

基于显色培养法多重耐药鲍曼不动杆菌快速 筛查方法的建立

杨艳兵^{1, 2} 李从荣¹

【摘要】目的 建立主动监测多重耐药鲍曼不动杆菌(MDRAB)的方法,并评价其检测效果。**方法** 收集2011年3月至2012年6月武汉大学人民医院ICU分离鉴定出的鲍曼不动杆菌116株,采用Phoenix 100 细菌鉴定/药敏仪对细菌进行鉴定和药敏试验,制备CHROM agar筛选平板,并评价其敏感度、特异度、预测值、约登指数及符合率。**结果** 98株MDRAB经CHROM-agar筛选平板培养后有92株显示阳性,18株non-MDRAB菌株经培养后13株不产色($\chi^2 = 43.80, P < 0.01$),其灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、约登指数和符合率分别为93.88%、72.22%、94.84%、68.42%、0.66%和90.52%。**结论** CHROM agar平板筛选法具有快速、方便的优点,能缩短多重耐药鲍曼不动杆菌的检测时间;其敏感度、特异度及预测值均较高,可以用于多重耐药鲍曼不动杆菌感染的检测及医院感染的主动监测。

【关键词】 鲍曼不动杆菌; 多重耐药; 主动监测

The rapid screening method for multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* based on chromogenic culture YANG Yanbing^{1, 2}, LI Congrong¹. ¹Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China; ²Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Luohe Central Hospital, Luohe 462300, China

Corresponding author: LI Congrong, Email: conrongLi33@hotmail.com

【Abstract】Objective To establish a monitor method proactively for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (MDRAB), and evaluate the detection effect of the method. **Methods** Total of 116 strains of *Acinetobacter baumannii* (AB) strains were collected from March 2011 to June 2012 in the Department of ICU, Renmin Hospital of Wuhan University. The identification of all isolates and their susceptibility testing were taken by Phoenix 100 analyzer systems. CHROM agar screening plates were prepared, then the sensitivity, specificity, Youden's index, coincidence rate and predictive value of MDRAB were detected, respectively. **Results** There were 92 strains cultured by CHROM-agar plate showed positive display among 98 strains of MDRAB; There were 13 strains showed negative display among 18 non-MDRAB ($\chi^2 = 43.80, P < 0.01$). The sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, Youden's index and coincidence rate of this method were 93.88%, 72.22%, 94.84%, 68.42%, 0.66% and 90.52%, respectively. **Conclusions** It's quickly and convenient of screening MDRAB by CHROM-agar plate. It could also shorten detection time, what's more, its sensitivity, specificity, and predictive values are all high. It could be used for the MDRAB detection and hospital infection monitoring proactively.

【Key words】 *Acinetobacter baumannii*; Multi-drug resistant; Proactively monitor

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, AB)有对多种药物产生耐药性倾向,有的分离时即为多重耐药菌株,甚至泛耐药,其感染成为重大的公共卫生问题之一^[1-2]。多重耐药、泛耐药鲍曼不动杆菌也被称为21世纪革兰阴性菌中的耐甲氧西林金

黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA),给医疗机构的感染控制及治疗带来了极大的困难,其耐药机制、播散方式、感染控制以及治疗不仅是研究的焦点,也是临床医师关注的难题之一^[3]。多重耐药菌(multidrug-resistant organism, MDRO)感染呈现复杂性、难治性等特点,已成为医院感染重要的病原菌,为降低MDRO医院感染的风险,保障医疗质量和安全,我国卫生

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2015.01.008

基金项目: 国家临床重点专科建设项目[No. 财社(2010)305]

作者单位: 430060 武汉市, 武汉大学人民医院检验科¹;

462300 漯河市, 河南省漯河市中心医院呼吸与重症医学科²

通讯作者: 李从荣, Email: conrongLi33@hotmail.com

部相关的指南^[4]指出:做好多重耐药菌医院感染预防与控制工作,重要的是从源头截断MDRO的传播,建立和完善对多重耐药菌的监测,对多重耐药菌感染患者或定植高危患者要进行监测,必要时开展主动筛查,及早发现、诊断多重耐药菌感染者,并及时隔离,阻断其传播。本研究尝试使用显色培养法主动监测多重耐药鲍曼不动杆菌(*multidrug-resistant Acinetobacter baumannii*, MDRAB)的感染,以期能快捷的检测MDRAB感染。

资料与方法

一、实验菌株

2011年3月至2012年6月,武汉大学人民医院ICU患者送检培养标本中分离出的鲍曼不动杆菌共116株(排除同一患者同一部位重复分离的菌株)。菌株采用VITEK-32全自动细菌鉴定系统鉴定,菌株以无菌干纸片-80℃低温保存,使用前复苏。

二、质控、标准菌株及培养基

质控、标准菌株购至卫生部临检中心,多重耐药不动杆菌显色培养基(CHROM agar)购自法国科玛嘉公司。

三、方法

1. CHROM agar 筛选平板制备:称取CHROM agar 基础干粉32.8 g(琼脂15 g,蛋白胨酵母提取物12 g,盐4.0 g,显色底物1.8 g),取1 g液体增补剂定容至1 000 ml,加热至100℃,并搅拌至完全溶解。自然冷却降温至45℃~50℃,加入5 ml MDR 添加剂,搅拌均匀后倒入70 mm 平皿,4℃保存备用。

2. CHROM agar 筛选平板性能试验:①分别取质控菌株、non-MDRAB 及 MDRAB 菌株接种于CHROM agar 筛选平板,35℃孵育12~18 h 观察结果。②取临床分离的大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、伤寒杆菌、金黄色葡萄球菌A群链球菌、B群链球菌、肺炎链球菌、卡他莫拉、粪肠球菌及白色念珠菌菌株接种于CHROM agar 筛选平板;取不同类型的临床送检标本接种于CHROM agar 筛选平板,35℃孵育12~18 h 观察结果。

3. CHROM agar 筛选平板法的临床应用:①挑取临床分离MDRAB 及 non-MDRAB 单个菌落在显色培养基上接种;②选取不同的临床送检标本接种于筛选平板上;③选取临床各科室不同的医院感染监测标本接种于筛选平板上;④35℃孵育12~18 h 后观察结果。

四、统计学处理

应用SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计数资料采用 χ^2 检验,计量资料采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、CHROM agar 筛选平板性能评价

MDRAB 在CHROM agar 筛选平板显棕红色菌落,质控菌株及non-MDRAB 生长被抑制,未见棕红色菌落。

临床分离的大肠埃希菌、肺炎克雷伯杆菌、伤寒杆菌、金黄色葡萄球菌A群链球菌、B群链球菌、肺炎链球菌、卡他莫拉、粪肠球菌和白色念珠菌生长被抑制,不含MDRAB 的各种标本未见棕红色菌落,特异性良好。

二、CHROM agar 筛选平板临床应用评价

98株MDRAB 菌株经显色培养后有92株显示阳性,18株non-MDRAB 菌株经培养后13株不产色($\chi^2 = 43.80, P < 0.01$)。快速显色培养法的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、约登指数和符合率分别为93.88%、72.22%、94.84%、68.42%、0.66%和90.52%。

临床各科室送检的医院感染监测标本中,共发现2株菌株长出棕红色菌落,均来自重症监护病房,标本分别为螺纹管、责任护士手指,培养鉴定和药敏试验证实均为MDRAB。

讨 论

AB 具有长期存活、强大的获得性耐药及传播能力,极易播散的特点^[2,5],AB 常伴其他细菌或真菌感染危重患者^[6],其感染的危险因素有:患有严重基础疾病、长期住院、入住重症监护病房、机械通气及其他侵入性操作以及抗菌药物治疗等^[7]。更为严重的是,MDRAB、XDRAB 和 PDRAB 呈全球流行趋势^[8]。重症监护病房(ICU)是医院感染的高发区,患者多伴有各种严重的基础疾病,免疫力低下,长期使用广谱抗菌药物,且多进行有创的诊疗方法,ICU 耐药菌感染和传播更为严重^[9-10]。虽然目前尚缺乏大规模归因病死率的临床研究,但研究表明AB 感染的病死率高^[1]。

AB 医院感染大多为外源性的,接触传播是主要的传播途径。《中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识》^[11]指出:对MDRAB 易感人群集中

的科室如ICU病房采取主动监测,是感染控制措施的重要组成部分。主动监测包括耐药菌株的筛查及环境筛查。易感人群全身多部位、多种标本筛查能提高检测的阳性率,对MDRAB暴发或流行的部门及地区,除了要对患者留取标本检测外,还应对患者周围的环境、医疗器械、设备进行筛查,明确传染源,从而能从根本上防控其传播。

目前,临床上MDRAB的诊断主要靠细菌培养及药敏试验,其耗时长,对从业人员要求高,不利于MDRAB的早期筛查。显色培养法可通过目标病原菌对相应物质的代谢产生颜色变化,实现快速检测的目的,目前主要用于真菌、沙门菌、产ESBLs等病原体的快速检测,用于MDRAB的临床检测的,目前国内尚无相关报道,国外研究也较少^[12]。CHROM agar™ *Acinetobacter* 筛选培养基是最近研究出来的用于MDRAB快速检测的产品,该产品含有抗菌药物,能抑制大多数革兰阳性及阴性菌(包括碳青霉烯类抗菌药物敏感的菌株)的生长,根据MDRAB的生化、生理特点在培养基中添加产色底物,MDRAB生长、代谢过程中与底物反应,产生颜色变化,检测时间约12~18h,从而达到快速检测的目的。本研究通过采用CHROM agar培养法主动筛查MDRAB,其灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为93.88%、72.22%、94.84%和68.42%,具有良好的敏感度、特异度及预测性。此外,该培养基还能用于其他潜在多重耐药菌阴性杆菌的检测,若出现蓝色菌落,表明该菌株有发展成为MDRO的可能。试验中发现1例肺炎克雷伯菌长出蓝色菌落,通过药敏试验发现其对多种药物产生耐药性。

医院感染是当今医学界关注的一大难题,特别是2003年SARS疫情全球性蔓延,将医院感染的管理、监测推向前沿。随着抗菌药物的大量的使用,特别是不合理的使用和滥用,导致了世界范围内耐药菌的产生及蔓延,如MRSA、耐青霉素肺炎链球菌(PPN)、耐万古霉素肠球菌(VRE)及MDRAB,2010年甚至出现“超级细菌”。SARS疫情的暴发及当下耐药菌株的蔓延,医院感染监测不利是导致其产生重要的原因。因此,医院感染监测应该由回顾性转变成前瞻性,在全面性监测的基础上,针对特殊部位、特殊部门进行目标、靶位监测,主动监测与被动监测相结合,从而做到全面、准确、有效地获得医院感染的监测资料。传统的监测方法主要依靠培养法,监测时间要3~7d不等,

杨艳兵,李从荣.基于显色培养法多重耐药鲍曼不动杆菌快速筛查方法的建立[J/CD].中华实验和临床感染病杂志:电子版,2015,9(1):32-34.

耐药菌株的监测所需时间、人力更多。本研究采用显色培养法快速、主动监测MDRAB,与传统方法相比,不仅大大缩短了检测时间,对检测人员的技术要求也比较低,使该方法更易开展。本次主动监测出的MDRAB均来自于ICU,相对于全面监测,采取针对高危科室、部门或区域进行有目的的靶位监测,可以降低人力、财力,提高经济效益。此外,该方法检测MDRAB的符合度高达,主动监测可使院感监测的敏感性提高3~7倍,因此,显色培养法可以用于医院感染的主动监测。

基于以上优点,CHROM agar 筛选平板不仅能用于患者MDRAB的快速检测,也能用于MDRAB医院感染的快速监测及流行病学的调查分析。

参考文献

- 1 Dijkshoorn L, Nemeč A, Seifert H, et al. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. Nat Rev Microbiol,2007,5(12):939-951.
- 2 Perez F, Hujer AM, Hujer KM, et al. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. Antimicrob Agents Chemother,2007,51(10):3471-3484.
- 3 俞云松. 多药耐药鲍曼不动杆菌-21世纪革兰阴性菌的“MRSA”[J]. 中华临床传染病杂志,2009,2(2):65-68.
- 4 中华人民共和国卫生部. 多重耐药菌医院感染预防与控制技术指南(试行)[J]. 中国危重病急救医学,2011,23(2):65.
- 5 Zechini B, Versace I. Inhibitors of multidrug resistant efflux systems in bacteria[J]. Recent Pat Antiinfect Drug Discov,2009,4(1):37-50.
- 6 Martinez A, Lin J. Effect of an efflux pump inhibitor on the function of the multidrug efflux pump CmeABC and antimicrobial resistance in *Campylobacter*[J]. Foodborne Pathog Dis,2006,3(4):393-402.
- 7 王二兵,马淑涛. 药物耐药性外排泵抑制剂的研究进展[J]. 中国药物化学杂志,2005,15(3):188-192.
- 8 Peleg, AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen[J]. Clin Microbiol Rev,2008,21(3):538-582.
- 9 Choi WS, Kim SH, Jeon EG, et al. Nosocomial outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in intensive care units and successful outbreak control program[J]. J Korean Med Sci,2010,25(7):999-1004.
- 10 Naas T, Levy M, Marchandin H, et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-23 in a tertiary care hospital of Papeete, French Polynesia[J]. J Clin Microbiol,2005,43(9):4826-4829.
- 11 陈佰义,何礼贤,胡必杰,等. 中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识[J]. 中华医学杂志,2012,92(2):76-85.
- 12 Gordon NC, Wareham DW. Evaluation of CHROM-agar *Acinetobacter* for detection of enteric carriage of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in samples from critically ill patients[J]. J Clin Microbiol,2009,47(7):2249-2251.

(收稿日期:2014-05-16)

(本文编辑:孙荣华)