



# 激光散射法微生物快速培养系统临床应用专家共识

中国医学装备协会检验医学分会

通信作者：王瑶，中国医学科学院北京协和医院检验科，疑难重症及罕见病国家重点实验室，Email: yaoo\_wang@163.com；贾伟，宁夏医科大学总医院医学实验中心，Email: 13519299090@126.com

DOI: 10.3969/j.issn.1672-8270.2024.01.037

中图分类号：R197.39 文献标识码：A

**[摘要]** 激光散射法微生物快速培养系统是一种新型微生物培养系统，可提高培养敏感性并大幅加快病原菌的检出速度。为了探究激光散射法微生物快速培养系统的临床应用价值，针对阳性血培养物、尿液、无菌体液样本，分析该系统在病原微生物快速培养、鉴定和药敏中的检测流程、影响因素以及临床应用情况，中国医学装备协会检验医学分会组织相关专家组成专家组，经进行讨论指导后最终形成“激光散射法微生物快速培养系统临床应用专家共识”，以促进激光散射法微生物快速培养系统在临床中的科学合理应用。

**[关键词]** 激光散射法；快速培养；病原微生物；专家共识

**基金项目：**国家科技基础资源调查专项(2019FY101208)

**引用本文：**中国医学装备协会检验医学分会.激光散射法微生物快速培养系统临床应用专家共识[J].中国医学装备,2024,21(1):189-198.DOI:10.3969/j.issn.1672-8270.2024.01.037

**Expert consensus on the clinical application of the light scattering microbial rapid culture system/China Society of Medical Laboratory Equipment**

**Corresponding author:** Wang Yao, Email: yaoo\_wang@163.com; Jia Wei, Email: 13519299090@126.com

**[Abstract]** The light scattering microbial rapid culture system is an innovative microbial culture system, which can improve culture sensitivity and significantly expedite the detection of pathogenic microorganisms. In order to explore the clinical application value of this system, the detection processes, influencing factors and clinical applications of this system in the rapid culture, identification and antimicrobial susceptibility testing of pathogenic microorganisms were analyzed for positive blood cultures, urine and sterile body fluid samples. Following discussions and guidance from a panel of experts organized by China Society of Medical Laboratory Equipment, the 'Expert consensus on the clinical application of the light scattering microbial rapid culture system' was formulated to promote the scientific and rational application of this system in clinical settings.

**[Key words]** Light scatter technology; Rapid culture; Pathogenic microorganism; Expert consensus

**Fund program:** The work was supported by grants from Special Foundation for National Science and Technology Basic Research Program of China under the award number (2019FY101208)

病原学诊断是感染性疾病精准诊断和有效治疗的重要前提，感染部位标本的微生物培养是病原学诊断的“金标准”之一。目前，临床上广泛开展了免疫学、分子生物学等诊断技术，微生物培养作为目前唯一能分离获得病原菌，从而进一步进行抗菌药物敏感性试验的方法，具有不可替代的重要价值。由于原始样本中病原菌含量通常较低，传统微生物培养技术常存在敏感性有限、培养周期长的问题，检测结果报告滞后、甚至出现假阴性培养结果导致临床经常需要经验性抗感染治疗。因此，提高微生物培养敏感性和检出速度，是临床的迫切需求和新型技术亟待解决的问题。激光散射法微生物快速培养系统(简称“激光散射系统”)是一种新型微生物快速培养系统，可大幅缩短微生物培养时间。为探索激光散射系统的临床应用特点，中国医学装备协会检验医学分会组织了由15家医疗机构参与、多中心临床应用评价研究的专家组，经专家组讨论研究后最终形成“激光散射法微生物快速

培养系统临床应用专家共识”，对该系统在阳性血培养物、尿液、无菌体液快速增菌培养方面的临床应用价值，尤其就如何与传统培养方法进行整合互补，以及实验室流程优化方面进行解读<sup>[1]</sup>。

## 1 激光散射系统共识推荐意见

### 1.1 适用范围

激光散射系统可对阳性血培养物、尿液、无菌体液和导管等标本进行快速增菌，具有样本需求量少(10~500 μl)、报告时间短(0.75~6 h)、操作标准化、判读自动化、可个性化设置监测终点、能开放性对接任一鉴定和药敏系统等特点。

### 1.2 阳性血培养物

阳性血培养物涂片镜检显示单一菌种时，激光散射系统可对大部分需氧菌、兼性厌氧菌和酵母菌进行快速增菌(约90%≤5 h)，经富集处理后直接进行鉴定和药敏试验。

阳性血培养物涂片镜检提示复数菌、丝状真菌及



可疑厌氧菌或特殊培养条件菌时,宜采用传统培养技术。

阳性血培养物涂片镜检怀疑慢生长菌时,可采用传统培养技术;如采用激光散射系统可延长增菌时间、提高富集用增菌液体积或对增菌液进行二次增菌,以增加获取菌量便于进行鉴定和药敏试验。

### 1.3 尿培养

尿常规联合激光散射系统,有利于提高尿路感染(urinary tract infection, UTI)诊断的敏感性和特异性,能够大幅缩短周转时间(turn around time, TAT)约1~4 h。激光散射系统尿培养阴性,可直接报告。

激光散射系统培养阳性标本需进行涂片、革兰染色及镜检:镜检为单一菌的增菌液经离心富集,可直接进行鉴定和药敏试验;镜检为两种菌时需将增菌液转种平板培养基,进一步培养分离纯化;镜检为3种及以上菌时,可直接报告“≥3种菌生长,可疑定植菌污染”。

对怀疑慢生长细菌、真菌UTI患者,以及有持续UTI症状、免疫功能缺陷等低浓度菌UTI患者,建议将激光散射系统孵育时间延长至5 h,以提高检测敏感性。

### 1.4 无菌体液培养

对于无菌体液培养,激光散射系统所需样本量少(仅500 μl)、培养时间短(6~8 h)、检测阈值低(>0 cfu/ml)。

对于凝固成胶冻状或粘稠的液体标本,建议液化处理后接种;严重血性或混浊的体液样本,以及怀疑慢生长细菌、真菌、厌氧菌等感染者,建议采用传统培养方法。

无菌体液激光散射系统培养阳性,且涂片镜检为单一菌时,增菌液经离心富集,可直接进行鉴定和药敏试验;镜检为两种以上菌时,增菌液需传平板进一步分离纯化,同时原始标本建议补做平板培养;激光散射系统培养阴性,但原始体液样本性状混浊或呈血性时,建议对阴性培养瓶进行盲传以避免漏检。

## 2 激光散射系统基本原理及特点

### 2.1 系统原理

激光散射系统采用专利的液体培养瓶(肉汤含量为2 ml),内含磁力搅拌器,样本定量接种入培养瓶后上机培养,通过激光散射系统实时监测培养液中细菌生长情况,激光每5 min发射和接收监测1次,同时监

测菌悬液30°和90°角两个方向的光散射强度,将散射信号转化为实时生长曲线,并采用非线性最小二乘法计算原始样本中的细菌浓度,同时进行麦氏浓度监测,较传统浊度法的灵敏度增加50~100倍。当培养液中细菌生长达到设定麦氏浊度或达到设定的菌浓度,将触发声光信号报警,此时菌液浓度适合直接进行下一步的鉴定或药敏试验,且细菌处于对数生长期,有利于获得更加准确的药敏结果。在样本培养初始阶段,系统会自动读取样本本底数据,消除样本中红细胞、白细胞、上皮细胞、盐类结晶以及死亡菌体监测信号的干扰,以保证监测数据均来自样本中的活菌。

### 2.2 系统特点

激光散射系统具有样本需求量少(根据样本类型接种10~500 μl)、报告时间短(多数样本检测时间为0.75~6 h)、自动判读、操作标准化、可个性化设置监测终点(如特定麦氏浊度或原始样本中菌浓度检出限)、能开放性对接任一鉴定和药敏系统等特点。

基于激光散射法的新一代全自动液体培养基微生物快速培养系统,如HB&L、Alfred60AST和UroQuick型等微生物培养仪(意大利ALIFAX公司),可实现对阳性血培养物<sup>[2]</sup>、无菌体液<sup>[3]</sup>、尿液<sup>[4]</sup>、中心静脉导管尖<sup>[5-6]</sup>、角膜保存液等进行快速培养;其中导管尖等非液体样本,需通过震荡、超声等方式,将附着于管壁上的病原体释放于液体后,再应用激光散射系统培养。激光散射系统快速培养适用的菌种范围包括需氧菌、兼性厌氧菌及生长速度较快的部分专性厌氧菌和酵母菌。增菌液经过富集后可直接用于鉴定和药敏试验,将基于平板培养基传代培养获得菌落所需的18~24 h,大幅缩短至0.75~6 h。激光散射系统还可以快速筛查甲氧西林耐药的金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)、超广谱β-内酰胺酶(extended-spectrum β-lactamase, ESBL)/AmpC酶阳性菌、碳青霉烯耐药肠杆菌目(carbapenem-resistant *Enterobacterales*, CRE)、万古霉素耐药肠球菌(vancomycin-resistant enterococci, VRE)等多重耐药菌,6.5 h内即可检出<sup>[7]</sup>。此外,激光散射系统可检测临床样本中残留抗菌药物活性(residual antimicrobial activity, RAA),有助于分析培养阴性结果是否由临床应用抗菌药物所导致。

### 3 激光散射系统用于阳性血培养物快速检测

#### 3.1 阳性血培养物快速检测中的应用价值

血流感染是病死率较高的重要感染性疾病<sup>[8]</sup>。尽早进行恰当的抗感染治疗对挽救患者生命、提高治愈率非常关键。对于脓毒症患者，有效抗菌药物治疗启动每延迟1 h即会导致患者生存率下降7.6%<sup>[9]</sup>。因而，优化实验室流程，缩短血培养报告TAT具有重要临床意义。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)的应用，大幅缩短了病原菌鉴定的时间。然而，血培养阳性报警后按常规流程将阳性血培养物转种至固体培养基，经孵育获得可用于质谱鉴定的菌落，通常需要耗费18~24 h。如何将阳性血培养物快速转变为能够直接进行MALDI-TOF MS鉴定的合格样本，一直是业内关注的重要课题。有研究显示，将阳性血培养物直接通过分离胶管离心和富集，在一系列破壁和裂解过程后实现了阳性血培养物的直接菌种鉴定<sup>[10]</sup>。但完成上述过程的前提是菌量足够多，并且需要多个分离步骤以减少血液和培养基等成分对检测的干扰。而将阳性血培养物采用激光散射系统短时间增菌、富集并直接用于鉴定，可有效弥补其不足，且病原菌种水平鉴定正确率显著高于血清分离胶促凝管法联合质谱鉴定<sup>[11]</sup>。

#### 3.2 系统检测流程

##### 3.2.1 系统与血培养阳性处理流程的整合

当血培养阳性报警时，无菌操作抽取阳性肉汤进行涂片、革兰染色和镜检。如镜检为单一形态细菌或酵母样真菌，吸取阳性培养物加入激光散射系统培养瓶中进一步增菌；如镜检为非单一形态菌体，则采用平板法进行分离培养。

血培养阳性标本经激光散射系统增菌，达到设定菌液浓度阈值后取出培养瓶，通过离心、洗涤等方式获得富含菌体的沉淀物，直接用于MALDI-TOF MS

或生化鉴定仪鉴定。

##### 3.2.2 系统与常规血培养流程比较

阳性血培养物激光散射系统处理流程与传统处理流程在检测及报告时间、操作复杂性等方面的对比见表1。

#### 3.3 对阳性血培养物的影响因素

##### 3.3.1 检测前因素

(1)加样量。在一定范围内，阳性血培养物加样量越多，增菌速度越快，但如超过一定范围，过量的血细胞会使光路饱和，从而影响细菌计数和激光散射值的读取。推荐加样量为10~15 μl。

(2)血培养瓶类型。含有活性碳的血培养瓶阳性培养物，采用激光散射系统增菌后，培养液中的活性碳不利于MALDI-TOF MS检测。建议在洗涤阶段将菌悬液静置15~30 min使碳粒沉降，或以1000×g/min低速离心5 min将碳粒快速富集到管底，取上半部分菌悬液离心后鉴定。阳性血培养物中血细胞过多时，也可采用低速离心法处理。

(3)复数菌。增菌前需对阳性血培养物进行涂片、革兰染色，若镜检提示存在多种形态病原菌，则不适用于此系统，需通过常规平板法培养分纯处理。

(4)真菌。系统对快生长酵母菌增菌良好，但对慢生长酵母菌和丝状真菌的增菌能力仍有待验证，若镜检可见真菌丝(如镰刀菌、马尔尼菲篮状菌等)，应采用实验室常规培养方法。

(5)厌氧菌。系统常规培养瓶对厌氧菌的增菌时间长于需氧菌，且仅适用于部分快生长厌氧菌，推荐采用专用厌氧培养瓶或采用常规平板法培养。

##### 3.3.2 检测中因素

(1)菌种。系统对绝大多数需氧菌、兼性厌氧菌、快生长厌氧菌和酵母菌增菌良好，增菌速度与菌种相关。①快生长菌：不同菌种增菌至满足鉴定和(或)药敏所需菌量的时间不同，常见菌增菌浊度至1.5 McF(麦氏浊度单位)所需时间约为肠杆菌目<2 h，肠球菌<2.5 h，葡萄球菌<4 h，链球菌、非发酵菌、念珠

表1 阳性血培养物激光散射系统与传统处理流程性能对比

处理流程	增菌时间	操作复杂性	1种菌鉴定报告TAT <sup>[12]a</sup>	鉴定准确性	1种菌药敏报告TAT <sup>a</sup>	药敏准确性	复数菌	慢生长菌
激光散射系统	1~8h(约70%≤3h、约90%≤5h)	较高	MALDI-TOF MS鉴定2~6h 生化鉴定18~24h	高	20~30h	较高	不适合	部分可延长培养时间或二次增菌
传统培养	18~24h	较低	MALDI-TOF MS鉴定24~30h 生化鉴定36~48h	高	36~48h	高	适合	适合

注：<sup>a</sup>为不包括血培养仪孵育时间；TAT为周转时间；MALDI-TOF MS为基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱





菌等4~6 h; ②慢生长菌: 部分常见厌氧菌(如普通拟杆菌、脆弱拟杆菌等)增菌浊度至1.5 McF所需时间可能>8 h, 常规培养>48 h才能形成明显菌落的菌种(如新型隐球菌、布鲁菌等), 增菌12 h可能浊度仍然不能达到1 McF, 如阳性血培养物涂片镜检怀疑慢生长菌, 宜采用传统培养技术, 若应用激光散射系统, 可在增菌浊度至0.5 McF后, 将培养瓶中全部增菌液进行富集用于鉴定, 对于增菌速度缓慢但浊度达不到0.5 McF的标本, 可吸取500  $\mu$ l至另一个增菌培养瓶中二次增菌, 获得更高浊度菌悬液后再进行富集处理和鉴定; ③特殊培养条件菌: 少数可能需要特殊营养或培养条件的细菌(如内脏气味杆菌、微小单胞菌等), 在激光散射系统常规培养瓶中不能生长, 若增菌8~12 h后培养液仍未达到设定浊度甚至仍保持清亮, 则高度怀疑为特殊培养条件菌, 建议采用传统培养法。怀疑专性厌氧菌时建议采用专用厌氧增菌培养瓶或厌氧平板法培养。

(2)监测终点设定。监测终点设定的麦氏浊度越高, 所需增菌时间越长。由于增菌所获得菌量越多, 越利于进行鉴定及药敏试验, 可以根据实验室设备条件和工作流程适当延长增菌培养时间。对于常见菌, 如采用MALDI-TOF MS鉴定, 建议最低设定增菌浊度为0.5 McF, 以保持细菌处于对数生长期并以最快的速度获得检测结果报告临床。

### 3.4 阳性血培养结果解释

临床上血流感染多数为单一菌感染, 阳性血培养物涂片镜检提示为单一菌时, 经激光散射系统增菌、富集后, 直接进行MALDI-TOF MS鉴定和药敏试验的结果, 与采用菌落的检测结果高度一致, 可替代传统平板培养法; 镜检提示复数菌、可疑慢生长菌、丝状真菌或特殊培养条件菌时, 宜采用传统平板培养法。

### 3.5 激光散射系统临床应用

激光散射系统在阳性血培养物的处理上, 除在快速增菌后进行MALDI-TOF MS鉴定外, 在快速药敏试验中也发挥了重要作用<sup>[1,13-17]</sup>。对于血流感染常见革兰阴性菌和革兰阳性菌, 采用VITEK 2(法国生物梅里埃公司)、凤凰(美国BD公司)、Microscan(德国贝克曼公司)等型号自动化药敏仪或纸片扩散法进行药敏试验, 激光散射系统培养物药敏试验结果与纯培养菌落药敏试验结果的分类一致率为89.0%~97.5%, 且药敏报告时间可提前7.5~43 h<sup>[1,14-18]</sup>。在合理安排实验室工

作流程的基础上, 采用激光散射系统进行阳性血培养物增菌及药敏试验, 部分菌种可实现在血培养阳性报警当天报告药敏结果。此外, 激光散射系统还可对阳性血培养物直接进行CRE、ESBLs/AmpC酶阳性菌、MRSA和VRE等多重耐药菌检测, 3.5~4 h即可报告检测结果。

## 4 激光散射系统用于尿培养

### 4.1 尿培养中的应用价值

UTI是仅次于呼吸道感染的第二大感染性疾病, 全球每年新增UTI患者约1.5亿, 中国UTI感染率达1%, 其中绝大部分为成年女性患者<sup>[19]</sup>。如不及时治疗, UTI可能会发展为慢性感染, 严重者可能会导致肾功能受损, 影响患者的生命安全。目前, 临床上诊断UTI的“金标准”是尿培养, 但传统尿培养技术耗时较长, 准确、高效的实验室诊断对于UTI的临床诊断和治疗有十分重要的意义。

激光散射系统与传统尿培养比较, 能够大幅度缩短培养时间, 为UTI的诊断和精准治疗赢得了宝贵时间, 且具有较好的特异性和阴性预测值, 可为UTI的早期、快速筛查提供帮助<sup>[20-21]</sup>。

### 4.2 检测流程

#### 4.2.1 与尿常规处理流程整合

尿常规是筛查UTI的重要手段, 与UTI相关的尿常规指标包括白细胞酯酶、亚硝酸盐、尿沉渣等<sup>[22]</sup>。但如果患者因尿路刺激而出现尿频, 病原菌在尿路停留时间过短即被排出, 尿常规检查白细胞酯酶或亚硝酸盐可呈阴性, 涂片也未必有重要发现。此外, 患者如被肠球菌等不产生硝酸盐还原酶的菌株感染, 尿常规亚硝酸盐结果亦为阴性; 免疫功能受损患者(化疗或移植)发生UTI时白细胞可不升高, 白细胞酯酶可为阴性。而白细胞酯酶和亚硝酸盐阳性也未必一定是UTI, 如患者留置导尿管时白细胞尿无诊断意义, 也可能由生殖系统感染等原因造成, 所以尿培养结果是诊断UTI的重要依据。尿常规联合激光散射系统尿培养, 有利于提高UTI诊断的敏感性和特异性, 能够大幅缩短TAT并降低实验室劳动负荷。临床实际工作中约60%~70%尿培养结果为阴性, 若尿常规筛查白细胞酯酶和(或)亚硝酸盐为阴性, 可直接使用激光散射系统进行尿液培养, 则大部分样本可在4 h内发出阴性报告, 并大幅减少传统尿培养流程在培养的第2 d、第3 d阅读平板的工作量; 从提高UTI实验室诊断速度角度出发, 如尿常规

显示白细胞酯酶和(或)亚硝酸盐阳性,使用激光散射系统进行尿培养,可缩短单一菌UTI的病原菌鉴定和药敏报告时间。

#### 4.2.2 与传统尿培养比较

应用激光散射系统进行尿培养,与传统尿培养常规培养处理流程的比较中,两者在接种方式、结果判读方式、报告TAT时长等方面存在显著差异。若以 $\geq 10^4$  cfu/ml为阳性阈值,激光散射系统在3.25 h内即可完成孵育,报告培养阴性或阳性结果。培养阳性标本需进行涂片、革兰染色及镜检:①镜检为单一菌的增菌液经离心富集,可直接进行鉴定和药敏试验;②当镜检为两种菌时需将增菌液转种平板培养基,进一步培养分离纯化,或将原始尿标本接种平板培养基进行培养;③镜检 $\geq 3$ 种菌时,提示标本可疑污染,可直接报告。尿培养激光散射系统与传统培养处理流程对比见表2。

#### 4.3 对尿培养的影响因素

##### 4.3.1 检测前因素

(1)尿标本留取及送检。激光散射系统尿培养与常规尿培养在尿标本留取及送检方面的要求相同。留样不当(如清洁中段尿被尿道口或生殖道口定植菌污染,从集尿袋中采集尿标本等)会导致污染菌进入标本,干扰培养监测结果的准确性。

(2)尿标本性状。由于激光散射系统对微生物生长情况的监测,依赖于激光散射强度,混浊程度较高的样本会导致系统 $30^\circ$ 光路饱和,干扰培养结果的准确性。因而对于严重混浊和血性尿液标本,建议直接采用平板法定量培养。

##### 4.3.2 检测中因素

(1)培养时间。激光散射系统中尿培养所设定

的阳性阈值是由生长曲线计算得出的原始样本菌浓度,原始样本菌浓度越低,所需培养时间越长。由于UTI致病菌绝大多数为生长速度较快的肠杆菌、肠球菌、葡萄球菌和非发酵菌等,短时间培养(如3.25 h)可以满足大部分致病菌检出要求(阳性阈值 $\geq 10^4$  cfu/ml)。

(2)菌种。激光散射系统的增菌时间及敏感性随微生物菌种的不同而有所差异。①增菌时间:由于慢生长菌(如酵母菌等)无法在短时间内生长至阳性阈值,会导致光路检测信号增长缓慢,如尿标本在激光散射系统中孵育至终点时间,系统未报告阳性,但生长曲线有缓慢升高,应考虑存在慢生长菌的可能,延长系统培养时间或转种至平板培养基进一步孵育,该系统假阴性培养结果多数源于慢生长菌感染<sup>[4]</sup>;②检测敏感性:对于UTI,若以 $\geq 10^4$  cfu/ml为阳性阈值,激光散射系统对酵母菌和革兰阴性菌敏感性高于革兰阳性球菌<sup>[23]</sup>。

#### 4.4 尿培养结果解释

UTI多由1~2种菌引起,且慢生长细菌和真菌占比低;如尿培养获得3种及以上细菌,多考虑为留样不规范所致尿道口及生殖道定植菌污染<sup>[24]</sup>。对于激光散射系统尿培养结果解释如下。

##### 4.4.1 尿培养阴性结果

(1)对于一般可疑UTI患者检测准确性高,4 h内即可报告尿培养阴性结果( $\leq 10^3$  cfu/ml)。该系统阴性预测值高,阴性培养结果通常可直接报告。

(2)对于有持续UTI症状患者、免疫功能缺陷患者(如化疗或移植患者),尤其是尿常规提示白细胞和(或)亚硝酸盐阳性者,以及接受有创操作的患者,如间歇性导尿管、肾盂造瘘术、输尿管造口术、膀胱镜检

表2 尿培养激光散射系统与传统培养处理流程对比

处理流程	适用标本性状	标本量	培养基	接种方式	判读方式	阴性报告TAT
激光散射系统	较清亮	500 $\mu$ l	专用尿液肉汤培养瓶	移液器定量接种	自动化判读 生长曲线	$\leq 10^4$ cfu/ml为3.25 h $\leq 10^3$ cfu/ml为4 h $\leq 10$ cfu/ml为5 h
传统培养	清亮、混浊均可	10 $\mu$ l	血、中国蓝或麦康凯平板	定量接种环或移液器定量加样后,密涂划线接种	人工平板判读	约48 h

  

处理流程	阳性培养时间	1种菌鉴定报告TAT	1种菌药敏报告TAT	2种菌鉴定报告TAT	2种菌药敏报告TAT	$\geq 3$ 种菌报告TAT
激光散射系统	阳性阈值为 $\geq 10^4$ cfu/ml需 $\leq 3.25$ h	MALDI-TOF MS鉴定 $\leq 6$ h;生化鉴定8~30 h	12~30 h	MALDI-TOF MS鉴定24~30 h;生化鉴定30~48 h	30~72 h	<3.25 h
传统培养	24~48 h	MALDI-TOF MS鉴定24~30 h;生化鉴定30~48 h	30~48 h	MALDI-TOF MS鉴定24~30 h;生化鉴定30~48 h	30~72 h	24~48 h

注: TAT为周转时间; MALDI-TOF MS为基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱



查术,尿培养菌落计数 $\geq 10^2$  cfu/ml也可能有临床诊断意义<sup>[24]</sup>。因而,对于上述特殊人群尿标本培养,建议将该样本检测阈值设定为 $10^2$  cfu/ml、检测时间设定为5 h,同时联合采用传统平板法定量细菌培养技术,并增加平板法培养尿液标本接种量,以提高检测灵敏度。

(3)对于怀疑慢生长菌和真菌UTI患者,建议采用5 h的培养时间,且同时采用传统平板法定量培养。

(4)对于耻骨上膀胱穿刺尿标本,应采用无菌体液培养模式,以免报告假阴性结果。

(5)UTI常见病原菌为大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、其他肠杆菌目细菌及肠球菌,如检出乳杆菌、阴道加德纳菌等,应考虑是否存在生殖道分泌物污染的可能,如检出除腐生葡萄球菌之外的其他凝固酶阴性的葡萄球菌,应首先考虑为污染。

(6)在个别情况下,会出现尿标本传统定量细菌培养结果为低菌量细菌生长(如 $10^2 \sim 10^3$  cfu/ml)或3种及以上菌生长,而激光散射系统尿培养结果为阴性的情况。这可能是由于标本中存在定植菌污染,污染菌进入尿液标本后需经过约3 h延迟期后才进行增殖,而此时已接近激光散射系统孵育检测终点,无法达到培养阳性阈值<sup>[4]</sup>;而传统平板法培养经过24~48 h孵育,会给污染菌以充分的时间增殖。故激光散射系统尿培养结果,对除外定植菌污染有一定帮助。

#### 4.4.2 尿培养阳性结果

(1)培养液涂片镜检为单一菌,可直接进行进一步鉴定和药敏试验,且检测结果准确性高。如采用MALDI-TOF MS鉴定,鉴定报告TAT约为4~5 h,大部分标本可在24 h内报告药敏结果。

(2)培养液涂片镜检为两种菌,需将培养液进一步转种平板培养基,或直接将原始尿标本接种平板培养基,以获得单菌落用于后续鉴定和药敏试验。检测流程虽较传统细菌定量培养方法略复杂,但此类尿标本在患者有UTI症状且尿常规白细胞和(或)亚硝酸盐阳性的标本中仅占 $< 5\%$ ,由于快速培养增菌时间短(约1~3 h),该方法TAT与直接进行平板法尿培养相比无明显差别。

(3)培养液涂片镜检 $\geq 3$ 种菌,可直接报告“ $\geq 3$ 种菌生长,可疑定植菌污染”。

#### 4.5 临床应用情况

激光散射系统与传统平板法的定量尿培养相比,其尿培养具有阴性预测值高(94.2%~98.8%)、特异度

高(61.8%~92.8%)和灵敏度高(73.0%~96.5%)的特点,整体检测准确率可达到86.8%~98.0%<sup>[23,25-26]</sup>。对于临床常见的革兰阴性杆菌UTI,该系统的检测灵敏度接近90%,加之能大幅缩短TAT时长,因此在UTI的实验室诊断方面优势明显<sup>[4,23]</sup>。

采用激光散射系统,大部分尿培养样本可在接收当日明确培养阳性或阴性,阴性标本可在4 h内报告结果,多数阳性样本可在12~30 h内报告鉴定和药敏结果,TAT时间平均缩短24 h以上。

## 5 激光散射系统用于无菌体液快速细菌培养

### 5.1 无菌体液快速培养应用价值

激光散射系统可实现脑脊液、心包积液、关节液、胸水、腹水等无菌体液的快速增菌,也可用于经超声、振荡处理后导管样本的增菌培养。相较于传统培养法,激光散射系统所需样本量小,增菌速度快,且具有更高的敏感性。

### 5.2 无菌体液快速培养流程

#### 5.2.1 与常规无菌体液培养检测流程的整合

对于无菌体液,尤其是病原菌含量较少的样本,如直接接种琼脂平板培养基阳性率较低,为了提高检出率,需联合采用平板培养基和肉汤培养基增菌培养。而应用激光散射系统,直接将标本接种在快速培养瓶中即可。

(1)无菌体液。样本量仅需500  $\mu$ l,对于脑脊液标本需在培养瓶中补充200  $\mu$ l苛养菌补充营养物(difficult enrichment broth supplement, DEB),主要含牛血清白蛋白、高铁血红素、 $\beta$ 烟酰胺二核苷酸钠和甘露醇等,以支持流感嗜血杆菌和脑膜炎奈瑟菌等苛养菌生长;房水等样本量较少的样本,需使用生理盐水将样本量补足至500  $\mu$ l。一般无菌体液标本(胸水、腹水等)培养时间6 h,脑脊液、玻璃体液和房水等标本建议培养8 h,阳性阈值设定为 $> 0$  cfu/ml。

(2)导管尖。接种前需置于2.5 ml脑心浸液肉汤培养基中超声处理1 min,震荡后取500  $\mu$ l接种至激光散射系统培养瓶,设定培养时间为8 h或增菌浊度至0.5 McF<sup>[5]</sup>。

(3)培养时间结束系统无阳性报警即为阴性。如培养期间报警阳性,抽取样本进行涂片、革兰染色和镜检。如果涂片镜检结果为单一菌,将阳性培养液制备富集沉淀物用于细菌鉴定和药敏试验。如果涂片镜检结果为多种菌,将阳性培养液转种至平板培养基,孵育培养后再进行鉴定和药敏试验。



### 5.2.2 与传统无菌体液培养对比

传统的无菌体液细菌培养，通常采用平板培养联合肉汤管或血培养瓶增菌，与之相比，激光散射系统仅需500 μl样本，培养时间6~8 h，且具有较高的敏感性。从培养速度来看，对于绝大多数病原菌，激光散射系统的培养速度都快于血培养，这与其检测原理及培养基有关<sup>[12]</sup>。血培养瓶中(儿童瓶除外)的抗凝剂聚茴香脑磺酸钠(sodium polyanethole sulfonate, SPS)不利于部分苛养菌的生长；而激光散射系统可在培养基瓶中添加DEB补充物支持苛养菌(如流感嗜血杆菌、脑膜炎奈瑟菌等)生长。此外，如怀疑患者有真菌感染可能，建议使用真菌培养瓶(沙氏液体培养基)，或联合使用沙氏琼脂培养。无菌体液激光散射系统与传统培养处理流程对比见表3。

### 5.3 无菌体液快速细菌培养影响因素

#### 5.3.1 检测前因素

(1)样本性状。①粘稠和(或)胶冻状，标本中如含有黏液和聚集物，会影响仪器检测，需应用液化剂进行处理，建议的标本/液化剂比例是1:1。部分关节液或体液标本易凝固成胶冻状，可采集后床旁接种到快速培养瓶中；②混浊样本，严重混浊样本建议直接应用传统方法进行培养；③血性样本，沉淀后取上清注入培养瓶，若过于血性，则推荐采用传统培养法。

(2)抗菌药物干扰。对于正在接受抗菌药物治疗的患者，标本中的抗菌药物会抑制病原菌生长，需要在应用抗菌药物前或药物处于谷浓度时采样培养。

#### 5.3.2 检测中因素

菌种差异：①激光散射系统适用于检测标本中常见需氧菌，不适用于慢生长细菌和真菌；②对于腹水

等可能存在需氧菌和厌氧菌混合感染的标本类型，建议同时进行需氧菌培养和厌氧菌培养，除接种常规体液培养瓶外，同时接种厌氧专用培养瓶或厌氧平板培养基。

### 5.4 无菌体液快速细菌培养结果解释

#### 5.4.1 激光散射系统检测阳性

(1)若涂片镜检为单一菌种，可直接对培养液进行富集处理，用于进一步鉴定和药敏试验。

(2)若涂片镜检≥2种菌时，应至少转种血平板、巧克力平板和中国蓝或麦康凯平板，根据镜检结果必要时接种厌氧培养基和(或)沙氏培养基，孵育后再进行鉴定和药敏试验。同时，原始标本应补充接种平板培养基，以避免标本中菌量低的病原菌在短时间增菌过程中被优势菌抑制而无法检出，避免漏检。

(3)体液标本经激光散射系统培养，如检出凝固酶阴性葡萄球菌、棒状杆菌、痤疮丙酸杆菌、微球菌等皮肤常见污染菌或定植菌，要结合标本来源、增菌时间、临床诊断、患者症状体征和标本采集时机、留取方式(如留置导管引流标本)、运送与保存条件等因素综合分析，谨慎报告。

(4)房水或玻璃体液标本常见病原菌为链球菌、流感嗜血杆菌、少数皮肤移行菌及厌氧菌，角膜保存液受保存和运输条件影响可能会发生环境菌滋生，建议结合标本涂片结果和患者病情综合分析培养结果。必要时建议临床重新留取样本送检。

#### 5.4.2 激光散射系统检测阴性

若激光散射系统检测阴性，但临床症状明显；或涂片镜检发现可疑病原菌，应怀疑培养假阴性可能，可考虑以下原因。

(1)样本性状。原始标本性状混浊或呈血性时，建

表3 无菌体液激光散射系统与传统培养处理流程对比

处理流程	适用标本性状	标本量	培养基	接种方式	判读方式	阴性报告TAT
激光散射系统	较清亮	500 μl	专用体液肉汤培养瓶，脑脊液补充DEB	移液器定量接种培养瓶	自动化判读生长曲线	脑脊液、房水、玻璃体液、导管为8h；其他无菌体液为6h约72h
传统培养	清亮、混浊均可	>500 μl	血、中国蓝或麦康凯平板、增菌肉汤管或血培养瓶	平板三区划线、肉汤增菌管滴加、血培养瓶注射器接种	平板及肉汤管人工判读、血培养仪自动化判读生长曲线	

  

处理流程	阳性阈值	1种菌鉴定报告TAT	1种菌药敏报告TAT	≥2种菌鉴定报告TAT	≥2种菌药敏报告TAT
激光散射系统	>0cfu/ml	MALDI-TOF MS 鉴定≤6h；生化鉴定8~30h	12~30h	MALDI-TOF MS鉴定24~48h；生化鉴定30~72h	30~72h
传统培养	>0cfu	MALDI-TOF MS 鉴定24~30h；生化鉴定30~48h	30~48h	MALDI-TOF MS鉴定24~72h；生化鉴定30~96h	30~96h

注：TAT为周转时间；MALDI-TOF MS为基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱；DEB为苛养菌补充营养物质



议对阴性培养瓶盲传,以避免漏检。

(2)抗菌药物影响。对于临床可疑感染的患者,尤其是来自急诊科、重症监护室等在检测前大量应用抗菌药物的患者,可在使用激光散射系统进行细菌培养的同时进行抗菌药物残留试验,以分析是否存在抗菌药物对培养结果的影响。

(3)特殊病原体。如脑脊液中的新型隐球菌,应用常规体液培养瓶及检测模式可能漏检,如临床可疑患者新型隐球菌感染或墨汁染色、隐球菌荚膜多糖抗原检测阳性时,建议采用真菌培养瓶并延长培养时间。对于腹腔感染患者,如可疑需氧菌和厌氧菌混合感染,建议增加厌氧瓶培养。

### 5.5 临床应用情况

激光散射系统用于无菌体液标本病原体培养已有十余年的经验,所检测标本类型涉及脑脊液、胸水、腹水、关节腔积液、中心静脉导管等,评估结果显示,其病原体检出能力不逊色于传统培养方法,且检测时长较传统培养方法显著缩短,大部分阳性结果可在接种后6h内得到提示<sup>[4,23]</sup>。但值得注意的是,该方法对于酵母菌和凝固酶阴性葡萄球菌等的培养时间较长,如光滑念珠菌、表皮葡萄球菌孵育时间可能>8h,应延长培养时间。

## 6 激光散射系统其他应用方向

激光散射系统之所以能够极大缩短培养TAT,主要依赖于两方面:①可促进细菌与真菌快速生长的肉汤培养基;②依据光散射原理和最小二乘拟合算法建立的样本中细菌计数计算模型。该系统的快速增菌能力,可广泛用于个体化诊疗和院内感染防控。

除上述应用场景外,激光散射系统还可应用于无菌测试,如对角膜保存液、血小板、移植物营养液等,24~48h即可检出低至1cfu的污染菌。此外,激光散射系统对于多重耐药菌(如MRSA、CRE、ESBL/AmpC阳性菌或VRE)的筛查,可用于院感监测,采用拭子样本6.5h获得结果;阳性血培养物仅需3~4.5h,其检测结果与VITEK2微生物全自动鉴定及药敏分析系统的一致性、灵敏度和特异度均>90%<sup>[1,7,27]</sup>。此外,可使用含有特定浓度抗菌药物的药敏检测瓶,通过监测细菌生长曲线的变化,进行各类抗菌药物的耐药性检测。

## 7 结论

激光散射法微生物快速培养系统能够提高病原微生物检测的敏感性、特异性,缩短TAT时间,促进抗

菌药物合理应用,降低多重耐药菌感染发生率,降低医疗成本,减轻患者医疗负担,符合个体化、精准化诊疗的发展趋势。

共识参编人员:

本共识由中国医学装备协会检验医学分会组织相关专家撰写,参与拟订和讨论的专家名单如下。

执笔人员:

王瑶(中国医学科学院北京协和医院)、黄晶晶(南京医科大学附属淮安第一医院)、李雪(中国医学科学院北京协和医院)、王鹏(首都医科大学附属北京朝阳医院)、王岩(中国人民解放军火箭军特色医学中心)、董方(首都医科大学附属北京儿童医院)、田晓波(首都医科大学附属北京同仁医院)、李艳君(中国人民解放军总医院第六医学中心)、段学光(北京中医药大学东方医院)、鲁炳怀(中日友好医院)、王欢(中国人民解放军总医院第五医学中心)、王艳(首都医科大学附属北京积水潭医院)、李颖(首都医科大学宣武医院)、魏明(首都医科大学附属北京朝阳医院)、姚兴伟(北京中医药大学东直门医院)、高翔(首都医科大学附属北京中医医院)、陈铭(首都医科大学附属北京佑安医院)

编写专家(按姓氏笔画排序):

王欣茹(中国人民解放军火箭军特色医学中心)、刘向祎(首都医科大学附属北京同仁医院)、寿好长(北京中医药大学东方医院)、李艳君(中国人民解放军总医院第六医学中心)、吴俊(首都医科大学附属北京积水潭医院)、谷丽(首都医科大学附属北京朝阳医院)、宋文琪(首都医科大学附属北京儿童医院)、赵雅(西安市第一医院)、胡云建(北京医院)、娄金丽(首都医科大学附属北京佑安医院)、洪燕英(首都医科大学附属北京中医医院)、贾伟(宁夏医科大学总医院)、徐英春(中国医学科学院北京协和医院)、陶凤蓉(北京医院)、曹敬荣(首都医科大学宣武医院)、鲍春梅(中国人民解放军总医院第五医学中心)

编审专家(按姓氏笔画排序):

胥俊越(国家电网公司北京电力医院)、严虹(南京医科大学第二附属医院)、张伟(河北北方学院附属第一医院)、万庆(新疆克孜勒苏柯尔克孜自治州人民





医院)、王云双(保定市妇幼保健院)、高鹏海(北京奥内斯特商贸有限公司)、李卓(西安医学院第一附属医院)、李润青(北京清华长庚医院)、李士军(大连医科大学附属第一医院)、王亮[南方医科大学附属广东省人民医院(广东省医学科学院)]、杨晓林(郑州安图生物工程股份有限公司)、齐军(中国医学科学院肿瘤医院深圳医院)、周旭一(中翰盛泰生物技术股份有限公司)、段朝晖(中山大学孙逸仙纪念医院)、曹科(深圳市儿童医院)、赵建平(内蒙古自治区人民医院)、冀承杰(简阳市人民医院)、董媛(清华大学医院)、徐菲莉(新疆医科大学附属中医医院)、郭经滨(山东大学齐鲁医院德州医院)、李宗光(安庆市立医院)、葛斌(成都市郫都区人民医院)、任秀奇(北京朝阳中西医结合急诊抢救医院)、顾兵[南方医科大学附属广东省人民医院(广东省医学科学院)]、戴二黑(石家庄市第五医院)、赵云虎[南方医科大学附属广东省人民医院(广东省医学科学院)]、胡大康(台州市立医院)、罗迪贤(华中科技大学协和深圳医院)、郝巧歆(中国航天科工集团七三一医院)

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

#### 参考文献

- [1] 范曼如,申泉,王丹琦,等. 临床实践指南制订方法—形成推荐意见的共识方法学[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11(6): 647-653. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4055.2019.06.02.
- [2] Kroumova V, Gobbato E, Basso E, et al. Direct identification of bacteria in blood culture by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: a new methodological approach[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2011, 25(15): 2247-2249. DOI: 10.1002/rcm.5113.
- [3] Fontana C, Favaro M, Minelli S, et al. A novel culturing system for fluid samples[J]. Med Sci Monit, 2009, 15(2): 55-60.
- [4] Ilki A, Bekdemir P, Ulger N, et al. Rapid reporting of urine culture results: impact of the uro-quick screening system[J]. New Microbiol, 2010, 33(2): 147-153. DOI: 10.1038/nrmicro2321.

- [5] Alonso B, Latorre MC, Cruces R, et al. Evaluation of the Alfred turbidity monitoring system (Alifax<sup>®</sup>) following sonication in the diagnosis of central venous catheter colonization[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019, 38(9): 1737-1742. DOI: 10.1007/s10096-019-03606-y.
- [6] Ontana C, Favaro M, Bossa MC, et al. Improved diagnosis of central venous catheter-related bloodstream infections using the HB&L UROQUATTRO system[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31(11): 3139-3144. DOI: 10.1007/s10096-012-1676-9.
- [7] Wei M, Wang P, Wang S, et al. HB&L system for rapid phenotypic detection of clinical carbapenem-resistant Enterobacterales isolates[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2021, 26: 272-278. DOI: 10.1016/j.jgar.2021.02.036.
- [8] Cecconi M, Evans L, Levy M, et al. Sepsis and septic shock[J]. Lancet, 2018, 392(10141): 75-87. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30696-2.
- [9] Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock[J]. Crit Care Med, 2006, 34(6): 1589-1596. DOI: 10.1097/01.CCM.0000217961.75225.E9.
- [10] Zhou M, Yang Q, Kudinha T, et al. An improved in-house ALDI-TOF MS protocol for direct cost-effective identification of pathogens from blood cultures[J]. Front Microbiol, 2017, 8: 1824. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01824.eCollection 2017.
- [11] 丁毅伟, 李艳君, 钱扬会, 等. 血清分离胶促凝管法和HB&L微生物培养体系预处理在MALDI-TOF MS快速鉴定血培养阳性样本病原菌的方法研究[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(4): 341-346. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20200928-00752.
- [12] Giordano C, Piccoli E, Brucculeri V, et al. A Prospective evaluation of two rapid phenotypical antimicrobial susceptibility technologies for the diagnostic stewardship of sepsis[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 6976923.



- DOI:10.1155/2018/6976923.
- [13] Barnini S, Brucculeri V, Morici P, et al. A new rapid method for direct antimicrobial susceptibility testing of bacteria from positive blood cultures[J]. BMC Microbiol, 2016, 16(1):185. DOI:10.1186/s12866-016-0805-5.
- [14] Anton-Vazquez V, Adjepong S, Suarez C, et al. Evaluation of a new rapid antimicrobial susceptibility system for gram-negative and gram-positive bloodstream infections: speed and accuracy of alfred 60 AST[J]. BMC Microbiol, 2019, 19(1):268. DOI:10.1186/s12866-019-1654-9.
- [15] Boland L, Strel C, De Wolf H, et al. Rapid antimicrobial susceptibility testing on positive blood cultures through an innovative light scattering technology: performances and turnaround time evaluation[J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1):989. DOI:10.1186/s12879-019-4623-x.
- [16] Sanchez-Carrillo C, Pescador P, Ricote R, et al. Evaluation of the Alfred AST® system for rapid antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood cultures[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019, 38(9):1665-1670. DOI:10.1007/s10096-019-03595-y.
- [17] Van den Poel B, Meersseman P, Debaveye Y, et al. Performance and potential clinical impact of Alfred60(AST) (Alifax®) for direct antimicrobial susceptibility testing on positive blood culture bottles[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2020, 39:53-63. DOI:10.1007/s10096-019-03690-0.
- [18] Cupaiolo R, Cherkaoui S, Serrano G, et al. Antimicrobial susceptibility testing determined by Alfred 60/AST(Alifax®) in a multi-sites lab: performance's evaluation and optimization of workflow[J]. J Microbiol Methods, 2022, 194:106433. DOI:10.1016/j.mimet.2022.106433.
- [19] Nazzal Z, Khatib B, Al-Quqa B, et al. The prevalence and risk factors of urinary incontinence among women with type 2 diabetes in the north West Bank: a cross-sectional study[J]. Lancet, 2021, 398 Suppl 1:S42. DOI:10.1016/S0140-6736(21)01528-2.
- [20] 丁赔赔, 李艳君, 丁毅伟, 等. HB&L微生物培养仪在尿路感染中的临床诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(3):322-324. DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.03.009.
- [21] 潘芬, 潘雨萱, 石迎迎, 等. UroQuick尿液快速培养技术在儿童尿路感染诊断中的应用[J]. 检验医学, 2022, 37(7):652-656. DOI:10.3969/j.issn.1673-8640.2022.07.011.
- [22] Leber AL. Clinical microbiology procedure handbook[M]. 4th edition, Washington, DC: American Society for Microbiology, 2016.
- [23] Marschal M, Wienke M, Hoering S, et al. Evaluation of 3 different rapid automated systems for diagnosis of urinary tract infections[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2012, 72(2):125-130. DOI:10.1016/j.diagmicrobio.2011.10.001
- [24] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 尿路感染临床微生物实验室诊断操作规范: WS/T 489-2016[S]. 国家卫生和计划生育委员会. 2016-07-07.
- [25] Dimech W, Roney K. Evaluation of an automated urinalysis system for testing urine chemistry, microscopy and culture[J]. Pathology, 2002, 34(2):170-177. DOI:10.1080/00313020120117990.
- [26] Montgomery S, Roman K, Ngyuen L, et al. Prospective evaluation of light scatter technology paired with matrix-assisted laser desorption ionization-Time of flight mass spectrometry for rapid diagnosis of urinary tract infections[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(6):1802-1811. DOI:10.1128/JCM.00027-17.
- [27] Josa DF, Bustos IG, Yusef SA, et al. Rapid detection of carbapenemase and extended-spectrum beta-lactamase producing gram-negative bacteria directly from positive blood cultures using a novel protocol[J]. Antibiotics(Basel), 2022, 12(1):34. DOI:10.3390/antibiotics12010034.

收稿日期: 2023-11-20