

梅里埃 API 20NE 生化鉴定系统 在布鲁氏菌鉴定中的局限性*

苍金荣, 张 华, 王 华 (陕西省人民医院检验科, 西安 710068)

摘要:目的 对梅里埃 API 20NE 生化鉴定系统在布鲁氏菌鉴定中出现的错误结果进行总结分析,并探索相应的改正措施,提醒微生物实验室工作人员不能过分依赖生化鉴定结果。**方法** 对2011年1月~2016年3月陕西省人民医院门诊及住院病人血液、脓液、关节腔积液分离的33株氧化酶阳性、泥沙样、疑似布鲁氏菌的G⁻细小杆菌,采用梅里埃 API 20NE 快速生化鉴定板条进行鉴定,对得到的错误结果进行分析,并结合布鲁氏菌的生物学特征进行补充试验,以得到正确的鉴定结果。**结果** API 20NE 生化鉴定板条,误将上述33株菌,2株鉴定为人苍白杆菌,其余31株均鉴定为苯丙酮酸嗜冷杆菌,且ID值=91.5%,T值=1。对这种看似可信度很高的鉴定结果,结合菌落细小、48h后产生橘红色色素、菌体为G⁻泥沙样、快速脲酶试验阳性特征,和病人临床症状、接触史及血清学鉴定也证实,上述33株菌均为布鲁氏菌。**结论** API 20NE 生化鉴定系统,不适合对布鲁氏菌进行鉴定,对疑似错误的鉴定结果,要结合菌落、菌体特点及其它生物学特征和病人的临床表现、接触史及一些辅助实验来确定细菌,过分依赖生化鉴定,会得出错误结果。另外,商家也应补充和完善该鉴定系统,进一步提高API快速鉴定系统的临床应用价值。

关键词: API 20NE 生化鉴定系统;布鲁氏菌;苯丙酮酸嗜冷杆菌;局限性

中图分类号: R378.5;R446.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2016)04-157-02

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.04.046

API 是 Analytic Products INC 的简写,它是法国生物-梅里埃公司生产的细菌数值分类分析鉴定系统。API 鉴定系统能同时测定 20 项生化指标,是用作快速鉴定细菌的长方形卡片;该系统品种齐全,包括范围广,鉴定能力强,目前适用于 API 鉴定系统的细菌有 700 多种;该系统采用成套生化编码鉴定方法,使细菌鉴定简易化、微量化和快速化,因而在实验室中被广泛使用,但在实际工作中过分依赖生化鉴定有时会得出错误的鉴定结果。本文就 API 20NE 对布鲁氏菌的错误鉴定进行总结分析,并提出相应解决措施,以引起同行注意。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 API 20NE 快速生化鉴定板条、API 结果分析软件系统均由法国生物梅里埃公司提供。

1.1.2 菌株来源:33 株实验菌株均分离自 2011 年 1 月~2016 年 3 月陕西省人民医院门诊及住院患者的血液、脓液、关节腔积液等标本。

1.1.3 质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922;铜绿假单胞菌 ATCC27853;金黄色葡萄球菌 ATCC25923 均购自卫生部临床检验中心。

1.1.4 培养基:哥伦比亚血琼脂干粉、麦康凯干粉,由奥赛公司提供。

1.2 方法

1.2.1 菌株的分离和鉴定:按常规方法分离菌株,采用 API 20NE 细菌生化鉴定板条进行鉴定,实验操作均严格按照操作规程进行。

1.2.2 对疑似错误的鉴定结果结合菌落、菌体特点,病人的临床表现、接触史及一些辅助实验诊断来确定细菌。

2 结果 对 33 株分离自血液、脓液、关节腔积液,氧化酶阳性的 G⁻细小杆菌,采用 API 20NE 快速生化鉴定系统进行鉴定,2 株鉴定为人苍白杆菌,其余 31 株均鉴定为苯丙酮酸嗜冷杆菌(鉴定编码为 1200004, ID 值=91.5%, T 值=1),对这种看似可信度很高的鉴定结果,但结合菌落细小、48 h 后产生橘红色色素、菌体为 G⁻泥沙样细小杆菌、快速脲酶试验阳性特征和病人临床症状、接触史及血清学鉴定证实,上述 33 株菌均为布鲁氏菌,也就是说,API 20NE 快速生化鉴定系统对这 33 株布鲁氏菌的鉴定错误率为 100%。

3 讨论 API 生化快速鉴定系统已成为微生物室鉴定细菌的主要工具之一,但是该系统对于某些菌种鉴定存在一定的局限性。布鲁氏菌是医院常见的病原菌之一,由于它是氧化酶阳性 G⁻杆菌,所以,实验室工作人员特别是经验不足的工作人员,往往会按常规氧化酶阳性 G⁻杆菌,采用 API 20NE 板条进行鉴定,由于 20NE 在编码设计中没有布鲁氏菌的编码,而布鲁氏菌的生化反应与苯丙酮酸嗜冷杆菌在 20NE 中的编码极为相似,因此,若用 API 20NE 鉴定布鲁氏菌会得出错误的结果;另外,笔者还发现,鲍曼不动杆菌的生化鉴定编码为 0204042,但由于个别板条质量问题或某种原因,会出现生化反应编码为 5215773 的肺炎克雷伯

* 作者简介:苍金荣(1962-),女,副主任检验师,从事微生物检验及研究。

通讯作者:张 华(1966-),女,大专,主管检验师。

菌的鉴定结果,且 ID=97.6%,T=1。但比较一下生化反应,鲍曼不动杆菌出现的阳性生化反应肺炎克雷伯菌均为阳性,其他的阳性结果可能是板条在生产时被肺炎克雷伯菌污染所致;洋葱伯克霍尔德菌氧化酶常为阴性反应,用 20E 生化板条会得出浅黄假单胞菌的错误结果,但菌落菌体与浅黄假单胞菌不符而与洋葱伯克霍尔德菌酷似,改用 API20NE 重新鉴定才能得到正确的结果。在实验室工作中我们还发现 API 20E 板条本应阳性的 URE 实验结果常为弱阳性或阴性,可误将肺炎克雷伯菌误鉴定为土生拉沃尔菌;还可出现 ADH 假阳性误将鲍曼不动杆菌鉴定为浅黄假单胞菌。另

外,API Strep 往往将肺炎链球菌误鉴定为浅绿气球菌。

以上结果说明,AIP 快速生化鉴定系统在细菌鉴定中确实存在一定的局限性,建议设计能否在 AIP 20NE 编码中将布鲁氏菌列入;进一步提高板条质量从而提高该系统的应用价值。另外,实验室操作人员不能机械地选择鉴定板条,更不能过分依赖鉴定结果,一定要结合菌落和菌体特点、病人临床表现、接触史、血清学实验等综合判定,必要时应重新选择或更换板条鉴定。

收稿日期:2016-06-05

修回日期:2016-07-03

(上接 156 页)

表 1 使用 FMEA 和 σ 水平的三个实验室试验的风险评估由此产生的风险优先指数(RPN)也就是 6σ 的缺陷率(每百万结果的缺陷,DPM)

项目	发生概率错	严重度	QC 规则	检测度 (DET=1-Ped)	DPM	σ 短期尺度
葡萄糖	0.86	0.40	Westgard 规则, N=4	0.08	275	4.9
总胆固醇	0.033 9	0.60	$1_{2.5\sigma}$, N=4	0.01	204	5
GGT	0.000 01	0.30	$1_{3.5\sigma}$, N=1	0.10	0.3	6

将发生概率、严重度和检测度相乘,获得典型的风险优先指数(RPN)。可将其转换为与 6σ 相同的 $1\sim 1\ 000\ 000$ 尺度,因此,不仅要估计 RPN,还要估计 DPM。也就是说,估计剩余风险也是过程的 σ 度量,可快速评估这些方法,观察其剩余风险是否可接受。

7 小结 如果实验室选择采用 EP23A 实施风险管理技术,使用创建的、客观的、数据驱动的技术有助于启动该过程。事实上,无论实验室是否称之为风险管理,无论 EP23A 是否作为指定的实验室实施指南,这些技术的使用都是有价值的。根据确立的工具和技术有助于风险管理在实验室 QC 打下更好的基础。

参考文献:

[1] CLSI EP23-A. Laboratory quality control based on risk management; approved guideline[S]. Wayne: PA, Clinical and Laboratory Standards Institute EP23-A, 2011.

[2] Nichols JH. Laboratory quality control based on risk management[J]. Ann Saudi Med, 2011, 31(3): 223-228.

[3] CLIA Individualized Quality Control Plan(IQCP) benefits[EB/OL]. <http://www.cms.gov/Regulations-and-Guidance/Legislation/CLIA/Downloads/IQCPbenefits.pdf>, 2012.

[4] 王治国. 临床检验 6σ 质量控制设计与控制[M]. 北京:人民卫生出版社,2012.
Wang ZG. Six sigma quality design and control in clinical laboratory [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2012.

[5] Nevalainen D, Berte L, Kraft C, et al. Evaluating laboratory performance on quality indicators with the Six Sigma scale[J]. Arch Pathol Lab Med, 2000, 124(4):

516-519.

[6] Llopis MA, Trujillo G, Llovet MI, et al. Quality Indicators and specifications for key analytical-extraanalytical processes in the clinical laboratory. Five years' experience using the Six Sigma concept[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(3): 463-470.

[7] 康凤凤, 王治国. 临床实验室质量控制中的风险管理[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(7): 539-542.
Kang FF, Wang ZG. Risk management for quality control in clinical laboratory [J]. Clin J Clin Lab Sci, 2012, 30(7): 539-542.

[8] 费阳, 王薇, 王治国. 临床检验室内质量控制规则设计新工具-Westgard 西格玛规则[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(1): 149-152.
Fei Y, Wang W, Wang ZG. A new internal quality control rules design tool in clinical laboratory- Westgard sigma rules[J]. J Mod Lab Med, 2015, 30(1): 149-152.

[9] Westgard JO, Carey RN, Wold S. Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation[J]. Clin Chem, 1974, 20(7): 825-833.

[10] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2014.
Wang ZG. Quality control technology in clinical laboratory[M]. 3th Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2014.

[11] 肖亚玲, 王薇, 王治国. 心肌损伤标志物四项检测性能的西格玛水平分析[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(1): 38-41.
Xiao YL, Wang W, Wang ZG. Performance analysis of four myocardial damage markers testing with sigma level[J]. J Mod Lab Med, 2014, 29(1): 38-41.

[12] Westgard SA, Salcedo G. A Six Sigma risk analysis example: defining QC frequency with FMEA. July 2012 [EB/OL]. <http://www.westgard.com/endo-clab-risk.htm>. Accessed September, 2012.

收稿日期:2015-06-09

修回日期:2016-05-27