

直接纸片扩散法对阳性血培养的药敏试验诊断价值

杨勤英, 代雨荣(湖北省荆门市妇幼保健院检验科 448000)

【摘要】 目的 探讨琼脂纸片扩散法(K-B)直接用于阳性血培养的快速药敏试验的临床价值。**方法** 取 Bact/Alert3D120 报警阳性血培养标本 10 mL, 经离心处理后, 取获得的菌悬液进行 K-B 纸片法药敏试验, 并与 Vitek2 法鉴定和药敏的标准方法同时进行, 比较两种方法的药敏结果差异。**结果** 325 株阳性血培养中, 革兰阴性杆菌的药敏结果与 Vitek2 法符合率是 90.3%, 严重误差 2.4%, 主要误差 0.9%, 次要误差 6.3%; 革兰阳性球菌的药敏结果与 Vitek2 法符合率是 92.6%, 严重误差 2.4%, 主要误差 1.6%, 次要误差 3.3%。**结论** 革兰阳性球菌的苯唑西林和庆大霉素药敏试验结果, 革兰阴性杆菌的头孢唑林、阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林/他唑巴坦的纸片扩散法药敏结果误差较大, K-B 纸片扩散法直接用于阳性血培养的快速药敏试验的诊断价值是有限的。

【关键词】 抗药性; 微生物; 微生物敏感试验; 血培养

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.05.020 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)05-0552-02

Diagnostic value of direct disk diffusion susceptibility test on positive blood culture isolates YANG Qin-yin (Department of Laboratory Medicine, Jingmen Women's and Children's Hospital, Hubei 448000, China)

【Abstract】 Objective To explore the clinical value of direct disk diffusion susceptibility test on positive blood culture isolates. **Methods** 10 mL aliquots from Bact/Alert3D120 positive culture bottles were centrifuged, then collected suspension to perform direct disk diffusion susceptibility test, processed the samples with Vitek 2 simultaneously, compared susceptibility results with direct disk diffusion method. **Results** Of 325 positive blood cultures, for 153 gram-negative bacilli, there were 90.3% agreement between two methods, with 2.4% very major, 0.9% major, 6.3% minor error. For 172 gram-positive cocci, there were 92.6% agreement between two methods, with 2.4% very major, 1.6% major, 3.3% minor error. **Conclusion** The high rate of disagreement was observed with oxacillin and gentamicin in gram positive cocci, and with cefuroxime, amoxycillin/clavulanate, piperacillin/tazobactam in gram negative bacilli, the diagnostic value of direct disk diffusion susceptibility test on positive blood culture isolate is limited.

【Key words】 drug resistance; microbial; susceptibility; blood culture

抗生素药敏试验结果是指导临床医生治疗败血症和其他严重感染性疾病的重要依据, Bact/Alert3D120 全自动血培养仪缩短了阳性报警时间, 但传统的鉴定方法和药敏试验依然耗时较长。直接快速药敏试验是常规药敏试验的一种有效的补充方法, 但国内外文献^[1-5]多以仪器法进行直接鉴定和药敏试验, 本研究以琼脂纸片扩散(K-B)法直接用于阳性血培养的快速药敏试验, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 Bact/Alert3D120 全自动血培养仪、Vitek2 全自动鉴定药敏系统、Slidex Staph plus、抗生素药敏纸片、Slidex Strepto-kit 均为法国生物梅里埃公司产品。

1.2 标本 325 株革兰阳性球菌和革兰阴性杆菌标本来自本院 2009 年 1 月至 2011 年 1 月的门诊及住院患者血培养标本。

1.3 阳性血培养瓶的处理^[6] Bact/Alert3D120 报警后, 取 5 mL 血培养液, 置于无菌的血清分离管中, 3 000 r/min 离心 15 min, 弃上清液, 加入 5 mL 生理盐水, 3 000 r/min 离心 15 min, 弃上清液, 靠近分离胶的乳白色部分即为细菌。用生理盐水制备 0.5 麦氏单位浊度的细菌悬液, 浊度须专用比浊计校正。

1.4 Vitek2 法 阳性瓶标本经转种血平板、巧克力平板, 35℃ 培养 18~24 h, 取获得的单个菌落, 按 Vitek2 操作说明上机测定。

1.5 K-B 法 Bact/Alert3D120 报警后, 涂片革兰染色, 若为革兰阳性成簇排列的球菌, 参照 Edelmann 等^[7]的报道选择纸片组合: 强力霉素(30 μg), 红霉素(15 μg), 庆大霉素(10 μg),

左氧氟沙星(5 μg), 青霉素(10 U), 万古霉素(30 μg), 苯唑西林(1 μg), 以 Slidex Staph plus 区分金黄色葡萄球菌和凝固酶阴性葡萄球菌, 苯唑西林药敏试验培养基使用含 2% NaCl 的 M-H 培养基; 若为革兰阳性成短链或成对排列的球菌, 纸片组合: 氨苄西林(30 μg), 红霉素(15 μg), 左氧氟沙星(5 μg), 万古霉素(30 μg), 以 Slidex Strepto-kit 区分链球菌与肠球菌; 若发现阴性短杆菌或球杆菌, 纸片组合: 阿莫西林/克拉维酸(20/10 μg), 头孢他啶(30 μg), 头孢唑林(30 μg), 庆大霉素(10 μg), 左氧氟沙星(5 μg), 哌拉西林/他唑巴坦(100/10 μg)。药敏试验判定标准为 2005 年版 NCCLS 标准, 质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC29213, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC43300, 大肠埃希菌 ATCC25922, 铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.6 两种方法相关性判定标准 以 Vitek2 法药敏结果为标准, 判定 K-B 纸片扩散法的结果。严重误差: Vitek2 耐药, 纸片扩散法敏感; 主要误差: Vitek2 敏感, 纸片扩散法耐药; 次要误差: Vitek2 耐药或敏感, 纸片扩散法中介。

2 结果

2.1 325 株阳性血培养标本细菌构成比 325 株阳性血培养标本中, 革兰阴性杆菌 153 株, 革兰阳性球菌 172 株, 阴性杆菌中以大肠埃希菌占优势, 阳性球菌以凝固酶阴性葡萄球菌占优势(表 1)。

2.2 153 株阴性杆菌纸片扩散法药敏与 Vitek2 法药敏结果的相关性 153 株阴性杆菌纸片扩散法药敏总组合数 858, 两种方法符合率 90.3%, 严重误差 2.4%, 主要误差 0.9%, 次要误

差 6.3%(表 2)。

表 1 325 株阳性血培养标本细菌构成比		
细菌	株数	构成比(%)
金黄色葡萄球菌	45	13.8
凝固酶阴性葡萄球菌	91	28.0
肠球菌	22	6.77
链球菌	9	2.77
其他阳性球菌	7	2.15
大肠埃希菌	45	13.8
肺炎克雷伯菌	8	2.46
铜绿假单胞菌	26	8.00
不动杆菌	21	6.46
阴沟肠杆菌	23	7.08
荧光假单胞菌	7	2.15
其他阴性杆菌	21	6.56

表 2 153 株阴性杆菌纸片扩散法结果与 Vitek2 药敏结果的相关性[n(%)]				
抗生素	药敏符合数	严重误差	主要误差	次要误差
阿莫西林/克拉维酸	110(76)	8(5.6)	2(1.4)	23(16)
头孢呋辛	126(88)	3(2.1)	2(1.4)	12(8.5)
庆大霉素	137(96)	2(1.4)	1(0.7)	3(1.9)
头孢他啶	138(96.5)	2(1.4)	1(0.7)	2(1.4)
左氧氟沙星	136(95.1)	2(1.4)	1(0.7)	4(2.8)
哌拉西林/他唑巴坦	128(89.5)	4(2.8)	1(0.7)	10(7.0)
合计	775(90.3)	21(2.4)	8(0.9)	54(6.3)

2.3 172 株阳性球菌纸片扩散法药敏与 Vitek2 法药敏结果的相关性 172 株阳性球菌纸片扩散法药敏总组合数 1 076,两法符合率 92.6%,严重误差 2.4%,主要误差 1.6%,次要误差 3.3%(表 3)。

表 3 172 株阳性球菌纸片扩散法结果与 Vitek2 药敏结果的相关性[n(%)]				
抗生素	药敏符合数	严重误差	主要误差	次要误差
氨苄西林	30(96.8)	0(0)	0(0)	1(3.2)
强力霉素	128(94)	1(0.7)	2(1.4)	5(3.9)
红霉素	160(96)	2(1.2)	2(1.2)	3(1.6)
庆大霉素	116(85.3)	5(3.7)	6(4.4)	9(6.6)
左氧氟沙星	146(87.4)	4(2.4)	1(0.6)	16(9.6)
苯唑西林	122(90)	11(7.9)	1(0.7)	2(1.4)
青霉素	129(94.8)	2(1.5)	4(3.0)	1(0.7)
万古霉素	165(98.8)	1(0.6)	1(0.6)	0(0)
合计	996(92.6)	26(2.4)	17(1.6)	36(3.3)

3 讨 论

阳性血培养标本的直接药敏试验,数小时内即可完成,可满足临床的需要。但 NCCLS 并未推荐将阳性血培养进行直

接药敏试验,国内外学者大多通过自动化仪器对阳性血培养标本直接进行鉴定和药敏试验,且取得了良好的检测效果。如能有效地对阳性血培养标本进行纸片扩散试验,较仪器法更加简便易行,适宜于基层医院开展。

本研究对 325 株革兰阳性球菌和革兰阴性杆菌标本进行了直接快速的纸片扩散药敏试验,与 Vitek2 法药敏结果相比,阴性杆菌纸片扩散法的符合率 90.3%,其中阿莫西林/克拉维酸的严重误差率 5.6%,多见于大肠埃希菌、不动杆菌的药敏结果中。哌拉西林/他唑巴坦的严重误差率 2.8%,多见于大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、嗜麦芽窄食单胞菌的药敏结果中。阳性球菌纸片扩散法的符合率 92.7%,苯唑西林的严重误差率 7.9%,多见于凝固酶阴性葡萄球菌,庆大霉素的严重误差率 3.7%,多见于凝固酶阴性葡萄球菌及粪肠球菌。此外,快速的纸片扩散药敏试验受纸片组合限制,不能检出 ESBLs 菌。

虽然直接快速纸片扩散法与 Vitek2 法药敏结果符合率高,节省的时间至少在 24 h 以上,但部分细菌的特定抗生素药敏试验的严重误差率不可忽视。为提高这种方法的可靠性,在检出易发生严重误差的细菌与相应的抗生素药敏结果时,须与临床医生沟通,并尽快发出标准方法的药敏结果,克服此法的弊端。这对于减少盲目用药,减少并发症及院内感染,提高治愈率,均有重要意义。

总之,阳性血培养标本的直接药敏试验,其方便快捷,对败血症的早期治疗有一定的指导意义,但对部分抗生素的药敏结果并不可靠,在实际工作中须谨慎对待。

参考文献

[1] 漆坚.全自动细菌鉴定仪对阳性血培养标本直接鉴定及药敏试验比较[J].国际检验医学杂志,2006,27(5):397-398.

[2] 汪定成,张青,刘树林,等.对血培养阳性标本直接检测的评估[J].中华检验医学杂志,2002,25(6):375.

[3] 朱德全,季海生.血培养阳性标本直接细菌鉴定和药敏的探讨[J].中华医院感染学杂志,2005,15(11):1300-1303.

[4] Bruins M, Bloembergen P, Ruijs GJ, et al. Identification and susceptibility testing of enterobacteriaceae and pseudomonas aeruginosa by direct inoculation from positive BACTEC blood culture bottles into VITEK2[J]. J Clin Microl,2004,42:7-11.

[5] Funke G, Funke-kissing P. Use of the BD PHOENIX automated microbiology system for direct identification and susceptibility testing of gram-negative rods from positive blood cultures in a three-phase trial [J]. J Clin Microl, 2004,42:1466-1470.

[6] Chapin KC, Musgnug MC. Direct susceptibility testing of posotive cultures by using sensitive brith microdilution plates[J]. J Clin Microl,2003,41:4751-4754.

[7] Edelmann A, Pietzcker T, Wellinghausen N. Comparison of direct disk diffusion and standard microtitre brith dilution susceptibility testing of blood culture isolates[J]. J Med Microl,2007,56:202-207.