

充分发挥细菌涂片在病原诊断中的作用

张秀珍

(卫生部北京医院检验科, 北京 100730)

关键词: 细菌涂片; 病原学诊断; 感染性疾病

有文献报道, 美国 3 555 个急诊单位中 14 069 位年龄 >65 岁的感染患者, 其医院内死亡率为 10.3%, 其中 30 d 病死率为 15.3%, 原因是延迟了发病 8 h 内的最佳用药时机^[1]。在阿根廷有研究报道, 132 位呼吸机相关性肺炎患者中, 肺泡灌洗液细菌培养阳性者占 49.2%, 而病死率统计结果显示, 细菌培养阳性组和阴性组患者的病死率无差异, 疗程中调整用药组和非调整用药组患者的病死率也无差异, 唯有早期合理、足量治疗组患者的病死率 (37.5%) 远低于不合理治疗组 (91.2%), 两者差异有统计学意义^[2]。上述报道说明早期是否合理治疗直接关系到患者的预后, 而细菌实验室能在 8 h 内作出报告者寥寥无几。无可否认, 先进的检测仪器和实验方法大大提高了临床微生物的工作效率和检测水平, 使诊断结果更为准确, 为临床诊断提供了更多重要信息, 在提高临床微生物诊断水平上起到了重要的作用。但也应注意, 经典的方法常常是先进设备的验证、校准和补充。目前国内临床微生物领域普遍忽

视经典的细菌涂片显微镜检查的作用, 因此我们急切地强调和呼吁临床微生物界同道, 在开发和应用现代化的自动化系统的同时, 仍应积极开展细菌涂片检查, 及时报告检查结果, 这对感染性疾病的早期诊断和治疗十分重要。

细菌涂片是病原学诊断中的经典方法, 也是最直接、最简便的方法。认真规范的细菌涂片报告会临床带来有价值的信息。

1 无菌体液细菌涂片的价值

血液、脑脊液 (CFS)、胆汁和在病理状态下的密闭体腔分泌液 (如胸腔液、腹腔液) 等统称无菌体液。在无感染时无菌体液不会检出细菌, 一旦检出细菌应考虑是该部位的病原菌。

规范的细菌涂片与细菌培养结果之间有很高的相关性。有报道显示, 350 份无菌体液用培养、高速离心 (high-speed centrifugation, HSC)、细胞离心 (cyto centrifuge, CYTC) 后涂片革兰染色等 3 种方法对病

原检测并将结果进行比较,有 14%(50/350) 培养阳性标本,其中有 6.9%(24/350) 的标本 3 种方法均阳性;其余 26 份标本中有 5.1%(18/350) 的标本培养和 CYTC 阳性, HSC 未检出细菌; 0.2% (1/350) 的标本 HSC 涂片和培养方法为阳性而 CYTC 涂片为阴性; 2% (7/350) 的标本仅培养阳性; 另外有 0.8% (3/350) 的标本 CYTC 和 HSC 涂片方法阳性而培养阴性。上述结果提示细菌涂片与培养方法有很高的相关性,尤其用 CYTC 涂片法与培养阳性率的相关率可达 84% (42/50); HSC 涂片法与培养阳性率的相关率为 50% (25/50)^[3]。无菌体液中检出细菌是严重感染的标志,通过涂片革兰染色可报告医生是否存在革兰阳性菌或革兰阴性菌感染、球菌或杆菌感染,为医生早期用药做出基本定位,对合理应用抗生素和降低患者病死率起到重要的作用。

2 痰标本细菌涂片价值

2.1 痰细菌涂片可确定痰标本的质量

尽管痰标本的细菌培养价值并不理想,但由于其可操作性强而使其至今仍是用于下呼吸道感染的重要检测项目,为了保证痰细菌培养结果的可靠性,在做细菌培养前做痰涂片十分必要。涂片的目的之一是区别标本是否来自下呼吸道。由于人体的下呼吸道脱落细胞主要是柱状上皮细胞,而在上呼吸道是鳞状上皮细胞,因此可用涂片中见到的鳞状上皮细胞的多或少作为区别的标准。美国临床微生物手册(第

8 版)推荐的标准:在 10 倍显微镜下,平均每视野鳞状上皮细胞 < 10 个为合格痰标本;如鳞状上皮细胞 > 10 个为不合格标本^[4]。

2.2 合格痰标本的细菌涂片信息可预测培养结果

防止痰标本的污染、提高痰标本培养的阳性率是改善痰细菌培养质量的 2 个重要因素。要求患者在应用抗生素前留取标本,留标本前漱口,按鳞状上皮细胞 < 10 个 / 低倍镜为合格标本再作细菌培养。有研究调查 901 份下呼吸道感染患者口痰,合格标本 792 份,合格率为 87.9%; 109 份标本不合格;痰细菌培养结果显示,合格痰标本的培养阳性率为 78%,而不合格标本的阳性率仅为 14.7%,两者差异有统计学意义 ($P < 0.01$),合格痰标本涂片结果与细菌培养结果的符合率达 80.2%^[5]。由此说明,做好痰标本细菌涂片对培养结果有很好的预测效果。建议各临床细菌室建立常规痰细菌涂片制度,为临床早期合理用药提供参考。

3 粪便标本细菌涂片是观察菌群平衡的窗口

正常粪便标本中约三分之一重量是细菌,而且不同细菌占有不同的比例,所以对粪便细菌涂片的意义不在于有无细菌存在(除外结核分枝杆菌),而是要观察不同菌种的比例有无失调。正常粪便中革兰阴性杆菌占绝对优势,其次是革兰阳性球菌或杆菌、少量酵母样真菌。当患者由于

系统感染，应用大量抗生素，其抗菌谱范围内的细菌被大量抑制而其他菌群大量生长，在控制感染的同时常常会发生机体微生态平衡的失调，而粪便菌群的变化是微生态失调的敏感标志。如有艰难梭菌、金黄色葡萄球菌或白念珠菌大量繁殖超过正常比例时，可能引起假膜性肠炎。当菌群发生变化时，细菌涂片虽然不能分辨出是什么菌种，但根据革兰染色和形态特征常可及时作出初步判断。

4 细菌涂片可预警侵袭性真菌感染 (invasive fungal infections, IFI)

有文献报道，IFI 的病死率可达 75% ~ 100%^[5]。微生物检测是 IFI 诊断的重要指标之一。由于真菌感染的临床表现无特异性以及真菌检测方法的局限性，有 50% 以上的患者不能在生前获得阳性培养，患者因错过最佳治疗时机而失去生命。提高真菌检测率并及时报告是临床细菌室的重要任务。

从某种意义而言，真菌涂片比培养更易获得阳性结果，由于涂片成本低廉可在同一份标本的不同部位作多个涂片，从而增加检测的阳性率，而培养方法基于成本原因只能在某一部位挑取标本，必定存在很大的漏检机会；内源性感染是真菌感染的重要途径，菌群失调常常先于感染，真菌涂片可分辨有菌部位标本中的菌群比例，而培养阳性对有菌部位无法判断其确实的临床价值；无菌体液真菌涂片检出真菌菌丝具有极重要的临床价值；真菌涂片

可以观察致病结构菌丝体，而培养后再作镜检无法区别菌丝体的临床意义。真菌涂片成本低、操作方便、报告时间短，是预报真菌感染的好方法。

5 改进的抗酸杆菌浓缩涂片方法与培养方法有极好的相关性

在过去的 10 年里，全球 60 亿人口中有 20 亿人感染结核分枝杆菌，有 2 000 万人患结核病。每年有 800 万新发病例出现。每年因结核病死亡的人数超过 300 万^[6]。我国结核病疫情仅次于印度，居世界第 2 位。

早期结核病诊断的确立和对结核病患者的隔离可使结核病的传播降低到最小的程度，所以建立敏感的、正确的结核分枝杆菌检测方法十分必要。结核分枝杆菌培养周期太长，远不能满足临床的需要，常用传统的浓缩抗酸杆菌染色检测方法代替结核分枝杆菌培养。近年有文献报道，推荐用 CYTC 浓缩法代替常规浓缩法^[7]，120 份结核病患者标本和 80 份模拟标本按标准操作程序做标本的安全处理和液化，同时用结核分枝杆菌培养、常规浓缩抗酸染色法（简称常规法）和 CYTC 浓缩抗酸杆菌涂片等 3 种方法检测上述标本。结果显示，120 份患者标本中 43 份培养阴性；10 份标本污染，但其中 2 份 CYTC 涂片阳性；其余 67 份结核分枝杆菌培养阳性的标本中 CYTC 方法全部呈阳性，与结核分枝杆菌培养阳性相关率为 100%，常规方法仅 34 份阳性，相关率为 50.7%。80 份

