

• 论 著 •

鲍曼不动杆菌替加环素不同药敏检测方法敏感性对比分析*

邹自英,雷启丽,刘媛[△],朱冰,方小珍,王琴,谭积善,刘明
(成都军区总医院微生物免疫科,四川成都 610083)

摘要:目的 比较采用不同药敏检测方法检测替加环素对鲍曼不动杆菌敏感性的差异。方法 2013 年临床分离碳青霉烯耐药鲍曼不动杆菌 60 株,采用微量肉汤稀释法、MTS 测试条法、Vitek2 仪器检测法、纸片扩散法分别检测替加环素对鲍曼不动杆菌的敏感性。结果 微量肉汤稀释法替加环素敏感性为 100.00%,未检测到中介和耐药菌株;MTS 测试条法敏感性为 81.67%,中介率为 18.33%,未检测到耐药菌株;Vitek2 仪器法敏感性为 50.00%,中介率为 43.33%,耐药率为 6.67%;纸片扩散法敏感性为 45.00%,中介率为 45.00%,耐药率为 10.00%。结论 替加环素对碳青霉烯耐药鲍曼不动杆菌具有较好的抗菌活性,但检测方法的局限性对结果的报告影响较大,以微量肉汤法为标准,MTS 测试条法的符合率最高,Vitek2 仪器法和纸片扩散法的敏感性显著降低。

关键词:替加环素; 鲍曼不动杆菌; 敏感性
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.07.007 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)07-0880-02

Analysis on comparability of different tigecycline susceptibility testing methods for Acinetobacter baumannii*

Zou Ziying, Lei Qili, Liu Yuan[△], Zhu Bing, Fang Xiaozhen, Wang Qin, Tan Jishan, Liu Ming
(Department of Microbiology and Immunology, General Hospital of
Chengdu Military Region, Chengdu, Sichuan 610083, China)

Abstract: **Objective** To compare the difference by adopting different susceptibility testing methods to detect the susceptibility of Acinetobacter baumannii to tigecycline. **Methods** 60 strains of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii isolated during 2013 were performed the susceptibility test to tigecycline by the broth dilution method, MIC test strip, VITEK 2 compact system and disk diffusion method respectively. **Results** The susceptibility rates of 60 strains of Acinetobacter baumannii to tigecycline by the broth dilution method, MIC test strip, MIC test strip were 100.00%, 81.67%, 50.00% and 45.00% respectively, the intermediate rates were 0.00%, 18.33%, 43.33% and 45.00%, the resistant rates were 0.00%, 0.00%, 6.67% and 10.00% respectively. **Conclusion** Tigecycline displays better antibacterial activity to carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii, but the limitation of detection method has larger influence on the result report. With the broth dilution method as the standard, the MIC test strip has the highest coincidence rate, while the sensitivity of MIC test strip is significantly decreased.

Key words: tigecycline; acinetobacter baumannii; susceptibility

鲍曼不动杆菌是医院获得性感染的主要致病菌之一,由于产生 β 内酰胺酶、氨基糖苷修饰酶、外膜蛋白丢失及膜孔蛋白缺失、青霉素结合蛋白改变及外排泵等机制出现多药耐药现象^[1-2]。近年来,碳青霉烯耐药鲍曼不动杆菌的广泛流行,给临床治疗带来极大挑战。文献报道,替加环素对多药耐药鲍曼不动杆菌具有很好的抗菌活性^[3]。为了解本院碳青霉烯耐药鲍曼不动杆菌替加环素的敏感性,本实验采用微量肉汤稀释法、MTS 测试条法、Vitek2 仪器检测法、纸片扩散法分别对菌株的替加环素敏感性进行了对比检测,并以此为依据制定实验室替加环素敏感性检测方案。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 2013 年临床分离碳青霉烯耐药鲍曼不动杆菌 60 株,所有菌株采用梅里埃公司的 Vitek2 compact 全自动化细菌鉴定药敏仪进行鉴定,鲍曼不动杆菌 ATCC19606 购自中国工业菌种保藏中心。

1.2 仪器与试剂 替加环素药敏纸片(Oxoid 公司)、替加环素 MTS 条(意大利 biofilchem 公司)及替加环素干粉(美国辉瑞公司)均为美国辉瑞公司惠赠。GN 鉴定卡、GN-16 药敏检

测卡及 Vitek2 compact 全自动微生物分析仪为法国梅里埃公司产品。

1.3 细菌鉴定和药敏检测 微量肉汤稀释法和纸片扩散法严格按照 CLSI 推荐的方法测定 60 株鲍曼不动杆菌替加环素的最小抑菌浓度(MIC)值和抑菌环直径,同时采用梅里埃公司的 Vitek2 compact 全自动微生物分析仪和 GN-16 药敏检测卡及意大利 biofilchem 公司的 MTS 测试条检测其 MIC 值。由于替加环素尚无 CLSI 推荐的药敏折点标准,本研究采用 FDA 推荐的对肠杆菌科细菌的稀释法药敏折点标准:敏感(S)≤2 μg/mL,中介(I)4 μg/mL,耐药(R)≥8 μg/mL,纸片扩散法药敏折点标准:S≥19 mm, I 15~18 mm, R≤14 mm。

1.4 统计学处理 以微量肉汤稀释法为标准,其余方法与之相比较,完全符合率(EA)定义为被评估方法检测 MIC 与微量肉汤稀释法 MIC 值相差不超过 1 个稀释度的菌株百分比;分类一致性(CA)定义为被评估方法与微量肉汤稀释法药敏结果判断为 S、I、R 一致性的菌株百分比;非常重大误差(VME)定义为被评估方法将耐药误判为敏感;重大误差(ME)定义为被评估方法将敏感误判为耐药。采用 SPSS17.0 统计软件对两

* 基金项目:四川省卫生计生厅课题资助项目(130318)。 作者简介:邹自英,女,主管技师,主要从事细菌耐药机制研究。 △ 通讯作者, E-mail:liuyuan198231@163.com。

组数据进行统计学分析, $P<0.05$ 判断为有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同检测方法的药敏检测结果 与微量肉汤法比较, VITEK 仪器法和纸片扩散法检测的替加环素敏感性明显降低。

表 1 不同检测方法的药敏检测结果

检测方法	S(%)	I(%)	R(%)	P
微量肉汤稀释法	100.00	0.00	0.00	—
MTS 测试条法	81.67	18.33	0.00	0.182
VITEK 仪器法	50.00	43.33	6.67	0.000
纸片扩散法	45.00	45.00	10.00	0.000

P: 与微量肉汤稀释法敏感性比较; —: 无数据。

2.2 3 种药敏检测方法与微量肉汤稀释法测定结果比较 与微量肉汤法比较, MTS 测试条法符合率最高, 未出现 VME 和 ME 结果。

表 2 3 种药敏检测方法与微量肉汤稀释法比较结果

检测方法	VME(%)	ME(%)	CA(%)
MTS 测试条法	0.00	0.00	81.67
VITEK 仪器法	0.00	6.67	50.00
纸片扩散法	0.00	10.00	45.00

3 讨 论

替加环素属于甘酰胺环素类抗菌药物盐酸米诺环素的衍生物, 临床上多用于高耐药菌株引起的感染性疾病的治疗, 如碳青霉烯耐药的肠杆菌科细菌、泛耐药的鲍曼不动杆菌、耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌及耐万古霉素的肠球菌等引起的感染性疾病的治疗。替加环素适应症为复杂性腹腔感染, 但临床大部分用于由鲍曼不动杆菌引起的医院感染的治疗^[4], 也有报道用于治疗多药耐药菌株引起的血流感染^[5]和泌尿道感染^[6]。由于重症感染患者对大剂量替加环素具有良好的耐受性, 且大剂量的替加环素治疗临床重症感染取得良好的疗效, 扩大了替加环素的应用范围, 但也使得替加环素的耐药性呈现上升趋势^[5,7-8]。

药敏结果直接用于指导临床用药, 所以其准确性尤为关键。替加环素体外药敏可采用微量肉汤稀释法、MTS 测试条法、Vitek2 仪器检测法和纸片扩散法等进行检测, 不同的药敏检测方法各有其优缺点^[9-11]。微量肉汤稀释法检测结果准确, 是食品和药物管理局(FDA)推荐的替加环素药敏检测方法, 但其操作非常繁琐, 替加环素干粉试剂也需要现配现用, 不能长期储存, 不适合临床批量标本的检测。MTS 测试条法操作相对简便, 但试剂条的成本较高, 大批量应用于临床增加患者的经济负担。Vitek2 仪器检测法可以使用现代化的全自动仪器与其他抗菌药物敏感性同时进行检测, 操作简单, 是最适合临床批量检测的方法。纸片扩散法相对其他方法来讲, 是经济成本最低的检测方法, 但该方法的检测结果受到琼脂生产厂家、纸片生产厂家等因素的影响^[12], 相对于其他检测方法来讲, 结果的准确性最低。从本结果可以看出, 以微量肉汤稀释法为对照, 采用 MTS 测试条检测方法出现 18.33% 的中介敏感度菌株, 未出现耐药的菌株, 由于中介敏感度仍然是临床可选择范围, 所以 MTS 测试条检测方法是更接近微量肉汤稀释法的检测方法。而 Vitek2 仪器检测法和纸片扩散法均出现了耐药

菌株, 且中介敏感度菌株比例明显增加, 限制了该药物的适用范围, 中介以上敏感度特别是耐药的菌株是需要进行敏感性的进一步验证的。

本实验 MTS 法检测替加环素结果和肉汤稀释法最接近, 但仍然有 80.00% 的菌株出现了 MIC 结果相差 1 个稀释度以上, Vitek 法和纸片扩散法 CA 分别为 50.00% 和 45.00%, ME 分别为 6.67% 和 10.00%, 可以看出 Vitek 法和纸片扩散法检测替加环素的敏感性均会出现明显偏差, 替加环素结果报告为耐药或中介可能是由于检测方法的局限性造成的, 如果不进行确证实验, 可能就人为地限制了该抗菌药物的使用范围。因此, 适合实验室的操作方法是, 首先应用 Vitek 法或纸片扩散法检测替加环素的敏感性, 中介或耐药菌株应用 MTS 测试条进行检测, 临床确实有需要的患者再采用微量肉汤稀释法验证替加环素的药敏结果, 从而使得该抗菌药物达到最大的适用范围。

参考文献

[1] 孟祥兆, 韩黎, 多丽波, 等. 金属 β 内酰胺酶的检出及流行病学研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(1): 69-76.

[2] 曲俊彦, 吕晓菊. 不动杆菌对替加环素及多黏菌素耐药机制研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(7): 492-496.

[3] Dong L, Chen F, Zhang Y, et al. In vitro activities of rifampin, colistin, sulbactam and tigecycline tested alone and in combination against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. J Antibiot, 2014, 99(10): 1038-1041.

[4] Viehman JA, Nguyen MH, Doi Y. Treatment options for carbapenem-resistant and extensively drug-resistant *acinetobacter baumannii* infections[J]. Drugs, 2014, 74(12): 1315-1333.

[5] Spiliopoulou A, Jelastopulu E, Vamvakopoulou S, et al. In vitro activity of tigecycline and colistin against *A. baumannii* clinical bloodstream isolates during an 8-year period[J]. J Chemother, 2014, 14(9): 947-949.

[6] Brust K, Evans A, Plemmons R. Tigecycline in treatment of multi-drug-resistant gram-negative bacillus urinary tract infections: a systematic review[J]. J Antimicrob Chemother, 2014, 30(2): 189.

[7] De Pascale G, Montini L, Pennisi M, et al. High dose tigecycline in critically ill patients with severe infections due to multidrug-resistant bacteria[J]. Crit Care, 2014, 18(3): 290.

[8] Van Duin D, Cober E, Richter SS, et al. Tigecycline therapy for carbapenem-resistant *klebsiella pneumoniae* (CRKP) bacteriuria leads to tigecycline resistance[J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 10(1): 123-125.

[9] 倪文涛, 李悦, 梁蓓蓓, 等. 两种方法测定替加环素对鲍曼不动杆菌药敏结果的比较[J]. 中国药物应用与监测, 2013, 10(1): 135-138.

[10] Wang RT, Wang H, She DY. Tigecycline minimum inhibitory concentration for carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* by two methods[J]. Chin J Med, 2014, 127(10): 1997.

[11] 朱以军, 应华永, 卜黎红, 等. 微量肉汤稀释法检测葡萄球菌属诱导型克林霉素耐药的评价[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(17): 2713-2715.

[12] 崔俊昌, 宋秀杰. 不同 MH 琼脂对于替加环素对鲍曼不动杆菌药敏结果的影响[J]. 中国药物应用与监测, 2012, 9(1): 84-86.