

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.08.034

醋酸吡啶实验在卡他莫拉菌快速鉴定中的临床应用

刘 岚¹, 王小龙²

(1. 四川省内江市市中区疾病预防控制中心检验科 641000; 2. 四川省内江市第二人民医院检验科 641000)

摘要:目的 通过对醋酸吡啶(ACIND)实验与经典生化鉴定结果的一致性分析,评价 ACIND 的临床应用价值。方法 选取某院分离的 273 株卡他莫拉菌(MC)疑似菌株为实验菌株,同时应用 ACIND 与 VITEK-2 compact 进行鉴定,对鉴定结果进行统计学分析,结合药物敏感性数据,评价其快速检测结果对临床用药的参考价值。结果 273 株疑似菌株经生化鉴定为 257 株 MC 及 16 株非 MC,257 株 MC 经 ACIND 鉴定有 254 株显阳性,而 16 株非 MC 中也有 6 株显阳性或弱阳性。ACIND 对 MC 的灵敏度与特异度分别为 98.83%(254/257)与 62.50%(10/16),阳性预测值与阴性预测值分别为 96.15%(254/260)及 76.92%(10/13),Kappa 值为 0.672。该菌 β -内酰胺酶阳性率为 99.22%(255/257),对复方磺胺甲噁唑、头孢克诺及头孢唑辛的不敏感率均在 20%~30%,对其他抗菌药物不敏感率低于 5%。结论 ACIND 鉴定结果与经典生化鉴定结果具有较好一致性,结合该地区 MC 耐药监测数据对临床用药具有较好的指导作用及临床应用前景。

关键词:卡他莫拉菌; 醋酸吡啶试验; 快速鉴定; 耐药**中图分类号:**R446.5**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2019)08-1121-03

卡他莫拉菌(MC)是一种临床常见的革兰阴性双球菌,原属于奈瑟菌属, Catlin 于 1970 年将该菌归入布兰汉菌属,1984 年《伯杰分类细菌学手册》将其列入莫拉菌属^[1]。MC 是人类上呼吸道条件致病菌,引起多种感染,如肺炎、化脓性中耳炎、鼻窦炎及眼结膜炎等,是儿童社区获得性肺炎的主要病原菌之一,其感染率仅次于肺炎链球菌及流感嗜血杆菌^[2-3]。MC 能够产生乙酰酯酶,该酶具有水解乙酰酯类化合物的能力,使醋酸吡啶(ACIND)水解生成蓝色物质,可以应用于 MC 的快速鉴定。ACIND 是一种新型的 MC 快速鉴定方法,本研究通过对 ACIND 与经典生化法鉴定结果的比较与统计分析,结合 MC 药敏结果,对其临床应用价值进行评价,为该方法的推广应用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料 选取某院 2017 年 1 月 1 日至 2017 年 12 月 31 日临床标本分离的符合 MC 菌落特征的 MC 疑似菌株作为实验菌株;质控菌株分别为 MC(ATCC8176)及乳糖奈瑟菌(ATCC23970)。

1.2 仪器与试剂 VITEK-2 compact 全自动微生物鉴定系统与 MC 鉴定卡(法国梅里埃)、ATB HAEMOMC 药敏测试条(法国梅里埃)、哥伦比亚血琼脂平板(重庆庞通)、ACIND 测试纸条与缓冲液(重庆庞通)、 β -内酰胺酶纸片(重庆庞通)。

1.3 方 法

1.3.1 鉴定 选取哥伦比亚血琼脂平板上纯生长菌落,按以下标准进行初筛:菌落直径大于 1 mm、灰白色或米黄色、光滑不透明不溶血、接种环推动似冰球、压迫式切蜡,革兰染色为阴性双球菌,氧化酶阳性,触酶阳性。在 ACIND 试纸条测试端滴加缓冲液,直接

将可疑菌落涂布于测试端,置于 35 °C 孵育 5~10 min,观察涂菌位置是否显深蓝色,具体参照试剂使用说明书进行操作,显蓝色即为 MC,其他情况为非 MC。同时将菌落调制 3.0 McF 浊度,使用仪器上机鉴定,自动判读结果。

1.3.2 药物敏感性试验 对生化鉴定为 MC 进行药物敏感性试验,将菌落调制 0.5 McF 浊度,按 ATB HAEMO 试剂盒说明书进行加样,置 35 °C 孵育 18~24 h,根据 CLSI M45 或 EUCAST2016 版标准进行药物敏感性判读。

1.4 统计学处理 采用 Kappa 值评价方法一致性,计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 病例基本情况 共收集到 273 例疑似 MC 感染病例,其中 90.11%(246/273)来自儿科,其次为呼吸内科 4.03%(11/273)例,其他科室散在分布。病例平均年龄(6.24±17.71)岁,中位数年龄 1 岁,6 岁以下儿童占感染病例的 91.94%(251/273),见图 1。标本主要来自呼吸道,其中痰液占 99.27%(271/273),咽分泌物与眼分泌物各 1 份。

2.2 鉴定结果 共分离到 273 株初筛疑似 MC,经 VITEK-2 compact 鉴定结果为 257 株 MC、6 株灰色奈瑟菌、5 株长奈瑟菌、3 株干燥奈瑟菌及 2 株微黄奈瑟菌。其中 254 株 MC 经 ACIND 鉴定均为阳性,16 株非 MC 经 ACIND 鉴定有 4 株呈阳性反应,有 2 株呈弱阳性反应且延长至 10 min 呈阳性反应,余下 10 株在规定时间内显色不明显,见图 2。以 VITEK-2 compact 鉴定结果为参考,ACIND 鉴定 MC 的灵敏度与特异度分别为 98.83%(254/257)与 62.50%(10/16)。

16), 阳性预测值与阴性预测值分别为 96.15% (254/260) 及 76.92% (10/13), Kappa 值为 0.672, $P < 0.001$, 与经典生化鉴定结果一致性较好, 见表 1。

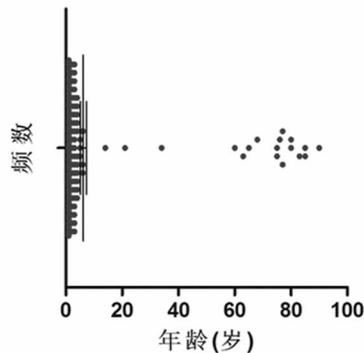
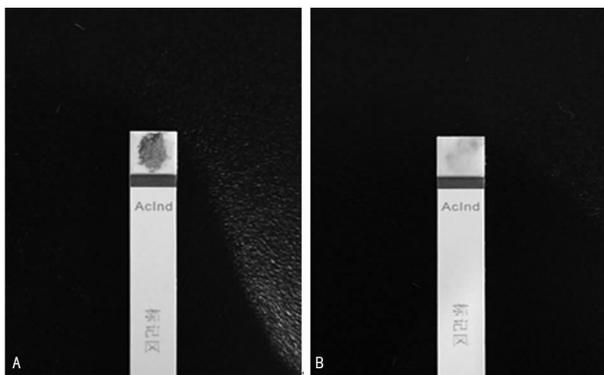


图 1 感染病例年龄分布情况



注: A 为阳性对照; B 为阴性对照

图 2 ACIND 显色结果示意图

表 1 经典生化鉴定结果与 ACIND 鉴定结果比较

细菌名称	VITEK-2 鉴定结果 数量 (n)	ACIND 鉴定结果		鉴定正确率 (%)
		阳性/弱阳性 (n)	阴性 (n)	
MC	257	254	3	98.83
灰色奈瑟菌	6	2	4	66.67
长奈瑟菌	5	2	3	40.00
干燥奈瑟菌	3	1	2	66.67
微黄奈瑟菌	2	1	1	50.00
合计	273	260	13	96.70

2.3 药物敏感性试验 257 株 MC β -内酰胺酶阳性率为 99.22% (255/257), 药敏结果显示该菌对复方磺胺甲噁唑耐药率最高, 达到 22.57% (25/257), 对阿莫西林及利福平耐药率最低, 仅为 0.39%。对头孢呋辛、四环素、氯霉素及头孢噻肟耐药率均低于 10%, 但对头孢克诺、头孢呋辛的中介率分别为 24.51%、19.84%, 见表 2。

表 2 MC 耐药率结果 [n (%)]

抗菌药物	敏感率	中介率	耐药率	参考标准
β -内酰胺酶	2(0.78)	—	255(99.22)	CLSI-M45
复方磺胺甲噁唑	199(77.43)	0(0.00)	58(22.57)	EUCAST

续表 2 MC 耐药率结果 [n (%)]

抗菌药物	敏感率	中介率	耐药率	参考标准
头孢克诺	158(61.48)	63(24.51)	36(14.01)	CLSI-M45
头孢呋辛	182(70.82)	51(19.84)	14(5.45)	CLSI-M45
四环素	248(96.50)	0(0.00)	9(3.50)	CLSI-M45
氯霉素	253(98.44)	2(0.78)	2(0.78)	EUCAST
头孢噻肟	255(99.22)	0(0.00)	2(0.78)	CLSI-M45
利福平	256(99.61)	0(0.00)	1(0.39)	EUCAST
阿莫西林/克拉维酸	256(99.61)	0(0.00)	1(0.39)	CLSI-M45

注: — 为此项无数据

3 讨论

MC 是呼吸道常见病原菌, 曾归属于奈瑟菌属, 易于与口腔中正常定植的其他奈瑟氏菌混淆, 对菌种的正确鉴定关系到感染的针对性治疗。目前, 微生物学快速鉴定方法层出不穷, 从核酸检测到蛋白质谱分析, 然而更加经济的生化鉴定方法仍为大多数基层医院所接受, 但传统的生化鉴定法对 MC 的鉴定需要 18~24 h 甚至更长, 无法满足临床对病原菌快速鉴定的需求。

病原菌的快速鉴定是病原微生物学发展的内在要求, 目前针对 MC 鉴定的较为先进的方法有 MALDI-TOF MS、16S rRNA 测序等分子生物学方法, MALDI-TOF MS 可以在数分钟内作出鉴定, 而 16S rRNA 测序为细菌鉴定的金标准^[4-5]。相比昂贵的分子生物学鉴定, 基层医院实验室更倾向于应用经济方便的表型鉴定方法, 崔柳青等^[6]发明了一种特殊的显色培养基用于 MC 鉴定, 灵敏度与特异度分别为 94.5% 与 95.1%, 且几乎不耗费额外的鉴定时间, 是一种极具临床应用价值的鉴定方法。黄莹琪等^[7]针对 MC 胞外结构域单一线性表位设计胶体金试纸, 可以直接从标本中检出 MC, 耗时约 10 min, 具有床旁检测 (POCT) 应用的潜力, 但不能区分活菌与死菌。ACIND 鉴定 MC 首先需要对标本进行培养以获得单个菌落, 更接近于传统鉴定方法, 易于被临床实验室所接受。该方法可以在 10 min 内对疑似菌落进行快速鉴定, 阳性预测值高达 96.15%, 具有较佳的检测效果, 但该方法过于敏感, 对一些非 MC 也会显示蓝色, 特异度仅为 62.50%, 所以对菌落的初筛显得非常重要。

MC 对免疫力较低的人群特别是儿童具有较大危险性, REN 等^[8]尝试通过疫苗的方式减少该菌引起的感染, 目前已完成动物实验, 即将进入临床试验, 但经验性的用药治疗仍然为降低感染危险性的唯一办法。本研究显示, MC 对多数抗菌药物敏感性较好, 但其 β -内酰胺酶产酶率接近 100%, 且在本地区有升高的趋势, 2016 年付魏萍等^[9]统计结果为 87.5%, 该菌在全国范围内产酶率也超过 90%; 孙燕等^[10]对 2005—2014 年全国耐药监测网数据的分析发现其产酶率为

93.3%，临床用药时需给予充分考虑。张琼芳等^[11]对四川省 2013—2016 年 MC 的耐药分析表明，该菌对阿莫西林克拉维酸的耐药率较低，且呈下降趋势，对复方磺胺甲噁唑的耐药率逐年增高，而对头孢曲松、头孢噻肟、左氧氟沙星的不敏感率均较低，与本研究结果基本相同。值得关注的是该菌对头孢克诺及头孢呋辛的中介率均在 20% 左右，总体上不敏感率均超过复方磺胺甲噁唑而排前两位，可能与这两种药物的过多使用有关。

综上所述，ACIND 是一种快速鉴定 MC 的新型方法，可以为临床提供快速的鉴定结果，结合本地区 MC 耐药情况进行用药治疗，可以明显缩短病例住院时间，节省社会医疗资源，具有较高的临床应用价值。

参考文献

[1] 陈霞,王彩虹.卡他莫拉菌对大环内酯类耐药机制的研究进展[J/CD].临床医药文献电子杂志,2015(19):4040-4041.
 [2] 洪伍华,林淑银.社区获得性呼吸道感染常见病原菌耐药分析[J].海峡预防医学杂志,2015,21(6):91-92.
 [3] RODRIGUES C, GROVES H. Community-Acquired Pneumonia in Children; the Challenges of Microbiological Diagnosis[J]. J Clin Microbiol, 2018, 56(3): e1317-e1318.
 [4] SARVARI K P, SOKI J, IVAN M, et al. MALDI-TOF MS versus 16S rRNA sequencing: Minor discrepancy between

tools in identification of Bacteroides isolates[J]. Acta Microbiol Immunol Hung, 2017, 65(2): 1-9.
 [5] SHIN H B, YOON J, LEE Y, et al. Comparison of MALDI-TOF MS, housekeeping gene sequencing, and 16S rRNA gene sequencing for identification of Aeromonas clinical isolates[J]. Yonsei Med J, 2015, 56(2): 550-555.
 [6] 崔柳青,景红娟,周广舟,等.用于快速鉴别卡他莫拉菌的显色培养基:201710872979.5[P]. 2017-11-21.
 [7] 黄莹琪,张秋,陶冶,等.人呼吸道卡他莫拉菌快速检测胶体金试纸的研制[J].生物技术通报,2018,34(9):184-189.
 [8] REN D, PICHICHERO M E. Vaccine targets against Moraxella catarrhalis[J]. Expert Opin Ther Targets, 2016, 20(1): 19-33.
 [9] 付魏萍,袁翔,袁平宗,等.0~5岁儿童下呼吸道感染卡他莫拉菌特点及耐药性研究[J].检验医学与临床,2017,14(18):2670-2672.
 [10] 孙燕,孔菁,张泓,等.2005—2014年CHINET流感嗜血杆菌和卡他莫拉菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2016,16(2):153-159.
 [11] 张琼芳,王芳,李睿,等.2013—2016年四川省儿童患者流感嗜血杆菌和卡他莫拉菌耐药性分析[J].现代检验医学杂志,2018,33(2):38-41.

(收稿日期:2018-09-28 修回日期:2018-11-20)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 08. 035

肿瘤相关和非肿瘤性 LEMS 临床及神经电生理特点比较

孙金燕¹, 黄旭升^{2△}

(1. 天津医科大学总医院保健医疗部 300052; 2. 中国人民解放军总医院神经内科, 北京 100853)

摘要:目的 探讨肿瘤相关的 Lambert-Eaton 肌无力综合征(LEMS)和非肿瘤性 LEMS 患者临床及电生理表现有无差别。方法 收集符合 LEMS 诊断标准的 37 例患者,对其临床资料进行回顾性分析,随访其肿瘤筛查发现情况。结果 肿瘤相关 LEMS 和非肿瘤性 LEMS 患者在临床表现包括起病方式、肢体受累、晨轻暮重、颅神经受累、呼吸肌受累、自主神经症状、腱反射、肌力、运动后易化等方面差异无统计学意义($P > 0.05$),神经电生理表现包括针极肌电图、重频刺激等方面差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 肿瘤相关 LEMS 和非肿瘤性 LEMS 患者在临床表现及神经电生理表现方面无明显区别。

关键词: Lambert-Eaton 肌无力综合征; 肿瘤; 临床表现; 神经电生理

中图分类号: R746.9

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)08-1123-03

Lambert-Eaton 肌无力综合征(LEMS)是一种以肢体近端肌无力为特点的神经肌肉接头传递障碍性疾病。患者自身抗体抑制电压门控钙通道(VGCC)引起相应的无力症状^[1]。超过半数的 LEMS 患者伴有肿瘤,以小细胞肺癌(SCLC)最为多见。由于该病少见^[2],本研究意在通过对已有 LEMS 患者的分析了解肿瘤相关的 LEMS(T-LEMS)和非肿瘤性 LEMS(NT-LEMS)之间的表现差异,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2008 年 1 月至 2015 年 2 月在中国人民解放军总医院确诊为 LEMS 的患者 37 例,其中肿瘤患者(肿瘤组)29 例(78.4%),非肿瘤患者(非肿瘤组)8 例(21.6%),发病年龄 31~78 岁,男 27 例、女性 10 例,平均发病年龄 56.5 岁,其中肿瘤组平均发病年龄 56.7 岁,非肿瘤组发病年龄 55.9 岁。两组患者性别、发病年龄比较,差异无统计学意义($P >$

△ 通信作者, E-mail: Lewish301@sina.com.