

• 检验技术与方法 •

痰标本涂片对痰培养的指导意义

顾玲莉,刘 香,沈晓雯

(江苏省南通市第二人民医院检验科,江苏南通 226002)

摘 要:**目的** 对 227 例痰标本涂片镜检与培养结果进行对比,了解痰涂片对痰培养的指导意义。**方法** 收集 227 例痰标本,观察性状,涂片染色镜检,根据标准分为 A、B、C、D 4 类,同时进行培养,分析涂片和培养的关系。**结果** 227 例标本中合格痰标本 158 例,占 69.60%,不合格标本 69 例,占 30.40%。227 例痰标本 128 例检出潜在病原菌,阳性检出率为 56.39%,合格标本培养阳性率为 70.39%,不合格标本培养阳性率为 28.00%。合格痰标本涂片结果与培养结果的符合率为 72.78%。合格痰标本中细胞吞噬菌的阳性率为 11.72%,其中合格 A 类痰标本细胞吞噬菌 14 例,阳性率为 16.67%,B 类痰标本细胞吞噬菌 5 例,阳性率为 6.76%。**结论** 痰标本涂片镜检能为呼吸道感染的诊断和治疗提供重要信息,痰标本涂片对痰培养有重要的指导意义。

关键词:痰涂片; 痰培养; 痰性状

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.24.045 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2014)24-3406-03

Guidance significance of sputum smear on sputum culture

Gu Lingli, Liu Xiang, Shen Xiaowen

(Nantong Municipal Second People's Hospital, Nantong, Jiangsu 226002, China)

Abstract:**Objective** To understand the guidance significance of sputum smear on the sputum culture by comparing the microscopic detection results of sputum smear with the sputum culture results in 227 cases. **Methods** 227 cases of sputum specimen were collected for observing the character and smear staining by microscopy. These specimens were divided into the class A, B, C and D according to the standards and simultaneously conducted the culture. The relationship between smear and culture was analyzed. **Results** Among 227 cases of sputum specimen, 158 cases were qualified and accounted for 69.60%, and 69 cases were unqualified and accounted for 30.40%. Potential pathogens were detected in 128 cases, the positive detection rate was 56.39%, the positive detection rate of qualified sputum specimens was 70.39% and which of unqualified sputum specimens was 28.00%. The coincidence rate of qualified sputum specimen smear results and the culture results was 72.78%. The positive rate of cytophagic bacteria in the qualified sputum specimens was 11.72%, in which 14 cases of cytophagic bacteria were the qualified class A sputum specimens with the positive rate of 16.67% and 5 cases of cytophagic bacteria were the class B sputum specimens with the positive rate of 6.76%. **Conclusion** The sputum smear microscopic detection can provide the important information for the diagnosis and treatment of respiratory infections and the sputum smear has the important guiding significance for sputum culture.

Key words:sputum smear; sputum culture; sputum character

痰培养是一种简便、无创的诊断呼吸系统感染常用病原学检查方法,但是近几年来临床价值一直存在争议。由于上呼吸道存在大量正常菌群,痰标本易受污染,使病原菌的检出率下降,还可能导致病原学诊断的错误,造成抗菌药物使用的误导,使耐药菌株大量产生和传播。痰培养如何能快速而准确反映下呼吸道致病菌状况,是迫切需要解决的问题。目前国内外推崇或较普遍的做法是痰培养前进行涂片镜检,此步骤国际上已列为提高痰液微生物学检验可靠性必做项目。为探讨痰标本涂片与培养结果的关系,准确描述痰标本质量,客观地判读痰培养分离出的各种细菌的临床意义,现对 227 例痰标本涂片与培养结果进行对比分析,现报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料 2012 年 5 月 1 至 2012 年 12 月,本院送检并进行痰涂片检查 227 例痰培养标本。

1.2 方法 涂片染色镜检:先加入无菌生理盐水洗涤 3 次,用无菌棉签尽量挑选脓性、黏液、血性等部位的痰标本,制成均匀薄片,自然干燥后革兰染色镜检。显微镜检查包括细胞学筛查和找涂片中的微生物。细胞学筛查根据全国临床检验操作规程^[1]以低倍镜下白细胞和上皮细胞的数量分为 4 组:A 组,白细胞大于或等于 25 个/低倍镜视野,上皮细胞大于或等于 10

个/低倍镜视野;B 组,白细胞大于或等于 25 个/低倍镜视野,上皮细胞小于 10 个/低倍镜视野;C 组,白细胞小于 25 个/低倍镜视野,上皮细胞大于或等于 10 个/低倍镜视野;D 组,白细胞小于 25 个/低倍镜视野,上皮细胞小于 10 个/低倍镜视野。根据平均每个低倍视野下出现鳞状上皮细胞(SEC)和白细胞(WBC)的多少或比例,判断送检痰标本的质量即是否来自下呼吸道。A、B 为合格标本,C、D 为不合格标本;分离培养:用无菌盐水洗涤痰标本,使痰液均质化后备用,处理后痰液接种于血琼脂平板、巧克力琼脂平板、麦康凯平板,置 5%~10% CO₂ 环境 35℃ 培养 18~24 h。当痰标本中分离到肺炎链球菌、流感或副流感嗜血杆菌、溶血性链球菌 1+~4+,或金葡菌、肠杆菌科细菌、不动杆菌、假单胞菌或其他革兰阴性杆菌 2+~4+,确定为下呼吸道潜在病原菌,培养结果阳性;根据 Murray 第 7 版《Manual of Clinical Microbiology》定义,当分离到非溶血性链球菌、微球菌、白喉杆菌以外的棒状杆菌、凝固酶阴性葡萄球菌、非致病奈瑟菌为口腔常居菌,引起下呼吸道感染的机会极少,培养结果阴性。细菌培养阳性者用 ATB 微生物鉴定仪进行鉴定分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,计数资料以 *n* 或率表示,组间比较采用 χ^2 检验,

作者简介:顾玲莉,女,主管技师,主要从事临床微生物检验研究。

$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 痰标本的合格率 227 例痰标本涂片前对本性状进行肉眼观察分类,并按 ABCD 分组法进行统计,A、B 合格痰标本共 158 例,合格率为 69.60%,C、D 不合格痰标本 69 例,不合格率为 30.40%。4 类标本合格率差异有统计学意义($\chi^2=108.96,P<0.05$)。经 χ^2 分割,前 3 类痰合格率差异无统计学意义($\chi^2=4.74,P>0.05$),水或泡沫样痰标本合格率明显低于其他性状痰标本,与其他 3 类比较差异有统计学意义($\chi^2=107.35,P<0.05$),见表 1。

表 1 痰标本不同性状涂片合格率比较

分类	A(n)	B(n)	C(n)	D(n)	合格率(%)
脓性痰	51	31	3	1	95.35
黏液痰	14	24	5	3	82.61
血性痰	13	10	0	3	88.46
水和泡沫样痰	6	9	21	33	21.74
合计	84	74	29	40	69.60

2.2 痰标本培养阳性率 227 例痰标本中检出潜在病原菌 128 例(复数菌仅算 1 例),阳性检出率为 56.39%,A、B 合格痰标本培养阳性率为 70.25%(111/158),C、D 不合格痰标本培养阳性率为 24.64%(17/69),两者差异有统计学意义($\chi^2=14.06,P<0.05$),4 类标本培养阳性率差异有统计学意义($\chi^2=49.80,P<0.05$)。经 χ^2 分割,前 3 类培养阳性率差异无统计学意义($\chi^2=1.67,P>0.05$),水或泡沫样痰标本阳性率明显低于其他性状痰标本,与其他 3 类比较差异有统计学意义($\chi^2=48.39,P<0.05$),见表 2。

表 2 痰标本不同性状培养阳性率比较

分类	A(n)	B(n)	C(n)	D(n)	培养阳性率(%)
脓性痰	42	20	2	1	75.58
黏液痰	10	17	2	1	65.22
血性痰	10	7	0	1	69.23
水和泡沫样痰	3	2	4	6	21.74
合计	65	46	8	9	56.39

2.3 痰标本涂片与培养的符合率 痰涂片和培养结果对比可以分为 4 类,即涂片和培养均阳性、涂片和培养均阴性、涂片阴性而培养阴性、涂片阴性而培养阳性。合格痰标本涂片结果与培养结果符合率为 82.28%(130/158),见表 3。

表 3 合格痰标本涂片和培养结果符合率比较[n(%)]

培养	合格痰涂片	
	阳性	阴性
阳性	98(85.22)	13(28.89)
阴性	17(14.78)	32(71.11)

2.4 痰标本真菌感染率 227 例标本中涂片找到菌丝和(或)真菌孢子的 51 例,真菌涂片阳性率为 22.47%,其中 158 例合格痰标本中有 45 例,真菌涂片阳性率为 28.48%,9 例有菌丝和真菌孢子,36 例只有真菌孢子;69 例不合格痰标本中有 6 例,真菌涂片阳性率为 8.70%,5 例有真菌孢子,1 例只有菌丝。227 例标本中有真菌生长 47 例,真菌培养阳性率为 20.70%,痰涂片阳性率略高于痰培养(见表 4)。痰标本涂片和培养结果符合率为 70.04%(159/227)。

2.5 痰标本细胞吞噬菌的阳性率比较 合格痰标本细胞吞噬

菌 19 例,阳性率为 12.50%(19/152),其中合格 A 类痰标本细胞吞噬菌 14 例,阳性率为 16.67%(14/84),B 类痰标本细胞吞噬菌 5 例,阳性率为 7.35%(5/68),不合格痰 C 类 D 类标本中未见细胞吞噬菌现象。19 例有吞噬菌痰标本 18 例培养阳性。

表 4 痰标本真菌涂片和培养阳性率比较[n(%)]

分类	涂片			培养
	菌丝和孢子	孢子	菌丝	
A	4(4.76)	10(11.90)	0(0.00)	16(19.05)
B	5(6.76)	26(35.14)	0(0.00)	25(36.78)
C	0(0.00)	1(3.45)	0(0.00)	2(6.90)
D	0(0.00)	4(10.00)	1(2.50)	4(8.70)

3 讨 论

提高肺部感染病原学诊断水平,是改善疾病预后、降低病死率的重要环节。多年来,国内外专家在这一领域已开展了大量研究,然而,迄今为止,咳痰培养仍是应用最多,也是最简单、方便、安全的病原学诊断技术。如何正确、充分地用好这项技术,值得重视。世界卫生组织(WHO)对临床微生物实验室提出的指导性方针:临床微生物实验室尽可能把目标集中在快速诊断方面,显微镜检查对建立快速的初步诊断具有很大价值,痰涂片镜检与次日培养结果对比能提高观察和解释涂片的能力,合理分析培养结果,将实验室数据转化为临床有用的信息,协助临床医师解决临床问题。

ABCD 分类法对痰标本是否合格进行分类,各地的报道各不相同,本研究 227 例痰标本中合格 158 例,占 69.60% 和韩志伟和廖雪梅^[2]报道 314 例痰标本合格率为 74.0% 基本一致,而与杨娇英等^[3-4]报道合格率仅有 36.2%~42.5% 有差异。造成痰标本合格率差异主要有两方面因素:一方面临床医护人员要对痰标本采集给予患者正确指导和执行;另一方面是实验室检验人员操作的规范性。表 1 数据说明去除水样或泡沫样痰,痰标本合格率可以从 69.60% 上升到 90.51%,在处理痰标本之前对标本进行肉眼筛选直接拒收这类标本。表 2 数据说明合格标本培养阳性率为 70.39%,不合格标本培养阳性率为 24.64%,不合格标本不仅阳性率低,由于不是来自真正下呼吸道标本受到唾液污染,培养阳性结果还误导临床治疗。因此要严格拒收涂片不合格标本。

158 例合格痰标本中涂片与培养结果的符合率达到 82.28%,与 Pagano 等^[5-7]报道的符合率 74.2%~80.2% 基本一致,但较贺靖冬等^[8]报道符合率的 65.6% 结果偏高,证明痰涂片检查对细菌培养结果具有预先判断的辅助价值。痰涂片结果与痰培养结果不符的原因分析,涂片阳性培养阴性情况可能是因为患者已用抗菌药物治疗;微生物细胞壁损伤(L 型菌)或已死亡;正确的培养条件没有满足;有些细菌在染色片中可看到,在培养中又看不到,可能被标本中的正常菌群所抑制。涂片阴性培养阳性情况可能的原因有涂片时没有取到含有致病菌的痰液;痰标本性状黏稠时,细菌被黏液和脓细胞包裹,镜检无法清晰地看到其形态,造成漏检^[9]。当痰涂片结果与痰培养结果不符时,要及时与临床沟通,分析可能存在的原因采取相应的对策。

158 例合格痰标本中 19 例有白细胞吞噬现象,阳性率为 12.03%,脓性合格痰阳性率最高,其中痰培养阳性 18 例,阴性 1 例。不合格痰标本未找到白细胞吞噬现象。目前研究表明痰涂片中白细胞大量增加,细菌被吞噬和包(下转第 3412 页)

范围内(结果未显示)。

线性试验的关键在于日常工作中留取高值和低值的标本。本研究结果显示,Cre、Glu 的线性高值低于试剂厂商提供的范围,这主要是因为在实际工作中收集到的临床高值标本有限所致。对于高值超过厂商声明的线性标本,本实验室仍建议稀释后重测。

本实验室常规生化检测项目的参考区间主要来源于相应项目的试剂说明书。验证采用 CLIA 法规的要求,选择最少 20 个无此相关疾病的健康个体来做统计学分析。本实验研究结果显示,所选参考区间合适。

此外,ABBOTT ARCHITECT C16000 全自动生化分析仪还具有以下特点:(1)具有较大的单机测试速度,其最大光学分析速度为 16 000 个测试/小时,电解质 600 个测试/小时,基本能够满足大批量临床样本的高效检测。(2)节省试剂及标本用量,更能满足临床特殊患者(如婴幼儿、采血困难患者)的检测需求。同时,由于特有的标本预稀释系统,更能满足临床急诊生化的检测需求。(3)具有独特的 FlexRate 技术,即弹性速率测定,能使酶活力检测方法可报告范围得以延伸。(4)具有专利的集成晶片技术(ICT)。(5)具有更为合理的探针冲洗程序,即 SmartWash 系统。

综上所述,ABBOTT ARCHITECT C16000 全自动生化分析仪的精密度、准确度、线性范围、参考区间验证均符合要求,能够在本实验室投入使用。对于大型生化分析仪,在不同的运行环境、操作情况下性能指标可能会存在一定的差异,必须在使用前进行常规性能评价或验证,确保多个检测系统结果一致,为实验室全面质量保证奠定基础^[10]。

(上接第 3407 页)

裹是感染最简单和最直接的证据,反映细菌与机体免疫系统相关性的最重要信号,结合临床表现能准确判断出痰标本中真正的致病菌。因此,痰涂片有白细胞吞噬现象应立即通知临床,发挥初步诊断的价值。

肺部真菌感染早期正确诊断仍是临床实验工作中的一个棘手问题。痰涂片直接镜检是实验室诊断真菌感染的首要步骤,镜检操作简便、快速,检测结果与临床符合率较高。对涂片查见真菌孢子及菌丝培养阳性 9 例患者查看结合临床资料,临床多数进行了抗真菌治疗并取得了一定疗效;涂片仅见真菌孢子培养阳性患者 38 例,临床仅对部分患者进行了抗真菌治疗。因此,痰涂片(如有无假菌丝、出芽孢子等)和培养结果对临床决定是否需要进行治疗有重要参考价值。

227 例痰标本真菌培养阳性率为 20.70%,与国内学者杨小琴^[10]报道的 136 例痰标本真菌培养阳性率为 16.80%的结果基本一致。真菌培养及鉴定可确定真菌的种属和进行药敏实验。对致病性真菌来说,培养阳性就可确诊。痰标本真菌涂片和培养结果符合率为 70.04%,其不符合原因有:涂片客观及时,涂片的阳性率稍高于培养;培养影响因素多,容易受到污染,如果涂片阴性而培养阳性,结果很难判断。总之,深部真菌的感染判断比较复杂,必须综合涂片和培养的结果及患者的临床表现。

合格痰标本的细菌涂片信息可预测培养结果,做好痰标本细菌涂片对培养结果具有很大的相关性,因此痰培养前必须进行痰涂片。总结痰涂片镜检对痰培养的指导意义有 5 点:筛选不合格的标本;提高培养阳性率;涂片培养结果对比分析;某些细菌镜检作早期诊断;真正的致病菌确定。建议各临床微生物

参考文献

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline-second edition [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.
- [2] 庄俊华,黄宪章,翟培军.医学实验室质量体系文件编写指南[M].北京:人民卫生出版社,2006:193.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI). Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline-second edition. Document EP9-A2[S]. Wayne, PA, 2002.
- [4] 阳辛,张莉萍,毕小云,等.基于行业标准的全自动生化分析仪性能评价[J].重庆医学,2011,40(12):1216-1218.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures;a statistical approach; approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2003.
- [6] 冯仁丰.临床检验质量管理技术基础[M].上海:上海科学技术文献出版社,2003:66-68.
- [7] 杨有业,张秀明.临床检验方法学评价[M].北京:人民卫生出版社,2008:118.
- [8] 夏勇,李卫宁,邹德学,等. Olympus AU5400 生化分析仪性能的评价[J].检验医学与临床,2009,6(18):1539-1542.
- [9] 李鑫,周春洁,武军梅,等. Beckman AU680 生化分析仪性能评价及溯源[J].检验医学与临床,2012,9(18):2281-2285.
- [10] 魏昊,丛玉隆.医学实验室质量管理与认可指南[M].北京:中国计量出版社,2004:59-63.

(收稿日期:2014-05-25)

室尽快建立常规标准的痰培养前细菌涂片制度。

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,2006:15-20.
- [2] 韩志伟,廖雪梅.痰标本涂片检查与培养结果分析[J].中国微生物学杂志,2003,15(2):279-280.
- [3] 杨娇英,钟毓琼,蔡志军.85 份合格咳痰标本涂片检查与培养结果分析[J].检验医学与临床,2009,6(7):556-557.
- [4] 肖卓.痰涂片革兰染色临床价值探讨[J].黑龙江医学,2004,47(9):682.
- [5] Pagano L, Girmeniac, Melel L, et al. Infections caused by filamentous fungi in patients with hematologic malignancies. A report of 391 cases by GMEMA Infection program [J]. Haematologica, 2001,86(8):862-870.
- [6] 张蓓,熊薇.230 份痰标本涂片检查与培养结果分析[J].江西医学检验,2001,19(5):285-286.
- [7] 袁飞,万莉,谢帮才.358 例标本涂片镜检与培养结果的相关性分析[J].中国实验诊断学,2008,12(6):771-773.
- [8] 贺靖冬,李庆,高强.889 份痰标本涂片与培养结果分析[J].江西医学检验,2005,23(6):553-554.
- [9] 文华,余德清.445 份痰标本涂片与培养结果分析[J].内蒙古中医药,2008,10(1):47-48.
- [10] 杨小琴.痰涂片检查与细菌培养的一致性分析[J].检验医学与临床,2010,7(14):1476-1477.

(收稿日期:2014-05-19)