

VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪对黏液型 和非黏液型铜绿假单胞菌药敏检测评价*

李瑜珍¹, 曾学辉¹, 莫莉², 蓝志明¹, 丁丽娜¹

(1. 深圳市中医院检验科, 广东深圳 518034;

2. 深圳市福田区中医院检验科, 广东深圳 518033)

摘要:目的 评价 VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪对黏液型和非黏液型铜绿假单胞菌药敏检测结果的准确性。

方法 对某院分离的 29 株黏液型铜绿假单胞菌和 30 株非黏液型铜绿假单胞菌同时以 VITEK2 Compact 分析仪法及琼脂稀释法进行药物敏感性试验, 以琼脂稀释法为参考方法进行统计学分析。**结果** 黏液型铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 分析仪法药敏结果的标准符合率(CA)为 84.69%, 严重错误率(VME)为 3.20%, 重大错误率(ME)为 2.13%, 一般错误率(MIE)为 9.96%; 非黏液型铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 分析仪法药敏结果的标准符合率(CA)为 94.33%, 严重错误率(VME)为 0.67%, 重大错误率(ME)为 1.67%, 一般错误率(MIE)为 3.33%。两种铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 分析仪法药敏结果的 VME, MIE, CA 相比较, 差异有统计学意义($\chi^2=5.02, 10.44, 14.55, P<0.05$)。黏液型铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 分析仪法药敏结果的 CA 比非黏液型铜绿假单胞菌低, 且 $<90\%$, 而 VME, MIE 均比非黏液型铜绿假单胞菌高。**结论** VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪对非黏液型铜绿假单胞菌药敏检测结果准确可靠, 对黏液型铜绿假单胞菌药敏检测结果准确性较低, 黏液型铜绿假单胞菌建议用其它方法做药物敏感性试验。

关键词:铜绿假单胞菌; 药敏试验; 准确性; VITEK2 Compact

中图分类号: R446.5 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2016)04-121-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.04.034

Evaluation of Drug Susceptibility Test to Mucoid *Pseudomonas Aeruginosa* and Non-Mucoid *Pseudomonas Aeruginosa* with VITEK2 Compact Automatic Microbiology Analyzer

LI Yu-zhen¹, ZENG Xue-hui¹, Mo-li², LAN Zhi-ming¹, DING Li-na¹

(1. Department of Laboratory Medicine, Shenzhen TCM Hospital,

Guangdong Shenzhen 518034, China; 2. Department of Laboratory Medicine,
Shenzhen Futian District TCM Hospital, Guangdong Shenzhen 518033, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the accuracy of VITEK 2 Compact automatic microbiology analyzer of antimicrobial susceptibility test for mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. **Methods** There were 29 strains mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and 30 strains non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* collected from a hospital. The antimicrobial susceptibility test were detected by AGAR-dilution method and VITEK2 Compact method respectively, and the AGAR-dilution method was adopted as the reference method for statistical analysis. **Results** For mucoid *Pseudomonas aeruginosa*, compared to AGAR-dilution method, the rates of the complete accordances(CA), the very major errors (VME), the major errors (ME), and the minor errors (MIE) were 84.69%, 3.20%, 2.13% and 9.96%, respectively. For non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa*, compared to AGAR-dilution method, the rates of the complete accordances (CA), the very major errors(VME), the major errors(ME), the minor errors(MIE) were 94.33%, 0.67%, 1.67% and 3.33%, respectively. Compared to two kinds of *Pseudomonas aeruginosa*, the rates of VME, MIE, CA were defined as statistical significance ($\chi^2=5.02, 10.44, 14.55, P<0.05$). The CA of the mucoid *Pseudomonas aeruginosa* was lower than that of non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa*, while the VME, MIE of the mucoid *Pseudomonas* were higher than those of non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. **Conclusion** For non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa*, the antimicrobial susceptibility test results of VITEK 2 Compact are accurate and reliable, and for mucoid *Pseudomonas aeruginosa*, the accuracy of VITEK 2 Compact is lower, so that for mucoid *Pseudomonas aeruginosa*, the antimicrobial susceptibility test is suggested by other methoes.

Keywords: *pseudomonas aeruginosa*; drug susceptibility test; accuracy; VITEK 2 compact

* 作者简介: 李瑜珍(1972—), 女, 大学本科, 学士学位, 副主任技师, 主要研究方向: 临床微生物学, Tel: 13828700966, E-mail: liyuzhen0803@163.com。

随着自动化微生物分析仪在临床的广泛应用,大多数常见病原菌均可用仪器法进行药物敏感性试验,仪器法药物敏感性试验的优点是快速、方便,且能定量。铜绿假单胞菌是医院感染的常见病原菌,根据其菌落形态,可分为黏液型和非黏液型。为探讨 VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪对这两种不同铜绿假单胞菌药敏检测结果的准确性,为不同铜绿假单胞菌选择适合的药敏试验方法提供依据,本文以琼脂稀释法为参考方法,对某院分离的 29 株黏液型铜绿假单胞菌和 30 株非黏液型铜绿假单胞菌用两种方法进行了药物敏感性试验,并对结果进行了对比分析,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集某院 2014 年 5 月~2015 年 9 月分离的非重复铜绿假单胞菌共 59 株(59 株菌均用 API-20NE 鉴定条鉴定确认为铜绿假单胞菌),其中黏液型铜绿假单胞菌 29 株,非黏液型铜绿假单胞菌 30 株;有 52 株铜绿假单胞菌分离自痰标本,4 株分离自伤口拭子,3 株分离自尿标本。

1.2 试剂和仪器 细菌鉴定用的 API-20NE 鉴定条、VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪、GN-09 卡均由法国生物梅里埃公司提供。琼脂稀释法药敏试验所用 M-H 琼脂粉由英国 Oxoid 公司提供,10 种抗生素药粉由中国药品生物制品检定所提供,质控菌株由广东省临检中心提供。

1.3 方法

1.3.1 VITEK2 Compact 仪器法药敏试验:将菌株按 Compact 仪操作说明上要求,用 0.45 g/dl 的无菌盐水调成 0.5~0.63 麦氏单位的菌悬液填充入 GN-09 卡,放入仪器进行孵育,仪器自动检测。

1.3.2 琼脂稀释法药敏试验:选用的抗生素有头孢他啶、头孢吡肟、庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、美洛培南和环丙沙星共 10 种。将抗菌药物稀释成不同浓度制成 M-H 平板备用,其中环丙沙星浓度为 0.5~8 $\mu\text{g}/\text{ml}$,亚胺培南、美洛培南浓度为 0.25~16 $\mu\text{g}/\text{ml}$,头孢他啶、头孢吡肟、庆大霉素、妥布霉素浓度为 0.5~64 $\mu\text{g}/\text{ml}$,阿米卡星、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦(4:1)浓度为 2~256 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。将菌株用无菌生理盐水调成 0.5 麦氏单位的菌悬液,10 倍稀释后点种 2 μl 于含有抗菌药物的 M-H 平板中,35℃ 培养,非黏液型铜绿假单胞菌 16~20 h 看结果,黏液型铜绿假单胞菌 24~30 h 看结果,以抑制细菌生长的药物稀释浓度为其最低抑菌浓度(MIC),折点判断按 CLSI 2014^[1]年版进行。

1.3.3 质控菌株:两种方法均用铜绿假单胞菌(ATCC27853)和大肠埃希菌(ATCC35218)作质

控。

1.3.4 药敏统计剔除标准:剔除 Compact 仪终止的药敏试验及其对应的琼脂稀释法药敏结果进行统计。

1.3.5 药敏结果:按 4 种情况进行分析:①标准符合率(CA),测定方法与参考方法结果完全一致;②严重错误率(VME),参考方法结果为 R,测定方法结果为 S;③重大错误率(ME),参考方法结果为 S,测定方法为 R;④一般错误率(MIE),参考方法结果为 S 或 R,测定方法结果为 I,或参考方法结果为 I,测定方法结果为 S 或 R。

1.4 统计学分析 两组铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 仪器法药敏结果比较用 χ^2 检验,用 SPSS 13.0 软件包进行统计处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 质控结果 两种方法质控菌株药敏结果均在控。

2.2 黏液型铜绿假单胞菌药敏检测情况 见表 1。29 株黏液型铜绿假单胞菌两种药敏方法检测结果,黏液型铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 仪器法标准符合率(CA)为 84.69%,严重错误率(VME)3.20%,重大错误率(ME)2.13%,一般错误率(MIE)9.96%。

2.3 非黏液型铜绿假单胞菌药敏检测情况 见表 2。30 株非黏液型铜绿假单胞菌药敏检测结果。非黏液型铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 仪器法标准符合率(CA)为 94.33%,严重错误率(VME)0.67%,重大错误率(ME)1.67%,一般错误率(MIE)3.33%。

2.4 两种铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 仪器法药敏结果 ME, VME, MIE, CA 相比较($\chi^2=0.17, 5.02, 10.44, 14.55$),两者的 CA, VME, MIE 差异有统计学意义($P<0.05$),而 ME 差异无统计学意义($P>0.05$)。黏液型铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 仪器法药敏结果的 CA 比非黏液型铜绿假单胞菌低,且 $<90\%$,而 VME, MIE 均比非黏液型铜绿假单胞菌高。

3 讨论 VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪是目前临床应用较为广泛的一款微生物分析仪,其药敏试验采用的是微量肉汤稀释法。将一定浓度菌悬液填充入药敏测试卡中,经仪器孵育一定时间,仪器通过比浊的方法测出各种抗菌药物的最低抑菌浓度(MIC)从而得出药敏结果。该仪器针对不同的细菌有不同的药敏测试卡,GN-09 卡是专门做非发酵菌药敏试验的药敏卡,可以同时检测头孢他啶、头孢吡肟、庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星、

哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、美洛培南、环丙沙星等共 20 种抗生素的耐药性。有文献报道^[2] VITEK2 Compact 全自动微生物分析仪对大多数常见病原微生物的鉴定与药敏均具有较高的准确性、重复性,且药敏检测时间大大缩短,对肠

杆菌科细菌、非发酵菌药敏试验分别在 11~13 h 内完成,而传统的 K-B 法则需要 18~24 h,因此, VITEK 2 Compact 仪器法药物敏感性试验大大缩短了检测时间,给临床提供快速的药敏报告,为治疗赢得了宝贵时间。

表 1 29 株黏液型铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 仪法与琼脂稀释法药敏检测结果比较

抗菌药物	n	VITEK2 法			稀释法			CA[%]	VME	ME	MIE
		S	I	R	S	I	R				
头孢他啶	28	24	2	2	26	1	1	24(85.71)	0	1	3
庆大霉素	27	24	3	0	25	0	2	23(85.19)	1	0	3
妥布霉素	28	28	0	0	28	0	0	28(100.00)	0	0	0
阿米卡星	29	26	2	1	28	1	0	26(89.66)	0	1	2
哌拉西林	27	23	2	2	24	2	1	22(81.48)	1	0	4
哌拉西林/他唑巴坦	28	25	2	1	25	1	2	23(82.14)	2	0	3
环丙沙星	28	24	2	2	23	3	2	24(85.71)	1	1	2
亚胺培南	29	19	3	7	21	5	3	22(75.86)	1	1	5
美洛培南	28	24	3	1	24	1	3	24(85.71)	2	1	2
头孢吡肟	29	26	1	2	25	2	2	24(82.75)	1	1	3
合计(%)	281	243	20	18	249	16	16	238(84.69)	9(3.20)	6(2.13)	27(9.61)

表 2 30 株非黏液型铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 仪法与琼脂稀释法药敏检测结果比较

抗菌药物	n	VITEK2 法			稀释法			CA%	VME	ME	MIE
		S	I	R	S	I	R				
头孢他啶	30	27	1	2	28	1	1	27(90.00)	0	1	1
庆大霉素	30	29	1	0	29	0	1	29(96.67)	0	0	1
妥布霉素	30	30	0	0	30	0	0	30(100.00)	0	0	0
阿米卡星	30	30	0	0	30	0	0	30(100.00)	0	0	0
哌拉西林	30	27	0	3	25	2	3	27(90.00)	1	1	1
哌拉西林/他唑巴坦	30	27	0	3	28	1	1	27(90.00)	0	1	2
环丙沙星	30	27	1	2	26	2	2	27(90.00)	0	0	1
亚胺培南	30	22	2	6	20	4	6	22(73.33)	1	1	2
美洛培南	30	27	1	2	26	2	2	27(90.00)	0	0	1
头孢吡肟	30	27	0	3	28	1	1	27(90.00)	0	1	1
合计(%)	300	273	6	21	270	13	17	273(91.00)	2(0.67)	5(1.67)	10(3.33)

铜绿假单胞菌是下呼吸道感染的主要病原菌,黏液型铜绿假单胞菌是一种特殊的铜绿假单胞菌,其菌落形态、药敏表型均与非黏液型铜绿假单胞菌有很大区别。黏液型铜绿假单胞菌主要引起有呼吸道慢性病史的老年患者感染^[3],在呼吸系统感染中,黏液型铜绿假单胞菌的分离率约占铜绿假单胞菌的 20%^[4],近年来,它的分离率在逐年上升^[5],越来越受到临床的重视。其菌落黏稠、生长速度较为缓慢,部分菌株在生理盐水中不易乳化,容易形成一块块的小菌团,难以调成均匀的菌悬液。针对这种特殊的铜绿假单胞菌,CLSI 对其药敏试验方法并没有特殊的要求。许多文献资料表明^[6,7],目前,黏液型铜绿假单胞菌药敏试验仍以 K-B 法为

主,较少有仪器法药敏结果的报道。黏液型铜绿假单胞菌可不可以用仪器法进行药物敏感性试验?按 CLSI 的要求,一种新方法的建立应与参考方法进行比对,2 种方法的 CA 应 $\geq 90\%$ 。本文结果显示:黏液型铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 仪器法的 CA 为 84.69%^[8],比文献报道革兰阴性菌的符合率低,非黏液型铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 仪器法的 CA 为 94.33%,与文献报道结果一致。黏液型铜绿假单胞菌 VITEK2 Compact 仪法的 CA 比非黏液型铜绿假单胞菌低,而 VME, MIE 比非黏液型铜绿假单胞菌高。其原因可能为:①黏液型铜绿假单胞菌部分菌株在生理盐水中不易乳化,难以调成均匀的菌悬液,导致充入药敏测试卡

中各小孔菌液浓度不均匀有关。②黏液型铜绿假单胞菌产生大量的黏稠性物质,由于黏液的影响,在一定浊度下其实际菌悬液浓度较低,生长微弱也有关系。笔者曾对相同浊度的两种铜绿假单胞菌悬液进行菌落计数,结果发现黏液型铜绿假单胞菌生长的菌落数明显比非黏液型少,黏液型铜绿假单胞菌药敏试验菌液浓度是否要比非黏液型高,高多少,还有待进一步研究。③VITEK2 Compact全自动微生物分析仪药敏检测时间较短,而黏液型铜绿假单胞菌生长速度较为缓慢,特别是部分侏儒型的菌株,培养24 h才有微弱生长,48 h才可见明显生长^[9]。细菌还未充分繁殖,仪器就开始检测,会导致结果假敏感。生长速度较为缓慢的细菌是否均不适合用VITEK2 Compact仪器法进行药物敏感性试验还有待进一步探讨。

本文实际检测黏液型铜绿假单胞菌35株,VITEK 2 Compact仪器法有19.71%(69/350)的药物敏感性试验被仪器异常终止(其中有6株全部药敏试验被终止)导致结果无法比较,而30株非黏液型铜绿假单胞菌药敏试验的检测则未发现试验被终止。这样的情况同样在蓝锴等^[10]的试验中出现,可能与黏液型铜绿假单胞菌部分菌株在生理盐水中不乳化,形成菌团,有些大的菌块堵塞了测试卡的孔径,导致菌悬液无法充入有关。

药敏结果是临床治疗用药的依据,其结果的准确性非常重要。VITEK2 Compact全自动微生物分析仪对非黏液型铜绿假单胞菌药敏检测结果准确可靠,可推广使用;对黏液型铜绿假单胞菌药敏检测结果准确性较低,错误率较高,且药敏试验易被仪器终止而不出结果,导致检验试剂浪费、延误检验结果发放。黏液性铜绿假单胞菌应用其它方法进行药物敏感性试验。

参考文献:

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational supplement[S]. Wayne, PA, CLSI document M100-S20, 2014; 61.
- [2] Gherardi G, Angeletti S, Panitti M, et al. Comparative evaluation of the Vitek-2 Compact and Phoenix systems for rapid identification and antibiotic susceptibility testing directly from blood cultures of Gram-negative and Gram-positive isolates[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2012, 72(1): 20-31.
- [3] 张保荣, 臧志梅. 黏液型铜绿假单胞菌感染实验鉴定与病例回顾分析[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(2): 114-116.
- [4] 李瑜珍, 曾学辉, 李忠新, 等. 痰黏液型铜绿假单胞菌的分离及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(5): 1059-1060, 1066.
- [5] 毕玲玲, 孙成春, 公衍文, 等. 黏液型和非黏液型铜绿假单胞菌的临床分布和耐药表型分析[J]. 解放军医学院学报, 2015, 36(2): 140-143.
- [6] 朱伟斌, 胡艳立, 龙跃兵. 黏液型与非黏液型铜绿假单胞菌的耐药性比较[J]. 中国感染控制杂志, 2014, 13(2): 96-98.
- [7] 李晓燕, 赵杰, 赵丽雅, 等. 黏液型铜绿假单胞菌耐药性分析[J]. 河北医药, 2015, 37(8): 1247-1249.
- [8] 乔宁, 喻华, 殷琳, 等. VITEK 2 Compact全自动微生物分析仪性能分析[J]. 淮海医药, 2012, 30(3): 211-213.
- [9] 周林涛, 朱柏珍, 刘晓云, 等. 侏儒型铜绿假单胞菌的鉴定[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(14): 1818-1819.
- [10] 蓝锴, 张伟铮, 罗强, 等. 不同方法检测黏液型铜绿假单胞菌药物敏感性结果准确性探讨[J]. 检验医学, 2012, 27(7): 544-548.

收稿日期: 2016-01-07

修回日期: 2016-04-07