

评估纸片扩散法与Vitek-2 Compact仪器法检测洋葱伯克霍尔德菌体外药物敏感性

茅国峰 梁美春

【摘要】目的 评估纸片扩散法与Vitek-2 Compact仪器法检测洋葱伯克霍尔德菌体外药敏试验的可靠性。**方法** 收集2017年1月至2017年12月绍兴市人民医院临床分离到的34株洋葱伯克霍尔德菌,分别采用纸片扩散法、Vitek-2 Compact仪器法和微量肉汤稀释法检测其对头孢他啶、复方磺胺甲噁唑、左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦、替加环素、美罗培南、氯霉素、米诺环素和头孢哌酮/舒巴坦共9种抗菌药物的体外敏感性。以微量肉汤稀释法为参考方法,分别评估纸片扩散法、Vitek-2 Compact仪器法与参考方法的分类一致率(CA%)。**结果** 微量肉汤稀释法检测头孢他啶、复方磺胺甲噁唑、左氧氟沙星、美罗培南和氯霉素5种抗菌药物95%可信区间(95%CI)分别为6.2~13.2、0.5~0.8、3.8~6.3、3.7~7.3和5.0~10.0;纸片扩散法检测头孢他啶、复方磺胺甲噁唑、替加环素、氯霉素和米诺环素的体外敏感性结果与参考方法一致率均>90%;Vitek-2 Compact检测头孢他啶、复方磺胺甲噁唑和左氧氟沙星的体外敏感性结果与参考方法的一致率均>90%;纸片扩散法和Vitek-2 Compact仪器法检测哌拉西林/他唑巴坦体外敏感性与参考方法一致率最低,均<80%;Vitek-2 Compact检测替加环素的大错误(ME)为50%;以微量肉汤稀释法为标准,体外敏感性最好的抗菌药物为复方磺胺甲噁唑和米诺环素(均为100%),敏感性最差的抗菌药物为左氧氟沙星(38.2%)。**结论** 纸片扩散法和Vitek-2 Compact仪器法检测洋葱伯克霍尔德菌体外药物敏感性,对头孢他啶和复方磺胺甲噁唑均具有较好的可靠性;应用纸片扩散法检测哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮/舒巴坦的药物敏感性时,应注意可能出现极大错误(VME)及ME。

【关键词】 洋葱伯克霍尔德菌;纸片扩散法;Vitek-2;微量肉汤稀释法;一致率

The capabilities of disc diffusion and Vitek-2 Compact methods for testing antimicrobial susceptibility of *Burkholderia cepacia* Mao Guofeng, Liang Meichun. Department of Clinical Laboratory, Shaoxing People's Hospital, Shaoxing 312000, China

Corresponding author: Mao Guofeng, Email: gfmamao@126.com

【Abstract】Objective To evaluate the capabilities of disc diffusion and Vitek-2 Compact methods for testing antimicrobial susceptibility of *Burkholderia cepacia*. **Methods** Total of 34 isolates of *Burkholderia cepacia* were collected from January 2017 to December 2017 in Shaoxing People's Hospital, the vitro minimum inhibition concentration (MIC) values of ceftazidime, compound sulfamethoxazole, levofloxacin, piperacillin/tazobactam, tetracycline, meropenem, chloramphenicol, minocycline and ceftazidime/sulbactam were detected by disc diffusion method, Vitek-2 Compact method and broth microdilution method, respectively. Categorical agreement (CA) rates of disc diffusion and Vitek-2 Compact methods were determined, taking broth microdilution method as the reference method. **Results** The 95% confidence intervals (95%CI) of ceftazidime, compound sulfamethoxazole, levofloxacin, meropenem and chloramphenicol were 6.2-13.2, 0.5-0.8, 3.8-6.3, 3.7-7.3 and 5.0-10.0, respectively, detected by broth microdilution method. The CA values of disc diffusion for ceftazidime, compound sulfamethoxazole, tigocycline, chloramphenicol and minocycline antibiotics were all > 90%, compared with broth microdilution method, Disc diffusion method and Vitek-2 Compact method were taken to detect the sensitivity of piperacillin/tazobactam in vitro, and the rate of agreement with reference method was the lowest, all < 80%. The major error (ME) of Vitek-2 Compact for detection of Tegafycline was 50%. Taken the broth microdilution method as the standard, the

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2018.06.010

基金项目: 浙江省医药卫生研究面上项目 (No. 2018KY826)

作者单位: 312000 绍兴市, 绍兴市人民医院检验科

通信作者: 茅国峰, Email: gfmamao@126.com

best antimicrobial agent in vitro was compound sulfamethoxazole and minocycline (all 100%), and the most sensitive antibacterials were levofloxacin (38.2%). **Conclusions** The drug sensitivity of *Burkholderia cepacia* detected by disk diffusion method and Vitek-2 Compact instrument method both had good reliability to ceftazidime and compound sulfamethoxazole. Attention should be paid to the possible occurrence of very major error (VME) and ME, when antimicrobial susceptibility of piperacillin/tazobactam and cefoperazone/sulbactam were detected by disk diffusion method.

【Key words】 *Burkholderia cepacia*; Disc diffusion method; Vitek-2; Broth microdilution method; Categorical agreement

洋葱伯克霍尔德菌 (*Burkholderia cepacia*, BC) 是引起机体组织囊性纤维化的重要条件致病菌, 也是医院感染的重要病原菌之一^[1-2], 可引起多种医院内感染, 包括血流感染、细菌性心内膜炎、肺炎、伤口感染、脓肿和眼结膜炎等^[3-4]。近年来, 该菌在临床分离率越来越高, 在非酵菌中仅次于铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌和嗜麦芽窄食单胞菌, 位居第4位^[5]。洋葱伯克霍尔德菌耐药机制复杂, 对多种抗菌药物具有较高的耐药率, 准确检测其药敏结果可为临床诊治起到重要作用。按照美国临床和实验室标准化委员会 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 规范, 该菌的药敏试验方法包括纸片扩散法 (Kirby-Bauer, K-B法) 和最低抑菌浓度法 (minimum inhibitory concentration, MIC), 且部分抗菌药物仅适用于 MIC法检测。

为证实现用方法的准确性和可靠性, 本研究采用微量肉汤稀释法作为参考方法, 对实验室常用的K-B法和VITEK-2 Compact仪器法的可靠性进行了评估。旨在为临床微生物实验室常规工作的改进提供重要信息, 报道如下。

资料和方法

一、菌株来源

34株临床分离的洋葱伯克霍尔德菌来自绍兴市人民医院, 收集时间为2017年1月至2017年12月, 样本类型包括血液、尿液、痰液和引流液等, 菌株均经VITEK-2 Compact全自动细菌鉴定仪及PCR确定。质控菌株大肠埃希菌ATCC 25922和铜绿假单胞菌ATCC 27853均购自卫生部临床检验中心。

二、试剂和仪器

VITEK-2 Compact全自动细菌鉴定仪及其配套的VITEK2 GN鉴定卡和AST-GN16 (GN13) 药敏卡、血琼脂平板、MH琼脂平板 (法国生物梅里埃

公司); 微量肉汤稀释法试剂盒 (温州康泰生物科技有限公司); 药敏纸片 (英国OXOID公司); PCR仪 (德国Biometra公司); Taq酶及PCR反应相关试剂 (日本TaKaRa公司); 紫外成像系统 (德国Whatman Biometra公司)。

三、菌种的生化鉴定

菌种的生化鉴定采用法国生物梅里埃公司生产的Vitek-2 Compact全自动细菌鉴定仪及其配套的GN鉴定卡, 按照仪器的操作手册进行。

四、细菌的PCR鉴定

hisA基因扩增参数参考文献^[6]进行, DNA提取用煮沸法。扩增产物送至上海生工生物工程有限公司进行测序, 测序结果与GenBank数据库进行比对, 98%以上者符合率确定为洋葱伯克霍尔德复合体。

五、体外药敏试验

KB法、仪器法和微量肉汤稀释法按照说明书和操作规程检测。共检测9种抗菌药物包括头孢他啶、复方磺胺甲噁唑、左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦、替加环素、美罗培南、氯霉素、米诺环素和头孢哌酮/舒巴坦的体外敏感性。

结果按CLSI 2017标准判断, 其中左氧氟沙星KB法折点参照嗜麦芽窄食单胞菌标准; 氯霉素KB法折点参照肠杆菌科标准; 头孢哌酮/舒巴坦KB法和MIC折点参照肠杆菌科标准; 哌拉西林/他唑巴坦KB法和MIC折点参照不动杆菌标准; 替加环素KB法和MIC折点参照FDA不动杆菌标准。仪器法检测复方磺胺甲噁唑、左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦、替加环素四种抗菌药物MIC采用AST GN-16卡, 仪器法检测头孢他啶MIC采用AST GN-13卡。结果分为3级: 敏感 (S)、中介 (I) 和耐药 (R)。

六、相关定义

1. 极大错误 (very major error, VME): 参考方法判读为耐药, 待测方法为敏感。

2. 大错误 (major error, ME): 参考方法判

读为敏感,待测方法为耐药。

3. 小错误(minor error, MIE): 任何一方为中介,另一方为敏感或耐药^[7]。

4. 分类一致性(categorical agreement, CA): 待测方法与参考方法判读结果的一致性,如二者均判读为敏感、中介或耐药。

七、统计学处理

为控制抽样误差产生的影响,本研究采用SPSS 19.0进行95%可信区间(95%CI)分析,5%为小概率事件,故认为总体均数在95%可信区间内;药敏数据分析采用Whonet 5.6软件。当待测方法与参考方法的比对结果完全满足以下要求时,则为可接受: $VME < 1.5\%$ 、 $ME < 3\%$ 、 $VME+ME < 5\%$ 、 $VME + ME + MIE < 10\%$ (即 $CA\% > 90\%$)^[8]。

结 果

一、纸片扩散法、Vitek-2 Compact仪器法与微量肉汤稀释法结果间差异

9种抗菌药物中,复方磺胺甲噁唑的一致性最好,3种方法检测34株细菌结果全部一致;其次为米诺环素,仅1株细菌检测结果不一致,哌拉西林/他唑巴坦检测结果不一致的菌株最多,共有22株细菌,见表1;KB法和MIC法判定折点见表2。

二、3种药敏检测方法95%可信区间

本研究采用95% 95%CI来控制抽样误差的影响,9种抗菌药物纸片扩散法、Vitek-2 Compact仪

器法与微量肉汤稀释法95% CI分析结果见表3。

三、纸片扩散法测定洋葱伯克霍尔德菌体外药敏的可靠性

以微量肉汤稀释法作为参考方法,纸片扩散法测定复方磺胺甲噁唑、头孢他啶、替加环素、氯霉素、米诺环素5种抗菌药物的CA较高,均大于90%。哌拉西林/他唑巴坦的CA最低,仅为61.8%。

在测定的9种抗菌药物中,哌拉西林/他唑巴坦的VME最高,为29.4%,左氧氟沙星和头孢哌酮/舒巴坦的VME均为2.9%,美罗培南的MIE为14.7%,见表4。

四、Vitek-2 Compact仪器法测定洋葱伯克霍尔德菌体外药敏的可靠性

以微量肉汤稀释法作为参考方法,Vitek-2 Compact仪器法测定复方磺胺甲噁唑、头孢他啶和左氧氟沙星3种抗菌药物的CA最高,均> 90%,替加环素的CA最低,仅32.4%。

在测定的5种抗菌药物中,左氧氟沙星的VME为2.9%,哌拉西林/他唑巴坦和替加环素的ME分别为29.4%和50.0%,替加环素的MIE为17.6%,见表4。

五、洋葱伯克霍尔德菌体外药敏试验

以微量肉汤稀释法为标准,9种抗菌药物中,体外敏感性最好的是复方磺胺甲噁唑和米诺环素,均为100%, MIC_{90} 分别为1 $\mu\text{g/ml}$ 和4 $\mu\text{g/ml}$;敏感性最差的为左氧氟沙星(仅38.2%), MIC_{90} 为32 $\mu\text{g/ml}$,见表5。

表1 纸片扩散法、Vitek-2 Compact 仪器法、E-test 法与微量肉汤稀释法结果

抗菌药物	样本 编号	KB法		VITEK-2法		微量肉汤稀释法
		结果判读	解释	结果判读	解释	结果判读
头孢他啶	9	S	MIE	R	MIE	I
	10	S	MIE	R	MIE	I
	13	I	—	R	MIE	I
	17	S	MIE	I	—	I
	21	S	MIE	I	—	I
	24	S	—	S	—	S
	25	S	—	S	—	S
左氧氟沙星	8	R	—	I	MIE	R
	10	S	MIE	I	—	I
	15	S	VME	S	VME	R
	25	R	—	R	—	R
	28	S	MIE	I	—	I
	31	I	MIE	I	MIE	S

续表 1

哌拉西林/他唑巴坦	1	S	VME	R	—	R
	3	I	MIE	R	—	R
	5	S	—	R	ME	S
	7	S	VME	R	—	R
	9	S	VME	R	—	R
	10	S	VME	R	—	R
	11	S	—	R	ME	S
	14	R	ME	R	ME	S
	15	S	—	R	ME	S
	16	S	—	R	ME	S
	17	S	VME	R	—	R
	18	S	—	R	ME	S
	19	S	VME	R	—	R
	20	S	—	R	ME	S
	21	S	—	R	ME	S
	22	S	—	R	ME	S
	23	S	—	R	ME	S
	24	S	VME	R	—	R
	25	S	VME	R	—	R
	26	S	VME	R	—	R
	27	S	VME	R	—	R
	31	I	MIE	R	—	R
替加环素	8	I	—	R	MIE	I
	21	I	MIE	R	ME	S
	22	S	—	I	MIE	S
	26	I	MIE	R	ME	S
	27	S	—	R	ME	S
	28	I	MIE	S	—	S
	30	S	—	R	ME	S
	33	I	—	R	MIE	I
美罗培南	34	I	—	R	MIE	I
	2	I	MIE	—	—	R
	8	R	ME	—	—	S
	10	S	MIE	—	—	I
	15	S	MIE	—	—	I
	22	S	MIE	—	—	I
	24	S	—	—	—	S
	25	S	MIE	—	—	I
氯霉素	31	S	—	—	—	S
	33	S	—	—	—	S
	5	S	—	—	—	S
	12	S	—	—	—	S
	19	S	—	—	—	S
米诺环素	23	I	MIE	—	—	R
	28	I	MIE	—	—	R
	8	I	MIE	—	—	S
头孢哌酮/舒巴坦	15	S	—	—	—	S
	7	S	MIE	—	—	I
	14	I	—	—	—	I
	21	R	ME	—	—	S
	24	S	MIE	—	—	I
	25	S	—	—	—	S
	26	S	VME	—	—	R
	28	S	MIE	—	—	I

注：“—”代表检测方法结果与参考方法结果一致；R：耐药；I：中介；S：敏感。纸片扩散法、Vitek-2 Compact 与微量肉汤稀释法的复方磺胺甲噁唑 CA% 均为 100%，故未在表格中显示；微量肉汤稀释法为参考方法，故无“解释”列数据

表2 洋葱伯克霍尔德菌 KB 法和 MIC 法判定折点

抗菌药物	纸片含量 (μg)	纸片扩散法 (mm)			MIC法 ($\mu\text{g/ml}$)		
		S	I	R	S	I	R
头孢他啶	30	≥ 21	18~20	≤ 17	≤ 8	16	≥ 32
美罗培南	10	≥ 20	16~19	≤ 15	≤ 4	8	≥ 16
米诺环素	30	≥ 19	15~18	≤ 14	≤ 4	8	≥ 16
左氧氟沙星	5	≥ 17	14~16	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8
复方磺胺甲噁唑	25	≥ 16	11~15	≤ 10	$\leq 2/38$...	$\geq 4/76$
氯霉素	30	≥ 18	13~17	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32
头孢哌酮舒巴坦	105	≥ 21	16~20	≤ 15	$\leq 16/4$	32/4	$\geq 64/4$
哌拉西林他唑巴坦	110	≥ 21	18~20	≤ 17	$\leq 16/4$	32/4~64/4	$\geq 128/4$
替加环素	15	≥ 16	13~15	≤ 12	≤ 2	4	≥ 8

注：复方磺胺甲噁唑、头孢哌酮舒巴坦和哌拉西林他唑巴坦为复合抗菌药物，MIC 法中的折点分子和分母的数值分别代表复合制剂的两种药物折点，但一般以分子的数值作为该抗菌药物的折点

表3 三种药敏方法检测 9 种抗菌药物 95%CI

检测方法	头孢他啶	美罗培南	复方磺胺甲噁唑	左氧氟沙星	氯霉素
纸片扩散法 (mm)	26.4~35.1	23.3~32.1	26.4~33.7	12.3~21.8	25.8~32.2
仪器法 ($\mu\text{g/ml}$)	8.8~23.8	ND	1.1~1.5	3.6~6.0	ND
微量肉汤稀释法 ($\mu\text{g/ml}$)	6.2~13.2	3.7~7.3	0.5~0.8	3.8~6.3	5.0~10.0
检测方法	米诺环素	头孢哌酮舒巴坦	哌拉西林他唑巴坦	替加环素	
纸片扩散法 (mm)	25.8~32.5	18.3~30.8	25.2~36.3	16.1~17.8	
仪器法 ($\mu\text{g/ml}$)	ND	ND	39.4~82.3	5.0~6.0	
微量肉汤稀释法 ($\mu\text{g/ml}$)	1.1~2.1	38.9~101.3	61.9~128.3	1.0~2.1	

注：ND：无检测结果

表4 以微量肉汤法为参考纸片扩散法和 VITEK-2 仪器法的一致率和错误率 (%)

抗菌药物	纸片扩散法				VITEK-2 仪器法			
	CA	VME	ME	MIE	CA	VME	ME	MIE
头孢他啶	91.2	0.0	0.0	8.8	91.2	0.0	0.0	8.8
复方磺胺甲噁唑	100.0	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0
左氧氟沙星	88.2	2.9	0.0	8.8	91.2	2.9	0.0	5.9
哌拉西林/他唑巴坦	61.8	29.4	2.9	5.9	70.6	0.0	29.4	0.0
替加环素	91.2	0.0	0.0	8.8	32.4	0.0	50.0	17.6
美罗培南	82.4	0.0	2.9	14.7	ND	ND	ND	ND
氯霉素	94.1	0.0	0.0	5.9	ND	ND	ND	ND
米诺环素	97.1	0.0	0.0	2.9	ND	ND	ND	ND
头孢哌酮/舒巴坦	85.3	2.9	2.9	8.8	ND	ND	ND	ND

表5 洋葱伯克霍尔德菌体外药敏试验

抗菌药物	敏感率 (%)	中介率 (%)	耐药率 (%)	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g/ml}$)	MIC范围 ($\mu\text{g/ml}$)
头孢他啶	64.7	23.5	11.8	8	32	0.25~32
复方磺胺甲噁唑	100.0	0.0	0.0	0.5	1	0.016~2
左氧氟沙星	38.2	5.9	55.9	8	32	0.25~> 32
哌拉西林他唑巴坦	41.2	0.0	58.8	128	256	< 0.125~> 256
替加环素	85.3	11.8	2.9	1	4	0.125~32
美罗培南	61.8	23.5	14.7	4	16	0.125~32
氯霉素	91.2	2.9	5.9	8	8	< 0.064~> 256
米诺环素	100.0	0.0	0.0	1	4	0.064~4
头孢哌酮舒巴坦	47.0	11.8	41.2	32	256	< 0.125~256

讨 论

准确报告病原菌对抗菌药物的敏感性是临床微生物实验室的主要工作之一,做好抗菌药物敏感性试验必须依照标准的方法,及时准确报告药物敏感性结果,指导临床合理使用抗菌药物。有效微生物培养和正确药敏试验结果报告是临床实验室实验后质量控制的重要一环,也是正确选择抗菌药物进行更有效治疗的基础^[9-10]。

本研究首先采用全自动细菌鉴定仪进行生化反应鉴定,然后通过PCR扩增和测序保证所有菌株均为洋葱伯克霍尔德菌。目前实验室用于测定菌株对抗菌药物体外敏感性实验的方法主要有纸片扩散法^[11]、自动化仪器法和微量肉汤稀释法^[12]。肉汤稀释法为参考方法,检测结果虽然准确但过程繁琐,检测步骤及检测要求较为严苛,不适于临床大量开展^[13]。因此评估纸片扩散法、自动化仪器法与肉汤稀释法的一致性尤为重要。

2017年CLSI中^[14]规定洋葱伯克霍尔德菌7种抗菌药物(头孢他啶、复方磺胺甲噁唑、左氧氟沙星、米诺环素、美罗培南、氯霉素和替卡西林/克拉维酸)的药敏折点,其中氯霉素、左氧氟沙星和替卡西林/克拉维酸只能用MIC的方法进行检测,而无KB法的折点。因此,特定抗菌药物敏感性试验只能用特定方法,如果某一种抗菌药物混用不同的方法学检测,可能导致检测结果不准确。

纸片扩散法在抗菌药物选择上具有简单方便、低价灵活的特点,被世界卫生组织推荐为定性药敏试验的基本方法,在临床微生物实验室中广泛使用。对洋葱伯克霍尔德菌,CLSI标准中无左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦、替加环素、氯霉素和头孢哌酮舒巴坦的KB法折点。本研究中左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦、美罗培南和头孢哌酮舒巴坦的CA均<90%,左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮舒巴坦的VME均>1.5%,哌拉西林/他唑巴坦的VME更是高达29.4%,提示部分抗菌药物不适合用纸片扩散法进行体外药敏试验,结论与文献报道相似^[15]。

Vitek-2 Compact为目前在临床微生物实验室相对较普及的商品化鉴定及药敏系统,虽然在鉴定洋葱伯克霍尔德菌时存在一定缺陷,包括准确性和灵敏度等^[16-17],但其药敏板可同时测定多种常用抗菌药物,操作简单快速,临床医生可参考可靠的药敏

试验结果进行经验性治疗^[18-19]。多项研究已证实,Vitek-2在测定临床常用抗菌药物的体外药物敏感性及相关耐药表型方面具有很好的可靠性,在临床广泛使用^[20-22]。但洋葱伯克霍尔德菌作为一种相对少见的革兰阴性杆菌,Vitek-2 Compact检测其药物敏感性的准确性一直未有明确结论。本研究中哌拉西林/他唑巴坦的ME接近30%,替加环素的ME高达50%,在AST GN16卡的使用说明书中,明确提到不动杆菌检测哌拉西林/他唑巴坦药敏时应该用其他方法复核,而肠杆菌科细菌检测替加环素时也应该用其他方法复核。本研究也初步验证了用该药敏卡检测洋葱伯克霍尔德菌药敏时可能会导致哌拉西林/他唑巴坦和替加环素结果不准确,因此微生物实验室用Vitek-2检测这两种抗菌药物敏感性时应谨慎报告结果。

以微量肉汤稀释法为标准,本研究中洋葱伯克霍尔德菌对多种抗菌药物显示了较高耐药率,除复方磺胺甲噁唑、米诺环素、替加环素和氯霉素外,其他5种抗菌药物敏感率均低于70%,复方磺胺甲噁唑和米诺环素敏感性最佳,均为100%,与文献报道一致^[23-25]。

综上所述,无论是应用纸片扩散法还是Vitek-2 Compact仪器法检测洋葱伯克霍尔德菌体外药物敏感性,对头孢他啶和复方磺胺甲噁唑均具有较好的可靠性,纸片扩散法检测哌拉西林/他唑巴坦和头孢哌酮/舒巴坦时,应注意可能出现VME及ME。但因本研究纳入的菌株数量较少,考虑到抽样误差对结果的影响,通过参数估算出3种方法检测药敏结果的可信区间,使其能包含未知的总体参数,为使研究结果更准确可靠,尚待增加菌株数量以作进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Orhan B. An opportunistic pathogen frequently isolated from immunocompromised patients: *Burkholderia cepacia* complex[J]. Mikrobiyol Bul,2012,46(2):304-318.
- [2] Fazli M, Almblad H, Rybke ML, et al. Regulation of biofilm formation in *Pseudomonas* and *Burkholderia* species[J]. Environ Microbiol,2014,16(7):1961-1981.
- [3] Kuzumoto K, Kubota N, Ishii K, et al. Successful cessation of transmitting healthcare-associated infections due to *Burkholderia cepacia* complex in a neonatal intensive care unit in a Japanese children's hospital[J]. Eur J Med Res,2011,16(2):537-542.
- [4] Liao CH, Chang HT, Lai CC, et al. Clinical characteristics and outcomes of patients with *Burkholderia cepacia* bacteremia in an intensive care unit[J]. Diagn Microbiol Infect Dis,2011,70(2):260-266.

- [5] 胡付品, 郭燕, 朱德妹, 等. 2016年中国CHINET细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2017, 17(5): 481-491.
- [6] Papaleo MC, Perrin E, Maida I, et al. Identification of species of the *Burkholderia cepacia* complex by sequence analysis of the *hisA* gene[J]. J Med Microbiol, 2010, 59(Pt 10): 1163-1170.
- [7] Tatman-Otkun M, Gtircan S, Ozer B, et al. The antimicrobial susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates using three different methods and their genetic relatedness[J]. BMC Microbiol, 2005, 12(5): 24-29.
- [8] Kuper KM, Boles DM, Mohr JF, et al. Antimicrobial susceptibility testing: a primer for clinicians[J]. Phannaeotherapy, 2009, 29(11): 1326-1343.
- [9] Justesen US, Acar Z, Olsson K, et al. Comparison of Rosco Neo-Sensitabs with Oxoid paper disks in EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing on Mueller-Hinton agar[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2013, 32(5): 621-625.
- [10] 覃琼英, 车汉荣. 浅谈微生物药敏试验报告解读[J]. 检验医学与临床, 2017, 17(增刊 I): 402-403.
- [11] Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard-eleventh edition[S]. CLSI document. M02-A11. Wayne, PA: CLSI, 2012: 12-13.
- [12] Clinical and Laboratory Standard Institute. Methods for Dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard-ninth edition[S]. CLSI document. M07-A9. Wayne, PA: CLSI, 2012: 16-19.
- [13] Andrea S, Angela M, Elizabeth T, et al. Spontaneous and evolutionary changes in the antibiotic resistance of *Burkholderia cenocepacia* observed by global gene expression analysis[J]. BMC Genomics, 2011, 12(2): 373-390.
- [14] Clinical and Laboratory Standard Institute. M100-S27. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-third informational supplement[S]. CLSI document M100-S27. Wayne, PA: CLSI, 2017: 46.
- [15] Lorena F, Corrêa C, Nianinni NA, et al. In vitro susceptibility of *Burkholderia cepacia* complex isolates: Comparison of disk diffusion, Etest, agar dilution, and broth microdilution methods[J]. Diagn Microb Inf Dis, 2016, 15(8): 422-427.
- [16] Oderiz S, Palau MJ, Del Palacio P, et al. Evaluation of commercial systems VITEK 2 and API 20NE for identification of *Burkholderia cepacia* complex bacteria from clinical samples[J]. Rev Argent Microbiol, 2011, 43(3): 168-175.
- [17] Kiratisin P, Santanirand P, Chantratita N, et al. Accuracy of commercial systems for identification of *Burkholderia pseudomallei* versus *Burkholderia cepacia*[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007, 59(3): 277-281.
- [18] Tekintaş Y, Çilli F, Eraz B et al. Comparison of phenotypic methods and polymerase chain reaction for the detection of carbapenemase production in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates[J]. Mikrobiyol Bul, 2017, 51(3): 269-276.
- [19] 康凤凤, 黄钰竹, 王薇, 等. 美国CLSI M52商品化微生物鉴定和药敏试验系统的验证后质量保证[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(11): 866-867.
- [20] Nath R, Bora R, Borkakoty B, et al. Clinically relevant yeast species identified by sequencing the internal transcribed spacer region of r-RNA gene and Vitek 2 compact (YST card) commercial identification system: Experience in a Tertiary Care Hospital in Assam, Northeast India[J]. Indian J Med Microbiol, 2017, 35(4): 588-592.
- [21] Stefaniuk E, Baraniak A, Fortuna M, et al. Usefulness of CHROMagar Candida Medium, biochemical methods--API ID32C and VITEK 2 Compact and two MALDI-TOF MS systems for *Candida spp.* identification[J]. Pol J Microbiol, 2016, 65(1): 111-114.
- [22] Bemer P, Juvin ME, Le Gargasson G, et al. Correlation between the VITEK-2 system and cefoxitin disk diffusion for the daily detection of oxacillin resistance in a large number of clinical *Staphylococcus aureus* isolates[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2010, 29(6): 745-747.
- [23] 刘亚丽, 张戈, 徐英春, 等. 5种国产与进口E-test药敏条的一致性比较[J]. 临床检验杂志, 2016, 34(11): 827-830.
- [24] Abbott Felicity K, Milne Kathleen EN, Stead David A, et al. Combination antimicrobial susceptibility testing of *Burkholderia cepacia* complex: significance of species[J]. Int J Antimicrob Agents, 2016, 20(7): 35-40.
- [25] Flamm RK, Castanheira M, Streit JM, et al. Minocycline activity tested against *Acinetobacter baumannii* complex, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia* species complex isolates from a global surveillance program (2013) [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2016, 85(3): 352-355.

(收稿日期: 2018-05-04)

(本文编辑: 孙荣华)

茅国峰, 梁美春. 评估纸片扩散法与 Vitek-2 Compact 仪器法检测洋葱伯克霍尔德菌体外药物敏感性[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2018, 12(6): 570-576.