

微生物自动化分析仪的毕业实习带教初探

杨锦红 李向阳 李方去

(温州医学院第二临床医学院 温州 325027)

摘要:对如何在微生物毕业实习教育中利用自动化仪器进行教学进行了初步探讨。从上机前的标本处理、正确使用仪器、仪器结果分析、认识仪器的局限性、发临床检测报告、利用 VITEK 软件的资料处理系统对医院感染进行监控和分析等 6 大方面对学生进行培训。认识仪器鉴定的局限性和手工操作的重要性,把理论知识和实践工作有机地结合起来。

关键词:微生物自动化分析仪,毕业实习带教

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 04-0119-04

随着现代科学技术的快速发展,检验医学的自动化程度也越来越高。近年来各大医院微生物实验室均配备了全自动或半自动的微生物分析仪,仪器检测代替了一部分手工操作,微生物实验室在检验实习教育中的内容也发生了相应的变化。我科微生物实验室自 1997 年底引进了法国生物梅里埃公司出品的 VITEK-32 型 (AMS 系统) 全自动微生物分析仪,通过几年的带教实践,对于在实习教育中如何利用自动化仪器进行教学积累了一些带教工作的经验与体会总结如下。

1 上机前的标本处理

临床微生物检验是一门操作性很强的学科。虽然全自动或半自动微生物分析仪能进行菌种鉴定和抗生素敏感性检测,但标本的前处理仍然需要手工操作,如分离培养、革兰染色、氧化酶试验、触酶试验以及凝固酶试验等,如果出错就会造成上机的测试卡选择错误,从而造成人力、物力、财力的浪费,报告时间延长,延误患者的治疗,因此必须通过反复的实验操作以达到熟练掌握的程度。

临床微生物学毕业实习时间为 6 周,我们安排前 3 周时间让学生来练习标本的前处理。要求学生熟练掌握各类标本的接种,熟悉各种培养基的成分和用途。学生最易出错的环节通常是最基本的操作——革兰染色。原因大多是制片厚薄不当、染色时间控制不好 (特别是脱色时间),这些需要反复不断的练习。学生对细菌形态识别经验不足导致错误结果,尤其是革兰阴性短杆菌。经常有学生把醋酸不动杆菌的染色结果误认为革兰阴性双球菌,如果颜色有偏差的话还会当成革兰阳性球菌来处理。我们要求学生在做革兰染色的同时学会观察辨别各种细菌的菌落特征,把染色结果和菌落形态结合起来考虑,可以有效地纠正一些染色结果的偏差。

2 正确使用仪器

实习同学通过 3 周的标本前处理操作训练后安排上机操作。我们采取一对一的带教方式,由一名经验丰富的老师给学生介绍仪器的基本构造、检测原理及仪器日常维护的注意事项。在教同学上机的具体操作过程中要特别强调以下几点: (1) 上机测试

的细菌必须是 18 ~ 24h 的纯培养物。如果标本不纯或培养物过于陈旧, 必然造成各项生化反应结果的偏差, 导致菌株不能鉴定。更严重的是一个错误的鉴定结果, 它的抗生素敏感性检测的结果也是不可靠的。因此上机前的标本必须通过革兰染色观察以确定是否为纯培养物。(2) 正确选择上机测试卡片。VITEK 的测试卡种类较多, 不同的细菌选择不同的测试卡, 根据需要提供仪器鉴定卡无法测试的一些信息, 如氧化酶试验、触酶试验、凝固酶试验、菌落溶血的情况等。这些是细菌鉴定最基本的条件, 如果提供错误的信息, 将导致鉴定的失败或错误的结果。有一次忘了把凝固酶阳性结果标记在卡片上, 仪器鉴定为溶血葡萄球菌, 而最后鉴定是金黄色葡萄球菌。(3) 机用生理盐水必须无菌, 细菌鉴定的菌悬液浓度过高或过低都将影响生化试验的结果, 从而直接影响鉴定的准确性, 同时也会影响药敏卡的检测结果。药敏卡的菌悬液浓度是由鉴定管菌悬液稀释而来, 因此生理盐水的量也要准确。(4) 菌液经真空抽吸进入卡片内后, 要检查卡片上各小孔内是否留有气泡, 如有要排除, 以免影响仪器的检测结果。

3 仪器结果分析

首先要让学生明确对仪器结果进行分析的重要性。虽然细菌的鉴定和药敏试验由仪器来完成, 我们要运用所掌握的知识对结果加以分析与验证, 确认无误后才能发报告。其次是教育学生如何去分析仪器提供的资料, 主要从以下两方面去分析核对。(1) 细菌鉴定结果的分析: 得到一个细菌鉴定结果后, 首先要与原始平板上的菌落进行对照分析, 包括菌落形态、大小、色素、溶血情况等是否符合该菌特点。其次要检查标本的来源, 这株菌是否为这类标本中常见的感染菌, 如果是罕见菌要慎发报告, 必要时通过某些关键性的试验进一步确认。我们曾遇到过从脓液标本中仪器鉴定为沙门菌, 而沙门菌的血清凝集试验阴性, 这样的结果不合乎常理。我们对这份标本重新进行手工鉴定, 最后鉴定为产硫化氢的大肠埃希菌。(2) 药敏结果的分析: 对仪器药敏结果进行分析不但可以检查药敏试验结果本身的问题, 同时还可依此对某些细菌鉴定的结果加以验证。VITEK 设有专家系统, 其功能主要是监测操作技术上的问题、菌种与药物敏感性试验结果不合、提供常规的耐药模式信息等, 并加以提示、注解。因此首先要在电脑上浏览一下专家系统的提示或注解, 结合自己掌握的抗生素知识加以综合分析, 对于以下几种情况应特别予以重视 ①临床少见的耐药模式 如肠杆菌科细菌对泰能耐药。②世界上还未发现的耐药模式 如葡萄球菌耐万古霉素的问题。遇到这些情况要从两方面着手, 一是验证细菌鉴定是否正确, 二是用手工法验证药敏结果。导致出错的主要原因有: 一是 VITEK 药敏测试卡本身的质量问题; 二是菌液浓度; 三是细菌鉴定错误。③细菌对某些抗生素天然耐药 如非发酵菌中的嗜麦芽窄食单胞菌, 此菌对泰能是天然耐药, 这可作为我们检查细菌鉴定结果是否可靠的一个重要依据。

4 认识仪器的局限性

自动化分析仪虽然具有操作简便、结果准确、报告速度快等优点, 但存在很大的局限性。微生物的检验过程是复杂的。由于微生物是活的, 处在不断进化与变异中, 它的各种性状也会发生一些改变。特别是细菌的耐药性, 新的问题层出不穷。微生物分析仪的数据分析软件需要不断的更新, 我们必需及时地掌握新的动态, 增加手工检测作为仪器检测的有效补充。例如前几年超广谱 β -内酰胺酶的问题刚引起临床关注时,

商家还无法给我们提供具有这方面检测功能的药敏卡,我们采用手工的双纸片扩散法来检测 ESBLs 菌株,对仪器的药敏结果加以修正,从而使这部分患者得到及时有效的治疗。

VITEK-AMS 系统在做细菌鉴定时有很多重要的实验结果都需要手工完成,除了上面提到的上机前需做的各项实验外,有些细菌种间的鉴别还需要做一些关键性的补充试验,仪器才能完成对细菌的最后鉴定。较常见如靛基质试验,动力试验等。VITEK-AMS 系统对某些非发酵菌的鉴定存在缺陷,常常无法鉴定。对一些具有特殊生化特性的菌株的鉴定容易出错。因此我们在教育学生正确使用仪器的同时也加强对手工鉴定的操作练习,重点要求掌握各类细菌手工鉴定的思路和步骤。此外,仪器在检测链球菌药敏方面也存在很多不足。需做手工药敏检测,以确保报告的及时性。

5 发临床检测报告

VITEK 的药敏测试卡有多种不同的抗生素组合形式,每个实验室可以根据自己医院的实际情况,听取临床医师、药房及医院感染管理委员会的意见,选择适合自己医院的药敏检测卡。一张检测卡通常不能完全满足需要,我们根据卡中的抗生素设置情况,结合临床需要另外用手工法增加了许多种抗生素的测试,包括一些临床上新增的抗生素。

我们要求实习生很好地掌握抗生素及抗生素敏感性试验的有关知识,由资深的微生物老师给同学们作了题为“体外药敏试验的抗生素选择”的专题讲座,同时给大家讲解 NCCLS 最新版的抗微生物药物敏感试验的执行标准。我们实验室常规用仪器法和手工法测定的药敏试验所涉及的抗生素相加多达二十几种,但报告给临床的只是其中的一部分。根据不同的标本来源、不同的细菌以及耐药情况选择相应的抗生素报告给临床,以指导临床合理使用抗生素,减少耐药菌的发生。实习同学在老师的带教下,学会分析常见细菌的耐药情况,解答临床有关抗生素方面的咨询,并在老师的指导下练习如何给临床发微生物报告。

6 利用 VITEK 软件的资料处理系统对医院感染进行监控和分析

随着现代医学理论和技术的发展,医院感染问题日益突出,如何加强医院感染的控制和监测是当前医学界的一大课题。微生物实验室在医院感染控制中的地位举足轻重。我们给实习同学开了题为“医院感染的检测与控制进展”的专题讲座,教育同学如何利用 VITEK 软件的资料处理系统对医院感染进行监控和分析。VITEK 软件具有强大的资料处理系统,主要有 4 大项:病例报告、质量管理、临床用药资讯、流行病学统计报告。其中流行病学统计报告将实验室各项检验结果作一统计分析,与院内感染控制相关性最高,其中比较重要的有以下几项统计报告。

6.1 菌种分离率统计 将一定时间范围内的菌种分离率作一概括性的统计。可根据需要将标本来源、部位、病房等分类统计菌种分离率,对于不寻常菌群的出现及变化可一目了然,快速判断与医院感染的关系。还可统计菌株在一年中的 12 个月份中出现的频率及其占有菌种分离的比例,由年度各月份的菌种分布情况,可监测特殊菌种的出现频率,甚至比较上年度及预测明年的情况,作为感染控制的基本资料。

6.2 菌株生化反应结果统计 VITEK 在鉴定细菌时可由其生化反应的结果得到一生物

编码,再依据此码得到菌种名称,而某些生化反应极微小的差异即可造成生物编码的改变。统计同一菌株,不同生物编码出现的频率,可及时发现菌株的变异情况。

6.3 药物敏感性试验分类统计 分别统计敏感、中介、耐药所占百分比,由此可知菌种与抗生素间的消长关系。还有药敏试验百分比统计报表,菌种测试数目及对抗生素敏感性的比例,各种菌种间及对抗生素的相关性由此表均可一目了然。

随着微生物检验自动化程度的提高,实习生的带教工作也应随之改变。实习内容较之过去更加丰富,对操作技能、应变能力及对新技术、新知识的掌握要求更高。老师在自动化仪器的带教过程中不能只注重动手操作,而要让学生全方位地接触仪器,熟悉仪器的各项功能,认识仪器鉴定的局限性和手工操作的重要性,把理论知识和实践工作有机地结合起来,培养出合格的微生物检验人才。