

续表 1 自封和蜡封冰冻质控血清保存 1~25 d 质控结果

项目		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
TC(mmol/L)	蜡封	3.98	3.88	3.99	4.00	4.09	3.62	4.06	4.21	3.42	4.13	4.47	3.86	3.89	4.86	4.00	3.82	3.89	3.87	3.78	3.84	3.75	3.84	3.68	3.82	3.95
	自封	4.08	3.67	3.92	3.95	4.11	4.19	4.08	4.01	3.83	4.22	4.39	3.89	3.94	4.94	4.16	3.95	3.87	4.02	3.71	3.84	3.86	3.85	3.83	3.86	3.89
TG(mmol/L)	蜡封	1.07	1.07	1.09	1.05	1.08	0.98	1.06	1.09	0.93	1.07	1.08	1.06	1.07	1.07	1.06	1.07	1.06	1.07	1.08	1.10	1.06	1.12	1.12	1.09	1.08
	自封	1.06	1.02	0.99	1.04	1.09	1.03	0.99	1.06	1.02	1.02	1.03	1.05	1.08	1.02	1.08	1.08	1.07	1.13	1.03	1.03	1.04	1.03	1.05	1.08	1.05

注:ALT 为丙氨酸氨基转移酶;AST 为天门冬氨酸氨基转移酶;GGT 为 γ -谷氨酰转移酶;ALP 为碱性磷酸酶;TP 为总蛋白;ALB 为清蛋白;TBIL 为总胆红素;DBIL 为直接胆红素;TC 为总胆固醇;TG 为三酰甘油。

3 讨 论

室内质控是检验科质量控制的核心内容,其结果直接影响检验数据的准确性,从而会影响临床医生对患者病情的判断,故各级检验科都极其重视室内质量的控制^[1]。检验科在日常开展室内质控时,为节约成本多数实验室都通常会把干粉质控物用去离子水溶解后分装成小份,采用置于 0.5 mL 可以密封的小标本管内,密封后放于-20℃的冰冻箱(槽)内避光保存^[2],然后每天用一份做室内质控。常常会遇到如何密封保存分装后的质控物的问题,密封小标本的最好方法是蜡封法,但蜡封操作麻烦,很多实验室干脆就盖紧瓶盖就算了,然而分装后的质控物如果保存管的密封性不好会在 10 d 就会逐渐降低直至失控。那是因为放置于-20℃的冰冻箱中,管内空气中的水汽会变成冰霜附在管壁,此时管内的湿度相对变低,管外湿度相对高的空气又会从间隙补充进管内,在管内这些水气又再凝结成冰霜附在管壁,如此循环几次,特别是保存时间长且质控物量小(<0.5 mL)则很容易引起质控物被稀释而造成失控^[3]。本文研究表明,用塑料子弹头管大头朝下的密封方法能取得和蜡封相同的效果,塑料子弹头管大头朝下放置时溶解的质控物在管内会充满满管口的空隙,一旦放入-20℃的冰箱会结成冰而起到密封圈的作用阻碍水气进入管内,和蜡封效果一样。从上面数据可知,只有总胆红素、直胆红素在保存 10 d 后明显偏低,总胆红素和直接胆红素实验结果差异有统计学意义($P<0.01$)。这是因为胆红素对光极为敏感,虽然在使用、

保存过程中及时、尽力避光,但保存后的标本实验结果仍然减低较多,值得引起注意^[4],其他项目放置 25 d(即直到用完)其值都没有改变。值得注意的是自封法质控物从冰箱取出后也应将塑料子弹头管大头朝下放置室温复溶,待完全溶解就可上机做质控测试。

自封法因为密封性好,不会因凝结水而稀释。冰冻血清用量能达到每份小于或等于 0.2 mL,一瓶质控物能分为 25 份,大大节约了成本,且简单易行,值得推广^[5],特别是在基层医院检验科的推广。

参考文献

[1] 武建国,顾可梁,童明庆,等. 医学实验诊断学进展[M]. 南京:东南大学出版社,2000:29-35.
[2] 叶章发,雷志华,杨桦. 冰冻保存复溶后冻干质控血清标本对实验结果的影响[J]. 中国实用医药,2008,9(3):3-25.
[3] 孔凡斌. 生化室内质控失控原因分析[J]. 检验医学与临床,2010,7(3):273.
[4] 沈岳奋. 生物化学检验技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:191-193.
[5] 刘强,龙学德. 自制生化质控物使用心得[J]. 中国医学创新,2010,7(1):162.

(收稿日期:2011-06-29)

VITEK-32 全自动细菌分析系统检测超广谱 β -内酰胺酶结果的评价

梁小英,王莉宁(广西壮族自治区民族医院检验科,南宁 530001)

【摘要】 目的 评价 VITEK-32 全自动细菌分析系统检测肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌超广谱 β -内酰胺酶(ES-BLs)的可靠性。**方法** 对 122 株肺炎克雷伯菌和 116 株大肠埃希菌用 VITEK-32 全自动细菌分析系统和革兰阴性杆菌药敏卡测定 ESBLs,同时用美国临床实验室标准化委员会推荐的纸片扩散确证法进行对照。**结果** 仪器法、确证法检测 ESBLs 菌株阳性率分别为 39.2%、38.4%。**结论** 选择准确快速的检测方法,提高 ESBLs 菌株的阳性检出率,具有重要意义。

【关键词】 超广谱 β -内酰胺酶; VITEK-32 全自动细菌分析系统; 肺炎克雷伯菌; 大肠埃希菌
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.21.048 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)21-2645-02

超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)主要由肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌产生,能水解大多数青霉素类、头孢菌素类和单酰胺类抗生素,从而使之失效;产 ESBLs 的耐药基因编码经常与其他抗生素的耐药基因连接而使耐药性更加复杂;产 ESBLs 菌还可以通过结合、转化、转导等形式使耐药基因在细菌间传播,造成严重的耐药问题。因此,实验室快速准确地检测产 ESBLs

细菌至关重要。本文对广西壮族自治区民族医院 2009 年 2~12 月临床标本中分离的 122 株肺炎克雷伯菌和 116 株大肠埃希菌产 ESBLs 的阳性情况进行分析评价,报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 2009 年 2~12 月本室临床分离菌株共 238 株,采用 VITEK-32 全自动细菌分析系统鉴定,其中肺炎克雷

伯菌 122 株,大肠埃希菌 116 株。质控菌株:ESBLs 阳性为肺炎克雷伯菌(ATCC 700603),ESBLs 阴性为大肠埃希菌(ATCC 25922),购自卫生部临床检验中心。

1.2 仪器与试剂 VITEK-32 全自动细菌分析系统全自动细菌分析系统革兰阴性杆菌鉴定卡(GNI⁺)、革兰阴性杆菌药敏卡(GNS-142)药敏分析卡均为法国生物梅里埃公司产品。

1.3 药敏纸片和 M-H 琼脂 复合纸片头孢噻吩/克拉维酸(CTX/CLA)及头孢他啶/克拉维酸(CAZ/CLA)购于温州康泰生物制品有限公司,单项药敏纸片和 M-H 琼脂为英国 Oxoid 公司产品。

1.4 菌株分离和鉴定 菌株分离培养按照《全国临床检验操作规程》进行,用 VITEK-32 全自动细菌分析系统 GNI⁺ 鉴定结果。

1.5 VITEK-32 全自动细菌分析系统检测 ESBLs 采用 GNS-142 检测,严格按说明书操作,采用仪器同时检测 CAZ 和 CTX 在有无克拉维酸时的抑菌效果,在仪器专家系统的判断下,自动给出被测菌是否为产 ESBLs 菌株。

1.6 纸片扩散确证法 按 2004 年美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)推荐的标准纸片扩散确证法测定 ESBLs^[1],即采用 CAZ 及 CAZ/CLA,CTX 及 CTX/CLA 组合,加克拉维酸和不加克拉维酸纸片直径差值大于或等于 5 mm 时,判定为产 ESBLs 阳性菌株。

2 结 果

两种测试方法检测 ESBLs 的阳性结果见表 1。

表 1 两种测试方法检测 ESBLs 的阳性结果[n(%)]

方法	肺炎克雷伯菌(n=122)	大肠埃希菌(n=116)	平均阳性率 (%)
仪器法	41(33.6)	52(44.8)	39.2
确证法	41(33.6)	50(43.1)	38.4

3 讨 论

自 1983 年德国首次报道耐 3 代头孢菌素的肺炎克雷伯菌以来,ESBLs 阳性菌株不断出现,产 ESBLs 是部分革兰阴性杆菌对 β-内酰胺类抗生素耐药的主要机制之一,此菌不仅对 3 代头孢和氨基曲南耐药,而且对氨基糖苷类、喹诺酮类和磺胺类呈交叉耐药。ESBLs 主要由大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌等肠杆菌科细菌产生,在本院分离的致病性革兰阴性杆菌中,这两种菌分别占第 1 和第 2 位,因此,快速、准确地检测出产 ESBLs 菌株显得尤为重要。据 Sanders 等^[2]报道 VITEK 仪器对 ESBLs 的检出率为 99.5%,特异性为 100.0%,此方法快速、简便、准确、阳性率高,使用一个药敏实验卡可同时发出药敏试验和 ESBLs 结果的报告,在大、中型医院值得推广应用,但缺点是成本太高。

本院在 122 株肺炎克雷伯菌和 116 株大肠埃希菌中共检出产 ESBLs 菌 93 株,检出率为 39.1%,比国内报道的 35.4%^[3]稍高。仪器法与纸片扩散确证法检出平均阳性率分别为 39.2%和 38.4%。纸片扩散确证法为 NCCLS 推荐的方

法,与仪器法对照其阳性率稍低,但因其操作简便,费用低,不受实验条件限制,各类实验室容易普及^[4]。由表 1 可见,有 2 株纸片扩散确证法判断为阴性,而仪器判断为阳性。这 2 株菌株被仪器判为 ESBLs 合并高产 I 型 β-内酰胺(AmpC)酶、β-内酰胺酶,因 AmpC 酶为不被克拉维酸抑制的头孢菌素酶,故其 CAZ、CAZ/CLA、CTX、CTX/CLA 全部高耐药,所以纸片扩散确证法也存在漏检的情况。

VITEK-32 全自动细菌分析系统是一种快速细菌鉴定和药敏试验自动化仪器,能够快速完成大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌的鉴定、药敏试验和 ESBLs 检测。该系统中药敏试验结果有专家系统提示并修正,一旦大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌被检出是 ESBLs 阳性菌株,如果对青霉素、1~4 代头孢菌素和氨基曲南中任何一种显示敏感,则系统自动发出“专家系统”警报,提示这些药物对 ESBLs 菌株活性下降。纸片扩散确证法没有仪器法快速,易产生人为误差,但其成本低,易于操作,适合于各级医院,目前仍为 NCCLS 推荐方法。对于有条件的实验室,利用 VITEK 高级专家系统判定大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌是否为产 ESBLs 是可靠的,可替代双纸片扩散确证法^[5]。

产 ESBLs 的细菌有逐年增加的趋势,其范围越来越广,检出率越来越高,已成为除耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和耐万古霉素肠球菌外的另一医院感染的主要致病菌,其耐药性强,耐药谱广,给临床治疗带来了极大的困难。由于其容易通过质粒传播,引起院内暴发流行,且所致感染的治疗与非产 ESBLs 菌治疗有较大的区别^[6],所以临床实验室应及早检出 ESBLs 菌,指导临床合理用药,并有助于控制其传播,对预防院内感染有重要意义。

参考文献

[1] National Committee for Clinical Laboralory Standaras. Perfomance standard for antimicrobial testing;fourteenth infolmational supple-ment[J]. NCCLS, 2004, 24(1): 28-31.

[2] Sanders CC,Barr YAC,Washin gton JA,et al. Detetionof-ex tendeds pectrum-beta-lactamase-producin gmember-softhefamil Enterobacteriaceawth VITEKWSBLstest [J]. J Clin Microbiol,1996,34(8):2997-3001.

[3] 刘文恩,王兰鸽,唐银,等. 超广谱 β-内酰胺酶的产生与临床抗生素应用的相关性研究[J]. 湖南医科大学学报, 2002,27(4):354-356.

[4] 胡付品,叶信予,朱德妹. 一种同时鉴定和检测产超广谱 β-内酰胺酶细菌的方法[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(10):1181-1185

[5] 孙长贵,陈汉美. 超广谱 β-内酰胺酶及其实验室筛检[J]. 临床检验杂志,2000,18(1):52-55.

[6] 陈旭,李建华. 呼吸系统产超广谱 β-内酰胺酶细菌的临床调查[J]. 中华医院感染学杂志,2003,13(4):373-374.

(收稿日期:2011-06-28)