文章编号: 1000-5404(1999)12-0947-02

纸片相邻法用于细菌超广谱β-内酰胺酶的检测

Detection of extended-spectrum β-lactamases in bacteria with a disk approximation method

刘 丁[1],敖 平[2],陈 萍[1],张文俊[1],邓光贵[1] ([1]第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所检验科,重庆 400042;[2]重庆长安汽车第二职工医院感染监控室,重庆 400023)

【提要】 目的:探讨用纸片相邻法检测大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌超广谱β-内酰胺酶时,两纸片距离及各种底物对结果的影响。 方法:采用阿莫西林/棒酸纸片分别与氨曲南、头孢他啶、头孢曲松及头孢噻肟在相邻 20 mm、25 mm时进行检测。 结果:大肠埃希菌多种纸片法检出率为 25.2%,Etest为 22.4%;肺炎克雷伯菌纸片法总检出率为 23.4%,Etest为 20.3%。 结论:纸片相邻法应将两纸片距离相间 25 mm,头孢他啶、头孢曲松分别可作为大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌的最佳底物,结果与 Etest相似。

超广谱β-内酰胺酶(Extended-spectrum β-lactamases, ESBL)是以能灭活超广谱头孢菌素、单环类、窄谱头孢菌素及抗革兰氏阴性杆菌青霉素等抗生素为特征的β-内酰胺酶[1]。随着第 3代头孢菌素的广泛使用,产 ESBL的细菌也日益增加,建立及完善其检测手段,在给临床医生用药提示和掌握细菌耐药动态方面有着重要作用。目前,检测 ESBL的方法主要有纸片相邻法、Etest以及 Vitek自动鉴定法[2],由于 Etest试条昂贵,而 Vitek法需特殊设备,在临床上应用较少。纸片相邻法因其简便、成本低,故易于临床检测。但该法受影响因素多。为此,我们进行了有关实验,以找出其最佳检测条件,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 受试菌株 1998年 1月至 1998年 3月从重庆市 6家医院临床微生物室分离的菌株,经 Vitek鉴定系统最后鉴定为 107株大肠埃希菌和 64株肺炎克雷伯菌。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922。

1.1.2 药敏纸片 阿莫西林/棒酸(AMC, 20μg/10μg),头孢他啶(CAZ, 30μg),头孢曲松(CRO, 30μg),头孢噻肟(CTX, 30μg),氨曲南(ATM, 30μg),均由 BBL公司生产。

1.1.3 Etest试条 由瑞典 AB BIODISK公司生产,该试条有 2个连续的浓度梯度:一端为头孢他啶(MIC: 0.5~32μg/ml),另一端为头孢他啶/棒酸(MIC: 0.125~8μg/ml)。

1.1.4 MH培养基 购自浙江省军区防疫检验所,按说明书配制,分装每个 9 cm平板,约 25 ml MH琼脂。

1.2 方法

1.2.1 纸片相邻法 按琼脂扩散法将同一菌液均匀涂布于 2个平皿表面,分别于 2平皿中央贴放 AMC,并于其上下及左右 4方分别距离 20 mm、25 mm处贴放 CAZ、CRO、CTX和 ATM于 35℃孵育 16~18 h后观察结果,如出现钥匙状为阳性。

1.2.2 Etest法 同纸片相邻法制备药敏平皿,用镊子将 Etest条贴放在平皿中央于 35℃孵育,16~18 h后读结果,分别判读头孢他啶(TZ)端的 MIC和头孢他啶/棒酸(TZL)端的 MIC,以 TZ/TZL≥4为阳性判断标准。

2 结果

2.1 大肠埃希菌检出结果

107株大肠埃希菌纸片法检出阳性菌 27株,检出率为 25.2%。在不同药物纸片中的检出结果如表 1,其中 ATM的阳性符合率最低为 70.4%,其次为 CRO为 77.8%,CAZ和 CTX均为 85.2%。另外,相距 25 mm的检出率高于 20 mm处($P < 0.01$)。

2.2 肺炎克雷伯菌检出结果

64株肺炎克雷伯纸片法检出阳性菌 15株,检出率为 23.4%。在不同药物纸片中的检出结果如表 2,ATM的符合率为 46.7%,CTX为 73.3%,CAZ为 86.7%,CRO为 80%。两纸片相距比较,25 mm时明显优于 20 mm($P < 0.01$)。

表 1 纸片法检测大肠埃希菌产酶株结果比较

距离(mm)	阳性株数				
	ATM	CAZ	CTX	CRO	合计
20	8	11	8	12	15
25	15	17	20	16	24
20/25	19	23	23	21	27

作者简介:刘 丁,男,1967.02.17生,山东省祁县人,在读博士生,主治医师,讲师,主要从事医院感染方面的研究,发表论文 10余篇。电话:(023)68757992

收稿日期:1998-12-16;修回日期:1999-09-22

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2 纸片法检测肺炎克雷伯菌产酶株结果比较

距离 (mm)	阳性株数				
	ATM	CAZ	CTX	CRO	合计
20	3	6	5	4	6
25	5	11	10	11	12
20/25	7	13	11	12	15

2.3 与 Etest检出结果比较

Etest试条检出大肠埃希菌阳性 24株,为 22.4%,其中 3株纸片法为阳性,而 Etest为阴性;肺炎克雷伯菌 13株为 20.3%,其中 2株纸片法为阳性,而 Etest为阴性。虽 Etest较多种纸片法结果低,但均高于单一药物的纸片相邻法。

3 讨论

3.1 纸片相邻法结果分析

ESBL大多是质粒介导的β-内酰胺酶,主要分为 TEM类和 SHV类,它们都能被β-内胺酶抑制剂如棒酸、青霉烷砜、Tazabactam(TAZ)所抑制,故在邻近含棒酸的纸片端出现抑菌圈的协同作用(呈钥匙状)从而被检测出来。本实验运用这原理将第 3代头孢的药敏纸片同含棒酸的阿莫西林纸片相邻来检测 ESBL。结果表明,大肠埃希菌的阳性率为 25.2%,肺炎克雷伯菌为 23.4%,均高于国内有关报道[3],这可能与本地区超广谱头孢菌素使用较多或有可能存在局部小流行有关。同时,我们采取多底物检测法,也使其检出率有所提高。从多种药敏纸片检出结果来看,CAZ可作为检测大肠埃希菌的最佳底物,而 CRO则为肺炎克雷伯菌产酶株检测的最好药物,它们在两种产酶菌中的检出率分别为 85.2%和 86.7%。从两纸片相邻距离比较,相距 20 mm组的阳性率远低于 25 mm组,这主要是相距 20 mm易使两抑菌圈融合,不能观察到正确的结果,但为了进一步提高其检出率,我们认为对疑为产 ESBL的菌株检测时两纸片间相距为 25 mm,若大肠埃希菌用头孢他啶,肺炎克雷伯菌用头孢曲松。

3.2 2种方法比较

Etest法具有方法便、快速,结果判断随机误差小的特点,从本次实验来看其阳性检出率低于多种底物的纸片法,其中对大肠埃希菌漏检 3株,肺炎克雷伯菌 2株,这主要是与其作用底物不同有关,Etest法选用的是 CAZ作为指示物,而所漏检的 5株菌中,其中被 ATM检出 1株,CTX和 CRO检出各 2株,就单一药物纸片检出来看,纸片相邻法与 Etest法结果较为一致。说明纸片相邻法能替代 Etest法,作为临床分离菌产 ESBL的有效筛选法。

关键词 超广谱β-内酰胺酶;纸片相邻法;大肠埃希菌;肺炎克雷伯菌;Etest

中图法分类号 R378 文献标识码 B

参考文献

[1] Jacoby G A. Genetics of extended-spectrum beta-lactamases[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1994, 13(Suppl): 2-7.

[2] Katsanis G P, Spargo J, Ferraro M J, *et al*. Detection of klebsiella pneumoniac and Escherichia coli strains reducing extended-spectrum β-lactamases[J]. J of Clin Microbiol, 1994, 32(3): 691-696.

[3] 熊剑辉. Etest用于革兰阴性杆菌超广谱β-内酰胺酶测定[J].临床检验杂志, 1998, 16(3): 138-140.

(编辑 王 红)

文章编号: 1000-5404(1999)12-0948-02

输尿管末端微小结石 X线检查方法与诊断探讨

Study on the roentgenologic diagnosis of small calculi in distal ureter

戴书华,陈 垦,席道友 (第三军医大学附属新桥医院放射科,重庆 400037)

【提要】 目的:探讨输尿管末端微小结石的最佳 X线检查显示方法及诊断要点。方法:对输尿管末端可疑小结石并于静脉肾盂造影中见输尿管全程显影者,不论有否积水,都采用排尿后再摄膀胱区片。结果:本组选择的 40例造影片上,有一侧输尿管全程显影者,25例于平片上见患侧输尿管末端有小结石,另 15例均于排尿后的盆腔片上见患侧输尿管末端有微小结石显示,并伴有该侧输尿管末端有少量造影剂存留。结论:当

作者简介:戴书华,男,1949.07.29生,福建省将乐县人,主任医师,主要从事心血管疾病 X线诊断方面的研究,发表论文 36篇。电话:(023)68755114-74676

收稿日期:1999-03-17;修回日期:1999-07-21

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net