

3 种不同全自动血培养仪的临床应用及评价

王春玉, 陈中举, 朱旭慧, 尹皓凡, 闫少珍, 田磊, 孙自镛(华中科技大学附属同济医院检验科, 武汉 430030)

【摘要】 目的 评估 Bact/Alert 3D、BD BACTEC FX 以及 Versa TREK 3 种不同全自动血培养仪之间的应用价值及其相互差异。**方法** 比较 3 种仪器的培养结果的报阳时间及延迟培养的报阳时间, 评价 3 种仪器的临床应用价值。**结果** 3 种血培养仪在培养时间的比较上, BD 的最短报阳时间的瓶数所占比例是 29.4%, 梅里埃的最短报阳时间的瓶数所占比例为 11.8%, Versa TREK 的最短时间报阳瓶数所占比例为 58.8%。在延迟培养的比较中, 3 种仪器的时间差距较小, 延迟培养条件下建议在常温下保存(4℃条件下苛养菌可能死亡)。**结论** Versa TREK 在细菌的培养时间上有一定的优势, 但其存在操作较为繁琐, 污染率相对较高的风险, Bact/Alert 3D、BD BACTEC FX 在培养时间上差距不是很大, 且操作方便。

【关键词】 血培养仪; 血培养; 细菌

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.07.020 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)07-0913-04

Clinical application and evaluation of three different kinds of automatic blood culture instrument WANG Chun-yu, CHEN Zhong-Ju, ZHU Xu-hui, YIN Hao-fan, YAN Shao-zhen, TIAN Lei, SUN Zi-yong (Department of Clinical Laboratory, Affiliated Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei 430030, China)

【Abstract】 Objective To assess the application value of 3 different kinds of Bact/Alert 3D, BD BACTEC FX and Versa TREK automatic blood culture instruments and their mutual difference. **Methods** By using the contrast method, the reported positive time for culture results and report positive time for delayed culture were compared among 3 kinds of instrument for evaluating their clinical value. **Results** In the comparison of culture time, the bottle number proportion of shortest reported positive time for BD was 29.4%, which for Bact/Alert 3D was 11.8% and which for Versa TREK was 58.8%. In the comparison of delayed culture, the time difference among 3 kinds of instrument was smaller, under the delay culture condition, the conservation under the room temperature was recommended (fastidious bacteria may die under the condition of 4℃). **Conclusion** Versa TREK has certain advantages in the bacterial culture time, but the risk of tedious operation and relatively high contamination rate exists, the difference in the incubation time between Bact/Alert 3D and BD BACTEC FX is not very big, which are easy to operate.

【Key words】 blood culture instrument; blood cultures; bacterium

随着败血症及菌血症的增多, 血培养的重要性日益突出。而血培养方法的改进也促进了临床对菌血症的及时诊断和后续的治疗, 全自动血培养仪的出现大大缩短了检测时间, 提高了阳性检出率。本实验室对 Bact/Alert 3D、BD BACTEC FX 以及 Versa TREK 3 种不同全自动血培养仪进行报阳时间及延迟培养的结果进行评估, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器 Bact/Alert 3D 240、BD BACTEC FX 400、Versa TREK 240。

1.2 培养瓶 Bact/Alert 3D; Bact/Alert FA(需氧瓶)、Bact/Alert FN(厌氧瓶)、BD BACTEC FX; BD BACTEC PLUS Aerobic/F(需氧瓶)、BD BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F(厌氧瓶)、Versa TREK; Versa TREK REDOX1 with Stir Bar(需氧瓶)、Versa TREK REDOX2(厌氧瓶)。

1.3 培养基及其他 商品化血平板(BA)、选择性巧克力平板(CH)、人全血、生理盐水、比浊仪、玻璃试管。

1.4 方法 (1)用无菌生理盐水配制 0.5 标准麦氏浓度的菌悬液(10^8 CFU/mL), 并进行连续 3 次 1:100 稀释以得到 100~1 000 CFU/mL 的菌悬液, 然后取 0.1 mL 的菌悬液和 5

mL 的人血混匀, 注入 3 种不同的血培养瓶(需氧瓶及厌氧瓶)中进行培养, 同时取 0.1 mL 菌液接种血琼脂平板或巧克力琼脂平板或厌氧琼脂平板用于菌落计数, 以评价 3 种血培养仪的阳性检出率、阳性检出时间及其相关综合性评价。(2)按照方法 1 配制的菌悬液注入血培养瓶之后, 按照延迟培养的模拟条件(4、25、35℃)进行放置, 14 h 后进行培养(同样设立了阴性对照组, 表中未列出)。

1.5 质量控制 设立一组阴性对照, 阴性对照组采用生理盐水代替。

1.6 统计学处理 应用 SPSS18.0 软件进行统计学处理。组间比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 种全自动血培养仪的培养时间 从表 1 中可以发现, 一共有 17 株细菌进行培养, 其中有 6 株革兰阴性杆菌, 6 株革兰阳性球菌, 3 株革兰阳性杆菌, 1 株真菌, 1 株革兰阴性球菌。从中可以发现其中有 5 株苛养菌, 2 株厌氧菌, 细菌种类比较全面。从菌计上可以发现所有细菌的菌计均在 20 以下, 符合试验要求。所有细菌的报阳时间和国内的有关试验统计一致。统计发现, 在不区分厌氧瓶和需氧瓶的报阳时间的情况下, BD

的最短报阳时间的瓶数有 5 瓶,分别是流感嗜血杆菌、大肠埃希菌、普通变形杆菌、产气荚膜梭菌、卡他莫拉菌,所占比例为 29.4%;梅里埃的有 2 瓶,分别是嗜麦芽窄食单胞菌、脆弱拟杆菌,所占比例为 11.8%;Versa TREK 的最短时间报阳瓶数有 10 瓶,分别是:草绿色链球菌、化脓链球菌、肺炎链球菌、鲍曼不动杆菌、粪肠球菌、白色念珠菌、金黄色葡萄球菌、产单核李斯特菌、人葡萄球菌人亚种、铜绿假单胞菌,所占比例为 58.8%。可以发现 Versa TREK 在最短时间报阳的瓶数最多,集中表现在革兰阳性球菌和真菌方面。对于苛养菌的保阳时间上分析可发现:Versa TREK 在最短时间报阳的瓶数有 3 瓶,梅里埃 Bact/Alert 3D、BD BACTEC FX 各有 1 瓶。可见 Versa TREK 在苛养菌的培养中有一定优势。在厌氧菌的培

养中,Versa TREK 的培养时间最长,Bact/Alert 3D 和 BD BACTEC FX 培养时间差不多,明显比 Versa TREK 的培养时间短。

2.2 延迟放瓶的培养结果 见表 2。从表 2 中可以发现,在延迟培养的不同温度条件下,Versa TREK 的培养时间相对较短,有金黄色葡萄球菌、白色念珠菌和肺炎链球菌,另外大肠埃希菌的培养时间比较发现 BD BACTEC FX 的时间最短,但三者差距不明显。Bact/Alert 3D 和 BD BACTEC FX 在厌氧菌的培养时间上有较大优势。从延迟培养温度的比较上可以发现,4℃的保存与即时培养的时间上最接近。但肺炎链球菌在 4℃的延迟培养条件下没有生长,说明细菌已经死亡,因此建议放在常温下保存最好。

表 1 3 种培养仪的培养时间(h)

菌种	菌计 (个)	BD BACTEC FX		Bact/Alert 3D		Versa TREK	
		需氧瓶	厌氧瓶	需氧瓶	厌氧瓶	需氧瓶	厌氧瓶
流感嗜血杆菌	8	20.55	(—)	58.12	(—)	44.93	(—)
鲍曼不动杆菌	2	12.90	(—)	12.75	13.92	11.53	(—)
大肠埃希菌	12	12.07	10.73	13.58	12.42	13.92	13.33
嗜麦芽窄食单胞菌	12	80.50	(—)	30.50	28.47	35.22	(—)
普通变形杆菌	9	15.23	13.57	16.08	14.42	16.33	(—)
铜绿假单胞菌	16	17.50	(—)	19.23	20.23	17.42	(—)
粪肠球菌	6	13.08	12.25	13.87	12.53	12.02	17.60
白色念珠菌	17	30.00	(—)	24.51	24.85	24.00	(—)
金黄色葡萄球菌	13	19.57	15.55	15.75	14.25	13.73	(—)
人葡萄球菌人亚种	9	15.92	15.58	16.73	16.42	15.08	(—)
草绿色链球菌	8	18.58	15.08	19.42	15.92	14.10	(—)
脆弱拟杆菌	12	(—)	13.92	(—)	13.53	(—)	25.60
产气荚膜梭菌	3	(—)	10.25	(—)	11.03	(—)	15.60
产单核李斯特菌	10	20.93	18.08	18.58	17.58	17.40	23.00
卡他莫拉菌	2	(—)	17.97	—	19.58	—	20.75
化脓链球菌	16	12.25	12.75	14.42	13.75	10.90	(—)
肺炎链球菌	4	13.55	14.92	16.08	18.42	15.90	11.70
生理盐水(阴性对照)	0	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)

注:(—)表示培养阴性。

表 2 延迟放瓶的培养时间(h)

培养方式	菌种	Bact/Alert 3D		BD BACTEC FX		Versa TREK	
		需氧瓶	厌氧瓶	需氧瓶	厌氧瓶	需氧瓶	厌氧瓶
即时培养	金黄色葡萄球菌	15.75	14.25	19.57	15.55	13.73	(—)
	大肠埃希菌	13.58	12.42	12.07	10.73	13.92	13.33
	白色念珠菌	24.51	24.85	30.00	(—)	24.00	(—)
	脆弱拟杆菌	(—)	13.53	(—)	13.92	(—)	25.60
	肺炎链球菌	16.08	18.42	13.55	14.92	15.90	11.70
延迟培养 4℃	金黄色葡萄球菌	14.25	14.05	17.50	14.05	11.30	(—)
	大肠埃希菌	11.55	10.07	9.75	7.10	11.50	9.73
	白色念珠菌	21.50	22.55	26.92	(—)	20.45	(—)
	脆弱拟杆菌	(—)	11.33	(—)	12.05	(—)	20.40
	肺炎链球菌	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
延迟培养 25℃	金黄色葡萄球菌	11.85	10.55	14.55	12.05	10.25	(—)
	大肠埃希菌	8.36	7.25	8.05	6.33	8.50	7.05

续表 2 延迟放瓶的培养时间(h)

培养方式	菌种	Bact/Alert 3D		BD BACTEC FX		Versa TREK	
		需氧瓶	厌氧瓶	需氧瓶	厌氧瓶	需氧瓶	厌氧瓶
延迟培养 35 ℃	白色念珠菌	17. 25	18. 73	20. 25	(—)	16. 33	(—)
	脆弱拟杆菌	(—)	8. 45	(—)	9. 05	(—)	12. 33
	肺炎链球菌	14. 05	16. 55	11. 92	10. 08	11. 42	10. 9
	金黄色葡萄球菌	7. 05	6. 85	6. 00	5. 50	5. 25	(—)
	大肠埃希菌	6. 35	5. 00	6. 50	5. 35	7. 00	5. 85
	白色念珠菌	13. 55	14. 05	15. 50	(—)	12. 75	(—)
	脆弱拟杆菌	(—)	6. 25	(—)	6. 45	(—)	9. 75
	肺炎链球菌	12. 00	14. 55	10. 55	9. 33	9. 42	9. 08

注:(—)表示培养阴性。

2.3 仪器操作形式 Bact/Alert 3D 和 BD BACTEC FX 的操作方式是培养瓶扫条码的形式,其中 Bact/Alert 3D 是在扫条码之后培养箱所有合适的空白位置均可放置,BD BACTEC FX 是在扫条码之后培养箱有唯一指定位置。Versa TREK 是先对培养瓶消毒,之后在每一个待培养的培养瓶上插入压力感应器,最后是扫条码放入指定位置。

3 讨 论

近几年来,虽然新型的广谱抗菌药物的不断研发更新并投入临床使用,但血流感染(BSI)的发病率、病死率并未得到相应的控制。发病率从 1986 年的 1.6% 增至 2006 年的 3.1%,年度增长率为 0.1%,病死率达 21.0%~48.0%^[1-2]。甚至,由于多重耐药菌的大量出现及抗菌药物的不合理使用,使菌血症的感染呈上升趋势。机械通气、静脉导管留置,内镜等侵入性检查和治疗措施的广泛应用,成为血流感染的常见感染途径,其发生率逐年上升。因此,临床对微生物实验室快速准确地鉴定血流感染,给出相应的药敏试验结果以指导临床用药越来越重要。血培养仪器的出现弥补了临床出现的问题。本文讨论的 3 种血培养仪分别有自己的特点:Bact/Alert 3D 和 BD BACTEC FX 均采用培养瓶放入仪器后即开始连续孵育、轻度振荡培养和自动检测的方法,其中 Bact/Alert 3D 培养仪有自动搜集整理和监测系统,其血培养瓶的底部有特殊的 Novel CO₂ 感应器,有半渗透性薄膜将培养基与感应器隔离。系统则利用细菌生长产生的代谢产物 CO₂ 渗透至感应器,pH 改变使其颜色改变的原理进行连续检测。BD BACTEC FX 培养仪利用荧光探测技术(荧光增强法),其培养瓶底部包埋有对 CO₂ 浓度变化高度敏感的荧光物质,而微生物代谢引起的 CO₂ 浓度变化,可直接激活此荧光物质,在二极管的激发下荧光物质释放荧光。Versa TREK 则是采用压力传感器来检测培养瓶顶部空间压力变化,压力变化来自微生物代谢产生和消耗的各种气体(CO₂、O₂、N₂ 和 H₂)。

适合微生物实验室的培养仪需具备的特点:(1)阳性标本的准确报告,既要检测尽可能多的微生物(普通细菌、真菌、苛养菌、厌氧菌等),又要尽可能减少假阳性,以免给临床造成误导。(2)快速的报告阳性标本,即实验室在最短的时间内给临床一个准确的结果。本研究中,3 种血培养仪都可以检测出 100~1 000 CFU/mL 浓度范围内的所有细菌,在此说明的是:嗜麦芽窄食单胞菌在 BD 培养仪的报阳时间是 80.5 h,而另外两种培养仪的培养时间是 30 h 左右,有文献表明,BD 培养仪未能检出嗜麦芽窄食单胞菌^[3],可见 BD 培养仪对嗜麦芽窄食单胞菌的检测能力不如另外 2 个培养仪。另外,从表 1 中可以发现,鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌这 4 种细菌均是专性需氧菌,然而 Bact/Alert 3D 的厌氧瓶全部可以检测出这些细菌,排除偶然性误差,可以从一定

程度上反映了 Bact/Alert 3D 的厌氧瓶存在密封性不好的现象,而 Bact/Alert 3D、Versa TREK 的厌氧瓶其密封性相对较好。这需要引起厂家注意。

另外,由于 Versa TREK 独特的检测技术,使 Versa TREK 的检测范围会更广,有文献表明,Versa TREK 是唯一能检测出厌氧消化链球菌的系统^[4]。在临床的回顾性调查中显示,在低采血量的情况下,Versa TREK 比 Bact/Alert 3D、BD BACTEC FX 检出更多的细菌,Versa TREK 是唯一能够在 1 mL 和 0.5 mL 的采血量情况下能检出淋病奈瑟菌的系统^[6]。本试验中 Versa TREK 可以发现具有独特的气压感应技术以及营养丰富的 REDOX 培养基,Bact/Alert 3D、BD BACTEC FX 在苛养菌和低采血量情况下检出率稍有不足。从表 1 的结果分析中发现,在报阳时间方面的比较中,Versa TREK 的报阳时间相对来说最快,其中有 10 株报阳,而 BD BACTEC FX 有 5 株报阳,Bact/Alert 3D 仅有 2 株报阳。因此 Versa TREK 需氧瓶是检出率最高的单个培养瓶。在厌氧菌的检测方面 Versa TREK 明显不如 Bact/Alert 3D、BD BACTEC FX,并且有许多的兼性厌氧菌(如大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、化脓链球菌等)在 Versa TREK 的培养中都是阴性,而在 Bact/Alert 3D、BD BACTEC FX 中培养均是阳性,究其原因可发现,Bact/Alert 3D、BD BACTEC FX 的系统对所有培养瓶(需氧瓶和厌氧瓶)均采用连续孵育、轻度震荡培养,而 Versa TREK 是只针对需氧瓶采用了涡旋搅拌技术,而厌氧瓶没有使用(其目的是为了提供稳定的厌氧环境),使得厌氧瓶中细菌不能充分利用营养而生长速度相对缓慢,甚至检测不出兼性厌氧菌。因此,在厌氧菌的培养中,Versa TREK 要比 Bact/Alert 3D 和 BD BACTEC FX 的培养时间延长很多,Bact/Alert 3D 和 BD BACTEC FX 之间没有差异。在苛养菌的培养中,Versa TREK 比 Bact/Alert 3D、BD BACTEC FX 的检出时间相对较短,但是差距不明显,说明 3 种培养仪在苛养菌的培养方面其差异无统计学意义($P>0.05$)。在卡他莫拉菌的培养过程中发现 Versa TREK 并没有检测出这一种细菌,而 Bact/Alert 3D、BD BACTEC FX 这两种血培养仪都能检测出,关于该细菌在检测方面的差异虽然无文献支持,但该发现有临床意义。虽然可能是偶然误差,这也需要引起 Versa TREK 仪器的重视。在真菌检测方面,本次试验仅仅提供了白色念珠菌的检测,无统计学价值,但可以发现在真菌检测性能方面,Versa TREK 具有优势,此有文献^[4]证实。

有文献研究发现,Versa TREK 需氧瓶是检出率最高的单个培养瓶,无论是在加血还是不加血的情况下^[5]。原因是 Versa TREK 培养瓶的营养相对来说更加丰富,在无需加血的情况下仍能满足培养的需求。该文献的结果显示两种血培养仪均可满足这两种情况下的微生物培养。

在污染率方面,文献[6]发现 Versa TREK 的污染率是 2.77%,Bact/Alert 3D 的污染率是 2.29%,BD BACTEC FX 的污染率是 2.29%。虽然文献说明差异无统计学意义($P>0.05$),但据实际操作过程可以发现,Versa TREK 的培养瓶有一个安装压力感应器的操作,很有可能因为消毒不完全或是没有消毒等人为上的失误,而引起污染。另外,这个安装压力感应器的过程会花费一定的时间与精力,并且对员工的技术要求相对较高,相对于 Bact/Alert 3D 和 BD BACTEC FX 的操作简单快捷,Versa TREK 存在劣势。

在实际培养过程中,由于实验室条件的限制,不会在 24 h 不间断的为临床提供培养服务,或者血培养瓶在运输途中耽误时间,从而导致血培养瓶可能存在时间的延误,并且在这一时间内可能储存在不同温度环境中,通过延迟试验发现,在不同温度下的延迟培养 Versa TREK 均具有优势,有文献表明,在 3 种培养仪比较当中,Versa TREK 在几乎所有细菌的检测当中时间均是最短的,不管是立即放瓶还是延迟放瓶的情况下^[7]。另外,在 4℃ 的环境中其检测的效果是最好的,最接近立即放瓶的效果。但是,实验发现肺炎链球菌在 4℃ 的延迟培养中不生长,细菌可能已经死亡,因此存在苛养菌不适合在 4℃ 保存,为了降低假阴性的出现,建议当有可能延误的情况下,将血培养瓶放在 25℃ 保存。当然,在实际培养过程中的影响因素还有很多,比如采集套数、抗菌药物的使用等^[8-10]。

总之,3 种血培养仪的培养时间均可以满足临床的需求。Versa TREK 在培养时间上具有一定的优势,主要是需氧菌和兼性厌氧菌,在厌氧菌的培养上有一定劣势。Bact/Alert 3D 和 BD BACTEC FX 之间差距不大,可以在临床实验室相互替代。在假阳性方面,Versa TREK 存在不足,这可能存在一定的临床影响。在操作上 Versa TREK 比较麻烦,可能对其临床实验室的应用推广带来影响。

参考文献

[1] 答嵘,王伟,马晨,等. 临床标本全自动血培养仪报警时间分析[J]. 中国微生态学杂志,2014,16(1):103-105.

[2] Teshale S, Wondwossen A, Workeabeba A, et al. High Mortality from Blood Stream Infection in Addis Ababa, Ethiopia, Is Due to Antimicrobial Resistance [J]. PloS

One, 2015, 10(12):e0144944.

[3] Dreyer AW, Ismail NA, Nkosi D, et al. Comparison of the VersaTREK blood culture system against the Bactec9240 system in patients with suspected bloodstream infections [J]. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2011, 10(4): 223-235.

[4] Schieffer KM, Tan KE, Stamper PD, et al. Multicenter evaluation of the Sepsityper™ extraction kit and MALDI-TOF MS for direct identification of positive blood culture isolates using the BD BACTEC™ FX and VersaTREK diagnostic blood culture systems [J]. J Appl Microbiol, 2014, 116(4):934-941.

[5] Stanley M, Hanson KE, Barth R. Controlled clinical comparison of VersaTREK and BacT/ALERT blood culture systems[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(2):299-302.

[6] Francisco QF, Lourdes IS, Cecilia GS. Comparison of the VersaTREK system and Löwenstein-Jensen medium for the recovery of mycobacteria from clinical specimens[J]. Infect Dis, 2008, 40(1):49-53.

[7] Stefan R, Eisinger SW, Lisa D, et al. Comparison of BD Bactec Plus Aerobic/F medium to VersaTREK Redox 1 blood culture medium for detection of Candida spp. in seeded blood culture specimens containing therapeutic levels of antifungal agents[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(4):1524-1529.

[8] 马楠, 李国智, 马俊. 全自动血液培养系统在血流感染诊断中的价值及影响因素[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(11):1523-1525.

[9] 王升, 张红升. Versa TREK 全自动血培养仪的临床应用及评价[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(9):806-809.

[10] 温庆辉, 万德胜, 郭志勤, 等. Bact/Alert 3D 全自动血培养仪的临床应用及评价[J]. 中国微生态学杂志, 2008, 20(1):80-81.

(收稿日期:2015-08-09 修回日期:2015-12-28)

(上接第 912 页)

髋关节恢复程度最好,48 h 拔管是最为合适的选择。

参考文献

[1] 朱玲. 髋膝关节置换术后手术部位感染的危险因素分析及预防对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(17): 3744-3745.

[2] 张敏. 康复护理对老年股骨颈骨折患者术后心理和日常生活能力的影响[J]. 中国基层医药, 2012, 8(10): 114-115.

[3] 许杰, 马若凡, 李亮平, 等. 应用低分子肝素对初次全髋及全膝关节置换后失血的影响[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(48):8963-8967.

[4] 蒋晓艳. 骨科手术切口感染相关因素及护理对策[J]. 中华医学感染杂志, 2012, 22(5):927-928.

[5] 裴福兴. 中国髋、膝关节置换的现状 & 展望[J]. 中国骨与关节杂志, 2012, 2(1):4-8.

[6] 徐永申, 孙帅, 穆杰, 等. 利伐沙班预防人工全膝关节置换术后下肢深静脉血栓形成的效果[J]. 广东医学, 2012, 33(17):2665-2667.

[7] 靡丽梅, 吴珊. 人工膝关节置换术后感染的危险因素分析[J]. 中华医学感染杂志, 2014, 24(7):1715-1716.

[8] 许杰, 马若凡, 丁悦, 等. 全膝关节置换后感染的随访分析[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2012, 12(15):2450-2453.

[9] Carroll K, Dowsey M, Choong P, et al. Risk factors for superficial wound complications in hip and knee arthroplasty [J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20(2):130-135.

[10] Michalsson K. Surgeon volume and early complications after primary total hip arthroplasty [J]. BMJ, 2014, 34(8): 133-135.

(收稿日期:2015-09-22 修回日期:2015-12-13)