

· 检验技术与方法 ·

血浆脂多糖检测快速诊断革兰阴性菌感染的研究

时 勇

(湖北省黄冈市黄州区人民医院, 湖北黄冈 438000)

摘要:目的 探讨血浆脂多糖检测对革兰阴性菌的诊断价值。方法 采用动态比浊法检测疑似革兰阴性菌患者的血浆脂多糖含量,并与细菌培养结果进行比较。结果 89 例疑似患者,脂多糖检测 62 例阳性(69.66%),细菌培养法 47 例阳性(52.81%)。革兰阴性菌感染组血浆脂多糖含量为(157.62±80.58)pg/mL;非感染组含量为(9.10±4.81)pg/mL,两组比较差异有统计学意义($t=9.36, P<0.05$)。若以细菌培养为标准,脂多糖检测的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 91.49%、54.76%、69.35%、85.19%。结论 血浆脂多糖检测敏感性高于培养,对革兰阴性菌感染患者具有早期快速诊断的价值。

关键词:革兰阴性菌; 脂多糖; 感染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.12.033

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)12-1563-02

随着广谱和超广谱抗菌药物的广泛应用,医院感染病原菌的构成比例发生了很大变化,革兰阴性菌(GNB)在医院感染中所占比例呈上升趋势,各类手术或侵入性操作最易引发医院感染。据报道,美国医院感染中 30%以上为 GNB 感染,而在重症监护病房中,高达 70%院内感染为 GNB 引起的^[1]。国内报道^[2]医院感染病原体也是以 GNB 为主,占 48.86%。GNB 能引起各系统感染,严重者可导致败血症或脓毒血症,传统的培养法耗时长且阳性率低,本文就脂血浆多糖检测对 GNB 感染的快速诊断进行探讨,以期为早期诊断及治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院诊治的疑似 GNB 感染患者共 89 例,男性 47 例,女性 42 例,年龄 16~94 岁,平均(52.48±29.33)岁。根据《医院感染诊断标准(试行)》^[3]分为感染组 63 例与非感染组 26 例。

1.2 仪器与试剂 采用北京金山川科技发展有限公司生产的 MB-80 微生物快速动态检测系统、T01 智能恒温仪、水浴槽; EKT-5M 革兰阴性菌脂多糖检测试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 血浆脂多糖检测 血浆的制备:用含有少许无热原抗凝剂(肝素钠)的无热原一次性真空采血管采取静脉血 2 mL, 进行 3 000 r/min, 离心 60 s, 分离得富血小板血浆, 取出后若暂时不用,可在-30℃冰箱中密封保存 1 个月。待测样品处理:取上述富血小板血浆 0.1 mL, 加入装有 0.9 mL 样品处理液中,混匀后 70℃保温 10 min, 取出后立刻放入冰水浴中,即为待测血浆样品。待测样品测定:取待测血浆 0.2 mL 直接加入酶反应主剂中,溶解后使用微量加样器转移至标准玻璃反应管中(不要产生气泡),插入 MB-80 微生物快速动态检测系统中进行反应,反应结束后自动计算出待测血浆中 GNB 脂多糖含量。建议参考值范围:0~10 pg/mL 为阴性;10~20 pg/mL 为可疑,建议连续检测;>20 pg/mL 为阳性。

1.3.2 细菌培养 在抽取血液进行血浆脂多糖检测的同时,根据患者的情况留取血液、痰液、中段尿、脓液、导管头、引流物、胸水、腹水等标本进行细菌培养。

1.4 统计学处理 应用 SPSS17.0 软件进行统计分析。计量资料组间比较采用 t 检验,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料组间比较采用配对 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

对 89 例疑似 GNB 愄染的患者进行培养及血浆脂多糖含量检测(>20 pg/mL 为判断阈值),脂多糖检测 62 例阳性(69.66%),细菌培养法 47 例阳性(52.81%)。经统计学处理,

这两种方法诊断 GNB 感染的阳性率有统计学差异($\chi^2=8.52, P<0.05$),血浆脂多糖检测阳性率高于培养法,见表 1。以培养法作为 GNB 感染的“金标准”,血浆脂多糖检测的敏感性、特异性、阳性预测值及阴性预测值分别为 91.49%、54.76%、69.35%、85.19%。GNB 感染组血浆脂多糖含量为(157.62±80.58)pg/mL,非感染组含量为(9.10±4.81)pg/mL,感染组血浆脂多糖浓度显著高于非感染组,差异有统计学意义($t=9.36, P<0.05$)。

表 1 血浆脂多糖检测及细菌培养的阳性检出率比较(n)

脂多糖检测	细菌培养		合计
	+	-	
+	43	19	62
-	4	23	27
合计	47	42	89

3 讨 论

目前,GNB 感染是院内感染的主要致病菌,尤其是其所致的败血症更为严重^[4-5]。内毒素是革兰阴性细菌细胞壁结构中的脂多糖,为革兰阴性菌生长释放或死亡裂解出来的脂多糖成分,是 GNB 的主要致病物质。脂多糖经细菌胞壁合成后转运至细胞表面构成细胞壁外膜的组成成分,细菌死亡裂解后从细胞壁中大量释放出来。内毒素及其活性中心(类脂 A)对宿主具有多种毒害作用,刺激机体产生多种促炎细胞因子,如 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 等,这些细胞因子又进一步活化炎症细胞,进而形成“瀑布效应”,引起全身性炎症反应综合征,最终导致器官衰竭。此外,它也能发挥诸多对机体有益的生物学作用,适量的内毒素可增强机体非特异性免疫能力,能够抗感染、抗辐射,并能增强网状内皮细胞的活力,还具有抗肿瘤的功能。

大量研究^[6-9]表明应用抗菌药物治疗 GNB 感染,在致细菌死亡的同时可引起不同程度的内毒素释放。少量内毒素进入血液后,立即遭到网状内皮细胞、血中的酯酶及中性粒细胞的吞噬或降解,因此机体不受损害,不出现症状。大部分内毒素由网状内皮细胞所吞噬。而严重感染、机体免疫力低下,或感染以外的原因,致使内毒素大量积聚于血液中,可导致不同程度的内毒素血症。内毒素血症多伴随病情恶化而加重,病情缓解而减轻。内毒素可以作为一个病情衡量和预后判断的一个参考指标,也可用于指导临床治疗、判断疗效和筛选恰当的药物。

本次调查结果显示,非感染组患者血浆脂多糖含量为

(9.10 ± 4.81) pg/mL, 感染组患者脂多糖含量为 (157.62 ± 80.58) pg/mL, 两组脂多糖含量比较差异有统计学意义 ($t = 9.36, P < 0.05$)。血浆脂多糖检测阳性率高于培养法, 差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 8.52, P < 0.05$)。本研究主要选择临床有明确的感染病灶患者, 患者病原学检查中并未全部培养出革兰阴性菌。血浆脂多糖检测与临床诊断近乎一致, 有一例感染患者血浆脂多糖检测阴性, 有一例非感染患者血浆脂多糖检测阳性。假阴性结果可能是因为感染早期未经抗生素治疗, 脂多糖尚未大量入血; 假阳性结果可能是内源性肠道内毒素易位所致^[10], 因为人体肠道内含有大量革兰阴性厌氧菌, 同时含有大量内毒素。在本文调查过程中发现脂多糖检测不能用于革兰阳性菌引起的感染, 在对患者感染的监测中容易导致误诊或漏诊产生, 这也是血浆脂多糖检测的缺陷。

综上所述, 血浆脂多糖检测阳性率高, 可用于 GNB 感染诊断的指标。同时也可用于细菌性炎性疾病鉴别诊断、感染危险的患者病情监控、病程监控及预后判断。

参考文献

- [1] Hidron AI, Edwards JR, Patel J, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2008, 29(11):996–1011.

• 检验技术与方法 •

痰标本细菌半定量培养十二级法筛选鲍曼不动杆菌探讨*

任萍, 杨肇立, 李俊如, 李建, 陈旭, 周文, 杨锦云, 黄静

(凉山州第一人民医院检验科, 四川西昌 615000)

摘要:目的 探讨细菌半定量培养十二级法在下呼吸道鲍曼不动杆菌感染诊断方面的实用价值, 以及该菌的临床分布和耐药状况。**方法** 所有细菌培养的痰标本肉眼检查合格后, 进行涂片-革兰染色-油镜观察, 并做十二级法半定量培养; 以其相对数量大于口咽部正常携带平均数量的白细胞浓集区域优势菌和白细胞吞噬菌为拟分离菌, 进行鉴定及药敏试验。对 2007 年 5 月至 2009 年 6 月的全部痰标本鲍曼不动杆菌患者病历做统计分析。**结果** 鲍曼不动杆菌 139 株, 其首次培养相对数量 $0.1, \geq 0.2$ 的出院诊断率分别为 71.0%、88.1%; 二者的临床诊断率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。白细胞吞噬率 38.13% (53/139)。标本质量 A+B 级和 C 级的临床诊断率分别为 82.9%、55.9%, 二者比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。主要分布于 ICU(66 株, 占 47.5%) 和呼吸内科(30 株, 占 21.6%)。对试验药物大多耐药, 泛耐药菌株 66 株(占 47.48%)。**结论** 不单仅以白细胞吞噬菌为筛选指针, 同时兼用相对数量大于或等于 0.1 为筛选指针比较适宜; 痰标本的高质量有利于感染菌检出; ICU 和呼吸科系下呼吸道鲍曼不动杆菌感染的重灾区; 该菌耐药形势严峻, 应切实强化耐药性监测及预防控制。

关键词: 鲍曼不动杆菌; 半定量培养; 十二级法; 筛检指针; 耐药性

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.12.034

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2013)12-1564-03

鲍曼不动杆菌是临床常见的机会致病菌, 其广泛分布于外环境, 并常在动物和人类皮肤表面定植, 医务人员可通过手接触而造成该菌的污染和扩散。为了解本院自拟并常规使用的细菌半定量培养“十二级法”在筛选痰标本鲍曼不动杆菌方面的实用价值以及该菌所致下呼吸道感染现状, 特作如下研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2007 年 5 月至 2009 年 6 月住院患者下呼吸道分泌物半定量十二级法培养首次检出鲍曼不动杆菌数量大于该菌口咽部平均正常携带数量 (≥ 0.1) 患者病历, 共 139 份。2007 年 5 月至 2009 年 6 月的全部临床细菌培养痰标本。质控菌株: 流感嗜血杆菌 ATCC49247、肺炎链球菌 ATCC49619、

- [2] 文细毛, 任南, 吴安华, 等. 全国医院感染监控网医院感染病原菌分布及变化趋势[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(2):350–354.
[3] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(5):314–320.
[4] 马序竹, 李湘燕, 侯芳, 等. 成人败血症 249 例回顾性临床分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(5):648–650.
[5] Ben Salah D, Makni S, Ben Redjeb S. Epidemiology of gram negative bacterial septicemias: data from a Tunisian hospital (1996–1998)[J]. Tunis Med, 2002, 80(5):245–248.
[6] 徐能武, 袁建成, 肖光夏, 等. 抗菌药物诱导革兰阴性杆菌释放内毒素的实验研究(一)[J]. 中华烧伤杂志, 2001, 17(2):75–79.
[7] 徐能武, 袁建成, 肖光夏, 等. 抗菌药物诱导革兰阴性杆菌释放内毒素的实验研究(二)[J]. 中华烧伤杂志, 2001, 17(2):92–94.
[8] Buijs J, Dofferhoff AS, Mouton JW, et al. Concentration-dependency of β -lactam-induced filament formation in Gram-negative bacteria[J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14(4):344–349.
[9] Horii T, Kimura T, Nadai M, et al. Lincomycin-Induced Endotoxin Release in Escherichia coli Sepsis: Evidence for Release In Vitro and In Vivo[J]. Int J Infec Dis, 2000, 4(3):118–122.
[10] Bölk E, Jehle PM, Orth K, et al. Changes of gut barrier function during anesthesia and cardiac surgery[J]. Angiology, 2001, 52(7):477–482.

(收稿日期: 2013-01-08)

大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC25923、铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.2 仪器与试剂 新加坡思科 AC2-E 二级生物安全柜, 美国 THERMOFORMA 311 二氧化碳培养箱。美国德灵 MicroScan-WalkAway40SI 自动微生物鉴定及药敏测试系统等。瑞士公司无菌培养基, MicroScan 阴性复合 31 型检测板。

1.3 方法

1.3.1 细菌半定量培养十二级法 尽可能于用药前采集漱洗口咽部 3 次后用力从气管深处咳出的第一口痰液, 及时送检。虽系肉眼观察合格标本, 仍须选取其中的病理成分作 3~5 区划线接种, 35 °C 培养 1~2 d 观察。于菌落散在区域计数 100

* 基金项目: 四川省卫生厅科研课题资助项目(080160)。