

生物梅里埃 ATB STAPH 5 葡萄球菌 药敏试剂盒的局限性分析*

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

摘要:目的 分析探讨生物梅里埃产葡萄球菌药敏试剂盒 ATB STAPH 5 在临床运用中存在的缺陷, 并提出补救/解决方案。方法 以 CLSI M100-S23 提供的葡萄球菌对应抗生素拐点作为标准, 对梅里埃药敏试剂盒 ATB STAPH 5 抗生素覆盖情况与各抗生素拐点浓度进行对比分析。结果 ATB STAPH 5 试剂盒不包括 CLSI 推荐的氯霉素类和恶唑烷酮类、脂肽类三类抗生素; ATB STAPH 5 试剂盒提供的 16 种抗生素拐点均与 CLSI M100-S23 推荐抗生素拐点不一致, 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 在现行 CLSI 参考标准下, 单独使用 ATB STAPH 5 试剂盒进行葡萄球菌药敏试验将产生较大误差甚至错误, 必须要其他药敏试验方法进行修正方可发出报告。

关键词:生物梅里埃; 药敏; 葡萄球菌; 局限性

中图分类号: R446.5 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)03-122-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.03.037

Limitation of *Staphylococcus Spp* Test Kit ATB STAPH 5 from BioMerieux in Clinical Application

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, Sichuan Yibin 644600, China)

Abstract: **Objective** To study the limitation analysis of *Staphylococcus spp* Susceptibility Test Kit ATB STAPH 5 from BioMerieux in clinical application and to propose remedy. **Methods** The coverage area and break point of antibiotics ATB STAPH 5 from BioMerieux were analysed by using CLSI M100-S23 as standard. **Results** The kit ATB STAPH 5 did not include chloramphenicol, oxazolidinones and lipopeptide three antibiotics that were recommended by CLSI. The 16 kinds of antibiotics break point in the kit ATB STAPH 5 were all not inconsistent or did not contain with the standard of CLSI M100-S23. It may lead to error drug sensitivity tests, false sensitive or false drug resistance. **Conclusion** Only using this kit ATB STAPH 5 for *Staphylococcus spp*, it may occur errors or mistakes. Other experiments must be corrected before the report.

Keywords: biomerieux; susceptibility; staphylococcus spp; limitation

葡萄球菌药敏试剂盒 ATB STAPH 5 为法国生物梅里埃(以下简称梅里埃)公司所生产。由于该试剂盒操作简单(公司提前将诸多实验药物固定在一塑料反应小孔内, 进行药敏试验的时候只需将配置好的菌悬液加入药敏反应孔内 35℃~37℃ 孵育 16~24 h, 详见试剂盒说明书)、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)、无需特殊仪器(判读时可采用肉眼判读或仪器判读), 因此较传统微量肉汤稀释法或药敏纸片法更适合于临床运用。尤其对于标本量不大的基层医院该试剂具有很大的吸引力, 但是由于试剂盒提供反应孔内抗生素浓度是固定的, 同一种抗生素包括一个低浓度孔(用于敏感的判读)和一个高浓度孔(用于耐药的判读), 有的仅有一个判读敏感的浓度孔。因此一旦抗生素敏感、耐药判读拐点发生变

化时则有可能导致判读结果错误, 对临床用药产生误导。本文以《CLSI M100-S23-表 2A 葡萄球菌属抑菌圈直径和最低抑菌浓度解释标准》^[1]作为参考标准(以下简称 CLSI 标准), 对 ATB STAPH 5 葡萄球菌药敏试剂盒所包含的抗生素覆盖情况、对应 MIC 浓度等在临床运用中的局限性进行分析, 以期引起使用该试剂盒的检验同仁注意, 以更好地为临床抗生素的合理使用提供正确的指导, 具体报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料 ATB STAPH 5 葡萄球菌药敏试剂盒(生物梅里埃公司生产); CLSI 标准文件为 CLSI M100-S23(中华检验医学杂志 CLSI 临床检验标准编译小组 2013 年出版)。

1.2 方法 以《CLSI M100-S23 文件表 2A 葡萄

* 作者简介: 肖亚雄(1981-), 男, 硕士, 主管技师, 主要从事临床微生物耐药性研究, Tel: 13684177400, E-mail: xiaoyaxiong@163.com。

球菌抑菌圈直径和最低抑菌浓度解释标准》作为参考标准。对生物梅里埃公司生产的 ATB STAPH 5 葡萄球菌药敏试剂盒所提供的 16 种抗生素的覆盖范围、试剂盒提供的 16 种抗生素对应拐点情况与 CLSI M100-S23 文件进行对比分析,查找差异及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 STAPH 5 试剂盒抗生素种类覆盖情况分析 ATB STAPH 5 试剂盒一共包含 16 种抗生素,具体为:青霉素、复方新诺明、庆大霉素、红霉

素、氯林可霉素、四环素、米诺四环素、万古霉素、替考拉宁、利福平、诺氟沙星、左旋氧氟沙星、呋西地酸、呋喃妥因、奎宁始霉素-达福普汀、苯唑西林。上述 19 种抗生素覆盖了青霉素类、叶酸代谢途径抑制剂、氨基糖苷类、大环内酯类、林可酰胺类、四环素类、糖肽类、氟喹诺酮类、硝基呋喃类以及链阳霉素类抗生素;CLSI M100-S23 对于葡萄球菌药敏试验所选药物除要求覆盖上述各类抗生素外,还要求包括氯霉素类、恶唑烷酮类(利奈唑胺)以及脂肽类(达托霉素)三类抗生素,其余各类抗生素均有至少一种代表药物,见表 1。

表 1 ATB STAPH5 与 CLSI M100-S23 拐点比较

抗生素名称	试剂盒拐点		CLSI 拐点		可能出现的错误判读
	S	R	S	R	
青霉素	≤ 0.12	-	≤ 0.12	≥ 0.25	假耐药
复方新诺明	$\leq 2/38$	-	$\leq 2/38$	$\geq 4/76$	假耐药
庆大霉素	≤ 4	≥ 8	≤ 4	≥ 16	假耐药
红霉素	≤ 0.5	≥ 4	≤ 0.5	≥ 8	假耐药
氯林可霉素	≤ 0.5	≥ 2	≤ 0.5	≥ 4	假耐药
四环素	≤ 4	≥ 8	≤ 4	≥ 16	假耐药
米诺四环素	≤ 4	≥ 8	≤ 4	≥ 16	假耐药
万古霉素	≤ 4	≥ 16	≤ 2 (金葡)	≥ 16 (金葡)	假敏感
			≤ 4 (非金葡)	≥ 32 (非金葡)	假耐药
替考拉宁	≤ 8	≥ 16	≤ 8	≥ 32	假耐药
利福平	≤ 1	≥ 2	≤ 1	≥ 4	假耐药
诺氟沙星	≤ 4	≥ 8	≤ 4	≥ 16	假耐药
左旋氧氟沙星	≤ 2	≥ 4	≤ 1	≥ 4	假耐药
呋西地酸	≤ 2	≥ 16	无推荐拐点	无推荐拐点	未知
呋喃妥因	≤ 32	≥ 64	≤ 32	≥ 128	假耐药
奎宁始霉素-达福普汀	≤ 1	≥ 2	≤ 1	≥ 4	假耐药
苯唑西林(凝固酶阴性)	≤ 0.25	-	≤ 0.25	≥ 0.5	假耐药
苯唑西林	≤ 2	-	≤ 2	≥ 4	假耐药

注:S表示敏感,R表示耐药。拐点单位 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.2 ATB STAPH 5 试剂盒与 CLSI 标准推荐抗生素拐点比较分析 从表 1 可见 ATB STAPH 5 提供的 16 种抗生素拐点与现行 CLSI 标准拐点均存在差异,具体表现为青霉素、复方新诺明、苯唑西林(凝固酶阴性葡萄球菌)、苯唑西林仅设有敏感判读拐点,而没有耐药拐点。CLSI 标准均给出了耐药拐点,因此根据试剂盒提供说明书情况,一旦敏感孔生长即判读为耐药,可能为错判;另外,除万古霉素、左旋氧氟沙星、呋西地酸 3 种抗生素外,其余 9 种抗生素耐药拐点较试剂盒提供拐点增加,因此可能将实际为中介的抗生素误判为耐药。对于左旋氧氟沙星因 CLSI 标准中敏感的判读拐点降低($\leq 2 \mu\text{g/ml}$ 降低为 $\leq 1 \mu\text{g/ml}$),因此可能出现误

将本来中介的菌株误判为敏感;CLSI 标准中没有提供呋西地酸判读拐点,因此其错误判读情况未知;对于万古霉素 CLSI 标准中将该抗生素与苯唑西林一样进行了区分,针对金黄色葡萄球菌敏感拐点为 $\leq 2 \mu\text{g/ml}$,耐药拐点为 $\geq 16 \mu\text{g/ml}$,对于非金黄色葡萄球菌其敏感、耐药拐点分别为 $\leq 4 \mu\text{g/ml}$, $\geq 32 \mu\text{g/ml}$,而试剂盒拐点统一标准为 $\leq 4 \mu\text{g/ml}$, $\geq 16 \mu\text{g/ml}$,因此对金黄色葡萄球菌而言敏感拐点降低,可将中介误判为敏感,而对非金黄色葡萄球菌则因耐药拐点升高而出现假耐药,见表 1。

3 讨论 常规临床检验指标如血糖、血脂、血细胞计数相对较稳定,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

菌耐药性与临床抗生素的合理/不合理使用^[2,3],以及细菌本身耐药基因^[4,5]的变异等诸多因素直接存在关联,因此对于细菌耐药、敏感判读的拐点相对上述其它临床指标而言变异较大。美国临床实验室标准化协会(clinical and laboratory standards institute, CLSI)制定的抗微生物药物敏感性试验操作方法与判断标准,是目前国内临床细菌检验遵循的行业标准。由于该项标准的制订需要投入大量的人力、财力和物力,所以国际上大多数国家包括中国在内都还没有建立自己的标准而依赖 CLSI 的方法和标准。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 CLSI-M100-S23 为 2013 年所颁布。

葡萄球菌是临床血液^[6]、尿液^[7,8]、呼吸道^[9]、脓液^[10]等标本中分析率最高的阳性球菌,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。梅里埃 ATB STAPH 5 葡萄球菌药敏试剂盒将众多的抗生素固定在塑料板孔上,将传统复杂的微量肉汤稀释法进行了简化,且判读简单,因此深受临床微生物工作者的青睐,在国内有较高的市场占有率。但是由于该产品源自法国,而我国目前普遍采用的美国 CLSI 标准,因此试剂盒提供抗生素标准与我国采用的 CLSI 标准存在差异。从抗生素覆盖范围来看,该试剂盒提供抗生素较 CLSI 标准缺少氯霉素、恶唑烷酮类、脂肽类三类抗生素,其中恶唑烷酮类代表药物利奈唑胺^[11]为临床使用较为广泛且有效的抗葡萄球菌药物,因此为了满足临床的需求需要采用药敏纸片法或其它试剂进行补充试验,以满足临床需求。

从 ATB STAPH 5 试剂盒与 CLSI 标准推荐抗生素拐点浓度比较分析发现,试剂盒提供的 16 种抗生素中 CLSI 未提供呋西地酸判读拐点。青霉素、复方新诺明、苯唑西林仅给出敏感拐点、无耐药拐点。对于万古霉素的拐点未根据金黄色葡萄球菌与非金黄色葡萄球菌进行分开设置,采用同一拐点。其余的抗生素给出敏感与耐药的拐点,但是由于敏感拐点降低或耐药拐点升高,因此可将本来为中介的菌株误判为敏感或耐药,从而发出错误报告。尤其是针对苯唑西林与万古霉素而言发出错误报告可能导致严重后果。CLSI 明确规定对于苯唑西林耐药的金黄色葡萄球菌和凝固酶阴性葡萄球菌,被认为对其它 β -内酰胺类药物,即青霉素、 β -内酰胺/ β -内酰胺酶抑制剂复合物、头孢类(新合成抗 MRSA 活性的头孢菌素例外)和碳青霉烯类等耐药。可见,一旦将某葡萄球菌报告为苯唑西林耐药后,将对临床使用抗生素起到很大的限制。而试

剂盒提供苯唑西林药敏孔针对金黄色葡萄球菌和凝固酶阴性葡萄球菌仅给出敏感拐点,一旦敏感孔生长即判读为耐药可能为错判;对于万古霉素针对金黄色葡萄球菌敏感拐点为 $\leq 2 \mu\text{g/ml}$,耐药拐点为 $\geq 16 \mu\text{g/ml}$,对于非金黄色葡萄球菌其敏感、耐药拐点分别为 $\leq 4 \mu\text{g/ml}$, $\geq 32 \mu\text{g/ml}$,而试剂盒拐点统一标准为 $\leq 4 \mu\text{g/ml}$, $\geq 16 \mu\text{g/ml}$,因此对金黄色葡萄球菌而言敏感拐点降低,可将本来为万古霉素中介的金黄色葡萄球菌(VISA)误判为敏感(VSSA),其中 VISA^[12,13]是目前国内外关注的热点;而对非金黄色葡萄球菌则因耐药拐点升高而出现假耐药,从而导致临床抗生素的过度使用或使用不足量。过度使用抗生素而增加患者费用、浪费医疗资源,抗生素使用不足量引起治疗失败。并且由于抗生素的不合理使用将促进更多耐药细菌的产生。

加强抗生素的合理使用,一直是国内外临床专家、微生物专家一直在呼吁和关注的问题,在我国已经上升到了国家层面,近年来国家卫生和计划生育委员会颁布了《合理使用抗生素指南》、《抗菌药物临床应用管理办法》(卫生部令第 84 号)等文件。可见临床微生物药敏试验报告在抗生素合理使用的过程中起到举足轻重的作用,因此选择符合标准的药敏试剂盒是保证正确报告的前提。梅里埃 ATB STAPH 5 葡萄球菌药敏试剂盒与新的 CLSI 标准存在较大差异,如果采用该试剂盒结果出报告需要慎重,对于未覆盖的抗生素需要补充其它实验方法,如药敏纸片法进行补充报告,对于抗生素拐点不包含的药敏试验、可能出现假耐药、假敏感的抗生素需要补充其它实验方法以纠正,以免发出错误报告,误导临床。(作者声明:本文仅供学术研究,任何商业目的的引用与转载均是不允许的)。

参考文献:

- [1] 中华检验医学杂志 CLSI 临床检验标准编译小组. 抗菌药物敏感性试验执行标准. 第二十三版资料增刊[S]. 中华检验医学杂志(CLSI 文件 M100-S23), 2013;72-82.
Chin J Lab Med CLSI Clinical laboratory standard compilation group. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. twenty-third Informational supplement[S]. Chin J Lab Med(CLSI Document M100-S23), 2013;72-82.
- [2] 黎村艳,曹友德,蔡瑞云,等. 1 296 株革兰阳性球菌的分布和耐药性分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2013, 8(1):76-79.
Li CY, Cao YD, Cai RY, et al. Analysis of the clinical distribution and drug resistance of 1 296 strains of Gram-positive cocci[J]. Journal of Pathogen Biology,

- 2013,8(1):76-79.
- [3] 凌宙贵,刘滨,刘卫,等. 2009~2011年革兰阳性球菌分布及耐药性监测分析[J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(24):6109-6111.
- Ling ZG, Liu B, Liu W, et al. Distribution and drug resistance of gram-positive cocci during 2009~2011 [J]. Chin J Nosocomiol, 2013, 23(24): 6109-6111.
- [4] 贾方增,郑小涛,陈统献,等. 不同病区金黄色葡萄球菌的耐药性及 *mecA* 基因携带差异研究[J]. 中华医院感染学杂志,2014,24(7):1567-1569.
- Jia FZ, Zheng XT, Chen TX, et al. Resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from different wards and analysis on the difference in *mecA* gene carrying [J]. Chin J Nosocomiol, 2014, 24(7): 1567-1569.
- [5] 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.
- [6] 归巧娣,苍金荣,刘英. 2010~2012年血培养病原菌分布及耐药性分析[J]. 现代检验医学杂志,2013,28(5):165-166.
- Gui QD, Cang JR, Liu Y. Distribution and drug resistance of pathogens from blood culture samples 2010~2012 [J]. J Mod Lab Med, 2013, 28(5): 165-166.
- [7] 李珍,李从荣,蔡璇,等. 武汉地区泌尿道感染病原菌的分布及耐药性分析[J]. 现代检验医学杂志,2014,29(5):135-137.
- Li Z, Li CR, Cai X, et al. Analysis of clinical distribution and Drug resistance of pathogen in urinary tract infection in Wuhan [J]. J Mod Lab Med, 2014, 29(5): 135-137.
- [8] 伍娟英,张斌,姜熙,等. 329例尿路感染常见细菌分布及耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2014,11(9):1244-1245.
- Wu JY, Zhang B, Jiang X, et al. Bacterial distribution and drug resistance of pathogens in 329 strains of urinary tract infection [J]. Lab Med Clin, 2014, 11(9): 1244-1245.
- [9] 郎耀雄,许建英,王淑峰,等. 下呼吸道感染痰分离菌细菌谱及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(5):1193-1195.
- Lang YX, Xu JY, Wang SF, et al. Bacterial spectrum and drug resistance of bacteria isolated from patients with lower respiratory tract infections [J]. Chin J Nosocomiol, 2013, 23(5): 1193-1195.
- [10] 周琪,李映潼,翟宏,等. Mohnarlin 2008 年度报告:脓液来源细菌耐药监测[J]. 中国抗生素杂志,2010,35(8):625-632.
- Zhou Q, Li YT, Zhai H, et al. 2008 mohnarlin report: bacterial distribution and resistance in abscess infections [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2010, 35(8): 625-632.
- [11] 王华,苍金荣,张利侠,等. 四种抗生素对西安地区耐甲氧西林金黄色葡萄球菌体外抗菌活性观察[J]. 现代检验医学杂志,2012,27(5):138,140.
- Wang H, Cang JR, Zhang LX, et al. The antimicrobial activity of four kinds of antibiotics to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in vitro in Xi'an [J]. J Mod Lab Med, 2012, 27(5): 138, 140.
- [12] 田锐,许宏涛,柳宏,等. 异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌在心内科病房血流感染中的研究[J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(4):721-723.
- Tian R, Xu HT, Liu H, et al. Study of heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in blood stream infections in cardiology department [J]. Chin J Nosocomiol, 2013, 23(4): 721-723.
- [13] 刘亚丽,徐英春. 异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌:困扰我们的难题[J]. 中国感染与化疗杂志,2013,13(6):495-498.
- Liu YL, Xu YC. Heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*: a challenge in clinical practice [J]. Chin J Infect Chemother, 2013, 13(6): 495-498.