

文章编号: 1673-8640 (2016) 01-0049-03 中图分类号: R446.1 文献标志码: A DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2016.01.011

3 种细菌鉴定方法鉴定结果的比较和分析

毛凌哲, 王小琼, 马远东, 宋洪霞

(温州康宁医院检验科, 浙江 温州 325000)

摘要: **目的** 比较 ATB-Expression 全自动细菌鉴定仪 (简称 ATB 细菌鉴定仪)、康泰生物细菌鉴定药敏分析系统 (简称康泰系统) 及手工鉴定法的细菌鉴定结果, 保证检验结果准确性。**方法** 收集 160 株细菌 (包括临床分离菌株 120 株、ATCC 菌株 10 株和浙江省临床检验中心发放的历年室间质评菌株 30 株), 分别采用 ATB 细菌鉴定仪、康泰系统及手工鉴定法鉴定。以 ATCC 菌株和室间质评菌株为金标准, 计算 3 种方法的灵敏度和特异性。**结果** ATB 细菌鉴定仪的鉴定结果符合率为 99.4% (159/160), 明显高于康泰系统 [75.0% (120/160)] 及手工鉴定法 [78.1% (125/160)] ($P < 0.05$); 而康泰系统与手工鉴定法比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。以 ATCC 菌株和室间质评菌株为金标准, ATB 细菌鉴定仪的灵敏度和特异性分别为 97.1% 和 100.0%, 康泰系统的灵敏度和特异性分别为 80.6% 和 55.6%, 手工鉴定法的灵敏度和特异性分别为 83.3% 和 68.8%。**结论** ATB 细菌鉴定仪相对于康泰系统和手工鉴定法, 其鉴定准确性更高; 康泰系统和手工鉴定法准确性差异不大, 适用于样本量较少的基层医院。

关键词: ATB-Expression 全自动细菌鉴定仪; 康泰生物细菌鉴定药敏分析系统; 手工鉴定法; 细菌

目前, 临床对细菌鉴定和药敏分析的要求不断提高, 同时细菌鉴定方法及技术也较多, 应用手工操作不但过程复杂, 且受主观等因素影响, 从而影响鉴定结果^[1]。近年来, 随着临床微生物检测技术不断发展, 国内外逐渐出现各种商品化细菌鉴定系统, 从而使检验过程逐渐趋向自动化和智能化^[2]。然而, 由于国内外医疗器械技术水平差异较大, 国内各级医疗机构中的细菌鉴定系统一直采用国外公司的产品。因此, 推进国产医疗设备发展应用是十分有必要的。ATB-Expression 全自动细菌鉴定仪 (简称 ATB 细菌鉴定仪) 由法国生物梅里埃公司生产, 目前在国内外应用十分广泛。康泰生物细菌鉴定药敏分析系统 (简称康泰系统) 是根据在细菌代谢作用下直接产生颜色变化或经加入显色剂产生颜色变化, 将反应结果按照说明书进行判读, 通过鉴定软件检索得到细菌鉴定结果。我们对比了 ATB 细菌鉴定仪、康泰系统及手工鉴定法鉴定细菌的准确性, 以评价国产细菌鉴定系统的临床适用性。

材料和方法

一、菌株

收集 2014 年 8 月至 2014 年 12 月康宁医院临床

分离菌株 120 株, 其中包括铜绿假单胞菌 5 株、鲍曼不动杆菌 5 株、嗜麦芽窄食单胞菌 5 株、金黄色葡萄球菌 8 株、表皮葡萄球菌 5 株、溶血葡萄球菌 5 株、人葡萄球菌 5 株、大肠埃希菌 8 株、肺炎克雷伯菌 8 株、产酸克雷伯菌 5 株、摩根摩根菌 8 株、奇异变形杆菌 5 株、阴沟肠杆菌 5 株、无乳链球菌 5 株、肺炎链球菌 5 株、口腔链球菌 5 株、化脓链球菌 5 株、粪肠球菌 8 株、尿肠球菌 5 株、鹌鸡肠球菌 5 株、铅黄肠球菌 5 株; ATCC 菌株 10 株, 包括铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、摩根摩根菌、肺炎链球菌、化脓链球菌、粪肠球菌各 1 株。浙江省临床检验中心发放的历年室间质评菌株 30 株, 包括铜绿假单胞菌 2 株、鲍曼不动杆菌 1 株、嗜麦芽窄食单胞菌 2 株、金黄色葡萄球菌 2 株、溶血葡萄球菌 2 株、表皮葡萄球菌 1 株、肺炎克雷伯菌 1 株、大肠埃希菌 2 株、沙门氏菌 2 株、奇异变形杆菌 1 株、阴沟肠杆菌 2 株、摩根摩根菌 1 株、无乳链球菌 2 株、肺炎链球菌 1 株、化脓链球菌 2 株、粪肠球菌 2 株、鹌鸡肠球菌 2 株、铅黄肠球菌 2 株。

二、方法

1. ATB 细菌鉴定仪 ATB 细菌鉴定仪 (法国生物梅里埃公司) 及配套细菌快速鉴定试

基金项目: 温州市医药卫生科学研究项目 (2014B34)

作者简介: 毛凌哲, 女, 1978 年生, 主管技师, 主要从事临床检验工作。

剂(肠杆菌科: Rapid ID 32 E、ID 32 E; 非发酵菌和其他革兰阴性杆菌: ID 32 GN; 葡萄球菌属: ID 32 STAPH; 链球菌属和肠球菌属: Rapid ID 32 STREP)。根据细菌表型特征来选择相应鉴定板条,同时经阅读器自动获取数据。Rapid ID32 STREP、ID 32 STAPH 2种鉴定板条待加指示剂后5~10 min内测定。

2.康泰系统 康泰系统(温州康泰生物科技有限公司)及配套试剂(肠杆菌科: Rap.E-15; 非发酵菌: Rap.N-15; 革兰阴性杆菌: KONT 20E; 葡萄球菌属: Rap.S-16; 链球菌属和肠球菌属: STREP)。将本研究菌株接种于血平板上,35℃培养,18~24 h后根据革兰染色和氧化酶及触酶等结果来选择合适的检测板,然后挑取数个纯菌落,将其放置于无菌蒸馏水中制成2或4麦氏浓度的菌悬液。在细菌鉴定板鉴定孔中加入100 μL菌悬液,加石蜡油封闭,35℃培养18~24 h,反应结果按照说明书进行判读,通过鉴定软件检索得到细菌鉴定结果。

3.手工鉴定法 手工鉴定法试剂均由杭州天和公司提供(肠杆菌科: CYZ-15e; 非发酵菌和其他革兰阴性杆菌: GYZ-15n; 葡萄球菌属: TH-16S; 链球菌属和肠球菌属: CYZ-12st)。操作参照《全国临床检验操作规程》(第2版)^[3]执行。

三、统计学方法

采用SPSS 13.0软件进行统计分析,计数资料以频数和百分比表示,比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、ATB细菌鉴定仪、康泰系统、手工鉴定法的鉴定情况比较

ATB细菌鉴定仪的鉴定结果符合率为99.4%(159/160),明显高于康泰系统[75.0%(120/160)]及手工鉴定法[78.1%(125/160)]($P<0.05$);而康泰系统与手工鉴定法比较差异

无统计学意义($P>0.05$)。

二、ATB细菌鉴定仪、康泰系统、手工鉴定法的灵敏度和特异性比较

以10株ATCC菌株和30株室间质评菌株为金标准,ATB细菌鉴定仪的灵敏度和特异性分别为97.1%和100.0%,康泰系统的灵敏度、特异性、准确度、阳性预测值和阴性预测值分别为80.6%、55.6%、75.0%、86.2%、45.5%,手工鉴定法的灵敏度、特异性、准确度、阳性预测值和阴性预测值分别为83.3%、68.8%、77.5%、80.0%、73.3%。见表1~表3。

表1 ATB细菌鉴定仪的细菌鉴定结果 (株)

ATB细菌鉴定仪	金标准		合计
	+	-	
+	34	0	34
-	1	5	6
合计	35	5	40

表2 康泰系统的细菌鉴定结果 (株)

康泰系统	金标准		合计
	+	-	
+	25	4	29
-	6	5	11
合计	31	9	40

表3 手工鉴定法的细菌鉴定结果 (株)

手工鉴定法	金标准		合计
	+	-	
+	20	5	25
-	4	11	15
合计	24	16	40

三、3种细菌鉴定方法各种菌株的符合情况分析

以ATCC菌株和室间质评菌株为标准,康泰系统与手工鉴定法鉴定肠杆菌科细菌基本符合,对链球菌属的分辨率较低。ATB细菌鉴定仪、康泰系统鉴定结果较手工鉴定结果准确,见表4。

表4 3种细菌鉴定方法各种菌株的符合情况

菌株	ATB细菌鉴定仪	康泰系统	手工鉴定法
铜绿假单胞菌	铜绿假单胞菌	铜绿假单胞菌	铜绿假单胞菌
鲍曼不动杆菌	鲍曼不动杆菌	鲍曼不动杆菌	醋酸钙不动杆菌
嗜麦芽窄食单胞菌	嗜麦芽窄食单胞菌	嗜麦芽窄食单胞菌	嗜麦芽窄食单胞菌
金黄色葡萄球菌	金黄色葡萄球菌	金黄色葡萄球菌	金黄色葡萄球菌
表皮葡萄球菌	表皮葡萄球菌	表皮葡萄球菌	表皮葡萄球菌
溶血葡萄球菌	溶血葡萄球菌	溶血葡萄球菌	溶血葡萄球菌
肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌	肺炎克雷伯菌
大肠埃希菌	大肠埃希菌	大肠埃希菌	大肠埃希菌
摩根摩根菌	摩氏摩根菌	摩根摩根菌	摩根摩根菌

续表4

菌株	ATB细菌鉴定仪	康泰系统	手工鉴定法
阴沟肠杆菌	阴沟肠杆菌	阴沟肠杆菌	阴沟肠杆菌
无乳链球菌	无乳链球菌	无乳链球菌	停乳链球菌
肺炎链球菌	肺炎链球菌	口腔链球菌	肺炎链球菌
化脓链球菌	化脓链球菌	化脓链球菌	停乳链球菌
粪肠球菌	粪肠球菌	粪肠球菌	粪肠球菌
鹌鸡肠球菌	鹌鸡肠球菌	鹌鸡肠球菌	尿肠球菌
铅黄肠球菌	铅黄肠球菌	鹌鸡肠球菌	粪肠球菌

讨 论

近年来,随着临床医学检验技术的快速发展,微生物检验也得到飞速发展。由于临床应用手工鉴定法操作较为复杂,所需时间也较长,所以难以满足临床检验需求^[4-6]。

本研究结果显示3种细菌鉴定方法中以ATB细菌鉴定仪鉴定准确率最高,与康泰系统和手工鉴定法比较差异均有统计学意义($P<0.05$);而康泰系统与手工鉴定法比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究以ATCC菌株和室间质评菌株为标准,ATB细菌鉴定仪、康泰系统及手工鉴定法鉴定革兰阴性杆菌和葡萄球菌属的结果基本符合,而康泰系统和手工鉴定法对肠球菌属和链球菌属的分辨率较低。ATB细菌鉴定仪是一种全自动细菌鉴定仪,方法也较为成熟,所以对临床各类菌株的鉴定也较为准确,同时对食物中毒细菌也可做出快速鉴定,而传统手工鉴定法则难以做到。但ATB细菌鉴定仪试剂为进口产品,试剂周转周期长、容易缺货和过期,而且试剂价格昂贵,成本高,一般的基层医院难以承受。康泰系统对肠杆菌科细菌的鉴定准确率极高,但对链球菌的鉴定准确率还有待提高。由于康泰试剂系统为国产,试剂有效期长,价格便宜,对样本量不大的基层医院来说有一定的优势。但康泰系统是一种半自动细菌鉴定系统,需要人工辨别反应颜色,所以主观判断对结果的影响较大。ATB细菌鉴定仪和康泰系统鉴定链球菌和肠球菌时菌悬液需4个麦氏单位,一般原始标本很难有如此大的菌量,故需转种血平板增菌后再进行鉴定,因而延长了报告时间。而手工鉴定法则不存在上述问题,特别是对肺炎链球菌的鉴定,用奥普托欣实验、胆盐溶菌实验即可准确鉴定^[7]。对一些疑难菌和变异菌,手工鉴定法可对其进行初步鉴定和归类,确定一个鉴定方向。但传统手工鉴定法需检测多个项目,而且没有成套的商品化试剂盒,由于试剂本身的质量或接种技术的关系,

加上微生物的变异性,反应结果易出现模糊或误差,以致常常需要反复多次试验才能做出判断^[8]。因此工作程序十分繁琐,耗时较长,尤其是经验不足者更感难以适应。由此可见,在应用自动化仪器进行细菌鉴定时需挑取纯培养菌落,这样有利于提高细菌鉴别率;对确认为纯培养且无法鉴定者可采用手工鉴定法。

综上所述,ATB细菌鉴定仪相对于康泰系统和手工鉴定法,其鉴定准确性更高、耗时更短,但成本较高。康泰系统为半自动鉴定设备,因需人工增菌,故延长了检测时间,但成本较低,适用于样本量较少的基层医院。传统的手工鉴定法需检测多个项目,因此工作程序十分繁琐,耗时很长。随着分子技术的快速发展,相信分子遗传学鉴定会越来越完善,细菌分类鉴定可充分利用多种方法实施检测,从而为临床提供准确、快速的检测结果。

参 考 文 献

- [1] 姜艳彬,王海,侯东军,等.两种快速细菌菌种鉴定方法的比较[J].中国测试,2010,36(5):41-44.
- [2] 邵小华.ATB细菌鉴定仪与手工法鉴定结果比较分析[J].安徽医学,2009,30(4):472-473.
- [3] 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,1997:553-566.
- [4] 吴会桃,蔡芷荷,吴清平,等.细菌鉴定系统的应用研究进展[J].中国卫生检验杂志,2010,20(9):2381-2384.
- [5] 沈亚娟,夏云.16S rRNA基因序列分析鉴定非典型细菌的实验研究[J].重庆医学,2013,42(1):46-48.
- [6] 张小龙,陆安谋,王晓丹,等.酱香大曲中产酱香细菌的分离与鉴定[J].酿酒科技,2013,34(11):4-8.
- [7] 曾白华,吕连华,王开正,等.临床细菌学鉴定方法进展[J].西南军医,2012,14(3):509-510.
- [8] 陈蓉,徐蓉,刘学杰,等.上海地区细菌鉴定项目室间质量评价的23年回顾[J].检验医学,2015,30(12):1246-1249.

(收稿日期:2015-06-15)

(本文编辑:范基农)