

[2] 熊书华. 肛瘘术后尿潴留的护理干预效果分析研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(13): 1464-1466.

[3] 彭仁菊, 曾锐. 肛瘘手术前后的护理体会[J]. 中国社区医师: 医学专业, 2012, 14(36): 279.

[4] 刘琳, 高昆. 复杂肛瘘患者围术期护理中加速康复外科理念的应用[J]. 山西医药杂志, 2014, 43(10): 1213-1215.

[5] 郭璐瑜. 预防性护理干预对肛瘘术后尿潴留的影响[J]. 中华现代护理杂志, 2013, 19(24): 2907-2908.

[6] 胡成成. 肛瘘术后尿潴留的预见性护理干预研究[J]. 医疗装备, 2015, 28(10): 176-177.

[7] 叶灶凤, 温巧仪, 陈秋梅. 藻酸钙敷料用于肛瘘术后伤口

护理疗效观察[J]. 护理研究, 2014, 28(11): 1352-1353.

[8] 蒋玉芳. 综合性护理对肛瘘患者术后疼痛及尿潴留的效果研究[J]. 实用临床医药杂志, 2014, 18(18): 56-58.

[9] 李丹. 黄芩油膏联合痔瘘熏洗剂在肛瘘术后创面护理中的应用[J]. 护理研究, 2015, 29(5): 618-619.

[10] 戴琴花. 基于 PDCA 循环式护理的肛瘘外科护理模式探讨[J]. 实用临床医药杂志, 2014, 18(6): 104-106.

[11] 张英, 刘文清. 127 例单纯性肛瘘患者术后的辩证施护及疗效观察[J]. 中国医药导报, 2012, 9(5): 125.

(收稿日期: 2016-04-27 修回日期: 2016-07-03)

• 临床探讨 •

假单胞菌和非发酵菌药敏试剂盒 ATB PSE 在临床药敏实验中的缺陷分析

肖亚雄, 何林波, 蒋国丹, 彭宇生, 王 鹏, 朱 波, 黄忠团
(四川省宜宾市第一人民医院检验科 644600)

摘要:目的 分析探讨生物梅里埃产假单胞菌和非发酵菌药敏试剂 ATB PSE 在临床药敏实验中存在的缺陷, 并提出补救/解决方案。方法 以美国临床实验室标准化协会(CLSI) M100-S24 标准提供的假单胞菌(以铜绿假单胞菌为代表)和非发酵菌(以不动杆菌属为代表)对应抗菌药物拐点作为标准, 对梅里埃药敏试剂盒 ATB PSE 抗菌药物覆盖情况与各抗菌药物拐点浓度进行对比分析。结果 对铜绿假单胞菌而言 ATB PSE 试剂盒不包括 CLSI 推荐的氨基糖苷类; 对不动杆菌属 ATB PSE 试剂盒提供的 15 种抗菌药物不包括 CLSI 推荐的四环素类, 就抗菌药物敏感耐药判读拐点而言, 试剂盒提供标准均与 CLSI M100-S23 推荐抗菌药物拐点不一致, 从而可能导致临床药敏报告出现假敏感或假耐药的情况。结论 单独使用 ATB PSE 试剂盒进行假单胞菌和不动杆菌属药敏实验将产生误差甚至错误, 必须要其他药敏实验方法进行修正方可发出报告。

关键词:假单胞菌; 非发酵菌; 药敏试验, 缺陷

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.18.033 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)18-2640-03

假单胞菌和非发酵菌药敏试剂 ATB PSE 为法国生物梅里埃公司所生产(以下简称梅里埃)。该试剂盒采用肉汤稀释比色法进行药敏实验, 操作简单[试剂盒生产商将诸多临床所需实验药物固定在透明塑料反应小孔内, 检验师进行药敏实验时只需将预配置好浊度的菌悬液 135 μL(含 3 × 10⁴ 个细菌)加到反应孔内 35~37 °C 孵育 18~24 h]、有无判读仪均可(判读时可采用肉眼判读或仪器判读)、判读方便(根据反应孔内细菌生长抑制情况, 即可进行药敏结果判读)、因此较经典的微量肉汤稀释法或药敏纸片扩散法更易于被微生物检验人员所接受。尽管该试剂盒存在诸多优点, 但是由于试剂盒提供的抗菌药物种类有限, 反应孔内抗菌药物浓度固定的, 同一种抗菌药物包括一个低浓度孔(用于敏感的判读)和一个高浓度孔(用于耐药的判读), 而有的仅有一个判读敏感的浓度孔。因此一旦抗菌药物敏感、耐药判读标准发生变化时则有可能导致判读结果错误, 对临床用药产生误导。本文以美国临床实验室标准化协会(CLSI) M100-S24 标准^[1]表 2B1“铜绿假单胞菌抑菌圈直径及 MIC 解释标准”和 CLSI M100-S24 表 2B2“不动杆菌属抑菌圈直径及 MIC 解释标准”作为参考标准(以下简称 CLSI 标准), 对 ATB PSE 药敏试剂盒所包含的抗菌药物覆盖情况、对应药敏孔药物浓度等情况进行对比分析, 推导出其在临床药敏实验中可能出现的缺陷进行分析, 以引起使用 ATB PSE 试剂盒的实验人员关注, 现具体报道如下。

1 材料与与方法

1.1 材料 假单胞菌和非发酵菌药敏试剂 ATB PSE(生物梅

里埃公司生产)。

1.2 方法 以 CLSI M100-S24 文件表 2B1“铜绿假单胞菌抑菌圈直径及 MIC 解释标准”和 CLSI M100-S24 表 2B2“不动杆菌属抑菌圈直径及 MIC 解释标准”作为参考标准。对生物梅里埃公司生产的 ATB PSE 假单胞菌和非发酵菌药敏试剂盒所提供的 15 种抗菌药物所覆盖情况、15 种抗菌药物对应试验孔拐点情况与 CLSI M100-S24 文件进行对比, 分析查找出差异的地方, 以及该试剂盒在临床运用中的可能出现的误差或错误进行评估分析。以临床铜绿假单胞菌作为假单胞菌代表, 以不动杆菌作为其他非发酵菌的代表。

2 结 果

2.1 ATB PSE 试剂盒抗菌药物种类覆盖情况分析 ATB PSE 试剂盒一共含 28 个药敏孔, 包含 15 种抗菌药物, 具体依次为: 氨苄西林/舒巴坦、替卡西林、替卡西林(铜绿假单胞)、替卡西林-棒酸、替卡西林-棒酸(铜绿假单胞)、哌拉西林、哌拉西林(铜绿假单胞)、哌拉西林+他唑巴坦、哌拉西林+他唑巴坦(铜绿假单胞)、头孢吡肟、亚胺培南、美罗培南、头孢他啶、庆大霉素、妥布霉素、环丙沙星、多黏菌素 E、复方磺胺甲噁唑。其中针对铜绿假单胞菌为 13 种, 因为氨苄西林/舒巴坦与复方磺胺甲噁唑为天然耐药, 作为该菌的辅助鉴别孔; 针对不动杆菌为 15 种。CLSI M100-S24 对于铜绿假单胞菌药敏实验所选药物除要求覆盖上述各类抗菌药物外, 还要求包括氨基糖苷类; 针对不动杆菌属缺四环素, 另外 CLSI 对于脂肽类抗菌药物推荐为多黏菌素或多黏菌素 B 见表 1, 2。

2.2 ATB PSE 试剂盒试剂盒与 CLSI 标准推荐抗菌药物拐点比较分析 从表 1 可见, ATB PSE 试剂盒对铜绿假单胞菌药敏的判读拐点与 CLSI 标准均存在不同程度的差异, 具体表现为替卡西林、替卡西林/棒酸、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦 4 种抗菌药物敏感拐点降低, 且试剂盒仅提供了敏感的判读拐点, 未提供耐药的判读拐点, 因此在临床上可能出现将中介细菌误判为敏感菌。另外头孢吡肟、头孢他啶、庆大霉素、妥布霉

素、环丙沙星 5 种抗菌药物则会由于敏感拐点降低和/或耐药拐点升高, 而将原本中介的细菌误判为耐药菌。从表 2 可见, ATB PSE 试剂盒针对不动杆菌属也由于试剂盒判读拐点与 CLSI 标准之间的差异导致误判, 主要表现为中介误判为耐药, 而亚胺培南、美罗培南则会出现中介误判为敏感的情况。另外针对多黏菌素 E, CLSI 标准未给出判读拐点, 仅给出多黏菌素 B 的判读拐点。

表 1 铜绿假单胞菌 ATB PSE 试剂与 CLSI 标准抗菌药物覆盖及拐点比较

抗菌药物	试剂盒判读拐点(μg/mL)		CLSI 标准判读拐点(μg/mL)		可能出现的错误判读
	S	R	S	R	
替卡西林	≤64	—	≤16	≥128	中介误判为敏感
替卡西林/棒酸	≤64/2	—	≤16/2	≥128/2	中介误判为敏感
哌拉西林	≤64	—	≤16	≥128	中介误判为敏感
哌拉西林+他唑巴坦	≤64/4	—	≤16/4	≥128/4	中介误判为敏感
头孢吡肟	≤8	≥16	≤8	≥32	中介误判为耐药
亚胺培南	≤4	≥8	≤2	≥8	中介误判为敏感
美罗培南	≤4	≥8	≤2	≥8	中介误判为敏感
头孢他啶	≤8	≥16	≤8	≥32	中介误判为耐药
庆大霉素	≤4	≥8	≤4	≥16	中介误判为耐药
妥布霉素	≤4	≥8	≤4	≥16	中介误判为耐药
环丙沙星	≤1	≥2	≤1	≥4	中介误判为耐药
多黏菌素 E	≤2	—	—	—	无判读标准
氨基糖苷	—	—	≤8	≥32	—
多黏菌素 B	—	—	≤2	≥8	—

注: S 表示敏感; R 表示耐药; — 表示该项无数据。

表 2 不动杆菌属 ATB PSE 试剂与 CLSI 标准抗菌药物覆盖及拐点比较

抗菌药物	试剂盒判读拐点(μg/mL)		CLSI 标准(μg/mL)		可能出现的错误判读
	S	R	S	R	
氨基糖苷/舒巴坦	≤8/4	≥16/8	≤8/4	≥32/16	中介误判为耐药
替卡西林	≤16	—	≤16	≥128	中介误判为耐药
替卡西林/棒酸	≤16/2	—	≤16/2	≥128/2	中介误判为耐药
哌拉西林	≤16	—	≤16	≥128	中介误判为耐药
哌拉西林+他唑巴坦	≤16/4	—	≤16/4	≥128/4	中介误判为耐药
头孢吡肟	≤8	≥16	≤8	≥32	中介误判为耐药
亚胺培南	≤4	≥8	≤2	≥8	中介误判为敏感
美罗培南	≤4	≥8	≤2	≥8	中介误判为敏感
头孢他啶	≤8	≥16	≤8	≥32	中介误判为耐药
庆大霉素	≤4	≥8	≤4	≥16	中介误判为耐药
妥布霉素	≤4	≥8	≤4	≥16	中介误判为耐药
环丙沙星	≤1	≥2	≤1	≥4	中介误判为耐药
多黏菌素 E	≤2	—	—	—	无判读标准
复方磺胺甲噁唑	≤2/38	—	≤2/38	≥4/76	—
四环素	—	—	4	16	—
多黏菌素 B	—	—	≤2	≥4	—

注: S 表示敏感; R 表示耐药; — 表示该项无数据。

3 讨 论

CLSI 制订的抗微生物药物敏感性试验操作方法与判断标准,是目前国内临床微生物检验遵循的行业标准,也是中国国家卫计委全国细菌耐药监测网(CARSS)所使用的标准,宜宾市第一人民医院医院为 CARSS 网络成员单位,每季度均按照 CLSI 标准上报细菌耐药检测情况。由于 CLSI 标准的制订需要投入大量的人力、财力和物力,所以国际上许多国家(欧盟除外)包括中国在内都还没有建立自己的标准,而沿用 CLSI 的方法和标准。目前 CLSI 标准每年更新^[2-3],临床微生物实验室通常采取当年或上一年颁布的标准作为参照,其中 CLSI M100-S24 为 2014 年所颁布。

假单胞菌属与不动杆菌属是临床分离最多两大类非发酵的革兰染色阴性杆菌,可分离自临床常见的各种血液、痰液、脓液、伤口分泌物等各种临床常见标本中。该两大类细菌往往为条件致病菌,容易引起院内感染^[4-6],并且由于该两类细菌对多种药物天然耐药,并且获得性耐药情况也不容乐观,多重耐药及泛耐药的铜绿假单胞菌或不动杆菌在临床分离率居高不下^[7-8],为临床治疗带来了巨大的挑战,因此采用正确的药敏实验方法及时的向临床发出准确药敏结果对于临床治疗相感染性疾病具有十分重要的意义。

ATB PSE 试剂盒为法国生物梅里埃公司所生产专门针对假单胞菌和非发酵菌(包括不动杆菌属)的药敏试剂盒。由于该方法操作简便,判读简单,可不用专业仪器判读,且可以读取 MIC 浓度,因此在国内临床微生物实验室有较高的市场占有率。但是由于 CLSI 标准每年都会发生一些改变,而该试剂盒各试验孔药物浓度固定,药物判读拐点未随 CLSI 进行更新。ATP PSE 无论针对铜绿假单胞菌还是不动杆菌属,其抗菌药物覆盖范围与 CLSI 推荐使用抗菌药物基本覆盖,针对铜绿假单胞菌缺氨曲南、针对不动杆菌属缺四环素。因此就抗菌药物覆盖范围而言,ATB PSE 所缺的抗菌药物不会对临床造成误导。然而就抗菌药物浓度范围来看,该试剂盒无论对于铜绿假单胞菌还是不动杆菌属均存在较大差异,可能误导临床。例如替卡西林、替卡西林/棒酸、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦 4 种抗菌药物敏感仅具有敏感判读标准、而不具有耐药判读标准。根据试剂盒说明书,对于单一浓度抗菌药物浑浊则为耐药,以针对铜绿假单胞菌药敏的替卡西林为例,假设某铜绿假单胞菌实际 MIC 浓度为 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$,因此在含替卡西林药敏孔内,该菌不会生长,按试剂盒说明书可判读为敏感,而根据 CLSI 标准 MIC=64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 应该判读为中介。因此会将原本中介的药物以敏感的结果报告临床。临床医师将可能使用常规剂量而不会使用高于常规剂量的替卡西林进行治疗,从而可能导致治疗失败;对于不动杆菌属而言,则主要会因为耐药拐点的提升从而导致误将中介判断为耐药,以某株针对哌拉西林/他唑巴坦 MIC 为 16/4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的鲍曼不动杆菌为例,根据试剂盒判读标准,该株细菌应判为耐药,而按照 CLSI 标准只有当其 MIC \geq 128/4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时才可判读为耐药, MIC=16/4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 应判读为中介。由于误将原本中介的抗菌药物误判为耐药,原本加大剂量可能治疗的抗菌药物被排除,从而缩小了可选抗菌药物的范围,增加了医生的治疗压力。另外值得注意的是多黏菌素用于临床多重耐药铜绿及多重耐药鲍曼不动杆

菌的治疗^[9-10]。CLSI 给出多黏菌素 B 的判读标准,而试剂盒提供的是多黏菌素 E 及其敏感判读标准,二者相性关系如何,尚未见有关报道。

总之,由于抗菌药物敏感与耐药拐点的变化,使用 ATB PSE 若误将中介判读为敏感可能导致治疗失败,误将中介判读为耐药则缩小了医生抗菌药物的选择范围,甚至可能会发生无药可选的尴尬境地。因此如果采用 ATB PSE 试剂盒结果出具药敏报告需要慎重。对于抗菌药物拐点范围不包含的药敏实验可能出现假耐药、假敏感的抗菌药物需要补充其他实验方法(如 E 试验法、K-B 法)以验证补充^[11-12],以免发出错误报告,误导临床医师用药。

参考文献

- [1] CLSI. M100-S24 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-fourth informational supplement[S]. Wayne, PA, 2014.
- [2] 孙长贵,林迪,成军. 2013 年 CLSI M100-S23 文件主要更新内容的解读[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(16): 2065-2067.
- [3] 孙长贵,成军,杨燕. 2015 年 CLSI M100-S25 文件主要更新内容解读[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(4): 241-245.
- [4] 王亚华,祝永明,吴晓燕,等. 铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌的临床分布和耐药性分析[J]. 中国医药导报, 2015(16): 20-23.
- [5] 谭守勇,黎燕琼. 重视鲍曼不动杆菌院内感染[J]. 广东医学, 2015, 53(12): 1797-1798.
- [6] 庞菲,郑光敏,李玮,等. 鲍曼不动杆菌院内感染调查及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(10): 1408-1409.
- [7] 韩东升,韩崇旭,薛小萍. 院内感染中多重耐药菌的临床分布及耐药分析[J]. 现代预防医学, 2014, 41(22): 4166-4168.
- [8] 任玉涵,袁喆,黄文祥,等. 2009~2011 年本院多重耐药革兰阴性菌的耐药性变迁及对多黏菌素 B 的体外敏感性[J]. 中国新药与临床杂志, 2014, 33(11): 845-849.
- [9] 史煜波,董燕. 替加环素与多粘菌素 B 对泛耐药鲍曼不动杆菌体外研究[J]. 中国微生态学杂志, 2010, 22(9): 825-827.
- [10] 高燕渝,俞汝佳,吕晓菊. 多粘菌素 B 等对多重耐药铜绿假单胞菌的体外抗菌活性研究[J]. 西部医学, 2010, 22(9): 1609-1611.
- [11] 肖亚雄,彭宇生,王鹏,等. 生物梅里埃 ATB STAPH 5 葡萄球菌药敏试剂盒的局限性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(3): 122-125.
- [12] 肖亚雄,彭宇生,王鹏,等. ATB STREP 5 对肺炎链球菌药敏试验结果判读的缺陷性分析[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(7): 915-916.

(收稿日期:2016-04-15 修回日期:2016-06-22)