

## · 临床论著 ·

## 不同标本留取方法对细菌培养结果的影响

英媛媛<sup>1</sup> 徐佳傲<sup>2</sup> 丁雪<sup>2</sup> 任微<sup>2</sup> 孟冬娅<sup>2</sup> 褚美玲<sup>2</sup>

**【摘要】目的** 通过分析临床痰标本和角膜感染标本的留取方法与检测结果的关系,探讨不同标本留取方法对细菌培养结果的影响。**方法** 随机选择200例吸痰标本和200例咯痰标本,166例眼科角膜感染标本。统计细菌培养结果,对比分析不同方法之间细菌培养阳性率之间的差异。**结果** 吸痰留取的200例标本中,完全合格166份(合格率为83%),可接受标本34份;咯痰留取的200例标本中,完全合格标本108份,可接受标本92份,合格率为54%。咯痰标本阳性72份,阴性128份,阳性率为36%;咳痰标本细菌培养阳性44份,阴性156份,阳性率为22%。2种方法细菌培养阳性率差异具有统计学意义( $\chi^2 = 9.52, P < 0.05$ )。眼科角膜感染拭子法标本阳性率为0%,角膜刮片法阳性率为32.5%。眼科标本的不同留取方法与阳性率之间,具有统计学意义( $\chi^2 = 19.54, P < 0.01$ )。**结论** 不同标本留取方法对细菌培养结果的影响有显著性差异,临床医师、护士在日常工作中应高度重视患者标本的留取方法选择。

**【关键词】** 细菌培养; 标本留取; 合格率; 阳性率

**The influence of different methods of sputum specimens and ophthalmology specimens collection on the positive rate** Ying Yuanyuan<sup>1</sup>, Xu Jiaao<sup>2</sup>, Ding Xue<sup>2</sup>, Ren Wei<sup>2</sup>, Meng Dongya<sup>2</sup>, Chu Meiling<sup>2</sup>. <sup>1</sup>The Clinical Laboratory, Department of Hunnan Hospital, <sup>2</sup>The Clinical laboratory, General Hospital of Shenyang Military Area Command, Shenyang 110840, China

Corresponding author: Chu Meiling, Email: axue0257@sina.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the impact of different collecting methods of specimen on the positive rate of culture results, and to analyze the relationship between the collecting methods of corneal infection and clinical sputum specimens and the results. **Methods** Total of 200 sputum specimens collected by patient's self-coughing and 200 aspiration of sputum specimens, and 166 cases of eye corneal infection specimens were selected randomly. The differences between the bacterial culture positive rates of different methods were compared. **Results** Qualified sputum specimens by suction machine were 166, there were 34 acceptable specimens, with the qualification rate of 83%. Qualified sputum specimens by coughing were 108, there were 92 acceptable specimens, with the qualification rate of 54%. The positive of sputum specimens by suction machine were 72, the negative of specimens with suction machine were 128, with the positive rate of 36%. The positive of coughing were 44, the negative of coughing were 156, with the positive rate of 22%. Different methods of sputum specimen collection had significant difference ( $\chi^2 = 9.52, P < 0.05$ ) in statistical analysis with the positive rate. The positive rate of ophthalmology specimens by swabs was 0%, the positive rate of ophthalmology specimens by corneal scrapings was 32.5%. There was significant difference ( $\chi^2 = 19.54, P < 0.05$ ) in the positive rate collecting with different methods of ophthalmology specimen. **Conclusions** The impact of the specimen collecting methods on bacterial culture results has significant differences. The clinicians, nurses should pay more attention to the method selection of the specimens sampling in patients.

**【Key words】** Bacterial culture; Specimen collection; Positive rate; Qualified rate

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2015.05.014

基金项目: 辽宁省科技攻关计划 (No. 2011225021)

作者单位: 110840 沈阳市, 沈阳军区总医院浑南临床部检验科<sup>1</sup>、检验科<sup>2</sup>

通讯作者: 褚美玲, Email: axue0257@sina.com

影响检验质量的因素分为分析前、分析中和分析后3个阶段,分析前的阶段包括患者的准备、标本留取、运送到实验室等过程<sup>[1]</sup>。其中正确的标本留取方法是保证检验结果客观、真实反映病情的主要环节之一,与临床护理工作密切关系。尤其是微生物标本的留取,如留取方法不当常导致假阴性,影响患者治疗。本文针对临床实践中两种易发生留取方法不当的痰液标本、眼角膜溃疡标本为例,对不同留取方法对细菌培养结果的影响进行实例分析,以引起临床医师和护理人员的重视。

### 资料与方法

#### 一、一般资料

1. 标本来源: 随机选取2012年1~12月沈阳军区总医院咯痰留取和吸痰取痰标本各200例, 2008年4月至2012年12月沈阳军区总医院眼科住院角膜感染标本166例。

2. 主要仪器及试剂: 革兰染液(珠海贝索生物技术有限公司), 培养基(天津市金章技术发展有限公司), 奥林巴斯光学显微镜, 电热恒温培养箱, 生物安全柜(济南鑫贝西), 生物梅里埃全自动细菌鉴定仪VITEK Compact及配套试剂。

#### 二、试验方法

1. 标本收集: 痰标本收集: 咯痰法, 清晨双氧水漱口后, 用力咯出深部第一口痰于无菌痰盒中; 吸痰法, 将气管内的痰液吸到吸痰管中, 用无菌注射器连接一次性吸痰管, 将痰标本留取至一次性无菌痰盒中。

角膜标本: 拭子法, 用无菌盐水沾湿拭子, 将拭子滚动于角膜后放入无菌管中; 床边角膜片法, 患眼表面麻醉后, 采用一次性显微手术刀片在裂隙灯显微镜下操作完成后即进行涂片检查及床旁接种培养。

2. 涂片及培养: 涂片及培养接种全过程在生

物安全柜内进行。涂片取适量标本于载玻片上做好标记, 待完全干透进行加热固定后, 快速革兰染色(结晶紫-碘液-乙醇-沙黄), 自然风干后镜检。

痰标本质量判断标准: 参考《全国临床检验操作规程》第2版及蔡文诚编著《实用临床微生物诊断学》相关章节, 结合实际工作, 将涂片分为3类: 第一类: 鳞状上皮细胞 $\leq 10$ 个, 白细胞 $> 25$ 个/低倍视野, 这类为较理想标本; 第二类:  $10 < \text{鳞状上皮细胞} < 25$ 个, 白细胞 $> 25$ 个/低倍视野, 此类为可接受标本; 第三类为鳞状上皮细胞 $\geq 25$ 个/低倍视野, 此类为不合格标本。

痰标本的培养: 根据涂片结果将标本按痰标本质量判断标准记录。同时对合格及可接受标本接种进行细菌培养, 按培养目的相应接种血平板和中国蓝平板, 在35℃恒温箱培养24~48 h。沙氏培养基培养1周。

角膜标本的培养: 真菌培养与鉴定采用血培养基、中国蓝培养基, 35℃恒温箱培养24~48 h, 沙氏培养基培养3周。

3. 细菌鉴定: 有单一致病菌落, 直接可以鉴定。多种致病菌落, 分离纯化, 挑取致病菌, 再次进行细菌培养后鉴定。

#### 三、统计学处理

采用SPSS 10.0软件进行统计学分析, 计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验、Fisher确切概率检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

### 结果

#### 一、不同方法留取痰标本的涂片、培养结果

统计200份吸痰标本涂片结果, 其中合格标本166份, 可接受标本34份, 合格率为83%; 200份咯痰标本涂片结果, 其中合格标本108份, 可接受标本92份, 合格率为54%, 见表1。

#### 不同留取方法的痰标本细菌培养结果分析

表1 两组患者痰标本合格情况及细菌检出情况比较 [例 (%)]

组别	例数	合格情况		细菌检出情况	
		合格	可接受	阳性	阴性
吸痰组	200	166 (83)	34 (17)	72 (36)	128 (64)
咯痰组	200	108 (54)	92 (46)	44 (22)	156 (78)
$\chi^2$ 值		38.98		9.52	
P 值		< 0.05		< 0.05	

表2 两组眼科标本细菌培养结果比较

组别	阳性数	阴性数	合计	$\chi^2$ 值	P 值
拭子采集组	0	46	46		
角膜刮片组	39	81	120		
合计	39	127	166	19.54	< 0.05

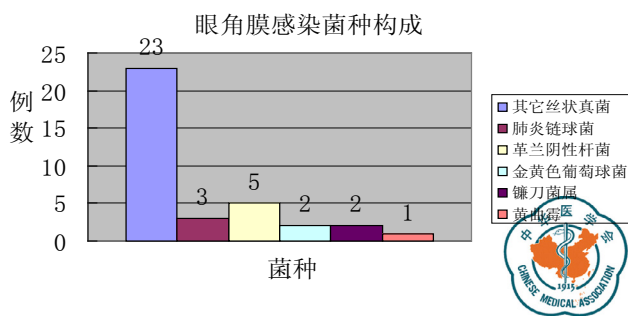


图1 眼科标本细菌培养阳性菌属分布情况

表明, 吸痰标本阳性72份, 阴性128份, 阳性率36%, 咯痰标本阳性44份, 阴性156份, 阳性率22%。痰标本的不同留取方法与阳性数之间, 经统计学分析有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 见表1。

## 二、不同方法留取角膜标本的培养结果比较

两组眼科标本细菌培养结果比较和细菌培养阳性菌属分布情况分别见表2和图1。2008年4月~2010年6月, 拭子采集送检验科涂片、培养; 2010年7月~2012年12月, 采用床旁角膜刮片直接涂片、接种培养。其中拭子采集46例, 阳性0例, 阳性率0; 角膜刮片120例, 阳性39例, 阳性率为32.5%。眼科标本的不同留取方法与阳性数之间, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

## 讨 论

少数患者没有掌握咯痰方法, 可能留取的是唾沫而非深部痰液, 为不合格的痰标本。如咯痰前没有进行充分的口腔清理, 口腔中仍然有杂菌, 虽然是深部痰, 也会受到污染。肖大全等<sup>[2]</sup>报道, 对该种痰标本用无菌生理盐水冲洗, 痰表面可减少口腔常驻菌的100倍, 脓性痰则可减少污染达1 000倍, 病原菌检出率增加10%, 大大增加了微生物实验室工作量。在医护人员的督导下辅助患者留取标本, 可提升标本留取的合格率<sup>[4]</sup>。痰标本留取不当可造成假阴性的结果, 或延长报告结果时间, 甚至导致细菌培养的结果无意义, 可能误导临床医生的用药治疗<sup>[5]</sup>。吸痰患者在清理好口腔后, 用吸痰机直接吸入深部痰进入无菌痰瓶, 减少污染的同时, 也保证痰标本为深部痰, 提高了细菌培养阳性率。从本文结果看, 吸痰和咯痰得到的痰标本的合格率及细菌培养阳性率有显著性差异。因此, 临床护士首先应该加强对能自主咯痰患者的督导, 保证在清洁口腔的基础上, 咯出深部痰标本送检; 对于咯痰无力及不能自主咯痰的患者, 应由医生或护士首先清

洁患者口腔, 然后吸取患者下呼吸道痰液送检。如果经气管镜采样培养则更有助于提高致病菌的检出率<sup>[6]</sup>。

角膜标本采集方法对检测结果的影响更大, 由于感染部分的角膜区域小, 用拭子法留取标本存在问题。留取的过程中, 可能产生因患区小, 不能明确是否留取, 留取后也无法判断留取到拭子的哪一部位; 留取的标本, 因标本送检不及时造成标本已干, 而检验人员仍然用此标本检验的话, 自然无法得到正确的检验结果, 使得阳性率降低。角膜刮片镜检法具有取材方便、检测快速及实验设备要求简单等优点<sup>[7]</sup>。本实验室通过改进标本采集方法, 送培养基到临床, 采用角膜刮片法, 用一次性显微手术刀片在裂隙灯显微镜下操作后立即进行床旁接种培养及涂片, 大大提高了角膜标本培养及涂片检测的阳性率, 培养结果中角膜感染的主要病原菌为丝状真菌, 这与其他报道结果一致<sup>[7-9]</sup>。

目前, 各医院都非常注重检验分析前质量控制对检验结果的影响, 纷纷制作标本留取手册, 对低年资医生、护士、实习生进行相关业务培训, 检验标本的留取有了巨大进步, 但在某些方面仍有待提高, 尤其是微生物标本的留取。在临床实践中除了本文讨论的两种微生物标本以外, 临床存在问题最大的是留置管患者的标本留取, 包括引流管、气管插管、尿管等。

引流管患者主要问题是医务人员图省事, 直接留取末端的液体标本送检, 更有个别护士从引流袋抽取引流液送检。对留置尿管的患者, 有2种方法: 可以拔除尿管, 拔管后用2%碘伏棉球消毒外阴及尿道口, 灭菌纱布擦干后, 无菌采集中段尿。若不能自主排尿, 进行尿道冲洗后更换新的导尿管, 采集首次从导尿管流出的尿液, 流出约15 ml尿之后, 收集尿液至无菌容器内。另一种方法: 如果尿管不能拔除, 可用75%乙醇消毒尿道口处(非末端)的导尿管壁, 夹住导尿管下端, 让尿液收集于管内, 用注射器斜穿管壁抽吸尿液 $\geq 3$  ml(切忌吸空)。同样忌讳集尿袋内的尿液, 导尿管末端的尿液标本送检。气管插管患者, 存在问题则是简单采用棉拭子在插管口涂取痰液, 或用吸痰器在插管内吸痰送检。正确方法应该用支气管镜法, 经支气管镜吸引、支气管肺泡灌洗、防污染毛刷采集。上述错误主要导致培养结果均为定植在管内的混合菌(一般大于3种), 貌似阳性结果实则无临床意义, 报告不当还会误导临床治疗。

综上, 目前临床标本具体采集方法的规范化文

件,在检验、护理相关教材、培训资料及各种手册中已经相当完善。急需的是在实际培训中,就临床易发生的问题,结合详尽的统计分析资料,引导医护人员准确选择采样方法,提高微生物标本采集的质量,进而提高微生物检验的阳性率及准确率。

### 参考文献

- 1 Bonini P. Errors in laboratory medicine[J]. Clin Chem,2002,48(4):691-698.
- 2 肖大全, 向小芬. 一种快速痰培养及药敏试验方法的探讨[J]. 现代医药卫生,2005,21(8):1005-1006.
- 3 韩松. 留取痰标本的方法及注意事项[J]. 中国民康医学,2007,19(2):136-137.
- 4 Shepherd IA, Kelly CM, Skene FM, et al. Enhancing graduate nurses, health assessment knowledge and skills using low-fidelity adult human simulation[J]. J Society Simulin Healthcare,2007,2(1):16-24.
- 5 王琼, 殷和, 王丽媛. 微生物标本分析前的质量控制[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(增):119-120.
- 6 Bartlett JG. Diagnostic tests for agents of community-acquired pneumonia[J]. Clin Infect Dis,2011,52(Suppl 4):296-304.
- 7 Cao J, Yang Y, Yang W, et al. Prevalence of infectious keratitis in Central China[J]. BMC Ophthalmol,2014(1):14:43.
- 8 Song X, Xie L, Tan X, et al. A multi-center, cross-sectional study on the burden of infectious keratitis in china[J]. PLoS One,2014,9(12):e113843.
- 9 Keay LJ, Gower EW, Iovieno A, et al. Clinical and microbiological characteristics of fungal keratitis in the United States, 2001-2007: a multicenter study[J]. Ophthalmology,2011,118(5):920-926.

(收稿日期: 2015-01-11)  
(本文编辑: 孙荣华)

英媛媛, 徐佳傲, 丁雪, 等. 不同标本留取方法对细菌培养结果的影响[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2015, 9(5): 657-660.

中华医学会