

## ·慢性难愈性创面·

## 采用滤纸片法检测细菌对诊断糖尿病足创面感染的意义



邹新华 祝友鹏 任国强 李恭驰 张静 邹利军 冯自波 李炳辉

**【摘要】** 目的 评价采用滤纸片法检测细菌对诊断糖尿病足创面感染的意义。方法 选取 2014 年 7 月—2015 年 7 月在华中科技大学同济医学院附属梨园医院住院治疗且符合入选标准的糖尿病足溃疡患者 18 例,按德州大学糖尿病溃疡分级系统对糖尿病足溃疡创面进行分级,比较不同分级创面对应患者一般情况。分别取创面渗出液、创面组织,采用滤纸片法和组织活检法进行创面细菌检测。以组织活检法检测结果为对照,滤纸片法为待评价方法,检验 2 种方法检测结果的关联性、差异性、一致性。计算滤纸片法检测细菌的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确度。根据 18 例患者滤纸片法检测细菌的特异度和敏感度,绘制受试者工作特征(ROC)曲线,评价滤纸片法的检测效果。对数据行单因素方差分析、Fisher 确切概率法检验。针对经组织活检法检出细菌的患者,对组织活检法与滤纸片法检出细菌数进行 Pearson 相关分析。结果 (1)德州大学糖尿病溃疡分级 1、2、3 级创面对应患者间年龄、糖尿病病程、创面病程、创面面积、踝肱指数、糖化 Hb、空腹血糖、血小板计数、红细胞沉降率、C 反应蛋白、AST、血肌酐、尿素氮差异均无统计学意义( $F$  值为 0.029 ~ 2.916,  $P$  值均大于 0.05),白细胞计数、ALT 差异有统计学意义( $F$  值分别为 4.688、6.833,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。 (2)组织活检法检测结果显示患者中有 6 例未检测出细菌;12 例检测出细菌,其中 10 例细菌数大于  $1 \times 10^5$  个/g,2 例细菌数未达到  $1 \times 10^5$  个/g。滤纸片法检测结果显示患者中有 8 例未检测出细菌;10 例检测出细菌,其中 7 例细菌数大于  $1 \times 10^5$  个/g,3 例细菌数未达到  $1 \times 10^5$  个/g。滤纸片法与组织活检法检测细菌同时阳性患者有 7 例,同时阴性患者有 8 例,滤纸片法阴性而组织活检法阳性患者有 3 例,组织活检法阴性的患者中未出现滤纸片法阳性。2 种方法检测结果存在方向性关联( $P = 0.004$ ),即组织活检法结果阳性,滤纸片法结果也可能是阳性;2 种方法检测结果不存在明显差异( $P = 0.250$ );2 种方法检测结果一致性一般( $Kappa = 0.68, P = 0.002$ )。 (3)滤纸片法检测细菌的敏感度为 70%、特异度为 100%、阳性预测值为 1.00、阴性预测值为 0.73、准确度为 83.3%。18 例患者滤纸片法检测细菌 ROC 曲线下总面积为 0.919(95% 置信区间为 0 ~ 1.000,  $P = 0.030$ )。 (4)组织活检法共检出 13 株细菌,其中鲍氏不动杆菌 5 株,金黄色葡萄球菌 5 株,铜绿假单胞菌、牛链球菌及鸟肠球菌各 1 株。滤纸片法共检出 11 株细菌,其中鲍氏不动杆菌 5 株,金黄色葡萄球菌 3 株,铜绿假单胞菌、牛链球菌及鸟肠球菌各 1 株。除金黄色葡萄球菌外,滤纸片法检测其余 4 种细菌的敏感度、特异度均为 100%。滤纸片法与组织活检法检测鲍氏不动杆菌的一致性较好( $Kappa = 1.00, P < 0.01$ ),检测金黄色葡萄球菌的一致性一般( $Kappa = 0.68, P < 0.05$ )。 (5)滤纸片法与组织活检法检出创面细菌数总体无明显相关( $r = 0.257, P = 0.419$ ),其中 2 种方法检出德州大学糖尿病溃疡分级 1、2 级创面细菌数均显著相关( $r$  值均为 0.999,  $P$  值均为 0.001),检出德州大学糖尿病溃疡分级 3 级创面细菌数无明显相关( $r = -0.053, P = 0.947$ )。结论 滤纸片法检测结果在确定是否存在细菌感染方面与组织活检法检测结果具有一致性,对诊断糖尿病足创面局部感染具有重要意义。

**【关键词】** 糖尿病足; 感染; 诊断; 创面; 细菌检测; 滤纸片法; 组织活检法

基金项目:湖北省卫生计生西医美类一般项目(WJ2015MB078)

**Significance of bacteria detection with filter paper method on diagnosis of diabetic foot wound infection** Zou Xinhua, Zhu Youpeng, Ren Guoqiang, Li Gongchi, Zhang Jing, Zou Lijun, Feng Zibo, Li Binghui. Department of Wound Repair, Liyuan Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University

DOI:10.3760/ema.j.issn.1009-2587.2017.02.005

作者单位:430070 武汉,华中科技大学同济医学院附属梨园医院创面修复科(邹新华、祝友鹏、邹利军、冯自波、李炳辉);华中科技大学同济医学院第三临床学院(任国强、李恭驰、张静)

通信作者:李炳辉,Email:libinghui2006@sina.com

of Science and Technology, Wuhan 430070, China

Corresponding author: Li Binghui, Email: libinghui2006@sina.com

**[Abstract] Objective** To evaluate the significance of bacteria detection with filter paper method on diagnosis of diabetic foot wound infection. **Methods** Eighteen patients with diabetic foot ulcer conforming to the study criteria were hospitalized in Liyuan Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology from July 2014 to July 2015. Diabetic foot ulcer wounds were classified according to the University of Texas diabetic foot classification (hereinafter referred to as Texas grade) system, and general condition of patients with wounds in different Texas grade was compared. Exudate and tissue of wounds were obtained, and filter paper method and biopsy method were adopted to detect the bacteria of wounds of patients respectively. Filter paper method was regarded as the evaluation method, and biopsy method was regarded as the control method. The relevance, difference, and consistency of the detection results of two methods were tested. Sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, and accuracy of filter paper method in bacteria detection were calculated. Receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn based on the specificity and sensitivity of filter paper method in bacteria detection of 18 patients to predict the detection effect of the method. Data were processed with one-way analysis of variance and Fisher's exact test. In patients tested positive for bacteria by biopsy method, the correlation between bacteria number detected by biopsy method and that by filter paper method was analyzed with Pearson correlation analysis. **Results** (1) There were no statistically significant differences among patients with wounds in Texas grade 1, 2, and 3 in age, duration of diabetes, duration of wound, wound area, ankle brachial index, glycosylated hemoglobin, fasting blood sugar, blood platelet count, erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, aspartate aminotransferase, serum creatinine, and urea nitrogen (with  $F$  values from 0.029 to 2.916,  $P$  values above 0.05), while there were statistically significant differences among patients with wounds in Texas grade 1, 2, and 3 in white blood cell count and alanine aminotransferase (with  $F$  values 4.688 and 6.833 respectively,  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). (2) According to the results of biopsy method, 6 patients were tested negative for bacteria, and 12 patients were tested positive for bacteria, among which 10 patients were with bacterial number above  $1 \times 10^5/g$ , and 2 patients with bacterial number below  $1 \times 10^5/g$ . According to the results of filter paper method, 8 patients were tested negative for bacteria, and 10 patients were tested positive for bacteria, among which 7 patients were with bacterial number above  $1 \times 10^5/g$ , and 3 patients with bacterial number below  $1 \times 10^5/g$ . There were 7 patients tested positive for bacteria both by biopsy method and filter paper method, 8 patients tested negative for bacteria both by biopsy method and filter paper method, and 3 patients tested positive for bacteria by biopsy method but negative by filter paper method. Patients tested negative for bacteria by biopsy method did not tested positive for bacteria by filter paper method. There was directional association between the detection results of two methods ( $P = 0.004$ ), i. e. if result of biopsy method was positive, result of filter paper method could also be positive. There was no obvious difference in the detection results of two methods ( $P = 0.250$ ). The consistency between the detection results of two methods was ordinary (Kappa = 0.68,  $P = 0.002$ ). (3) The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, and accuracy of filter paper method in bacteria detection were 70%, 100%, 1.00, 0.73, and 83.3%, respectively. Total area under ROC curve of bacteria detection by filter paper method in 18 patients was 0.919 (with 95% confidence interval 0 - 1.000,  $P = 0.030$ ). (4) There were 13 strains of bacteria detected by biopsy method, with 5 strains of *Acinetobacter baumannii*, 5 strains of *Staphylococcus aureus*, 1 strain of *Pseudomonas aeruginosa*, 1 strain of *Streptococcus bovis*, and 1 strain of bird *Enterococcus*. There were 11 strains of bacteria detected by filter paper method, with 5 strains of *Acinetobacter baumannii*, 3 strains of *Staphylococcus aureus*, 1 strain of *Pseudomonas aeruginosa*, 1 strain of *Streptococcus bovis*, and 1 strain of bird *Enterococcus*. Except for *Staphylococcus aureus*, the sensitivity and specificity of filter paper method in the detection of the other 4 bacteria were all 100%. The consistency between filter paper method and biopsy method in detecting *Acinetobacter baumannii* was good (Kappa = 1.00,  $P < 0.01$ ), while that in detecting *Staphylococcus aureus* was ordinary (Kappa = 0.68,  $P < 0.05$ ). (5) There was no obvious correlation between the bacteria number of wounds detected by filter paper method and that by biopsy method ( $r = 0.257$ ,  $P = 0.419$ ). There was obvious correlation between the bacteria numbers detected by two methods in wounds with Texas grade 1 and 2 (with  $r$  values as 0.999,  $P$  values as 0.001). There was no obvious correlation between the bacteria numbers detected by two methods in wounds with Texas grade 3 ( $r = -0.053$ ,  $P = 0.947$ ).

**Conclusions** The detection result of filter paper method is in accordance with that of biopsy method in the determination of bacterial infection, and it is of great importance in the diagnosis of local infection of diabetic foot wound.

**[Key words]** Diabetic foot; Infection; Diagnosis; Wound; Bacterial detection; Filter paper method; Biopsy method

**Fund program:** General Project of Western Medicine of Health and Family Planning Commission of Hubei Province (WJ2015MB078)

2013 年研究显示,中国约有 1.5 亿糖尿病患者<sup>[1]</sup>,其中 15%~25% 的患者在糖尿病病程中会发生足部溃疡<sup>[2-3]</sup>。在所有糖尿病截肢患者中,85% 是由于足部溃疡恶化为严重感染或坏疽所致。糖尿病足溃疡给社会和家庭造成很大的经济负担<sup>[4]</sup>。控制糖尿病创面感染需要有效的抗生素治疗,需要对细菌进行定性定量检测。组织活检法是细菌检测的“金标准”,由于获取标本的有创性,患者不容易接受,该法尚未广泛应用于糖尿病足创面的细菌定量检测上。

滤纸片法检测细菌仅吸取创面渗出液,不对创面造成新的损伤。目前滤纸片法在糖尿病足创面的细菌定量检测上尚鲜见报道,笔者以组织活检法为标准,评价滤纸片法检测糖尿病足创面细菌的准确性,拟为临床提供无创便捷的创面细菌检测手段。

## 1 对象与方法

### 1.1 入选标准

纳入标准:(1)2 型糖尿病,参考 2011 年美国糖尿病协会糖尿病诊断标准<sup>[5]</sup>进行诊断。(2)糖尿病足溃疡创面根据德州大学糖尿病溃疡分级系统<sup>[6]</sup>分级为 1~3 级的 A 或 B 期。(3)溃疡处有足够的血供,踝肱指数大于 0.7。排除标准:目前接受放射治疗或化学治疗,疑似恶性溃疡,合并自身免疫性结缔组织病。

### 1.2 临床资料

选择 2014 年 7 月—2015 年 7 月在华中科技大学同济医学院附属梨园医院住院治疗且符合入选标准的糖尿病足溃疡患者 18 例,每例患者选取 1 处创面,先后采用滤纸片法和组织活检法进行创面细菌检测。本试验研究方案通过华中科技大学同济医学院附属梨园医院伦理委员会批准(批准文号:LYEC20140510),且患者均签署知情同意书。患者中男 14 例、女 4 例,年龄 38~83(63±13)岁,糖尿病病程 2~27(11±7)年,创面病程为 10 d~2 年[(119±176) d],创面面积(13.9±14.0)cm<sup>2</sup>,踝肱指数 0.93±0.17,糖化 Hb(9.2±2.2)%,空腹血糖(11±6)mmol/L,白细胞计数(8.0±2.9)×10<sup>9</sup>/L,血小板计数(262±83)×10<sup>9</sup>/L,红细胞沉降率(62±30)mm/h,C 反应蛋白(38±48)mg/L,血肌酐(83±42)μmol/L,尿素氮(5.9±2.3)mmol/L,ALT(21±10)U/L,AST(17.0±10.4)U/L。

### 1.3 细菌检测方法

**1.3.1 滤纸片法** 取 1 张面积为 1 cm<sup>2</sup> 灭菌干滤纸片(英国 Whatman 公司)和 1 支灭菌离心管(美国 Axygen Biosciences 公司),称取二者总质量为 W1。用无菌生理盐水清洗创面表面 3 次后用无菌棉球拭干,将干滤纸片贴于创面 3 min。待纸片吸附饱和和后置于灭菌离心管中,称取二者总质量为 W2,创面渗出液质量 = W2 - W1。随后加入 1 mL 无菌生理盐水,反复吹打混匀,从中吸取 100 μL 液体,加入含有 900 μL 无菌生理盐水的离心管中,反复吹打混匀,倍比稀释,稀释浓度梯度为 10<sup>-1</sup>~10<sup>-6</sup>数量级递减。从各稀释倍数离心管中取 3 份 100 μL 液体,接种至血琼脂培养基(南京便诊生物科技有限公司)中,置于 37 °C 恒温培养箱(澳大利亚 Lead-Tech 公司)中培养 48 h。计数血琼脂培养基上的菌落,细菌数 = 菌落数 × 稀释倍数 ÷ 创面渗出液质量。

细菌定性鉴定的方法采用仪器自动鉴定及人工操作鉴定相结合的方式,仪器自动鉴定采用法国生物梅里埃公司生产的 VITEK-AMS 型细菌自动鉴定仪,人工操作鉴定则参照《全国临床检验操作规程》(第 2 版)。

**1.3.2 组织活检法** 滤纸片法创面渗出液取材后,经创周注射 20 g/L 利多卡因注射液局部浸润麻醉。取创基组织,置于无菌痰杯(泰州市建军医疗用品厂,空杯质量为 W3)中,称取二者总质量为 W4,组织质量 = W4 - W3。随后加入 1 mL 无菌生理盐水,共同置于研钵中研磨,稀释及培养细菌的操作步骤同 1.3.1,细菌数 = 菌落数 × 稀释倍数 ÷ 组织质量。细菌定性鉴定方法同 1.3.1。

### 1.4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。(1)计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,对不同德州大学糖尿病溃疡分级创面对应患者的一般情况比较进行单因素方差分析。(2)对 2 种方法检测结果关联性、差异性、一致性的比较均采用 Fisher 确切概率法检验(软件自动略去该统计量值)。一致性检验中,计算内部一致性系数 Kappa 值。Kappa 值的取值范围为 0~1.00。Kappa ≥ 0.75 示两者一致性较好,Kappa 大于或等于 0.40 且小于 0.75 示两者一致性一般,Kappa < 0.40 示两者一致性较差。(3)计算滤纸片法检测细菌的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确度等诊断性试验评价指标,并根据 18 例患者滤纸片法

检测细菌的特异度和敏感度,绘制受试者工作特征(ROC)曲线,评价滤纸片法的检测效果。(4)针对经组织活检法检出细菌的患者,对组织活检法检出细菌数与滤纸片法检出细菌数进行 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同德州大学糖尿病溃疡分级创面对应患者一般情况

德州大学糖尿病溃疡分级 1、2、3 级创面对应患者间年龄、糖尿病病程、创面病程、创面面积、踝肱指数、糖化 Hb、空腹血糖、血小板计数、红细胞沉降率、C 反应蛋白、AST、血肌酐、尿素氮差异无统计学意义 ( $P$  值均大于 0.05),白细胞计数、ALT 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。见表 1。

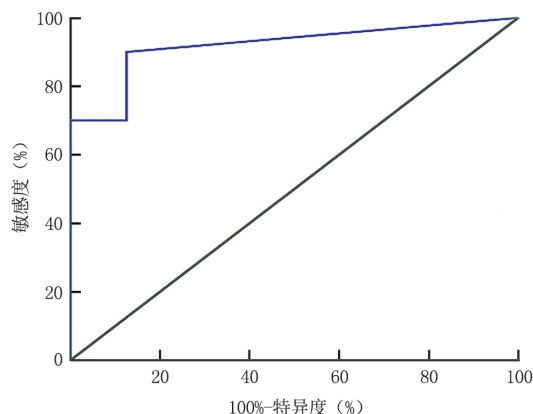
### 2.2 2 种方法检测结果总体关联性、差异性、一致性

组织活检法检测结果显示患者中有 6 例未检测出细菌;12 例检测出细菌,其中 10 例细菌数大于  $1 \times 10^5$  个/g,2 例细菌数未达到  $1 \times 10^5$  个/g。滤纸片法检测结果显示患者中有 8 例未检测出细菌;10 例检测出细菌,其中 7 例细菌数大于  $1 \times 10^5$  个/g,3 例细菌数未达到  $1 \times 10^5$  个/g。

滤纸片法与组织活检法检测细菌同时阳性患者有 7 例,同时阴性患者有 8 例,滤纸片法阴性而组织活检法阳性患者有 3 例,组织活检法阴性的病例中未出现滤纸片法阳性。2 种方法检测结果存在方向性关联 ( $P = 0.004$ ),即组织活检法结果阳性,滤纸片法结果也有可能是阳性;2 种方法检测结果的不存在明显差异 ( $P = 0.250$ );2 种方法检测结果的一致性一般 ( $Kappa = 0.68, P = 0.002$ )。

### 2.3 滤纸片法检测细菌的总体预测效果

滤纸片法检测细菌的敏感度为 70%、特异度为 100%、阳性预测值为 1.00、阴性预测值为 0.73、准确度为 83.3%。18 例患者滤纸片法检测细菌 ROC 曲线下总面积为 0.919(95% 置信区间为 0 ~ 1.000,  $P = 0.030$ )。见图 1。



注:蓝色曲线下区域为 ROC 曲线下总面积

图 1 18 例糖尿病足溃疡患者滤纸片法细菌检测受试者工作特征(ROC)曲线

### 2.4 2 种方法细菌检测种类一致性及预测效果

组织活检法共检出 13 株细菌,其中鲍氏不动杆菌 5 株,金黄色葡萄球菌 5 株,铜绿假单胞菌、牛链球菌及鸟肠球菌各 1 株。滤纸片法共检出 11 株细菌,其中鲍氏不动杆菌 5 株,金黄色葡萄球菌 3 株,铜绿假单胞菌、牛链球菌及鸟肠球菌各 1 株。除金黄色葡萄球菌外,滤纸片法检测鲍氏不动杆菌、铜绿假单胞菌、牛链球菌及鸟肠球菌的敏感度、特异度均为 100%。滤纸片法与组织活检法检测鲍氏不动杆菌的一致性较好 ( $P < 0.01$ ),检测金黄色葡萄球菌的一致性一般 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 1 不同德州大学糖尿病溃疡分级创面对应糖尿病足溃疡患者一般情况比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

德州大学糖尿病 溃疡分级	例数	年龄 (岁)	糖尿病病程 (年)	创面病程 (d)	创面面积 (cm <sup>2</sup> )	踝肱指数	糖化 Hb (%)	空腹血糖 (mmol/L)	白细胞计数 ( $\times 10^9/L$ )
1 级	6	67 ± 11	10 ± 4	212 ± 258	4.5 ± 1.7	0.88 ± 0.19	8.6 ± 2.0	11 ± 6	6.2 ± 1.8
2 级	5	62 ± 18	14 ± 10	66 ± 66	17.8 ± 16.2	0.99 ± 0.19	9.5 ± 0.9	10 ± 4	7.1 ± 1.7
3 级	7	61 ± 13	10 ± 7	78 ± 127	19.0 ± 15.8	0.93 ± 0.16	9.5 ± 3.1	11 ± 8	10.1 ± 3.2
F 值		0.421	0.582	1.296	2.306	0.573	0.348	0.029	4.688
P 值		0.664	0.571	0.303	0.134	0.576	0.712	0.972	0.026

德州大学糖尿病 溃疡分级	例数	血小板计数 ( $\times 10^9/L$ )	红细胞沉降率 (mm/h)	C 反应蛋白 (mg/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	血肌酐 ( $\mu\text{mol/L}$ )	尿素氮 (mmol/L)
1 级	6	222 ± 83	48 ± 22	26 ± 21	21 ± 6	14.0 ± 4.3	72 ± 20	6.5 ± 2.9
2 级	5	279 ± 81	58 ± 35	19 ± 19	30 ± 12	25.6 ± 17.3	75 ± 33	5.7 ± 2.5
3 级	7	284 ± 83	75 ± 32	60 ± 70	13 ± 5	13.5 ± 1.9	98 ± 58	5.6 ± 1.7
F 值		1.042	1.329	1.374	6.833	2.916	0.762	0.234
P 值		0.377	0.294	0.283	0.008	0.085	0.484	0.794

表 2 18 例糖尿病足溃疡患者组织活检法和滤纸片法细菌检测结果比较

细菌种类	组织活检法与 滤纸片法同时 阳性(株)	组织活检法阳性 滤纸片法 阴性(株)	组织活检法与 滤纸片法同时 阴性(株)	组织活检法阴性 滤纸片法 阳性(株)	敏感度 (%)	特异度 (%)	Kappa 值	P 值
鲍氏不动杆菌	5	0	13	0	100	100	1.00	<0.001
金黄色葡萄球菌	3	2	13	0	60	100	0.68	0.012
铜绿假单胞菌	1	0	17	0	100	100	1.00	0.056
牛链球菌	1	0	17	0	100	100	1.00	0.056
鸟肠球菌	1	0	17	0	100	100	1.00	0.056

## 2.5 细菌定量的相关性

组织活检法检测阳性的 12 例患者创面细菌数为  $(32.6 \pm 71.7) \times 10^5$  个/g, 其中德州大学糖尿病溃疡分级 1、2、3 级创面对应患者数均为 4 例, 细菌数分别为  $(30.0 \pm 48.1) \times 10^5$ 、 $(62.7 \pm 119.4) \times 10^5$ 、 $(5.0 \pm 6.4) \times 10^5$  个/g。滤纸片法检测该 12 例患者创面细菌数为  $(392.3 \pm 1030.4) \times 10^5$  个/g, 其中德州大学糖尿病溃疡分级 1、2、3 级创面细菌数分别为  $(872.4 \pm 1738.4) \times 10^5$ 、 $(2.1 \pm 3.8) \times 10^5$ 、 $(302.4 \pm 591.8) \times 10^5$  个/g。滤纸片法与组织活检法检出创面细菌数总体无明显相关 ( $r = 0.257$ ,  $P = 0.419$ ), 其中 2 种方法检出德州大学糖尿病溃疡分级 1 级和 2 级创面细菌数显著相关 ( $r$  值均为 0.999,  $P$  值均为 0.001), 检出德州大学糖尿病溃疡分级 3 级创面细菌数则无明显相关 ( $r = -0.053$ ,  $P = 0.947$ )。

## 3 讨论

组织活检法检测中, 细菌数大于  $1 \times 10^5$  个/g 能准确判断糖尿病足创面的感染, 对是否使用抗生素具有决定作用。但是, 许多糖尿病足溃疡患者难以接受这种有创性检查, 临床开展有一定局限性。无菌棉拭子法操作方便且为无创性检查, 已在临床上广泛应用, 但其准确性欠佳。Mutluoglu 等<sup>[7]</sup> 研究显示, 德州大学糖尿病溃疡分级 2、3 级创面对应的糖尿病足溃疡患者无菌棉拭子法与组织活检法细菌检测结果不一致。但邓晓龙等<sup>[8]</sup> 认为无菌棉拭子擦拭取样与深部组织活检取样的糖尿病足感染细菌检测结果有较好的一致性。另有学者认为无菌棉拭子法能够对细菌进行准确定性检测, 但不能进行定量检测, 不能判断糖尿病足创面是否存在感染<sup>[9-10]</sup>。滤纸片法取材与无菌棉拭子法取材原理相近, 也为无创性检查。Xu 等<sup>[11]</sup> 研究细菌负荷与糖尿病足创面愈合率的相关性时, 采用的是  $1 \text{ cm}^2$  的滤纸片吸取创面渗出液进行细菌培养, 认为细菌含量大于  $1 \times$

$10^5$  个/mL 考虑有感染。一般 1 g 纯水与 1 mL 纯水等同, 但是创面渗出液中含有大量蛋白、电解质、坏死组织等, 1 g 创面渗出液与 1 mL 创面渗出液不同。尽管如此, 本研究为了寻找一种细菌定量的检测方法, 并且考虑到滤纸片本身有一定质量, 还是以细菌数大于  $1 \times 10^5$  个/g 判断渗液有感染, 探讨滤纸片法用于细菌定性定量检测, 是否能准确测定创面细菌数。

德州大学糖尿病溃疡分级越高, 说明组织的损伤程度越重。本研究结果显示德州大学糖尿病溃疡分级越高, 创面对应患者白细胞计数也越高, 符合糖尿病足溃疡感染的病理机制。但是, ALT 和 AST 以德州大学糖尿病溃疡分级 2 级创面对应的患者最高, 原因不明, 有待进一步研究。

传统感染的诊断基于典型的症状和体征: 红斑(发红)、水肿、疼痛、皮温高、脓性引流液和恶臭。但是 Gardner 等<sup>[12]</sup> 认为在慢性创面中, 感染的典型症状和体征与这些现象通常不相符, 应根据细菌定量检测结果诊断是否存在局部感染。本研究中对于创面的处理仅采用最简单的清创方式, 用无菌生理盐水清洗创面表面 3 次后用无菌棉球拭干, 从而保持样本的一致性。本研究中滤纸片法与组织活检法取材均来自同一患者的相同创面, 结果显示 2 种方法检测结果差异无统计学意义 ( $P = 0.250$ ), 而且 2 种方法一致性尚可。此外, 2 种方法存在方向性关联, 即组织活检法阳性, 滤纸片法也极可能是阳性。滤纸片法检测糖尿病足创面细菌的准确度为 83.3%、敏感度为 70%、特异度为 100%、阳性预测值为 1.00、阴性预测值为 0.73, 说明滤纸片法能够有效检测出创面细菌, 敏感度尚可, 特异度极佳, 能够在检测时有效避免误诊。可以认为在诊断感染方面, 滤纸片法与组织活检法效果一致。本研究还显示, 滤纸片法检测细菌的 ROC 曲线下总面积为 0.919 ( $P < 0.05$ ), 说明滤纸片法检测创面细菌感染具有较高准确性。

在本次 18 份试验标本中,组织活检法共检测出 13 株细菌,其中鲍氏不动杆菌 5 株、金黄色葡萄球菌 5 株,与其他研究糖尿病足创面细菌检测结果<sup>[13]</sup>有一定差异,可能是由组织活检法取材部位较深所致。滤纸片法检测鲍氏不动杆菌、铜绿假单胞菌、牛链球菌及鸟肠球菌的敏感度、特异度均为 100%,该方法检测金黄色葡萄球菌的敏感度为 60%、特异度为 100%,虽然一致性检测结果提示 2 种检测方法对铜绿假单胞菌、牛链球菌及鸟肠球菌的一致性系数均为 1.00,  $P$  值均为 0.056,但与 0.05 相近。可以认为前述 2 种方法对于这些细菌的检出情况基本一致,说明用滤纸片法对糖尿病创面进行细菌定性,准确性良好。当然,这部分结果还有待大样本的研究结果进一步确认。

细菌生物膜是细菌附着于创面床,与自身分泌的 ECM 成分相互融合形成的一种膜状组织<sup>[14]</sup>。研究显示,在有细菌生物膜的感染病例中,阴性检测结果常与明显的感染症状和体征不符,造成这一现象的原因可能与样本取材不充分、培养时间不够或培养基中养分缺乏有关,也有可能糖尿病患者机体对炎症的反应降低有关<sup>[15]</sup>。本研究中,针对 12 例经组织活检法检测阳性的患者,对比分析显示,德州大学糖尿病溃疡分级 1 级和 2 级创面滤纸片法与组织活检法细菌定量有明显相关性,但 12 例患者创面 2 种方法的总体细菌定量相关性不强。可能是因为慢性创面表面细菌存在生物膜,导致滤纸片不能充分吸取创面深部组织中的细菌所致;也有可能组织活检法取深部组织,细菌生物膜可能对其影响较小,培养结果较为稳定有关。

本研究证实,滤纸片法可以简单便捷无痛地进行细菌定性,对诊断糖尿病足创面感染具有重要意义,有利于判断是否使用抗生素。但滤纸片法是否为准确的创面细菌定量检测方法,还缺乏充足证据支持,需进一步研究。

#### 参考文献

- [1] Xu Y, Wang L, He J, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults[J]. JAMA, 2013, 310(9):948-959. DOI: 10.1001/jama.2013.168118.
- [2] Nelson EA, Backhouse MR, Bhogal MS, et al. Concordance in diabetic foot ulcer infection[J]. BMJ Open, 2013, 3(1):e002370. DOI: 10.1136/bmjopen-2012-002370.
- [3] Brem H, Tomic-Canic M. Cellular and molecular basis of wound

healing in diabetes[J]. J Clin Invest, 2007, 117(5):1219-1222. DOI: 10.1172/JCI32169.

- [4] Löffler M, Zieker D, Weinreich J, et al. Wound fluid lactate concentration: a helpful marker for diagnosing soft-tissue infection in diabetic foot ulcers? Preliminary findings[J]. Diabet Med, 2011, 28(2):175-178. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2010.03123.x.
- [5] 洪珊珊,钱荣立. ADA: 糖尿病医学诊治标准—2011(概要)[J]. 中国糖尿病杂志, 2011, 19(2):85-93.
- [6] Oyibo SO, Jude EB, Tarawneh I, et al. A comparison of two diabetic foot ulcer classification systems: the Wagner and the University of Texas wound classification systems[J]. Diabetes Care, 2001, 24(1):84-88. DOI: 10.2337/diacare.24.1.84.
- [7] Mutluoglu M, Uzun G, Turhan V, et al. How reliable are cultures of specimens from superficial swabs compared with those of deep tissue in patients with diabetic foot ulcers? [J]. J Diabetes Complications, 2012, 26(3):225-229. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2012.03.015.
- [8] 邓晓龙,肖立虎,陈大伟,等. 糖尿病足溃疡伴感染无菌棉拭子擦拭取样及深部组织活检取样细菌培养的一致性研究[J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 6(7):504-508. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2014.07.006.
- [9] Demetriou M, Papanas N, Panopoulou M, et al. Tissue and swab culture in diabetic foot infections; neuropathic versus neuroischemic ulcers[J]. Int J Low Extrem Wounds, 2013, 12(2):87-93. DOI:10.1177/1534734613481975.
- [10] Gjødsbøl K, Skindersoe ME, Christensen JJ, et al. No need for biopsies: comparison of three sample techniques for wound microbiota determination[J]. Int Wound J, 2012, 9(3):295-302. DOI: 10.1111/j.1742-481X.2011.00883.x.
- [11] Xu L, McLennan SV, Lo L, et al. Bacterial load predicts healing rate in neuropathic diabetic foot ulcers[J]. Diabetes Care, 2007, 30(2):378-380. DOI:10.2337/dc06-1383.
- [12] Gardner SE, Frantz RA, Doebbeling BN. The validity of the clinical signs and symptoms used to identify localized chronic wound infection[J]. Wound Repair Regen, 2001, 9(3):178-186. DOI: 10.1046/j.1524-475x.2001.00178.x.
- [13] 高芳,王鹏华,褚月颖,等. 糖尿病足感染患者拭子和组织细菌培养的临床意义[J]. 临床荟萃, 2008, 23(20):1483-1484. DOI: 10.3969/j.issn.1004-583X.2008.20.016.
- [14] 付小兵. 细菌生物膜形成与慢性难愈合创面发生[J]. 创伤外科杂志, 2008, 10(5):416-417. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4237.2008.05.015.
- [15] Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections[J]. Cell Microbiol, 2009, 11(7):1034-1043. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2009.01323.x.

(收稿日期:2016-04-01)

(本文编辑:程林)

#### 本文引用格式

- 邹新华,祝友鹏,任国强,等. 采用滤纸片法检测细菌对诊断糖尿病足创面感染的意义[J]. 中华烧伤杂志, 2017, 33(2):83-88. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2017.02.005.
- Zou XH, Zhu YP, Ren GQ, et al. Significance of bacteria detection with filter paper method on diagnosis of diabetic foot wound infection[J]. Chin J Burns, 2017, 33(2):83-88. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2017.02.005.