepsis in an immunocompetent patient [J]. *J Med Microbiol*, 2007, 56(Pt 8):1116-1117.
- [10] Lee CH, Lin WC, Chia JH, et al. Community-acquired osteomyelitis caused by *Chryseobacterium meningosepticum*: case report and literature review [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2008, 60(1):89-93.
- [11] González LJ, Vila AJ. Carbapenem resistance in *Elizabethkingia meningoseptica* is mediated by metallo- β -lactamase BlaB [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(4):1686-1692.
- [12] 杨伯侠, 林祥宏, 李涛, 等. 脑膜炎败血黄杆菌体外抗药活

- 性及金属 β 内酰胺酶基因型研究[J]. 临床输血与检验, 2008, 10(2): 114-118.
- [13] 石青峰, 高玲. ICU 脑膜炎败血杆菌所致医院获得性感染的临床特征及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(1): 27-28.
- [14] Hsu MS, Liao CH, Huang YT, et al. Clinical features, antimicrobial susceptibilities, and outcomes of *Elizabethkingia meningoseptica* (*Chryseobacterium meningosepticum*) bacteremia at a medical center in Taiwan, 1999-2006 [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2011, 30(10): 1271-1278.
- [15] Lin PY, Chen HL, Huang CT, et al. Biofilm production, use of intravascular indwelling catheters and inappropriate antimicrobial therapy as predictors of fatality in *Chryseobacterium meningosepticum* bacteraemia[J]. Int J Antimicrob Agents, 2010, 36(5): 436-440.
- [16] Yum JH, Lee EY, Hur SH, et al. Genetic diversity of chromosomal metallo-beta-lactamase genes in clinical isolates of *Elizabethkingia meningoseptica* from Korea[J]. J Microbiol, 2010, 48(3): 358-364.
- [17] 张嵘, 周宏伟, 陈功祥. 脑膜败血杆菌产金属 β -内酰胺酶的检测及基因型的研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(8): 734-738.
- [18] Gokce IK, Oncel MY, Ozdemir R, et al. Trimethoprim-sulfamethoxazole treatment for meningitis owing to multidrug-resistant *Elizabethkingia meningoseptica* in an extremely low-birthweight, premature infant[J]. Paediatrics Int Child Health, 2012, 32(3): 177-179.
- [19] 黄庆宁, 刘丁, 陈萍, 等. 脑膜败血伊丽莎白金菌引发成年患者下呼吸道感染的危险因素及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(14): 3028-3030.

(收稿日期: 2013-05-08 修回日期: 2013-07-12)

阴道分泌物检测方法的研究进展

李鸿滨, 韦吕伟 综述, 伍桂枝 审校 (广州军区桂林疗养院检验科, 广西桂林 541003)

【关键词】 阴道分泌物; 方法; 原理; 研究进展

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.23.070 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)23-3215-03

白带常规检查是妇产科最常规的检验项目, 通过细菌、寄生虫及清洁度检查, 对阴道内菌群状况作出综合评价, 以了解健康情况, 为妇女外生殖道感染诊断、治疗提供科学依据^[1]。因此提高阴道真菌检测阳性率, 有助于临床医生对真菌性阴道炎患者的诊治。本文对白带检查方法技术进展进行了归纳整理, 综述如下。

1 直接涂片法

白带检查最传统最常见的是湿片悬滴法和改进后效果更好的甲苯胺蓝盐水、加热、稀碱“三步法”及超高倍镜检测法^[2-3]。此类方法具有快速、方便、准确和成本低的特点, 一张白带涂片上可同时做滴虫、真菌、球菌、线索细胞、白细胞等多项常规检查。在 25~42℃ 时可见到活动的滴虫, 适合基层医疗单位和初诊检查及体检筛选。其不足是要求检验师经验高, 主观性强, 影响因素多, 同一标本, 同一检验师几次涂片检查, 可能获得不同的结果; 同一例标本, 不同检验师涂片检查, 更可能获得不同的结果; 同一患者由不同医生取材也可能获得不同的结果, 所以漏检率高^[4]。

2 染色法

染色法的灵敏度高于直接涂片法, 具有可在 1 张涂片上同时做多项检查, 不受保温措施限制, 污染小, 可保存复查、方法简单、结果准确、检出率高等优点。不足是: 操作繁琐、费用高, 易受染色时间、染色液浓度和染色液沉渣等影响, 不利于门诊和体检筛选。常见有: 革兰染色、瑞-姬姆萨染色、瑞氏染色、亚甲蓝染色、白带多功能染色(BTR)、多项检测快速染色技术(CTB)等。

2.1 革兰染色 优点为细菌、真菌(特别是淋球菌)易于判断; 不足之处为背景不够清晰, 核异质细胞、癌细胞、滴虫等不易辨别, 容易漏检^[5]。

2.2 瑞氏染色和亚甲蓝染色 二者在查滴虫、真菌、线索细胞、淋球菌、清洁度等阳性率同革兰染色结果基本一致, 但比其更便捷^[6-7]。

2.3 瑞-姬姆萨染色法 优点为背景相对清晰, 核异质细胞、癌细胞、滴虫等易辨别; 不足是淋球菌不易辨别(只能依据形态特点进行辨别), 色彩不够丰富^[5]。

2.4 BTR 优点为背景清晰, 色彩丰富, 对细菌、真菌、纤毛菌、滴虫、细胞形态结构等均易于辨别; 不需要特殊设备, 染色标本可较长时间保存以便复查及作为质量控制。不足在于淋球菌不易辨别(只能依据形态特点进行辨别)^[5,8]。

2.5 CTB 其染液由 R1(红色)和 R2(蓝色)组成, 因其染色液的效能能使病原体形态特点更加清晰显现, 可做多项检查, 还可以做阴道鳞状细胞分类计数, 观察卵巢功能; 方法简便、快速、检出率高^[8-9]。

3 培养法

培养法具有高灵敏度和高特异性, 常被誉为是诊断细菌性阴道病和滴虫性阴道炎的“金标准”, 缺点是耗时长, 需要特定的实验环境和材料, 适合科研和用于确诊, 不易于基层医疗单位和门诊体检筛选, 难以推广。

3.1 普通细菌培养法和快速培养法 文献^[10]报道普通细菌培养法灵敏度为 94.8%, 特异度为 99.2%, 阳性率为 23.6% (356/510); 快速培养法灵敏度为 94.8%, 特异度为 99.2%, 阳性率为 23.2% (350/510), 两种方法差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但是快速培养法培养时间只需 2.5 h, 而普通细菌培养法常常需要 3 d 甚至 1 周才能得到准确结果。

3.2 念珠菌显色培养基法 20 世纪 90 年代法国研究者开发, 这种培养基的原理是根据酶底物法, 通过显色来区别不同念珠菌, 25~28℃ 培养 24~48 h 后, 白色念珠菌显蓝绿色; 热