[7] 王佳梅，刘乃丰，史亚香，等. 危急值全程信息化管理与持续改进[J]. 临床检验杂志，2015，33(8)：630-632.
[8] 孙杰，张晓祥，陈妍妍，等. LIS 和 HIS 系统结合人工信息传递对检验危急值的管理与运用[J]. 中国医院，2016，20(3)：336-385.
[9] 杜杏利，徐炜新，任军. 信息化管理背景下建立检验危急值报告追踪预警机制的研究[J]. 检验医学，2014，29(4)：380-383.

（收稿日期：2017-02-15　修回日期：2017-04-20）

·临床研究·

全自动微生物侦测系统鉴别血液成分细菌污染的应用评价*

杨俊鸿，邹晓萍，彭　楷，廖玉英△，骆展鹏，何大莉，黄　霞
（重庆市血液中心　400015）

摘　要：目的　评价 BacT/ALERT 3D 全自动微生物侦测系统在鉴别血液成分细菌污染中的应用。**方法**　通过分析室间质评标本检测结果的阳性符合率、阴性符合率以评价检测系统性能，分析 2013 年 1 月至 2015 年 12 月血液及成分抽检标本结果对血液的污染情况进行监测。**结果**　室间质评标本共 71 份，仪器报阳预警 40 份，阳性符合率 97.5%，阴性符合率 100.0%。血液及成分抽样标本共 1 584 份，假阳性率为 0.6%。**结论**　通过分析和评价检测系统在检测中的应用效果，及时查找并分析原因，解决问题从而达到细菌监测的目的。

关键词：血液成分；　细菌污染；　全自动微生物侦测系统
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2017.14.041　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2017)14-1975-02

本中心质控实验室自 2004 年起所抽检的血液产品均在 BacT/ALERT 3D 全自动微生物侦测系统中进行微生物检测，并于 2013 年起参加中国国际输血感染预防和控制项目(CITIC)血液细菌检测室间质量评价。本文通过分析室间质评标本检测结果和 2013 年 1 月至 2015 年 12 月血液成分抽检标本阳性预警结果，评价 BacT/ALERT 3D 全自动微生物侦测系统在鉴别血液成分细菌污染中的应用。

1　材料与方法

1.1　标本来源　根据标本来源的不同将标本分成抽检标本组和室间质评标本组。抽检标本组：2013－2015 年按《血站技术操作规程》(2012 版)要求每月抽检每种血液产品 4 袋，共计标本 1 584 份，其中细菌污染风险最大的血小板制品(手工浓缩血小板、单采血小板和去白细胞单采血小板)共计 432 份。室间质评标本组：2013－2015 年 CITIC 室间质量评价血液成分细菌检测标本 7 批次共 71 份及配套使用的无菌检测用水和无菌生理盐水。

1.2　仪器与试剂　BacT/ALERT 3D 全自动微生物侦测系统(生物梅里埃公司)，生物安全柜(青岛海尔)，净化台(青岛海尔)，BacT/ALERT 3D 配套需氧培养试剂瓶 BPA 和厌氧培养试剂瓶 BPN(生物梅里埃公司)，20 mL 无菌注射器。

1.3　检测方法

1.3.1　室间质评标本检测　室间质评标本在生物安全柜中按照说明书要求用无菌注射器吸取 2 mL 室间质评配套使用的无菌检测用水充分溶解冻干粉，再加入 2 mL 无菌生理盐水稀释、充分混匀。用无菌注射器尽量完全吸取菌液接种到需氧培养试剂瓶(BPA)中，和接种了常规血液成分样品的试剂瓶一起放入 BacT/ALERT 3D 全自动微生物侦测系统中在(36±1)℃条件下培养，直至出现反应性信号或未出现反应信号的培养至 d7。

1.3.2　血液及成分抽样标本检测　根据《血站技术操作规程》(2012 版)要求随机抽检血液产品，抽检后使用无菌接口机进行分样，留取 10～12 mL 作为细菌培养标本。抽检标本在净化台采用聚维酮碘消毒血辫后，用无菌注射器抽取血液标本 12 mL 左右，注入需氧及厌氧培养瓶各 5～6 mL，核对扫描后置入 BacT/ALERT 3D 全自动微生物侦测系统。

1.3.3　培养结果判断　当仪器出现反应信号后，记录仪器显示的对应试剂瓶生长曲线中出现反应信号的时间，抽出试剂瓶观察试剂瓶底颜色是否变黄，并将培养基按上述检测相同的方法转种一次。同时，将阳性预警的抽样标本母袋重新取样培养，以判断阳性菌的来源。如仪器报出阳性预警信号并且试剂瓶底部变黄的标本为阳性标本；如连续培养至 d7 仪器未出现阳性预警信号且底部未变色的标本为阴性标本。

1.4　统计学处理　采用 SPSS 17.0 软件对两组标本的报阳率、阳性标本的菌群分布、阳性标本的吸光度(OD)值分布和报阳时间分布及假阳性标本的相应参数进行统计分析。

2　结　　果

2.1　室间质评标本结果　室间质评样本共 71 份，仪器报阳预警 40 份，阳性符合率 97.5%，阴性符合率 100.0%。

2.2　血液及成分抽检标本结果　血液及成分抽样标本共 1 584份，仪器报阳预警 10 份，报阳率为 0.6%。通过综合分析生长曲线 OD 值、试剂瓶底颜色变化及母袋重新取样培养结果，确定均为假阳性，假阳性率为 0.6%。

2.3　预警时间分布　真阳性标本各类菌种平均预警时间比假阳性标本平均预警时间短，差异均有统计学意义($P<0.05$)。真阳性标本报阳时间最早的是金黄色葡萄球菌[(10.71±5.10)h]，其次为大肠埃希菌[(12.24±11.21)h]、枯草芽孢杆菌[(13.63±3.55)h]、白色念珠菌[(16.54±5.40)h]、铜绿假单胞菌[(21.21±14.43)h]和黑曲霉菌[(21.68±19.34)h]。假阳性标本预警时间为(38.54±15.40)h。见图 1。

2.4　报阳标本 OD 值分布　真阳性标本 OD 值均在 3 000 以上，绝大部分在 4 000 以上。假性预警标本 OD 值均在 4 000 以下，见表 1。

*　**基金项目：**重庆市卫生和计划生育委员会资助项目(2015ZBXM018)。
△　**通信作者，**E-mail：2501586966@qq.com。

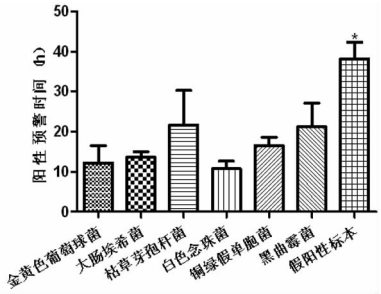

图 1　预警时间分布

表 1　预警标本 OD 值分布及构成比[n(%)]

OD 值	真阳性	假阳性
2 000～3 000	0(0.0)	5(45.0)
3 000～4 000	3(8.0)	6(55.0)
≥40 000	36(92.0)	0(0.0)
合计	39(100.0)	11(100.0)

3　讨　论

随着临床成分输血理念的普及和血站血液成分制备工艺的改进，血液产品的种类日趋丰富。特别是血小板类产品[1]，储存条件为 20～24 ℃，这个温度是大多数细菌的最适生长温度，且血浆中含有细菌生长的营养物质，如果血液在采集、制备等环节有细菌污染，则极易导致细菌在血液产品中大量繁殖，同时产生大量的内毒素[2]。患者输注 1 U 细菌污染血小板的风险约为 1/2 000，约为输血病毒感染风险的 250 倍[3]。BacT/ALERT 3D 全自动微生物侦测系统检测灵敏度较高，仪器对环境条件的变化也比较敏感，易造成假阳性预警[4]。因此，应对仪器的性能进行评价，以保障检测时的结果可靠性。

本文通过分析室间质评结果的符合率和抽检标本的假阳性率、假阴性率等情况，评价 BacT/ALERT 3D 全自动微生物侦测系统在检测血液及成分等标本时的应用效果。本研究中，室间质评标本阳性符合率为 97.5%，阴性符合率达到 100.0%，说明检测系统状态良好。同时，采用室间质评的阳性标本作为阳性组，可以在血站实验室较少阳性标本的情况下监控仪器对阳性标本反应情况[5]。阳性标本中菌种包含大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、铜绿假单胞菌和黑曲霉菌，是因为黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉是国家规定的作为验证无菌检查所用培养基灵敏度的标准菌种，而大肠埃希菌是血小板污染的常见菌种[6]，因此，使用这些菌种作为全自动微生物检测系统有效性的监测。

分析报阳时间、OD 值等仪器参数与可靠的结果之间的关系等，评价系统在应用过程中的鉴别能力。血培养报阳时间与标本中细菌浓度呈反比，室间质评标本中的细菌含量为 50 cfu/mL[5]，在标本细菌含量一致的前提下，不同病原菌的报阳时间不同，金黄色葡萄球菌最早，黑曲霉菌最晚，说明报阳时间与细菌菌属有关。所有阳性标本组的报阳时间均值都在 24 h 以内，假阳性标本报阳时间均值大于 38 h，说明 24 h 内报阳的标本提示可能为真阳性标本。

真阳性标本 OD 值均在 3 000 以上，且 90%以上的真阳性标本检测 OD 值在 4 000 以上；而假阳性标本的 OD 值均在 4 000以下，与文献报道基本一致[7]。OD 值在 4 000 以上的标本判定为阳性标本的可能性更大，OD 值在 3 000～4 000 的标本可以结合瓶底肉眼观察结果，涂片镜检结果，以及延迟培养时间的结果加以综合分析。

本研究中的抽检标本未发现真阳性细菌污染的血液产品，这与血站采集的血液标本均来源于健康人的血液有关，同时血站特别重视血液采集前规范的局部皮肤消毒以减少采集污染，也会降低血培养的阳性率[8]。这也是抽检的血液产品细菌培养阳性率比医院血培养标本阳性率低的原因。同时，血小板制品由于保存于 20～24 ℃条件下，取样时间会对培养结果造成影响，过早取样可能会引起假阴性结果[6-9]，在当前国内血小板供应现在的现状下如何进行多次取样培养，确保培养结果的正确性需进一步探索。

引起 BacT/ALERT 3D 全自动微生物侦测系统假阳性预警的原因主要包括设备所处的环境温度和孵育箱温度急剧变化，血液样本中白细胞含量高，孵育时最初 2 h 内改变培养瓶的位置，培养瓶注入标本量超过 12 mL，以及电压波动等[10]。在仪器出现阳性预警时，结合报阳标本的报阳时间、OD 值、瓶底肉眼观察和母袋重新取样培养结果，必要时做涂片镜检，以便更好地鉴别血液成分细菌培养出现报阳结果的原因，避免发出假阳性结果。同时，实验人员规范血液产品微生物检测的操作流程，优化实验室条件，定期对检测系统进行诊断分析也是保证微生物检测结果质量的重要措施[11]。

参考文献

[1] Currie LM, Harpper JR, Allan H, et al. Inhibition of cytokine accumulation and bacterial growth during storage of platelet concentrates at 4 °C with retention of in vitro functional activity[J]. Transfusion, 1997, 37(1): 18-24.

[2] 何华庆，韩玲，涂娟，等. 1 086 例单采血小板细菌培养结果分析[J]. 实验与检验医学，2015，33(5)：688-689.

[3] 林红，陈妍，黄成垠. 血小板制品细菌检测方法研究进展[J]. 国际检验医学杂志，2013，34(2)：187-189.

[4] 朱立苇，王拥军，孟忠华，等. CITIC 细菌检测室间质量评价及细菌检测质量影响因素分析[J]. 中国输血杂志，2014，27(11)：1110-1112.

[5] 徐忠，邱颖婕，冯佳，等. 采供血机构血液成分细菌检测能力验证试验及其初步结果分析[J]. 中国输血杂志，2014，27(5)：460-462.

[6] 邱颖婕，冯佳，周筱嫣，等. 17 家采供血机构血液成分细菌检测室间质评结果分析[J]. 中国输血杂志，2015，28(11)：1413-1415.

[7] 毛小琴，周光，赵梅，等. 血培养仪阳性报警标本的多参数分析[J]. 中华医院感染学杂志，2014，24(22)：5519-5521.

[8] 朱立苇，杨雪梅，徐霄勤，等. BacT/ALERT3D 血液样本细菌检测中假阳性反应的分析[J]. 中国实验血液学杂志，2008，16(5)：1207-1210.

[9] 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.

[10] 巫贡晓，兰竹，陈永超，等. 机采血小板细菌培养的假阳性结果分析及控制[J]. 海南医学，2010，21(9)：6-7.

[11] 杨俊鸿，彭楷，邹晓萍，等. 一家血站质控实验室参加 CITIC 血液成分细菌检测室间质量评价分析[J]. 中国输血杂志，2016，29(1)：110-112.

（收稿日期：2017-02-16　修回日期：2017-04-08）