

综合分析本次评价试验结果表明, i-CHROMA™ Reader 免疫荧光分析仪测定 CRP 和 hs-CRP 的主要分析性能基本符合质量目标要求, 可用于临床标本检测。

参考文献

- 吕元, 王洁. 如何做好检测系统的性能评估[J]. 检验医学, 2006, 21(6):559.
- European Commission. The certification of a matrix reference material for immunochemical measurement of 14 human serum proteins, CRM470, Report EUR 15243 EN and 16882 EN[R]. Brussels, Belgium: European Communities, 2004.
- NCCLS. EP15-A User demonstration of performance for precision and accuracy; approved guideline[S]. Wayne, PA: NCCLS, 2001.
- CLSI. EP6-A2 Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures[S]. Wayne, PA: CLSI, 2003.

• 检验仪器与试剂评价 •

全自动微生物分析仪检测细菌耐药表型性能评价

黄烈, 张银辉, 聂署萍, 吴润香, 王琼, 刘键, 陆学东[△]

(广东医学院附属深圳市福田人民医院检验医学部, 广东深圳 518033)

摘要:目的 探讨 VITEK 2 Compact 全自动微生物分析系统检测细菌耐药表型的准确性和可靠性。方法 选取经法国生物梅里埃 ATB Expression 细菌鉴定/药敏系统验证的菌株, 且头孢西丁筛选、诱导克林霉素耐药(D-试验)、超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)K-B 纸片法检测均为阳性, 耐药基因经 PCR 检测确认, 其中携带 meca 基因甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌(MRSA)30 株, D-试验阳性、携带 erm 基因金黄色葡萄球菌 31 株[甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)23 株], 以携带 TEM 或 CTX-M 型基因的 ESBLs 阳性大肠埃希菌 30 株作为对照菌株, 采用 VITEK 2 Compact AST-GP67(革兰阳性菌)、AST-GN13(革兰阴性菌)药敏卡进行药敏测定和耐药表型确定, 对比分析测定结果和验证试验结果。结果 30 株头孢西丁筛选阳性金黄色葡萄球菌、31 株诱导克林霉素耐药菌株和 30 株 ESBLs 阳性大肠埃希菌 VITEK 2 Compact 检测均为阳性, 符合率为 100%, 耐药表型在 12 h 内完成检测。结论 VITEK 2 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:大肠埃希菌; 金黄色葡萄球菌; 耐药表型; 微生物分析仪

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.046

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)05-0602-03

药物敏感性测定对于临床治疗具有重要意义^[1]。手工药物敏感性试验操作繁琐, 耗时长(18~24 h), 如需确定细菌耐药表型则耗时更多, 且人为判断结果易造成误差。随着多药耐药菌株的临床分离率日益升高, 准确、快速的药敏测定已十分必要。自动化微生物鉴定/药敏分析仪能满足这一要求^[1-5]。VITEK 2 Compact 是法国生物梅里埃公司 VITEK 系列全自动微生物鉴定/药敏分析仪的最新机型, 可对甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌(MRSA)、超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)和红霉素诱导克林霉素耐药进行快速检测。为评价其对临床常见细菌耐药表型的检测能力, 笔者进行了以下对比试验。

1 材料与方法

1.1 菌株 本院微生物实验室 2004~2008 年分离自临床标本, 并经 PCR 检测证实携带耐药基因的菌株, 其中携带 meca 基因 MRSA 30 株, 携带 erm 基因、红霉素诱导克林霉素耐药(D-试验阳性)金黄色葡萄球菌 31 株[其中甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)23 株], ESBLs 表型确证阳性、携带 TEM 或 CTX-M 型基因大肠埃希菌 30 株^[6-7]。质控株为大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC29213。所有质控菌株最低抑菌浓度(MIC)测定结果均在 VITEK 2 Compact 质控允许范围内。

- CLSI. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples[S]. Wayne, PA: CLSI, 2002.
- 周宓, 潘柏申. C-反应蛋白在临床应用中的进展[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2005, 26(1):56-57.
- 张建平, 赵联营, 罗文强, 等. C 反应蛋白和 D-聚体在外科术后病情监测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(8):873-874.
- 漆明, 蒋庆军, 韦海春, 等. C-反应蛋白测定在新生儿败血症快速诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(2):169-170.
- Tejani NR, Chonmaitree T, Rassin DK, et al. Use of C-reactive protein in differentiation between acute bacterial and viral otitis media[J]. Pediatrics, 2007, 95(8):664-669.
- 杨有业, 张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008:127.

(收稿日期:2011-12-09)

1.2 方法 根据 VITEK 2 Compact 药敏卡说明书的要求进行菌种培养、菌悬液制备和药敏测定。头孢西丁筛选、D-试验、ESBLs 检测采用美国临床和实验室标准化协会(CLSI)2004 年推荐的 K-B 纸片法为参考方法, 并经 PCR 检测确定携带相应耐药基因^[6-7]。

2 结果

2.1 ESBLs 测定 30 株产 ESBLs 菌株经 VITEK 2 Compact 高级专家系统(AES)检测显示耐药表型(CTX-M LIKE 或 EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE)阳性, 与 CLSI ESBLs 纸片确证法及 PCR 检测结果比较, 其 ESBLs 检测灵敏度和特异度均为 100%。结果见表 1。

2.2 MRSA 筛选 30 株 MRSA 经 VITEK 2 Compact AES 检测显示耐药表型均为 MODIFICATION OF PBP-meca, 头孢西丁筛选阳性(23 株 MSSA 均为头孢西丁筛选阴性), 与 CLSI 头孢西丁纸片确证法及 PCR 检测结果比较, 其 MRSA 检测灵敏度和特异度均为 100%。结果见表 1。

2.3 红霉素诱导克林霉素耐药 31 株红霉素耐药而克林霉素敏感、D-试验阳性的金黄色葡萄球菌经 VITEK 2 Compact AES 检测显示耐药表型均为 MLSB INDUCIBLE, 诱导克林霉

素耐药阳性,与 CLSI 纸片确证 D-试验法比较,灵敏度为

100%。结果见表 1。

表 1 91 株耐药菌基因型与 VITEK 2 Compact 检测耐药表型结果分析(n)

耐药基因型	n	VITEK 2 Compact AES 耐药表型结果			
		ESBLs 阳性	头孢西丁筛选阳性	诱导克林霉素耐药阳性	完全一致
大肠埃希菌 TEM 型	2	2	—	—	2
大肠埃希菌 TEM+CTX-M 型	9	9	—	—	9
大肠埃希菌 CTX-M 型	19	19	—	—	19
金黄色葡萄球菌 meCA	30	—	30	—	30
金黄色葡萄球菌 ermD 试验阳性	31	—	—	31	31
合计	91	30	30	31	91

—: 无数据。

2.4 药敏耐药表型报告时间 30 株大肠埃希菌最快在 5 h 内完成药敏测定,9 h 内完成耐药表型检测;61 株金黄色葡萄球菌最快在 8 h 内完成药敏测定,12 h 内完成耐药表型检测。

3 讨 论

VITEK 2 Compact 通过 AES 中的药敏综合分析程序直接筛选 MRSA、ESBLs、红霉素诱导克林霉素耐药 3 种耐药表型,并对临床常见多种耐药表型机制进行评估和推断,提示耐药模式。VITEK 2 Compact 采用比浊法,每间隔 15 min 以 660 nm 波长检测反应孔透光度,每孔在 16 个位置各检测 3 次,通过分析细菌在含和不含抗菌药物培养基中的生长动力学获得药敏试验结果。本试验选用 AST-GP67 药敏卡完成葡萄球菌头孢西丁筛选和红霉素诱导克林霉素耐药机制检测。药敏卡选用头孢西丁为 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的终浓度孔位判断接种细菌头孢西丁筛选试验阳性或阴性。该方法发展自 CLSI 推荐的参考方法,优势在于快速和自动化。药敏卡采用 2 个孔位检测红霉素诱导克林霉素耐药:1 个孔位是 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 克林霉素,另 1 个孔位是(0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 克林霉素 + 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 红霉素)。仪器综合分析检测结果及 AES 后报告最终结果。肠杆菌科细菌 ESBLs 检测采用药敏卡 AST-GN13,仪器自动监测 AST-GN13 药敏卡的 6 个 ESBLs 检测孔[头孢噻肟、(头孢噻肟 + 棒酸)、头孢他啶、(头孢他啶 + 棒酸)、头孢吡肟、(头孢吡肟 + 棒酸)]生长浊度的变化。仪器综合分析检测结果及 AES 匹配表型,报告耐药机制。

王璠等^[8]以 VITEK 2 Compact 检测了 32 株 ESBLs 阳性菌株(16 株 SHV 或 CTX-M 型),证实其灵敏度和特异度达到了 100%,并成功检测了 14 株 MRSA;张军民等^[9]证实 VITEK 2 AES 对 MRSA(18 株 meCA 阳性)、大肠埃希菌(29 株)、肺炎克雷伯菌(12 株)、ESBLs 阳性产酸克雷伯菌(4 株)(TEM 型、SHV 或 CTX-M 型)均能正确检测;林晓晖^[10]报道 VITEK 2 Compact 检测 ESBLs 表型菌株(53 株)的灵敏度和特异度分别为 98.2%、97.9%,低于前两者。

本研究采用的菌株均为经法国生物梅里埃 ATB Expression 细菌鉴定/药敏系统验证的菌株,头孢西丁筛选(MRSA)、D 试验、ESBLs 检测则采用 CLSI 推荐 K-B 纸片法确认为阳性^[6-7]。因此可较好地反映其在临床微生物实验室常规工作中的表现。

在本研究中,VITEK 2 Compact 成功检测出了全部 30 株 MRSA 31 株 D 试验阳性金黄色葡萄球菌,30 株 ESBLs 表型确证阳性大肠埃希菌,与 CLSI 推荐 K-B 纸片法检测结果符合率为 100%。与耐药基因 PCR 检测结果比较,30 株 MRSA 携

带 meCA 耐药基因和 31 株诱导克林霉素耐药(D 试验阳性)携带 erm 耐药基因及 30 株大肠埃希菌携带 TEM 或 CTX-M 型耐药基因,VITEK 2 Compact 检测均为阳性,符合率为 100%。VITEK 2 Compact 对 MRSA、ESBLs 的检测性能较好,其灵敏度和特异度均达到 100%,与王璠等^[8]、张军民等^[9]的报道相符。红霉素诱导克林霉素耐药检测灵敏度也达到 100%。

VITEK 2 Compact 可在 8~12 h 内完成 MRSA 和诱导克林霉素耐药金黄色葡萄球菌耐药表型检测,5~9 h 内完成 ESBLs 阳性大肠埃希菌耐药表型检测。VITEK 2 Compact AES 的功能包括:判断药敏表型与所鉴定菌种是否一致,在不一致时提出修改意见,或建议重新进行鉴定;根据药敏结果分析可能存在的耐药机制,并据此对体外敏感而体内治疗无效的药敏结果进行修订等。AES 自动监测药敏结果中的异常表型,并对临床常见耐药表型进行评估和推断,大大提高了药敏结果作为临床治疗依据的准确性^[4-5,8-10]。

信息时代的到来使临床微生物耐药性鉴定技术迅速发展。细菌药敏结果的自动监测不但提高了工作效率,而且使药敏结果的含金量大大增加。这也是临床微生物检测手段的重大进步。本研究显示,VITEK 2 Compact 传承了 VITEK 系列的优秀性能,能够对致病菌的耐药性及耐药表型进行准确、快速、高重复性的测定。该系统具有操作简便、鉴定/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^[8-13]。

参考文献

- [1] Gamia-Garrote F, Cercenado E, Bouza E. Evaluation of a new system, VITEK 2, for identification and antimicrobial susceptibility testing of enterococci [J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(6): 2108-2111.
- [2] Joyanes P, del Carmen Conejo M, Martínez-Martínez L, et al. Evaluation of the VITEK 2 system for the identification and susceptibility testing of three species of nonfermenting gram-negative rods frequently isolated from clinical samples [J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(9): 3247-3253.
- [3] Ling TK, Tam PC, Liu ZK, et al. Evaluation of VITEK 2 rapid identification and susceptibility testing system against gram-negative clinical isolates [J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(8): 2964-2966.
- [4] Ligozzi M, Bernini C, Bonora MG, et al. Evaluation of the VITEK 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of medically relevant gram-positive cocci [J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(5): 1681-1686.

- [5] Jorgensen JH, Barry AL, Tracjewski MM, et al. Rapid automated antimicrobial susceptibility testing of *Streptococcus pneumoniae* by use of the bioMerieux VITEK 2[J]. *J Chin Microbiol*, 2000, 38(7): 2814-2818.
- [6] 黄烈, 夏成静, 张银辉, 等. 金黄色葡萄球菌常见大环内酯类耐药基因快速检测和分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11): 1299-1301.
- [7] 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.
- [8] 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药敏测定能力的评估[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(9): 1052-1055.
- [9] 张军民, 罗燕萍, 崔岩, 等. 临床评价 VITEK 2 高级专家系统对常见细菌 β -内酰胺酶耐药表型的检测和分析[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(2): 233-235.
- [10] 林晓晖. VITEK 2 Compact AST-GN13 药敏条检测超广谱 β -内酰胺酶试验结果的评价[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(15): 1554-1557.
- [11] 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.
- [12] 王原, 许江燕. VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪对葡萄球菌鉴定能力的评价[J]. 生物医学工程学进展, 2010, 31(4): 206-208.
- [13] 孙燕萍, 彭浩, 凌霞, 等. VITEK 2 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.

(收稿日期: 2011-12-18)

• 检验仪器与试剂评价 •

某型号全自动生化分析仪性能评价

黄余清, 熊兴文, 谢毅

(重庆市奉节县人民医院检验科 404600)

摘要: 目的 对 DXC800 型全自动生化分析仪性能进行评价。方法 选择 200 个标本进行测试速度监测; 选择 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、总蛋白(TP)、血糖(GLU)、血尿素氮(BUN)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、三酰甘油(TG)、胆固醇(CHO)进行精密度、准确度、交叉污染率、线性范围评价。结果 对 200 个标本共计 560 个急诊、1890 个平诊项目进行检测, 综合测试速度约 960 测试/小时; $CV_{\text{批内}}$ 分别为 0.98%、0.83%、1.58%、1.18%、1.55%、1.70%、2.61%、3.27%、1.59%、1.79%; $CV_{\text{批间}}$ 分别为 1.01%、0.88%、1.59%、1.26%、1.86%、1.74%、2.63%、3.60%、2.46%、1.98%; 准确度、交叉污染率、线性范围均符合仪器设计要求。结论 DXC800 型全自动生化分析仪综合测试速度较慢, 但分析精密度、准确度、线性范围、交叉污染率均符合仪器设计要求, 也达到了有关标准规范的要求。

关键词: 全自动生化分析仪; 精密度; 准确度; 线性范围; 性能评价

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.047

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2012)05-0604-02

全自动生化分析仪已广泛应用于临床检验工作, 正确评价仪器性能对提高临床检验工作质量具有重要意义。笔者对 DXC800 型全自动生化分析仪进行了分析速度、精密度、准确度、分析线性、交叉污染率进行了评价性研究, 以期提高分析检测质量, 为临床提供准确可信、及时有效的检测结果。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 贝克曼 DXC800 型全自动生化分析仪及配套检测试剂、校准品及高、中、低值质控品。室间质量评价质控品购自卫生部临床检验中心。

1.2 方法

1.2.1 测试速度监测 随机选择本院体检标本 100 例, 病房标本 100 例, 总测试项目 2450 个, 其中急诊模块 560 个测试, 平诊模块 1890 个测试, 记录每例标本从开始检测到获得最后 1 项测试结果所耗时间, 计算每小时可完成的测试数。

1.2.2 精密度分析 根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)文件 EP5-T2 的要求^[1], 低值血清对精密度要求最高, 故批内精密度($CV_{\text{批内}}$)评价采用每天连续测定低值质控血清 20 次, 共 20 个结果; 连续测定 20 d 进行批间精密度($CV_{\text{批间}}$)评价。数据处理及标准差、 $CV_{\text{批内}}$ 、 $CV_{\text{批间}}$ 计算参照 EP5-T2 描述的方法进行处理。

1.2.3 准确度分析 测定室间质量评价质控品, 参照文献[2]

提出的方法对检测结果与靶值进行比较, 判断测定结果是否在《美国临床实验室改进修正案 88》, 即 CLIA'88 规定的可接受范围内。

1.2.4 交叉污染率分析 参照文献[3]提出的方法选择低、高值质控血清, 连续测高值质控血清 3 次, 结果记录为 H1、H2、H3, 再连续测低值质控血清 3 次, 结果记录分别为 L1、L2、L3; 交叉污染率计算公式为: 交叉污染率 = $(L1 - L3) / (H3 - L3) \times 100\%$; 仪器设计要求交叉污染率小于 1%。

1.2.5 线性范围分析 线性范围评价实验依据 CLSI 文件 EP6-A 进行^[4], 选择浓度范围涵盖仪器可能检测到的最高、最低界限的标本。取高值标本, Na^+ 、 Cl^- 检测按 100%、90%、80%、60%、50% 进行稀释, 三酰甘油(TG)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测按 100%、70%、40%、20%、5% 进行稀释, 总蛋白(TP)、血糖(GLU)、血尿素氮(BUN)、胆固醇(CHO)检测按 100%、80%、50%、30%、10% 进行稀释, 共测定 5 个不同浓度的标本, 每个浓度重复测定 4 次取均值, 将实测值与理论值进行比较, 计算相关回归方程 $Y = aX + b$ 及相关系数 $r^{[5]}$, 要求 a 值为 (1 ± 0.05) , 且 $r \geq 0.975$ 。

2 结果

2.1 测试速度监测 560 个急诊模块测试共用时 1 h 10 min, 2450 个平诊模块测试共用时 5 h, 综合测试速度为 968 测试/小时。