

· 临床研究 ·

足部慢性骨髓炎多点取材细菌培养的意义

张玲^{1a}, 韩锦学^{1b}, 万浩^{1b}, 丁慧², 丁晓琳^{1b*}

(1. 山东第一医科大学第二附属医院, a: 检验科; b: 足踝外科, 山东泰安 271000; 2. 泰安市交通医院康复科, 山东泰安 271000)

摘要: [目的] 探讨足部骨髓炎患者清创术中不同细菌标本送检数确定足部慢性骨髓炎致病菌的能力。[方法] 回顾性分析2017年10月—2022年2月105例足部慢性骨髓炎患者的临床资料, 共送检细菌培养105次, 其中送检套数分别为: 29次(1套)、36次(3套)、40次(5套)。比较各套数检出的细菌数及检出致病菌能力。[结果] 105例慢性骨髓炎患者中有82例检出细菌, 其中, 金黄色葡萄球菌比例占整个检出细菌总数的34.2%, 其次为表皮葡萄球菌占12.2%。在105次送检细菌培养中, 各套细菌检出率依次为65.5%(1套)、75.0%(3套)、及90.5%(5套); 确定致病菌能力依次为85.0%(5套)、55.6%(3套), 1套与5套及3套与5套细菌检出率差异均有统计学意义($P<0.05$), 1套与3套检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。[结论] 在检出致病菌方面, 术中送检5套标本检出致病菌能力最强, 送检1套标本检出致病菌能力最差。因此在确定致病菌时, 建议在清创术中多位点取材、至少送检5套细菌标本。

关键词: 足部骨髓炎, 细菌培养, 致病菌, 多位点取材

中图分类号: R681.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478(2023)22-2109-04

Significance of multipoint sampling bacteria culture in chronic osteomyelitis of the foot // ZHANG Ling^{1a}, HAN Jin-xue^{1b}, WAN Hao^{1b}, DING Hui², DING Xiao-lin^{1b}. 1a. Department of Medical Laboratory, 1b. Department of Foot and Ankle Surgery, The Second Affiliated Hospital, Shandong First Medical University, Tai'an 271000, China; 2. Department of Rehabilitation, Tai'an Transportation Hospital, Tai'an 271000, China

Abstract: [Objective] To investigate the capacity of different bacteria-culture samplings in debridement to determine the pathogenic bacteria of foot chronic osteomyelitis. [Methods] Clinical data of 105 patients with chronic osteomyelitis of the foot from October 2017 to February 2022 were retrospectively analyzed. A total of 105 bacterial cultures were sent for examination, including 29 (1 set), 36 (3 sets) and 40 (5 sets). The number of bacteria detected and the ability to detect pathogenic bacteria were compared. [Results] Bacteria were detected in 82 of 105 patients with chronic osteomyelitis, among which *Staphylococcus aureus* accounted for 34.2% of the total detected bacteria, followed by *Staphylococcus epidermidis* accounted for 12.2%. In the 105 samples, the detection rate of each set of bacteria was 65.5% (1 set), 75.0% (3 sets), and 90.5% (5 sets). The capacity to identify pathogenic bacteria was 85.0% (5 sets), 55.6% (3 sets), which were statistically significant between 1 set and 5 sets, as well as 3 sets and 5 sets ($P<0.05$), whereas not significant between 1 set and 3 sets ($P>0.05$). [Conclusion] In the detection of pathogenic bacteria, the ability of sending 5 sets of specimens for intraoperative detection is the strongest, while sending 1 set of specimens for intraoperative detection is the worst. Therefore, when determining pathogenic bacteria, it is recommended to take multi-site samples during debridement and send at least 5 sets of bacterial samples for examination.

Key words: foot osteomyelitis, bacterial culture, pathogenic bacteria, multi-site sampling

足部慢性骨髓炎是临床足踝外科医生遇到的较常见疾病之一, 是一种难治愈且易反复发作的感染性疾病。关于足部慢性骨髓炎的临床诊断检查手段很多, Mckowick 等^[1]认为术中患处组织细菌培养结果才是诊断慢性骨髓炎的主要检查手段, 这一观点至今仍被临床医生广泛接受。在确定致病菌检测方面, 术中细菌培养被认为是确定致病菌的金标准^[2]。因此大多数

学者仍然认为术中细菌培养是诊断慢性骨髓炎的最主要确诊手段^[3]。目前关于在足部慢性骨髓炎清创过程中应送检细菌标本份数及如何确定致病菌方面, 国内外临床报道很少。本文通过回顾性分析研究105例足部慢性骨髓炎患者普通细菌培养临床资料, 得出不同细菌送检套数与检出致病菌之间的关系, 为临床使用抗菌药物提供理论基础。

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2023.22.19

作者简介: 张玲, 主管检验师, 研究方向: 临床检验, (电话)18525851387, (电子信箱)spine126@126.com

* 通信作者: 丁晓琳, (电话)15666082271, (电子信箱)ankle163@163.com

1 临床资料

1.1 一般资料

回顾性分析2017年10月—2022年2月105例足部慢性骨髓炎患者的临床资料,其中男67例,女38例;年龄17~79岁,平均(44.2±16.5)岁。患者均根据临床表现及影像学检查确诊为足部慢性骨髓炎,骨髓炎发生部位:趾骨38例,跖骨31例、跟骨24例、跗骨12例。根据医患沟通结果,将105例足部慢性骨髓炎患者术中送检标本数分为送检1套组、3套组、5套组,分别对致病菌分布情况、细菌检出率以及确定致病菌能力等方面进行分析。本研究已通过医院伦理委员会批准,所有患者均知情同意。

1.2 检测方法

取材方法:通过窦道扩大切口,如有内置物,将内置物取出,同时清除周围的炎性生物膜,根据同位素扫描的结果在相应部位开窗,直径宽度以核素浓聚的范围适当延伸,或者多处开窗。清创同时,创腔内

组织多位点取材,进行组织细菌培养和药敏实验(图1a)。取材位点包括但不限于:肉眼下有明显炎性反应的软组织,或者局部的皮质骨或松质骨,或者内固定物及周围的炎性生物膜。取材完成后用生理盐水、双氧水和稀释复合碘冲洗伤口,直到骨质正常,软组织新鲜。根据情况置入负压引流装置(vacuum sealing drainage, VSD)或敷料包扎。

细菌培养:多位点取材后,立即分别放入含培养液或培养基的无菌试管中(图1b),立即送检进行细菌培养。

致病菌确认:本研究参照其他关节感染诊断标准^[4]认为,2套及2套以上送检细菌培养结果中,同一细菌重复出现2次及2次以上,则认为此细菌就是致病菌。

二期骨水泥链珠置入及取出术:再次手术,清创扩创,根据细菌培养和药物敏感实验结果,将抗生素混合骨水泥制成链珠置于髓腔内,软组织深层。二期术后3个月抗生素骨水泥链珠取出。



图1 患者,女,66岁,糖尿病病史20年,左足破溃、流脓1个月,诊断:糖尿病足(瓦格纳III期);跖骨骨髓炎。1a:细菌培养取材前大体像;1b:多点取材细菌培养;1c,1d:二期抗菌素骨水泥取出术后3个月足部愈合良好。

Figure 1. A 66-year-old female patient with a history of diabetes for 20 years, left foot ulceration and pus discharge for 1 month, was diagnosed as diabetic foot (Wagner stage III) and metatarsal osteomyelitis. 1a: General appearance before bacteria sampling for culture. 1b: multi-point sampling bacteria culture. 1c,1d: The foot healed well 3 months after secondary antibiotic bone cement removal.

1.3 评价指标

采用菌种分布情况、检出率、确认致病菌能力等方面评价临床诊断效果。

1.4 统计学方法

采用SPSS 26.0软件进行统计学分析。计数资料以例表示,采用 χ^2 检验或Fisher精确检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌种分布

依据清创术标本的细菌培养结果,统计细菌的种类和频数,结果见表1。105例慢性骨髓炎患者中有82例检出细菌,其中检出细菌的比例,革兰氏阳性球菌所占比例远远大于革兰氏阴性杆菌。其中,金黄

色葡萄球菌比例占整个检出细菌总数的 34.2%，其次为表皮葡萄球菌占 12.2%。在革兰氏阴性杆菌中，排在前三位的分别是：铜绿假单胞菌、阴沟肠杆菌、大肠埃希菌。

表 1 清创术标本细菌谱的菌种分布
Table 1 Strain distribution of bacterial spectrum in debridement specimens

细菌种类	阳性次数	百分比 (%)
金黄葡萄球菌	28	34.2
表皮葡萄球菌	10	12.2
铜绿假单胞菌	9	11.0
大肠埃希菌	5	6.1
阴沟肠杆菌	4	4.9
鲍曼氏不动杆菌复合体	3	3.7
肺炎克雷伯菌	3	3.7
溶血葡萄球菌	2	2.4
白色念珠菌	2	2.4
克氏葡萄球菌	2	2.4
人葡萄球菌	2	2.4
厌氧消化链球菌	2	2.4
头状葡萄球菌	1	1.2
粪肠球菌	1	1.2
混合生长	8	9.8

2.2 检出率

根据清创术送检标本的套数，分别统计不同送检次数细菌的培养情况，并计算检出率，统计结果见表 2。由表 2 可知，随着送检套数的增多，其细菌阳性检出率相应提高。其中送检 5 套细菌检出率最高。

表 2 不同送检套数标本检出率
Table 2 Detection rate of different sets of specimens

送检套数	送检次数	阳性结果次数	阴性结果次数	检出率 (%)
1 套	29	19	10	65.5
3 套	36	27	9	75.0
5 套	40	36	4	90.0

不同送检套数标本检出率：1 套与 5 套及 3 套与 5 套细菌检出率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)，1 套与 3 套检出率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，提示 5 套检出细菌能力高于 1 套、3 套检出能力。

2.3 致病菌确认

本研究参照其他关节感染诊断标准^[4]认为，2 套及 2 套以上送检细菌培养结果中，同一细菌重复出现 2 次及 2 次以上，则认为此细菌就是致病菌。依据此

原则，对不同套数的标本结果进行分析，按照是否能够确定致病菌分别进行统计，统计结果见表 3。由表 3 可知，送检套数越多，确定致病菌的百分比也越高。5 套以上确定致病菌的能力达到 85.0%，是 3 套细菌培养确定致病菌能力的 1.5 倍。

表 3 不同送检套数标本确定致病菌的情况
Table 3 The pathogenic bacteria identified in different sets of samples submitted for examination

标本套数	送检次数	确定致病菌 (个)	不能确定致病菌 (个)	确定致病菌百分比 (%)
3 套	36	20	16	55.6
5 套	40	34	6	85.0

为了进一步探索单次送检标本的套数与确定致病菌的百分比之间的关系，根据 Bonferroni 法调整 P 的检验标准为 $0.05/6=0.008\ 334$ 。单次送检 5 套标本与 3 套数标本在确定致病菌方面的差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。

3 讨论

彻底的手术清创和针对致病菌的精确抗菌治疗，是保证足部慢性骨髓炎治疗效果以及降低其复发风险的主要治疗原则^[5]。因此明确致病菌，为合理使用敏感性抗菌药物提供科学依据是治疗的关键一环。相对于一般细菌涂片镜检、生化反应、多聚酶链反应等细菌检测方法，细菌培养具有操作方便、检测价格较低、检测效能高等一系列优势，因此术中骨组织取材的细菌培养仍然被作为是确定致病菌的金标准^[5, 6]。但是仍有许多因素制约着细菌培养的准确性，例如术中取材位置不良、取材位点过少以及样本污染等^[7]。另外，目前关于足部骨髓炎诊断还没有形成明确诊断标准，临床医师只能通过发病原因、临床表现、检查体征、感染指标及结合影像学资料综合来诊断。

关于术中取材原则，Jorge 等^[8]在创伤性骨髓炎的清创术中收集至少 3 份骨与软组织标本来进行细菌培养，发现致病菌的检出率为 94.8%，而 Parvizi 等^[4]对于假体周围感染的诊断，表示要在感染部位取至少 5 份组织标本，进行处理后及时送往细菌检验室以避免标本污染，提高检出效能，并提出在送检标本中，至少有 2 份标本培养出同一种细菌菌落，才能确诊为致病菌。马显志等^[9, 10]报道认为慢性骨髓炎清创术中细菌送检套数与确定致病菌的能力相关，其细菌检出率及确定致病菌的能力均随送检套数的增加

而增加,且推荐在术中送检至少5套标本来确定致病菌。然而, Wang等^[11]认为,至少在2套送检标本中分离出同一种细菌,就可以确定致病菌。通过本研究结果可以看出,术中送检5套标本能较大程度提高检测出致病菌能力。确定致病菌的前提是要求至少在2份以上细菌培养中生长同一种细菌。为提高术中细菌培养的检出率,本研究采取以下措施:所有患者术前停用抗菌药物至少1周^[12]、术中多位点取材,取材范围尽可能涵盖整个感染区域组织、至少送5套及以上细菌标本、术中取出立即对标本进行预处理并及时送检、适当增加细菌培养时间等措施。

总之,在诊断足部骨髓炎时,随着取材位点、送检套数数量增多,确定致病菌能力逐步增大,建议术中在感染区域内至少取材5点位、送检5套标本,来确定致病菌,为指导临床治疗提供理论依据。

参考文献

- [1] Mackowiak PA, Jones SR, Smith JW. Diagnostic value of sinus-tract cultures in chronic osteomyelitis [J]. *JAMA*, 1978, 239 (26): 2772-2775. DOI: 10.1001/jama.239.26.2772.
- [2] Malandain D, Bémer P, Leroy AG, et al. Assessment of the automated multiplex-PCR unyvero 160 ITI(®) cartridge system to diagnose prosthetic joint infection: a multicentre study [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2018, 24 (1): 81-83. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.05.017.
- [3] 王兴义. 我国骨髓炎的现状与对策 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2008, 16 (4): 316-318. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2008.04. Wang XY. Status and countermeasures of osteomyelitis in China [J]. *Orthop J Chin*, 2008, 16 (4): 316-318. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2008.04.
- [4] Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, et al. New definition for periprosthetic joint infection: from the workgroup of the Musculoskeletal Infection Society [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2011, 469 (11): 2992-2994. DOI: 10.1007/s11999-011-2102-9.
- [5] Zuluaga AF, Galvis W, Jaimes F, et al. Lack of microbiological concordance between bone and non-bone specimens in chronic osteomyelitis: an observational study [J]. *Bmc Infect Dis*, 2002, 2002: 8. DOI: 10.1186/1471-2334-2-8.
- [6] Zegaer BH, Ioannidis A, Babis GC, et al. Detection of bacteria bearing resistant biofilm forms, by using the universal and specific PCR is still unhelpful in the diagnosis of periprosthetic joint infections [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2014, 2014: 30. DOI: 10.3389/fmed.2014.00030.
- [7] 陈培生, 林凤飞, 陈宾, 等. 骨折相关感染细菌培养规范取材的研究进展 [J]. *中华创伤骨科杂志*, 2020, 22 (4): 365-366. DOI: 10.3760/cma.j.cn115530-20190903-00306. Chen PS, Lin FF, Chen B, et al. Current study on standardized specimens collection for bacterial culture of fracture-related infection [J]. *Chin J Orthop Trauma*, 2020, 22 (4): 365-366. DOI: 10.3760/cma.j.cn115530-20190903-00306.
- [8] Jorge LS, Fucuta PS, Oliveira MG, et al. Outcomes and risk factors for polymicrobial posttraumatic osteomyelitis [J]. *J Bone Joint Infect*, 2018, 3 (1): 20-26. DOI: 10.7150/jbji.22566.
- [9] 马显志, 王满宜, 张伯松, 等. 窦道细菌培养在诊断慢性骨髓炎中的临床价值 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2016, 24 (1): 45-48. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2016.01.09. Ma XZ, Wang MY, Zhang BS, et al. Diagnostic value of sinus-tract cultures in chronic osteomyelitis [J]. *Orthop J Chin*, 2016, 24 (1): 45-48. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2016.01.09.
- [10] 马显志, 王振栋, 王满宜, 等. 初探慢性骨髓炎患者中不同细菌送检套数确定致病菌的能力 [J]. *实用骨科杂志*, 2018, 24 (12): 1085-1088. DOI: 10.13795/j.cnki.sgkz.2018.12.009. Ma XZ, Wang ZD, Wang MY, et al. Effect of bacteria-culture sample number on the confirmation of the pathogens of osteomyelitis [J]. *J Pract Orthop*, 2018, 24 (12): 1085-1088. DOI: 10.13795/j.cnki.sgkz.2018.12.009.
- [11] Wang S, Yin P, Quan C, et al. Evaluating the use of serum inflammatory markers for preoperative diagnosis of infection in patients with nonunions [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 9146317. DOI: 10.1155/2017/9146317.
- [12] 王飞, 李闯兵, 黄强, 等. 创伤后慢性骨髓炎致病菌分布特点及耐药性分析 [J]. *西部中医药*, 2018, 31 (5): 69-72. Wang F, Li CB, Huang Q, et al. Analysis of the tolerance and distribution characteristics of pathogenic bacteria of posttraumatic chronic osteomyelitis [J]. *West J TCM*, 2018, 31 (5): 69-72.

(收稿:2023-05-05 修回:2023-10-12)

(同行评议专家: 臧建成, 窦洪磊, 柴瑞宝)

(本文编辑: 闫承杰)