

• 临床研究 •

手工和全自动仪器血培养结果的分析

唐恩波, 解翠花

(新疆维吾尔自治区昌吉州中医医院检验科 831100)

摘要:目的 对手工法双相血培养瓶和 BacT/Alert-3D240 全自动血培养仪的检出结果作回顾性分析。方法 对 2011~2013 年使用手工双向血培养瓶的 615 份血标本与 2014 年使用全自动血培养仪的 1 062 份血标本进行细菌阳性检出率、检出时间及检出种类的比较。结果 615 例双向血培养瓶阳性 48 例, 阳性率为 7.8%, 污染率 0.98%, 48 h 内肠杆菌科细菌检出率 87.5%, 葡萄球菌属细菌检出率 83.3%。1 062 例全自动血培养仪阳性 99 例分离出细菌, 其中有临床意义的病原菌 86 株, 阳性率为 8.2%; 污染菌 8 株, 污染率 0.75%; 假阳性 5 株, 为 0.47%; 48 h 内肠杆菌科细菌检出率 95.5%, 葡萄球菌属细菌检出率 87%, 链球菌检出率 42.9%。结论 BacT/Alert-3D 全自动血培养仪的阳性率稍高, 并且检出时间短, 细菌检出种类增多, 提高了血培养送检数。

关键词:血培养; 手工双向血培养瓶; 全自动血培养仪; 病原菌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.15.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)15-2163-03

血流感染包括菌血症和败血症, 在临床上发病率和致死率都较高, 而血培养是临床判断患者血液感染的金标准^[1]。在实验室条件有限的情况下采用手工双向血培养瓶也能较好地给临床提供病原学诊断, 而随着全自动微生物标本接种仪的相继问世, 因其存在标本接种速度快, 操作误差少, 菌落分辨率高, 检测周期短等优点, 逐步受到微生物检验人员和临床医师的认可。本文通过收集 2011~2013 年使用手工双向血培养瓶的 615 份血标本和 2014 年使用全自动血培养仪的 1 062 份血标本的培养结果, 对其作回顾性分析。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 1 677 例血培养标本来自于 2011 年 7 月至 2014 年 8 月在本院就诊的住院患者。

1.2 仪器与试剂 血培养瓶: 郑州安图生物工程股份有限公司生产的手工双相血培养瓶(需氧菌或兼性厌氧菌, 以下称手工血瓶); 法国生物梅里埃公司生产的 BacT/Alert-3D240 培养瓶: 中和抗生素需氧瓶(FA 瓶)、中和抗生素厌氧瓶(FN 瓶)以及中和抗生素儿童瓶(PF 瓶)。培养基: 法国生物梅里埃公司生产的哥伦比亚血平板、巧克力平板, 杭州天河微生物试剂公司生产的麦康凯干粉培养基。ATB-Expression 细菌鉴定仪及配套鉴定药敏条, 全自动血培养仪 BacT/Alert-3D240, VITEK 2-Compact 细菌培养鉴定仪及配套鉴定药敏卡, 均为法国生物梅里埃公司生产。质控菌株: 标准菌株金黄色葡萄球菌 ATCC29213、大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853 和粪肠球菌 ATCC29212。

1.3 方 法

1.3.1 手工血培养 以无菌操作取静脉血 5~8 mL 注入手工血瓶中, 摇匀, 放置 35℃ 温箱, 每天上午、下午两次观察液体及固体培养基上是否有细菌生长, 如有细菌生长, 涂片染色并转种血平板、巧克力和麦康凯平板, 使用 ATB-Expression 细菌鉴定仪进行鉴定及药敏试验; 连续培养 7 d 无细菌生长报告阴性。

1.3.2 仪器法 按照 BacT/Alert-3D240 血培养仪标本采集量的要求, 采集患者血液后注入相应的培养瓶, 成人加入 FA 和 FN 瓶, 儿童加入 PF 瓶, 仪器报警, 进行涂片镜检并转种, 若

有细菌生长为阳性, 用 VITEK 2-Compact 全自动细菌鉴定仪做鉴定药敏; 5 d 无阳性报警, 报告为阴性; 当仪器提示阳性, 涂片培养均未见细菌为假阳性, 污染菌按照《临床微生物实验室血培养操作规范》^[2] 及《实验室对血培养污染的评估方案》^[3] 的依据判读。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计学处理, 计数资料以率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种培养瓶阳性检出率比较 2011 年 7 月至 2013 年 7 月 615 例手工双向血培养瓶共培养出 48 株病原菌, 阳性率 7.8%; 2013 年 8 月至 2014 年 8 月, 1 062 例仪器法血培养共培养出病原菌 99 株, 其中来自污染 13 株, 有临床意义病原菌 86 株, 阳性率 8.2%; 二者阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两种血液培养方法阳性结果

年度	培养方法	送检血标本数	阳性数	阳性率(%)
2011 年 7 月至 2013 年 7 月	手工血瓶	615	48	7.80
2013 年 8 月至 2014 年 8 月	仪器法	1 062	86	8.10

2.2 48 h 内两种血培养方法细菌阳性检出率比较 48 h 内使用仪器法对于肠杆菌科、葡萄球菌属细菌检出率均高于手工方法, 并检出了手工法未检出过的链球菌, 结果见表 2。

表 2 48 h 两种血培养方法阳性检出率(%)

方法	肠杆菌科细菌	葡萄球菌属	链球菌
手工法	87.5	83.3	—
仪器法	95.7	87.0	42.9

注: — 表示无数据。

2.3 两种血液培养方法的细菌分离种类 手工法分离出细菌 48 株, 仪器法分离出细菌 99 株(污染菌 8 株, 假阳性 5 株), 病原菌 86 株。两种方法分离的细菌中均以革兰阴性杆菌为主要病原菌, 其中肠杆菌科细菌检出率最高, 其次是葡萄球菌属细

菌。仪器法检出细菌种类较手工法多,尤其是对链球菌的检出种类有所增加,如星座链球菌、无乳链球菌、似肠膜明串珠菌等,结果见表 3。

表 3 两种血培养方法分离细菌种类

双相手工法	构成比 [n(%)]	仪器法	构成比 [n(%)]
肠杆菌科	24(50.0)	肠杆菌科	47(54.65)
大肠埃希菌	18(37.5)	大肠埃希菌	32(37.21)
肺炎克雷伯菌	2(4.17)	肺炎克雷伯菌	10(11.63)
阴沟肠杆菌	2(4.17)	产酸克雷伯菌	2(2.33)
弗劳地枸橼酸杆菌	1(2.08)	阴沟肠杆菌	1(1.16)
伤寒沙门菌	1(2.08)	液化沙雷菌	1(1.16)
葡萄球菌属	18(37.5)	布氏枸橼酸杆菌	1(1.16)
金黄色葡萄球菌	12(25)	葡萄球菌属	23(26.74)
表皮葡萄球菌	4(8.33)	金黄色葡萄球菌	9(10.47)
溶血葡萄球菌	1(2.08)	人葡萄球菌人亚种	7(8.14)
头状葡萄球菌	1(2.08)	表皮葡萄球菌	3(3.49)
非发酵菌	2(4.17)	沃氏葡萄球菌	2(2.33)
鲍曼不动杆菌	2(4.17)	溶血葡萄球菌	1(1.16)
链球菌属	2(4.17)	耳葡萄球菌	1(1.16)
肺炎链球菌	2(4.17)	链球菌属	7(8.14)
肠球菌属	2(4.17)	星座链球菌	2(2.33)
屎肠球菌	2(4.17)	肺炎链球菌	2(2.33)
		无乳链球菌	1(1.16)
		玫瑰库克菌	1(1.16)
		似肠膜明串珠菌	1(1.16)
		肠球菌属	3(3.49)
		粪肠球菌	2(2.33)
		屎肠球菌	1(1.16)
		非发酵菌	2(2.33)
		革兰阴性苛养菌	2(2.33)
		多杀巴斯德菌	1(1.16)
		布鲁氏杆菌	1(1.16)
		真菌	2(2.33)
		白色念珠菌	1(1.16)
		光滑念珠菌	1(1.16)
合计	48(100.00)	合计	86(100.00)

3 讨 论

3.1 阳性率结果的比较分析 本研究中手工法与仪器法血培养阳性率分别为 7.8%和 8.1%,二者差异无统计学意义($P > 0.05$)。仪器法的阳性率远远低于龚兴旺报道的血培养 15.1%阳性率^[4]。根据本院的实际情况分析原因可能为以下几点: (1)手工法多数标本系临床症状严重、并有明显的败血症症状的患者血标本,阳性率较高。手工法耗时长,需要观察 7 d,用肉眼观察不易及时发现培养瓶内的微小变化,需要细菌达到一定的量,琼脂层有细菌生长时才能观察到,因而延长了培养时

间,严重影响医生的诊断和治疗,甚至患者治疗好转出院,检验报告单还没有发出,导致微生物检验严重滞后于日益发展的临床需求。轻度感染时,医生习惯经验用药,只有患者症状严重,感染明确,经验使用抗菌药物无效时候开血培养检验,多为阳性结果。(2)仪器法标本采集不规范合格率较低。仪器法阳性率与标本采集瓶数和采集时间有关,需要在患者未使用抗菌药物之前或是在患者高热寒战时采集血标本,同时采集两套标本。血培养阳性分离菌分布广泛,不同病原菌间耐药性亦不相同^[5],需要规范送检了解血培养病原菌分布和耐药性的监测,指导临床治疗。但是本院正处在发展时期,年轻的新医生较多,对血培养标本的采集时间、采集部位、采集数量不清楚,导致标本采集不合格,是导致仪器法阳性率较低的主要原因。(3)抗菌药物临床应用专项整治活动中对住院患者使用抗菌药物前的送检率提出了要求和规定,某些医师为完成指标,无指征进行血培养,增加了血培养标本基数,导致仪器法阳性率较低。(4)微生物检验人员数量不足,对科室与临床医生关于规范标本采集的宣教不到位,也是导致仪器法阳性率较低的一个原因。由此可见,提高医生对血培养检验的认识,规范护士采集方法,参照《血培养检测规范化操作》采集标本^[6],加强相关知识的宣传教育,才能提高仪器法的阳性率,发挥其优势。

3.2 仪器法血培养瓶检出细菌种类较多 近年来由于抗菌药物的普遍使用及医学技术的发展,使菌血症的致病菌种类有了较大变化,条件致病菌、苛养菌所致菌血症有增多趋势。两种方法中均以革兰阴性杆菌为主要病原菌,其中肠杆菌科细菌检出率最高,其次是葡萄球菌属细菌,与张凯等^[7]、赵忆文等^[8]报道的结果相似,也是革兰阴性菌检出数量占优势。据报道在美国、日本等已发现耐万古霉素的葡萄球菌^[9-10],我国目前虽未检出对万古霉素耐药的金黄色葡萄球菌,但此项感染防控工作依然需重视。采用手工法在 615 份血液中共分离出 12 种 48 株病原菌,仪器法在 1 062 份血液中共分离出 24 种 86 株病原菌,在病原菌种类上仪器法明显优于手工法,而对于肠杆菌科及葡萄球菌的鉴定两种方法检出率无明显差异。仪器法对于苛养菌和链球菌明显优于手工法,对链球菌的检出种类有明显提高,对革兰阴性苛养菌检出也有明显优势,如多杀巴斯德菌、布鲁氏杆菌这些对生长要求高的细菌,FA(PF)和 FN 培养瓶中含有的活性炭可吸附抗菌药物,使细菌的抑制得到解除,加之培养基中营养丰富,保证了细菌正常的生长繁殖。

本研究中仪器血培养法较手工血培养法阳性率有小幅度提高,缩短了报告时间、增加了病原菌检出种类及准确度,同时细菌的送检标本数有了大幅度提高,对于运用细菌培养结果指导临床医师正确使用抗菌药物治疗提供了更大的支持。需要继续加强与临床医师的沟通,提高血培养标本送检的意识,规范血培养采集方法,掌握血培养标本的采集时间、部位和数量,降低污染率,进一步提高仪器血培养法的阳性率。

参考文献

[1] 储新民,孔建新. 某三甲医院 2010 年血培养标本中细菌分布及耐药分析[J]. 临床输血与检验, 2012, 14(3): 208-211.
 [2] 中华医学会检验医学分会. 临床微生物实验室血培养操作规范[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.

[3] 唐明忠. 实验室对血培养污染的评估方案[J]. 临床检验与实验室设备, 2005, 7(2): 155-157.
 [4] 龚兴旺, 周永, 白梅, 等. 应用全自动血培养仪提高血液、无菌体液培养阳性率的临床观察[J]. 黔南民族医学学报, 2015, 28(1): 32-33.
 [5] 刘德华, 秦海燕, 胡大春, 等. 463 株血培养阳性病原菌分布及耐药分析[J]. 中国执业药师, 2015, 12(4): 11-15.
 [6] 徐英春, 倪语星, 王金良. 血培养检测规范化操作[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2012.
 [7] 张凯, 喻华, 黄湘宁, 等. 8548 例血流感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 中国执业药师, 2014, 11(9): 3-8.
 [8] 赵忆文, 朱召芹, 蔡金凤, 等. 上海某医院 2011 年 1 至 5

月住院病例 2044 份血及体液标本血培养结果分析[J]. 检验医学, 2014, 12(2): 100-103.
 [9] Rahkonen M, Luttinen S, Koskela M, et al. True bacteremias caused by coagulase negative Staphylococcus are difficult to distinguish from blood culture contaminants[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31(10): 2639-2644.
 [10] Healy CM, Baker CJ, Palazzi DL, et al. Distinguishing true coagulase-negative Staphylococcus infections from contaminants in the neonatal intensive care unit[J]. J Perinatol, 2013, 33(1): 52-58.

(收稿日期: 2016-01-09 修回日期: 2016-05-01)

• 临床研究 •

3 864 份泌尿生殖道标本支原体检测及药敏分析

张丽丽, 姚 蓓, 康辉跃, 王雪娇

(重庆市第十三人民医院检验科 400053)

摘要:目的 通过对支原体检测及药敏结果分析, 指导临床合理用药。方法 采用支原体培养、鉴定和药敏试剂盒对某院收集的 3 864 份泌尿生殖道标本进行培养和体外药敏试验。结果 3 864 份患者标本中支原体阳性 1 267 份(32.8%), 其中单纯解脲支原体(Uu)阳性 1 040 份(82.1%), 单纯人型支原体(Mh)阳性 17 份(1.3%), Uu 和 Mh 均阳性 210 份(16.6%); 药敏结果显示, 1 267 份 Uu 对强力霉素、交沙霉素、美满霉素比较敏感, 对环丙沙星、螺旋霉素、氧氟沙星比较耐药; 17 份 Mh 对强力霉素比较敏感, 对左氧氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星比较耐药; 210 份 Uu+Mh 对强力霉素、交沙霉素、美满霉素比较敏感, 对环丙沙星、左氧氟沙星、氧氟沙星比较耐药。结论 某院泌尿生殖道标本分离的支原体以 Uu 为主, 且 Uu 敏感率较高, 治疗支原体感染时应首选强力霉素、美满霉素、交沙霉素。

关键词: 解脲支原体; 人型支原体; 药敏试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.15.046

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)15-2165-02

支原体是一种细胞大小介于细菌和病毒之间的能在培养基上生长的原核微生物, 可引起非淋球菌性尿道炎, 还可以引起男性和女性的其他泌尿生殖道炎, 甚至引发自然流产和不孕不育^[1-3], 另外, 解脲支原体(Uu)还可以通过垂直传播, 引起新生儿特别是早产儿感染。因此, 支原体的检测是十分必要的。

1 资料与方法

1.1 标本来源 3 864 份标本来自 2015 年本院门诊及病房采集的宫颈分泌物及精液或前列腺液。

1.2 标本采集 女性患者消毒外阴后, 用扩阴器打开阴道, 用消毒棉拭子拭去多余的宫颈口分泌物, 再用另一个棉拭子深入宫颈 1~2 cm 处旋转一圈, 停留 20 s 取宫颈分泌物送检; 男性患者留取前列腺液或精液。所有标本均在抗菌药物治疗前采集, 采集后立即送检。

1.3 试剂 支原体鉴定药敏试剂盒(珠海市银科医学工程有限公司)。

1.4 方法 设阴阳孔对照, 除阴性对照孔外每孔加入标本培养液 100 μL, 再滴入一滴石蜡油, 置于 35~37 °C 孵育箱中培养 24~48 h, 如 Uu 液体培养孔变红色, 且液体清晰无混浊, 则为 Uu 阳性; 如 Mh 液体培养孔变红色, 且液体清晰无混浊, 则为 Mh 阳性; 如 Uu 和 Mh 两个液体培养孔均变红色, 且液体清晰无混浊, 则为 Uu+Mh 阳性; 如阳性对照孔均不变红, 则支原体培养为阴性。

1.5 药敏判定 珠海银科提供的支原体鉴定药敏试剂盒, 每个板条上除了可以鉴定是否为支原体感染, 是哪种支原体感染

外, 还包被了 12 种抗生素, 分别为强力霉素、交沙霉素、美满霉素、克拉霉素、阿奇霉素、壮观霉素、罗红霉素、司帕霉素、氧氟沙星、左氧氟沙星、螺旋霉素、环丙沙星。每种抗生素设两个浓度进行检测, 高浓度及低浓度两孔均不变红表示敏感, 两孔都变红表示耐药, 低浓度孔变红、高浓度孔不变表示中介。

2 结果

2.1 感染情况 3 864 份患者标本中支原体阳性 1 267 份(32.8%), 其中 Uu 阳性 1 040 份(82.1%), 单纯人型支原体(Mh)阳性 17 份(1.3%), Uu 和 Mh 均阳性 210 份(16.6%); 男性患者标本 852 份, 支原体阳性 234 份, 阳性率 27.5%; 女性患者标本 3 012 份, 支原体阳性 1 033 份, 阳性率 34.3%。

2.2 体外药敏试验结果 1 267 份支原体阳性标本对 12 种抗生素的药敏结果见表 1。

表 1 1 267 份支原体对 12 种抗生素的药敏率(%)

抗生素	Uu(n=1 040)		Mh(n=17)		Uu+Mh(n=210)	
	S	R	S	R	S	R
强力霉素	98.5	0.3	95.6	1.1	91.8	5.7
交沙霉素	98.0	0.5	90.6	3.5	92.1	4.3
美满霉素	97.8	0.6	90.2	3.9	90.5	5.2
克拉霉素	80.1	14.8	83.2	15.8	75.6	21.3
阿奇霉素	70.9	21.8	75.3	19.8	68.2	20.1