

综合医院 BD BACTEC™ MGIT™ 960 仪快速分枝杆菌培养与医院感染控制

徐 涛, 陈玉莲, 翁杏华, 甄广怀, 李锐邦, 李景松 (广东省台山市人民医院检验科 529200)

【摘要】 目的 证明使用全自动快速分枝杆菌培养仪(BD960)能用于肺内、肺外临床标本(除血液、尿液)快速培养分枝杆菌,除传染科外其他科室执行危急值报告制度确保医疗安全。**方法** 收集临床标本共 596 份,根据不同的标本,进行标本预处理后,分别接种于 BBL™ Prepared Culture Media 分枝杆菌培养管,放入全自动快速分枝杆菌培养仪(BD960)培养,并将标本同步进行抗酸染色及接种血平板。经培养,如仪器报警阳性,且培养物抗酸染色阳性,将培养物用荧光聚合酶链反应(PCR)方法进行菌株鉴定,鉴定分为结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌。**结果** 596份临床标本中,共培养出 61 株分枝杆菌,阳性率为 10.2%(61/596),其中结核分枝杆菌占 82.0%(50/61);非结核分枝杆菌占 18.0%(11/61)。全自动快速分枝杆菌培养仪(BD960)阳性标本检出时间较快,阳性标本最早 4 d,平均检出时间为 10 d。**结论** 综合医院使用全自动快速分枝杆菌培养仪(BD960)能快速培养分枝杆菌,做到早诊断、早隔离、早治疗,控制结核病传染,控制综合医院医院感染,确保医疗安全。

【关键词】 结核; 全自动快速分枝杆菌培养仪; 结核分枝杆菌; 非结核分枝杆菌; 医院感染

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.10.022 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)10-1353-03

Application of BD BACTEC™ MGIT™ 960 for fast culture of mycobacterium in general hospital and hospital infection control XU Tao, CHEN Yu-lian, WENG Xing-hua, ZHEN Guang-huai, LI Rui-bang, LI Jing-song (Department of Clinical Laboratory, Taishan People's Hospital, Taishan, Guangdong 529200, China)

【Abstract】 Objective To explore the application of fast mycobacterial culture instrument (BD960) for the fast culture of mycobacterial from intra-pulmonary or extra-pulmonary specimens. **Methods** A total of 596 cases of clinical specimens were collected, pretreated, inoculated in BBL™ Prepared Culture Media mycobacterium culture tube, then cultured in BD960 instrument. All specimens were synchronously detected for acid-fast staining and inoculation of blood plate. Mycobacterium tuberculosis or non-Mycobacterium tuberculosis in culture was identified by using fluorescence polymerase chain reaction (PCR), if instrument warned for positive alarm and the culture was positive for acid-fast stain. **Results** In 596 clinical specimens, 61 strains of mycobacteria were obtained, and the positive rate was 10.1% (61/596), including Mycobacterium tuberculosis for 82% (50/61) and non-Mycobacterium tuberculosis for 18.0% (11/61). Positive specimens could for the fast be detected within 4 days by culturing of BD960, and the average time need for detection for positive specimens was 10 days. **Conclusion** Application of BD960 instrument in general hospital could be helpful for the fast culture of mycobacterium, for early diagnosis, isolation and treatment of patients, also for the control of tuberculosis infection and nosocomial infections.

【Key words】 tuberculosis; automatic fast mycobacteria culture system; Mycobacterium tuberculosis; non-Mycobacterium tuberculosis; nosocomial infection

对肺结核病患者及时、准确的诊断和彻底治愈是消除传染源、控制结核病流行的最重要措施^[1-2]。传染性肺结核传染性最强的时间是在发现及治疗之前。美国疾病控制和预防中心(CDC)建议必须尽一切努力使各个实验室在诊断分枝杆菌时尽可能使用最快速的方法。在 CDC 推荐的方法中包括使用液体或固体培养基培养分枝杆菌。全自动快速分枝杆菌培养仪(BD960)是以液体培养为基础的新一代荧光检测系统,能快速培养分枝杆菌,做到早诊断、早隔离、早治疗^[3],提高了对分枝杆菌的诊断水平,控制综合医院感染,保护易感人群,确保医疗安全。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 4 月至 2013 年 9 月疑似分枝杆

菌感染患者的各类临床标本 596 份,其中肺部标本 467 份(痰液 387 份、支气管冲洗液 80 份)、肺外标本 129 份(胸腔积液 89 份、腹水 20 份、心包积液 4 份、伤口分泌液 5 份、脓液 6 份、粪便 3 份、关节液 2 份)。

1.2 仪器与试剂 美国 BD 公司 BD BACTEC™ MGIT™ 960 全自动分枝杆菌培养仪;广州达安公司 DA7600 型核酸扩增仪;美国 BD 公司 BD BBL™ Prepared Culture Media (分枝杆菌培养管)、N-乙酰-L-半胱氨酸 + 2% NaOH (NaCl + 2% NaOH 消化液)、BACTEC™ MGIT™ 960 Growth Supplement (生长添加剂)、BACTEC™ MGIT960™ PANTA (杂菌抑制剂)、pH=6.8 的无菌磷酸盐缓冲液(PBS);广州达安公司结核

分枝杆菌核酸扩增(聚合酶链反应)荧光检测试剂盒;广州迪景生物有限公司的血平板、麦康凯平板、沙氏平板、真菌显色平板;广东珠海贝索生物试剂有限公司抗酸染色液。

1.3 标本预处理 痰液、支气管冲洗液、伤口分泌液、脓液、粪便标本中加入等量的 NaCl+2%NaOH 消化液,在漩涡搅拌器上振荡混匀,处理 15~20 min 后,加入 pH=6.8 的无菌 PBS 中和,离心去上清液,沉淀加 1~3 mL pH=6.8 的无菌 PBS 制成悬浊液,振荡混匀备用。体液标本 3 000×g 离心 15 min,取沉淀进行消化处理。

1.4 培养方法 标本接种前,在 MGIT 培养管中先加入 0.8 mL MGIT PANTA/Growth Supplement(杂菌抑制剂/生长添加剂),再加入 0.5 mL 处理后悬浊液,同时接种血平板(检测是否污染)、直接涂片抗酸染色(以便阳性快速报告),将培养管放入 BD BACTEC™ MGIT™ 960 仪。培养法严格按照 BD BACTEC™ MGIT™ 960 系统操作说明书进行,培养时间设定为 42 d。仪器提示阳性结果,取培养液涂片用快速抗酸染色法进行确认。抗酸染色阳性的菌株用荧光 PCR 技术鉴定是结核分枝杆菌还是非结核分枝杆菌,操作严格按照试剂盒说明书进行。仪器提示阳性结果,涂片抗酸染色镜检未找到抗酸杆菌,将此分枝杆菌培养的标本接种在血平板、麦康凯平板、沙氏平板、真菌显色平板,经 37℃ 培养,有革兰阴性杆菌或真菌生长,此情况为标本污染判为假阳性。

1.5 所有接种和其他处理步骤都应在生物安全柜中进行,使用生物安全水平为 II 级的接种方法、防护措施和设备。所有接种过的培养管等必须先经过高压灭菌后再按医疗垃圾处理。

2 结 果

2.1 培养分枝杆菌阳性率 596 份临床标本培养出 61 株分枝杆菌,阳性率为 10.2%。

2.2 不同类型临床标本培养出的分枝杆菌,见表 1。

表 1 不同类型临床标本培养出的分枝杆菌的检出情况[n(%)]

标本	结核分枝杆菌	非结核分枝杆菌	合计
痰	31(62.0)	6(54.5)	387(64.9)
支气管冲洗液	12(24.0)	2(18.2)	80(13.5)
胸腔积液	3(6.0)	0(0.0)	89(14.9)
腹水	1(2.0)	0(0.0)	20(3.4)
心包积液	0(0.0)	0(0.0)	4(0.7)
伤口分泌液	0(0.0)	1(9.1)	5(0.8)
脓液	1(2.0)	1(9.1)	6(1.0)
粪便	1(2.0)	0(0.0)	3(0.5)
关节液	1(2.0)	1(9.1)	2(0.3)
合计	50(82.0)	11(18.0)	596(100.0)

2.3 全自动快速分枝杆菌培养仪(BD960)分枝杆菌培养时间 培养阳性平均时间为 10 d(4~29 d)。BD BACTEC™ MGIT™ 960 仪第 1 周阳性率为 29.5%,第 2 周累积阳性率为 85.3%,第 3 周累积阳性率为 95.1%,第 4 周累积阳性率为 96.4%,第 5 周累积阳性率为 99.1%。

2.4 BD BACTEC™ MGIT™ 960 全自动分枝杆菌培养污染

率 污染率为 5.2%(31/596)。各种临床标本中痰液标本污染率最高,主要是杆菌和真菌污染。见表 2。

表 2 不同类型临床标本培养分枝杆菌的污染率

标本	n	革兰阴性杆菌(n)	真菌(n)	污染率(%)
痰	20	12	8	64.5
支气管冲洗液	5	3	2	16.1
伤口分泌液	2	1	1	6.5
脓液	2	2	0	6.5
关节液	1	1	0	3.2
胸腔积液	1	1	0	3.2
合计	31	20	11	100.0

3 讨 论

本院分枝杆菌培养标本阳性率为 10.2%(不包括已确诊为结核的患者)比专科医院低,结核病占 82.0%,非结核病占 18.0%,综合医院更要重视呼吸道传染的肺结核,隔离肺结核患者,加强空气消毒^[4-5]。BD BACTEC™ MGIT™ 960 全自动分枝杆菌培养仪检出阳性标本时间为 4~29 d,平均 10 d,与国外学者报道的 9.6~14.4 d 相当^[6],在培养的同时直接涂片抗酸染色满足检验结果的时效性。BD BACTEC™ MGIT™ 960 全自动分枝杆菌培养污染率为 5.2%与文献^[7]报道的接近,提示要缩短标本采集和前处理的间隔时间,在操作中要注意避免污染。

约有 20% 的活动肺结核患者无症状或仅有轻微症状,这部分患者往往就在综合医院就医而不是在结防所、胸科医院。多数综合医院未做分枝杆菌培养,这部分患者是隐藏在综合医院里重要的结核病传染源,这些患者往往与其他患者在同一房间以非结核病的方式进行治疗。由于不是结核病专科医院,医生首先想到的也不是结核病,早期结核患者的影像学改变不明显,单单只照胸片也会造成漏检,且影像学对结核病的诊断缺乏特异性。当同室中有活动肺结核患者,其咳嗽、打喷嚏、大声说话时,把大量含有结核菌的微小痰沫排放至空气中,在密闭的空调环境中,结核杆菌飘浮空气的时间会更长,同室的患者抵抗力低下,吸入含有结核杆菌的痰沫,在这种情况下传染的速度更快,更容易受到传染,造成医院内感染。

随着医疗技术进步,人口老龄化、免疫力低下,条件致病菌增多,如主要发生于手术污染、介入治疗污染、插管污染、人工透析污染及心脏体外循环污染等情况下,非结核分枝杆菌引起医院感染,非结核分枝杆菌引起的感染治疗与结核病不同,会造成结核杆菌耐药的假象^[8]。要想发现且区别这些传染源致病菌就要依靠综合医院分枝杆菌培养、鉴定及荧光 PCR 等技术。综合医院在传染性诊断及鉴别中起到了侦察兵的作用,及时发现传染致病菌,保护易感人群。

完整的医院感染控制应当由临床医生、院感办、临床微生物室等多部门的共同协作,才能把医院感染控制到最低。本院对抗酸杆菌涂片、BD BACTEC™ MGIT™ 960 全自动分枝杆菌培养阳性结果实行即时电话报告,及时将患者转入感染科,进行隔离,规范治疗。结核患者住过的普通病房采取严格的消毒措施,切断传播途径,保护易感人群,防止医院感染。

BD BACTEC™ MGIT™ 960 全自动分枝杆菌培养仪弥补了直接涂片检测抗酸杆菌敏感性较低,不能区分是活菌还是死菌。临床上对结核病和非结核分枝杆菌肺病很难作出鉴别诊断,因为这两种疾病在发病、临床表现、影像学、涂片和培养、结核菌素试验、病理学检查等方面均十分相似,故只能从标本中分离出分枝杆菌作鉴定才能确诊^[9]。各种检验方法是相互补充,而不是相互排斥的,与荧光 PCR 的联合应用解决了只培养而不能区分是结核分枝杆菌还是非结核分枝杆菌,避免了漏检和误检。

综上所述, BD BACTEC™ MGIT™ 960 全自动分枝杆菌培养仪联合应用直接涂片快速抗酸染色、荧光 PCR 技术,能用于肺内外临床标本快速的分枝杆菌培养、鉴定,综合医院应重视结核病的诊断,控制医院感染,确保医疗安全。

参考文献

[1] 陆学东,周一平,杨来智,等. 多种呼吸道病原微生物快速筛查技术的建立[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(1): 140-143.

[2] 钱桂生,陈宝元. 呼吸系统疾病诊治进展[J]. 中华内科杂志, 2013, 52(2): 112-113.

[3] 丁卫民,张建英,张治,等. 侵袭性肺曲霉病误诊为肺癌及肺结核一例[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 36(10): 791-

793.

[4] 高嫦娥. 环境危险因素与肺结核发病的相关性分析[J]. 社区医学杂志, 2009, 7(16): 73-74.

[5] 张爱华,卢晓强,张凤云. 采取科学有效的管理提升医院感染管理质量[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(18): 4474-4475.

[6] Rishi S, Sinha P, Malhotra B, et al. A comparative study for the detection of Mycobacteria by BACTEC MGIT 960, Lowenstein Jensen media and direct AFB smear examination[J]. Indian J Med Microbiol, 2007, 25(4): 383-386.

[7] 陈晓,杨青,徐根云,等. Bactec MGIT 960 系统与改良罗氏培养基法用于培养分枝杆菌的比较[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(5): 396-397.

[8] 沙巍,唐神结,肖和平,等. 人类宿主易感基因多态性与结核病和耐药结核病发生的相关性研究进展[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2010, 33(7): 534-536.

[9] 侍效春,刘晓清,李侠,等. 综合医院以不明原因发热为表现的结核病 100 例临床分析[J]. 中华内科杂志, 2010, 49(12): 1002-1005.

(收稿日期: 2013-11-20 修回日期: 2014-01-13)

(上接第 1352 页)

乌头碱中毒患者有典型的中毒表现、心律改变及心肌损害,与相关文献报道乌头碱中毒导致心律失常是多样、易变,最终死于心律失常及心肌损伤相符^[10-11]。2 例死亡患者血液及胃液中未检出乌头碱,与其用药时间、剂量及药物代谢分布有关,一般尿液及胆汁水平高于血液及胃肠内容物含量^[12]。因此,患者切勿擅自服用中药或轻信“江湖游医”,应在正规中医医院就诊,严格遵循医嘱,掌握好煎制时间、用药途径及使用剂量;医生应该准确辨证,合理配伍,注意个体差异。

一方面,对于服用过中药而因自身疾病死亡患者家属的争议,法医鉴定有助于明确死因,减少不必要的医疗纠纷;另一方面,对于医疗机构及医师,法医检验结果除了明确死因外,更有助于医师提高对于不典型、非特异病例的认识及重视,为以后有效地判断及预防提供帮助,提高诊疗水平。

参考文献

[1] Chan TY, Critchley JA. Usage and adverse effects of Chinese herbal medicines[J]. Hum Exp Toxicol, 1996, 15(1): 5-12.

[2] 陈龙,黄光照. 14 例非法行医所致药物中毒死亡案例分析[J]. 法医学杂志, 1997, 13(4): 215-217.

[3] 原思通. 对“中药中毒病例攀升”问题的思考[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(10): 3-6.

[4] 刘安龙. 常用毒性中药中毒原因分析[J]. 河北中医, 2012, 34(5): 735-736.

[5] 解中本,姜建强,范广龙. 含乌头碱类中药中毒的表现及其解救[J]. 中华医学写作杂志, 2001, 8(13): 1568.

[6] 孙景文,张汉选. 急性乌头类中药中毒 19 例临床分析[J]. 中国全科医学, 2004, 7(4): 272.

[7] Lin CC, Chan TY, Deng JF. Clinical features and management of herb-induced aconitine poisoning[J]. Ann Emerg Med, 2004, 43(5): 574-579.

[8] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典(1 部)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.

[9] 李志勇,孙建宁,张硕峰,等. 近 10 年乌头碱类中药中毒临床文献分析[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(3): 100-102.

[10] 于智敏,吕爱平,吴萍,等. 对中药安全性评价研究的思考[J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(5): 66-68.

[11] Chan TY. Aconite poisoning[J]. Clin Toxicol (Phila), 2009, 47(4): 279-285.

[12] 刘伟,沈敏,秦志强. 乌头急性中毒死亡者乌头生物碱的体内分布[J]. 法医学杂志, 2009, 25(3): 176-178.

(收稿日期: 2013-10-21 修回日期: 2013-12-25)