

VITEK-2 AST-GN13 药敏卡检测产超广谱 β -内酰胺酶菌的可靠性研究

郭 良, 张思萍(福建省宁德市闽东医院检验科 355000)

【摘要】 目的 评价 VITEK-2 AST-GN13 药敏卡检测产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌株的可靠性。**方法** 用 VITEK-2 AST-GN13 测定 376 株肠杆菌科菌(包括大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌),同时用美国临床实验室标准化委员会(2009 年第 19 版)推荐的双纸片确证法进行对照。**结果** 检出产 ESBLs 菌 160 株,仪器法和双纸片确证法检测 ESBLs 菌株阳性率分别为 42.6% 和 39.4%,两种方法对产 ESBLs 株的检测结果经 χ^2 检验,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 提高产 ESBLs 菌株的阳性检出率及准确性具有重要意义,VITEK-2 AST-GN13 药敏卡检测产 ESBLs 菌株结果可靠。

【关键词】 β 内酰胺酶类; 大肠杆菌; 克雷伯菌; 微生物敏感性试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.02.022 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)02-0174-02

Study on reliability of VITEK-2 AST-GN13 on detection of ESBLs-producing strains GUO Liang, ZHANG Si-ping
(Department of Clinical Laboratory, Mindong Hospital of Ningde City, Ningde, Fujian 355000, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the reliability of VITEK-2 AST-GN13 on detection of ESBLs-producing strains. **Methods** 376 strains of Enterobacteriaceae bacteria(including Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca) were detected by VITEK-2. At the same time, the double disks confirmation method recommended by NCCLS(19 edition, 2009) was used as control. **Results** 160 strains of ESBLs-producing bacteria were detected. The positive detection rates of ESBLs producing bacteria in the two methods were 42.6% and 39.4% respectively, without statistical difference by chi-square test($P > 0.05$). **Conclusion** Improving the positive rate and accuracy of detection of ESBLs-producing strain is important, the results of VITEK-2 AST-GN13 on detection of ESBLs-producing strains are accurate and reliable.

【Key words】 beta-lactamases; Escherichia coli; Klebsiella; microbial sensitivity tests

超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamases, ESBLs)是质粒介导的、与革兰阴性杆菌耐药性相关的酶。ESBLs 的检测方法除美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)推荐的筛选法和双纸片确证试验外,法国生物梅里埃公司生产的 VITEK-2 AST-GN13 全自动微生物鉴定及药敏分析仪的专用药敏卡也可以直接检测肠杆菌科菌产 ESBLs 情况^[1]。本文以 NCCLS 推荐的双纸片确证法为标准,评价 VITEK-2 检测 ESBLs 的可靠性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源 本院 2009 年 1~6 月住院或门诊治疗的感染性疾病患者送检标本分离出的肠杆菌科细菌(包括大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、产酸克雷伯菌)共计 376 株,用 GN 鉴定卡进行菌种鉴定并用 AST-GN 13 药敏卡进行药敏试验。

1.1.2 试剂 药敏纸片:头孢噻肟(CTX)(每片 30 μ g)、头孢他啶(CAZ)(每片 30 μ g)、头孢噻肟/棒酸(CTX/CA)(每片 30/10 μ g)、头孢他啶/棒酸(CAZ/CA)(每片 30/10 μ g),由杭州天和微生物试剂有限公司提供;药敏培养基:Muller-Hinton 琼脂平板(英国 Oxoid 公司)。VITEK-2 革兰阴性菌药敏卡 AST-GN13(法国生物梅里埃公司)。以上试剂均在有效期内使用。

1.1.3 质控菌株 大肠埃希菌 ATCC 25922;肺炎克雷伯菌 GY2000。

1.2 方法

1.2.1 双纸片确证法 按 NCCLS 推荐的 2009 年第 19 版标

准纸片扩散确证法测定 ESBLs^[2],采用 CAZ(30 μ g)、CAZ/CA(30/10 μ g)组合与 CTX(30 μ g)、CTX/CA(30 μ g/10 μ g)组合进行表型确证试验,制备 0.5 Mc 浓度的菌悬液,涂布 M-H 琼脂平板,接种方法按纸片扩散确证法,35 $^{\circ}$ C 培养 16~18 h。当任一组药物抑菌环的直径差大于或等于 5 mm 时,判定为 ESBLs 阳性株。

1.2.2 仪器法 用法国生物梅里埃 VITEK-2 进行鉴定和药敏试验,对革兰染色阴性菌株,用 GN 鉴定卡和相应 AST-GN13 药敏卡检测^[3],方法按操作手册进行。仪器检测 AST-GN13 药敏卡的 6 个检测孔(CTX 与 CTX/CA、CAZ 与 CAZ/CA、FEP 与 FEP/CA)的生长浊度变化。加 CA 的孔细菌生长浊度减少 50% 或以上,判定为 ESBLs 阳性。同时用 AST-GN13 药敏卡检测更多药物的敏感情况,测出的药敏结果经梅里埃 VITEK-2 仪器的高级专家系统(AES)确认及修正后,记录 AES 判定的产 ESBLs 株。

1.3 统计学方法 将仪器法和双纸片确证法检测大肠埃希菌结果进行 χ^2 检验。

2 结果

2.1 质控结果 GN 和 AST-GN13 卡用大肠埃希菌 ATCC25922 作试卡中各测试药物的质控,结果符合要求。双纸片确证法中,大肠埃希菌 ATCC25922、肺炎克雷伯菌 GY2000 的抑菌圈直径均在规定的范围内。

2.2 两种测试方法检测产 ESBLs 的阳性率 见表 1。结果显示,两种方法分别检测,结果均无统计学意义($\chi^2 < 3.84, P > 0.05$)。

表 1 两种测试方法检测 ESBLs 的阳性率对比			
方法	阳性	阴性	阳性率(%)
双纸片确证法	148	228	39.4
VITEK-2 仪器法	160	216	42.6

3 讨 论

3.1 本文 376 例肠杆菌中,仪器法检出 ESBLs 阳性率为 42.6%,双纸片确证法为 39.4%。双纸片确证法为 NCCLS 推荐的方法,与仪器法对照其阳性率稍低。其中有 6 株纸片扩散确证法判定为阴性,而仪器法判定为阳性。这 6 株菌其中有 4 株被仪器判为 ESBLs 合并高产 AmpC 酶,因 AmpC 酶为不被克拉维酸抑制的头孢菌素酶,故其 CAZ、CAZ/CA、CTX、CTX/CA 全部高度耐药(6 mm);另 2 株重新用双纸片确证法检测,CAZ 和 CAZ/CA 抑菌环直径之差为 5~6 mm(第 1 次均小于或等于 4 mm)。说明双纸片法可能在测量时因人为误差造成假阳性或假阴性。

3.2 VITEK-2 AES 由 2 000 多个细菌耐药表型和 20 000 多种最小抑菌浓度(MIC)分布组成,基本涵盖了目前临床耐药菌株中已发现的主要耐药机制及表型。其主要功能包括以下 3 个方面:(1)判断药敏试验结果表型与所鉴定菌种表型是否相符,并在出现不一致时提出修改建议;(2)根据 VITEK-2 系统检测的药敏结果推断可能存在的耐药机制,并根据耐药机制对体外试验敏感而体内治疗无效的抗菌药物进行修订及推断本次药敏试验未包括的相关药物药敏谱。NCCLS 指出,如确认为产 ESBLs 菌株,不管体外药敏试验结果如何,对所有 3 代头孢类药物和氨曲南均应报告为耐药,且不推荐临床使用头孢 4 代。(3)对 VITEK-2 的评价显示,该系统能够准确鉴定重要的 β-内酰胺类耐药表型,如 ESBLs 与高产 Amp C 酶,并能根据这些耐药表型对影响临床治疗的药敏结果进行修订^[4]。

3.3 ESBLs 由质粒介导,可通过接合、转化和转导等形式使耐药基因在细菌中扩散,能导致严重的医院感染和社区获得性感染^[5]。ESBLs 可水解 β-内酰胺环,尤其是头孢他啶和氨曲南等新型广谱头孢菌素。ESBLs 菌不仅对头孢 3 代和氨曲南耐药,而且对氨基糖苷类、喹诺酮类和胺类药物呈交叉耐药。ESBLs 不仅使头孢类抗生素失活,还对妥布霉素、庆大霉素和复方新诺明也产生耐药,这主要是因为耐药质粒不但携带 ES-

BLs 的耐药基因,而且还携带针对其他抗菌药物的耐药基因。在这些细菌中,妥布霉素耐药基因、庆大霉素耐药基因及复方新诺明耐药基因全部被转移到相同的质粒上。因此快速、准确地检测产 ESBLs 菌,有助于控制其播散与暴发流行,指导临床正确用药。

VITEK-2 仪器法的优点是结果准确、快速,4~18 h 可得 ESBLs 药敏试验结果及 MIC 值,且可同时测定其他耐药表型,但成本较高。尽管纸片扩散确证法没有仪器法快速,易产生人为误差,但其成本低,易于操作,适合于各级医院,目前仍为 NCCLS 推荐方法。综上所述,对于有条件的实验室,利用 AST-GN13 药敏卡检测并结合 VITEK-2 高级专家系统判定肠杆菌是否产 ESBLs 是可靠的。

参考文献

[1] Sanders CC, Peyret M, Moland ES, et al. Ability to the VITEK-2 advanced expert system to indentify beta-lactam phenotypes in isolates of enterobac-teriaceae and pseudomonas aeruginosa[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38 (2):570-574.

[2] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standard for antimicrobial testing; nineteenth informational supplement[J]. NCCLS, 2009, 24(1):120-125.

[3] Joyanes P, Carmen M, Martinez L, et al. Evaluation of the VITEK2 system for the identification and susceptibility of three species of nonfermenting gram-negative rods frequently isolated from clinical samples[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(9):3247-3253.

[4] Livermore DM, Struelens M, Amorim J, et al. Multicentre evaluation of the VITIK2 advanced expert system for interpretive reading of antimicrobial resistance tests[J]. J Antimicrob Chemother, 2002, 49(2):289-300.

[5] 朱德全, 季海生. VITEK232 对肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌产超广谱 β-内酰胺酶的检测观察[J]. 中华医院感染学杂志, 2003, 13(2):191-193.

(收稿日期:2010-08-05)

• 短篇与个案 •

从痰中分离出耐亚胺培南芳香黄杆菌 1 例

郭 莉¹, 刘晓富² (1. 甘肃省嘉峪关市酒钢医院检验科 735100; 2. 甘肃省酒泉市中医院检验科 735000)

【关键词】 黄杆菌属; 痰; 亚胺培南; 抗药性, 微生物
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.02.023 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)02-0175-01

芳香黄杆菌是黄杆菌属细菌,为氧化酶阳性,产黄色色素,无动力,吡哌阴性的非发酵革兰阴性杆菌,为条件致病菌,是引起医院内感染的最常见细菌,易引起菌血症、肺炎、化脓性脑膜炎等^[1]。作者从痰中分离出耐亚胺培南芳香黄杆菌 1 株。现报道如下。

1 临床资料

1.1 病例介绍 患者,男,71 岁,退休工人。因入院前一周出

现咳嗽、气喘加重并咳出脓性黄色痰,门诊以慢性支气管炎急性发作收治入院。检查:体温 37.2℃,WBC 5.4×10⁹/L, N 0.76, L 0.14。

1.2 微生物学检查 留取深部晨痰,接种于哥伦比亚血平板、巧克力平板和麦康凯平板,置 CO₂ 孵育箱培养,24 h 可见圆形、光滑、凸起、边缘整齐的产黄色素菌落,无溶血,有水果香味,麦康凯平板未生长,涂片染色为革兰阴性(下转第 177 页)