

三种因素对痰培养结果的影响

时金艳¹, 逢 宇^{2#}, 孟尔旺¹, 潘端伟^{1△} (1. 江苏省连云港市第四人民医院 222000; 2. 中国疾病预防控制中心结核病预防控制中心, 北京 102206)

【摘要】目的 通过分析痰标本阳性级别、患者治疗情况和储存时间等三种因素对培养结果的影响, 为基层实验室开展临床痰培养提供参考依据。**方法** 对江苏连云港第四人民医院实验室 2010 年 1~10 月痰培养数据进行分析。**结果** 该实验室涂阳患者痰培养共计 611 份, 分别统计了痰标本阳性级别、患者治疗情况和储存时间对培养结果的影响, 结果表明标本的储存时间对涂阳培阴率和污染率都有显著影响, 痰标本的阳性级别和患者的治疗情况仅影响涂阳培阴率, 而不影响污染率。**结论** 基层实验室在开展痰培养临床诊断时应提高标本质量, 并且在收集到标本 3 d 内完成痰培养; 此外, 需要进一步摸索适用于低阳性级别和复治患者的痰培养的方法, 以保证痰菌培养获得理想的结果。

【关键词】 结核分枝杆菌; 痰标本; 涂阳培阴率; 污染率

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.04.011 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)04-0406-03

Influence of the three factors on sputum culture results SHI Jin-yan¹, PANG Yu^{2#}, MENG Er-wang¹, PAN Duan-wei^{1△} (1. The Fourth People's Hospital of Lianyungang City, Jiangsu 222000, China; 2. Tuberculosis Control and Prevention Center, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China)

【Abstract】Objective To analyze the effect of positive grade of sputum, treatment status and storage time of sputum to the outcome of sputum culture, and to provide reference for clinical sputum culturing. **Methods** The sputum culture data from the Fourth People's Hospital of Lianyungang City between January and October in 2011 were analyzed. **Results** The influences of positive grade of sputum, treatment status and storage time of sputum towards culture result were analyzed among 611 sputum samples cultured from the laboratory. The results revealed that the storage time of sputum influenced the smear positive-culture negative rate and contamination rate significantly. In addition, the positive grade of sputum, treatment of patients only played a significant effect on smear positive-culture negative rate rather than contamination rate. **Conclusion** The basic laboratories should improve the quality of sputum samples when carrying out clinical diagnosis, and the culture process is required to be completed in 3 days after collection of sputum. In addition, it was necessary to improve the culture method for sputum of low positive grade and from re-treated patients in order to obtain ideal culture results.

【Key words】 tuberculosis; sputum sample; smear positive-culture negative rate; contamination rate

我国是世界上结核病负担最重的国家之一, 据估算我国现有活动性肺结核患者 500 万, 其中涂阳肺结核患者 150 万, 每年新发肺结核患者约 100 万^[1-2]。因此, 结核患者的早期发现和诊断对于我国结核病防治工作具有重要作用。目前, 痰涂片是我国使用最为广泛的结核病诊断技术^[3], 然而, 由于该方法的检测灵敏度较低, 因此仅作为筛查患者的方法; 传统罗氏培养被认为是实验室诊断活动性肺结核的金标准^[4], 与涂片相比, 培养灵敏度有显著的提高, 因而在临床诊断中发挥重要的作用。然而, 在临床工作中, 许多因素都可能影响罗氏培养的结果, 本研究本院临床收集的 611 份痰标本, 分别分析痰标本储存时间, 阳性级别, 患者用药情况等因素对痰培养结果的影响, 从而为临床痰培养工作提供一定的参考。

1 材料和方法

1.1 标本收集及储藏 2010 年 1~10 月, 本院收集的 611 份涂阳肺结核患者痰标本, 在收集标本同时获得患者的抗结核治疗状况。未进行培养的标本保存于 4℃ 冰箱。

1.2 方法

1.2.1 痰涂片及阳性级别 实验室采用萋-尼氏染色法, 结果报告标准参照《中国结核病防治规划实施工作指南》执行。

1.2.2 实验室痰培养 实验室采用中性离心法^[5]进行痰培

养, 每份患者标本培养两管。以无菌吸取前处理液 0.1 mL, 接种于 2 支中性罗氏培养基斜面上。将培养管斜面水平置于 37℃ 培养 24 h 后, 直立置于 37℃ 培养继续培养。接种后第 3 天和第 7 天观察培养情况, 而后每周观察并记录培养结果, 如在培养后第 8 周培养基上无菌落生长则报告培养阴性。其中, 涂阳培阴率 = 培养阴性的标本例数 / (培养阳性的标本例数 + 培养阴性的标本例数), 污染率 = 污染的培养管数 / 总培养管数。

1.3 统计学方法 采用 Microsoft Office 2003 进行数据录入, SPSS11.0 进行数据统计分析, 统计方法采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 不同因素对痰培养涂阳培阴率的影响 如表 1 所示, 611 份痰标本的涂阳培阴率为 20.5%, 当按照标本的阳性级别对标本进行统计时, 611 份标本中包括 23 份实际条数, 176 份 1+ 标本, 182 份 2+ 标本, 123 份 3+ 标本和 107 份 4+ 标本。随着阳性级别的提高, 痰标本的涂阳培阴率逐渐减小, 从 33.3% 降至 11.3%。选取涂阳培阴率最低的 4+ 的标本的涂阳培阴率作为基准, 其余阳性级别的结果分别和 4+ 进行比较后, 本文发现阳性级别为实际条数 ($\chi^2 = 6.68, P = 0.017$)、1+ ($\chi^2 = 10.04, P = 0.001$) 和 2+ ($\chi^2 = 5.54, P = 0.025$) 的痰标本

△ 通讯作者, E-mail: pantuanwei@126.com. # 共同第一作者。

的涂阳培阴率显著高于 4+ 的标本,而 3+ ($\chi^2=0.703, P=0.408$) 的标本涂阳培阴率与 4+ 差异无统计学意义。

表 1 痰标本的阳性级别对涂阳培阴率的影响

阳性级别	阳性 标本数(n)	阴性 标本数(n)	污染 标本数(n)	合计 (n)	涂阳 培阴率(%)	统计值 χ^2
实际条数	14	7	2	23	33.3	6.7
1+	126	45	5	176	26.3	10.0
2+	134	39	9	182	22.5	5.5
3+	101	18	4	123	15.1	0.7
4+	94	12	1	107	11.3	—
合计	469	121	21	611	20.5	—

注:统计值为以 4+ 标本作为对照,其余阳性级别标本结果与 4+ 结果对比统计得出。P 值均小于 0.01, — 表示无数据。

除了标本的阳性级别,笔者还按照标本来源患者的抗结核治疗的情况进行分析,结果如表 2 所示。在 611 份标本中,有 410 份来自于初治患者,201 份来自于复治患者,初治患者和复治患者的涂阳培阴率分别为 17.2% 和 27.1%,与初治患者相比,复治患者的涂阳培阴率显著提高($\chi^2=7.95, P=0.007$)。

表 2 病例抗结核治疗状况对涂阳培阴率的影响

病例治疗 情况	阳性 标本数(n)	阴性 标本数(n)	污染 标本数(n)	合计	涂阳 培阴率(%)	统计值 χ^2
初治患者	327	68	15	410	17.2	—
复治患者	142	53	6	201	27.1	8.0
合计	469	121	21	611	20.5	—

注:统计值为以初治患者标本作为对照,复治患者标本结果与其对比统计得出。P 值均小于 0.01, — 表示无数据。

在标本储存时间对涂阳培阴率的影响方面,笔者将标本的储藏时间分为三个区间:分别为小于 3 d, 3~7 d(含 7 d) 和大于 7 d, 在三个区间的标本分别包括 499 份、87 份和 25 份标本,其对应的涂阳培阴率分别为 16.2%, 40.2% 和 45.5%。与小于或等于 3 d 的标本的涂阳培阴率相比, 3~7 d ($\chi^2=24.78, P=0.000$) 和大于 7 d ($\chi^2=12.52, P=0.002$) 标本的涂阳培阴率都有极显著的提高, 差异有统计意义(表 3)。

表 3 痰标本的储存时间对涂阳培阴率的影响

标本储藏 时间	阳性 标本数(n)	阴性 标本数(n)	污染 标本数(n)	合计	涂阳 培阴率(%)	统计值 χ^2
≤3 d	409	79	11	499	16.2	—
3~7 d	48	32	7	87	40.0	24.8
>7 d	12	10	3	25	45.4	12.5
合计	469	121	21	611	20.5	—

注:统计值为以储藏时间大于或等于 3 d 的标本作为对照,其余标本结果与其对比统计得出, P 值均小于 0.01; — 表示无数据。

2.2 不同因素对痰培养污染率的影响 本研究共完成了 1 222 管培养, 其中培养结果为污染的 73 管, 培养为非污染的 1149 管, 污染率为 6.0%。当按照阳性级别进行统计时, 如表 4 所示, 对阳性级别为实际条数、1+、2+、3+、4+ 的标本分别完成了 46 管、352 管、364 管、246 管、214 管培养, 其中上述标本污染管数分别为 4 管、21 管、25 管、15 管和 8 管, 各阳性级

别的污染率分别为 8.7%、6.0%、6.7%、6.1% 和 3.7%。与 4+ 的污染率相比, 实际条数 ($\chi^2=2.11, P=0.234$), 1+ ($\chi^2=1.36, P=0.326$), 2+ ($\chi^2=2.45, P=0.139$), 3+ ($\chi^2=1.34, P=0.288$) 的污染率均与 4+ 相比差异无统计学意义。

表 4 痰标本的阳性级别对污染率的影响

阳性级别	非污染 管数(n)	污染 管数(n)	合计 (n)	污染率 (%)	统计值 χ^2
实际条数	42	4	46	8.7	2.1
1+	331	21	352	6.0	1.4
2+	339	25	364	6.7	2.5
3+	231	15	246	6.1	1.3
4+	206	8	214	3.7	—
合计	1 149	73	1 222	6.0	—

注:统计值为以 4+ 标本作为对照,其余阳性级别标本结果与 4+ 结果对比统计得出。P 值均小于 0.01; — 表示无数据。

在完成的培养的 1 222 管培养中, 有 820 管来源于初治患者, 其余 402 管来自于复治患者, 初治患者和复治患者的痰标本中培养的污染率各有 51 管和 22 管, 污染率分别为 6.2% 和 5.5%。分析初治患者和复治患者痰培养的污染情况时, 差异无统计学意义 ($\chi^2=0.27, P=0.700$) (表 5)。

表 5 病例的抗结核治疗状况对污染率的影响

患者治疗 情况	非污染 管数(n)	污染 管数(n)	合计	污染率 (%)	统计值 χ^2
初治	769	51	820	6.2	—
复治	380	22	402	5.5	0.27
合计	1 149	73	1 222	6.0	—

注:统计值为以初治患者标本作为对照,复治患者标本结果与其对比统计得出。P<0.01, 差异有统计学意义; — 表示无数据。

如表 6 所示, 标本储存的不同时间后, 包括小于或等于 3 d, 3~7 d 和大于 7 d, 进行培养的管数分别为 998 管、174 管、50 管, 各组污染管数分别为 52 管、20 管、7 管。当统计污染率时, 小于或等于 3 d 标本的污染率为 5.2%, 3~7 d 的污染率为 11.5% 和大于 7 d 的污染率为 14.0%。选择小于或等于 3 d 的标本为标准, 其余两组分别于其进行统计, 发现 3~7 d ($\chi^2=10.15, P=0.003$) 和大于 7 d ($\chi^2=6.92, P=0.018$) 的标本比小于或等于 3 d 的标本进行培养的污染率有显著的提高, 有统计学意义。

表 6 痰标本的储存时间对污染率的影响

标本储藏 时间	非污染 管数(n)	污染管数	合计	污染率(%)	统计值 χ^2
≤3 d	946	52	998	5.2	—
3~7 d	154	20	174	11.5	10.2
>7 d	43	7	50	14.0	6.9
合计	1143	73	1222	6.0	—

注:统计值为以储藏时间小于或等于 3 d 的标本作为对照,其余标本结果与其对比统计得出, P<0.01, 差异有统计学意义; — 表示无数据。

3 讨 论

结核分枝杆菌罗氏培养由于其灵敏度较高, 因此被认为是

实验室诊断的金标准,但是由于该方法需要使用强碱性溶液对标本进行消化,且操作步骤比较繁琐,因此,诸多因素对于培养的结果存在影响,其中标本的质量对于培养具有重要影响。

在本研究中,本文分析了不同因素对痰培养涂阳培阴率影响后,发现痰标本的阳性级别、患者的初复治情况以及标本的储藏时间对涂阳培阴率均有显著性影响。其中,标本的阳性级别越高,涂阳培阴率越低,且统计差异越显著。上述结果可能是由于结核分枝杆菌罗氏培养采用高浓度的 NaOH 处理痰标本以达到消化痰液并去杂菌的作用,但是强碱性对结核分枝杆菌也有一定的破坏性,因此,随着痰标本的阳性级别降低,涂阳培阴率提高。复治患者被认为是曾经或者正在使用抗结核药物,本研究中复治患者标本的涂阳培阴率显著高于初治患者,推测可能是由于抗结核药物对结核分枝杆菌的杀伤作用,导致复治患者中的活菌的数目减少,而初治患者由于未服用抗结核药物,因此痰标本中活菌比例较高,因此标本的涂阳培阴率在初治患者中显著高于复治患者。此外,标本的储藏时间较长使得标本中的活菌数目以及结核杆菌的活力下降,进而使痰培养的涂阳培阴率降低,该结果与 Paramasivan 等报道的结果类似^[6]。

在污染率方面,本研究发现标本的储藏时间对培养污染率有显著性影响,而标本的阳性级别以及患者的初复治情况对培养污染率没有影响。结核分枝杆菌属于慢生长分枝杆菌,它的繁殖和代谢过程都较慢,体外培养周期较长(4周左右)。在标本的储藏过程中,相比于结核分枝杆菌,其他微生物的繁殖速度显著快于结核分枝杆菌,因此标本中的其他病原微生物以及在标本收集过程中污染的其他微生物所占比例不断提高,而结核分枝杆菌所占比例不断降低,上述状况在培养结果中反映为污染率显著提高。

(上接第 405 页)

本研究中缺血性脑卒中患者血清 Cyc 表达水平较健康对照组明显升高,也证明了 Cyc 表达在缺血性脑卒中的发生发展中扮演了非常重要的角色。同时本研究中也发现 Hp 感染阳性的缺血性脑卒中患者血清 Cyc 表达水平明显高于 Hp 感染阴性患者($P < 0.05$),说明缺血性脑卒中患者血清 Cyc 表达水平的升高可能与 Hp 感染有关,推测 Hp 感染可能通过调控机体炎症反应、引发糖脂和 Cyc 等物质代谢紊乱及直接作用血管内皮细胞损伤或功能障碍等机制直接或间接地启动及加速动脉粥样硬化的发展过程,促进缺血性脑卒中发生、演进。

综上所述,本研究结果不但提示 Hp 感染与缺血性脑卒中发生有相关性,也发现 Hp 感染可能通过对血脂代谢及血清 Cyc 表达水平的影响而促进缺血性脑卒中的发生和演进。但今后 Hp 感染与缺血性脑卒中关系的机制研究仍需从病理、生化及分子生物学多方面进行基础研究,为防治缺血性脑卒中提供新的思路 and 理论依据。

参考文献

[1] 沈武钢,邱晓平. 550 例脑卒中患者的相关危险因素分析[J]. 实用新医学,2008,9(12):1088-1089.

[2] 陈星海,王育珊,王江滨. 急性冠脉综合征患者幽门螺杆菌感染状况调查及其致病危险性分析[J]. 中国急救医学,2007,27(5):385-388.

[3] 王岳屏,谌剑飞,严颂琴,等. 幽门螺杆菌感染与冠心病的

涂阳培阴率和污染率被认为是实验室中室内质控的一个重要标准,然而诸多因素均会影响培养结果,本研究第一次阐述了基层地市级结核病专科医院开展痰菌培养以及影响痰菌培养的因素,通过本研究发现标本的储藏时间对于涂阳培阴率以及污染率的影响最为显著,因此,建议实验室在收集到标本 3 d 内应该开展传统培养;后续研究将围绕针对阳性级别较低以及复治患者的标本的前处理方法的改进展开,以保证痰菌培养获得理想的结果。

参考文献

[1] 刘剑君,姜世闻,成诗明. 中国结核病控制现状分析及对策[J]. 中国防痨杂志,2003,25(3):129-131.

[2] 陈海强,罗凯. 207 例痰标本涂片检查对培养结果分析[J]. 检验医学与临床,2011,8(6):741-742.

[3] 葛伦传. 肺结核的防治新进展[J]. 临床肺科杂志,2004,9:659-660.

[4] 胡忠义. 结核分枝杆菌耐药性快速测定方法及其评价[J]. 中华结核和呼吸杂志,2003,26(2):107.

[5] 卫生部疾病预防控制局,卫生部医政司,中国疾控预防控制中心. 中国结核病防治规划实施工作指南[S]. 北京:中国协和医科大学,2009:12-13.

[6] Paramasivan CN, Narayana A, Prabhakar R, et al. Effect of storage of sputum specimens at room temperature on smear and culture results [J]. Tubercle,1983,64(2):119-124.

(收稿日期:2012-07-25 修回日期:2012-10-13)

关系研究[J]. 疑难病杂志,2008,7(2):74-76.

[4] 王鑫,育珊,刘忠民. 幽门螺杆菌感染对血脂代谢的影响[J]. 中国医学研究与临床,2008,6(9):29-30.

[5] 黄冰生,程颖,解强,等. 幽门螺杆菌感染对冠心病患者血脂和血浆高敏 C 反应蛋白的影响[J]. 中国动脉硬化杂志,2008,16(5):389-391.

[6] Shlipak MG, Katz R, Cushman M, et al. Cystatin C and inflammatory markers in the ambulatory elderly[J]. Am J Med,2005,118(12):1416-1416.

[7] Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, et al. Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons[J]. N Engl J Med,2005,352(13):2049-2060.

[8] 李京华,李江,曹宁,等. 急性脑梗死患者血同型半胱氨酸及胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 水平变化及意义[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志,2008,15(4):282-284.

[9] Ni L, Lu J, Hou LB, et al. Cystatin C, Associated with hemorrhagic and ischemic stroke, is a strong predictor of the risk of cardiovascular events and death in chinese[J]. Stroke,2007,38(12):3287-3288.

[10] 郭方圆,李正仪,邓美英. 胱抑素 C 与脑血管疾病相关性的研究进展[J]. 中华脑血管病杂志(电子版),2009,3(6):298-302.

(收稿日期:2012-07-04 修回日期:2012-12-19)