

• 检验技术与方法 •

痰标本放置时间对培养结果的影响

邹自英¹, 钟 婷^{2#}, 汤雪晴³, 朱 冰¹, 曾 平¹, 熊 杰^{1△}

(1. 成都军区总医院检验科; 四川成都 610083; 2. 泸州医学院医学检验专业, 四川泸州 646000;

3. 成都军区总医院小儿科, 四川成都 610083)

摘要:目的 探讨痰标本放置时间对不同病原菌生长情况的影响。方法 随机选取 2012 年 8 月至 2013 年 1 月该院临床各科室送检的合格痰标本 145 例, 分别在放置 0、1、2 h 后进行接种培养, 观察不同放置时间对各种病原菌生长的影响。结果 145 例标本共检出病原菌 95 株, 阳性率 65.52%。与放置 0 h 比较, 放置 1 h 后有 3 株(3.16%)细菌生长发生了变化, 其中 1 株肺炎链球菌死亡, 1 株铜绿假单胞菌和 1 株金黄色葡萄球菌生长数量减少。放置 2 h 后有 18 株细菌生长发生了变化, 占 18.95%; 其中 2 株流感嗜血杆菌死亡, 占 2.11%; 1 株肺炎链球菌死亡, 占 1.05%; 4 例标本细菌种类发生变化, 占 4.21%, 其中 1 例大肠埃希菌、2 例肺炎克雷伯菌和 1 例铜绿假单胞菌生长急剧减少, 被鲍曼不动杆菌替代; 11 例细菌生长数量减少, 占 11.58%。结论 随着标本放置时间的延长, 致病菌的种类和数量都可能发生变化, 严重的还会导致致病菌死亡, 痰标本最好在 1 h 内完成接种。

关键词:痰标本; 放置时间; 细菌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.16.046

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)16-2157-02

感染性疾病的诊断和使用抗菌药物治疗, 需要借鉴病原学检查结果, 痰标本获取容易, 是细菌性肺炎诊断的重要检测手段之一, 痰培养结果对指导临床治疗细菌性肺炎有重要意义^[1]。痰标本是否合格, 痰标本送检时间及接种时间都严重影响痰培养结果的阳性率和准确性。为了更好地指导临床和相关检验人员, 笔者探讨不同接种时间对各病原菌生长情况的影响, 从而更好地掌握各种病原菌接种时间, 提高痰培养的临床指导意义。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 选择 2012 年 8 月至 2013 年 1 月临床科室送检的合格痰标本 145 例, 合格痰标本的判断标准: 白细胞大于 25 个/低倍视野, 上皮细胞小于 10 个/低倍视野, 剔除每低倍视野下白细胞小于 25 个, 鳞状上皮大于 10 个的临床标本。将标本室温放置 1 h 和 2 h 后分别再接种一次。

1.2 方法 痰标本接种血琼脂平板、巧克力琼脂平板和麦康凯琼脂平板, 同时涂片革兰染色镜检。巧克力琼脂平板和血琼脂平板置 36 ℃、5% CO₂ 孵育箱培养, 麦康凯琼脂平板置 36

℃普通孵育箱培养, 18~24 h 后观察细菌生长状况。细菌生长量判断: 1 区生长(1+), 2 区生长(2+), 3 区生长(3+)。

1.3 细菌鉴定 采用法国梅里埃公司的 VITEK2 COMPACT 全自动微生物分析仪, 采用梅里埃公司的 GN、GP、NH 鉴定卡对细菌进行鉴定。质控菌株: 阴沟肠杆菌 ATCC700323、大肠埃希菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC29213 购自卫生部临检中心。

2 结 果

2.1 标本放置时间对培养结果的影响 145 例标本共检出病原菌 95 株, 阳性率 65.52%。与放置 0 h 比较, 放置 1 h 后有 3 株(3.16%)细菌生长发生了变化, 其中 1 株肺炎链球菌死亡, 1 株铜绿假单胞菌和 1 株金黄色葡萄球菌生长数量减少。放置 2 h 后有 18 株细菌生长发生了变化, 占 18.95%; 其中 2 株流感嗜血杆菌死亡, 占 2.11%; 1 株肺炎链球菌死亡, 占 1.05%; 4 例标本细菌种类发生变化, 占 4.21%, 其中 1 例大肠埃希菌、2 例肺炎克雷伯菌和 1 例铜绿假单胞菌生长急剧减少, 被鲍曼不动杆菌替代; 11 例细菌生长数量减少, 占 11.58%, 见表 1。

表 1 标本放置时间对培养结果的影响

病原菌	检出数量 (n)	放置 1 h[n(%)]			放置 2 h[n(%)]		
		菌种变化	数量变化	死亡	菌种变化	数量变化	死亡
铜绿假单胞菌	24	0(0.00)	1(4.17)	0(0.00)	1(4.17)	2(8.33)	0(0.00)
鲍曼不动杆菌	23	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(4.35)	0(0.00)
肺炎克雷伯菌	12	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	2(16.67)	1(8.33)	0(0.00)
流感嗜血杆菌	10	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	3(30.00)	2(20.00)
金黄色葡萄球菌	9	0(0.00)	1(11.11)	0(0.00)	0(0.00)	1(11.11)	0(0.00)
大肠埃希菌	5	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(20.00)	1(20.00)	0(0.00)
肺炎链球菌	4	0(0.00)	0(0.00)	1(25.00)	0(0.00)	2(50.00)	1(25.00)
嗜麦芽芽食单胞菌	3	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
黏质沙雷菌	2	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
弗氏柠檬酸杆菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
阴沟肠杆菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
奇异变形杆菌	1	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
合计	95	0(0.00)	2(2.11)	1(1.05)	4(4.21)	11(11.58)	3(3.16)

共同第一作者。 △ 通讯作者, E-mail: xiongjie1969@126.com。

3 讨 论

由于人口老龄化加剧、慢性基础疾病增加、侵入性操作增多、免疫抑制剂应用增加及广谱抗菌药物的不合理使用,呼吸道感染的发生明显增加^[2]。对医院 2012 年标本构成分析显示,痰标本占 47.02%,位居第 1 位,本文主要研究临床标本到达检验科后工作人员对标本处理及时性对病原菌检出结果的影响。经对 145 份痰标本进行分时段接种检测结果显示在呼吸道感染中以革兰阴性杆菌感染居多,其中铜绿假单胞菌最多,其次为鲍曼不动杆菌,大多数为条件致病菌。2 h 分时段接种对照研究的方法使笔者大致了解了时间对流感嗜血杆菌、肺炎链球菌具有致死性影响,10 株流感嗜血杆菌中 20.00% 在 2 h 内死亡,30.00% 菌落随接种时间延长明显减少;肺炎链球菌也有 25.00% 死亡,50.00% 出现菌落随接种时间延长明显减少的现象。同时也有 4 份临床标本在随接种时间的延长出现了新菌落,11 份标本菌落生长明显减弱或被其他菌落抑制。嗜麦芽窄食单胞菌、黏质沙雷菌、弗氏柠檬酸杆菌、阴沟肠杆菌和奇异变形杆菌未检出生长变化,可能与检出数量少有关。通过对结果的分析显示,痰培养结果准确性与是否及时接种密切相关,若延迟接种会影响病原菌的判断以致影响最终药敏鉴定的真实性,误导临床治疗。因此为了保证临床结果的准确性与真实性,正确指导临床治疗,检验人员应该对所接收的标本及时处理,最好在 30 min 内,最长不超过 1 h 方能取得较好的培

• 检验技术与方法 •

聚合酶链反应法检测肝病患者血中纳米细菌的价值评估

郭桂林

(安徽省濉溪县人民医院检验科,安徽濉溪 235100)

摘要:目的 对比 PCR 和 ELISA 法检测肝病患者血中纳米细菌(NB)感染率,评价 PCR 法的应用价值。方法 选取该院 2011 年 6 月至 2012 年 6 月肝病科住院肝病患者 125 例,其中慢性乙型肝炎 45 例,慢性丙型肝炎 36 例,肝炎肝硬化患者 24 例,肝癌(HCC)患者 20 例,肝病组分为慢性乙型肝炎、慢性丙型肝炎、肝炎肝硬化及肝癌四个亚组,同期健康对照 40 例。应用 PCR 及 ELISA 法检测各组血清中 NB,并用投射电镜扫描鉴定,对比两检验方法检测的阳性率,符合率等。结果 两种检测方法均提示肝病患者 NB 感染率高于健康人。ELISA 法与 PCR 法阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 慢性肝病和肝癌患者血液中 NB 感染率高于健康人,PCR 法对 NB 的检测是一可靠的检测方法。

关键词:聚合酶链反应; 酶联免疫吸附测定; 纳米细菌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.16.047

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)16-2158-02

纳米细菌(NB)是由芬兰科学家发现的微小细菌,现已知它可感染人类、牛和其他哺乳动物,是一种人兽共患的致病原^[1]。研究表明 NB 与人类的结石、关节炎、动脉粥样硬化、皮肤病、肿瘤及其他人体组织内病理性钙化和硬化的发生发展密切相关^[2]。国外学者已在健康人血清中,肾结石患者的血液、尿液和结石、风湿性关节炎滑膜液及肝病血清中发现了 NB^[3]。慢性肝病是我国常见病和多发病,患者多免疫力低下,易并发多种感染,有研究提示肝病的发展与 NB 相关^[4]。NB 的检测可采用细菌培养、免疫组化、电镜、钙染色等方法,但以上各法均繁琐费时,因此探讨简易方便的 NB 的检测方法是医学界的课题之一,笔者应用 PCR 及 ELISA 法检测肝病患者血中 NB,并应用投射电镜扫描鉴定,对比两检验方法的优劣。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2011 年 6 月至 2012 年 6 月肝病科住院肝病患者 125 例,其中慢性乙型肝炎 45 例,慢性丙型肝炎 36 例,肝炎肝硬化患者 24 例,肝癌(HCC)患者 20 例,年龄 16~

养结果。

痰培养作为呼吸道感染性疾病诊断重要手段之一,影响其结果准确性的因素众多,包括痰标本的正确采集、及时运送、正确接种、培养和鉴定采用的方法等^[3-5],对于检验人员本身能控制的因素主要为对标本进行正确和及时的处理。为提高痰培养的准确性,缩短标本放置时间将对培养结果真实性至关重要,微生物检验人员应高度重视。

参考文献

- [1] 谢懿,曾娟,李瑜珍.综合干预措施提高痰标本质量的效果评价[J].中国感染控制杂志,2012,11(5):370-371,362.
- [2] 韩鹏,姚武.医生督导留取和送检痰细菌培养标本结果分析[J].当代医学,2012,18(27):16-17.
- [3] 宋娟.提高痰标本细菌学检验与临床感染符合率的对策[J].临床误诊误治,2010,23(6):574-575.
- [4] 宋红焕,孟尔旺,时金艳,等.痰标本采集、储存及运输过程对培养结果影响的分析[J].中国防务通讯,2011,33(6):372-376.
- [5] 董玉梅,靳桂明,张帆,等.痰标本采集后送检时间与病原菌生长相关性研究[J].中华医院感染学杂志,2012,22(14):3186-3187.

(收稿日期:2013-04-28)

80 岁,男 71 例,女 54 例,肝病组分为慢性乙型肝炎、慢性丙型肝炎、肝炎肝硬化和肝癌四个亚组,选取同期健康对照 40 例,年龄 18~80 岁,男 21 例,女 19 例。

1.2 仪器与试剂 鼠抗 NB 单克隆抗体(8D10)购于芬兰 Nanobac OY 公司;生物素化羊抗鼠 IgG、ABC 试剂盒、DAB 显色试剂盒、DNA 样品处理试剂盒及阳性对照购于武汉博士德公司,日本 JEOL 公司 JEM-1230 型透射电镜。RPMI-1640 细胞培养基为 Gibco 公司产品, γ 射线照射过的胎牛血清购自 Sigma 公司,滤膜为上海兴亚净化材料厂生产的滤器与 0.45 μm 和 0.2 μm 滤膜,细胞培养实验中所用无热源注射器和细胞培养板为 Sigma 公司产品;北京第六仪器厂 PE5700 型 PCR 仪、165-5051 低压电源电泳仪。

1.3 方法

1.3.1 ELISA 法 严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3.2 PCR 法 将 10 μL 血清样本加入装有 10 μL 颗粒的 PCR 反应管中,并加入 50 μL 裂解液,混合均匀。振荡 30 s,室