

乙型鏈球菌抗微生物製劑敏感性試驗作業指引

1. 前言

產前分離之乙型鏈球菌 (Group B *Streptococcus* ; GBS) 基本上是不需例行性操作抗微生物製劑敏感性試驗 (antimicrobial susceptibility testing ; AST) , 但產婦若對於盤尼西林產生過敏者, 實驗室則接受臨床醫師之醫囑進行敏感性試驗。我們建議實驗室例行性對於產前分離的乙型鏈球菌進行敏感性試驗, 以利臨床醫師使用抗生素之參考。

臨床與實驗室標準協會 (Clinical and Laboratory Standards Institute ; CLSI) 建議 GBS 的敏感性試驗可採用紙錠擴散法 (disk diffusion method) 或肉湯微量稀釋法 (broth microdilution method) , 經認可的商品化系統依製造商的操作建議也可接受。本文則以紙錠擴散法提供實驗室操作 GBS 的敏感性試驗時之參考。

2. 材料

2.1 Tryptic soy broth (TSB) 或無菌生理食鹽水

2.2 5% 綿羊血的 Mueller-Hinton 培養基

2.3 0.5 McFarland turbidity standard

2.4 鑷子

2.5 無菌棉棒

2.6 紙錠: penicillin (10 units)、ampicillin (10 µg)、erythromycin (15 µg)、clindamycin (2 µg)、vancomycin (30 µg)

※ 本文建議至少操作上述 5 種抗微生物製劑, 其他藥物可參考 CLSI M100 相關之規範, 下列所述之方法步驟也僅以此五種藥物為例。

3. 步驟

3.1 使用無菌棉棒挑取經培養 18-24 小時的菌落, 於 TSB 或無菌生理食鹽水調成 0.5 McFarland 濃度之懸浮液。

3.2 將無菌粗棉棒浸潤於已調好的菌液中, 沿管壁輕輕將多餘菌液壓除, 塗抹在含 5% 綿羊血的 Mueller-Hinton 培養基表面上 (以三個不同的方向進行塗抹, 每次轉 60 度, 使接種原平均分布)。

3.3 待菌液吸收後 (約 3-5 分鐘, 勿超過 15 分鐘), 以無菌鑷子將

適當的抗生素紙錠貼於瓊脂表面。

- 3.4 紙錠間的距離應超過 24 mm，與培養基的邊緣應距 15 mm；但對於操作 D-zone test 時應注意將 erythromycin 與 clindamycin 的紙錠貼於相隔 12 mm 之距離。
- 3.5 將培養基反轉（培養基蓋朝下）置於 35°C ± 2°C，5% 二氧化碳培養箱中，培養 20-24 小時。
- 3.6 測量抑制環的直徑（量測時為菌落生長處非溶血處）。

4. 品管

- 4.1 使用 *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 為品管菌株，可接受的範圍分別為 penicillin (10 units)：24-30 mm
ampicillin (10 µg)：30-36 mm
erythromycin (15 µg)：25-30 mm
clindamycin (2 µg)：19-25 mm
vancomycin (30 µg)：20-27 mm
- 4.2 品管頻率依據 CLSI 規範採用日品管或週品管
 - 4.2.1 日品管：實施每日品管，若連續 20 個結果小於（等於）1 個或 30 個結果小於（等於）3 個超過可接受範圍時，可轉換為週品管。
 - 4.2.2 週品管：每週至少執行一次。當培養基或紙錠為新批號時也應實施品管試驗。

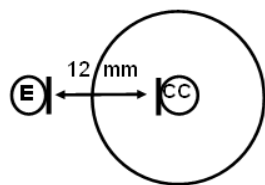
5. 結果報告

- 5.1 依據 CLSI M100-S21 針對 *Streptococcus* spp. β-hemolytic group 的紙錠抑制環判讀與結果解釋：

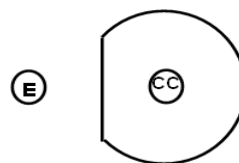
抗微生物製劑	紙錠劑量	抑制環判讀 (mm)		
		S	I	R
Penicillin	10 units	≥24	-	-
Ampicillin	10 µg	≥24	-	-
Erythromycin	15 µg	≥21	16-20	≤15
Clindamycin	2 µg	≥19	16-18	≤15
Vancomycin	30 µg	≥17	-	-

- 5.2 當 clindamycin 紙錠的抑制環與相鄰的 erythromycin 紙錠呈現鈍形（或 D 型）抑制環時，為 D-zone test 陽性時，應考慮為

誘導性 clindamycin 抗性，clindamycin 應被報告為抗藥性。



無誘導，D-zone test陰性



有誘導，D-zone test陽性

6. 注意事項

- 6.1 調整菌液濃度的棉棒與塗抹培養基的棉棒不可使用同一支，以免造成菌液濃度不正確。
- 6.2 每次操作皆應檢查培養基效期、顏色、厚度與平整度及紙錠之效期。
- 6.3 操作 D-zone test 時 erythromycin 與 clindamycin 的紙錠是相隔 12 mm 的距離，與葡萄球菌貼的距離不同。
- 6.4 若是 D-zone test 陰性，clindamycin 抑制環中有微薄菌落生長，仍應判讀 clindamycin 為抗藥性。