

考物质检测,首先使用定值参考物1进行检测系统的校准,之后分别检测定值参考物1和不同批号的定值参考物2,每个项目每批校准品重复测定5次,取平均值与校准品的定值进行比较,计算绝对偏倚与相对偏倚。没有定值物质可采用不同批号校准品,或室间质评质控品,由于本实验室没有定值参考物质,故采用卫生部室间质评所发放的质控标本进行验证试验;另外一种可以采用室间质评EQA数据进行统计,算出本实验室的正确度,根据最近的EQA上报数据(至少连续2次的),不少于10个数据进行统计,计算偏倚,偏倚 $<1/2$ 卫生部临床检验中心室间质评允许范围。由于方法学刚刚更改,故没有连续的采用该方法得到的室间质评数据,故不能采用此种方法计算正确度。检测结果的保证需要良好的精密度<sup>[6]</sup>,因此我们平时工作中对精密度的质量要求是,批内精密度 $<1/4TEa$ ,日间精密度 $<1/3TEa$ ,并定期进行重新验证评审<sup>[7]</sup>。本次实验中,四个酶类项目的批内精密度以及日间精密度均满足性能要求。线性范围验证判定标准:若 $a$ 在0.97~1.03范围内, $R^2>0.95$ ,可直接判断线性范围在实验已涉及浓度;若 $a$ 不在0.97~1.03范围内, $b$ 较大,舍去高值或低值组数据,另作回归统计。直至缩小的分析范围其回归方程中 $a$ 和 $b$ 的判断符合要求,该范围为线性范围。线性试验采用的高值标本为厂家提供的高值物质或者病人标本。线性试验有助于评价偏倚的大小(但非线性并不是偏倚的全部),偏倚是测量误差的一部分。在临床工作中我们经常会遇到一些高值标本结果超出了仪器检测范围,对于此类标本通常我们会将标本稀释到仪器检测的线性范围内进行测定<sup>[8]</sup>,为了保证稀释后结果的可靠性,故需进行可报告范围验证,在进行验证实验选取标本时,应挑选在仪器线性范围内高值标本,保证验证结果准确可靠。本文四个酶类项目最大进行了15倍稀释,因结果已经满足临床需求,故没有进行更大倍数的稀释。方法学比对评价的目的在于确定两种方法得到的相

应结果是否在实验统计学的范围内。本实验中IFCC法检测的数据与原JSCC法检测的数据回归比对结果显示,一致性很好,新的检测方法有效性得到验证。

综上所述,对仪器等其它检测条件未更改的情况下,对四个酶类项目方法学变更进行的性能验证结果显示,新的检测方法与厂家规定的分析性能一致,满足临床检测要求。

#### 参考文献:

- [1] NCCLS document EP15-A. User demonstration of performance for precision and accuracy. Approved Guideline[S]. Wayne: PA, NCCLS EP15-A, 2001: 1-15.
- [2] NCCLS document EP15-A. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices[S]. Wayne: PA, NCCLS EP6-A, 1999: 1-28.
- [3] NCCLS document EP15-A. Evaluation of the linearity of quantitative analytical methods[S]. Wayne: PA, NCCLS EP6-A2, 2003: 1-47.
- [4] 张 葵. 定量检测系统方法学性能验证的基本方法[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(5): 321-323.  
Zhang K. The basic method of quantitative detection system performance validation[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory, 2009, 27(5): 321-323.
- [6] 安 萍, 蔡惠芸, 张 艳, 等. 酶联免疫吸附试验操作中关键环节及质控方法研究[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2010, 4(10): 95-98.  
An P, Cai HY, Zhang Y, et al. Study on the quality control of operating problems in ELISA[J]. Chinese Journal of Clinicians (Electronic Version), 2010, 4(10): 95-98.
- [7] 毕 波, 吕 元. 定量检测方法学性能验证的系统设计[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(12): 1332-1335.  
Bi Bo, Lu Y. Evaluation on the acceptability of method performance validation for quantitative tests[J]. Chin J Lab Med, 2007, 30(12): 1332-1335.
- [8] Kroll MH, Praestgaard J, Michaliszyn E, et al. Evaluation of the extent of nonlinearity in reportable range studies[J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(9): 1331-1338.

收稿日期: 2014-08-13

修回日期: 2015-01-04

## 黏液型铜绿假单胞菌感染实验鉴定和病例回顾分析\*

张保荣<sup>1</sup>, 臧志梅<sup>2</sup> (1. 宿迁市第一人民医院检验学部, 江苏宿迁 223800;

2. 邳州市人民医院检验科, 江苏邳州 221300)

**摘要:**目的 探讨黏液型铜绿假单胞菌的临床分布特点及对常用抗菌药物敏感度。方法 对医院2013年分离的53株非重复性黏液型铜绿假单胞菌感染病例进行回顾性分析,通过查阅病历获得患者一般资料、疾病情况、抗生素使用等信息,并对菌株进行药敏分析。结果 所有菌株均分离自痰标本,患者以老年人为主,平均年龄 $66.7\pm 9.1$ 岁。50例患者有呼吸道感染的慢性病史;所有患者住院期间均使用了2种或2种以上抗菌药物,联合使用过大环内酯类的仅11例。53株菌

\* 作者简介:张保荣(1972-),女,本科,副主任技师,主要研究方向:临床微生物学,Tel:13852233133,E-mail:2029138059@qq.com。

对临床常用的抗菌药物均表现了较高的体外敏感性,除替卡西林/克拉维酸(64.2%)、头孢吡肟(60.4%)以外,其它药物敏感率均高于70%。**结论** 黏液型铜绿假单胞菌的易感人群为老年有呼吸道感染慢性病史的患者,体外培养对抗菌药物敏感性较高,临床上多采用联合抗菌药物治疗,大环内酯类药物使用率较低。

**关键词:**黏液型铜绿假单胞菌;呼吸道感染;药敏分析

中图分类号:R378.991;R446.5 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2015)02-114-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2015.02.035

## Experimental Identification of Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* Strains Causing Infections and Cases Review

ZHANG Bao-rong<sup>1</sup>, ZANG Zhi-mei<sup>2</sup> (1. Department of Laboratory Medicine, the Suqian First People's Hospital, Jiangsu Suqian 223800, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Pizhou City People's Hospital, Jiangsu Pizhou 221300, China)

**Abstract: Objective** To investigate the clinical distribution and antibacterial drug susceptibility of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* (mPa). **Methods** By looking at the patients' general information, disease information and the information of antimicrobial usage, cases of 53 strains of non-repetitive mucoid *Pseudomonas aeruginosa* were collected from hospitalized patients from Jan 2013 to Dec 2013, and drug susceptibility were analyzed. **Results** A total of 53 strains of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* were isolated from sputum specimen, mainly elderly patients with a mean age of  $66.7 \pm 9.1$  years old; 50 patients had chronic history of respiratory infections, all patients were used during the hospital stay of two or more kinds of antibiotics, used jointly only 11 cases of macrolides. All strains to commonly used antimicrobial agents showed a higher sensitivity in vitro, in addition to ticarcillin/clavulanate (64.2%), cefepime (60.4%), other drug sensitivity was higher than 70%. **Conclusion** Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* was susceptible to chronic respiratory infection history of the elderly, its antimicrobial susceptibility was high in vitro, the use of antimicrobial agents in clinical was combined therapy compared, but utilization rate of macrolides drugs was low.

**Keywords:** mucoid *pseudomonas aeruginosa*; respiratory infections; sensitivity analysis

铜绿假单胞菌(*pseudomonas aeruginosa*, Pa)是最常见的临床分离菌之一,可引起年老体弱、接受侵袭性操作、抵抗力下降等人群的呼吸道、泌尿道、切口、血流感染等,其临床表型分为黏液型及非黏液型。黏液型铜绿假单胞菌(mucoid *pseudomonas aeruginosa*, mPa)与非黏液型在生长特点、致病性及药物敏感方面均存在差异。为了探讨mPa临床分布特点及对常用抗菌药物的敏感性,现对我院2013年1月~12月分离的53株mPa进行回顾性分析,从而为临床诊疗提供帮助。

### 1 材料与方法

1.1 研究对象 临床微生物室2013年分离的mPa菌株,剔除同一病例同一部位所获重复菌株。

1.2 试剂和仪器 法国梅里埃公司Vitek 2 Compact细菌鉴定仪及GN鉴定卡,英国OXOID公司MH肉汤、MH琼脂及药敏纸片,质控菌株铜绿假单胞菌ATCC27853,大肠埃希菌ATCC25922,金黄色葡萄球菌ATCC25923均购自江苏省临床检验中心。

### 1.3 方法

1.3.1 菌株鉴定及药敏试验:按照《全国临床检验操作规程》(第3版)进行细菌分离培养,mPa生长缓慢,35℃培养24 h菌落小,48 h在血平板上形成大而融合、透明或半透明的黏液状菌落,无典型Pa的色素、金属光泽及气味,Vitek 2鉴定仪进行细菌鉴定。药敏试验采用纸片琼脂扩散法(K-B法),以接种环刮取菌落接种于MH肉汤,35℃孵育4~6 h,调节浊度至0.5麦氏单位,无菌棉拭子蘸取菌液接种MH平板及贴药敏纸片,35℃孵育48 h判读结果。结果判读按照美国临床实验室标准化研究所(CLSI)2011

年版标准。

1.3.2 统计:查阅病历,对mPa感染病例从以下方面进行统计分析:标本分布、患者科室分布、患者性别及年龄、疾病信息、抗菌药物使用、疾病转归。

1.4 统计学分析 药敏数据分析采用Whonet5.6软件分析,统计学处理采用SPSS16.0软件,计数资料采用 $\chi^2$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 2 结果

2.1 病例资料 53株mPa均来自住院患者痰标本,年龄45岁~86岁,平均年龄 $66.7 \pm 9.1$ 岁,患者的一般资料见表1。其中53例患者中,50例有慢性呼吸道感染病史,3例为急性呼吸道感染。抗菌药物中使用频率最高的前3位分别是头孢他啶(38例)、左旋氧氟沙星(32例)、头孢哌酮/舒巴坦钠(28例),联合使用过大环内酯类的有11例,占20.8%。联合应用大环内酯类的病例中,病情好转10例,治疗好转率90.9%(10/11),未应用的病例中治疗好转率83.3%(35/42),经统计学分析,差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.39, P > 0.05$ )。

3 讨论 黏液型铜绿假单胞菌(mPa)临床上时有分离,24 h形成的菌落较小,容易被忽视。48 h平板上可见融合、无色、黏液状菌落,万古巧克力及麦康凯平板上生长好于血平板,因此所有原始平板均应放满48 h,以防漏检。由于mPa生长缓慢,在MicroScan及Vitek等微量肉汤稀释法药敏试验中,往往生长不能达到一定浊度,导致机器误判或不能判读。孙敬等<sup>[1]</sup>进行纸片扩散法检测mPa药敏在不同时间段判读的结果变化,发现24 h抑菌环直径与48.72 h后的结果有显著性差异( $P < 0.05$ ),48.72 h的结果与转种

后、黏液消失的 Pa 24, 48, 72 h 的结果无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。由此, 我们纸片琼脂扩散法结果在 48 h 进行判读。

表 1 53 例黏液型铜绿假单胞菌患者的一般资料 ( $n=53$ )

| 临床信息             | 比例[%]    |
|------------------|----------|
| 性别 男             | 20(37.7) |
| 女                | 33(62.3) |
| 科室分布 呼吸病区        | 51(96.2) |
| 重症监护病区           | 1(1.9)   |
| 神经病区             | 1(1.9)   |
| 疾病信息 慢性阻塞性肺病急性加重 | 21(39.6) |
| 慢性支气管急性发作        | 16(30.2) |
| 支气管扩张伴感染         | 11(20.8) |
| 支气管肺炎            | 3(5.7)   |
| 类风湿关节炎继发间质性肺病伴感染 | 1(1.9)   |
| 舍格伦综合征继发间质性肺病伴感染 | 1(1.9)   |
| 抗菌药物使用种类 2 种     | 27(50.9) |
| 3 种              | 16(30.2) |
| 4 种              | 7(13.2)  |
| 5 种              | 3(5.7)   |
| 疾病转归 好转          | 45(84.9) |
| 无效               | 4(7.5)   |
| 自动出院             | 4(7.5)   |

## 2.2 53 株铜绿假单胞菌药敏试验结果 见表 2。

表 2 53 株黏液型铜绿假单胞菌对 12 种抗菌药物药敏试验结果 (%)

| 抗菌药物      | 耐药率 (%) | 中介率 (%) | 敏感率 (%) |
|-----------|---------|---------|---------|
| 妥布霉素      | 1.9     | 1.9     | 96.2    |
| 阿米卡星      | 3.8     | 13.2    | 83      |
| 庆大霉素      | 7.5     | 15.1    | 77.4    |
| 美洛培南      | 7.5     | 5.7     | 86.8    |
| 哌拉西林/他唑巴坦 | 9.4     | 9.4     | 81.1    |
| 替卡西林/克拉维酸 | 11.3    | 24.5    | 64.2    |
| 头孢他啶      | 13.2    | 11.3    | 75.5    |
| 亚胺培南      | 15.1    | 7.5     | 77.4    |
| 左旋氧氟沙星    | 15.1    | 11.3    | 73.6    |
| 头孢吡肟      | 15.1    | 24.5    | 60.4    |
| 哌拉西林      | 15.1    | 11.3    | 73.6    |
| 氨基曲南      | 17      | 3.8     | 79.2    |

mPa 黏附于黏膜表面, 在菌体周围产生大量黏液性物质—多糖藻酸盐, 形成保护性生物被膜, 可有效抵抗吞噬细胞的吞噬及抗菌药物的作用, 使细菌持续定植, 造成临床治疗困难<sup>[2]</sup>。国外文献表明, mPa 最常分离自肺囊性纤维化患者, 以及其他支气管炎、阻塞性肺病、尿道感染的慢性患者<sup>[3]</sup>。肺囊性纤维化是一种遗传性的先天性疾病, 我国极少见。本次调查中, 大部分 mPa 患者为老年人, 菌株全部来源于痰标本, 53 例病例中 50 例有呼吸道感染的慢性病史, 占 94.3%。由此看出本地区 mPa 的高发人群应为有慢性呼吸道炎症的老年患者, 且多伴有呼吸道基础疾病如阻塞性肺病、支气管扩张等。mPa 在自然环境中较少存在, 据文献报道<sup>[4]</sup>, 患者感染 Pa 后经过一段时间, 少则 1 个月多到 5 年, 会发生向黏液型转变。Martha 等<sup>[5]</sup>研究发现 Pa

黏液型转变的因素包括 Pa 引起的慢性呼吸道感染、一秒用力呼气容积 (FEV) 占预测值的百分比 (FEV%) 降低 10%、血浆高纤维蛋白原水平、支气管扩张药及抗生素的使用等。有些因素我们从病例上无从获知, 但从本次调查中可看出发生感染时抗菌药物被大量使用, 支气管扩张药在呼吸道感染时经常被用于改善症状, 它们可能是促进 Pa 黏液型转变的因素之一或仅是伴随因素, 需要进一步的探讨。

通过对临床常用的 12 种抗菌药物药敏试验分析, mPa 均表现了较高的体外敏感性, 除替卡西林/克拉维酸、头孢吡肟以外, 其他药物敏感率均高于 70%, 表明这些药物均可用于 mPa 的经验性治疗。但在治疗 mPa 引起的感染时应考虑黏液层的存在影响了抗菌药物的作用效果, 大环内酯类药物可以抑制多糖藻酸盐的形成<sup>[6]</sup>, 因此普遍观点认为, 治疗 mPa 感染时应根据药敏试验结果选择敏感药物联合一种大环内酯类药物使用。在 53 例患者中仅 11 份联合使用了大环内酯类药物治疗, 我们将联合使用了大环内酯类药物治疗的病例好转率与未使用者好转率进行了比较, 结果两组之间差异无统计学意义。由于病例数少, 且本资料属回顾性分析而非随机对照研究, 不能说明好转率与大环内酯类药物使用存在相关性, 但可能是某些病例治疗效果不佳原因之一。当 mPa 出现时, 临床微生物实验室应在报告单上加以醒目标示, 提醒临床医生注意抗菌药物的合理应用。

## 参考文献:

- [1] 孙敬, 余理智, 邓林强, 等. 黏液型铜绿假单胞菌药敏试验不同时间段结果分析 [J]. 江西医学检验, 2003, 21(6): 440-442.  
Sun J, Yu LZ, Deng LQ, et al. An analysis of the results of antimicrobial susceptibility testing at different time for mucoid *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Jiangxi Medical Laboratory Sciences, 2003, 21(6): 440-442.
- [2] 高巧营. 黏液型铜绿假单胞菌生物膜形成的研究进展 [J]. 中国感染控制杂志, 2011, 10(2): 158-160.  
Gao QY. Research advances on biofilm formation of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* [J]. China J Infect Control, 2011, 10(2): 158-160.
- [3] Govan JR, Deretic V. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* [J]. Microbiol Rev, 1996, 60(3): 539-574.
- [4] Jelsbak L, Johansen HK, Frost AL, et al. Molecular epidemiology and dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* populations in lungs of cystic fibrosis patients [J]. Infect Immun, 2007, 75(5): 2214-2224.
- [5] Martha B, Croisier D, Fanton A, et al. Factors associated with mucoid transition of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients [J]. Clinical Microbiology and Infection, 2010, 16(6): 617-623.
- [6] Nagino K, Kobayashi H. Influence of macrolides on mucoid alginate biosynthetic enzyme from *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Clinical Microbiology and Infection, 1997, 3(4): 432-439.

收稿日期: 2015-01-13

修回日期: 2015-02-05