

痰涂片显微镜检查与培养结果的相关性分析

李恩杰, 田立华

(泰山医学院附属聊城市第二人民医院, 山东 临清 252601)

[摘要] **目的** 分析痰涂片显微镜检查(镜检)与培养结果的相关性。**方法** 痰标本在进行细菌培养之前行涂片革兰染色、镜检;对培养出来的细菌进行革兰染色、镜检,对二者镜下染色的性质和形态进行比对;二者一致者作为病原菌进行下一步的鉴定和药敏试验。**结果** 786 份合格标本共检出病原菌 540 株,阳性率 68.70%,其中革兰阳性球菌 185 株,革兰阴性杆菌 316 株,真菌 39 株。痰涂片镜检与培养鉴定结果的符合率为 72.01%(566/786),其诊断敏感性为 77.78%,特异性为 59.35%,阳性预测值为 80.77%,阴性预测值为 54.89%。**结论** 痰涂片镜检结果与培养结果具有较高的符合率,痰涂片镜检可以提高痰标本病原菌的检出率。

[关键词] 痰;痰涂片;显微镜检查;革兰染色;细菌培养;病原菌

[中图分类号] R446.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2010)02-0125-03

Correlation between sputum smear examination and bacterial culture results

LI En-jie, TIAN Li-hua (The Second People's Hospital of Liaocheng, Taishan Medical College, Linqing 252601, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the correlation between sputum smear examination (microscopy) and bacterial culture results. **Methods** Sputum specimens were performed sputum smear and Gram's staining before bacterial culture, and sputum cultured bacteria were also performed sputum smear and Gram's staining, then observed under microscope. The staining characteristics and appearance of two groups were evaluated; then further identification and antimicrobial susceptibility tests were carried out. **Results** Five hundred and forty pathogens were isolated from 786 qualified samples, the positive rate was 68.70%, there were 185 strains of Gram-positive cocci, 316 strains of Gram-negative bacilli and 39 strains of fungi. The coincidence between the results of two groups was 72.01%(566/786). The sensitivity of sputum smear was 77.78%, specificity 59.35%, positive predictive value 80.77%, negative predictive value 54.89%. **Conclusion** There is a high coincidence rate between the results of sputum smear and bacterial culture, which can improve the detection rate of pathogenic bacteria.

[Key words] sputum; sputum smear; microscopic detection; Gram's staining; bacterial culture; pathogen

[Chin Infect Control, 2010, 9(2): 125-127]

痰标本的细菌学检查,对于协助下呼吸道感染的病原诊断,指导临床用药具有极其重要的参考价值。而痰的细菌学检查可分为涂片检查和细菌的培养鉴定。原始标本未染色湿片位相显微镜观察和染色标本涂片检查,不仅为诊断提供快速有价值的信息,对微生物检验全过程还能起到导向和领航作用^[1]。而在实际的工作中,我们往往只注重细菌的培养鉴定而忽视了涂片检查对细菌培养鉴定的指导作用。下面结合工作实际讨论痰涂片显微镜检查

(镜检)与培养鉴定结果的关系。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 本院 2008 年 1 月 1 日—2009 年 1 月 1 日间的门诊和住院患者所送检的 1 350 份痰标本。

1.2 标本收集 住院患者的痰标本采集:在护士的指导下,患者于清晨先用温开水漱口,清洗咽喉、口

[收稿日期] 2009-07-31

[作者简介] 李恩杰(1975-),男(汉族),山东省临清市人,主管技师,主要从事临床微生物学研究。

[通讯作者] 李恩杰 E-mail:407816893@qq.com

腔后,咳出痰液置于一次性无菌痰杯中送检。门诊患者的标本则由细菌室的专业人员指导咳痰至一次性无菌痰杯送检。

1.3 标本的筛选 目测为黄色、灰色、血性、铁锈色,浑浊、稠厚,呈现团块状的标本为初步合格标本,共 821 份。经目测筛选的标本须经过显微镜下再次筛选,凡脓细胞>25 个/LP 且复层鳞状上皮细胞<10 个/LP 的标本为合格标本;而脓细胞<10 个/LP 或复层鳞状上皮细胞>25 个/LP 的标本为不合格标本^[2],拒收。最终合格标本 786 份。

1.4 涂片制作 痰液黏稠,不使用接种器钩取,宜用两根无菌牙签选取少许(约 0.1 mL)脓痰,置两玻片之间,加压使标本展开,再移动玻片向相反方向分开,制成 2 片 2 cm×2 cm 的痰标本薄片,干燥,固定后行革兰染色。

1.5 涂片镜检 油镜下仔细观察视野中被中性粒细胞吞噬或与之呈高度相关的细菌的染色性质[革兰阳性(G⁺)或革兰阴性(G⁻)],细菌的形态(杆状、球状、螺形状等),并详细记录。

1.6 培养、分离与鉴定 对合格的痰标本,用无菌

生理盐水洗涤 2~3 次,转至另一个可密闭的无菌容器中加入 pH 7.6 的 1%胰酶溶液消化处理 90 min^[2-3]。用接种环无菌操作挑取痰液以四区划线方式作半定量培养,分别接种血平板、巧克力平板(5%~10%的 CO₂ 气体环境下)和麦康凯平板,置于 35℃~37℃ 培养箱内孵育 18~24 h;对真菌则选用沙氏培养基置 25℃ 培养。对培养分离出的菌落行涂片革兰染色,并与痰标本的革兰染色镜下情况进行比对,将与涂片镜下情况相符细菌作为目的病原菌进行鉴定和药敏试验,仪器为法国生物梅里埃的 VITEK-32 全自动鉴定药敏分析仪。对仪器鉴定不出的细菌或真菌辅以手工鉴定。

2 结果

2.1 菌株检出情况 所送检的 1 350 份痰标本中只有 786 份为合格标本,合格率 58.22%。786 份合格标本共检出病原菌 540 株(68.70%),其中 G⁺ 球菌 185 株,G⁻ 杆菌 316 株,真菌 39 株。详见表 1。

表 1 786 份合格痰标本菌株检出情况

Table 1 Isolation of bacteria from 786 qualified sputum samples

G ⁺ 球菌			G ⁻ 杆菌			真菌		
菌种	株数	构成比(%)	菌种	株数	构成比(%)	菌种	株数	构成比(%)
金黄色葡萄球菌	52	28.11	肺炎克雷伯菌	90	28.48	白假丝酵母菌	30	76.92
凝固酶阴性葡萄球菌	81	43.78	铜绿假单胞菌	87	27.53	烟曲霉菌	9	23.08
肺炎链球菌	30	16.22	大肠埃希菌	75	23.74			
肠球菌属	15	8.11	鲍曼不动杆菌	50	15.82			
化脓性链球菌	4	2.16	流感嗜血杆菌	11	3.48			
其他 G ⁺ 球菌	3	1.62	其他 G ⁻ 杆菌	3	0.95			
合计	185	100.00	合计	316	100.00	合计	39	100.00

2.2 痰涂片镜检和培养阳性情况 痰涂片的革兰染色镜检情况与培养情况的比对见表 2。对痰涂片镜检的阳性率和培养的阳性率进行统计分析,差异无显著性 ($\chi^2 = 1.82, P > 0.05$),说明涂片镜检结果与培养结果有较高的相关性;两者结果的符合率为 72.01%(566/786)。涂片革兰染色镜检诊断敏感性为 77.78%(420/540),特异性为 59.35%(146/246),阳性预测值为 80.77%(420/520),阴性预测值为 54.89%(146/266)。

表 2 786 份痰标本涂片革兰染色镜检与培养结果比较(份)
Table 2 Comparison between sputum smear Gram-staining and culturing results of 786 sputum samples (case)

显微镜检查	培养		合计
	阳性	阴性	
阳性	420	100	520
阴性	120	146	266
合计	540	246	786

镜检阳性表示查见疑似病原菌,阴性表示未查见疑似病原菌;培养阳性表示有病原菌生长,阴性表示无病原菌生长

3 讨论

正确留取标本对检验结果至关重要^[4]。本组 564 份不合格标本从性状观察均为唾液;从镜下看,

也显示白细胞 < 10 个/LP, 而鳞状上皮细胞 > 25 个/LP。为保证痰细菌培养结果的可靠性, 在作细菌培养前进行痰涂片十分必要^[5]。一方面, 痰涂片保证了痰标本的质量, 能提高痰培养的阳性率; 另一方面, 合格痰标本的细菌革兰染色涂片信息可预测培养结果。痰液由于通过口腔, 杂菌污染较多, 培养后从平板上区分杂菌和病原菌有一定困难。痰液革兰染色涂片检查除可判定标本是否合格外, 尚可导向主要病原菌的确定。在原始标本涂片中, 细菌(真菌)的形态更加典型, 镜下更容易辨认。当细菌(真菌)侵入人的机体后, 机体就会作出相应的免疫反应, 吞噬细胞(特别是中性粒细胞)就会在炎症因子的趋化作用下到达机体被感染的部位对细菌(真菌)进行吞噬杀伤作用。一些细菌(胞外菌)可以通过细胞壁外的特殊结构, 如肺炎链球菌的荚膜及分泌的其他物质(如链球菌的 M 蛋白), 某些金黄色葡萄球菌的凝固酶, 在胞外形成的纤维蛋白原外壳对吞噬细胞具有抗吞噬的作用, 一旦这些细菌被吞噬细胞吞噬后, 其抗吞噬的特殊结构就会发生相应改变, 如肺炎链球菌的荚膜就会变小或消失, 而一些严重肺部真菌感染患者的痰涂片中的中性粒细胞伴随核固缩现象。这些形态的变化为我们观察判断病原菌提供了佐证。选择标本中脓细胞大量聚集之地, 观察多个视野, 其中出现与脓细胞相对应的菌种, 或已被脓细胞吞噬的细菌, 极可能是主要病原菌, 细菌种类常只有 1~2 种, 如有多种形态的各类细菌, 常为杂菌。据此线索观察、分离平板相应菌落并行革兰染色作染色形态的比对, 一致者代表病原菌。然后再进行鉴定和药敏试验, 这样鉴定出来的细菌才是病原菌, 做出来的药敏试验结果才正确, 临床治疗才有效。

国外文献报道^[6], 合格痰标本涂片结果与细菌培养结果符合率达 80.20%; 本资料中二者符合率达 72.01%, 与上述报道基本相符。涂片镜检阳性而培养阴性标本 100 份(12.72%), 这种情况不能排

除感染的可能性。可能存在以下原因: 在培养前, 临床医生可能使用了抗菌药物, 抑制了细菌的生长; 培养条件的限制使一些细菌无法培养出来, 如 L 型菌、军团菌等; 标本留取时间过长, 送检时细菌已经死亡。痰涂片与培养均阴性标本 146 份(18.58%), 要考虑肺炎支原体、肺炎衣原体引起非典型肺炎的可能性; 涂片镜检阴性而培养阳性标本 120 份(15.27%), 这种情况一要考虑检验人员的业务水平问题(痰涂片制作、染色技术和镜下的认知能力), 二要考虑标本接种过程中的污染。

通过比较分析, 标本培养前的涂片镜检与培养鉴定结果具有很大的相关性。据此可以向临床提供一级报告, 提前提供感染信息, 对指导预防用药具有积极意义; 同时可以排除不合格标本, 提高病原菌的检出率和符合率, 选择正确的抗菌药物, 避免抗菌药物滥用而造成的泛耐药菌株的产生; 为检验结果的准确性和及时性提供有效帮助, 从而对提高患者治疗的有效率, 缩短住院时间, 节约医疗经费具有非常重大的意义。

[参 考 文 献]

- [1] 过祥豹. 原始标本涂片检查对微生物检验全过程的导航作用[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(S1): 25-28.
- [2] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜, 等. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 736-753.
- [3] 杨进, 卢先雷, 罗宇鹏. 痰液细菌学检验的标准化操作程序初探[J]. 医学检验与临床, 2008, 19(2): 7-12.
- [4] 郭基平, 袁晖蓉, 陈幼红, 等. 标本涂片革兰染色在临床微生物检验中的作用[J]. 中国医药导报, 2006, 32(3): 155.
- [5] 张秀珍. 临床细菌室要充分发挥细菌涂片的作用[J]. 中国感染与化疗杂志, 2007, 7(2): 145-147.
- [6] Pagano L, Girmenia C, Melel L, *et al.* Infections caused by filamentous fungi in patients with hematologic malignancies. A report of 391 cases by GEMMA Infection Program[J]. Haematologica, 2001, 86(8): 862-870.

(上接第 129 页)

当、给药时机不佳、用药时间过长及盲目联合用药。这将导致药品费用和细菌耐药株的增加。制定医院围手术期预防性抗菌药物使用规范, 将合理应用抗菌药物作为医疗质量考评内容, 才能促使围手术期预防用药的合理、规范。

[参 考 文 献]

- [1] 葛绳德. 抗生素合理应用问题点滴[J]. 药学服务与研究, 2007, 7(5): 321-324.
- [2] 抗菌药物临床应用指导原则编写专家组. 抗菌药物临床应用指导原则[S]. 北京: 科学普及出版社, 2004: 13-32.
- [3] Classen D C, Evans R S, Pestotnik S L, *et al.* The timing of prophylactic administration of antibiotics and the risk of surgical-wound infection[J]. N Engl J Med, 1992, 326(5): 281-286.