

鲍曼不动杆菌对阿米卡星药敏试验误差分析

谢美红 张利媚 余小萍 苏永华 张洁箫

作者单位: 528000 佛山市, 佛山市第一人民医院脑科康复医院检验科

【摘要】 目的 探讨应用 VITEK-2 Compact 全自动生化分析仪检测鲍曼不动杆菌对阿米卡星的药敏结果误差分析。**方法** 收集我院 2014 年 1 月-2014 年 2 月分离自临床各科室的 115 株鲍曼不动杆菌, 分别采用 VITEK-2 法、琼脂二倍稀释法和 Kirby-Bauer 纸片扩散法(K-B 法)对其进行阿米卡星的药敏试验, 分析其耐药情况。并以琼脂二倍稀释法为参比方法, 分析 VITEK-2 法及 K-B 法检测鲍曼不动杆菌对阿米卡星的药敏试验结果误差。**结果** 115 株鲍曼不动杆菌中, 临床科室分布以 ICU(39.1%) 和呼吸内科(32.2%)为主, 标本类型以痰标本(84.3%)为主, 患者年龄以 50 岁以上老年人(83.5%)为主。琼脂二倍稀释法检测鲍曼不动杆菌对阿米卡星的耐药率为 62.6%(72/115), 中介率为 0.0%(0/115), 敏感率为 37.4%(43/115)。以琼脂二倍稀释法为参比方法, K-B 法检测药敏结果与其完全一致, 标准符合率为 100.0%; VITEK-2 法检测药敏结果标准符合率为 62.6%, 存在严重错误和微小错误, 其中严重错误率高达 36.5%, 微小错误率为 0.9%。**结论** VITEK-2 法应用于鲍曼不动杆菌对阿米卡星的药敏检测时, 存在不同程度的误差, 建议辅以琼脂二倍稀释法或 K-B 法进行结果确证。

【关键词】 鲍曼不动杆菌; 药敏试验; VITEK-2; 琼脂二倍稀释法; K-B 法

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2014.03.012

Error analysis of susceptibility test in *Acinetobacter baumannii* to amikacin

XIE Mei-hong, ZHANG Li-mei, YU Xiao-ping, et al. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Foshan, Brain Rehabilitation Branch, Foshan 528000, China

【Abstract】 Objective To evaluate the test errors of VITEK-2 for antimicrobial susceptibility testing of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates to amikacin. **Methods** The susceptibility of 115 *Acinetobacter baumannii* isolates were collected in our hospital from January 2014 to February 2014. Susceptibility testing was determined by VITEK-2 instrument, agar double dilution method and Kirby-Bauer method. The results were compared by using agar double dilution method as a reference method, and the test errors of VITEK 2 were analyzed. **Results** In 115 strains *Acinetobacter baumannii*, the main clinical departments were ICU (39.1%) and respiratory medicine (32.2%). The main specimen type was sputum specimen (84.3%). The main age was above age 50 (83.5%). Drug resistant rate of *Acinetobacter baumannii* to amikacin by agar double dilution method was 62.6% (72/115), medium rate was 0.0% (0/115), sensitive rate was 37.4% (43/115). In comparison to the results of agar double dilution method, the susceptibility results of Kirby-Bauer method showed 100.0% consistent rate, while VITEK-2 method showed 62.6% consistent rate. VITEK-2 showed very major error (36.5%) and minor error (0.9%). **Conclusion** There is different degree error in susceptibility test of amikacin to *Acinetobacter baumannii* by VITEK-2 method, and agar double dilution method or Kirby-Bauer method is needed.

【Key words】 *Acinetobacter baumannii*; Susceptibility test; VITEK-2; Agar double dilution method; Kirby-Bauer method

鲍曼不动杆菌是引起院内感染的病原菌之一, 可导致呼吸机相关性肺炎、皮肤和软组织感染、伤口感染、继发性脑膜炎、血行感染等各种感染^[1,2]。目前对于该菌的菌种鉴定及药敏试验, 临床主要运用 VITEK-2 Compact 这类高效、便捷的自动化分析仪器进行检测, 为临床制定给药方案提供依据。近年来, 在抗菌药物选择压力等多种因素的综合作用下, 鲍曼不动杆菌耐药状况日趋严峻, 该菌耐药率的居

高不下以及多重耐药现状, 给临床治疗带来严峻挑战^[3-5], 因此, 临床药敏试验结果的准确尤为重要。在临床工作中发现, 应用 VITEK-2 Compact 检测鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类药物的药敏试验时, 某些菌株呈现仅对阿米卡星敏感而对其他氨基糖苷类药物耐药的情况, 但将阿米卡星用于该敏感菌株治疗时却收效甚微。基于此, 本文研究对 VITEK-2 Compact 检测鲍曼不动杆菌对阿米卡星的药敏试验结果进行

误差分析。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 受试菌株来源于 2014 年 1 月至 2014 年 2 月我院各科室患者送检标本,剔除同一患者相同部位的重复菌株,经 VITEK-2 Compact 全自动微生物鉴定仪鉴定为鲍曼不动杆菌的 115 株临床分离株用于本文研究。质控菌株大肠埃希菌 ATCC 25922、鲍曼不动杆菌 ATCC 19606 均购自卫生部临床检验中心。

1.1.2 主要仪器与试剂 VITEK-2 革兰氏阴性细菌鉴定卡、VITEK-2 药敏试验卡 AST-GN13、VITEK-2 Compact 全自动微生物鉴定仪,均购自法国梅里埃公司;药敏纸片(含阿米卡星 30 μg /片)、MH 琼脂、营养肉汤培养基均购自英国 OXOID 公司;阿米卡星购自生工生物工程(上海)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 药敏试验

1.2.1.1 VITEK-2 法 按仪器操作说明,使用 VITEK-2 药敏试验卡 AST-GN13 对所有鲍曼不动杆菌进行药敏试验。

1.2.1.2 琼脂二倍稀释法 参照 CLSI 2013 年推荐标准,采用琼脂二倍稀释法测定抗生素阿米卡星对鲍曼不动杆菌的最低抑菌浓度(minimal inhibitive concentration, MIC)。抗生素测定浓度范围为 0.03~512.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$,细菌接种量为 5×10^5 CFU/mL。

1.2.1.3 Kirby-Bauer 纸片扩散法(K-B 法) 参照 CLSI 2013 年推荐标准,采用含阿米卡星 30 μg /片的药敏纸片进行 K-B 法,测定抗生素阿米卡星对鲍曼不动杆菌的 MIC 值。

1.2.2 药敏试验结果分析 依据 CLSI 2013 年推荐标准判断琼脂二倍稀释法和 K-B 法所得药敏检测结果,以琼脂二倍稀释法为参比方法,分别将 K-B 法、VITEK-2 法药敏结果与琼脂二倍稀释法结果进行比较,依据如下标准分类,并计算各类的百分率。标准符合(categorical agreement, CA):K-B 法/VITEK-2 法药敏结果与琼脂二倍稀释法结果完全一致;严重错误(very major error, VME):琼脂二倍稀释法结果为耐药(resistance, R),而 K-B 法/VITEK-2 法药敏结果为敏感(susceptible, S);重大错误(major error, ME):琼脂二倍稀释法结果为 S,而 K-B 法/VITEK-2 法药敏结果为 R;微小错误(minor error, MIE):琼脂二倍稀释法结果为 R 或 S,而 K-B 法/VITEK-2 法药敏结果为中介(intermedi-

ate, I) 或琼脂二倍稀释法结果为 I,而 K-B 法/VITEK-2 法药敏结果为 R 或 S。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行分析。各药敏试验结果以百分率表示,计数资料的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料分析 115 株鲍曼不动杆菌中,包括 ICU 病区 45 株(39.1%, 45/115),呼吸内科病区 37 株(32.2%, 37/115),其他病区 33 株(28.7%, 33/115)。其中 97 株来源于痰标本(84.3%, 97/115),其他标本来源量较少,分别为分泌物 5 株(4.3%, 5/115),胸腹水 5 株(4.3%, 5/115),尿液 3 株(2.6%, 3/115),脑脊液 3 株(2.6%, 3/115),血液 2 株(1.7%, 2/115)。患者以 50 岁以上老年人为主,占 83.5% (96/115),20~50 岁年龄组数量次之,占 13.9% (16/115);20 岁以下年龄组分离株数量最少,仅占 2.6% (3/541)。

2.2 药敏试验结果 3 种药敏试验方法检测 115 株鲍曼不动杆菌临床分离株对阿米卡星的药敏结果显示,琼脂二倍稀释法、K-B 法和 VITEK-2 法检测鲍曼不动杆菌对阿米卡星的耐药率分别为 62.6%、62.6% 和 25.2%;中介率分别为 0.0%、0.0% 和 0.9%;敏感率分别为 37.4%、37.4% 和 73.9%。琼脂二倍稀释法与 K-B 法检测结果全部相吻合,此两种方法与 VITEK-2 法间差异有统计学意义($\chi^2 = 31.075, P < 0.05$),见表 1。

表 1 3 种药敏试验方法检测 115 株鲍曼不动杆菌临床分离株对阿米卡星的药敏结果比较[n(%)]

药敏试验方法	R	I	S
琼脂二倍稀释法	72(62.6)	0(0.0)	43(37.4)
K-B 法	72(62.6)	0(0.0)	43(37.4)
VITEK-2 法	29(25.2)	1(0.9)	85(73.9)

2.3 药敏试验结果误差分析 以琼脂二倍稀释法为参比方法,分别将 K-B 法、VITEK-2 法药敏结果与琼脂二倍稀释法结果进行比较,药敏结果误差分析见表 2。琼脂二倍稀释法与 K-B 法检测 115 株鲍曼不动杆菌对阿米卡星的药敏结果全部一致,CA 率为 100.0%。而琼脂二倍稀释法与 VITEK-2 法药敏结果的 CA 率仅为 62.6%;42 株出现 VME,VME 率高达 36.5%;1 株出现 MIE,MIE 率为 0.9%。

3 讨论

氨基糖苷类抗生素因其广谱、高效的特点,广泛

表 2 K-B 法、VITEK-2 法药敏结果与琼脂二倍稀释法药敏结果间误差分析

药敏试验方法	菌株数(株)				误差分析率(%)			
	CA	VME	ME	MIE	CA	VME	ME	MIE
K-B 法	115	0	0	0	100.0	0.0	0.0	0.0
VITEK-2 法	72	42	0	1	62.6	36.5	0.0	0.9

应用于临床。通过与细菌 30S 核糖体亚基特异性结合,降低蛋白翻译过程保真性,抑制细菌蛋白质合成,破坏细胞完整性,从而引起细菌死亡,其临床主要适应症为革兰氏阴性菌所致的严重感染,常用于临床治疗鲍曼不动杆菌感染^[6-8]。多年来由于庆大霉素敏感率低,临床已逐渐弃用,而代之以阿米卡星的广泛使用。耐药率高低与临床治疗用药策略的选择直接相关,伴随着治疗策略的改变,临床分离菌株对阿米卡星的耐药率也逐年升高,且呈现一旦耐药即为高水平耐药的趋势。本文研究发现,2014 年 1 月至 2 月我院临床分离的 115 株鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类抗生素中的阿米卡星耐药情况严重,耐药率高达 62.6%(72/115),且阿米卡星耐药菌株对阿米卡星的 MIC 值均高达 $> 512 \mu\text{g/mL}$,为高水平耐药。因此鲍曼不动杆菌对阿米卡星的高水平耐药现状不容忽视。

鉴于临床工作的实际情况,VITEK-2 Compact 等这类高效、便捷的自动化分析仪器已经逐步替代琼脂二倍稀释法、K-B 法等这类操作繁琐、工作量大的手工法,广泛应用于临床药敏试验以辅助临床给出适当的给药方案,其结果的准确性至关重要。本文药敏结果误差分析表明,琼脂二倍稀释法与 K-B 法应用于鲍曼不动杆菌对阿米卡星药敏试验时,一致性高,CA 率为 100.0%;而 VITEK-2 法药敏结果的 CA 率仅为 62.6%,VME 率高达 36.5%,MIE 为 0.9%,该误差分析结果与 Akers 等^[9]研究结果相符。VITRK-2 法应用于鲍曼不动杆菌对阿米卡星药敏试验时存在的低 CA 率以及高 VME 率,极有可能使临床对大部分鲍曼不动杆菌对阿米卡星的耐药情况做出错误判断,导致不合理治疗方案的制定,并进一步诱导原本已经耐药的菌株产生多重耐药现象。

VITEK-2 革兰氏阴性杆菌药敏卡说明书指出,在用于检测鲍曼不动杆菌对阿米卡星敏感性时,若 MIC 结果为 $8 \mu\text{g/mL}$ 或 $16 \mu\text{g/mL}$ 时,应该用替代方法进行测试。但本文研究中,经 VITEK-2 法检测,28 株 MIC 值为 $\leq 2 \mu\text{g/mL}$ 与 13 株 MIC 值为 $4 \mu\text{g/mL}$ 的鲍曼不动杆菌与琼脂二倍稀释法及 K-B 法测

定为耐药的結果不符。因此,仅对 VITEK-2 法测定 MIC 结果为 $8 \mu\text{g/mL}$ 或 $16 \mu\text{g/mL}$ 的鲍曼不动杆菌菌株复检,可能会导致对阿米卡星假敏感的錯誤报告。在临床实际工作中,对于鲍曼不动杆菌对阿米卡星的药敏试验,应辅以琼脂二倍稀释法或 K-B 法等手工法进行结果确认。

4 参考文献

- 1 Kevin SA, Chris C, Alice B, et al. Aminoglycoside resistance and susceptibility testing errors in *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus Complex. J Clin Microbiol, 2010, 48: 1132-1138.
- 2 Jung S, Yu JK, Shin SH, et al. False susceptibility to amikacin by VITEK 2 in *Acinetobacter baumannii* harboring armA. Ann Clin Lab Sci, 2010, 40: 167-171.
- 3 Iacono M, Villa L, Fortini D, et al. Whole-genome pyrosequencing of an epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain belonging to the European clone II group. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52: 2616-2625.
- 4 Adams MD, Chan ER, Molyneux ND, et al. Genomewide analysis of divergence of antibiotic resistance determinants in closely related isolates of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54: 3569-3577.
- 5 Mera RM, Miller LA, Amrine-Madsen H, et al. *Acinetobacter baumannii* 2002-2008: increase of carbapenem-associated multiclass resistance in the United States. Microb Drug Resist, 2010, 16: 209-215.
- 6 Magnet S, Blanchard JS. Molecular insights into aminoglycoside action and resistance. Chem Rev, 2005, 105: 477-498.
- 7 Ogle JM, Brodersen DE, Clemons WM, et al. Recognition of cognate transfer RNA by the 30S ribosomal subunit. Science, 2001, 292: 897-902.
- 8 Ogle JM, Carter AP, Ramakrishnan V. Insights into the decoding mechanism from recent ribosome structures. Trends Biochem Sci, 2003, 28: 259-266.
- 9 Akers KS, Chaney C, Barsoumian A, et al. Aminoglycoside resistance and susceptibility testing errors in *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus complex. J Clin Microbiol, 2010, 48: 1132-1138.

(收稿日期:2014-05-19)

(本文编辑:李霖)