

ATB STREP 5 对肺炎链球菌药敏试验结果判读的缺陷性分析*

肖亚雄, 彭宇生, 王 鹏, 黄忠团, 代小琴(四川省宜宾市第一人民医院检验科 644600)

【摘要】 目的 探讨 ATB STREP 5 肺炎链球菌药敏试剂盒在用于肺炎链球菌药敏结果判读中存在的缺陷。**方法** 以临床实验室标准化协会(CLSI) M100-S23 文件提供的肺炎链球菌对应抗菌药物折点为标准, 对 ATB STREP 5 试剂盒抗菌药物覆盖情况与各抗菌药物折点浓度进行对比分析。**结果** ATB STREP 5 试剂盒不包括 CLSI 推荐的碳青霉烯类和噁唑烷酮类等抗菌药物。ATB STREP 5 试剂盒提供的 11 种抗菌药物中, 有 9 种抗菌药物折点与 CLSI M100-S23 文件推荐的抗菌药物折点不一致, 可能导致临床药敏报告出现假耐药的情况。**结论** 在现行 CLSI 参考标准下, 单独使用 ATB STREP 5 试剂盒进行肺炎链球菌药敏试验将产生较大误差甚至错误, 必须联合使用其他药敏试验方法进行修正后方可发出报告。

【关键词】 肺炎链球菌; 耐药性; 缺陷

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.07.015 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)07-0915-02

Defect analysis of ATB STREP 5 kit in the susceptibility test of Streptococcus pneumoniae* XIAO Ya-xiong, PENG Yu-sheng, WANG Peng, HUANG Zhong-tuan, DAI Xiao-qin (Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Yibin City, Yibin, Sichuan 644600, China)

【Abstract】 Objective To explore the defects of ATB STREP 5 kit in the susceptibility test of Streptococcus pneumoniae. **Methods** The varieties and breakpoint concentrations of antibiotics included in ATB STREP 5 kit were analyzed by using the breakpoint concentrations of anti-Streptococcus pneumonia drugs recommend in CLSI document M100-S23 as standard. **Results** ATB STREP 5 kit did not include carbapenems and oxazolidinone antibacterial drugs that were recommended by CLSI. Among 11 kinds of antibacterial drugs included in ATB STREP 5 kit, there were 9 kinds of antibacterial drugs having different breakpoint concentrations compared with CLSI M100-S23 standard. These defects might lead to false resistant results in reports. **Conclusion** According to current CLSI reference standards, if ATB STREP 5 kit was the single method used for susceptibility detection of Streptococcus pneumonia, errors even mistakes would occur. The susceptibility results of Streptococcus pneumonia detected by ATB STREP 5 kit should be corrected by other methods before reporting.

【Key words】 Streptococcus pneumoniae; drug resistance; defection

肺炎链球菌为苛养菌, 临床实验室标准化协会(CLSI)推荐使用最低抑菌浓度(MIC)法及 E-test 法来测定该菌的耐药性^[1]。法国生物梅里埃公司所生产的 ATB STREP 5 药敏试剂盒为 MIC 法, 其操作简单, 适合于临床运用, 在国内已得到了广泛应用^[2-4]。但是笔者在应用该试剂盒的过程中发现, 该试剂盒在抗菌药物种类的范围设置及抗菌药物敏感、中介、耐药折点设置方面存在缺陷。可能对临床用药造成误导。本研究以 CLSI M100-S23 文件中的 2G-肺炎链球菌抑菌圈直径和 MIC 解释作为参考标准(以下简称 CLSI 标准)^[1], 对 ATB STREP 5 肺炎链球菌药敏试剂盒所包含的抗菌药物覆盖情况、对应 MIC 等在临床运用中的局限性进行了分析, 以期引起使用该试剂盒的检验同仁的注意, 更好地为临床抗菌药物的合理使用提供正确的指导。

1 材料与方 法

1.1 材料 ATB STREP 5 肺炎链球菌药敏试剂盒(生物梅

里埃公司生产)。

1.2 方法 以 CLSI M100-S23 文件中的 2G-肺炎链球菌抑菌圈直径和 MIC 解释作为参考标准, 对生物梅里埃公司生产的 ATB STREP 5 肺炎链球菌药敏试剂盒所提供的 11 种抗菌药物所覆盖的范围及对应折点情况与 CLSI M100-S23 文件进行对比分析, 查找差异, 并对其在临床运用中可能出现的误差或错误进行分析。

2 结 果

2.1 ATB STREP 5 试剂盒抗菌药物种类覆盖情况分析 ATB STREP 5 试剂盒一共包含 11 种抗菌药物: 青霉素、阿莫西林、头孢噻吩、红霉素、喹奴普丁/达福普丁、克林霉素、四环素、左氧氟沙星、氯霉素、万古霉素、复方磺胺甲噁唑。上述 11 种抗菌药物覆盖了青霉素类、三代头孢菌素类、大环内酯类、链阳霉素类、林可酰胺类、四环素类、氟喹诺酮类、氯霉素、糖肽类、叶酸代谢途径抑制剂类抗菌药物; CLSI M100-S23 文件对

* 基金项目: 四川省宜宾市科技局重点科技计划资助项目(2012SF005)。

作者简介: 肖亚雄, 男, 主管技师, 硕士, 主要从事临床微生物耐药性研究。

于肺炎链球菌药敏试验所选药物除要求覆盖上述各类抗菌药物外,还要求包括碳青霉烯类(美罗培南)、噁唑烷酮类(利奈唑胺)、二代头孢菌素类(头孢呋辛)、头孢洛林(非脑膜炎)及安莎霉素类(利福平,不单独使用)等,见表 1。

2.2 ATB STREP 5 试剂盒与 CLSI 标准推荐抗菌药物折点比较分析 从表 1 可见,ATB STREP 5 试剂盒提供的 11 种抗菌药物中,半数以上抗菌药物的浓度范围与现行 CLSI 标准折点存在差异,具体表现:青霉素浓度范围为 0.031~4.000 μg/mL,而针对于非脑脊液分离出的肺炎链球菌 MIC≥8 μg/mL

才可判读为耐药,如果根据试剂盒说明书进行判读,当 4 μg/mL 最高浓度孔中有细菌生长,可能实际 MIC 为 4~8 μg/mL,应判读为中介,根据说明书可误判为耐药;红霉素、喹奴普丁/达福普丁、克林霉素、四环素、氯霉素等 6 种抗菌药物仅提供了 1 个浓度折点,这一折点正好为敏感折点,根据试剂盒说明书,单一浓度抗菌药物测试孔中如果有细菌生长则判读为耐药,而实际上根据 CLSI 标准,可能实际为中介的抗菌药物被误判为耐药;阿莫西林、左氧氟沙星、复方磺胺甲噁唑则因为耐药拐点的上调也可能误将原本中介的抗菌药物误判为耐药,见表 1。

表 1 ATB STREP 5 试剂盒浓度范围与 CLSI M100-S23 文件折点比较

抗菌药物	试剂盒浓度范围(μg/mL)		CLSI 标准折点(μg/mL)		可能出现的错误判读
	下限	上限	敏感	耐药	
青霉素	0.031	0.500	≤2(非 CSF)	≥8(非 CSF)	假耐药(非 CSF)
	0.063	0.000			
	0.125	2.000	≤0.06(CSF)	≥0.12(CSF)	
	0.250	4.000			
阿莫西林	2	4	≤2(非 CSF)	≥8(非 CSF)	假耐药(非 CSF)
头孢噻肟	0.5	2.0	≤0.5(CSF)	≥2(CSF)	
	1	4	≤1(非 CSF)	≥4(非 CSF)	
红霉素	0.25	—	≤0.5	≥1	假耐药
喹奴普丁/达福普丁	1	—	≤1	≥4	假耐药
克林霉素	0.25	—	≤0.25	≥1	假耐药
四环素	2	—	≤1	≥4	假耐药
左氧氟沙星	2	4	≤2	≥8	假耐药
氯霉素	4	—	≤4	≥8	假耐药
万古霉素	1	—	≤1	—	
复方磺胺甲噁唑	0.5/9.5	2/38	≤0.5/9.5	≥4/76	假耐药

注:CSF 表示脑脊液分离菌株;非 CSF 表示非脑脊液分离菌株;—表示无数据。

3 讨 论

常规临床检验指标如血糖、血脂、血细胞计数参考范围或临床标准相对较稳定,因此一个标准或参考值可以沿用多年。而细菌耐药性与上述检验指标不同,因为细菌耐药性与临床抗菌药物的合理/不合理使用^[5-6],以及细菌本身耐药基因的变异等诸多因素存在直接关联^[7-8],因此对于细菌耐药、敏感判读的折点相对于上述其他临床指标而言变异较大。CLSI 标准每年更新,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 M100-S23 文件由 CLSI 于 2013 年颁布。

肺炎链球菌是临床标本中分离率较高的一种链球菌,其中大部分属于致病菌或条件致病菌,因此需要出具临床药敏报告以供临床医生参考。选择正确的试验方法和试剂盒是满足临床要求所必需的。ATB STREP 5 试剂盒操作简单、判读方便、无需特殊仪器,较传统的微量肉汤稀释法或药敏纸片法更适合于临床运用。但是,由于该试剂盒提供的反应孔内抗菌药物浓度是固定的,同一种抗菌药物包括 1 个低浓度孔(用于敏感的判读)和 1 个高浓度孔(用于耐药的判读),有的仅有 1 个判读敏感的浓度孔。一旦抗菌药物敏感、耐药判读折点发生变

化时,则有可能导致判读结果错误,对临床用药产生误导。

本研究将 ATB STREP 5 试剂盒说明书提供的抗菌药物浓度和 CLSI 标准制订的折点进行比较,发现从抗菌药物覆盖范围来看,该试剂盒提供的抗菌药物种类缺少碳青霉烯类(美罗培南)、噁唑烷酮类(利奈唑胺)、二代头孢菌素类(头孢呋辛)等抗菌药物。其中 CLSI 标准指出,厄他培南、亚胺培南、美罗培南可用于治疗肺炎链球菌引起的感染,而该试剂盒没有覆盖。另外从抗菌药物浓度范围来看,除头孢噻肟与万古霉素 2 种抗菌药物与 CLSI 标准一致外,其余 9 种抗菌药物均存在浓度覆盖范围过窄的情况,可能导致原本中介的抗菌药物被误判为耐药,导致临床原本可以使用的抗菌药物受到限制。

加强抗菌药物的合理使用,一直是国内外临床专家、微生物专家呼吁和关注的问题^[9]。就目前来看,国内临床实验室所使用的梅里埃 ATB STREP 5 肺炎链球菌药敏试剂盒与 CLSI 标准存在较大差异。因此,如果采用该试剂盒结果出报告需要慎重,对于未覆盖的抗菌药物需要补充其他覆盖该抗菌药物的试剂盒进行补充,或用手工方法进行补充报告,对于使用 ATB STREP 5 试剂盒判读为耐药的抗菌药物报告(下转第 918 页)

表 1 G6PD 缺乏症筛查结果[n(%)]

性别	正常	中度缺乏	重度缺乏	合计
男	521(93.53)	7(1.26)	29(5.21)	36(6.47)
女	551(96.50)	13(2.28)	7(1.22)	20(3.50)

3 讨 论

G6PD 是磷酸戊糖途径的一种关键酶, G6PD 缺乏可引起还原型辅酶 II (NADPH) 合成发生障碍, 对红细胞的变形性产生影响, 导致红细胞稳定性差, 抗氧化能力下降, 患者遇到诱发因素(如磺胺类药物、伯氨喹等氧化性药物或食用蚕豆等)时, 可导致红细胞破裂溶血, 临床上主要表现为贫血、黄疸、血红蛋白尿等, 急性重症患者可导致多器官功能衰竭甚至死亡, 严重危害患者的生命健康^[3]。

G6PD 缺乏症是一种不完全显性遗传病, 编码 G6PD 的基因位于 X 染色体上, 当该基因发生突变时, 可导致红细胞内 G6PD 的酶活性下降或改变酶的性质, 影响其正常的生理功能, 出现 G6PD 缺乏症^[4]。男性只有 1 条 X 染色体, 因而该突变基因的携带者即可患病, 临床上常表现为 G6PD 重度缺乏, 而女性有 2 条 X 染色体, 只有 2 条染色体上的基因都发生突变时, 才表现为重度缺乏^[5]。本组研究筛查了盐田区幼儿园的 1 128 例儿童, 结果呈现性别间差异有统计学意义, 男性多于女性, 且男性的重度缺乏率(5.21%)明显高于中度缺乏率(1.26%), 而女性中度缺乏率(2.28%)明显高于重度缺乏率(1.22%), 差异均具有统计学意义($P < 0.05$), 符合该病的 X 染色体连锁不完全显性遗传的规律。

本组研究中采用的 G6PD/6PGD 比值法, 是一种应用较为广泛的特异性直接诊断方法, 能够快速获得结果, 且在没有基因检测的条件下, 有助于筛查出杂合子携带者^[5]。G6PD 的发生率存在地域差异, 既往流行病学调查研究显示, 我国南方地区的 G6PD 缺乏症发生率为 4%~15%。蔡燕芬等^[6] 2003 年报道, 广州地区 G6PD 发生率为 7.83%, 且男性检出率(6.96%)明显高于女性检出率(0.87%)。蒋明等^[7] 2013 年报道的深圳市盐田区成人的 G6PD 缺乏症发生率为 4.50%。结合本组对幼儿园儿童的筛查结果, 提示盐田区为 G6PD 缺乏症

的高发区域。

目前尚无治疗 G6PD 缺乏症的特殊方法, 早期筛查发现对于防止因 G6PD 缺乏而导致的溶血及其继发的各种损伤具有重要作用, 尤其是针对少年儿童的早期筛查、早期发现, 有助于早期对患儿及其家属进行干预, 指导如何预防, 对患儿的健康成长、减轻痛苦和经济负担等具有重要的意义^[8]。

参考文献

- [1] 姚英姿, 方小武, 杨孜, 等. 应用荧光斑点法和 G6PD/6PGD 比值法检测新生儿 G6PD[J]. 中国优生与遗传杂志, 2010, 18(8): 78-79.
- [2] 陈海玲, 林丽琴, 魏林燕, 等. 2008 年~2012 年茂名地区新生儿遗传代谢病筛查结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21(12): 112-114.
- [3] Atef SH, Hafez S, Helmy S, et al. QF-PCR as a rapid technique for routine prenatal diagnosis of fetal aneuploidies[J]. *Pediatric Research*, 2011, 70: 412.
- [4] 赵钟鸣, 姚莉琴, 范丽梅. 云南省两边境州六民族 0~7 岁儿童地中海贫血流行病学调查[J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32(4): 352-356.
- [5] 刘家明, 卢桂森. 我国少数民族 G-6-PD 缺乏症基因突变的研究[J]. 中国小儿血液, 2001, 6(3): 140-142.
- [6] 蔡燕芬, 蒋迎佳, 杨涛. G-6PD 试纸法与 G6PD/6PGD 比值法的对照研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2003, 11(6): 46.
- [7] 蒋明, 候家兴, 李春龙, 等. 深圳盐田地区 G6PD 缺乏症发病率与基因突变调查[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(22): 2958-2959.
- [8] 宋世军, 张旋, 杨已. 地中海贫血和 G6PD 缺乏联合检测在婚前检查中的价值[J]. 中国优生与遗传杂志, 2007, 27(5): 103-104.

(收稿日期: 2014-10-15 修回日期: 2014-12-05)

(上接第 916 页)

一定要谨慎, 需要其他试验进行补充验证为耐药后方可发出, 以防止中介误判为耐药而发出错误报告, 误导临床用药。

参考文献

- [1] CLSI. M100-S23 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-third informational supplements[S]. Wayne, PA: CLSI, 2013.
- [2] 吴佳学. 儿科痰培养肺炎链球菌耐药分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(1): 96-98.
- [3] 郭远瑜, 王红旗, 窦琳琳, 等. 浙江萧山医院肺炎链球菌的分离和多重耐药菌及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(5): 745-748.
- [4] 吾金虎, 陶云珍, 王运中. 苏州地区 2010~2011 年儿童临床分离肺炎链球菌耐药监测[J]. 中国热带医学, 2012, 12(5): 571-573.

- [5] 黄会英, 郑瑞. 细菌耐药与抗菌药的合理应用分析[J]. 黑龙江医学, 2014, 27(2): 356-358.
- [6] 王平珍, 刘秋龙, 周庆华, 等. 多重耐药铜绿假单胞菌感染的危险因素与合理用药的研究[J]. 实验与检验医学, 2014, 32(3): 260-263.
- [7] 贾方增, 郑小涛, 陈统献, 等. 不同病区金黄色肺炎链球菌的耐药性及 mecA 基因携带差异研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(7): 1567-1569.
- [8] Mezzatesta ML, Caio C, Gona F, et al. Carbapenem and multidrug resistance in Gram-negative bacteria in a single centre in Italy: considerations on in vitro assay of active drugs[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2014, 44(2): 112-116.
- [9] 刘祖德, 鲁燕侠, 刘晓军, 等. 抗菌药物使用现状及对策分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(9): 1868-1869.

(收稿日期: 2014-10-16 修回日期: 2015-01-15)