

产生超广谱 β -内酰胺酶 (extended-spectrum β -lactamase, ESBL) 的大肠埃希菌, 而产 ESBL 菌株不仅对第 3 代头孢菌素和氨基糖苷类、喹诺酮类、磺胺类药物呈现交叉耐药^[3], 给临床治疗带来了严峻考验。

本调查结果显示, 本院泌尿系统感染菌种以大肠埃希菌为主, 其次为肠球菌、念珠菌属、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、鲍氏不动杆菌等。这与其他医院的报道具有一定的相似性^[4]。住院患者分离菌株科室分布显示, 以泌尿科分离菌株数最高, 其次为老年科、肾脏科。这与引起尿路感染的诸多因素(如尿路结石、前列腺增生、尿流不畅、肾脏疾病等)具有一定的相关性。另外, 一些侵入性操作(如尿路插管、手术等)也会导致尿路感染^[5]。

药物筛选试验表明, 目前本院分离到的尿路感染的大肠埃希菌耐药性不容乐观, 常规第 2 代头孢菌素类、喹诺酮类以及磺胺类药物耐药率较高, 临床对一些严重尿路感染的治疗可以经验性选择亚胺培南、阿米卡星、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦和头孢西丁, 因为它们的耐药率较低。阿米卡星作为氨基糖苷类抗菌药在本研究中表现出较好的抗菌活性; 哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮/舒巴坦是添加了酶抑制剂的复合制剂, 抗菌活性较好, 临床应根据药物筛选试验结果合理选用。亚胺培南作为肠杆菌科细菌治疗的最后防线, 在本研究中已有耐药菌株的出现。目前在肠杆菌科中所检测的碳青霉烯酶耐药机制主要与肺炎克雷伯菌耐碳青霉烯酶(carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae, KPC)的产生有关^[6-8]。

• 经验交流 •

无偿献血者血液标本酶联免疫吸附测定项目再检结果分析的意义

黄秀琳, 李维, 程颖, 杨虎, 韩继妹, 尹丹, 刘东

(重庆市血液中心检验科, 重庆 400015)

摘要:目的 探讨检测试剂及检测系统稳定性的监测方法, 从而为检测试剂的评估和选择提供依据。方法 收集该中心采集的无偿献血者血液中进行酶联免疫吸附测定(ELISA)检测的再检标本。分析其再检率和反应重复率。结果 同项目初、复检试剂再检率的配对 t 检验显示, HBsAg、抗-HCV 抗体、抗-HIV 抗体和抗-TP 抗体的 P 值分别为 0.009、0.002、0.002 和 0.005, 4 个检测项目的初、复检试剂的再检率差异均有统计学意义。同项目初、复检试剂反应重复率的配对 t 检验显示, HBsAg、抗-HCV 抗体、抗-HIV 抗体和抗-TP 抗体的 P 值分别为 0.041、0.023、0.000 和 0.170。HBsAg 复检试剂首次检测呈阳性的结果可信度较差, 再检反应重复率仅为 17.30%, 抗-HIV 抗体复检试剂和抗-HCV 抗体初、复检试剂首次检测呈灰区的结果可信度极差, 再检反应重复率分别为 12.50%、13.90% 及 14.60%。结论 再检率和反应重复率可以作为试剂和整个检测系统稳定性的评估和持续监测指标。

关键词:酶联免疫吸附测定; 血液; 再检率; 反应重复率

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.09.063

文献标识码:B

文章编号: 1673-4130(2013)09-1177-03

再检标本为采用 2 种试剂进行检测, 所得检测结果不一致或不合格而需要进行双孔复试的标本。乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)和抗人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)抗体检测项目的复检试剂国产化后, 出现了 HBsAg、抗-HIV 抗体检测项目再检标本明显增多, 再检双孔复试结果吻合率明显下降的情况。为评价复检试剂的检测效果, 笔者对再检标本的检测结果进行分析后发现, 再检率和反应重复率反映了试剂和整个检测系统的稳定性, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 6~11 月本中心采集的无偿献血者血液中进行酶联免疫吸附测定(enzyme-linked im-

综上所述, 本院患者尿路感染的病原菌以大肠埃希菌最多, 分离菌株对常规抗菌药物呈现出不同程度的耐药性, 临水上应合理使用抗菌药物, 以减少耐药菌株的产生。

参考文献

- 邱付兰, 付吉春, 钟荣荣. 尿路感染细菌谱的变迁及药敏分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(2): 229-230.
- 吴多荣, 陈垂婉. 845 例尿路感染患者菌群分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(16): 1974-1976.
- 张芳, 李玉敏, 常军霞. 2007~2009 年尿路感染大肠埃希菌的耐药性变化分析[J]. 中国抗菌药物杂志, 2010, 35(10): 793-799.
- 袁园, 戴媛媛, 潘跃晨. 尿路感染细菌分布及大肠埃希菌耐药性分析[J]. 临床输血与检验, 2008, 10(3): 221-223.
- 蔡建军. 尿路感染大肠埃希菌的耐药现状调查分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(9): 1907-1908.
- Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, et al. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(5): 432-438.
- 李岷, 赵苏瑛, 曹慧玲. 肠杆菌科细菌碳青霉烯酶的检测[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(16): 1836-1838.
- 宁明哲, 沈瀚, 印玉炜, 等. 南京地区耐亚胺培南肠杆菌科细菌碳青霉烯酶及整合子调查[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(19): 4181-4182.

(收稿日期: 2012-10-11)

nosorbent assay, ELISA) 检测的再检标本。

1.2 初检试剂与复检试剂 初检试剂: HBsAg 检测试剂购自北京万泰生物药业股份有限公司, 抗-HIV(1+2)抗体为上海科华生物工程股份有限公司或北京金豪制药股份有限公司产品, 抗苍白密螺旋体(treponema pallidum, TP)抗体为北京金豪制药股份有限公司产品; 复检试剂: HBsAg 检测试剂、抗-HIV(1+2)抗体、P24 抗原为上海梅里埃生物工程有限公司产品, 抗丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)抗体为美国强生公司产品, 抗-TP 抗体购自北京万泰生物药业股份有限公司。

1.3 室内质控品 室内质控品为血液筛查四合一质控品(北京康彻思坦生物技术有限公司)。复检质控品: HBsAg 0.2 IU/mL, 抗-HIV 抗体 8 Neu/mL, 抗-HCV 抗体 2 Neu/

mL, 抗-TP 抗体 1 Ncu/mL; 初检质控品: HBsAg 0.2 IU/mL, 抗-HIV 抗体 1 Ncu/mL, 抗-HCV 抗体 1 Ncu/mL, 抗-TP 抗体 1 Ncu/mL。

1.4 主要仪器 标本初、复检分别采用 TECAN RSP200 和 TECAN RSP150 全自动加样器加样, 再检标本采用移液器(经校准合格)手工加样。后处理全部采用 FAME24/20 和 FAME24/30 全自动酶联免疫分析系统。ELISA 检测项目试剂的试验灰区范围(S/CO 值)设为 0.8~<1.0。

1.5 再检率、反应重复率的计算 再检率=再检标本数/检测标本数×100%; 反应重复率=再检标本阳性或灰区标本数/再检标本数×100%。

1.6 统计学处理 采用 Microsoft Office Excel 2003 软件进行统计学分析, 率的比较采用 Excel 配对 t 检验, 以 $\alpha=0.05$ 为

检验水准, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

ELISA 检测项目的再检率见表 1, 同项目初、复检试剂再检率的配对 t 检验显示, HBsAg、抗-HCV 抗体、抗-HIV 抗体和抗-TP 抗体的 P 值分别为 0.009、0.002、0.002 和 0.005, 4 个检测项目的初、复检试剂再检率的差异均有统计学意义。ELISA 检测项目的反应重复率情况见表 2, 同项目初、复检试剂反应重复率的配对 t 检验显示, HBsAg、抗-HCV 抗体、抗-HIV 抗体和抗-TP 抗体的 P 值分别为 0.041、0.023、0.000 和 0.170。HBsAg 复检试剂首次检测呈阳性的结果可信度较差, 再检反应重复率仅为 17.30%, 抗-HIV 抗体复检试剂和抗-HCV 抗体初、复检试剂首次检测呈灰区的结果可信度极差, 再检反应重复率分别为 12.50%、13.90% 及 14.60%。

表 1 ELISA 检测项目初、复检试剂的再检率比较(%)

月份	n	HBsAg		抗-HCV 抗体		抗-HIV 抗体		抗-TP 抗体	
		初检	复检	初检	复检	初检	复检	初检	复检
6月	10 499	0.09	0.35	0.42	0.50	0.12	1.25	0.01	0.14
7月	9 274	0.10	0.38	0.19	0.63	0.15	1.21	0.11	0.23
8月	10 116	0.28	0.75	0.39	0.79	0.07	0.92	0.16	0.23
9月	8 747	0.16	0.41	0.55	0.83	0.10	0.59	0.06	0.17
10月	10 009	0.23	0.25	0.39	0.77	0.08	0.46	0.08	0.11
11月	12 308	0.12	0.31	0.29	0.74	0.08	0.61	0.07	0.26

表 2 ELISA 检测项目初、复检试剂的反应重复率比较(%)

月份	n	HBsAg		抗-HCV 抗体		抗-HIV 抗体		抗-TP 抗体	
		初检	复检	初检	复检	初检	复检	初检	复检
6月	10 499	55.56	5.41	25.00	46.15	92.31	14.50	100.00	60.00
7月	9 274	85.71	22.86	11.11	32.76	78.57	12.50	60.00	80.95
8月	10 116	14.29	18.42	20.51	32.50	87.50	15.05	25.00	69.57
9月	8 747	35.71	16.67	15.38	23.29	77.78	26.92	60.00	80.00
10月	10 009	39.13	28.00	30.77	54.55	100.00	39.13	25.00	100.00
11月	12 308	53.33	31.58	33.33	28.57	100.00	29.87	50.00	78.13

3 讨 论

各试剂的质控品结果均为在控, S/CO 值为 2.0~5.0。无偿献血者血液标本复检试剂的再检率明显高于初检试剂, 可能与复检试剂提高了敏感性而致其特异性降低有关, 与李玉笑等^[1]的报道一致。抗-HCV 抗体检测项目的再检率高于其他项目, 其原因在于, 该检测项目的加样量分别为 10 μ L 和 20 μ L, 为防止加样量不足所致的漏检, 加样器设置为接触稀释液面加样, 1 000 μ L 一次性加样吸头的标本携带率高于手工加样用的 200 μ L 吸头, 从而导致了再检率高, 反应重复率偏低。

对于一个较为稳定的 ELISA 检测系统, 同种 ELISA 试剂的再检率和反应重复率相对稳定。当再检率出现明显波动时, 应对影响 ELISA 检测结果的因素进行逐一分析。再检率显著增高的可能原因:(1)检测过程异常, 如标本前处理异常、加样器加样异常、后处理系统出现故障等;(2)试剂本身问题, 如抗干扰能力降低, 导致试剂稳定性下降。再检率明显下降或趋于

稳定的可能原因:(1)检测过程异常或仪器不稳定;(2)试剂本身问题, 如批号变更。

由于采用 ELISA 试剂筛查抗-HIV 抗体时, 假阳性问题突出^[2], 选择特异性、准确性高的检测试剂可防止感染性标本漏检。在当前血源紧张的情况下, 因假阳性导致血液报废是一个亟待解决的问题^[3]。刘如萱^[4]认为, 不合格检测结果的重合性分析可用来评价、筛选检测试剂。ELISA 检测项目的再检率和再检反应重复率不仅反映了试剂稳定性, 还反映了标本的前处理是否妥当, 工作人员加样操作、加样器的加样误差及 ELISA 后处理系统等环节的稳定性。通过对 ELISA 检测项目再检结果的分析, 查找再检率和反应重复率变化可能的原因, 从而改进检测手段, 提高检测质量, 减少血液不必要的浪费。因此, ELISA 检测项目再检结果分析中的再检率和反应重复率可作为试剂和整个检测系统稳定性的评估和持续监测指标, 为改进检测细节、筛选检测试剂提供依据。

参考文献

- [1] 李玉笑, 汪传喜, 肖韶英, 等. 暂时屏蔽的 5 项血清学指标不合格献血者追踪检测结果分析[J]. 中国输血杂志, 2011, 24(11): 964-965.
- [2] 段学云, 焦东丽, 张柳明. 无偿献血者抗人类免疫缺陷病毒筛查与确认结果的差异分析[J]. 山西医药杂志: 下半月版, 2010, 39(5): 456-457.

• 经验交流 •

- [3] 罗玉蓉, 刘阳, 张绍花, 等. 湘西自治州 27317 名无偿献血者抗-HIV 的检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(11): 880-881.
- [4] 刘如萱. 无偿献血者标本传染指标检测结果重合性分析[J]. 皮肤病与性病, 2010(3): 46-47.

(收稿日期: 2013-01-23)

高原地区常见肠杆菌耐药性的监测

代金宴, 冯东方, 石泉贵

(西藏军区总医院检验科, 西藏拉萨 850007)

摘要: 目的 了解高原地区常见肠杆菌的耐药性以及大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌产超广谱 β -内酰胺酶(ESBL)菌株的耐药率。方法 收集高原地区住院患者临床标本中分离的 293 株肠杆菌菌株, 采用纸片扩散法按美国临床实验室标准化协会(CLSI)2011 年标准进行判读, 质控菌为 ATCC25922 大肠埃希菌, ESBL 阳性株为 ATCC700603 肺炎克雷伯菌。结果 293 株肠杆菌中有 137 株产 ESBL, 其中, 大肠埃希菌 76 株, 肺炎克雷伯菌 21 株。大肠埃希菌的耐药率高于肺炎克雷伯菌, 二者对阿莫西林/克拉维酸、庆大霉素、阿米卡星、复方黄胺甲噁唑耐药率的差异明显, 而对亚胺培南/哌拉西林/三唑巴坦、强力霉素的耐药率无显著差异。ESBL 菌株对头孢他啶的体外敏感率为 14.90%。结论 肠杆菌产 ESBL 菌株以大肠埃希菌多见, 其次为肺炎克雷伯菌。

关键词: 肠杆菌属; β 内酰胺酶类; 微生物敏感性试验; 抗药性, 细菌; 高原

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.09.064

文献标识码:B

文章编号: 1673-4130(2013)09-1179-02

细菌的耐药问题日益严重, 肠杆菌中超广谱 β -内酰胺酶(extended-spectrum β -lactamase, ESBL)、金属酶等使细菌对 β -内酰胺类抗菌药物产生耐药, 给临床治疗带来了不少困难^[1], 尤其在高原环境中氧气稀薄, 辐射强度大, 日照时间长, 加之以藏族为主体的少数民族体质差异, 细菌的变异情况是一个值得研究的课题。由于细菌培养需要时间较长, 经验性用药在细菌性感染的治疗中不可避免, 因此, 耐药性的监测对经验用药有参考意义。为了解高原地区常见肠杆菌科的耐药状况, 笔者对本院近 2 年来分离的 293 株肠杆菌检测结果进行了总结, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2011 年 1 月至 2012 年 11 月从本院(海拔 3 700 m)住院患者临床标本中分离的 293 株肠杆菌菌株(不包含同患者同种标本 10 d 内分离的同一种菌株), 其中, 大肠埃希菌 124 株, 肺炎克雷伯菌 55 株, 阴沟肠杆菌 44 株, 柠檬酸杆菌 25 株, 其他肠杆菌 45 株; 标本类型包括: 痰液 184 株, 尿液 16 株, 血液 13 株, 脓液 9 株, 分泌物 30 株, 胸腔积液/腹水等体液 15 株, 其他标本 26 株。

1.2 主要仪器与试剂 主要仪器: WJ-3-160 CO₂ 细胞培养箱为上海跃进医疗器械有限公司产品, CRYSTALNON-AUTOMATION 荧光判读器为美国 BD 公司产品; 主要试剂为: 培养基、鉴定卡、血琼脂平板、麦康凯琼脂平板等。

1.3 药敏纸片 哌拉西林、哌拉西林/三唑巴坦、阿莫西林/克拉维酸、头孢呋辛、头孢噻肟、头孢曲松、头孢他啶、头孢匹肟、亚胺培南、庆大霉素、阿米卡星、氧氟沙星药敏纸片均为杭州天和微生物试剂有限公司产品。

1.4 菌种分离鉴定 按常规方法将分离菌株接种到不同的培养基中, 用 WJ-3-160CO₂ 细胞培养箱培养, 报告阳性时转种血琼脂平板, 分离纯菌, 用采用 BBL Crystal 微生物鉴定仪(美国 BD 公司)进行鉴定。

1.5 微生物敏感性试验 用纸片扩散法按美国临床实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)2011 年标准进行判读, 质控菌为 ATCC25922 大肠埃希菌, ESBL 阳性株为 ATCC700603 肺炎克雷伯菌。

2 结 果

293 株肠杆菌中有 137 株产 ESBL, 其中, 大肠埃希菌 76 株, 肺炎克雷伯菌 21 株。大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌的耐药率见表 1。大肠埃希菌的耐药率高于肺炎克雷伯菌, 二者对阿莫西林/克拉维酸、庆大霉素、阿米卡星、复方黄胺甲噁唑耐药率的差异明显, 而对亚胺培南/哌拉西林/三唑巴坦的耐药率无显著差异。本检测中, ESBL 菌株对头孢他啶的体外敏感率为 14.90%。

表 1 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的耐药率

药敏纸片	大肠埃希菌			肺炎克雷伯菌		
	n	耐药株 (n)	耐药率 (%)	n	耐药株 (n)	耐药率 (%)
氨苄西林	124	124	100.00	35	35	100.00
哌拉西林	124	124	100.00	54	54	100.00
阿莫西林/克拉维酸	110	36	32.70	48	24	50.00
氨苄西林/舒巴坦	124	34	27.40	50	23	46.20
哌拉西林/他唑巴坦	124	29	23.30	54	13	24.00
头孢哌酮	112	112	100.00	23	23	100.00
头孢呋辛	124	124	100.00	51	51	100.00
头孢曲松	124	124	100.00	51	51	100.00
头孢他啶	124	124	100.00	51	51	100.00
头孢噻肟	124	124	100.00	51	51	100.00
头孢吡肟	124	124	100.00	51	51	100.00