

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.04.009

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201218.1153.002.html\(2020-12-18\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201218.1153.002.html(2020-12-18))

BD Kiestra InoqulA 全自动标本处理系统在临床微生物检验中的应用研究*

邓穗燕¹, 郭旭光¹, 李莹², 夏勇^{1△}

(1. 广州医科大学附属第三医院检验科, 广州 510150; 2. 广东省清远市清城区人民医院检验科 511500)

[摘要] **目的** 评价 BD Kiestra InoqulA 全自动标本处理系统接种临床尿液和血液/无菌体液标本的效果。**方法** 分别用 BD Kiestra InoqulA(仪器法)和手工法同时接种尿液标本 810 例和阳性血/无菌体液培养标本 120 例, 35 °C 培养 24 h 观察菌落生长情况, 比较两种接种方法培养阳性率、分离得到的单个菌落数、菌落计数及菌种数的差异。**结果** 930 例标本中, 仪器法接种的培养阳性率为 37%, 手工法为 38%, 两者比较差异无统计学意义($P>0.05$); 两种接种方法均为阳性的 339 例标本中, 仪器接种比传统手工接种得到更多的单个菌落, 差异有统计学意义($P<0.05$); 从菌落总数和菌种数来看, 仪器法接种的尿培养标本菌落总数大于或等于 10^2 cfu/mL, 分离到 2 种菌的标本都要比手工法多; 而分离到阳性血和/无菌体液菌量大于或等于 10^5 cfu/mL 的标本例数仪器法比手工法更多。**结论** BD Kiestra InoqulA 全自动微生物标本处理系统是微生物实验室高效的自动化仪器。

[关键词] BD Kiestra InoqulA; 自动化; 集落计数; 微生物; 标本; 菌落分离; 接种**[中图法分类号]** R-331 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)04-0582-04

Study on the application of BD Kiestra InoqulA fully automatic sample processing system in clinical microbiology laboratory*

DENG Suiyan¹, GUO Xuguang¹, LI Ying², XIA Yong^{1△}

(1. Department of Laboratory Medicine, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510150, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Qingcheng District People's Hospital, Qingyuan, Guangdong 511500, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the efficacy of BD Kiestra InoqulA automated sample processing system for inoculating clinical urine and blood/sterile body fluid specimens. **Methods** BD Kiestra InoqulA (instrumental method) and manual method were used to simultaneously inoculate 810 urine samples and 120 positive blood/sterile body fluid samples. The samples were cultured at 35 °C for 24 h to observe the colony growth. The positive rate of the two inoculation methods, the number of isolated colonies, the count of colonies and the number of species were compared. **Results** Among the 930 samples, the positive rate of instrumental inoculation was 37% and that of manual inoculation was 38%, showing no statistical difference ($P>0.05$). Among the 339 samples with positive results of both inoculation methods, more individual colonies were isolated by instrumental inoculation than by traditional manual inoculation, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). From the perspective of the total number of colonies and the number of strains, the total number of colonies $\geq 10^2$ cfu/mL in the urine samples inoculated by the instrument method was larger than that by the manual method. And more samples of the two strains were isolated from the urine samples inoculated by the instrument method than by the manual method. The number of samples with 10^5 cfu/mL of positive blood/body fluid isolated by instrumental method was more than manual method. **Conclusion** BD Kiestra InoqulA's fully automatic sample processing system is an efficient automatic instrument in microbiology laboratory.

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81700004); 广东省广州市卫生健康科技一般引导项目(2020A0111091)。 作者简介: 邓穗燕(1985—), 主管技师, 硕士, 主要从事临床微生物检验及快速诊断研究。 △ 通信作者, E-mail: 84312367@qq.com。

[Key words] BD Kiestra InoqulA; automation; colony count, microbial; superficiality & origin; isolated colonies; vaccination

临床微生物实验室主要依靠手工接种的方法进行标本前处理,手工方法的局限性在于因检验人员技术水平难以统一,标本处理很难实现标准化操作,不利于尿培养的后续实验及结果解释。临床微生物检验最大的制约因素还是在质量控制和标准化方面。在国内,最早在 2006 年被引入使用的是意大利 Dienes 公司的 Robobact 自动接种培养系统,仅有 3 家医院相继使用并报道了仪器的性能^[1-3]。直到近几年,全自动微生物标本处理系统以其工作高效性在国内迅速受到关注^[4-7]。目前,全球微生物流水线系统只有美国 BD 公司和意大利 Copan 公司提供,梅里埃公司只有 1 台 Isola 单机版的自动化接种仪,且其已经正式宣布退出在临床微生物自动化流水线设备上的研发和投入。2015 年,BD Kiestra InoqulA 作为在中国的第 1 台全自动标本处理系统在广州医科大学附属第三医院实验室投入使用,国内尚未有关于 BD Kiestra InoqulA 应用的报道。为此,本研究通过观察仪器接种分离到的单个菌落数、菌种数、总的菌落计数和阳性率,并与手工方法比对,进而对 BD Kiestra InoqulA 性能进行评价,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2019 年 10—11 月广州医科大学附属第三医院各临床科室送检的“中段尿培养、菌落计数”标本 810 例和“需氧+厌氧培养”的血/无菌体液阳性标本 120 例(瓶)。所有标本按照本实验室标本采集手册要求留取。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂

BD Kiestra InoqulA 全自动标本处理系统、BACTEC FX 血培养仪、比浊仪(美国 BD 公司),MALDI-TOF MS 质谱仪(德国 Bruker 公司),CO₂ 培养箱(香港立康),加样枪(德国 Eppendorf 公司);真空含防腐剂尿管、血培养瓶(美国 BD 公司),一次性 10 μ L 定量接种环(英国 MWE 公司),9 cm 血琼脂平板(江门凯林贸易有限公司); α -氰基-4 羟基肉桂酸(HCCA,美国 Sigma-Aldrich 公司),接种培养液(美国 BD 公司)。

1.2.2 质控菌株

大肠埃希菌 ATCC25922(随广东省临床检验中心室间质评标本附送)。

1.2.3 尿标本接种

将当天送检的尿标本先上机接种(Z 字划线),再进行手工接种。手工接种:将尿标本颠倒混匀,开盖,用 10 μ L 定量接种环垂直浸入尿液标本表面下 3~5 mm,将标本吸至环中;在血琼脂平板上划十字,再进行密集均匀涂布。

1.2.4 血/无菌体液培养阳性标本接种

75%乙醇消毒阳性培养瓶瓶口,颠倒培养瓶混匀菌液,用 2 mL 无菌注射器抽取 2 mL 菌液打入 BD 真空尿管里,先上机接种(四区划线),再进行手工接种。手工接种:吸取标本方法同尿接种,在血琼脂平板第一区密集均匀涂布,四区划线。

1.2.5 培养及结果观察

标本接种后,把血琼脂平板放入 5% CO₂ 培养箱培养 18~24 h,如遇菌落生长不良的标本培养 48 h,观察菌落生长情况。930 例标本皆进行仪器和手工接种比对,记录平板上可计数的单个菌落数、菌落总数(换算为 cfu/mL)和菌种数。

1.2.6 MALDI-TOF MS 菌种鉴定

对怀疑两种或以上菌落生长的标本,作质谱鉴定,以确认菌种数。用牙签挑取单个菌落,均匀点涂到靶板上;吸取 1 μ L 70%甲酸涂敷到标本上;吸取 1 μ L HCCA 基质液涂敷到标本上,待干燥后上机。

1.2.7 质量控制及交叉污染试验

将 ATCC25922 用接种培养液制备 0.5 麦氏浊度的细菌混悬液,用加样枪吸取 10 μ L 加到 BD 真空尿管里,再加 2 mL 接种培养液稀释 200 倍作为阳性质控,放置在仪器标本架的 1 号位;用无菌注射器抽取 2 mL 接种培养液打入 BD 真空尿管里,制作 9 管,作为阴性质控,放置在仪器标本架的 2~10 号位。

1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用配对样本 *t* 检验;计数资料以频数或百分率表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 质控及交叉污染试验结果

阳性质控经仪器接种后,培养 24 h 为阳性结果,质谱鉴定为大肠埃希菌。其余 9 个阴性质控均未培养出细菌。

2.2 两种接种方法的单个菌落分离效果比较

930 例标本中 20 例出现两种接种方法“阴阳不符”的情况。在未能确认是操作污染、接种能力等因

素所致的情况下,只选取两种接种方法均阳性的标本进行单个菌落分离效果的比较。无论是尿液还是血/无菌体液标本,经仪器接种比手工接种分离得到更多的单个菌落,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1、图 1。

2.3 两种接种方法的接种阳性率比较

219 例尿阳性培养标本和 120 例血阳性培养标本经两种接种方法接种得到一致的阳性率,均为 100%。930 例标本中,仪器法和手工法的接种阳性率分别为

是 37% 和 38%,两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 1 两种接种方法均阳性的标本接种效果的比较($\bar{x} \pm s$, 个)

项目	n	单个菌落数	
		仪器法	手工法
尿	219	53.52 ± 41.98 ^a	38.36 ± 34.91
血/无菌体液	120	36.81 ± 28.91 ^a	25.96 ± 16.97
合计	339	47.75 ± 31.07 ^a	34.05 ± 29.67

^a: $P < 0.05$,与手工法比较。

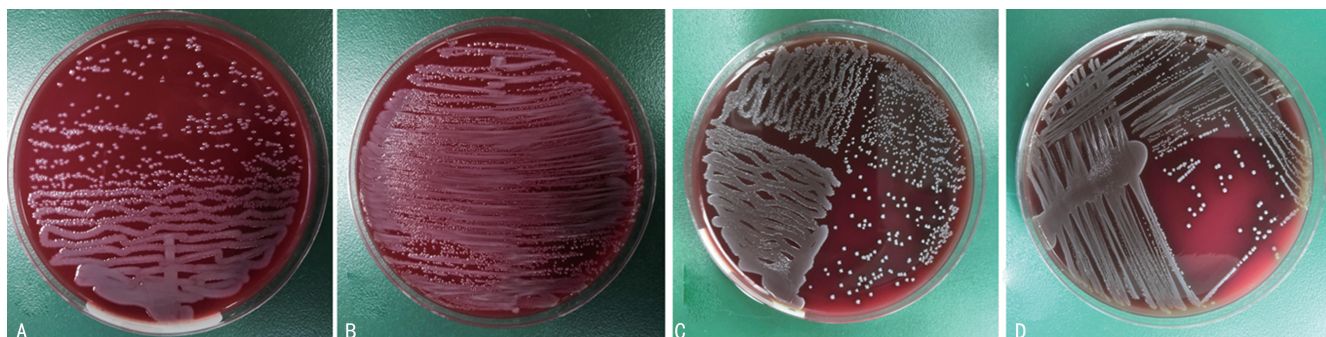


图 1 两种接种方法单个菌落的生长情况

表 2 930 例标本两种接种方法阳性率的比较(n)

项目	手工法		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
仪器法			
尿阳性(+)	219	8	227
血阳性(+)	120	0	120
尿阴性(-)	12	571	583
血阴性(-)	0	0	0
合计	351	579	930

2.4 两种接种方法的尿培养结果比较

手工法接种的标本中,菌落总数大于或等于 10^5 cfu/mL 和大于或等于 10^4 cfu/mL 的标本都要比仪器法接种的多,菌落总数大于或等于 10^2 cfu/mL 的标本却比仪器法少;从分离得到的菌种数来看,手工法接种分离到 1 种或大于 2 种菌的标本要比仪器法多,而分离到 2 种菌却比仪器法少,见表 3。

表 3 两种接种方法的尿培养结果比较(n)

项目	尿		血/无菌体液	
	仪器法	手工法	仪器法	手工法
菌落总数				
$\geq 10^5$ cfu/mL	98	102	114	116
$\geq 10^4$ cfu/mL	101	105	4	6
$\geq 10^2$ cfu/mL	30	24	0	0

续表 3 两种接种方法的尿培养结果比较(n)

项目	尿		血/无菌体液	
	仪器法	手工法	仪器法	手工法
菌种数				
1 种	127	136	113	115
2 种	66	58	7	5
>2 种	34	37	0	0

3 讨论

微生物检测流程的复杂性使临床微生物实验室的自动化、智能化建设滞后于其他专业^[6]。在广州医科大学附属第三医院,实习生和进修生参与了大量标本接种的工作,因人员长期轮换且水平不一,很难实现标准化的操作。接种是微生物检测流程的第一步,有无菌生长、菌落计数及菌种数直接影响检验人员对后续实验的判断。因此,确保微生物检验的质量,必须尽可能实现标准化的操作。

2015 年,广州医科大学附属第三医院实验室使用我国第 1 台 BD Kiestra Inoqula 全自动标本处理系统。该仪器能通过自动识别标本类型、自动选择培养皿种类、自动贴标签、自动取样,并通过磁珠在磁场的作用下进行划线接种。近几年国内几家医院和第三方检测平台华银也陆续装上了 Kiestra Inoqula,甚至包含了自动孵育系统和数字成像系统,实现了微生物检验全程自动监测。在国外,从 2014 年至今已有不

少 BD Kiestra 应用的相关报道^[8-10],但在国内尚无报道。FROMENT 等^[11]在 2014 年报道了 BD Kiestra InoqulA 在无交叉污染的情况下产生令人满意的分离效果,比手工接种分离到了更多菌种类型。MORENO 等^[12]研究表明 BD Kiestra InoqulA 比传统方法分离出更多的单个菌落。IVERSEN 等^[13]通过与 Copan WASP 对比,发现对于大于或等于 10^5 cfu/mL 的尿标本,BD Kiestra 有更高的分离率;在单个菌落上,后者同样拥有更出色的分离效果。CROX-ATTO 等^[14]报道 BD Kiestra InoqulA 对于浓度大于 10^7 cfu/mL 的标本也能分离出单个菌落,且比 Copan WASP 和手工接种分离得到更多的菌种,同时减少了实验室的工作量与工作成本。甚至有研究发现,使用 BD Kiestra InoqulA 后,有更多的阴道加德纳菌和放线菌从尿标本中分离出来^[15]。

本实验经仪器接种的标本所得单个菌落数远高于手工接种。图 1 可见无论是尿标本“Z”字型划线还是血/无菌体液四区划线,都能清晰美观地分离出不少单个菌落,避免了手工接种的参差和随意。分区划线的目的是为了分离出单个菌落,有无分出及分离的质量,直接关系到后续实验的进程。本研究发现 219 例尿液标本经两种接种方法接种均阳性,而 8 例仪器法阳性而手工法阴性的标本中,6 例均为菌落总数大于或等于 10^2 cfu/mL(平板上只有 1 个或少数几个菌落生长),对于耻骨上膀胱穿刺采集、膀胱导尿采集及经前列腺按摩后排尿采集的尿液标本,菌落总数达到大于或等于 10^2 cfu/mL 需要做鉴定或(和)药敏试验^[16],这或许是仪器优越性能的体现;12 例仪器法阴性而手工法阳性的标本中,1 例大于或等于 10^2 cfu/mL,6 例大于或等于 10^4 cfu/mL,5 例大于或等于 10^5 cfu/mL。不可否认的是,仪器法采用经校准的加样枪和配套带滤芯的枪头加样,和手工法的一次性定量接种环相比,其拥有更精确的加样量。加之手工加样涉及手工开关标本管、手工接种及划线分离等可能出现错误的步骤。故手工法比仪器法多出 4 例的阳性或许跟上述原因有关。尽管两种方法的阳性率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),但由于尿培养后续的鉴定及药敏试验跟菌落总数和菌种类别及菌种数直接相关,故保证加样量、实行标准化操作必不可少。否则,个别报告的过度药敏试验或漏报,将影响临床的诊疗决策。在分离的菌落总数和菌种数方面,其中两例标本经仪器法接种后,通过单个菌落更容易识别出有两种菌生长,挑取单个菌落质谱鉴定确认为两种菌,而手工法分不出单个菌落。对于阳性血培养来说,第一时间识别出菌种的数量和种类,方能及时把

一级报告反馈给临床。假设能做到采血量准确、严格把控上机时间,那么通过标准化的标本处理得到的总菌落计数可以对血流感染的动态监测起到更准确的指导意义。

综上所述,BD Kiestra InoqulA 全自动微生物标本处理系统与传统的手工接种方法相比表现出了良好的性能。同时,本实验为临床微生物实验室建立智能化管理提供了借鉴。

参考文献

- [1] 肖刚,洪国强,陈月燕,等.全自动微生物分离培养系统 Robobact System 的临床应用及评价[J].中国医药导报,2006,3(23):26-28.
- [2] 吴丽丽,王强,叶友仙,等. Robobact 全自动微生物培养检测系统在痰培养中的应用及其评价[J].实验与检验医学,2008,26(4):387-388.
- [3] 陈知行,陈慧莉,康梅,等. Robobact System 自动接种培养仪的临床应用评价[J].中国医疗设备,2008,23(7):58-60.
- [4] DESJARDINS M, SANT N, MIRON-CELIS M, et al. Impact of reduced incubation times on culture and susceptibility testing of urine cultures incubated in the BD Kiestra ReadA Compact incubators[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2020, 96(1):114899.
- [5] THOMSON R B, MCELVANIA E. Total laboratory automation: what is gained, what is lost, and who can afford it? [J]. Clin Lab Med, 2019, 39(3):371-389.
- [6] 蒋燕群,李欣.临床微生物实验室智能化[J].检验医学,2019,34(11):965-966.
- [7] 李莉.检验自动化流水线发展、现状与未来[C].2018 广东省医学会检验医学学术年会暨第一届南方检验医学学术会议论文集,2018:1-73.
- [8] CROXATTO A, PROD'HOM G, FAVERJON F, et al. Laboratory automation in clinical bacteriology: what system to choose? [J]. Clin Microbiol Infect, 2016, 22(3):217-235.
- [9] HEATHER C S, MALEY M. Automated direct screening for resistance of Gram-negative blood cultures using the BD Kiestra WorkCell[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2018, 37(1):117-125.
- [10] STRAUSS S, BOURBEAU P P. Impact of introduction of the BD Kiestra InoqulA(下转第 590 页)

参考文献

- [1] 回允中. 女性生殖道病理学[M]. 北京:北京大学出版社,2005:614-621.
- [2] 张腊梅,张惠英,孙静涛,等. 卵巢卵泡膜细胞瘤-纤维瘤组肿瘤的 MSCT 诊断[J]. 中国实验诊断学,2020,24(1):86-89.
- [3] 龙钰函,宋扬,郝丽. 卵泡膜细胞瘤的不典型 CT 表现及鉴别诊断[J]. 中国医药指南,2020,18(22):134-135.
- [4] 王巧,姜向阳. 卵巢甲状腺肿并假 Meigs 综合征与血清 CA125 升高 1 例并文献复习[J]. 中国计划生育学杂志,2020,28(2):300-302.
- [5] 钟冬梅,张又红,杨海坤,等. 卵巢颗粒细胞瘤 28 例超声表现及误诊分析[J]. 江西医药,2020,55(8):1130-1132.
- [6] 宁佩芳,陈立群,刘君,等. 卵巢囊性颗粒细胞瘤的临床病理学特征、诊断及鉴别诊断[J]. 现代生物医学进展,2017,17(1):151-154.
- [7] 游小林,尹如铁,李克敏,等. 卵巢粒层细胞瘤临床病理特点及相关因素分析[J]. 四川大学学报(医学版),2010,41(3):467-470.
- [8] 苏彦钊. 36 例卵巢颗粒细胞瘤临床诊断指标探讨[J]. 中国卫生标准管理,2020,11(7):50-53.
- [9] 田颖,朱丽丽,邱丽芹. 卵泡膜细胞瘤-纤维瘤组肿瘤的 MRI 表现[J]. 中国中西医结合影像学杂志,2019,17(1):85-87.
- [10] TANAKA Y O, SAIDA T S, MINAMI R, et al. MR findings of ovarian tumors with hormonal activity, with emphasis on tumors other than sex cord-stromal tumors[J]. Eur J Radiol,2007,62(3):317-327.
- [11] 葛芳清,刘灵灵. 卵泡膜-纤维瘤组肿瘤和浆膜下子宫肌瘤的 CT 鉴别诊断[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志,2018,16(10):106-108.
- [12] 黄斌,刘祎,陈永露,等. 卵巢性索间质肿瘤的 MRI 诊断及其临床病理分析[J]. 中国医药导报,2018,15(22):135-138.
- [13] 邵艳. CT 影像诊断卵巢纤维卵泡膜细胞瘤的价值研究[J]. 临床研究,2019,27(9):152-153.
- [14] 李飞飞,韩长年,刘志钦,等. 卵巢性索间质肿瘤 MRI 表现及病理相关性[J]. 昆明医科大学学报,2019,40(11):87-91.
- (收稿日期:2020-02-19 修回日期:2020-09-05)
-
- (上接第 585 页)
- on urine culture results in a hospital clinical microbiology laboratory[J]. J Clin Microbiol, 2015,53(5):1736-1740.
- [11] FROMENT P, MARCHANDIN H, VANDE PE RRE P, et al. Automated versus manual sample inoculations in routine clinical microbiology: a performance evaluation of the fully automated Inoqula instrument[J]. J Clin Microbiol,2014,52(3):796-802.
- [12] MORENO CAMACHO J L, CALVA ESPINOSA D Y, LEAL LEYVA Y Y, et al. Transformation from a conventional clinical microbiology laboratory to full automation[J]. Lab Med,2017,49(1):e1-8.
- [13] IVERSEN J, STENDAL G, GERDES C M, et al. Comparative evaluation of inoculation of urine samples with the Copan WASP and BD Kiestra Inoqula instruments[J]. J Clin Microbiol,2016,54(2):328-332.
- [14] CROXATTO A, DIJKSTRA K, PROD' HOM G, et al. Comparison of inoculation with the Inoqula and WASP automated systems with manual inoculation[J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(7):2298-3307.
- [15] KLEIN S, NURJADI D, HORNER S, et al. Significant increase in cultivation of gardnerella vaginalis, alloscardovia omnicolens, actinotignum schaalii, and actinomyces spp. in urine samples with total laboratory automation[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2018, 37(7): 1305-1311.
- [16] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS/T 489-2016 尿路感染临床微生物实验室诊断[S]. 北京:人民卫生出版社.
- (收稿日期:2020-04-09 修回日期:2020-09-16)