

- [3] 王继荣, 来春林. 尿中微量白蛋白测定在原发性高血压患者早期肾损害的诊断价值[J]. 山西医药杂志, 2010, 39(5): 309.
- [4] 杨永昌, 王北宁, 张颖, 等. 免疫透射比浊法检测尿微量白蛋白的方法学评价[J]. 标记免疫分析与临床, 2011, 18(5): 345-346.
- [5] 马清光, 张昕明, 高梅. 晨尿与随机尿微量白蛋白作为糖尿病肾病诊断试验有效性评价[J]. 循证医学, 2009, 9(1): 36-40.
- [6] 唐秀英, 张冬青. 速率散射比浊法对微量白蛋白检测的临床意义[J]. 实用医技杂志, 2008(15): 2006.
- [7] 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: 464-471.
- [8] 杨文英. 中国人的糖尿病患病率[N]. 中国医学论坛报, 2010-03-24(10).
- [9] 张岩, 谭延国, 谢夏武. 尿液微量白蛋白快速筛查方法应用的评估

[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(7): 647-649.

- [10] 李晓娟. 胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 的临床应用[J]. 国外医学: 临床生物化学与检验学分册, 2004, 25(1): 6-7.
- [11] 孔岩, 杨建梅, 徐国宾, 等. 对 2 型糖尿病患者肾小球滤过功能的评价[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 30(11): 1219-1222.
- [12] 彭启松, 屠强. 血清胱抑素 C 在早期糖尿病肾病诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(8): 948-949.
- [13] 鲁家才, 库宝庆, 莫扬. 四项生化指标在肾功能损伤中的意义和临床评价[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(9): 841-842.
- [14] 王学品, 徐国宾, 张婕. 尿白蛋白的临床意义和实验室检测进展[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(12): 1097-1101.

(收稿日期: 2014-05-21)

• 经验交流 •

参加卫生部临床微生物学室间质评 10 年结果分析

杨佩红, 徐修礼[△], 孙怡群, 刘家云

(第四军医大学西京医院全军临床检验医学研究所, 陕西西安 710032)

摘要:目的 总结该室 2004~2013 年参加卫生部临床微生物学室间质评结果, 分析失控原因, 提高实验室对病原菌的检测能力及药敏试验的准确性。**方法** 对卫生部临检中心发放的质控菌株按其要求进行培养鉴定及药敏试验, 将该室的结果与临检中心回报结果进行比对分析。**结果** 10 年共收到质控样品 150 份, 细菌的存活率为 99.33%(149/150); 污染率为 0.67%(1/150); 细菌鉴定的正确率为 95.33%(143/150); 药敏试验的正确率为 94.76%(253/267)。**结论** 该室对室间质评的细菌鉴定及药敏试验的正确率较高。药敏试验应注意酶学试验及处于中介水平的药敏结果, 并要合理应用 CLSI 文件中的药敏规则。

关键词:室间质评; 质量控制; 细菌培养; 细菌鉴定; 药敏试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.067

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)21-2994-03

室间质量评价是多家实验室分析同一标本并由外部独立机构收集和反馈实验室上报的结果, 以此评价实验室操作的过程。通过实验室间的比对判定实验室的校准、检测能力以及监控其持续能力^[1]。本院检验科微生物室自 1999 年就参加卫生部临床检验中心组织的微生物学室间质评活动, 通过不断的总结经验, 本室对病原菌的检测能力不断提高。现将近 10 年本室参加微生物学室间质评的结果进行总结, 分析如下。

1 材料与方法

1.1 样本 待检菌株的冻干粉由卫生部临床检验中心提供, 每年统一时间段发放, 3 次/年, 每次 5 份样本。参加室间质评的实验室根据卫生部临检中心的要求在规定的时间内完成样本的检测与结果上报。

1.2 室内质控菌株 ATCC25923 金黄色葡萄球菌、ATCC25922 大肠埃希菌、ATCC27853 铜绿假单胞菌、ATCC35218 大肠埃希菌用于常规药敏试验的质控。

1.3 药敏纸片 10 年间本室药敏纸片购于北京天坛药物技术开发公司、温州康泰生物有限公司、英国 Oxoid 公司。药敏纸片在室内常规药敏质控合格的前提下用于室间质控的药敏试验。

1.4 仪器与试剂 细菌鉴定分析仪器包括 VITEK、ATB(法国生物梅里埃公司)、Microscan(西门子公司)和 Phoenix TM 100(美国 BD 公司)等系统。培养基为 Mueller-Hinton 琼脂购于北京奥博星生物技术责任有限公司、温州康泰生物有限公司、英国 Oxoid 公司。

1.5 样本转种、分离及鉴定 用小牛血清或葡萄糖肉汤溶解冻干粉, 根据样本来源及诊断说明选择相应的培养基进行转种、分离。细菌鉴定按照常规标本处理流程在细菌形态学、培养特性的基础上, 结合仪器鉴定、生化反应及血清学凝集试验等手段。

2 结果

2.1 2004~2013 年本室共接收质控样本 150 份, 共应报告检出菌 159 株, 细菌种类包括 40 多个菌属, 2 份样本为未检出致病菌。细菌鉴定的正确率为 95.33%(143/150), 错误率为 4.67%(7/150)。结果错误的 7 份样本中, 其中 3 份样本细菌鉴定有误, 1 份样本有污染, 1 份样本漏检致病菌, 1 份样本鉴定正确但菌名上报错误, 1 份样本对致病菌的分析错误。具体细菌鉴定错误结果及原因分析详见表 1。

2.2 2004~2013 年本室根据临床微生物学室间质评的要求共对 43 株细菌进行了药敏试验, 卫生部临床检验中心根据全国实验室的药敏结果统计分析, 共对本室 267 项药敏试验结果给予分析判断。本室药敏试验结果的正确率为 94.76%(253/267), 错误率为 5.24%(14/267)。具体药敏试验错误结果及原因分析详见表 2。

2.3 本室 10 年间室间质评结果的比较分析, 细菌鉴定正确率在 2004~2010 年有逐年升高的趋势, 但 2011~2013 年有下降。药敏试验结果的正确率由 76.5%逐年提高到 100.0%, 有明显的改进趋势。10 年间细菌鉴定与药敏试验正确率的比较见表 3。

[△] 通讯作者, E-mail: xxlxxl@fmmu.edu.cn.

表 1 细菌鉴定错误结果及其原因分析

错误原因	样本编号	本室结果	正确结果
仪器鉴定错误	0407	A 群链球菌	C 群链球菌
	1107	温和气单胞菌、溶藻弧菌	温和气单胞菌
	1111	犬巴斯德菌	腐蚀艾肯菌
操作问题	0505	卡他布兰汉菌	卡他布兰汉菌、流感嗜血杆菌
	1304	粪产碱杆菌	
		产单核细胞李斯特菌	粪产碱杆菌
专业知识、理论原因	0709	肺炎链球菌	
		副流感嗜血杆菌	肺炎链球菌
上报错误	1306	马链球菌	停乳链球菌

表 2 药敏试验错误结果及其原因分析

错误原因	样本编号	细菌名称	药物名称	本室结果	正确结果
质控原因	0505	卡他布兰汉菌	β-内酰胺酶试验	阴性	阳性
	0601	淋病奈瑟菌	β-内酰胺酶试验	阳性	阴性
	0609	肺炎链球菌	头孢曲松	耐药	敏感或中介
专业知识、理论原因	0408	鹌鸡肠球菌	万古霉素	敏感	中介
	0412	金黄色葡萄球菌	苯唑西林	敏感	耐药
	0509	嗜麦芽窄食单胞菌	米诺环素、左氧氟沙星	未做	敏感
	0514	腐生葡萄球菌	青霉素	敏感	耐药
	0604	奇异变形杆菌	头孢他啶、头孢吡肟	敏感	耐药
	0704	肺炎克雷伯菌	头孢吡肟	中介	耐药
	0705	卡他布兰汉菌	β-内酰胺酶试验	阴性	阳性
操作问题	0406	洋葱伯克霍尔德菌	头孢他啶	耐药	中介
	0715	铜绿假单胞菌	阿米卡星	中介	敏感
	0705	卡他布兰汉菌	β-内酰胺酶试验	阴性	阳性

表 3 10 年间细菌鉴定与药敏试验正确率的比较(%)

年份	细菌鉴定正确率	药敏正确率
2004	93.3	83.3
2005	93.3	76.5
2006	100.0	85.2
2007	93.3	91.2
2008	100.0	100.0
2009	100.0	100.0
2010	100.0	100.0
2011	86.7	100.0
2012	100.0	100.0
2013	86.7	100.0

3 讨 论

3.1 错误原因分析 室间质评细菌鉴定时建议将样本复苏后多传代,待细菌的生化性状稳定后再鉴定,并且要善于抓住一些特殊的生化反应进行有步骤的逐一排除其他相似菌^[2],混合菌结果上报时应根据样本来源及感染诊断综合分析目标病原菌。综合分析 10 年室间质评本室细菌鉴定及药敏试验错误的样本,错误原因总结为 5 个方面。

3.1.1 仪器鉴定错误,过分依赖仪器^[3],忽略形态学及其他补充试验的结果 比如:0407 号样本正确结果为 C 群链球菌,本室误鉴定为 A 群链球菌,区分两者可用杆菌肽敏感试验和溶血性链球菌分型血清凝集试验。1107 号样本正确结果为温和气单胞菌,仪器鉴定两次其中一次误鉴定为溶藻弧菌,弧菌与气单胞菌应注意菌体形态、嗜盐性、O/129 敏感性的差异^[4]。1111 号样本正确结果为腐蚀艾肯菌,本室误鉴定为犬巴斯德菌,腐蚀艾肯菌虽然属于少见的革兰阴性杆菌,VITEK 2 传统的革兰阴性菌鉴定 GN 卡的数据库却不包括此菌,应用 NH 鉴定卡,属于工作人员对仪器的性能应用认知不足导致的失误。因此,细菌鉴定过程中,应将仪器鉴定方法、形态学、及其生化特征完整地结合起来。

3.1.2 操作问题 0505 号样本复苏溶解过程中,本室只取出部分冻干粉,导致含量较少且营养苛刻的流感嗜血杆菌未分离出来。1304 号样本本室检测出粪产碱杆菌和产单核细胞李斯特菌,质控回报结果仅有粪产碱杆菌。因本室样本复苏溶解都在生物安全柜内进行,且产单核细胞李斯特菌不属于实验室常见的污染菌,因此无法分辨是样本自身分装冻存过程中还是实验室转种过程中的污染。虽然回顾原始记录分析不出污染的原因,但此类问题应引起重视,杜绝再次出现。0406、0715 号样本因 KB 法药敏试验的操作因素、结果判读或纸片的稳定性差,导致处于中介边缘的结果判断有误。0705 号卡他布兰

汉菌碘法测 β -内酰胺酶,因其操作因素导致结果错误,可能忽略了很多注意事项,如青霉素溶液与细菌悬液 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴内作用时间不可过短,否则酶释放不完全,易出假阴性结果;淀粉与碘液的浓度要适度;结果观察应在 10 min 以内。为了避免操作因素导致结果的差异,本室进一步规范细化室内的操作程序文件,通过培训考核等手段提高人员的操作能力。

3.1.3 专业知识、理论原因 0709 号样本来源为痰液,本室分离出肺炎链球菌和副流感嗜血杆菌,呼吸道标本中副流感嗜血杆菌通常不作为致病菌报告。0408 号鸡鸭肠球菌本室检测其对万古霉素敏感,但 CLSI 文件中明确指出该菌对万古霉素天然中介,本室上报结果时因对此规则不熟悉导致报告错误。CLSI 2004 年推出了用头孢西丁替代苯唑西林报告 MRS^[5-6], 0412 号的金黄色葡萄球菌本室未用头孢西丁纸片法预测苯唑西林的敏感性。0509 号嗜麦芽窄食单胞菌 CLSI 文件 M100-S15^[7]中规定 KB 法药敏有复方新诺明、左氧氟沙星、米诺环素 3 种抗菌药物的判断折点,而本室漏做其中两项药敏。0514 号腐生葡萄球菌青霉素抑菌圈直径在折点边缘,不易判断,未做 β -内酰胺酶试验。0604 号奇异变形杆菌来源于尿液,CLSI 文件 M100-S15^[7]中规定应对来源于无菌体液或确定有临床意义的奇异变形推荐做产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)的检测,本室因未做 ESBLs 确证试验导致对头孢菌素类药敏结果报告有误。0704 号肺炎克雷伯菌本室检测其对头孢吡肟中介,因其产生 ESBLs,应根据 ESBLs 的修订规则,报告对所有头孢菌素均耐药,但当时国内专家对 ESBLs 头孢吡肟结果修订存在争议,故本实验室对其未做修订导致报告失误。药敏试验的失误,多数由于工作人员专业理论知识不足导致。本室通过积极参加各类继续教育,去知名医院进修学习或经验交流,提高了工作人员对微生物检验新理论新技术的学习与实践。

3.1.4 上报错误 1306 号样本本室鉴定为停乳链球菌似马亚种(*Streptococcus dysgalactiae ssp. equisimilis*),但上报结果时因没有完全一致的菌名编码,主观认识错误以及英文菌名的部分相似,导致错报为马链球菌(*Streptococcus equi*)。通过及时更新鉴定仪的软件系统、关注细菌的最新命名与分类法、或上报结果时及时与组织者联系,以望消除此类错误。

3.1.5 质控原因 0505、0601 号样本 β -内酰胺酶试验检测有误、主要与未做质控有关。本室自 2007 年以后就选择成品的 β -内酰胺酶纸片,每次使用前严格做好室内质控,室间质评 β -内酰胺酶试验再未出现差错。0609 号肺炎链球菌头孢曲松 E-test 条因常规工作应用少,忽略了其室内质控的重要性。参加室间质控考核是对检验人员技能、实验室内质量控制情况的一种检验^[2]。本室自参加 ISO15189 实验室认可活动后,确保室内质控的标准化,同时也避免室间质控的同类差错的再次发生。

3.2 少见菌的鉴定体会分享 卫生部室间质评除了常见细菌之外,还涉及一些少见菌的范畴,如人心杆菌、腐蚀艾肯菌、巴斯德菌、戊糖片球菌、溶血隐秘杆菌等。(1)“HACEK”是一组革兰阴性杆菌:嗜血杆菌属(H)、放线杆菌属(A)、人心杆菌属(C)、艾肯菌属(E)、金氏杆菌属(K)。这组微生物的共同特征是易导致心内膜感染,约占全部感染性心内膜炎的 5%~10%,它们是导致人群(非静脉药物滥用者)心内膜炎的常见原因之一。人心杆菌、腐蚀艾肯菌、嗜沫嗜血杆菌在卫生部室间质评中均曾发放过 2 次。鉴定此类细菌时根据其样本来源及

诊断、生长条件、菌落特征、主要生化特性等,结合仪器鉴定手段。本室用的鉴定仪器为 VITEK 2 系统,此类细菌在鉴定板卡的选择上应注意选择 NH 卡片,传统的革兰阴性菌鉴定板卡 GN 卡会导致鉴定结果错误。0708、1312 号样本均为人心杆菌,标本均来源于血液,该菌为革兰阴性杆菌,具有多形性,初代分离需 CO_2 环境,在兔血平板上 24 h 菌落极小,48 h 后才形成圆形、凸起、光滑、边缘整齐的菌落,延长培养时间后部分菌落可长入培养基中,使培养基表面琼脂凹陷。该菌氧化酶、吲哚阳性,触酶阴性。人心杆菌血液肉汤培养后革兰氏染色表现为花环状结构的现象是该菌所特有的^[8],因此血培养若分离出此菌染色时应注意此特征。嗜蚀艾肯菌除了可引起心内膜炎之外,还是拳击伤口、人和动物的咬伤的重要致病菌。该菌为革兰阴性细小杆菌,羊血平板上 48 h 后菌落凹陷,且有明显的漂白粉气味。该菌氧化酶阳性,触酶阴性,吲哚阴性可与人心杆菌区分。(2)戊糖片球菌为革兰阳性球菌,成对或四联状,兔血平板上有草绿色溶血,触酶试验阴性可与微球菌、葡萄球菌区分,对万古霉素天然耐药可与链球菌区分。(3)巴斯德菌为革兰阴性球杆菌或杆菌,其氧化酶、触酶、吲哚和蔗糖均阳性。巴斯德菌是最常见引起伤口和软组织感染的致病菌,在猫、狗抓伤或咬伤的感染中应注意此类细菌的分离。(4)溶血隐秘杆菌是人和家禽的专性寄生菌,能引起咽喉炎或皮肤坏死。该菌为革兰阳性棒状杆菌,培养时间长的菌体为不规则杆状和球状。兔血琼脂上生长缓慢,48 h 后形成较小、凸起、半透明,周围有完全溶血环的菌落。该菌触酶阴性、动力阴性、硝酸盐还原试验阳性。

总之,室间质控的成功除了取决于室内质控的标准化及稳定性之外,还必须严格执行 CLSI 更新标准,才能保证细菌鉴定思路的正确及结果分析的准确性。通过持续参加室间质评活动提高了微生物室对病原菌的培养、分离、鉴定及药敏的综合技术能力。质控回报后应及时分析失控原因,才能帮助实验室不断地总结经验,促进工作人员业务素质能力的提高。

参考文献

- [1] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2004.
- [2] 杨军. 微生物实验室检验质量控制结果分析[J]. 检验医学与临床,2010,7(16):1740-1741.
- [3] 虎淑妍. 微生物实验室 5 年室间质评结果总结分析[J]. 国际检验医学杂志,2013,33(15):1869-1870.
- [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,2006:11.
- [5] CLSI. M100-S14 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 14th informational supplement[S]. Wayne, PA: CLSI,2004.
- [6] 陈民钧. 美国临床实验室标准化委员会 2004 年版有关药敏试验标准化更新要点[J]. 中华检验医学杂志,2005,27(9):608-610.
- [7] CLSI. 2005. M100-S15 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing;15th informational supplement[S]. Wayne, PA:CLSI,2005.
- [8] CLSI. M35-A2 Abbreviated Identification of bacteria and yeast: Approved guideline[S]. 2nd ed. Wayne,PA:CLSI,2008.

(收稿日期:2014-04-16)