

- [4] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床实验室管理办法[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2006.
- [5] 杨志钊, 缪丽韶, 杨山虹, 等. 利用 CLSI EP5-A 指南验证精密度和准确度[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3): 231-232.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods: approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.
- [7] 程金玲, 王志东. 迈瑞 BS-200 全自动生化分析仪性能评价[J]. 中国现代医生, 2011, 49(15): 95-96.
- [8] Centers for Disease Control and Prevention, Centers for Medicare & Medicaid Services, HHS. Medicare, Medicaid, and CLIA pro-

- grams; laboratory requirements relating to quality systems and certain personnel qualifications. Final rule[J]. Fed Register, 2003, 68(36): 3640-3714.
- [9] 陈英, 余彦君. 贝克曼 CX5CE 全自动生化分析仪应用国产试剂的可行性分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(22): 2516.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP28-A2 How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2000.

(收稿日期: 2012-11-09)

• 检验仪器与试剂评价 •

VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪专家系统 细菌耐药表型检测能力的评价

张国雄, 古汉福, 范晓怡, 张惠琴

(广东梅州市人民医院检验科, 广东梅州 514031)

摘要:目的 评价 VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪检测细菌耐药表型的性能。方法 随机选择该院 2011 年 1 月至 2012 年 6 月分离所得后保存的金黄色葡萄球菌 60 株, 大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌共 60 株, 分别以检测耐药基因、检测常规耐药表型和 VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪 3 种方法, 分析比较结果。结果 VITEK2 Compact 检测耐药表型结果与耐药基因检测、常规耐药表型检测结果差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 VITEK2 Compact 筛选 MRSA 及检测诱导克林霉素耐药和 ESBLs 的灵敏度、特异度较高, 能对致病菌的耐药表型进行快速、准确测定, 是临床微生物检测的有利工具。

关键词: 实验室技术和方法; 细菌耐药表型; 性能评价

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.08.050

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)08-1015-02

细菌感染一直威胁着人类的生命健康, 自 1928 年发现青霉素后, 人类又开发出了许多不同作用机制的抗菌药物, 但是细菌感染并没有随之减少, 因此根据细菌的药物敏感试验合理使用抗菌药物势在必行。这就要求临床微生物实验室准确、快速地为临床提供药敏结果^[1], VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪是法国梅里埃公司推出的 VITEK 系列全自动微生物鉴定及药敏分析仪的新机型, 为分析其检测细菌常见耐药表型性能, 笔者进行了对比研究, 现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 实验菌株 本研究所用实验菌株随机选择本院 2011 年 1 月至 2012 年 6 月分离所得后保存的 120 株, 其中金黄色葡萄球菌 60 株, 大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌共 60 株。质控株为大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC29213。

1.2 方法

1.2.1 耐药基因的检测 按文献[2-3]合成引物, 按扩增条件进行扩增后电泳, 查看结果。

1.2.2 红霉素耐药克林霉素诱导实验 参照《全国临床检验操作规程》^[4], 配 0.5 麦氏浊度金黄色葡萄球菌悬浊液, 以无菌拭子均匀涂布在 M-H 平板上, 然后将红霉素纸片(15 μg)和克林霉素纸片(2 μg)贴于其上, 注意使两纸片中心点相距 15 mm, 放 35 $^{\circ}\text{C}$ 孵育箱孵育 24 h, 观察在靠近红霉素纸片一侧的克林霉素的抑菌环有无截平现象, 即 D 型环形成, 有 D 型环者为阳性, 无 D 型环者为阴性。

1.2.3 超广谱 β 内酰胺酶确证试验 参照文献[4]配 0.5 麦氏浊度金黄色葡萄球菌悬浊液, 以无菌拭子均匀涂布在 M-H 平板上, 然后贴上头孢噻肟、头孢他啶及头孢噻肟联合克拉维酸、头孢他啶联合克拉维酸纸片, 35 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 如果加酶抑

制剂纸片周围的抑菌圈与不加酶抑制剂纸片的抑菌圈直径相差 5 mm 以上, 即为 ESBLs 确证试验阳性。

1.2.4 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)检测 阳性菌株配制 0.5 麦氏浊度悬浊液, 均匀涂布在 M-H 平板上, 然后用头孢西丁和苯唑西林两种药敏纸片进行检测^[4]。药敏标准按 CLSI(2011 年版)判断, 头孢西丁抑菌环直径小于 19 mm 或苯唑西林抑菌环直径小于 11 mm 即为 MRSA 阳性。

1.2.5 药敏检测 配制 0.5 麦氏浊度金黄色葡萄球菌悬浊液, 用梅里埃 AST-GP67 或 AST-GN13 药敏检测板按照操作规程进行药敏试验。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 耐药基因检测结果 60 株金黄色葡萄球菌中有 34 例 mecA 基因阳性, 阳性率 56.67%; 60 株大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌中有 47 例 TEM 和(或)CTX-M 基因阳性, 阳性率 78.33%。

2.2 超广谱 β 内酰胺酶确证试验结果 60 株大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌中有 46 例超广谱 β 内酰胺酶确证试验阳性, 阳性率 76.67%。

2.3 MRSA 检测结果 60 株金黄色葡萄球菌中 MRSA 34 例, 占 56.67%, 其余 26 株为甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)。

2.4 红霉素耐药克林霉素诱导实验结果 60 株金黄色葡萄球菌中有 29 例为“D”试验阳性, 阳性率 48.33%, 34 例 MRSA 中“D”试验阳性 19 例, 占 55.88%, 26 例 MSSA 中“D”试验阳性 10 例, 占 38.46%。

2.5 VITEK2 Compact 检测结果 60 株金黄色葡萄球菌 MRSA 检测阳性 34 例,占 56.67%;60 株金黄色葡萄球菌克林霉素诱导实验 29 例;60 株大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌中有 47 例超广谱 β 内酰胺酶检测阳性。

2.6 耐药菌基因型与 VITEK2 Compact 检测耐药表型结果分析 VITEK2 Compact 以头孢西丁筛选筛查 MRSA 与基因检测完全一致,ESBLs 检测 46 例阳性,基因检测 46 例阳性,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 耐药菌基因型与 VITEK2 Compact 检测耐药表型结果分析(n)

项目	结果	ESBLs 检测		头孢西丁筛选	
		阳性	阴性	阳性	阴性
mecA 基因	阴性	—	—	0	26
	阳性	—	—	34	0
TEM 或(和)CTX-M 基因	阴性	0	13	—	—
	阳性	46	1	—	—

—:无数据。

2.7 常规耐药表型测定与 VITEK2 Compact 检测耐药表型结果分析 VITEK2 Compact 检测 ESBLs 检测、头孢西丁筛选、克林霉素诱导实验与常规检验的超广谱 β 内酰胺酶确证试验、MRSA 检测“D”试验完全一致,符合率为 100%。

3 讨 论

VITEK2 Compact 是法国梅里埃公司推出的 VITEK 系列的新机型,它可以通过在药敏检测及综合分析中筛选 MSRA、ESBLs、红霉素诱导克林霉素耐药等多种耐药表型进行评估和推断^[5-7]。VITEK2 Compact 的工作原理是每个 15 min 以比浊法(660 nm)读数药敏测定版反应孔的透光度,然后绘出生长动力曲线得到药敏结果。其配套的 AST GP67 药敏板以 6 $\mu\text{g/mL}$ 的头孢西丁来筛选葡萄球菌的耐甲氧西林情况,如果该孔有明显浑浊,则为头孢西丁筛选阳性,即为耐甲氧西林葡萄球菌,反之为甲氧西林敏感葡萄球菌^[8];该卡还有 2 个孔分别为 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 克林霉素和 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 克林霉素联合 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 红霉素来检测红霉素诱导克林霉素耐药,如果 2 个孔都明显浑浊或都不浑浊,则为红霉素诱导克林霉素耐药阴性,如果第 1 个孔不浑浊而第 2 个孔浑浊则为红霉素诱导克林霉素耐药阳性^[9]。其配套的阴性菌 AST GN13 采用 6 个孔来检测超广谱 β 内酰胺酶,6 个孔内分别为头孢噻肟、头孢噻肟和棒酸、头孢他啶、头孢他啶和棒酸、头孢吡肟、头孢吡肟和棒酸,观察每一对药物孔的浊度变化,综合分析检测结果及 AES 匹配表型,报告耐药机制。并且这两类药敏板均是 CLSI 推荐的参考方法,最大优势在于快速、自动化、准确^[10-11]。

本研究选择本院 2011 年 1 月至 2012 年 6 月分离所得后保存的金黄色葡萄球菌 60 株,大肠埃希菌和肺炎克雷伯杆菌共 60 株作为实验菌株,分别以检测耐药基因、检测常规耐药表型和 VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪 3 种方法进行对比研究。耐药基因、检测常规耐药表型和 VITEK2 Compact 均检出 MRSA34 株,检测常规耐药表型和 VITEK2 Compact 红霉素克林霉素诱导阳性 29 株,符合率为 100%;耐药表型和 VITEK2 Compact 均检出 ESBLs 46 株,而耐药基因检出 47 例,符合率为 97.87%,分析其原因在于该菌株携带 ESBLs 基

因,尚未表达蛋白等相关成分^[12]。与王瑶等^[13]的报道相符。另外在检测时间上较传统方法培养 24 h 明显缩短,金黄色葡萄球菌头孢西丁筛选和克林霉素诱导实验在 8~10 h 内完成,与沈定霞等^[14]报道基本一致,大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的 ESBLs 仅在 5~9 h 内完成,大大缩短了检测时间^[15]。

因此,VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪能够为临床提供及时、准确的药敏结果供医师参考,大大提高抗感染的疗效,具有操作简便、鉴定及药敏检测快速、准确可靠、高度自动化等优点,是临床微生物检测的有利工具。

参考文献

[1] 孙燕萍,彭浩,凌霞,等. VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统的应用及鉴定结果分析[J]. 现代预防医学,2010,37(20):3891-3893.

[2] Chambers HF. The changing epidemiology of Staphylococcus aureus? [J]. Emerg Infect Dis,2001,7(2):178-182.

[3] 黄烈,韦洁宏,张银辉,等. 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌 ESBLs 表型与基因型分析[J]. 中华医院感染学杂志,2009,19(1):17-20.

[4] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:759-762.

[5] 周铁丽,李超,温秀妹,等. VITEK 全自动微生物鉴定仪检测超广谱 β 内酰胺酶的结果评价[J]. 上海医学检验杂志,2010,16(5):275-276.

[6] 王原,曹俊敏. 全自动微生物鉴定仪对葡萄球菌鉴定能力的评价[J]. 浙江中医药大学学报,2009,33(2):205-206.

[7] 宋逸萍,宛传丹,马月琴,等. VITEK2 Compact 高级专家系统对肠杆菌及铜绿假单细胞中 β -内酰胺酶耐药表型鉴别能力分析[J]. 江苏大学学报:医学版,2012,22(1):77-79.

[8] Andrade SS,Picao RC,Campana EH,et al. Influence of dise preparation on detection of metallo- β -lactamase-producing isolates by the combined disk assay[J]. J Clin Microbiol,2007,45(6):2058-2060.

[9] Franklin C,Liolios L,Peleg AY. Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacilli in the clinical laboratory[J]. J Clin Microbiol,2006,44(9):3139-3144.

[10] 周建芳,杜斌. 产超广谱 β -内酰胺酶肠杆菌科细菌的感染与控制[J]. 临床药物治疗杂志,2012,10(6):5-8.

[11] 黄东红,林贵良,黄玉婷. 4 283 份血培养结果的细菌学分布及耐药性分析[J]. 海南医学,2009,20(7):121-122.

[12] Lee K, Lim JB, Yum JH, et al. bla (VIM-2) cassette-containing novel integrons in metallo-beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa and Pseudomonas putida isolates disseminated in a Korean hospital [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(4): 1053-1058.

[13] 王瑶,徐英春,谢秀丽,等. 全自动微生物鉴定药敏分析仪对临床相关细菌和酵母菌鉴定能力的评估[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(1):20-23.

[14] 沈定霞,罗燕萍,徐雅萍,等. 葡萄球菌对红霉素和克林霉素的诱导耐药性研究[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(4):400-402.

[15] 李文广,陈海. 391 株铜绿假单胞菌感染的耐药性分析[J]. 中国热带医学,2008,8(12):2227-2228.