



# 临床微生物检验在感染 诊治中的作用

康 梅

四川大学华西医院微生物实验室



# 主要内容

- 做好病原菌耐药监测，帮助临床经验选药
- 提供快速诊断报告，帮助临床尽早锁定病原菌
- 持续教育临床医护：送对标本才能用好药
- 协助临床正确解读微生物检验报告

经验性治疗

目标性治疗

病原学





# 2016年CHINET监测网各医院金黄色葡萄球菌MR菌株检出率



医院	金黄色葡萄球菌		医院	金黄色葡萄球菌	
	MR株数/总株数	(%)		MR株数/总株数	(%)
宁波龙赛医院	24/35	68.6	哈医大一附院	<b>219/593</b>	36.9
武汉同济医院	469/691	67.9	复旦儿科医院	<b>120/328</b>	36.6
上海华山医院	132/208	63.5	内蒙医大一附院	<b>66/183</b>	36.1
北京医院	56/90	62.2	湖南湘雅医院	<b>114/323</b>	35.3
山西儿童医院	84/147	57.1	山东省立医院	<b>73/235</b>	31.1
河南省人民医院	106/200	53.0	福建晋江医院	<b>25/88</b>	28.4
甘肃省人民医院	104/204	51.0	四川省人民医院	<b>56/198</b>	28.3
浦东人民医院	23/48	47.9	湖北秭归人民医院	<b>18/64</b>	28.1
广医一附院	71/149	47.7	北京协和医院	<b>98/376</b>	26.1
安医一附院	38/80	47.5	吉林中日友谊医院	<b>38/146</b>	26.0
上海市儿童医院	141/314	44.9	天津医大总医院	<b>53/213</b>	24.9
上海瑞金医院	84/195	43.1	四川华西医院	<b>119/508</b>	23.4
浙江邵逸夫医院	63/156	40.4	中国医大一附院	<b>38/175</b>	21.7
昆明医大一附院	84/213	39.4	新疆医大一附院	<b>59/322</b>	18.3
江西省儿童医院	32/85	<b>37.6/</b>	陕西省人民医院	<b>17/183</b>	9.3
				<b>1479/2730</b>	<b>38.9</b>

临床医师看抗菌药物敏感性监测数据的注意事项

1479/2730 38.9

# 感染病原菌学快速诊断

**A.完整细胞水平快速诊断**

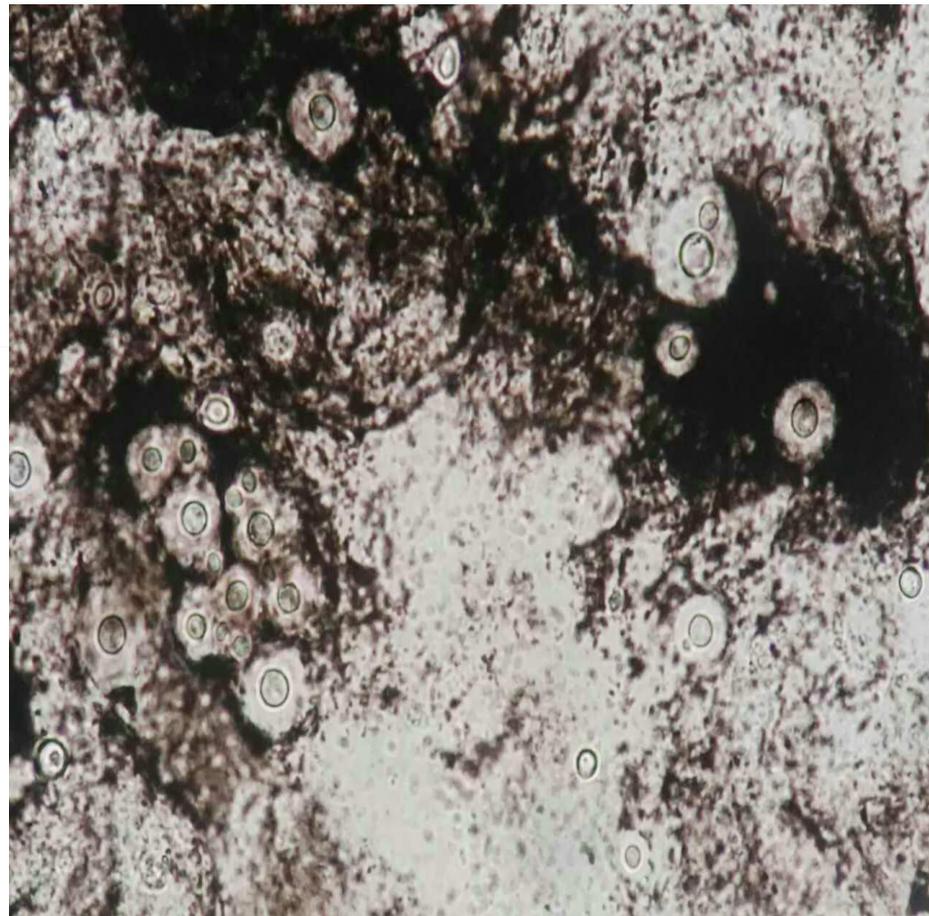
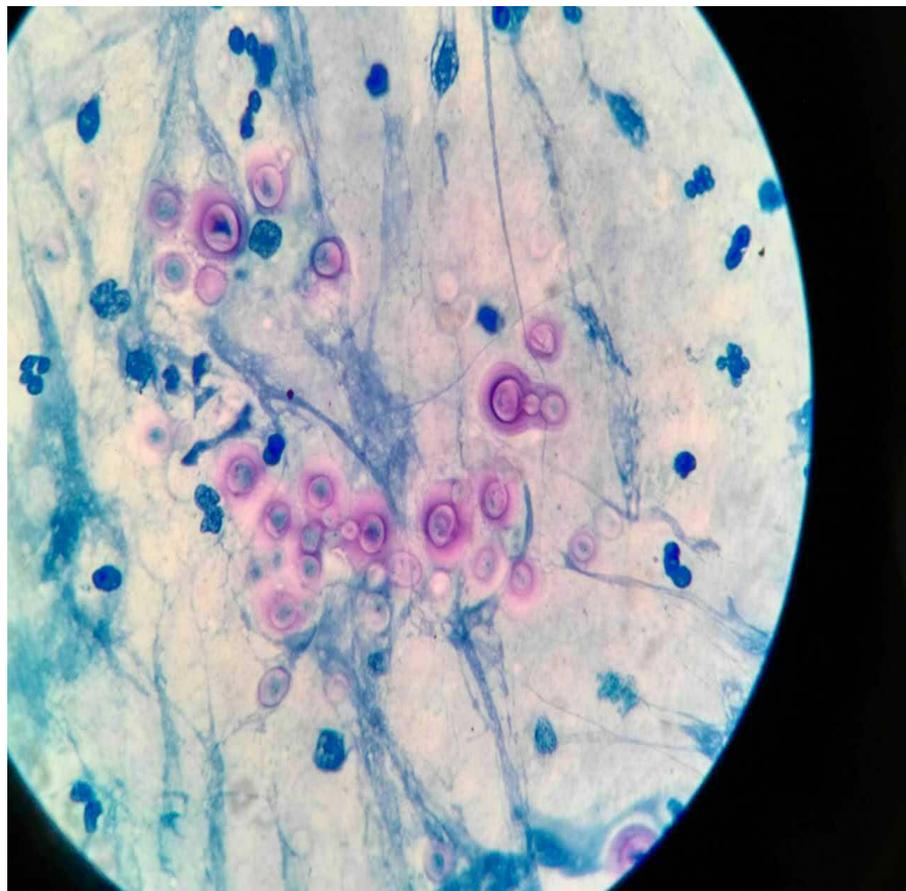
**B.蛋白质水平快速诊断**

**C.核酸水平快速诊断**





# TB科 患者 男 52岁 肺部空洞怀疑肺结核





# 质谱仪的工作程序

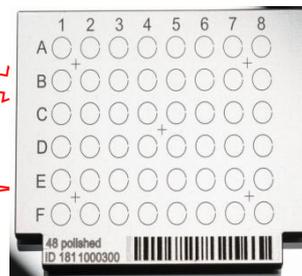


G<sup>+</sup>c和真菌

乙醇/甲酸处理

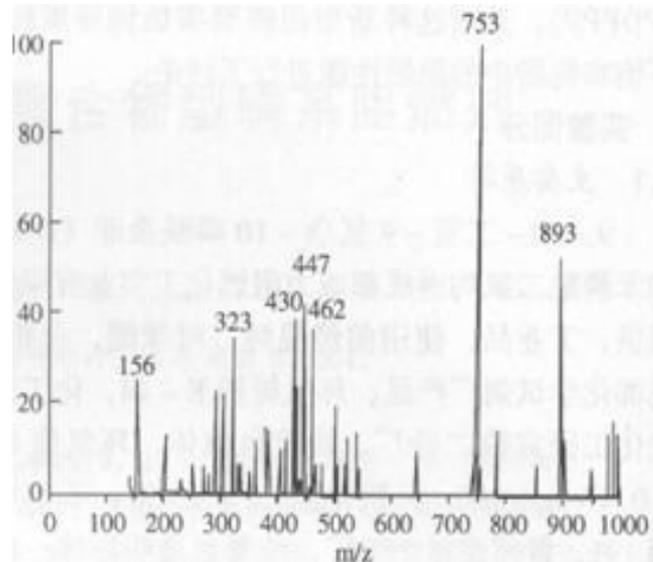
直接点样

G<sup>-</sup>b



干燥

挑取纯菌落



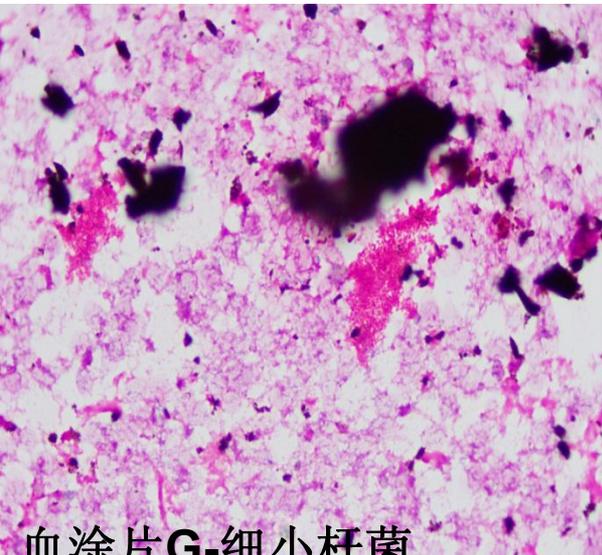
检测及数据处理

Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
Acinetobacter genomospecies_3	2.243	Acinetobacter genomospecies_3	2.215
Enterobacter cloacae	2.055	Enterobacter cloacae	1.921
Proteus mirabilis	2.345	Proteus mirabilis	2.201
Proteus mirabilis	2.164	Klebsiella pneumoniae	2.048
Pseudomonas aeruginosa	2.366	Pseudomonas aeruginosa	2.194
Acinetobacter genomospecies_3	2.16	Acinetobacter genomospecies_3	2.145
Ralstonia mannitolitica	1.916	not reliable identification	1.88
Citrobacter freundii	2.281	Citrobacter freundii	2.257
Citrobacter freundii	2.29	Citrobacter freundii	2.25
Citrobacter freundii	2.408	Citrobacter freundii	2.337
Escherichia coli	2.335	Escherichia coli	2.308
Escherichia coli	2.385	Escherichia coli	2.311
not reliable identification	1.831	not reliable identification	1.831
Klebsiella pneumoniae	1.762	Klebsiella pneumoniae	1.753
Citrobacter freundii	2.209	Citrobacter freundii	2.197
Salmonella sp	2.267	Salmonella sp	2.235

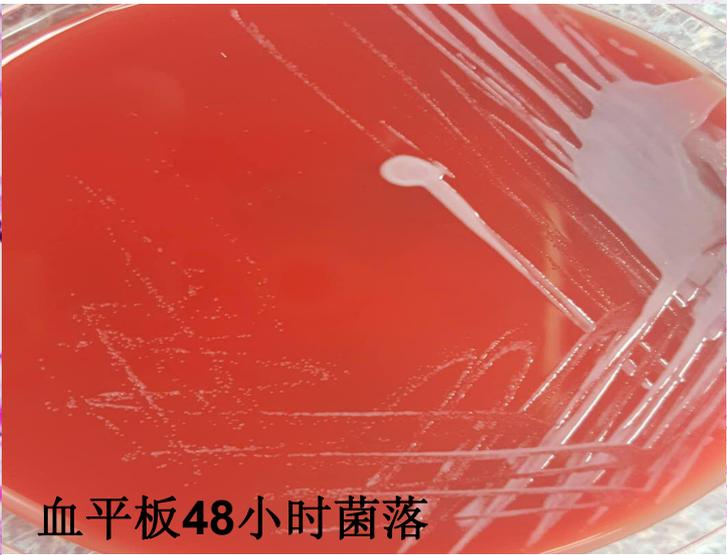
结果显示



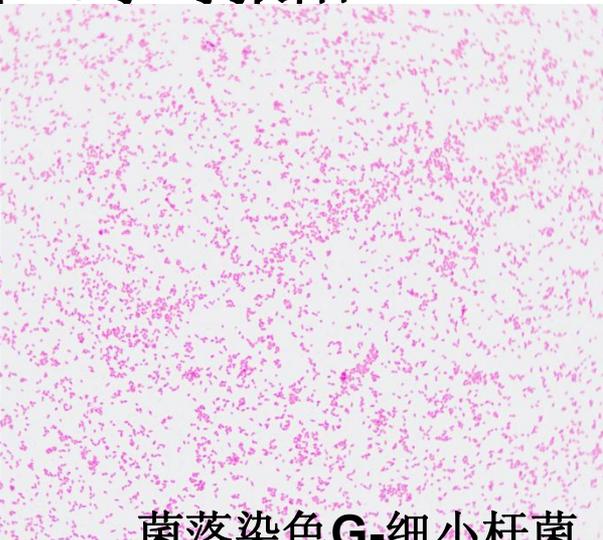
中年女性，不明原因发热2月+，血培养48小时报阳



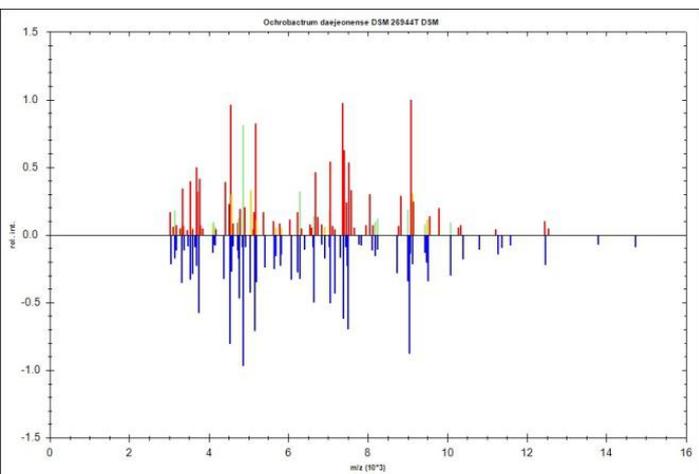
血涂片G-细小杆菌



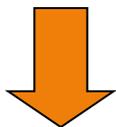
血平板48小时菌落



菌落染色G-细小杆菌



Biotyper 质谱加甲酸



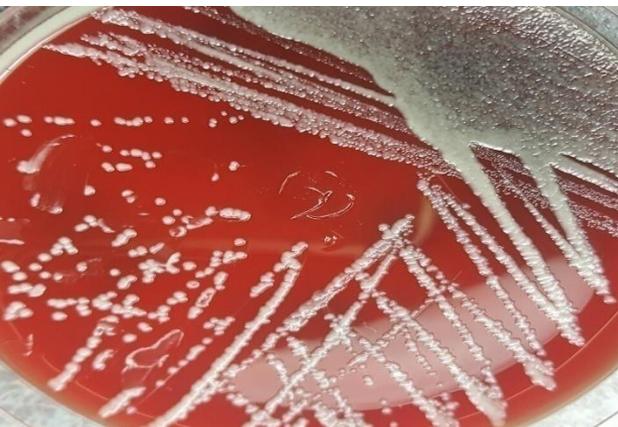
***Brucella.melitensis***  
马耳他布鲁菌



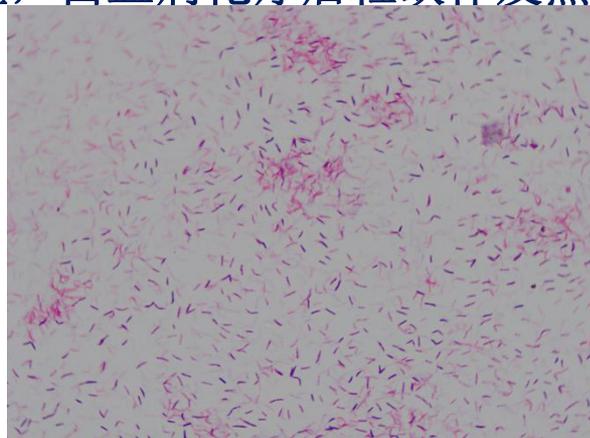


# 血培养鉴定快生长分枝杆菌

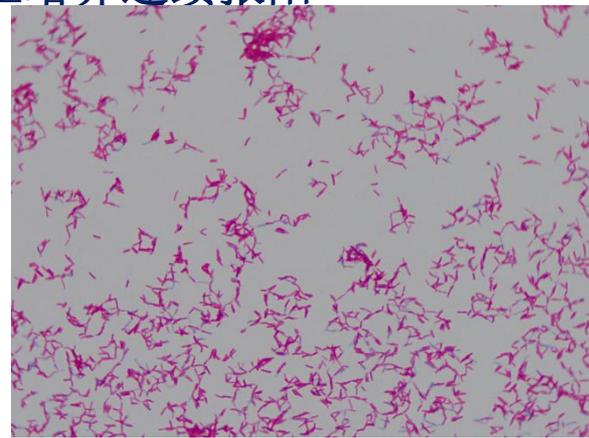
中年男性，白血病化疗后粒缺伴发热 血培养连续报阳



血平板72小时菌落



菌体革兰染色



菌体抗酸染色

**Vitek-2 Compact全自动微生物鉴定仪无鉴定结果**

Biotyper 质谱加甲酸

无特征峰，无结果

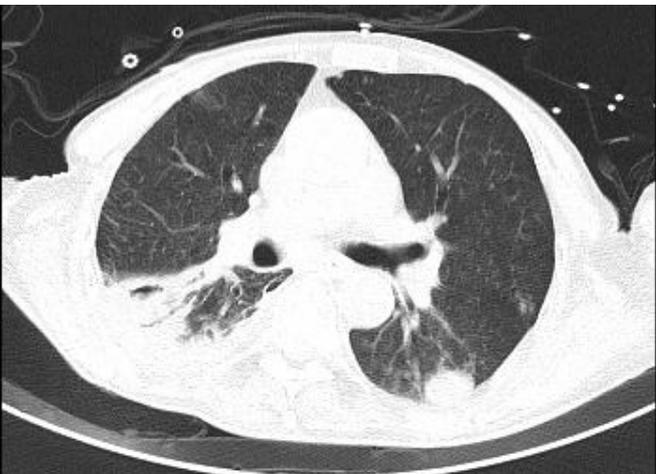
**Biotyper (布鲁克) 乙醇甲酸提取法**

***Mycobacterium. abscessus* 得分1.85**



## 病例2：老年男性，左下肢红肿伴咳嗽半年，发热半月

- 外院左下肢X光片：
- 胫骨中段骨皮质见溶骨性骨质破坏，局部软组织肿胀。





# 微生物检验

- 右肺下叶进行肺泡灌洗。

血及BALF 隐球菌  
抗原检测 (+)

BALF,脑脊液培养 10天后回报

新型隐球菌





# 送检标本种类与临床意义



## ■ 临床意义较低的标本：

痰，咽拭子（HI, SP除外）

粪便、肛拭子（致腹泻病原菌和CD除外）

## ■ 临床意义中等的标本：

尿

脓、伤口分泌物

## ■ 临床意义较大的标本：

血，脑脊液、胸腹水，无菌体液





## 及时运送

- 苛养菌中除卡他莫拉菌外，**流感嗜血杆菌和肺炎链球菌**对干燥、对寒冷的抵抗力均较弱，在标本离开机体后其存活率十分低。
- 对环境抵抗强的病原菌（**绿脓及其它G-菌，葡萄球菌、念珠菌等**），2-4h后繁殖数代，影响定量结果。





# 病例3



老年男性，肺部感染

T 38.5C、血常规：WBC 12000 (N 84%)，胸片示双肺弥漫性斑片影

泰能 (1g/8h) 治疗六天，体温不降

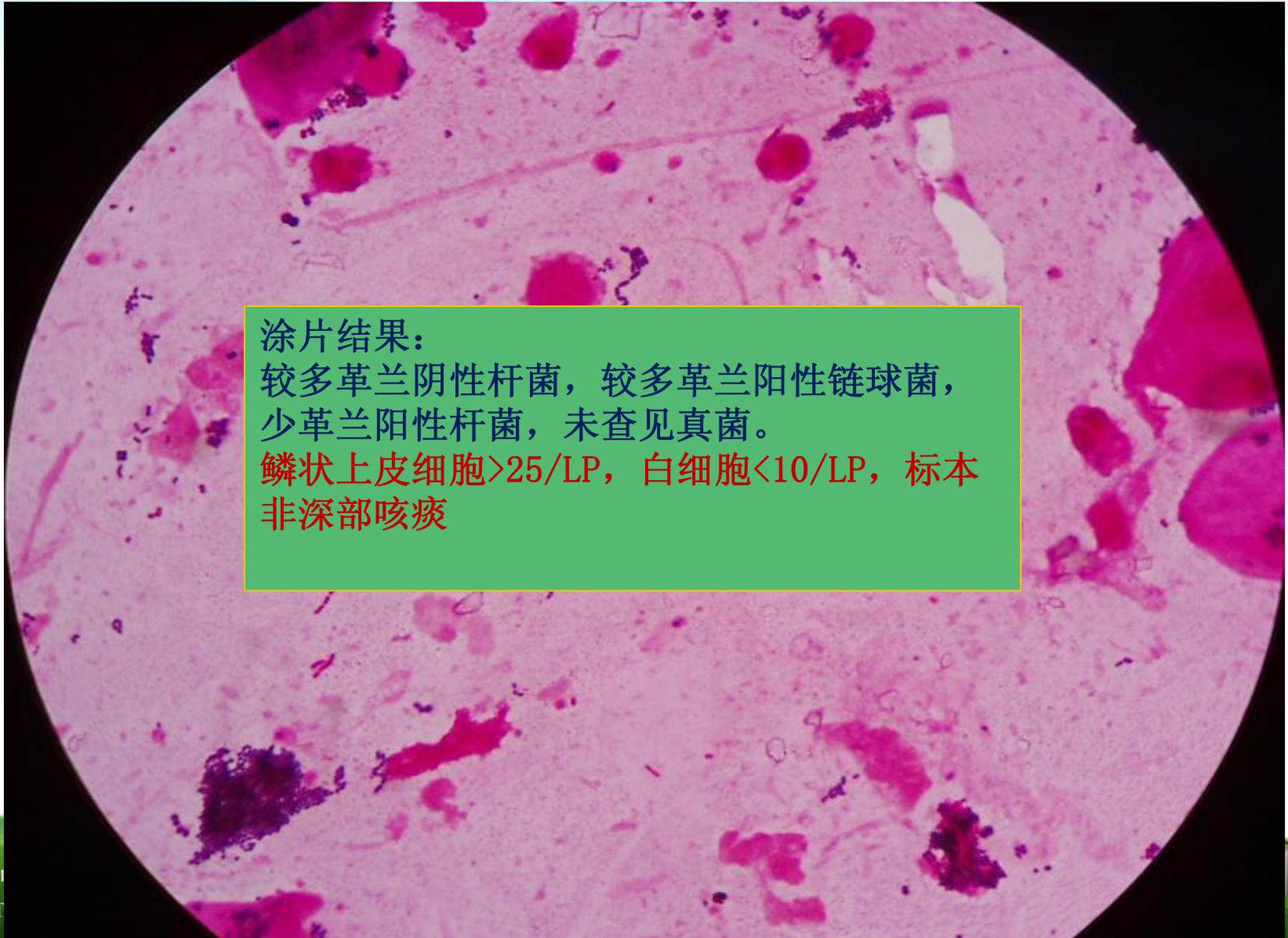
三次痰培养有不同菌检出：大肠杆菌，阴沟肠杆菌，鲍曼复合群 (IMP S)

标本质量合格吗？





# 痰涂片



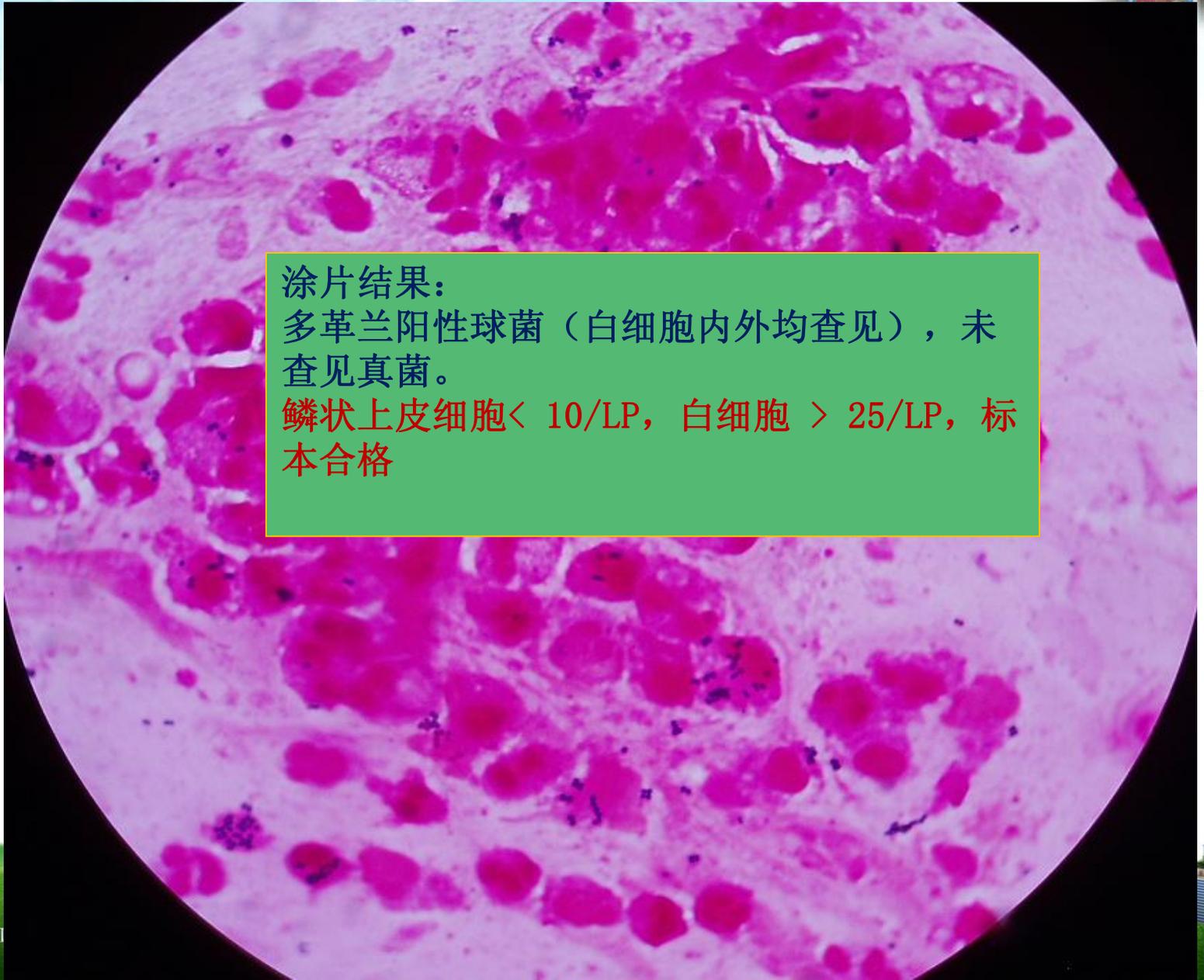
涂片结果:

较多革兰阴性杆菌, 较多革兰阳性链球菌,  
少革兰阳性杆菌, 未查见真菌。

鳞状上皮细胞 $>25/LP$ , 白细胞 $<10/LP$ , 标本  
非深部咳痰



# 第四次痰涂片报告



涂片结果：  
多革兰阳性球菌（白细胞内外均查见），未  
查见真菌。  
鳞状上皮细胞 < 10/LP，白细胞 > 25/LP，标  
本合格



# 第4次痰培养结果



真正的目标菌

**培养证实：MRSA**



# 痰涂片



简便、快速、诊断意义高

## 意义

- 痰标本是否合格
- 可能的致病菌：白细胞吞噬或伴行
- 是否有真菌菌丝：致病或定植





# 痰培养的排除价值



1. 痰培养的细菌可以是定植，也可是感染
2. 引起HAP的机会致病菌大多很容易生长，多次培养阴性的机会少
3. 多次培养，可排除未培养到的病原体





# 病例4



- 患者，男，78岁，AECOPD、II型呼衰、糖尿病。气管插管后接受人工辅助通气。入院时T 37C、血常规：WBC 14000 (N 88%)，胸片示双下肺斑片影。入院时采集痰培养（标本1），用哌拉西林/他唑巴坦经验性治疗。
- 经治疗后患者情况好转，拟停机拔管。
- 在入院第2天（标本2）和第3天（标本3）都取了痰培养
- 入院3天后痰培养标本1（标本合格）：**肺炎克雷伯菌**生长，对哌拉西林/他唑巴坦敏感。

肺炎克雷伯菌 污染、定植、致病？  
WEST CHINA HOSPITAL, S.U.





# 病例4



- 继续哌拉西林/他唑巴坦治疗，情况未加重。
- 痰培养标本2和3（标本均合格）：**鲍曼不动杆菌**生长，对哌拉西林/他唑巴坦耐药。

**鲍曼：污染、定植、致病？**





# 病例4



- 继续哌拉西林/他唑巴坦治疗，情况好转，停机拔管，查血常规：WBC 8000 (N75%)，PCT 0.1，准备转出ICU。
- 停机1天后，患者再度出现黄痰、痰量增多，再度插管，复查WBC 12000 (N83%)，PCT 0.78。取痰培养（标本4），更换为亚胺培南，缓解不明显。
- 3天后痰培养标本4（合格）：**鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌**生长，均对哌拉西林/他唑巴坦和亚胺培南耐药。

**鲍曼：污染、定植、致病？**

**铜绿：污染、定植、致病？**





# 病例4



- 换用头孢他啶+丁胺卡那霉素，患者情况好转，再次停机拔管，转入呼吸科，最后好转出院。在转入呼吸科时，再次取痰培养（标本5和6；均合格）
- 标本5：白色念珠菌+鲍曼不动杆菌
- 标本6：鲍曼不动杆菌+嗜麦芽窄食单胞菌

鲍曼：污染、定植、致病？

白念：污染、定植、致病？

嗜麦芽：污染、定植、致病？





## 痰中常见的定植菌或污染菌

- 念珠菌（如果没有其他部位培养阳性）
- 嗜麦芽窄食单胞菌
- 洋葱伯克霍尔德菌
- 凝固酶阴性葡萄球菌
- 弗劳地柠檬酸菌（枸橼酸菌）
- 阴沟肠杆菌
- 肠球菌
- 木糖氧化产碱杆菌





## 痰中培养出念珠菌

- 不能作为诊断念珠菌肺炎的依据，多数情况下反映地是上呼吸道菌群失调或者是定植；
- 下呼吸道标本中培养出念珠菌，意义尚有较大争论，结合临床和治疗反应判断：
  - 涂片查见假菌丝或出芽现象——致病可能性大；
  - 其他部位培养出念珠菌——致病可能性大
  - G试验阳性——致病可能性大
  - 粒缺患者——致病可能性大





# 正确解读培养结果



## 被引导而不被误导

分离到细菌/真菌  $\neq$  致病菌  $\neq$  需要用或换抗菌药物

- 微生物检验结果是辅助检查，需结合临床判定其意义
- 微生物检验受标本质量、技术方法和检验者经验等多种因素影响
- 依据临床变化判断是否需要换药  
敏试与临床变化不符时，**以临床变化为主**





**微生物检验不是万能的，  
但没有它是万万不能的！**

**谢谢**

