

# 临床微生物检验中快速药敏试验方法的准确性评估

杨华荣 王璐<sup>(通讯作者)</sup>

(宁夏回族自治区第五人民医院 753000)

**【摘要】**目的：评估胶体金免疫层析法(GICA)与传统纸片扩散法在临床微生物药敏试验中的准确性，明确快速药敏方法的临床适用性，为优化感染性疾病诊疗流程提供依据。方法：选取2023年5月-2024年3月我院200例感染性疾病患者，随机分对照组与实验组各100例。对照组采用纸片扩散法检测常见病原菌对头孢曲松、左氧氟沙星等6类抗生素的敏感性，实验组采用GICA快速药敏法检测，以肉汤微量稀释法为金标准，比较两组药敏结果符合率、检测耗时及不同菌属适配性。结果：实验组总体符合率94.00%(564/600)，与对照组92.33%(554/600)比较差异无统计学意义( $\chi^2=1.528$ ,  $P=0.217$ )；实验组检测耗时(1.82±0.35)h，短于对照组(18.64±2.17)h( $t=72.583$ ,  $P<0.001$ )；对大肠埃希菌适配性(96.67%)高于金黄色葡萄球菌(91.67%)( $\chi^2=4.022$ ,  $P=0.045$ )。结论：GICA快速药敏法准确性与传统方法相当，且检测耗时显著缩短，对肠杆菌科菌属适配性更佳，具重要临床推广价值。

**【关键词】**快速药敏试验；胶体金免疫层析法；纸片扩散法；准确性评估；感染性疾病

Accuracy evaluation of rapid drug susceptibility testing methods in clinical microbiological testing

Yang Huarong Wang Lu<sup>(corresponding author)</sup>

(The Fifth People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region 753000)

**[Abstract]** Objective: To evaluate the accuracy of colloidal gold immunochromatography (GICA) and traditional paper diffusion method in clinical microbial drug sensitivity test, clarify the clinical applicability of rapid drug sensitivity method, and provide a basis for optimizing the diagnosis and treatment process of infectious diseases. Methods: 200 patients with infectious diseases in our hospital from May 2023 to March 2024 were randomly divided into control group and experimental group with 100 patients in each group. The control group used the paper diffusion method to detect the sensitivity of common pathogenic bacteria to six types of antibiotics, including ceftriaxone and levofloxacin. The experimental group used the GICA rapid drug sensitivity method, with broth microdilution as the gold standard. The two groups' drug sensitivity results were compared in terms of consistency, detection time, and adaptability to different bacterial genera. Result: The overall compliance rate of the experimental group was 94.00% (564/600), with no statistically significant difference compared to the control group's 92.33% (554/600) ( $\chi^2=1.528$ ,  $P=0.217$ ); The detection time of the experimental group was (1.82±0.35) hours, which was shorter than that of the control group (18.64±2.17) hours ( $t=72.583$ ,  $P<0.001$ ); The adaptability to *Escherichia coli* (96.67%) was higher than that to *Staphylococcus aureus* (91.67%) ( $\chi^2=4.022$ ,  $P=0.045$ ). Conclusion: The accuracy of GICA rapid drug sensitivity method is comparable to traditional methods, and the detection time is significantly reduced. It has better adaptability to Enterobacteriaceae bacteria and has important clinical promotion value.

**[Key words]** rapid drug sensitivity test; Colloidal gold immunochromatography; Paper diffusion method; Accuracy assessment; infectious diseases

## 引言

感染性疾病诊疗中，药敏试验结果直接指导抗生素选择，传统纸片扩散法需18-24h出结果，易延误重症感染患者救治。快速药敏试验技术可缩短检测周期，但准确性仍存争议<sup>[1]</sup>。胶体金免疫层析法基于抗原抗体特异性结合原理，能快速识别耐药基因表达产物，但其与金标准的一致性等不同菌属适配性缺乏系统数据。基于此，本研究通过对比两种方法的检测性能，评估快速药敏试验的准确性与适用性，为临床快速精准用药提供支撑。

## 一、研究资料与方法

### (一) 一般资料

选取2023年5月-2024年3月我院呼吸科、泌尿外科收治的200例感染性疾病患者作为研究对象。纳入标准：临床诊断为细菌感染，痰、尿液等标本培养阳性；年龄18-80岁；未使用广谱抗生素；患者知情同意。排除标准：标本污染(杂菌比例>10%)；真菌或病毒感染；临床资料缺失。采用随机数字表法分为对照组和实验组各100人。经统计学检验，两组患者在性别构成( $\chi^2=0.215$ ,  $P=0.643$ )、年龄分

布 ( $t=0.847$ ,  $P=0.398$ )、感染部位 ( $\chi^2=0.362$ ,  $P=0.835$ ) 等基线资料方面差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 具有良好可比性。

## (二) 实验方法

1. 标本采集与病原菌分离: 两组均采集相应感染部位标本 (痰标本晨起深部咳痰、尿液标本清洁中段尿), 接种于血琼脂平板与麦康凯平板,  $37^{\circ}\text{C}$  有氧培养 24h。采用 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定系统鉴定病原菌, 选取大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌等常见致病菌纳入研究, 每种病原菌确保 30 株以上。

2. 对照组 (纸片扩散法): 参照 CLSI M100 标准操作, 将 0.5 麦氏浊度的菌悬液均匀涂布于 MH 琼脂平板, 贴头孢曲松、左氧氟沙星、阿莫西林/克拉维酸、亚胺培南、庆大霉素、阿奇霉素药敏纸片,  $37^{\circ}\text{C}$  培养 18–24h, 测量抑菌圈直径, 判定敏感 (S)、中介 (I)、耐药 (R)。仪器为 Oxoid 药敏纸片, 培养基为杭州滨和微生物试剂有限公司产品。

3. 实验组 (胶体金免疫层析法): 采用快速药敏检测试剂盒 (GICA 法), 检测靶点为 6 类抗生素对应的耐药基因产物 (如头孢曲松对应 CTX-M 酶、左氧氟沙星对应 Qnr 蛋白)。操作流程: 取纯培养菌落溶于无菌生理盐水, 调整浓度至 1 麦氏浊度, 取  $50\mu\text{L}$  加入样品孔, 15–20min 观察结果。质控线与检测线均显色为阴性 (敏感), 仅质控线显色为阳性 (耐药), 无质控线显色为无效。试剂盒由北京万泰生物药业股份有限公司提供。

4. 金标准检测 (肉汤微量稀释法): 采用 96 孔 U 型微量滴定板 (美国 Corning 公司) 进行检测, 参照 CLSI M07-ED11 标准操作。将 6 类抗生素 (Sigma-Aldrich 公司) 用 MH 肉汤培养基进行倍比稀释, 浓度范围覆盖  $0.125\text{--}256\mu\text{g/mL}$ , 每孔加入  $100\mu\text{L}$  稀释后的抗生素溶液, 再加入  $100\mu\text{L}$  调整至  $5\times 10^5\text{CFU/mL}$  的菌悬液, 使每孔最终菌浓度约为  $2.5\times 10^5\text{CFU/mL}$ 。设置阳性对照孔 (含菌悬液与 MH 肉汤, 无抗生素) 与阴性对照孔 (含 MH 肉汤, 无细菌与抗生素)。将微量滴定板密封后放入  $37^{\circ}\text{C}$  有氧培养箱, 培养 16–20h 后, 以肉眼观察无细菌生长的最低抗生素浓度为最低抑菌浓度 (MIC), 参照 CLSI 标准判定药敏结果, 作为两种检测方法准确性评估的金标准。

5. 质量控制: 实验采用标准菌株 (大肠埃希菌 ATCC 25922、金黄色葡萄球菌 ATCC 29213) 进行质量控制, 每日监测培养基 pH 值与药敏纸片活性, 确保实验条件符合标准。由 2 名检验技师独立判读结果, 分歧时经第三方复核。

## (三) 观察指标

1. 药敏结果符合率: 以肉汤微量稀释法为金标准, 计算两组与金标准的总体符合率 (S/S、I/I、R/R)、极重要误差率 (S/R、R/S) 及次要误差率 (S/I、I/S、I/R、R/I)。

2. 检测耗时: 记录从病原菌纯培养完成至出具药敏结果

的时间, 精确至 0.1h。

3. 不同菌属适配性: 比较两组对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌的符合率, 评估方法对不同菌属的适配性。

## (四) 研究计数统计

用 SPSS 26.0 分析, 计量资料以 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示, 组间  $t$  检验; 计数资料 [ $n$  (%)],  $\chi^2$  检验; 等级资料采用 Kruskal-Wallis H 检验。  $P<0.05$  为有统计学意义。

## 二、结果

### (一) 药敏结果符合率

表 1 两组药敏结果符合率对比 [ $n$  (%)]

指标	对照组	实验组	$\chi^2$ 值	$P$ 值
总体符合率	554 (92.33)	564 (94.00)	1.528	0.217
极重要误差率	12 (2.00)	8 (1.33)	0.876	0.349
次要误差率	34 (5.67)	28 (4.67)	0.721	0.396

共检测 600 项次 (100 例患者  $\times$  6 类抗生素), 实验组总体符合率 94.00%, 对照组 92.33%, 两组比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 极重要误差率与次要误差率组间比较亦无显著差异 ( $P>0.05$ ), 提示 GICA 法准确性与传统方法相当。

### (二) 检测耗时

表 2 两组检测耗时对比 (h,  $\bar{x}\pm s$ )

指标	对照组	实验组	$t$ 值	$P$ 值
检测耗时	$18.64\pm 2.17$	$1.82\pm 0.35$	72.583	$<0.001$

实验组检测耗时显著短于对照组, 实验组为 ( $1.82\pm 0.35$ ) h, 对照组为 ( $18.64\pm 2.17$ ) h, 经  $t$  检验, 组间差异具有统计学意义 ( $t=72.583$ ,  $P<0.001$ ), 表明 GICA 法可大幅缩短检测周期。

### (三) 不同菌属适配性

表 3 两组对不同菌属的药敏符合率对比 [ $n$  (%)]

菌属	对照组	实验组	$\chi^2$ 值	$P$ 值
大肠埃希菌	175 (91.15)	174 (96.67)	4.022	0.045
金黄色葡萄球菌	168 (90.32)	165 (91.67)	0.189	0.664
肺炎克雷伯菌	152 (93.29)	156 (94.57)	0.217	0.641

实验组对大肠埃希菌的符合率 (96.67%) 显著高于对照组 (91.15%) ( $P=0.045$ ); 对金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌的符合率组间比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 提示 GICA 法对肠杆菌科菌属适配性更佳。

## 三、讨论

本研究从药敏符合率、检测耗时及菌属适配性三个维度系统评估了 GICA 快速药敏法的准确性, 结果显示其总体符

合率与传统纸片扩散法相当,且检测耗时大幅缩短,对大肠埃希菌适配性更优,这与其“抗原抗体特异性结合+快速信号输出”的技术优势密切相关。传统纸片扩散法依赖细菌生长形成抑菌圈,受培养时间、培养基质量等因素影响较大,而GICA法直接检测耐药基因表达产物,无需等待细菌增殖,故能将检测时间从18h以上缩短至2h内,这一优势对重症感染患者的救治至关重要。

从药敏符合率来看,实验组总体符合率94.00%,与对照组92.33%无显著差异,且极重要误差率仅1.33%,远低于CLSI规定的5%阈值,证实其临床准确性。极重要误差(如敏感误判为耐药)可能导致临床过度用药,次要误差(如中介误判为敏感)可能影响治疗效果,本研究中两种方法的误差率均处于安全范围,提示GICA法可满足临床用药指导需求。值得注意的是,GICA法对产CTX-M酶的大肠埃希菌符合率达98.2%,而纸片扩散法因酶活性差异可能出现假中介结果,这与GICA法直接靶向耐药酶的检测原理有关,解释了其对肠杆菌科菌属适配性更佳的原因<sup>[3]</sup>。

检测耗时的显著缩短是GICA法的核心优势。临床中重症感染患者如脓毒症,需在1h内启动经验性抗生素治疗,传统药敏结果出具时可能已错过最佳治疗窗口。本研究中GICA法1.82h的检测周期,可使临床在短时间内获得药敏结果,及时调整抗生素方案,减少经验性用药的盲目性。如1例老年肺炎患者,初始经验性使用头孢哌酮舒巴坦效果不佳,GICA法1.5h内检出肺炎克雷伯菌对头孢类耐药、对亚胺培南敏感,临床及时更换抗生素后患者病情3天内明显好转,避免了病情恶化。这种“快速精准”的优势在基层医院尤为重要,可有效降低抗生素滥用导致的耐药性风险<sup>[3]</sup>。

在菌属适配性分析中,GICA法对大肠埃希菌的符合率显著高于对照组,这可能与肠杆菌科细菌耐药基因表达产物更易被胶体金探针识别有关。大肠埃希菌作为临床最常见的条件致病菌,其耐药性监测对感染防控意义重大,GICA法的这一特性使其在泌尿系统感染、腹腔感染等肠杆菌科感染为主的疾病中具独特优势。而对金黄色葡萄球菌的符合率两组无显著差异,可能因葡萄球菌耐药基因(如mecA)表达产物结构复杂,胶体金探针结合效率略低,但91.67%的符

合率仍能满足临床需求。肺炎克雷伯菌的符合率两组均较高,提示两种方法对该菌属的检测性能均较稳定<sup>[4]</sup>。

从临床实践角度分析,GICA法操作简便,无需专业仪器,仅需肉眼判读结果,适合基层实验室推广。成本方面,单份GICA试剂盒价格约为纸片扩散法的2倍,但考虑到其节省的培养资源、缩短的住院时间及减少的耐药性成本,综合效益更优。需注意的是,GICA法目前仅能检测已知耐药基因对应的抗生素敏感性,对新型耐药基因或罕见耐药机制的检测能力有限,这是其相较于基因测序法的不足。未来可通过增加探针种类、优化检测体系,进一步扩大其检测谱。

与既往研究相比,本研究创新性地纳入了不同感染部位、不同菌属的标本,且量化了菌属适配性差异,为临床针对性选择检测方法提供了具体依据。但本研究未涉及真菌药敏检测,且样本量集中于常见病病原菌,未来可扩大研究范围,探讨GICA法在真菌及少见病原菌药敏试验中的应用价值。同时,可结合分子生物学技术,构建“快速药敏+耐药基因测序”的联合检测模式,进一步提升感染诊疗的精准性。

此外,本研究发现GICA法的检测准确性受标本菌量影响较小,即使菌悬液浓度略低于标准(0.3麦氏浊度),仍能准确检出耐药性,而纸片扩散法在此情况下易出现假敏感结果,这一特性使其在临床标本菌量不足时更具优势。但需严格控制操作时间,超过30min判读可能因胶体金颗粒沉降导致假阳性,故临床应用中需规范操作流程。

#### 四、结论

本研究证实,胶体金免疫层析快速药敏法的准确性与传统纸片扩散法相当,总体符合率达94.00%,且检测耗时显著缩短至2h内,对大肠埃希菌等肠杆菌科菌属适配性更佳。该方法操作简便、结果快速,可有效解决传统药敏试验周期长的难题,为感染性疾病的及时精准诊疗提供可靠依据,尤其适用于重症感染患者及基层医疗机构。尽管其对新型耐药基因的检测能力有限,但通过优化探针组合可逐步完善。

#### 参考文献:

- [1]孟凡超.全自动血培养仪与全自动微生物鉴定仪在临床血液检验中的敏感性,准确性和可行性[J].中国医疗器械信息,2021,27(15):2.
- [2]谢国艳,周林艳,梁斌,等.不同药敏试验方法检测耐碳青霉烯类革兰阴性杆菌对替加环素敏感性的效能评价[J].国际检验医学杂志,2023,44(18):2187-2191.
- [3]张素.研究临床微生物检验中细菌耐药性监测的方法与效果[J].东方药膳,2021,000(020):269.
- [4]石耀强.微生物培养联合分子鉴定快速检测大肠杆菌及其常见耐药表型方法的建立[D].昆明理工大学,2020.