

DOI:10.3969/j.issn.1671-9638.2015.09.010

· 论 著 ·

儿童下呼吸道感染痰涂片与痰培养结果一致性研究

张 艳¹, 王红梅¹, 蒋元琴², 陈虹宇¹, 赵瑞珍¹, 马东礼¹

(1 深圳市儿童医院, 广东 深圳 518026; 2 重庆医科大学医学检验系, 重庆 400016)

[摘要] **目的** 比较儿童下呼吸道感染痰涂片与痰培养结果, 了解痰涂片的实验室诊断价值, 同时对痰培养感染病原菌的分布及耐药性进行分析, 以指导临床合理用药。**方法** 收集 2014 年 3—5 月某院 915 份下呼吸道感染住院患儿的合格痰标本, 涂片后进行革兰染色, 同时对痰标本进行细菌培养、鉴定及药敏试验, 将革兰染色镜检结果与培养结果进行比较。**结果** 痰涂片与痰培养结果总体符合率为 67.43% (617 份), 痰培养阳性率为 65.90% (603 份); 分离病原菌 730 株, 其中居前 3 位者分别是副流感嗜血杆菌 (36.17%)、肺炎链球菌 (24.38%)、卡他莫拉菌 (13.29%)。产 β -内酰胺酶率: 副流感嗜血杆菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌分别为 44.70% (118/264)、45.83% (11/24)、93.81% (91/97)。肺炎链球菌对大多数抗菌药物较敏感, 对红霉素、四环素、复方磺胺甲噁唑耐药率高, 未发现对万古霉素、利奈唑胺、莫西沙星耐药的菌株。**结论** 痰涂片具有一定的实验室诊断价值, 痰培养同时应做涂片革兰染色, 临床医生可根据常见病原菌的药敏结果合理用药, 减少耐药菌的产生。

[关键词] 痰涂片; 痰培养; 儿童; 病原菌; 抗药性; 微生物

[中图分类号] R446.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2015)09-0614-05

Coincidence of sputum smear and culture results of children with lower respiratory tract infection

ZHANG Yan¹, WANG Hong-mei¹, JIANG Yuan-qin², CHEN Hong-yu¹, ZHAO Rui-zhen¹, MA Dong-li¹ (1 Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen 518026, China; 2 Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[Abstract] **Objective** To compare sputum smear and culture results in children with lower respiratory infection, realize the laboratory diagnostic value of sputum smear, and analyze the distribution and antimicrobial resistance of cultured pathogens in infection, so as to guide rational antimicrobial use in clinic. **Methods** Qualified sputum specimens collected from hospitalized children with lower respiratory tract infection from March to May 2014 were conducted gram-staining after smeared, meanwhile, bacterial culture, identification and antimicrobial susceptibility testing of sputum specimens were performed, gram-staining microscopic examination and culture results were compared. **Results** The overall coincidence rate of sputum smear and culture results was 67.43% ($n = 617$), positive rate of sputum culture was 65.90% ($n = 603$); 730 pathogenic strains were isolated, the top 3 isolated pathogens were *Haemophilus parainfluenzae* (36.17%), *Streptococcus pneumoniae* (24.38%), and *Moraxella catarrhalis* (13.29%). β -lactamase-producing rates of *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* were 44.70% (118/264), 45.83% (11/24), and 93.81% (91/97) respectively. *Streptococcus pneumoniae* were susceptible to most antimicrobial agents, while resistant rates to erythromycin, tetracycline, and compound sulfamethoxazole were high, vancomycin-, linezolid-, and/or moxifloxacin-resistant strains were not found. **Conclusion** Sputum smear has certain laboratory diagnostic value, gram-staining is recommended while sputum culture is performed, antimicrobial agents should be used rationally according to antimicrobial susceptibility testing results, so as to reduce the emergence of antimicrobial-resistant organisms.

[收稿日期] 2014-12-18

[作者简介] 张艳(1985-), 女(汉族), 甘肃省张掖市人, 主管技师, 主要从事微生物检验研究。

[通信作者] 马东礼 E-mail: mad1234@126.com

[Key words] sputum smear; sputum culture; child; pathogen; drug resistance, microbial

[Chin Infect Control, 2015, 14(9): 614-618]

呼吸系统疾病是儿童的常见多发病,由于儿童呼吸系统尚未发育完善,免疫力较低,容易受到外界病原菌的感染,而且病情反复易危及生命。痰培养是临床常用的诊断方法之一,但较为费时,而痰涂片检查是一种简单、快速的检查方法。本研究通过对我院 915 份患儿痰标本涂片和培养结果进行分析,旨在评估痰涂片在下呼吸道感染中的诊断价值,并对病原菌分布及耐药性进行分析,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 915 份痰标本来自 2014 年 3—5 月下呼吸道感染住院患儿(同一患儿标本不重复计入),其中男性 584 例,女性 331 例,年龄 2 h~13 岁,平均年龄(1.67±1.97)岁。痰标本均在患儿入院后未使用抗菌药物前采集,采集方法为使用无菌吸痰管自鼻腔或口腔插入下呼吸道,利用负压吸引器经吸痰管吸取。

1.2 材料与仪器 血平板及麦康凯平板由郑州安图生物工程股份有限公司提供,嗜血巧克力平板由广州迪景微生物科技有限公司提供,PREVI Color Gram12 自动革兰染色仪、VITEK 2 Compac 全自动细菌鉴定仪及药敏分析系统、β-内酰胺酶快速检测试剂均购自法国生物梅里埃公司。质控菌株:金黄色葡萄球菌 ATCC 29213,铜绿假单胞菌 ATCC 27853,大肠埃希菌 ATCC 25922,流感嗜血杆菌 ATCC 9006,肺炎链球菌 ATCC 49619,均购自卫生部临床检验中心。

1.3 培养鉴定及药敏 实验室收到标本后,无菌操作挑取痰中脓性部分涂成均匀薄片,待干燥后使用 PREVI Color Gram12 自动革兰染色仪进行革兰染

色,同时将痰标本立即接种于血平板、麦康凯平板及含万古霉素的嗜血巧克力平板,接种后的血平板和嗜血巧克力平板置于 35℃ 的 CO₂ 孵育箱中,麦康凯平板置于 35℃ 孵育箱中,培养 18~24 h 后观察结果,对纯培养和优势病原菌进行鉴定和药物敏感性检测,对嗜血杆菌和卡他莫拉菌仅进行 β-内酰胺酶检测。

1.4 痰标本质量判断标准 经革兰染色后镜检,确定标本的质量。参考《全国临床检验操作规程》第 3 版^[1],并结合实际工作情况,将痰涂片分为 3 类。第 1 类:白细胞>25 个/低倍视野,鳞状上皮细胞<10 个/低倍视野,视为合格标本;第 2 类:白细胞>10 个/低倍视野,鳞状上皮细胞<25 个/低倍视野,可见数量不等的纤毛柱状上皮细胞或者细菌种类≤3,此类为可接受标本;第 3 类:白细胞<10 个/低倍视野,鳞状上皮细胞>25 个/低倍视野,此类为不合格标本,不纳入研究范围。

1.5 痰涂片与痰培养是否相符的判断方法 参考《实用临床微生物学检验与图谱》^[2],经革兰染色后,根据被炎性包裹物包裹及脓细胞吞噬的细菌形态特征为依据,将涂片与培养是否相符分为 4 类,其中第 1、第 2、第 3 类均被认为相符,第 4 类被认为不相符。见表 1,图 1~4。

1.6 统计分析 应用 WHONET 5.6 对数据进行统计分析。

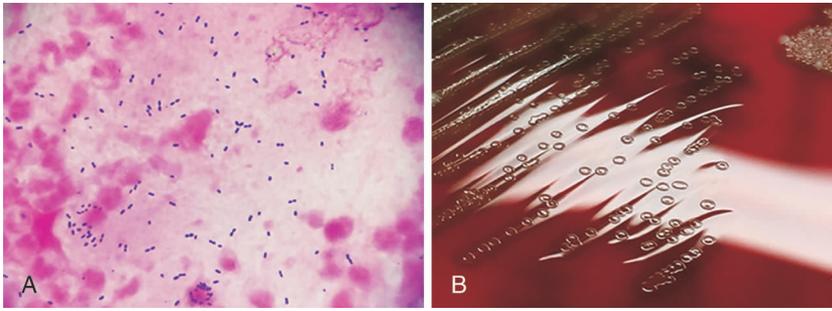
2 结果

2.1 痰涂片与痰培养结果符合性 痰涂片与培养结果符合率为 67.43%(617/915),具体结果见表 2。

表 1 痰涂片与痰培养是否相符的判断方法

Table 1 Methods for judging the coincidence of sputum smear and culture

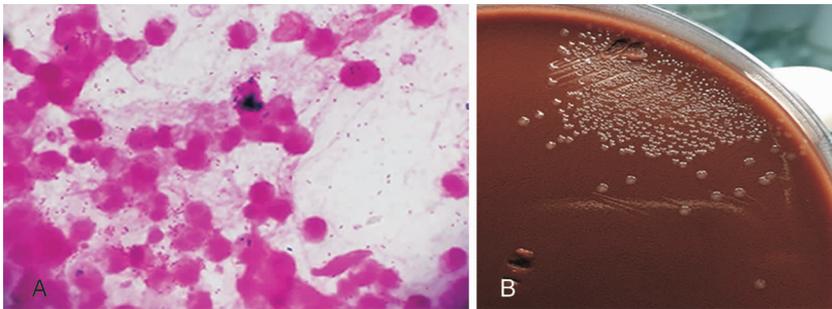
分类	判断依据	相符性
第 1 类	涂片见 A 菌,可见被包裹或吞噬,培养为 A 菌。 涂片未见菌或见 A 菌但未被包裹或吞噬,培养为无菌生长或正常菌群。	完全相符
第 2 类	涂片见 A、B 菌,均可见被包裹或吞噬,只培养出其中 1 种菌(A 或 B)。 涂片见 A、B 菌,均可见被包裹或吞噬,培养出其中 1 种菌和涂片中未见的另 1 种菌(A 或 B+C 或 A+C)。	半相符
第 3 类	涂片见 A 菌,可见被包裹或吞噬,培养出 2 种或 3 种菌(A+B 或 A+C 或 A+B+C)。	半相符
第 4 类	涂片见 A 菌,可见被包裹或吞噬,培养为 B 菌或正常菌群。 涂片未见菌或见 A 菌但未被包裹或吞噬,培养出某种病原菌(A 或 B 或 C)。	完全不相符



A: 革兰染色结果为胞内肺炎链球菌; B 血平板上培养出肺炎链球菌

图 1 痰涂片和痰培养完全相符(第 1 类)

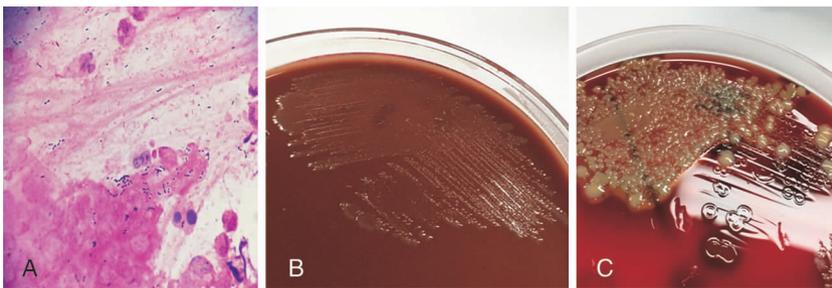
Figure 1 Sputum smear and culture were completely consistent (category 1)



A: 革兰染色结果为胞内嗜血杆菌和少量阳性球菌; B 巧克力平板上培养出嗜血杆菌

图 2 痰涂片和痰培养半相符(第 2 类)

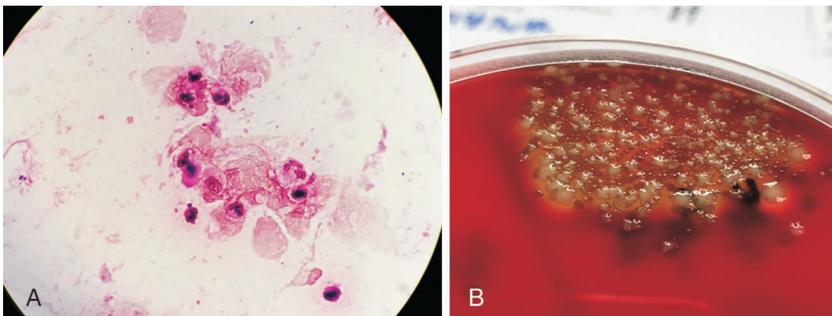
Figure 2 Sputum smear and culture were semi-consistent(category 2)



A: 革兰染色结果为胞内嗜血杆菌和肺炎链球菌; B 巧克力平板上培养出嗜血杆菌; C: 血平板上培养出肺炎链球菌和金黄色葡萄球菌

图 3 痰涂片和痰培养半相符(第 3 类)

Figure 3 Sputum smear and culture were semi-consistent(category 3)



A: 革兰染色结果为胞外少量阳性球菌; B 血平板上培养出金黄色葡萄球菌

图 4 痰涂片和痰培养完全不相符(第 4 类)

Figure 4 Sputum smear and culture were completely inconsistent (category 4)

表 2 痰涂片与痰培养结果符合情况

Table 2 Coincidence of sputum smear and culture results (%)

分类	例数	构成比(%)
第 1 类(完全相符)	422	46.12
第 2 类(半相符)	144	15.74
第 3 类(半相符)	51	5.57
第 4 类(完全不相符)	298	32.57

2.2 病原菌分布及药敏结果 痰培养标本阳性率为 65.90%(603/915),共分离 730 株病原菌,按不

同年龄组统计病原菌分布见表 3。288 株嗜血杆菌属中,副流感嗜血杆菌占 91.67%(264 株),流感嗜血杆菌占 8.33%(24 株)。产 β -内酰胺酶率:副流感嗜血杆菌、流感嗜血杆菌、卡他莫拉菌分别为 44.70%(118/264)、45.83%(11/24)、93.81%(91/97)。共分离肺炎链球菌 178 株,其对大多数抗菌药物较敏感,对红霉素、四环素、复方磺胺甲噁唑耐药率高,具体药敏结果见表 4。

表 3 各年龄组病原菌分布(株数,%)

Table 3 Distribution of pathogens from children of different age groups (No. of isolates,%)

病原菌	<1 岁	1~3 岁	4~6 岁	≥7 岁	合计
副流感嗜血杆菌	149(35.48)	96(39.51)	18(30.51)	1(12.50)	264(36.17)
肺炎链球菌	94(22.38)	67(27.57)	16(27.12)	1(12.50)	178(24.38)
卡他莫拉菌	40(9.52)	44(18.11)	12(20.34)	1(12.50)	97(13.29)
金黄色葡萄球菌	48(11.43)	10(4.11)	3(5.08)	1(12.50)	62(8.49)
肺炎克雷伯菌	25(5.95)	6(2.47)	1(1.70)	0(0.00)	32(4.38)
大肠埃希菌	25(5.95)	1(0.41)	1(1.70)	0(0.00)	27(3.70)
流感嗜血杆菌	13(3.10)	11(4.53)	0(0.00)	0(0.00)	24(3.29)
鲍曼不动杆菌	9(2.14)	0(0.00)	3(5.08)	1(12.50)	13(1.78)
其他病原菌	17(4.05)	8(3.29)	5(8.47)	3(37.50)	33(4.52)
合计	420(57.53)	243(33.29)	59(8.08)	8(1.10)	730(100.00)

表 4 肺炎链球菌对 15 种抗菌药物的药敏结果(%,株数)

Table 4 Antimicrobial susceptibility results of *Streptococcus pneumoniae* to 15 kinds of antimicrobial agents (% , No. of isolates)

抗菌药物	敏感率	中介率	耐药率
青霉素	54.49(97)	-	-
阿莫西林	67.42(120)	10.11(18)	22.47(40)
头孢曲松(非脑膜炎)	82.02(146)	3.93(7)	14.05(25)
头孢噻肟(非脑膜炎)	77.53(138)	8.99(16)	13.48(24)
厄他培南	99.44(177)	0.56(1)	0.00(0)
美罗培南	47.75(85)	46.07(82)	6.18(11)
万古霉素	100.00(178)	0.00(0)	0.00(0)
利奈唑胺	100.00(178)	0.00(0)	0.00(0)
四环素	10.68(19)	7.30(13)	82.02(146)
氯霉素	92.70(165)	0.00(0)	7.30(13)
红霉素	2.81(5)	0.56(1)	96.63(172)
氧氟沙星	98.32(175)	1.12(2)	0.56(1)
左氧氟沙星	99.44(177)	0.00(0)	0.56(1)
莫西沙星	100.00(178)	0.00(0)	0.00(0)
复方磺胺甲噁唑	19.66(35)	17.98(32)	62.36(111)

注:药敏结果根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)2012 年颁布的修订标准^[3],最低抑菌浓度(MIC)≤2 μg/mL 时应判为敏感,但因本室所用的肺炎链球菌 AST-GP68 药敏卡片对青霉素 MIC 最高只能做到<2 μg/mL,对 MIC≥2 μg/mL 的菌株均未给出判断标准,故肺炎链球菌对青霉素的中介率和耐药率无法统计。

3 讨论

对于儿童下呼吸道感染性疾病,痰培养和痰涂片病原学检查是临床常用的诊断方法之一,但培养较为耗时,而痰涂片检查快速简单。痰涂片的意义在于:(1)通过涂片能筛选出合格的标本,提高培养阳性率;(2)在痰涂片镜检中,对于一些具有特殊形态的细菌,如革兰阳性矛头状排列的肺炎链球菌、革兰阴性细小的嗜血杆菌、革兰阴性肾形成对排列的卡他莫拉菌和革兰阳性不规则排列的葡萄球菌,当这几类细菌单一或大量出现时,可直接描述形态报告疑似菌,同时结合细菌有无被炎性包裹物包裹及脓细胞吞噬情况,及时向临床反馈初步结果,指导临床医生提前经验用药,弥补培养时间较长的不足,缩短患儿的治疗时间。915 份痰标本涂片与培养结果进行比较,两者总体符合率为 67.43%,可见痰涂片对临床有一定的诊断价值,能作为一种简便、快速向临床提供病原学诊断的方法,因此,细菌室工作人员在痰培养接种之前应进行涂片。本研究中痰涂片与培养仍有 32.57%不符合,可能原因为(1)涂片阴性但培养阳性:与痰标本性状有关,当细菌被黏液包裹

和细胞吞噬时不易着色;革兰阴性菌染色与背景颜色接近,不易发现;一些具有荚膜的黏液型细菌如肺炎链球菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌等,荚膜抵抗白细胞的吞噬,且有时在痰涂片中形态会发生腊肠样等变化,不易识别。(2)涂片阳性但培养阴性:一些苛养菌如肺炎链球菌、嗜血杆菌等,如未及时接种容易死亡;一些生长较慢的致病菌容易被生长较快的优势正常菌掩盖;另外,在涂片中,当发现在常规培养条件下无法生长的细菌被细胞吞噬时也会造成两者结果不符,如百日咳鲍特菌、厌氧菌等。针对以上分析的原因,建议临床应在抽取痰标本后及时送检,实验室应及时接种培养,同时实验室也应定期组织相关的培训学习,提高检验人员的阅片水平,避免漏检。

将 730 株痰培养病原菌按不同年龄组进行统计,发现 <1 岁年龄组病原菌所占比率最高,占 57.53%,1~3 岁组占 33.29%,4~6 岁组占 8.08%,≥7 岁患儿仅占 1.10%,说明下呼吸道感染性疾病容易发生于 0~3 岁婴幼儿。痰培养病原菌分离居前 3 位的是副流感嗜血杆菌(36.17%,264 株)、肺炎链球菌(24.38%,178 株)和卡他莫拉菌(13.29%,97 株),均为苛养菌,是儿童社区获得性肺炎的主要致病菌,与文献报道^[4]一致。各年龄组病原菌分布也有所差异,0~1 岁组主要以副流感嗜血杆菌、肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌为主,卡他莫拉菌排第 4 位,仅次于金黄色葡萄球菌;而 1~3 岁和 4~6 岁组均以副流感嗜血杆菌、肺炎链球菌、卡他莫拉菌为主。嗜血杆菌属和卡他莫拉菌均能产生质粒介导的 β-内酰胺酶(青霉素酶和头孢菌素酶),这些酶的产物是导致 β-内酰胺类抗生素耐药的常见原因^[5]。288 株嗜血杆菌中,以副流感嗜血杆菌为主(占 91.67%),其次是流感嗜血杆菌(占 8.33%),其中产 β-内酰胺酶的嗜血杆菌占 44.79%(129 株),产酶率高于肖启国^[6]报道的 23.50%,低于何娟妃等^[7]报道的 55.80%,提示嗜血杆菌属细菌产 β-内酰胺酶比率较高,应引起高度重视。93.81%(91/97)的卡他莫拉菌产 β-内酰胺酶,与张玲等^[8]报道一致。

本组研究中,肺炎链球菌对青霉素敏感率为 54.49%,对红霉素耐药率已高达 96.63%,与袁红英等^[9]报道的 90.48%接近,提示红霉素已不适用于临床肺炎链球菌感染的治疗。肺炎链球菌对头孢曲松和头孢噻肟的敏感率分别为 82.02%和 77.53%,尚有较佳的抗菌活性,提示第三代头孢仍可用于临床肺炎链球菌感染(非脑膜炎)的经验性治疗。未发现对万古霉素、利奈唑胺、莫西沙星耐药的菌株。

本研究结果表明,痰涂片对临床有一定的诊断价值,在痰培养接种之前应进行涂片;重视病原学诊断,并将病原菌分布及其耐药性为合理使用抗菌药物提供参考,以减少耐药菌株的形成。

[参 考 文 献]

- [1] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:744-745.
- [2] 陈东科,孙长贵.实用临床微生物学检验与图谱[M].北京:人民卫生出版社,2011:158.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement. CLSI document M100-S22[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2012.
- [4] 张蕾,艾涛,杨亚静,等.儿童社区获得性肺炎病原菌分析[J].中国感染控制杂志,2014,13(1):50-52.
- [5] Karlowsky JA, Verma G, Zhanel GG, et al. Presence of ROB-1 beta-lactamase correlates with cefaclor resistance among recent isolates of *Haemophilus influenzae* [J]. J Antimicrob Chemother, 2000, 45(6):871-875.
- [6] 肖启国.嗜血杆菌的分离及耐药性分析[J].检验医学与临床,2013,10(1):11-13.
- [7] 何娟妃,陈群英,马巧红.儿童下呼吸道感染病原菌的耐药性分析[J].中国卫生检验杂志,2014,24(2):276-278.
- [8] 张玲,程方雄,刘瑾,等.卡他莫拉菌临床分布及耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2014,24(3):545-546.
- [9] 袁红英,于军校,府伟灵,等.儿童下呼吸道感染的肺炎链球菌耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2011,21(10):2127-2128.

(本文编辑:李春辉)