

论 著

革兰染色在真菌菌丝鉴别中的价值

王秀媛

作者单位: 301800 天津, 天津市宝坻区中医医院检验科

通讯作者: 王秀媛, Email: kxjy_616@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2018.01.004

【摘要】 目的 探讨痰涂片革兰染色在真菌的真假菌丝鉴别中的价值。**方法** 对 2016 年 1 月—2017 年 6 月天津市宝坻区中医医院门诊及住院患者的 1 718 例痰液标本进行痰涂片革兰染色, 之后对痰涂片上发现真菌菌丝的 370 例痰液标本进行常规的真菌培养鉴定, 观察和记录结果, 并进行相关性分析。**结果** 1 718 例痰液标本中, 有 318 例发现革兰阳性假菌丝, 52 例发现革兰阴性菌丝, 其他标本未发现真菌菌丝; 对 370 例痰液标本的培养鉴定结果显示, 318 例革兰阳性假菌丝痰液标本生长的菌落均为假丝酵母菌, 52 例革兰阴性菌丝痰液标本生长的菌落均为曲霉菌。**结论** 痰涂片革兰染色可作为真菌的真假菌丝鉴别方法之一。

【关键词】 痰涂片; 革兰染色; 真假菌丝; 抗真菌

Significance of Gram's staining method in identification of fungal hyphae

Wang Xiuyuan. Department of Clinical Laboratory, Baodi Chinese Medicine Hospital, Tianjin 301800, China

Corresponding author: Wang Xiuyuan, Email: kxjy_616@163.com

【Abstract】 Objective To estimate the value of Gram's staining method used for sputum smear in the identification between true and false fungal hyphae. **Methods** From January 2016 to June 2017, the Gram's staining was made for 1 718 sputum smear specimens collected from outpatients and inpatients in Baodi Chinese Medicine Hospital of Tianjin. The fungal hyphae were found in sputum smear specimens of 370 patients, then their sputum fungal cultures were done routinely to identify the true or pseudo hyphae, the observation situations and results were recorded, and the correlation analyses were carried out. **Results** Among the sputum smear samples of 1 718 patients, the gram-positive pseudohyphae were found in 318 cases, gram-negative hyphae were shown in 52 cases, and no fungal hyphae were found in other smear samples; the 370 sputum culture identification results showed that growing fungal colonies in 318 specimens with gram-positive pseudohyphae were all belong to pseudohyphae candida, while the growing colonies in the 52 specimens with gram-negative hyphae were all belong to aspergillus. **Conclusion** The sputum smears of Gram stain can be used as one of the methods to identify the true or pseudo hyphae.

【Key words】 Sputum smear; Gram's stain; Fungal true and pseudo hyphae; Antifungus

侵袭性肺真菌病(invasive fungal disease, IFD)的主要病原体有曲霉、隐球菌和假丝酵母菌^[1-2], 已经成为临床常见的感染性疾病, 合理选择抗真菌药物治疗至关重要^[3]。对涂片进行革兰染色检查是病原学诊断的经典方法, 也是最直接、最简便、最快捷的鉴定方法^[4]。通常镜下鉴别真菌时, 是依据其形态学特点来进行区分的, 但是在不同来源的标本中, 有的真菌菌丝的形态特点并不典型, 很难区分^[5]。而规范的标本涂片革兰染色可将不同的真菌菌丝染成阴性或阳性菌丝体, 可作为真假菌丝鉴别方法之一。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2016 年 1 月—2017 年 6 月我院门诊及住院患者的 1 718 例痰液标本。

1.2 仪器和试剂 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定系统及真菌鉴定卡(法国生物梅里埃公司), 奥林巴斯显微镜, 沙保弱琼脂平板(金章公司), 革兰染色液(贝索生物技术有限公司)。

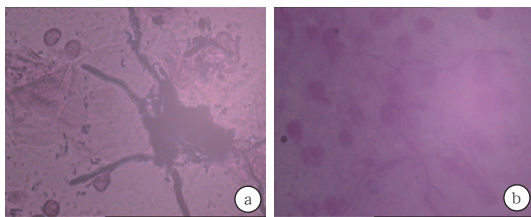
1.3 方法 对收集的 1 718 例痰液标本进行涂片, 涂片应薄切均匀(透过涂片部位可看清下面印刷品的字迹)。自然干燥后, 经火焰快速固定 3 次, 革兰染色, 晾干后读片。之后将痰涂片上发现真菌菌

丝的 370 例痰液标本接种于沙保弱琼脂平板,培养 24~48 h,并进行鉴定。

1.4 统计学方法 对上述革兰染色不同的两种真菌菌丝的实验数据进行处理,非配对资料用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 1 718 例痰液标本革兰染色镜检结果 1 718 例痰液标本中,有 318 例经革兰染色涂片后发现革兰阳性的真菌菌丝,如图 1a;有 52 例经革兰染色涂片后发现革兰阴性的真菌菌丝,如图 1b;其他标本未发现真菌菌丝。



注:a 为痰涂片革兰阳性假菌丝 革兰染色 $\times 400$, b 为痰涂片革兰阴性菌丝 革兰染色 $\times 400$

图 1 1 718 例痰涂片革兰染色镜检结果

2.2 370 例痰液标本培养鉴定结果 上述 370 例发现真菌菌丝的痰液标本中,318 例革兰阳性的真菌菌丝痰液标本生长的菌落均为酵母型,经鉴定其中 286 例为白假丝酵母菌,32 例为其他酵母菌,如热带假丝酵母菌、副热带假丝酵母菌、近平滑假丝酵母菌、克柔假丝酵母菌等;52 例革兰阴性的真菌菌丝痰液标本生长的菌落均为霉菌型,经鉴定其均为曲霉菌。

2.3 两种方法结果比较 370 例痰液标本中真菌菌丝的革兰染色结果和培养鉴定结果一致($P>0.05$),见表 1。

表 1 痰标本涂片革兰染色结果与培养鉴定结果的比较

类别	样本数 (例)	培养鉴定结果(例)	
		假丝酵母菌	曲霉菌
革兰阳性	318	318	0
革兰阴性	52	0	52

3 讨论

我国 IFD 的主要病原体为曲霉、隐球菌和假丝酵母菌,而肺是 IFD 最常见的靶器官^[6-8]。通常感染真菌的患者痰液中可见真菌的真菌丝体,如曲霉菌感染患者;以及假菌丝体,如白假丝酵母菌感染

患者^[4,9-10]。两种菌丝在痰液标本中有时依据形态特点不太容易区别。如果对规范的标本涂片进行革兰染色后,由于假丝酵母菌的假菌丝被染成革兰阳性,曲霉菌菌丝被染成革兰阴性,故可作为鉴别菌丝的主要依据^[6]。

在选择抗真菌感染用药方面,氟康唑对除克柔假丝酵母菌和光滑假丝酵母菌外的其他假丝酵母菌都是高度敏感的,而且易口服吸收、安全、组织穿透力强等优点;而曲霉菌中的烟曲霉、黄曲霉、土曲霉等对氟康唑是天然耐药的^[11-14]。我们通过痰液涂片革兰染色观察真菌的形态特点,结合染色属性区分感染的真菌类型,可在 1~2 h 内为临床提供抗真菌用药的参考依据,为临床有效的诊断治疗提供重要信息。

参考文献

- 侯莉莉,刘莉莉,党萍,等.河北省三甲医院 2013 至 2016 年呼吸道感染致病菌变化特点分析:附单中心 7497 例病例报告[J].中华危重病急救医学,2017,29(9):799-804.
- 马冬梅,陶庆春,齐宏伟.肺部感染病原菌分布及耐药性分析[J].实用检验医师杂志,2011,3(3):159-161.
- 许宏涛.涂片检查在临床微生物检验中的应用意义[J].中华检验医学杂志,2016,39(5):396-398.
- 杨启文,徐英春.侵袭性真菌病的非培养实验室诊断方法[J].中华检验医学杂志,2014,37(10):721-724.
- 王秀媛,刘玉英.临床微生物的快速诊断的方法学研究进展[J].实验与检验医学,2015,33(3):307-309.
- 张静,何礼贤.侵袭性肺真菌病诊治指南解读[J].中国药物应用与监测,2011,8(5):261-265.
- 熊丽丽,段京京,宁永忠,等.支气管肺泡灌洗液细菌学和真菌学分析[J].中华检验医学杂志,2014,37(10):784-786.
- 刘卫平,孙德俊,闫志刚,等.呼吸内科患者医院感染特点及危险因素分析[J].中华医院感染学杂志,2017,27(18):4127-4130,4135.
- 全博,黄晓英,胡章良.30 例肺部曲霉菌感染的微生物检验与临床诊治体会[J].检验医学与临床,2015,12(Suppl 2):73-74.
- 王辉,马筱玲,宁永忠,等.细菌与真菌涂片镜检和培养结果报告规范专家共识[J].中华检验医学杂志,2017,40(1):17-30.
- 苏建荣,丁秀荣.棘白菌素类药物对念珠菌的耐药机制及抗真菌活性检测的研究进展[J].中华检验医学杂志,2013,36(7):588-591.
- 刘正印,王爱霞.抗真菌药物的研究进展[J].中国抗生素杂志,2006,31(2):69-71.
- 刘海峰,周柱江,胡靖青,等.综合重症加强治疗病房医院感染的常见致病菌分析及耐药性监测结果[J].中国中西医结合急救杂志,2015,22(4):382-385.
- 毛莎,杨春艳,刘小丽,等.肝移植术后中远期肺部真菌感染特点及对策[J/CD].实用器官移植电子杂志,2014,2(1):13-15.

(收稿日期:2018-01-12)

(本文编辑:张耘菲)