

• 论 著 •

糖尿病足深部溃疡患者厌氧菌分离鉴定的价值

康俊辉

(湖北医药学院附属襄阳医院/襄阳市第一人民医院检验科,湖北襄阳 441000)

摘要:目的 探讨糖尿病足深部溃疡感染患者厌氧菌的感染情况,同时进行临床价值分析。方法 对襄阳市第一人民医院 2012~2015 年收治的 87 例糖尿病足深部溃疡感染患者的标本进行细菌涂片、普通及厌氧培养鉴定。结果 细菌涂片 81 例阳性,普通培养 67 例阳性,厌氧培养阳性 17 例。结论 糖尿病足深部溃疡感染患者存在厌氧菌感染,做普通细菌培养时应同时做厌氧菌的培养。采样不当,送检不及时,培养前使用抗菌药物,厌氧条件控制不好等易影响厌氧培养的阳性率。

关键词:糖尿病足; 厌氧菌; 分离鉴定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.04.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)04-0461-02

The value of isolation and identification of anaerobic bacteria causing diabetic foot deep ulcers

Kang Junhui

(Department of Clinical Laboratory, Xiangyang Hospital Affiliated to Hubei University of Medicine/the First People's Hospital of Xiangyang, Xiangyang, Hubei 441000, China)

Abstract: Objective To investigate the deep ulcer infection of anaerobic bacteria in patients with diabetic foot, while make clinical value analysis. Methods 87 specimens collected from the patients with deep ulcers of diabetic foot were performed by bacteriological smear and bacterial culture respectively. Results The bacteriological smear positive cases were 81, the aerobic culture positive cases were 67 and the anaerobic culture positive cases were 17. Conclusion The deep ulcers of diabetic foot often are infected by anaerobic bacteria. Aerobic culture and anaerobic culture are both necessary to define the pathogen. It must be noted that the anaerobic culture positive rate would be interfered by incorrect sampling, no timely examination, using antibiotics and incorrect culture conditions.

Key words: diabetic foot; anaerobic bacteria; isolation and identification

糖尿病足是糖尿病患者由于合并神经病变及各种不同程度末梢血管病变而导致下肢感染、溃疡形成和(或)深部组织的破坏^[1],严重威胁着糖尿病患者的健康。如何有效控制感染、尽快愈合溃疡面是治疗糖尿病足的关键,故病原菌的分离培养及药敏试验就显得尤为重要。临床上常常只做普通细菌培养,而三级及以上糖尿病足患者的标本常有腐败及恶臭味,但培养结果是阴性,笔者常怀疑有厌氧菌的存在,对近 3 年本院糖尿病足感染病例同时进行了厌氧菌的培养,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 1 月至 2015 年 1 月在本院住院的 87 例糖尿病足患者,均符合 1997 年美国糖尿病学会(ADA)制定的糖尿病诊断标准,糖尿病足按 Wagner 病变分级^[2]分为 1 级 0 例、2 级 39 例、3 级 33 例、4 级 28 例和 5 级 2 例。

1.2 仪器与试剂 法国生物梅里埃公司生产的 VITEK-32 全自动微生物分析仪,厌氧菌培养袋。培养基为营养肉汤、血平板、Oxoid 厌氧肉汤、厌氧琼脂平板(新鲜配制)。法国生物梅里埃公司 API 20A 厌氧菌鉴定系统。

1.3 方法 对糖尿病足浅表创面先用无菌盐水冲洗,再用无菌棉拭子擦拭取样,此种标本只做普通培养。深部的脓腔用无菌针筒取样,尽量不要吸入空气,立刻送检,按要求将该标本接种于厌氧肉汤或厌氧血琼脂平板上,另外接种一份普通营养肉汤或血平板上,分别放于厌氧袋或普通培养箱中。菌株鉴定:常规细菌培养阳性者立即进行革兰染色,同时采用 VITEK-32 全自动细菌分析系统进行菌种鉴定。厌氧菌:经 35℃ 厌氧培

养 2 d 后,若有细菌生长,挑取平板内一种或多种形态的菌落分别做染色镜检、耐氧试验和纯种分离。纯种分离培养 2 d 后,取耐氧试验不生长的专性厌氧菌,应用法国生物梅里埃公司生产的 API 20A 鉴定系统做出厌氧菌菌种的鉴定。

2 结果

87 例糖尿病足溃疡标本中,细菌涂片阳性 81 例。普通培养分离出病原菌 67 株,阳性率为 77.0%,其中革兰阳性菌 41 株(59.2%)、革兰阴性菌 21 株(32.4%)、真菌 5 株(8.4%),革兰阳性菌以表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、粪肠球菌及链球菌属为多,革兰阴性菌以变形菌属、大肠埃希菌、假单胞菌属为多。厌氧菌培养共分离出 17 株厌氧菌,阳性率为 20%,经鉴定归 4 属,记 6 个种。其中拟杆菌属中的脆弱类杆菌 7 株、产黑色素拟杆菌 4 株、真杆菌属的迟缓真杆菌 3 株、韦荣球菌属的细小韦荣球菌 2 株。梭状芽孢菌属的产气荚膜梭菌 1 株。87 例患者中,单一菌感染 32 例(45.07%),其中单一厌氧菌感染 6 例;混合菌感染(同时检出 2 种及以上细菌)29 例(40.85%),同时分离出需氧菌和厌氧菌 11 例,其中 Wagner 分级大于或等于 3 级糖尿病足患者 24 例(82.76%)。病原菌检出情况见表 1。

表 1 糖尿病足感染菌的分布

病原菌	株数(n)	构成比(%)
球菌类	41	48.8
表皮葡萄球菌	14	16.7
金黄色葡萄球菌	11	13.1

续表 1 糖尿病足感染菌的分布

病原菌	株数(n)	构成比(%)
粪肠球菌	8	9.5
链球菌	7	8.3
微球菌属	1	1.2
杆菌类	21	25.0
变形杆菌	8	9.5
大肠埃希菌	6	7.1
假单胞菌属	5	6.0
肺炎克雷伯菌	2	2.4
真菌类	5	6.0
白色假丝酵母菌	5	6.0
厌氧菌	17	20.2
脆弱类杆菌	7	8.3
产黑色素拟杆菌	4	4.8
迟缓真杆菌	3	3.6
细小韦荣球菌	2	2.4
产气荚膜梭菌	1	1.2
合计	84	100.0

3 讨论

糖尿病患者由于代谢紊乱而处于免疫妥协状态,易感染不易控制。本研究发现糖尿病足混合感染较为常见,尤其是 Wagner 分级大于或等于 3 级糖尿病患者(83.3%),这可能与糖尿病足部感染的特征有关,血糖升高,溃疡处组织形成有利于细菌生长的环境,同时高血糖使免疫功能下降,致使患者在一般情况下更易发生感染,而感染有时患者免疫力进一步下降,进而出现混合感染和条件致病菌感染^[3],而在糖尿病足溃疡创口较深和坏疽时组织容易缺血缺氧,有利于厌氧菌的生长。

根据本医院送检的糖尿病足溃疡标本细菌培养结果可以看出,尽管糖尿病足感染的病原菌中以需氧菌为主,与有关报告一致^[4-5],但是厌氧菌的感染已达到 17 例,占病原菌的 20.23%,并且单纯的厌氧菌感染也有 6 例。如果临床上只将标本进行普通细菌培养,而忽略了厌氧培养,就有可能有大约

20%的病例被误诊或漏诊,患者将无法得到最有效的治疗,以致延误病情。如果厌氧培养能和普通培养同时进行,就可以为临床提供更有力的依据,减少临床用药的盲目性。厌氧菌培养未被列入细菌常规检验的原因,除了国内医学界对厌氧菌感染的普遍性和重要性未充分了解及重视外^[6],还有一个重要原因是厌氧菌培养操作麻烦,培养周期长,影响因素多,对采样标本要求严,培养环境特殊,这些都会影响厌氧菌培养的常规开展。本研究中有部分患者标本细菌涂片阳性,未培养出任何细菌,包括厌氧菌,原因第一可能是患者在做细菌培养前已经使用了大量抗菌药物;第二可能是采集和运送标本过程中未注意隔绝空气,而导致厌氧菌迅速地死亡。因此,能不能正确地采集并运送标本也严重影响着厌氧菌培养的阳性率。不过,也有厌氧培养是阳性,而耐氧试验显示又不是厌氧菌。所以,在厌氧菌的培养过程中,一定要严格遵守操作规程,对可疑标本进行多次培养,提高阳性率和正确率。由于厌氧菌培养鉴定周期长,影响临床医生的诊断与用药,为缩短报告时间,及时给临床提供依据,本实验室建议实行分阶段报告制度,第一阶段可以先根据耐氧试验结果、革兰染色、菌落特征等做出有厌氧菌生长等待鉴定的初步报告供临床参考;第二阶段再根据操作规程做出最后鉴定,并及时报告培养结果。

参考文献

- [1] Imran S, Ali R, Mahboob G. Frequency of lower extremity amputation in diabetics with reference to glycemic control and Wagner's grades[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2006, 16(2): 124-127.
- [2] 许樟荣. 糖尿病足病变诊断和治疗[J]. 中国糖尿病杂志, 2001, 9(3): 180-183.
- [3] 邓家德, 李红玉, 陈惠玲, 等. 糖尿病足溃疡处常见病原菌分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(8): 955-957.
- [4] 常宝成, 潘从清, 曾淑范. 208 例糖尿病足流行病学及临床特点分析[J]. 中华糖尿病杂志, 2005, 13(2): 129-130.
- [5] 楼大钧, 朱麒麟, 金华伟, 等. 糖尿病足感染病原菌特点及药敏性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(11): 1458-1460.
- [6] 冯忠盈, 吉建. 颈深部间隙感染厌氧菌分离鉴定的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2008, 9(18): 1113-1114.

(收稿日期: 2015-10-15)

(上接第 460 页)

性疾病患者血清 IgE 的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(5): 1221-1222.

- [3] Du H, Yang W, Xing W, et al. Parallel detection and quantification using nine immunoassays in a protein microarray for drug from serum samples[J]. Biomed Microdevices, 2005, 7(2): 143-146.
- [4] 李健康, 邝红萍, 康贝贝, 等. 常见呼吸系统变态反应性疾病皮肤点刺试验结果分析[J]. 河南医学研究, 2014, 15(4): 125-126.
- [5] 史玲艾, 安淑华, 袁洁, 等. 石家庄地区过敏性鼻炎患儿皮肤点刺试验结果分析与护理[J]. 护理实践与研究, 2010, 7(24): 15-17.

- [6] Yegneswaran S, Fernández JA, Griffin JH, et al. Factor Va increases the affinity of factor Xa for prothrombin: a binding study using a novel photoactivable thiol-specific fluorescent probe[J]. Chem Biol, 2002, 9(4): 485-494.
- [7] 张燕, 史学娟. 808 例变态反应性疾病敏筛过敏原检测结果分析[J]. 重庆医学, 2013, 42(10): 1142-1145.
- [8] 张蕊娜, 许颖, 段晓涵, 等. 过敏性皮肤病 1774 例过敏原检测结果分析[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2012, 26(4): 317-318.

(收稿日期: 2015-10-18)