

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.12.024

快速鉴定法在阳性报警血培养标本转种后检测中的性能分析

李 扬, 李继霞, 薛 炼, 崔海荣, 武 静, 公衍文[△]

(中国人民解放军联勤保障部队第九六〇医院实验诊断科, 济南 250031)

摘要:目的 探讨快速鉴定法在阳性报警血培养标本转种后检测中的性能。方法 159 例阳性报警的血培养标本转种后分别采用快速鉴定法(培养满 8 h)和常规法(过夜培养后)上机做鉴定和药敏试验, 统计菌种鉴定符合率、药敏试验结果符合率和最低抑菌浓度(MIC)值的符合率。结果 除少数念珠菌血症和生长缓慢的罕见菌外, 绝大多数血流感染的病原菌可以采用快速鉴定法进行鉴定和药敏试验。菌种鉴定符合率为 97.89%、药敏试验结果符合率为 97.64%、MIC 值符合率为 98.57%。结论 快速鉴定法能够显著缩短阳性报警后血培养的最终报告时间, 适宜在临床实验室推广。

关键词:血培养; 病原菌; 快速鉴定; 药敏试验

中图法分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)12-1712-04

Performance validation of methods of rapid identification for positive alarm blood culture

LI Yang, LI Jixia, XUE Lian, CUI Hairong, WU Jing, GONG Yanwen[△]

(Department of Laboratory Medicine, the 960 Hospital of PLA, Jinan, Shandong 250031, China)

Abstract: Objective To validate the method performance of rapid identification for the positive blood culture. **Methods** A total of 159 samples of positive blood culture were identified and carried out drug sensitivity experiment using the method of rapid identification (culturing with 8 h) and the traditional method (overnight culture). The coincidence rate of species identification, drug sensitivity test and MIC value were calculated. **Results** Except *Candida* and rare bacteria which were slow-growing, the majority of the pathogens of bloodstream infections could use rapid identification method for identification and drug susceptibility test. The coincidence rate of strain identification was 97.64%, the coincidence rate of drug sensitivity test results was 97.89%, and the coincidence rate of MIC value was 98.57%. **Conclusion** Rapid identification could significantly shorten the final report time of the positive blood culture, and it is suitable for popularization in clinical laboratory.

Key words: blood culture; pathogen; rapid identification; drug sensitivity test

血流感染是临床上常见的重症患者最主要的死亡原因, 病死率高达 35%^[1]。近年来, 血流感染发病率一直呈上升趋势, 但目前国内临床微生物实验室阳性报警后血培养标本检测周期(TAT)普遍偏长, 最终报告约 2~3 d, 影响临床诊疗效果^[2-4]。因此, 微生物实验室及时准确地为临床提供血培养阳性的病原学证据和药敏结果可降低血流感染病死率, 提高治愈率^[5-6]。本研究将阳性报警的血培养标本转种培养 8 h 后上机进行鉴定和药敏试验, 并与常规过夜培养后上机鉴定和药敏试验的结果进行比较, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2017 年 7 月 1 日至 12 月 31 日夜间阳性报警的血培养标本共 159 例。

1.2 仪器与试剂 BacT/ALERT 3D 全自动血培养系统(配套需氧和厌氧血培养瓶)和 VITEK 2 COMPACT 全自动微生物分析系统(配套 GN、GP 鉴定卡和 GN-13、GN-16、GP-67、GP-68 药敏卡), 法国生物

梅里埃公司产品。

1.3 方法

1.3.1 快速鉴定法 取每天 9:00 前阳性报警的血培养标本(包括夜间阳性报警但未处理的标本)涂片、染色、镜检, 转种血平板和巧克力平板置 CO₂ 培养箱 37 ℃ 培养, 8 h 后取菌落涂片再次染色镜检, 并根据镜检和辅助试验(如氧化酶等)结果选择合适的鉴定卡和药敏卡上机。第 2 天早晨记录鉴定和药敏结果, 并向临床初步报告。

1.3.2 常规法 选择合适的鉴定卡和药敏卡将过夜培养后的菌落再次上机, 观察记录结果, 发出最终报告。

1.4 观察指标 (1) 鉴定结果的符合率: 细菌鉴定到种, 计算以上两种方法鉴定结果的菌种符合率。(2) 药敏结果的符合率: 以上两种方法药敏结果, 包括敏感(S)、中介(I)、耐药(R), 两种方法结果相同为符合; 快速鉴定法为 S、常规法为 R, 极重大错误; 快速鉴定法为 R、常规法为 S, 重大错误; 快速鉴定法为 R 或 S、

常规法为 I,或快速鉴定法为 I、常规法为 R 或 S,一般错误。分别计算所占比例。(3)最低抑菌浓度(MIC)的符合率:按照半定量方法符合率判定的一般规则, MIC 值上下相差不超过 1 个梯度且不发生重大错误或极重大错误为符合,计算符合率。

1.5 统计学处理 采用 Microsoft Excel2010 对数据进行整理。

2 结 果

2.1 鉴定结果的符合率 本研究夜间阳性报警的血培养标本中,除 12 例涂片镜检为酵母样真菌、5 例病原菌生长缓慢,培养 8 h 后菌落不明显(常规法最终鉴定为产单核李斯特菌 1 例、化脓链球菌 1 例、马耳他布鲁杆菌 3 例)未采用快速鉴定法进行鉴定和药敏试验外,其余 142 例均采用快速鉴定法和常规法分别进行了鉴定和药敏试验。142 例阳性标本中,革兰阳性球菌 40 例,除 1 例快速鉴定法鉴定为中间葡萄球菌而常规法鉴定为金黄色葡萄球菌外,其余 39 例(金黄色葡萄球菌 16 例,表皮葡萄球菌 7 例,溶血葡萄球菌 3 例,人型葡萄球菌 2 例,头状葡萄球菌 2 例,模仿葡萄球菌 1 例,尿肠球菌 1 例,粪肠球菌 3 例,咽峡炎链球菌 1 例、缓症链球菌 2 例、肺炎链球菌 1 例)两种方法鉴定结果均相同,符合率为 97.50%;革兰阴性杆菌 102 例,除 1 例快速鉴定法鉴定为臭鼻克雷伯菌而常规法鉴定为肺炎克雷伯菌、1 例快速鉴定法鉴定为浅黄假单胞菌而常规法鉴定为铜绿假单胞菌外,其余 100 例(大肠埃希菌 32 例,铜绿假单胞菌 25 例,肺炎克雷伯菌 17 例,阴沟肠杆菌 7 例,嗜麦芽窄食单胞菌 4 例,鲍曼不动杆菌 3 例,产气肠杆菌 3 例,粘质沙雷菌 2 例,奇异变形杆菌、居泉沙雷菌、弗氏柠檬酸杆菌、沙门菌、洋葱博克霍尔德菌、洛非不动杆菌、杀鲑气单胞菌各 1 例)两种方法鉴定结果均一致,符合率为 98.04%。总符合率为 97.89%(139/142)。

2.2 药敏试验的符合率

2.2.1 革兰阳性球菌药敏试验的符合情况 40 例革兰阳性球菌中,有 1 例咽峡炎链球菌、2 例缓症链球菌、1 例肺炎链球菌因无或未选用合适的药敏卡,快速鉴定法未获得药敏结果。上述鉴定错误的 1 例葡萄球菌按照金黄色葡萄球菌的苯唑西林、万古霉素折点重新判读结果后统计在内。总符合率为 97.38%,发生极重大错误 2 个,庆大霉素的药敏试验符合率偏低(87.50%),见表 1。

2.2.2 革兰阴性杆菌药敏试验结果的符合情况

102 例革兰阴性杆菌中有 1 例杀鲑气单胞菌、1 例洋葱博克霍尔德菌、4 例嗜麦芽窄食单胞菌快速鉴定法未获得药敏结果。浅黄假单胞菌和铜绿假单胞菌的药敏判断折点的差异在亚胺培南(GN-13),按照铜绿假单胞菌折点重新判读;臭鼻克雷伯菌和肺炎克雷伯菌药敏折点相同,不影响结果判断。总符合率为 97.72%,发生极重大错误 4 个,所有抗菌药物药敏符

合率均超过 90%,见表 2。

表 1 革兰阳性球菌药敏试验结果的符合情况

抗菌药物	符合 (n)	极重大错误 (n)	重大错误 (n)	一般错误 (n)	符合率 (%)
青霉素	36	0	0	0	100.00
苯唑西林	32	0	0	0	100.00
环丙沙星	35	0	0	1	97.22
左氧氟沙星	34	0	0	2	94.44
莫西沙星	33	1*	0	2	91.67
万古霉素	36	0	0	0	100.00
庆大霉素	28	0	1	3	87.50
庆大霉素(120 μg)	4	0	0	0	100.00
红霉素	35	0	0	1	97.22
克林霉素	36	0	0	0	100.00
复方磺胺甲噁唑	35	1#	0	0	97.22
替加环素	36	0	0	0	100.00
利奈唑胺	36	0	0	0	100.00
四环素	35	0	0	1	97.22
利福平	32	0	0	0	100.00
合计	483	2	1	10	97.38

注: * 1 株金黄色葡萄球菌,莫西沙星快速鉴定法检测 MIC ≤ 0.25S,常规法 MIC = 2R; # 1 株人型葡萄球菌,复方磺胺甲噁唑快速鉴定法检测 MIC ≤ 10S,常规法 MIC ≥ 80R

表 2 革兰阴性杆菌药敏试验结果的符合情况

抗菌药物	符合 (n)	极重大错误 (n)	重大错误 (n)	一般错误 (n)	符合率 (%)
头孢吡肟	94	0	0	2	97.92
哌拉西林/他唑巴坦	92	0	0	4	95.83
氨苄西林	96	0	0	0	100.00
头孢唑林	95	0	1	0	98.96
头孢曲松	96	0	0	0	100.00
亚胺培南	94	1&	0	1	97.92
环丙沙星	92	0	0	4	95.83
左氧氟沙星	91	0	0	5	94.79
庆大霉素	95	1▲	0	0	98.96
阿米卡星	95	0	0	1	98.96
妥布霉素	94	0	0	2	97.92
复方磺胺甲噁唑	94	2△	0	0	97.92
阿莫西林/克拉维酸	92	0	1	3	95.83
氨曲南	94	0	0	2	97.92
头孢西丁	70	0	0	0	100.00
替加环素	65	0	0	5	92.86
头孢他啶	26	0	0	0	100.00
头孢替坦	26	0	0	0	100.00
合计	1 501	4	2	29	97.72

注: & 1 株大肠埃希菌,亚胺培南快速鉴定法检测 MIC ≤ 1S,常规法 MIC ≥ 4R; ▲ 1 株大肠埃希菌,庆大霉素快速鉴定法检测 MIC ≤ 1S,常规法 MIC ≥ 16R; △ 2 株中有 1 株大肠埃希菌,复方磺胺甲噁唑快速鉴定法检测 MIC ≤ 20S,常规法 MIC ≥ 320R; 另外 1 株臭鼻克雷伯菌/肺炎克雷伯菌,复方磺胺甲噁唑快速鉴定法检测 MIC ≤ 20S,常规法 MIC ≥ 320R

2.2.3 药敏试验总符合情况 药敏试验总符合率 97.64% (1 984/2 032), 极重大错误率为 0.30% (6/2 032)、重大错误率为 0.15% (3/2 032), 一般错误

率为 1.92% (39/2 032)。

2.3 MIC 值的符合率 MIC 值的符合率为 98.57%。见表 3。

表 3 两种方法 MIC 值的符合情况

MIC 值相差的梯度	极重大错误 (n)	重大错误 (n)	一般错误 (n)	药敏试验结果一致(n)			合计 [n(%)]
				S/S	I/I	R/R	
≥2 个梯度	6	2	9	6	0	6	29(1.43)
≤1 个梯度	0	1	30	908	48	1 016	2 003(98.57)
合计	6	3	39	914	48	1 022	2 032(100.00)

3 讨 论

血流感染是临床常见危重症之一,病情复杂多变,进展迅速^[7-8]。血培养是诊断血流感染最为重要的手段,血流感染的有效治疗有赖于临床微生物实验室及时准确地提供药敏报告^[9-11]。即使阳性报警的血培养,传统方法需要转种过夜培养再进一步鉴定和药敏试验,一般还需要 2 d 时间,大大降低了其临床精准诊疗的价值。尤其是目前国内临床微生物实验室工作人员普遍较少,血培养分级报告对技师技术能力的要求较高,导致夜间阳性报警的血培养普遍不能得到及时处理。细菌生长繁殖速度很快,转种培养 8 h 后即进入生长的对数期,该期细菌的形态、染色性和生理活性等都较典型,对外界因素包括抗菌药物的作用比较敏感,因此,研究细菌的性状(形态染色、生化反应、药敏试验等),均应选用该期的细菌以获得准确的结果^[12-13]。因此,本课题组人员对夜间阳性报警的血培养标本在早上 9:00 前就进行涂片和转种,培养满 8 h 后进行鉴定和药敏试验,与常规过夜培养后做再鉴定和药敏试验的方法进行了比较。

本研究结果发现,除少数念珠菌血症、罕见病原菌因生长相对缓慢,不宜采用快速鉴定法外,绝大多数血流感染的病原菌均可以采用快速鉴定法进行鉴定和药敏试验,菌种鉴定符合率达 97.89% (139/142)。3 例快速鉴定法鉴定错误菌株因菌落特点不符(金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌)或是罕见菌种(臭鼻克雷伯菌),并未发出快速鉴定法鉴定结果和药敏试验结果,未对临床诊疗造成影响。

抗菌药物的药敏试验结果可为合理规范的抗菌药物使用提供科学依据。两种方法药敏结果的总符合率为 97.64%,极重大错误率为 0.30%。个性化的抗菌药物精准治疗方案有赖于药物代谢动力学(PK)和药效学(PD)^[14-15],因此两种方法 MIC 值的符合率也有重要价值。结果显示,所有 48 个药敏试验错误结果的 MIC 值相差 ≥2 个梯度的比例为 35.42% (17/48),6 个极重大错误的 MIC 值均相差 ≥2 个梯度,而

一般错误的 MIC 值多数仅相差 ≤1 个梯度;即使药敏试验结果一致, MIC 值仍有可能相差 ≥2 个梯度 (0.60%, 12/1 984)。

分析两种方法菌株鉴定及药敏试验结果错误的原因可能为比浊仪的不稳定性与操作人员的不固定性。两种方法的菌液浊度存在差异,导致细菌鉴定及药敏试验结果出现偏差。避免快速鉴定法结果出现错误,应同时结合触酶试验、凝固酶试验、氧化酶试验及乙酰胺生化管反应试验等实验室简单常规有效的鉴定试验。对于罕见菌株,应常规法复合鉴定结果后再报告结果,快速鉴定法药敏结果审核时,若出现同类药物敏感、耐药情况不一致,应采用常规法复核后再报告结果,避免错误的发生。

虽然越来越多的临床实验室引进了质谱仪等病原菌快速鉴定手段(目前还不能做药敏检测),但大部分临床微生物实验室还在采用传统的微生物鉴定和药敏试验系统。快速鉴定法在 16:00—17:00 上机后第 2 天即可发出最终报告,比常规法提早 1 d,且不需要做二级报告,极大地提高了阳性血培养的临床价值,减少了实验室的工作量,降低了夜间阳性报警血培养不能及时处理的风险。对少数实现血培养报警标本 24 h 处理的实验室,阳性报警后的血培养采用快速鉴定法进行鉴定和药敏试验,同样能够有效缩短报告时间。少数不宜采用快速鉴定法的病原菌,可过夜培养后仍采用常规法做鉴定和药敏试验。快速鉴定法的鉴定和药敏试验结果与常规法有很高的符合率,阳性报警血培养转种后快速鉴定和药敏试验方法适宜在临床实验室推广。

综上所述,快速鉴定法能够显著缩短阳性报警后血培养的最终报告时间,适宜在临床实验室推广。

参考文献

[1] MOHEBATI A J M, FRY D E. Current risks of occupational blood-borne viral infection[J]. Surg Infect (Larchmt), 2010, 11(3): 325-331. (下转第 1717 页)

以单纯依靠超声检查作为卵巢癌的诊断方法是不可靠的。临床上分析患者除表现出相应的症状体征外,机体中很多血清因子的改变也对于了解疾病的状态发挥较大作用。肿瘤标志物的特异性能用来诊断不同类型的肿瘤,能作为恶性肿瘤治疗后随访以及预后的重要指标^[7-10]。

本研究结果表明,联合检测 CA125 和 HE4 诊断卵巢肿瘤的灵敏度为 88.89%,高于 HE4(77.78%)与 CA125(83.33%)单独检测,且特异度达 97.32%。同时联合超声检查,灵敏度达 100.00%,特异度为 98.21%。与研究^[10-13]结果相符。

综上所述,CA125、HE4 联合超声检测诊断卵巢肿瘤的灵敏度和特异度明显提高,有助于提高卵巢肿瘤检出率,减少漏诊和误诊,值得临床推广使用。

参考文献

[1] SASA K, ALEKSANDAR S, KATARINA J, et al. The utility of human epididymal protein 4, cancer antigen125, and risk for malignancy algorithm in ovarian cancer and endometriosis[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2012, 22(2): 238-244.

[2] MOORE R G, BROWN A K, MILLER M C, et al. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass[J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 108(2): 402-408.

[3] MOORE R G, BROWN A K, MILLER M C, et al. Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus[J]. *Gynecol Oncol*, 2008, 110(2): 196-201.

[4] 袁美莉. HE4 与 CA125 联合检测在卵巢癌诊断中的应用价值[D]. 西宁:青海大学, 2016.

[5] 谢幸. 苟文丽妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2013:268-271.

[6] 周肇魁. 肿瘤标志物糖类抗原 125(CA125)、糖类抗原 199(CA199)和癌胚抗原(CEA)在卵巢良恶性肿瘤诊断中的应用价值[J]. *现代预防医学*, 2012, 39(17): 4514-4516.

[7] 王灵彬. 上皮性卵巢肿瘤血清中 RASSF1A 基因异常甲基化检测及其临床意义[J]. *中国妇幼保健*, 2013, 28(13): 2134-2136.

[8] 李炳琪, 王春昱, 郑春兰, 等. 血清 CA125、CA199、CEA 和 AFP 联合检测对卵巢癌的诊断价值[J]. *江苏医药*, 2013, 39(15): 1790-1792.

[9] 廖建梅, 杨舒萍, 陈顺姬, 等. 彩色多普勒超声引导下活检结合造影在卵巢肿瘤诊断中的应用[J]. *辽宁医学院学报*, 2014, 26(4): 57-59.

[10] 李子军, 郑雅琴, 徐仙凤, 等. 血清 HE4 和 CA125 水平联合 ROMA 预测和诊断卵巢癌的临床价值[J]. *肿瘤学杂志*, 2013, 19(3): 219-222.

[11] 李青, 宋晓玲, 吴祺琰, 等. HE4 与 CA125 联合检测在卵巢癌与卵巢子宫内膜异位囊腺瘤鉴别诊断中的临床应用[J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(2): 389-392.

[12] 李莉, 王睿, 周欣, 等. 血清 CA125 和 HE4 水平与卵巢癌病情的相关性研究[J]. *中国实验诊断学*, 2013, 17(5): 829-832.

[13] 肖林, 郭梅, 杨晓华, 等. HE4 和 CA125 联合检测在卵巢肿瘤诊断中的应用[J]. *实用临床医药杂志*, 2016, 20(1): 69-71.

(收稿日期:2019-01-02 修回日期:2019-02-24)

(上接第 1714 页)

[2] 冯雪君, 周永列. 血培养三级报告的临床应用价值[J]. *中国微生态学杂志*, 2016, 28(12): 1450-1452.

[3] 李媛睿, 俞静, 刘婧娴, 等. 应用 MSK 试剂盒-质谱法直接鉴定阳性血培养标本[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2016, 36(2): 256-263.

[4] 王颖, 史利宁, 范明, 等. Bactec FX 和 Bact/Alert 3D 两种血培养系统对菌血症的检出性能分析[J]. *临床检验杂志*, 2012, 30(1): 13-15.

[5] 陆文香, 吴培南, 徐卫东. 血培养三级报告临床应用结果分析[J]. *临床检验杂志*, 2012, 30(5): 380-381.

[6] 王辉, 马筱玲, 钱渊, 等. 临床微生物手册[M]. 11 版. 北京:中华医学电子音像出版社, 2017:18.

[7] 李光辉, 朱德妹, 汪复, 等. 2012 年中国 CHINET 血培养临床分离菌的分布及耐药性[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2014, 14(6): 474-481.

[8] 郭健莲, 肖斌龙, 刘惠娜, 等. 血培养报阳时间在鉴别血流感染和采血污染中的应用[J]. *中国感染控制杂志*, 2015, 14(12): 803-806.

[9] 王敏, 许顺姬, 金春梅, 等. 血培养阳性报警时间对临床病

原菌鉴别的探讨[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(3): 528-531.

[10] 答嵘, 吴友伟, 王伟, 等. 血培养实验室污染菌群分布与阳性报警时间的判断[J]. *检验医学与临床*, 2015, 12(18): 2647-2649.

[11] 答嵘, 王伟, 李芳, 等. 血培养阳性培养物直接药敏试验的评价[J]. *检验医学与临床*, 2015, 12(20): 2971-2973.

[12] 倪语星, 尚红. 临床微生物学检验[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社, 2012:26.

[13] SHACHOR-MEYOUHAS Y, SPRECHER H, MOSCOVIZ D, et al. Molecular-based diagnosis of bacteremia in the setting of fever with or without neutropenia in pediatric hematology-oncology patients[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2013, 35(7): 500-503.

[14] 肖永红. 利用抗菌药物 PK/PD 优化感染治疗[J]. *中国抗生素杂志*, 2017, 42(12): 1033-1039.

[15] 郭蓓宁. 抗菌药物代谢动力学/药效学的临床应用[J]. *实用医院临床杂志*, 2016, 13(2): 38-41.

(收稿日期:2018-12-28 修回日期:2019-02-20)