

• 个案与短篇 •

用 ATB-reader 细菌鉴定药敏分析仪检出鸡葡萄球菌的探讨

魏贺玺

(天津中医药大学附属北辰中医院检验科, 天津 300400)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.06.071

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2016)06-0861-02

本研究应用 ATB-reader 细菌鉴定药敏分析仪检出鸡葡萄球菌, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 鸡葡萄球菌菌株来自患者血培养阳性。

1.1.2 仪器与试剂 ATB-reader 自动化微生物分析仪、3D60 自动血培养仪, 鉴定和药敏卡以及血培养瓶均由梅里埃公司提供, 血平板、凝固酶、触酶以及革兰染色由天津金章科技发展有限公司提供, 金黄色葡萄球菌标准菌株 ATCC25923 来自天津临床检验中心。

1.2 方法

1.2.1 鸡葡萄球菌培养特性观察 血培养阳性菌株转种于血平板上, 经 35℃ 普通细菌培养, 并分别于 24、48 h 分别进行记录观察, 以金黄色葡萄球菌标准质控菌株 ATCC25923 作阳性对照。并用 ATB-reader 自动微生物分析仪进行鉴定。

1.2.2 常规鉴定和药敏 取培养 24 h 菌落分别行革兰染色、凝固酶试验、触酶试验。采用 ATB-reader 自动化分析仪进行药敏试验。分别对 24、48 h 培养的鸡葡萄球菌行革兰染色后, 用油镜进行观察。并以金黄色葡萄球菌标准质控菌株 ATCC25923 作对照。

1.2.3 ATB-reader 自动化细菌分析仪 取培养 24 h 菌落, 用生理盐水配成 2 麦氏单位菌悬液, 用 ATB-reader 自动细菌分析仪进行鉴定及药敏试验, 并同时用 ATCC(25923) 金黄色葡萄球菌标准质控菌株作对照。

2 结果

2.1 鸡葡萄球菌形态及生化特性 经革兰染色后油镜镜检可见单个圆形、或葡萄串状排列的革兰阳性球菌。24 h 的菌落形态: 在血平板上形成直径约为 1~2 mm、光滑、湿润、圆形、稍隆起、黄色菌落; 48 h 的菌落形态: 形成直径约为 3~4 mm、表面粗糙、表面干燥、稍隆起的黄色菌落; 菌落周围还有明显的透明溶血环(β 溶血)。鸡葡萄球菌凝固酶阴性(-), 触酶阳性(+)。在 ATB-reader 自动微生物分析仪鉴定结果见表 1。

表 1 鸡葡萄球菌的生化特性

生化项目	结果	生化项目	结果
VP 试验(vp)	-	精氨酸双水解(ADHD)	-
鸟氨酸脱羧酶(ODC)	-	七叶灵(水解)(ESC)	+
d-葡萄糖(GLU)	+	±果糖(FRU)	+
d-甘露糖(MNE)	+	±麦芽糖(MAL)	+
乳糖(LAC)	-	±海藻糖(TRE)	+
d-甘露糖(MAN)	+	尿素酶(URE)	+
硝酸盐还原(NIT)	-	±纤维二糖(CEL)	+
β-半乳糖苷酶(β-GAL)	-	精氨酸芳胺酶(ArgA)	-
碱性磷酸酶(PAL)	+	焦谷氨酸芳胺酶(PYRA)	+
新生霉素耐受(NOVO)	+	蔗糖(SAC)	+
N-乙酰-葡萄糖胺(NAG)	+	±羽红糖(TUR)	+
阿拉伯糖(ARA)	+	β-葡萄糖醛酸酶(β-GUR)	+
d-核糖(RIB)	-	±棉籽糖(RAF)	+

2.2 鸡葡萄球菌药敏结果 鸡葡萄球菌对青霉素、克林霉素、米诺环素、替考拉宁、诺氟沙星、夫西地酸、喹奴普汀-达福普汀、红霉素、庆大霉素、苯唑西林、利福平、复方磺胺甲噁唑、四环素、万古霉素、左氧氟沙星、呋喃妥因、均敏感。

3 讨论

人畜共患病是指人类与畜禽之间, 由同一病原体引起, 流行病学上相互关联, 相互传播引起的感染疾病。病原体包括细菌、病毒、支原体、衣原体、螺旋体、立克次体、真菌、寄生虫等。可通过直接接触节肢动物、啮齿动物为媒介以及病原污染的空气、水等传播, 重要者为炭疽、结核病、布鲁菌病、狂犬病、口蹄疫及旋毛虫病等。人畜共患病就其本身而言是一种传统的提法, 但 20 世纪 70 年代以来, 全球范围新出现传染病和重新出现传染病达到 60 多种, 其中半数以上是人畜共患病, 不仅是人类与畜禽之间存在共患疾病风险, 并且更有甚者与野生脊椎动物之间也存在多少不等的共患疾病, 甚至更为严重。本院检出的鸡葡萄球菌是从患者血培养中检出, 该患者居住环境较差, 并且饲养家禽^[1]。

鸡葡萄球菌首先由 Devriese 等^[2]报道, 1986 年版的贝氏细菌分类手册将其列为新种, 属于凝固酶阴性的对新生霉素耐药的葡萄球菌。最早分离于家禽, 以后又从不同动物分离出, 如山羊、绵羊、骆驼、猪、牛等脊椎动物的皮肤、呼吸道等部位分离出该菌, 鸡葡萄球菌目前的致病性和耐药率较低, 对人类的影响有限, 引起人类感染至今罕见报道^[3]。鸡葡萄球菌与金黄色葡萄球菌属于同一属, 都有 β 溶血, 容易混淆, 主要从菌落形态、凝固酶加以区别, 本菌 48 h 菌落变得粗糙, 然而金黄色葡萄球菌经 48 h 在培养后, 菌落仍只是增大, 其他变化并不十分明显, 并且前者凝固酶为(-), 而金黄色葡萄球菌为(+). 本室检出的鸡葡萄球菌所做药敏全部敏感, 随着抗菌药物的广泛应用是否会出现 MRSCoN, 建议医生在用抗菌药物之前做药敏试验。

在临床微生物医学检验工作中, 微生物检验工作的自动化、智能化, 采用更加标准、快速、准确的方法, 取代繁琐、费时的手工操作, 是一个非常重要发展趋势。ATB-reader 细菌鉴定药敏分析仪是一台在微量生化反应环节实现电脑自动化的仪器, 虽然仅仅是一台半自动细菌分析仪, 但在国内外已有较为广泛的应用。根据细菌表型特征选择相应的鉴定板条, 通过阅读器自动阅读测试板条, 依据试条上的生化反应数据进行统计分析, 依据相似程度(T 值)及百分率(ID%)的组合, 作出判断^[4], 可以得出用 ATB-reader 细菌鉴定仪提高一些较难或罕见细菌的检出率和准确率。

总之, 作为一名微生物检验工作者, 必须熟练地掌握微生物学操作的基本技术与技能, 而且要求准确无误, 从而保证结果的可靠性。此外, 随着科学技术的发展, 还要不断地学习和掌握、运用微生物检验的新技术、新方法, 从而改善工作条件, 提高工作效率, 保证检验结果的准确性, 为临床提供更好的服务。

参考文献

[1] Kolawole DO, Shittu AO. Unusal recovery of animal staphylococci from septicwounds of hospital patients in Ile-Ife, Nigeria[J]. Lett Appl Microbiol, 1997, 24(2): 87-90.

[2] Devriese LA, Poutrel B, Kilpper-balz R. Staphylococcus cuscullinarum and Staphylococcus caprae, two new species from animals

[J]. Int J Syst Bacteriol, 1983, 33(2): 480-486.

[3] 余道军, 陈岳明等鸡葡萄球菌的生物学特性及快速鉴定[J]. 微生物学杂志, 2008, 20(6): 122-125.

[4] 张荣. ATB Expression 自动细菌鉴定仪在实际工作中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(6): 768.

(收稿日期: 2015-12-06)

尿液检测红细胞和白细胞定量不同方法比较

刘金兰

(广州市南沙区大岗镇灵山医院检验科, 广东广州 511470)

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.06.072

文献标识码: C

文章编号: 1673-4130(2016)06-0862-02

尿液红细胞(RBC)和白细胞(WBC)检验对临床很重要, 对泌尿系统感染、肾炎、肾病综合征等疾病的诊断、鉴别等具有重要意义^[1]。本院尿液检验 RBC 和 WBC 方法主要有镜检法和流式细胞计数法等^[2]。常规镜检操作费时, 不容易定量, 准确性差, 所以定量分析板法和尿液有形成分分析仪检测为临床关注。

1 材料与与方法

1.1 一般资料 来本院诊治的患者, 分急诊科、病房、妇科等, 男性 100 例, 女性 100 例, 年龄 25~60 岁, 用一次性尿杯收集清洁的中段尿, 混匀后, 用 4 支一次性试管分装作准备。其中 2 管分别备用仪器 LX-3000B 和 UF-100 分析检查, 另 1 管准备用显微镜直接镜检, 最后 1 管离心后显微镜镜检。

1.2 仪器与试剂 LX-3000B 全自动尿有形成分分析仪(杭州), JAST 一次性专用尿有形成分计数板(意大利), UF-100 尿沉渣分析仪(JAPAN), 普通双目 OLMPUS 生物显微镜(JAPAN), 低速离心机(上海)。

1.3 方法 分析仪测定法: 按操作步骤对每份混匀的尿标本进行 2 次测定, 抄下结果。计数板定量法, 用一次性吸管吸取未离心但混匀的尿液, 滴入 JAST 计数板内, 放置片刻, 用低倍镜观察, 再转高倍镜并计数 10 个大方格内 RBC 和 WBC 数。离心标本计数法: 10.0 mL 尿液, 用一次性尿液专用离心管以 1 500 r/min 速度, 离心 5 min, 弃去上清液, 留 0.2 mL 尿沉渣滴入计数池中, 用高倍镜计数 10 个大方格内 RBC 和 WBC 数。[离心标本细胞数(细胞数/ μ L)=10 个大方格内细胞数/尿液浓缩倍数]。试验都在取样后, 1 h 内完成, 镜检结果以平均值报告。

2 结果

4 种方法 RBC 和 WBC 测定结果见表 1。

表 1 4 种方法 RBC 和 WBC 测定结果(μ L)

方法	RBC	WBC
不离心标本镜检法	181.4~258.6	133.3~226.2
离心标本镜检法	97.0~135.0	93.0~160.0
LX-3000B 分析仪	208.8~270.3	108.8~211.2
UF-100 分析仪	173.0~286.6	148.2~249.2

3 讨论

镜检是检查尿液 RBC 和 WBC 的主要方法, 但受到许多因

素的影响, 离心标本离心过程中会让细胞受到破坏, 促使细胞形态发生改变, 还有检验工作者技术等差异, 都影响到检测结果的准确性^[3]。全自动尿沉渣分析仪 LX-3000B、UF-100 的应用, 推动了尿液 RBC 和 WBC 定量计数检测的自动化。

UF-100 检测尿液 RBC 和 WBC 计数定量分析很快速、简单^[4]。但对可疑的标本结果要以镜检复查, 以免误诊。

LX-3000B 全自动尿有形成分分析仪 LX-3000B 检测尿 RBC 和 WBC 结果与不离心标本镜检法差异不大^[5], 有临床应用价值。

尿 RBC 和 WBC 的镜检, 主要有离心标本镜检, 不离心标本镜检及倒置显微镜检查法^[6]。按染色分, 无染色和染色尿沉渣镜检两大类。尿液标本离心、不离心, 离心后沉渣留取 0.2 mL。结果离心与不离心标本镜检法比较, 不离心标本镜检法对 RBC 检测结果是离心标本镜检法的 2.0 倍, WBC 检测结果是离心标本镜检法的 1.4 倍。主要原因是: (1) 尿液标本个体的差异, 尿液中细胞浮力差异, 使部分离心变形的 RBC 沉淀不完全。(2) 在离心过程中, 细胞受离心力的影响, 变形、溶解破裂。(3) 离心后细胞容易堆积、重叠, 特别当尿液中含有大量的有形成分如细胞、结晶、非晶形盐类及真菌等, 给正确识别细胞带来很大的困难, 计数也不易准确。但不离心标本镜检法直接计数尿中 RBC 和 WBC, 能提高阳性检出率, 真实地反应尿中 RBC 和 WBC 量, 操作简单、易行。采用新鲜尿液直接镜检计数, 是检测尿液 RBC 和 WBC 定量计数的最好的方法。

综上所述, 在尿液 RBC、WBC 计数中, 用新鲜中段尿液直接计数, 是尿液 RBC、WBC 定量计数的理想方法。但在临床工作中, 效率低, 应用起来很困难。使用分析仪 LX-3000B 和 UF-100 进行检测, 有筛查作用。若混浊尿标本, 可能带各形成份如管型、细胞、结晶、非晶形盐类等, 尤其是生育期的女性尿标本, 当混有来自阴道分泌物的有形成份上皮细胞、滴虫、真菌时, 一定要进行镜检, 加以区别。离心镜检计数法不适合尿液 RBC 和 WBC 定量计数分析。

参考文献

[1] 丛玉隆. 尿液沉渣检查标准化建议[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(7): 225-134.

[2] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 2 版. 南京: 东南大学出版社, 1997: 133-134.

[3] 张家红, 张国锋. UF-100 尿沉渣分析仪测定尿有形成分影响因素探讨[J]. 中国医科大学学报, 2004, 33(1): 24-27.