

# 细菌培养和涂片镜检在微生物检验中的临床应用价值

王甲银

作者单位: 273300 山东临沂, 平邑县人民医院检验科

通信作者: 王甲银, Email: 14799438@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2023.03.007

**【摘要】** 目的 探讨细菌培养和涂片镜检在微生物检验中的临床应用价值。方法 回顾并整理 2021 年 1 月—2022 年 12 月平邑县人民医院收集的 84 份微生物检验样本, 包括痰液样本、血液样本、脑脊液样本等, 均接受细菌培养和涂片镜检。分析涂片镜检的合格率、细菌检出率以及阳性样本检出情况。**结果** 84 份标本中有合格标本 77 份(包括 A 类标本 37 份和 B 类标本 40 份), 不合格标本(C 类)7 份, 合格率为 91.67%。84 份标本中, 检出 64 份致病菌或优势生长菌, 阳性检出率为 76.19%。37 份 A 类标本中检出阳性标本 32 份, 阳性检出率为 86.49%; 40 份 B 类标本中检出阳性标本 25 份, 阳性检出率为 62.50%; 7 份 C 类标本中检出阳性标本 3 份, 阳性检出率为 22.86%。A 类标本的阳性检出率明显高于 B 类和 C 类标本(86.49% 比 62.50%、42.86%,  $\chi^2_1=5.752, P_1=0.016$ ;  $\chi^2_2=6.887, P_2=0.009$ )。64 份阳性样本中, 检出革兰阴性菌 42 份, 占比为 65.63%, 检出革兰阳性菌 18 份, 占比为 28.13%, 检出真菌 4 份, 占比为 6.24%。**结论** 细菌培养和涂片镜检联合应用能最大限度确保检验效果, 但在具体应用时还是容易出现假阴性结果, 针对此类问题要依据影响因素, 采取有针对性的措施, 以提升检验效果。

**【关键词】** 细菌培养; 涂片镜检; 微生物检验; 应用价值; 阳性检出率

## Clinical application value of bacterial culture and smear microscopy in microbial examination

Wang Jiayin. Department of Clinical Laboratory, Pingyi County People's Hospital, Linyi 273300, Shandong, China

Corresponding author: Wang Jiayin, Email: 14799438@qq.com

**【Abstract】 Objective** To explore the clinical application value of bacterial culture and smear microscopy in microbiological examination **Methods** The 84 samples collected from Pingyi County People's Hospital from January 2021 to December 2022 were reviewed and organized, including sputum samples, blood samples, cerebrospinal fluid samples and so on, all of which underwent bacterial culture and smear microscopy. The qualification rate of smear microscopy, the bacterial detectable rate of smear microscopy, and the detection status of positive samples were analyzed. **Results** The research results showed that out of 84 specimens, 77 samples were qualified, including 37 samples of Class A and 40 samples of Class B), and 7 samples were unqualified (which were Class C specimens), with a qualification rate of 91.67%. Out of 84 specimens, 64 samples were detected for pathogenic bacteria or dominant growth bacteria, with a positive detectable rate of 76.19%. Out of 37 specimens of Class A, 32 samples were positive, with a positive detectable rate of 86.49%. Out of 40 specimens of Class B, 25 samples were positive, with a positive detectable rate of 62.50%. Three out of 7 specimens of Class C were positive, with a positive detectable rate of 22.86%. The detectable rate of Class A specimens was higher than those of Class B specimens and Class C specimens (86.49% vs. 62.50%, 42.86%,  $\chi^2_1 = 5.752, P_1 = 0.016$ ;  $\chi^2_2 = 6.887, P_2 = 0.009$ ). Among the 64 positive samples, 42 samples were Gram negative bacteria, accounting for 65.63%, 18 samples were Gram positive bacteria, accounting for 28.13%, and 4 samples were fungi, accounting for 6.24%. **Conclusions** The combination of bacterial culture and smear microscopy could maximize the effectiveness of the test, but in specific applications, false negatives and other situations are still prone to occur. Targeted measures should be taken based on the influencing factors to improve the test effectiveness.

**【Key words】** Bacterial culture; Smear microscopy; Microbiological examination; Application value; Positive rate

近年来,现代医学技术得到了广泛发展,同时临床检测技术也获得长足进步,通过系统的诊断方法可以切实保证对疾病的诊断,满足临床需要。其中细菌培养是临床进行微生物检验的重要方法,该方法能发挥一定的作用,但存在耗时长等不足,因此采用涂片镜检就成为提升检验效果的重要保证。目前有临床研究显示,通过涂片镜检配合细菌培养的方法可以显著提升检验效果,满足患者的诊断需要,从而为临床用药提供指导。有研究结果显示,将涂片镜检与细菌培养方法联合应用,能显著提升检验效果,确保检验结果的准确性<sup>[1]</sup>。因此,本研究就细菌培养和涂片镜检在微生物检验中的临床应用价值进行论述,将结果报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 回顾并收集 2021 年 1 月—2022 年 12 月本院检验科接收的 84 份待检样本,所有样本均分别接受细菌培养和涂片镜检。样本取材于 84 例患者,其中男性 54 例,女性 30 例;年龄 21~74 岁,平均(47.12±5.14)岁。

**1.1.1 纳入标准** ① 患者临床资料齐全;② 患者或家属均对本研究知情,并同意参与研究。

**1.1.2 排除标准** ① 标本采集过程中存在样本污染;② 标本资料缺项过多;③ 特殊标本。

**1.1.3 伦理学** 本研究符合医学伦理学标准,并经本院医学伦理委员会审批(审批号:PYXLL-LW-2023-012),本研究进行的所有检测均获得过患者或家属的知情同意。

**1.2 仪器与试剂** 本研究使用 Forma™ II 系列水套式二氧化碳培养箱(由赛默飞世尔科技公司提供),Olympus BX53 显微镜(由日本奥林巴斯株式会社提供);培养基与染色液由西格玛奥德里奇公司提供。使用法国生物梅里埃公司 ATB 自动微生物鉴定及药敏分析仪进行细菌鉴定。

**1.3 涂片镜检与细菌培养** 对 84 份样本先进行涂片镜检,直接涂抹玻片或离心沉淀后涂片,而后实施革兰染色和抗酸染色,在显微镜下观察,以可见细菌提示为阳性,未见细菌则判定为阴性。根据涂片检查结果不同选择合适的培养基,孵育 18~24 h, 48 h 无细菌则为无菌生长。

**1.4 观察指标** 涂片镜检分为 3 级,A 级:低倍显微镜视野中白细胞数不低于 25 个,鳞状上皮细胞数不超过 10 个;B 级:低倍视野中白细胞数不低于 25 个,鳞状上皮细胞数为 10~25 个,细菌不少于 3 种;C 级:

鳞状上皮细胞数不小于 25 个,标本不合格。完成涂片镜检后进行细菌培养,分析细菌培养结果<sup>[2]</sup>。

**1.5 统计学方法** 使用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行分析 and 处理,符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用 *t* 检验,计数资料以例(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 涂片镜检合格率** 研究结果显示,84 份标本中,合格标本 77 份,其中 A 类标本 37 份, B 类标本 40 份,不合格标本(C 类)7 份,合格率为 91.67%。

**2.2 不同类型标本的涂片镜检细菌检出率** 研究结果显示,84 份标本中,检出 64 份致病菌或优势生长菌,阳性检出率为 76.19%。37 份 A 类标本中检出阳性样本 32 份,阳性检出率为 86.49%;40 份 B 类标本中检出阳性样本 25 份,阳性检出率为 62.50%;7 份 C 类标本中检出阳性标本 3 份,阳性检出率为 42.86%。A 类标本的阳性检出率明显高于 B 类标本和 C 类标本( $\chi^2_1=5.752, P_1=0.016; \chi^2_2=6.887, P_2=0.009$ )。见表 1。

表 1 不同类型标本的涂片镜检细菌检出率比较

标本类型	样本数(份)	阳性样本数(份)	阳性检出率(%)
A 类标本	37	32	86.49 <sup>ab</sup>
B 类标本	40	25	62.50
C 类标本	7	3	42.86

注:与 B 类标本比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 C 类标本比较,<sup>b</sup> $P<0.05$

**2.3 64 份阳性样本检出情况** 64 份阳性样本中,检出革兰阴性菌样本 42 份,占比为 65.63%,检出革兰阳性菌样本 18 份,占比为 28.13%,检出真菌样本 4 份,占比为 6.24%。见表 2。

表 2 阳性样本检出细菌类型分布

细菌类型	样本数(份)	占比(%)
革兰阴性菌	42	65.63
革兰阳性菌	18	28.13
真菌	4	6.24
合计	64	100.00

## 3 讨论

由于人类感染性疾病的类型多,且造成原因复杂,病原体的复杂性也逐渐增加,且各类新型传染病也屡见不鲜。其中,因抗菌药物的大量应用造成部分病原微生物的耐药性增强,这无疑会增加患者的治疗难度<sup>[3]</sup>。因此,在感染发生后及时进行诊断,鉴

别微生物类型,评估患者病情,对用药方案的制定具有重要的意义。目前临床进行微生物检验和鉴别手段已经愈发丰富,包括免疫学方法、分子生物学检验方法等,但目前在实际临床工作中,尤其是基层医疗机构主要应用的还是传统微生物检验技术,包括生物鉴定法、培养法、染色法等,该类检验技术的应用可以在对患者的诊断中发挥积极作用。其中,涂片镜检和细菌培养是最常用的检测方法,涂片镜检方法操作较简单,通过显微镜对涂片进行观察,涂片中的细菌在达到一定数量后,就可以实现对样本的快速检测,从而对样本进行初步诊断<sup>[4]</sup>。然而涂片镜检方法虽然能起到一定的检验作用,但在具体应用上不足也很明显。涂片镜检的阳性率要建立在样本中死菌和活菌数量的基础上,若死菌和活菌数量过少,会影响检验结果的准确性,所以在进行检验时,涂片镜检仅能作为基础的检验方法,若仅依靠涂片镜检进行微生物检验,容易对临床治疗形成制约<sup>[5]</sup>。因而在应用涂片镜检的同时,应根据需要采用细菌培养方法以确保检验效果。采用细菌培养方法,可以借助革兰染色法实现对微生物的鉴定和检验<sup>[6]</sup>。同时配合应用该检验方法,能够显著提升检验的质量和准确性。

有研究结果显示,在对样本进行微生物检验时,同时应用细菌培养联合涂片镜检方法能形成优势互补<sup>[7]</sup>。其中,涂片镜检可用来纠正仪器报告错误,避免误报,尤其是采用涂片镜检的方法能快速检测到样本中存在的死菌和活菌,使微生物检验的效果得到保证。而细菌培养则是微生物检验的“金标准”,通过该方法的应用,能够切实检测到存在的病原菌,同时值得注意的是,病原微生物本身具有多样性特点,且生长繁殖过程比较复杂,部分病原微生物菌落的生长速度较慢,因此通过早期涂片镜检难以发现,而应用细菌培养的方法则可以实现对此类菌群的鉴别。在实际应用中,将细菌培养和涂片镜检进行联用,能够显著提升检验效果,也有利于对各类感染性疾病的鉴别及诊断,从而为临床用药提供支持<sup>[8]</sup>。但需要注意的是,在微生物检验中,采用细菌培养联合涂片镜检方法,虽然能起到一定的作用,但还是容易导致检验结果出现阴性。目前有学者研究结果表明,细菌培养结果出现阴性与多种因素有关<sup>[9]</sup>,现阐述如下。

首先,在样本采集和送检环节中若存在不规范操作,很容易导致样本中的微生物死亡,或导致菌群

无法及时培养,该情况下就会造成检出假阴性结果,同时在进行相关操作的过程中,若不能保证合理操作,还会导致外来菌混入,从而造成假阳性结果。

其次,受检者自身的用药情况通常也会造成假阴性结果出现,这主要是因为若受检者在采样前存在服用抗菌药物的情况,会对细菌的生长产生抑制,继而导致假阴性结果出现<sup>[10]</sup>。

另外,培养基对菌群培养有直接影响,培养基的成分、pH 值、培养温度等若不符合菌群生长的条件,并不利于菌群结构的培养。同时,在进行实验室检验的过程中若存在操作不当或消毒不彻底等问题,则会导致样本被污染,从而对检验结果造成影响,因此强化环节质量控制对保证检验质量以及结果准确性至关重要<sup>[11]</sup>。

相较于细菌培养,涂片镜检同样会受多种因素影响。首先,涂片过薄或取材不当等人为因素往往会直接影响涂片的真实性。其次,在进行涂片的过程中要进行革兰染色,染色后革兰阴性菌会表现为红色,背景同属于红色,这种情况下漏诊概率较大,且痰液样本更容易出现该类问题。另外,不动杆菌属在进行镜检时,形态为革兰阴性球杆菌,与奈瑟菌形态接近,若不进行仔细鉴别,很容易导致误诊漏诊的发生<sup>[12]</sup>。在实际临床工作中,即使将两种方法联合应用,还是可能导致漏诊,此类情况的重要表现即为涂片阳性,培养阴性。有研究显示,涂片中的细菌会出现被脓细胞吞噬的状况,而在白细胞死亡后,其实体释放的物质在很大程度上会影响菌群的繁殖,继而导致培养结果为阴性<sup>[13]</sup>。同时,标本中的微生物若为厌氧菌,则在常规环境下培养菌群的繁殖会受到极大影响。并且,部分样本中存在苛养菌、缓慢生长菌、L 型菌,上述菌群在常规培养条件下很容易受到营养、时间不足等因素的影响,导致生长受抑制。因此,最终的检验结果往往会受多种客观因素的影响以及制约,这无疑会导致检验结果失真,继而影响患者的临床治疗。

针对上述情况,在采用细菌培养和涂片镜检的过程中,应采取相应措施,降低多种因素的影响,以便最大限度保证检验结果的准确性。首先,要特别确保培养基的质量,保证培养基的硬度和培养液的清澈度,防止气泡出现。其次要对培养基中的酸碱值进行监测,由于有特殊要求的培养基往往会表现出不同颜色,因此要确保 pH 值波动度控制在  $\pm 0.2$  范围内,保证培养基作用得到充分发挥。另外要注

意标本采集工作的顺利进行,现有研究表明,标本采集时间与结果存在紧密联系,采集过程中要注意对采集时间的控制,具体要视患者情况的不同,确定采集时间,标本采集通常在用药前和用药后两个阶段进行,病情特殊者应在疾病典型期、急性期两个阶段进行样本采集<sup>[14]</sup>。在采集方式上,应根据检测需要和微生物特点进行采集,并保证采集环节做到无菌操作,以避免标本污染的情况发生。而在送检过程中,要及时进行送检,若路程过远,应加强对标本的保护,防止在运送时造成样本污染,具体可以根据实际情况,进行冷藏或真空保存等,而在进行样本交接时,应对样本进行检查,若存在样本暴露等问题,则视为不合格样本<sup>[15]</sup>。此外,在进行微生物检验时,室内环境通常也会影响检验结果,在环境不理想时,假阴性、假阳性结果发生的概率会明显增加,所以需要做好对实验室的保护工作,注意仪器的防潮和消毒,每日对实验室进行灭菌处理,保证室内达到无菌标准,按时检查消毒设施,对超过使用年限的设备应及时更换,并对实验室检验使用的玻璃器皿进行检查,检查过程中若发现器皿上有微生物残留,应及时进行灭菌处理。最后,在进行检验时要严格按照相关流程进行操作,调整压力、试剂剂量等,确保检验结果的准确性。本研究结果表明,采用细菌培养和涂片镜检联合的方法进行检验,能显著提升检验效果,但即便如此,还是有可能发生未检出的情况,这类情况的发生与多种因素有关,所以在此基础上进行检验时,要特别注意对细节的把握,尤其是要保证检验质量,强化对各个环节的控制,以此来保证整体的检验效果,最大限度避免假阳性和假阴性结果的出现,满足现实需要。另外还应注意的,在检验过程中要注意提升镜检标本的制作质量,最大限度减少人为因素导致的不合格标本,这有利于提升检验效果,并能为后续的细菌培养提供支持<sup>[10]</sup>。

本研究结果表明,细菌培养和涂片镜检联合应用能最大限度地确保检验结果的准确性,涂片镜检可以在短时间内初步判断样本中是否存在细菌,以及反映细菌的形态和数量。而细菌培养则可以进一步确认细菌的种类,并进行药敏试验,为临床治疗提供重要的依据。细菌培养和涂片镜检在微生物检验中相辅相成,为细菌培养提供筛选和诊断依据。但在具体应用上,还是容易出现假阴性等情况,针对此类问题要依据影响因素,采取具有针对性的措施,以

提升检验质量和结果准确性。

综上所述,细菌培养和涂片镜检联合应用,可以在微生物检验中发挥重要的作用,值得在临床工作中推广。

利益冲突 作者声明不存在利益冲突

## 参考文献

- 1 陈凤钻,林志坚,黄敏华.涂片检查在临床微生物检验中的应用效果分析[J].智慧健康,2022,8(31):37-40. DOI: 10.19335/j.cnki.2096-1219.2022.31.010.
- 2 李慧.细菌培养与涂片镜检在微生物检验中的价值分析[J].中国城乡企业卫生,2020,35(10):100-101. DOI: 10.16286/j.1003-5052.2020.10.040.
- 3 肖盟,杨启文,王瑶,等.中国现代临床微生物检验学科发展与前沿[J].中国科学(生命科学),2021,51(8):1085-1091. DOI: 10.1360/SSV-2021-0164.
- 4 吴晓玲.不同微生物检验法对念珠菌性阴道炎患者阴道分泌物的检验效果对比[J].中国实用医药,2023,18(4):88-90. DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2023.04.026.
- 5 韩晓云.细菌培养与涂片镜检在微生物检验中的临床价值分析[J].中国医药指南,2022,20(12):99-101.
- 6 杨绪良.涂片检查在临床微生物检验中的应用价值[J].中国农村卫生,2021,13(20):46-47. DOI: 10.3969/j.issn.1674-361X.2021.20.023.
- 7 席灵娟,张彩霞.300份临床微生物标本的病原菌耐药性分析[J].宁夏医学杂志,2021,43(10):951-953. DOI: 10.13621/j.1001-5949.2021.10.0951.
- 8 陈惠.微生物检验质量的影响因素与病原菌耐药性研究[J].检验检疫学刊,2019,29(1):81-82. DOI: CNKI:SUN:XDSJ.0.2019-01-024.
- 9 廖学峰.临床微生物检验中涂片检查应用的方法及效果[J].当代医学,2021,27(13):138-139. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4393.2021.13.057.
- 10 鲍任任,梅清,杨田军,等.宏基因组二代测序对重症社区获得性肺炎患者的病原学诊断及预后分析[J].中国中西医结合急救杂志,2023,30(3):271-276. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.03.004.
- 11 田英杰,于慧,王占黎.金黄色葡萄球菌耐药性及相关耐药基因分析[J].中国中西医结合急救杂志,2019,26(2):197-200. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2019.02.015.
- 12 朱刘丹,郑伟伟.影响微生物检验结果因素分析与质量控制策略[J].实用医技杂志,2021,28(11):1320-1322.
- 13 何敏霞,宛传丹,戈惠丽,等.临床呼吸道感染细菌培养检验中涂片镜检技术的病原学诊断价值研究[J].医学检验与临床,2022,33(1):39-42. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5013.2022.01.010.
- 14 刘慧英.不同微生物检验方法对妇科念珠菌阴道炎患者阴道分泌物检验的效果[J/CD].实用妇科内分泌电子杂志,2022,9(2):83-85. DOI: 10.3969/j.issn.2095-8803.2022.02.022.
- 15 冯娇,何仕钦,陈婧.946例肺结核患者痰液标本结核分枝杆菌涂片镜检与培养结果分析[J].特别健康,2021,(17):49-50.

(收稿日期:2023-06-25)

(本文编辑:邵文)