

VITEK-2 Compact AST-GN16 检测鲍曼不动杆菌对阿米卡星和哌拉西林-他唑巴坦 药敏结果的准确性评价*

武爱荣, 安良, 黄波, 马霄婷 (西安高新医院检验科, 西安 710075)

摘要:目的 探讨 VITEK-2 Compact AST-GN16 检测鲍曼不动杆菌对阿米卡星(AK)和哌拉西林-他唑巴坦(TZP)药敏结果的准确性。方法 收集 2017 年 5 月~2018 年 5 月临床分离的 100 株鲍曼不动杆菌,分别采用 E-test 法,纸片扩散法(K-B 法)和 VITEK 2 Compact AST-GN16 药敏卡检测分离菌株对 AK 和 TZP 的敏感性。结果 100 株鲍曼不动杆菌中,有 20 株对 IPM 敏感,80 株对 IPM 耐药。对 IPM 敏感的鲍曼不动杆菌,3 种方法检测的 AK 和 TZP 敏感性结果一致,均为敏感,差异无统计学意义($P<0.05$)。对 80 株耐 IPM 的鲍曼不动杆菌,AK 药敏结果显示:E-test 法结果共有 48 株耐药,3 株中介,29 株敏感;K-B 法结果有 78 株与 E-test 法结果一致,另外 2 株耐药;有 35 株 3 种方法结果一致,45 株 VITEK 法为敏感或中介,而其它两种方法均为耐药。E-test 法和 K-B 法标准符合率(CA)为 97.5%,VITEK 法与 E-test 法 CA 为 11.25%,一般错误率为 2.5%,严重错误率为 1.25%,极严重错误率为 17.5%。TZP 药敏结果显示:E-test 法和 K-B 法结果完全一致,均为耐药;VITEK 法有 75 株耐药,5 株中介。E-test 法和 K-B 法 CA 为 100%,VITEK 法与 E-test 法 CA 为 93.75%,一般错误率为 6.25%。结论 VITEK-2 Compact AST-GN16 检测 IPM 敏感鲍曼不动杆菌对 AK 和 TZP 敏感性结果可靠,无需验证;但检测耐 IPM 鲍曼不动杆菌对 AK 和 TZP 的敏感性时,会出现不同程度的错误结果,在工作中需采用 E-test 法或 K-B 法进行验证。

关键词: VITEK-2 Compact AST-GN16; 鲍曼不动杆菌; 阿米卡星; 哌拉西林-他唑巴坦

中图分类号: R378; R446.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2018)06-136-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.06.035

Evaluation of the Accuracy of *Acinetobacter Baumannii*'s Susceptibility to Amikacin and Piperacillin-Tazobactam in the Detection of Vitek-2 Compact AST-GN16

WU Ai-rong, AN Liang, HUANG Bo, MA Xiao-ting

(Department of Clinical Laboratories, Xi'an Gaoxin Hospital, Xi'an 710075, China)

Abstract: **Objective** To investigate the accuracy of VITEK-2 Compact AST-GN16 detection of *Acinetobacter baumannii* (Ab) for the sensitivity of amikacin (AK) and piperacillin (TZP). **Methods** 100 strains of Ab clinically isolated from May 2017 to May 2018 were collected. Sensitivity of the isolated strain to AK and TZP was detected by E-test, paper diffusion (K-B) and VITEK 2 Compact AST-GN16. **Results** Among 100 strains of Ab, 20 were sensitive to IPM and 80 were resistant to IPM. For IPM-sensitive Ab, the sensitivity results of AK and TZP detected by the three methods were consistent, both of which were sensitive and the differences were not statistically significant ($P<0.05$). For 80 IPM-resistant Ab, results of AK drug sensitivity showed that there were 48 strains of drug resistance, 3 mediators and 29 strains of sensitivity. The results of K-B method were consistent with those of E-test, and the other two were resistant. The results of 3 methods of 35 strains were consistent, 45 strains of VITEK were sensitive or intermediate, while the other two methods were resistant. The standard compliance rate (CA) of E-test and K-B method was 97.5%, while that of VITEK and E-test, CA was 11.25%, with a general error rate of 2.5%, a serious error rate of 1.25% and a very serious error rate of 17.5%. TZP drug sensitivity results showed that the results of E-test and K-B were identical, both of which were drug resistance. There were 75 resistant strains and 5 mediators by VITEK. The standard compliance rate (CA) of E-test and K-B was 100%, VITEK and E-test CA was 93.75%, and the general error rate was 6.25%. **Conclusion** Detection of IPN-sensitive Ab with sensitivity to AK and TZP was reliable without verification. However, when the sensitivity of IPN-resistant Ab to AK and TZP was detected, error results of different degrees will appear. E-test method or K-B method should be used for verification in the work.

Keywords: VITEK-2 compact AST-GN16; *Acinetobacter baumannii* (Ab); amikacin; piperacillin-tazobactam

鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*'s Ab) 属于革兰氏阴性杆菌, 广泛存在于自然界, 是

* 作者简介: 武爱荣(1976—), 女, 学士学位, 主管检验师, 主要从事病原微生物感染诊断, E-mail: wu__airong@126.com。

医院环境中常见的条件致病菌,常分离自定植患者附近设备、环境表面和物品上。近年来,随着广谱抗生素的大量使用,使鲍曼不动杆菌的耐药率不断升高,继而成为多重耐药菌,给临床治疗带来挑战。所以,在治疗因该菌引起的感染时,必须依据微生物实验室的药敏结果做到合理用药,而药敏检测结果的准确性是关键。目前,临床微生物实验室常采用 VITEK-2 Compact 进行细菌鉴定和药物敏感性试验,该方法不仅可以给出抗生素的最小抑菌浓度(MIC),还缩短了检测时间,使患者及时得到有效治疗。但是,仪器孵育时间的缩短,会使一些药敏结果不准确性的风险增加^[1]。杨银梅等^[2]报道 VITEK 2 Compact 在检测耐亚胺培南(IPM)鲍曼不动杆菌对阿米卡星(AK)的敏感性时会出现不准确的结果。本次研究是根据 VITEK-2 Compact AST-GN16 说明书提示,在检测鲍曼不动杆菌对 AK 和哌拉西林/他唑巴坦(TZP)两种药敏结果时,通过与 K-B 法和 E-test 法比对,验证 VITEK 法的准确性。

1 材料与方法

1.1 菌株 收集 2017 年 5 月~2018 年 5 月西安高新医院临床分离的 100 株鲍曼不动杆菌,剔除同一患者相同部位的重复菌株,所有菌株均经 VITEK-2 Compact 全自动微生物细菌鉴定仪鉴定。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922 和铜绿假单胞菌 ATCC27853 购自卫生部临床检验中心。

1.2 仪器和试剂

1.2.1 仪器:VITEK2 Compact 全自动微生物细菌鉴定仪、微生物浊度比浊仪由法国梅里埃公司生产。

1.2.2 试剂:阿米卡星(30 μg /片)、哌拉西林/他唑巴坦(分别为 100, 10 μg /片)两种药敏纸片和两种药物的 E-test 条,均由英国 OXOID 公司生产;GN 鉴定卡和 GN16 药敏卡,水解酪蛋白琼脂(MH),哥伦比亚血琼脂培养基和麦康凯琼脂培养基均由法国梅里埃公司生产,试验期间均在有效期内。

1.3 方法

表 1 80 株耐 IPM 的鲍曼不动杆菌三种方法药敏试验结果比较[n(%)]

方 法	AK					TZP				
	S	I	R	χ^2	P	S	I	R	χ^2	P
E-test 法	29(36.25)	3(3.75)	48(60.00)	-	-	0	0	80(100.00)	-	-
K-B 法	27(33.75)	3(3.75)	50(62.50)	0.126	>0.05	0	0	80(100.00)	-	-
VITEK 法	69(86.25)	2(2.50)	9(11.25)	63.79	<0.05	0	5(6.30)	75(93.75)	6.5	<0.05

2.3 三种方法结果比较 见表 2。以 E-test 法为参考方法,K-B 法和 VITEK 仪器法的 CA, MIE, ME 和 VME 结果分析,K-B 法与 E-test 法的药敏

1.3.1 体外药敏试验及结果判读:K-B 法、质量控制和结果判读:敏感(S)、中介(I)、耐药(R)均参照美国 CLSI M100S(2016 版)进行操作^[3];VITEK2 Compact 鉴定及配套 AST-GN16 药敏卡测定和质量控制,严格按照仪器操作规程进行;E-test 法:试验操作、结果判读和质量控制,严格按照试剂说明书进行操作。

1.3.2 药敏数据分析标准:参照美国 CLSI M23-A2 文件^[4],标准一致性(categorical agreement, CA)指实验方法与参考方法的符合率;一般错误率(minor errors, MIE)指参考方法的结果为 R 或 S,实验方法为 I,或者参考方法的结果是 I,实验方法为 S 或 R;严重错误率(major errors, ME)指参考方法的结果为 S,实验方法为 R;极严重错误率(very major errors, VME)指参考方法的结果是 R,实验方法为 S;它们可接受的误差范围分别为 $CA \geq 90\%$, $MIE \leq 10\%$, $ME \leq 3\%$, $VM \leq 1.5\%$ 。

1.4 统计学分析 采用 SPSS19.0 统计学软件,进行数据分析,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌株分布 临床分离的 100 株鲍曼不动杆菌,分别来自痰 76 株、尿 8 株、血 5 株、导管 4 株、分泌物 3 株、引流液 2 株、组织 1 株、胸腔积液 1 株;科室分布为呼吸监护室 30 株、ICU 33 株、神内监护室 22 株、神外监护室 10 株、泌尿科 2 株、血液科、肾内科及胸外科各 1 株。

2.2 三种方法药敏结果比较 见表 1。对收集的 100 株鲍曼不动杆菌,应用 E-test 法、K-B 法和 VITEK 仪器法对 IPM, AK 和 TZP 进行药敏试验,对 IPM 敏感的有 20 株,3 种方法对 AK 和 TZP 的药敏结果也均敏感,结果差异无统计学意义($P > 0.05$);对 IPM 耐药的有 80 株,用 E-test 法和 K-B 法两种方法检测 AK, TZP 的药敏结果差异无统计学意义($P > 0.05$);而用 VITEK 仪器法检测的 AK, TZP 药敏结果与其它两种方法比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 63.79, 6.5$, 均 $P < 0.05$)。

结果一致;VITEK 仪器法与 E-test 法的 TZP 药敏结果一致,而 AK 药敏结果, VME 为 50.00%,按照判断标准为不可接受的结果,与 E-test 法比较存

在显著性差异。

表 2 E-test 法与 K-B 法和 VITEK 仪器法结果比较[n(%)]

药敏 种类	K-B 法						VITEK 法					
	CA	MIE	ME	VME	χ^2	P	CA	MIE	ME	VME	χ^2	P
AK	78(97.50)	0(0.00)	2(2.50)	0(0.00)	2.53	>0.05	38(47.50)	2(2.50)	0(0.00)	40(50.00)	73.03	<0.05
TZP	80(100.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	-	-	75(93.75)	5(6.25)	0(0.00)	0(0.00)	6.47	>0.05

3 讨论 由于鲍曼不动杆菌具有强大的获得性耐药和克隆传播能力,使得各种耐药表型的鲍曼不动杆菌呈现世界性流行趋势^[5],在我国该菌也是医院感染的重要致病菌之一,尤其在重症监护室(ICU)分离率最高,且多分离自痰标本^[6,7],2016 年中国 14 家教学医院革兰阴性杆菌耐药监测数据显示,鲍曼不动杆菌对碳青霉烯的耐药率高达 80% 以上^[8]。本次收集的 100 株鲍曼不动杆菌,主要来自 ICU、呼吸科和神外监护室,痰标本分离率最高,其次是尿、血和导管等,耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌占分离菌株的 80%(80/100),与国内报道一致。

近年来,在国家对抗生素合理应用的专项整治活动推进下,临床医生用药越来越规范,微生物实验室检测抗生素的方法也越来越先进,自动化鉴定和药敏仪成为实验室的有力工具。目前,VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定加药敏仪器在临床实验室已得到广泛应用和肯定^[9]。该药敏系统使用微量肉汤稀释法检测 MIC 值,随着细菌生长,菌液浊度增大,仪器每隔一段时间通过读取每个小孔光线的量获取的该药物孔透光度值与生长对照孔比较,通过公式计算出 MIC 值^[10]。VITEK-2 Compact AST-GN16 药敏卡的使用说明书虽然给出了 AK 和 TZP 的 MIC 测定范围,但需要用替代方法进行验证。本次研究的 100 株鲍曼不动杆菌,以 E-test 法为参考方法,与 K-B 法的比较结果显示,对 IPM 敏感的菌株,3 种方法测得的 AK、TZP 药敏结果无差别,均敏感。对 IPM 耐药菌株,AK 用 VITEK 法检测的耐药率仅为 11.25%,虽与国内有关报道^[11,12]一致,但正是由于部分使用 VITEK 仪器的用户,没有认真阅读产品说明书所致,给出错误的药敏结果,误导临床选择用药。而用其它两种方法检测 AK 的耐药率均在 60% 以上,与闻海丰等^[13]报道一致。VITEK 法检测 AK 的敏感率远高于其它两种方法,这是由于 AK 对鲍曼不动杆菌的抗菌作用中,介于细菌明显生长与完全不生长之间存在缓慢生长区有关^[14],导致仪器读取假敏感结果。与 E-test 法比对,K-B 法将 2 株敏感菌株检测为耐药,是由于结果判读误差导致,应进一步加强实验室工作人员标准化操作培训,避免因人员操作因素引起的实验误差。VITEK 仪器

在检测 TZP 结果时,有 5 株耐药菌株读取为中介,是否与细菌存在缓慢生长区有关,还需进一步验证。

进行细菌耐药监测,可以了解细菌耐药性的变化趋势和耐药菌株流行情况,指导临床合理使用抗生素。但由于不同医院使用的药敏方法、人员操作和仪器解读等原因,使上报数据存在较大差异^[15]。本次研究是以 E-test 法为参考方法,成本高;而 VITEK 仪器法在检测 AK 和 TZP 时会出现不同程度的不可接受结果。通过 3 种方法比对发现,K-B 法的 CA、MIE、ME 和 VME 均在可接受范围,而且该法具有操作简便、选药灵活和成本低的优势。所以,临床微生物实验室在用 VITEK 仪器法做鲍曼不动杆菌的药敏试验时,应认真阅读药敏卡说明书,采用 K-B 法针对需要验证的药敏结果进行确认,获取准确的抗生素敏感性,指导临床合理使用抗生素,保证细菌耐药监测数据的质量。

参考文献:

- [1] 刘云,万玉香,马炜,等. VITEK 2 Compact 检测耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌对阿米卡星药敏结果的准确性评价[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(1): 133-136.
Liu Y, Wan YX, Ma W, et al. Evaluation on the accuracy of VITEK 2 Compact for the susceptibility of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* to amikacin[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(1): 133-136.
- [2] 杨银梅,陈斌,彭颖仪,等. VITEK 2 Compact 全自动微生物分析系统检测亚胺培南耐药鲍曼不动杆菌对阿米卡星的准确性评估[J]. 检验医学, 2016, 31(10): 907-910.
Yang YM, Chen B, Peng YY, et al. Accuracy of VITEK 2 Compact for the determination of imipenem resistant *Acinetobacter baumannii* to amikacin[J]. Laboratory Medicine, 2016, 31(10): 907-910.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [S]. Twenty-Sixth Edition. Wayne: PA, CLSI-M100S, 2016.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Development of in vitro susceptibility testing criteria and quality control parameters for veterinary antimicrobial

- agents: approved guideline [S]. Wayne: PA, CLSI-M23-A2, 2008.
- [5] Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen[J]. Clin Microbiol Rev, 2008, 21(3): 538-582.
- [6] 郭洁, 徐杰, 王丽丽, 等. 耐碳青霉烯类抗生素鲍曼不动杆菌的耐药谱分析[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(1): 107-109.
- Guo J, Xu J, Wang LL, et al. Antibiotics resistance profiles of carbapene-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2012, 27(1): 107-109.
- [7] 苍金荣, 王华, 张利侠, 等. 多黏菌素 B、头孢哌酮/舒巴坦对泛耐药鲍曼不动杆菌体外抗菌活性观察[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(5): 147-148.
- Cang JR, Wang H, Zhang LX, et al. Observation of in vitro antibacterial activity of pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* by polymyxin B and cefoperazone/sulbactam[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2011, 26(5): 147-148.
- [8] 王启, 季萍, 徐修礼, 等. 2016 年中国 14 家教学医院革兰阴性杆菌耐药监测分析[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(8): 614-622.
- Wang Q, Ji P, Xu XL, et al. Antimicrobial resistance of gram-negative bacilli isolated from 14 teaching hospitals across China in 2016[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2017, 40(8): 614-622.
- [9] 黄烈, 张银辉, 聂署萍, 等. 全自动微生物分析仪检测细菌耐药表型性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(5): 602-604.
- Huang L, Zhang YH, Nie SP, et al. Performance evaluation of bacterial resistance phenotype detected by automatic microbiological analyzer[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2012, 33(5): 602-604.
- [10] 王莹, 汪鹏程, 曾章锐, 等. Vitek 2 Compact 全自动微生物仪检测鲍曼不动杆菌对阿米卡星敏感性误差的原因[J]. 临床检验杂志, 2013, 31(1): 28-31.
- Wang Y, Wang PC, Zeng ZR, et al. Investigation on the source of errors for the susceptibility of *Acinetobacter baumannii* to amikacin detected by Vitek 2 Compact[J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2013, 31(1): 28-31.
- [11] 张静会. 鲍曼不动杆菌流行现状及耐药性分析[J]. 实验与检验医学, 2017, 35(6): 918-920.
- Zhang JH. Current status and drug resistance analysis of *Acinetobacter baumannii*[J]. Experimental and Laboratory Medicine, 2017, 35(6): 918-920.
- [12] 赵建平, 张叶毛, 武芳, 等. 神经科病房鲍曼不动杆菌的分布及耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2015, 15(1): 60-62.
- Zhao JP, Zhang YM, Wu F, et al. Analysis of distribution and drug resistance of *Acinetobacter baumannii* in neurology ward[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2015, 15(1): 60-62.
- [13] 闻海丰, 赵建宏, 时东彦, 等. 河北省细菌耐药监测网耐药数据质量分析: 鲍曼不动杆菌对阿米卡星耐药数据问题初步探讨[J]. 中国抗生素杂志, 2016, 41(7): 557-560, S1.
- Wen HF, Zhao JH, Shi DY, et al. Quality analysis of data collected by Hebei provincial antimicrobial resistant investigation net: Preliminary discussion of the resistance rate of *Acinetobacter baumannii* to amikacin[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2016, 41(7): 557-560, S1.
- [14] 张晓文, 邵海枫, 王卫萍, 等. 氨基糖苷类药物双圈耐药型鲍曼不动杆菌 16S rRNA 甲基化酶基因研究[J]. 中国抗生素杂志, 2011, 36(11): 855-858.
- Zhang XW, Shao HF, Wang WP, et al. A study of 16S rRNA methylase on *Acinetobacter baumannii* double-circle resistance to aminoglycoside antibiotic[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2011, 36(11): 855-858.
- [15] 温海楠, 谢守军, 赵建宏, 等. 鲍曼不动杆菌对 8 种常用抗菌药物敏感试验不同方法的比较[J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(6): 680-684.
- Wen HN, Xie SJ, Zhao JH, et al. Susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolates to eight antimicrobial agents tested by different methods[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2017, 17(6): 680-684.