

• 检验技术与方法 •

应用产色培养基快速检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌*

陈碧英, 陆志成, 马晨芸, 李志兰, 陈佩宏

(上海市浦东新区第七人民医院检验科 200137)

摘要:目的 应用 ChromID MRSA 产色培养基快速检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)。方法 将 922 份不同种类临床标本直接接种在 ChromID MRSA 产色培养基和常规血琼脂培养基, 采用 24、48 h 两个孵育时间观察结果, 血琼脂培养基疑似金黄色葡萄球菌的菌落用 PC20 复合板作鉴定和苯唑西林最低抑菌浓度测定(MIC), 两者检出的 MRSA 用 MRSA 乳胶凝集实验确证, 并进行比较。结果 产色培养基阳性率 14.9%, 常规血琼脂培养基阳性率 13.9%, 不同种类标本阳性率不同, 两者对 MRSA 的阳性率差异无统计学意义($P>0.05$), 24 h 产色培养基 MRSA 符合率 100%, 48 h 符合率 91.2%。结论 ChromID MRSA 产色培养基检出 MRSA 比常规方法缩短 24 h, 可用于临床实验室快速、准确地检测 MRSA。

关键词: 葡萄球菌, 金黄色; 产色培养基; 甲氧西林; 乳胶凝集实验; 耐药

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.14.025

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)14-1719-02

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)是目前院内感染的主要病原菌。自 20 世纪 80 年代以来, 由 MRSA 引发的院内感染率呈持续上升趋势^[1], 并逐渐扩展到社区^[2], 严重危害着人类的健康。在微生物实验室, 对 MRSA 的早期快速鉴定是有效控制其院内传播的关键。近年来, 各种产色培养基被应用于快速检测 MRSA^[3], 本研究将临床标本同时接种于 ChromID MRSA 产色培养基和常规血琼脂培养基, 比较两者对 MRSA 的阳性率, 并用 MRSA 乳胶凝集法确证, 报道如下。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 2010 年 1 月至 2011 年 12 月本院重症医学科、烧伤科、神经外科、肿瘤科患者的临床标本, 包括鼻咽拭子 352 份, 痰标本 273 份, 创伤分泌物 263 份, 血培养阳性直接涂片为葡萄球菌的标本 34 份。标准菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC29213, 由上海市临床检验中心提供。

1.2 仪器与试剂 ChromID MRSA 产色培养基、MRSA 乳胶凝集检测试剂盒(法国生物梅里埃公司), 哥伦比亚血琼脂培养基(上海科玛嘉公司), PC20 细菌鉴定药敏复合板、WalkAway-40 全自动鉴定仪(德国西门子公司)。

1.3 方法

1.3.1 ChromID MRSA 产色培养基分离鉴定实验 严格按照操作规程将临床标本接种于产色培养基上, 分区画线, 于(35±1)℃有氧条件下进行孵育, 24 h 观察结果, 出现绿色菌落为阳性判定是 MRSA, 如果结果为阴性继续孵育至 48 h 再观察。

1.3.2 常规血培养琼脂培养基方法 严格按照操作规程将临床标本接种于血琼脂培养基上, 分区画线, 于(35±1)℃有氧条件下进行孵育, 24、48 h 观察结果, 挑取葡萄球菌用 PC20 复合板进行细菌鉴定和药敏实验, 根据 CLSI M100-S20 金黄色葡萄球菌苯唑西林 MIC>2 μg/mL 判断为 MRSA。

1.3.3 MRSA 乳胶凝集实验 PBP2a 提取步骤: 在离心管中加入 4 滴提取试剂 1; 用无菌取菌环取 5~10 个金黄色葡萄球菌菌落放入离心管中, 彻底研磨混合; 盖上管盖, 放置于大于或等于 95℃水槽加热 3 min(不可超过 5 min); 取出离心管, 降至室温; 加入 1 滴提取试剂 2, 彻底混合, 于 1 500×g 离心 5 min, 使用上清液作为标本。乳胶凝集步骤: 每个检测标本需使用 2 个反应圈, 一个使用乳胶试剂, 另一个使用质控乳胶。于反应

圈加入 50 μL 标本及一滴乳胶试剂, 另一反应圈加入 50 μL 标本及一滴质控乳胶, 分别使用搅拌棒混合并均匀分布于整个反应圈。轻摇反应卡 3 min 后观察是否有凝集产生。只有乳胶试剂反应圈凝集, 为 PBP2a 阳性, 即 MRSA。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学分析软件。计数资料以百分率表示, 率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ChromID MRSA 产色培养基和常规血培养琼脂培养基上各种标本 MRSA 的检出株数和阳性率, 见表 1, 两者阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 不同标本种类和两种培养基 MRSA 的阳性率[% (n/n)]

标本种类	ChromID MRSA 产色培养基		常规血琼脂培养基	
	24 h	48 h	24 h	48 h
鼻咽拭子	14.5(51/352)	16.5(58/352)	14.8(52/352)	15.6(55/352)
痰液	7.0(19/273)	8.4(23/273)	6.2(17/273)	7.7(21/273)
创伤分泌物	16.7(44/263)	17.9(47/263)	17.1(45/263)	17.1(45/263)
血培养瓶	20.5(7/34)	26.5(9/34)	20.5(7/34)	20.5(7/34)
总计	13.1(121/922)	14.9(137/922)	13.1(121/922)	13.9(128/922)

2.2 MRSA 乳胶凝集实验结果显示, 产色培养基上 24 h 显色绿色的 121 株均为阳性, 符合率 100%, 16 株 48 h 后显示绿色菌落的 4 株为阳性, 12 株为阴性, 总符合率 91.2%, 12 株阴性的转种血平板再经鉴定药敏实验 7 株为耐甲氧西林溶血葡萄球菌, 5 株为耐甲氧西林表皮葡萄球菌; 常规培养鉴定药敏检出 128 株 MRSA, 125 株为阳性, 符合率 97.6%。

3 讨论

MRSA 由于获得了 mecA 基因, 该基因编码产生的低亲和力青霉素结合蛋白 2a(BP2a), 对所有 β -内酰胺类及酶复合剂抗菌剂耐药^[4], 同时, 该耐药性的遗传物质能够在细菌之间传播, 给临床治疗带来困难^[5]。因此, 早期、快速诊断 MRSA 是非常重要的。mecA 基因和青霉素结合蛋白 PBP2a 的检测是

* 基金项目: 上海市浦东新区卫生局科技项目(PW2009A-17)。

目前公认的金标准,但这 2 项技术要求高、试剂昂贵,不适合普通实验室大量开展^[6]。显色培养基是一类利用微生物自身代谢产生的酶与相应底物反应显色的原理快速检测、鉴定微生物种类的特殊培养基,直接通过菌落颜色鉴定,大大减少了检测时间。近年来,国外各种产色培养基被应用于鉴定 MRSA,也被直接应用于血培养瓶、伤口脓液、脓肿的标本检测,18~24 h 就能检测出 MRSA^[7-10],都显示出了高的敏感性和特异性。美国 Havill 和德国 Wendt 等^[11]报道,用产色培养基检测粪便标本中的 MRSA 敏感度高于传统培养方法。国内张嵘等^[12]也报道了用 MRSAID 产色培养基检测和鉴定 MRSA 的应用价值,但没有用于临床标本直接接种。

根据前 2 年本院临床病原菌的分离及耐药监测数据显示,2008 年分离到的金黄色葡萄球菌 65% 为 MRSA,2009 年为 70%。本研究作者选择重症医学科、烧伤科、神经外科、肿瘤科这些 MRSA 高发的临床病区的 922 份不同种类标本进行直接接种在 ChromID MRSA 产色培养基上,其原理是培养基中含有产色底物 α -葡萄糖苷酶和抗菌剂头孢西丁,产色底物能使 MRSA 直接呈现绿色菌落,头孢西丁可抑制大多数的非葡萄球菌和酵母菌。并与常规培养检测方法比较,结果显示 ChromID MRSA 产色培养基阳性率 14.9%,常规培养基检测阳性率 13.9%,两种方法比较差异无统计学意义,可见,产色培养基可以用于 MRSA 的检测,并且该方法较常规方法缩短 24 h,更加简单快速。不同种类标本阳性率不同,其中血培养瓶 24 h 时阳性率一致,用 MRSA 乳胶凝集实验确证产色培养基上绿色菌落结果显示,对 24 h 出现的绿色菌落 MRSA 符合率 100%,48 h 后出现的绿色菌落经鉴定后 25% 为 MRSA,75% 为耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌,可见,孵育时间较长时,凝固酶阴性的葡萄球菌可能会对实验结果造成假阳性,应同时加做血浆凝固酶实验以保证检测的特异性。

作者认为这种能快速鉴定 MRSA、操作简单、结果可靠的方法,值得在临床实验室应用。尤其在院内感染暴发,对于尽快实施控制,防止 MRSA 的播散、调整抗菌剂治疗方案、节约治疗成本有积极意义。

参考文献

[1] Huang YC, Su LH, Wu TL, et al. Molecular epidemiology of clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Tai-

wan[J]. *Clin Microbiol*, 2004, 42(1): 307-310.

- [2] Francis JS, Carroll K. Community acquired MRSA: a notable adversary[J]. *South Med*, 2005, 98(11): 1061-1062.
- [3] Hal SJ, Stark D, Lockwood B, et al. Methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) detection: comparison of two molecular methods (IDF-MRSA PCR assay and GenoType MRSA direct PCR assay) with three selective MRSA agars (MRSA ID, MRSA Select, and CHROMagar MRSA) for use with infection-control swabs[J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(8): 2486-2490.
- [4] 张珏, 乔响, 倪语星. 医院感染的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药基因分析[J]. *检验医学*, 2007, 22(4): 390-393.
- [5] 张鹏, 张文芳, 张媛. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌快速检测方法的比较[J]. *中华检验医学杂志*, 2008, 31(3): 325-329.
- [6] 鲁卫平, 顾江, 安琳, 等. 头孢西丁纸片扩散法检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌[J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(5): 458.
- [7] Nahimana I, Francioli P, Blanc DS. Evaluation of three chromogenic media (MRSA-ID, MRSA-Select and CHROMAGAR MRSA) and ORSAB for surveillance cultures of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2006, 12(12): 1168-1174.
- [8] Colakoglu S, Aliskan H, Senger SS, et al. Performance of MRSA ID chromogenic medium for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from blood cultures and clinical specimens[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2007, 59(3): 319-323.
- [9] Cherkaoui A, Renzi G, Francois P, et al. Comparison of four chromogenic media for culture-based screening of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Medical Microbiol*, 2007, 56(4): 500-503.
- [10] Van Loo IHM, Van Dijk S, Verbakel-Schelle I, et al. Evaluation of a chromogenic agar (MRSA Select) for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with clinical samples in The Netherlands[J]. *J Med Microbiol*, 2007, 56(4): 491-494.
- [11] Wendt C, Havill NL, Chapin KC, et al. Evaluation of a new selective medium, BD BBL CHRO Magar MRSA II, for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in different specimens[J]. *J Clin Microbiol*, 2010, 48(6): 2223-2227.
- [12] 张嵘, 周宏伟, 成功祥. 应用 MRSA ID 产色琼脂培养基等四种方法检测和鉴定耐甲氧西林金黄色葡萄球菌[J]. *中华检验医学杂志*, 2007, 30(4): 388-391.

(收稿日期: 2012-01-11)

• 检验技术与方法 •

三种梅毒血清学检测方法比较

陈秀琼

(广东省东莞市慢性病防治院 523008)

摘要:目的 对临床常用的梅毒血清学检测方法(TRUST、ELISA 和 TPPA)的检测结果进行评价,探讨各种方法的适用范围。方法 分别用 TRUST、ELISA 和 TPPA 三种方法对 213 份皮肤科门诊血清标本进行检测,并对结果进行统计分析。结果 TRUST 检出阳性率 16.9%,ELISA 检出阳性率 27.2%,TPPA 检出阳性率 29.1%,三者差异具有统计学意义。结论 三种方法各有优、缺点,应根据临床实际情况综合运用。

关键词:梅毒; 酶联免疫吸附测定; 梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验; 甲苯胺红不加热血清试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.14.026

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)14-1720-02

梅毒是由苍白螺旋体引起的慢性、系统性传播疾病,可引起全身性损害,临床上可表现为一、二、三期梅毒和潜伏梅毒。随着人们生活方式的改变和人口流动性增加,梅毒又开始

广泛流行,且发病率呈逐年增高趋势。本市流动人口数量巨大,且安全性行为意识淡薄,生殖健康知识缺乏,使得梅毒等性病的发病率居高不下,早诊断、早治疗对减少梅毒传染源,控制