

• 临床检验研究论著 •

结核分枝杆菌快速培养基临床应用研究*

温贵华^{1△}, 刘晋洪¹, 刘 婷¹, 陈 伊¹, 郭夏娜¹, 翁琼琳¹, 邱勇龙¹, 陈爱蓉²
(1. 广东省深圳市宝安区慢性病防治院 518133; 2. 北京大学深圳医院, 广东深圳 518001)

摘要:目的 评价分枝杆菌变色液体培养基快速检测痰标本结核分枝杆菌的可靠性。方法 将 230 例疑似肺结核患者痰标本接种于分枝杆菌变色液体培养基和酸性罗氏培养基培养, 进行对照平行测定。结果 230 例痰涂片标本检出阳性率为 27.8%; 变色液体培养基和酸性罗氏培养基培养阳性率分别为 47.4%, 47.0%, 两种方法阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 分枝杆菌变色液体培养基检测结核分枝杆菌具有特异、快速、可靠等优点, 对结核患者的早发现、早治疗具有积极意义。

关键词: 结核, 肺; 分枝杆菌结核; 快速培养基
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.007 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)05-0526-02

Clinical application of rapid culture medium of Mycobacterium tuberculosis

Wen Guihua^{1△}, Liu Jinhong¹, Liu Ting¹, Chen Yi¹, Guo Xia'na¹, Weng Qionglin¹, Qiu Yonglong¹, Chen Aorong²
(1. Baoan Chronic Disease Control Center, Shenzhen Guangdong 518133, China;
2. Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen Guangdong 518001, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the reliability of color-changing liquid culture mediums for the rapid detection of Mycobacterium tuberculosis (MTb). **Methods** Rapid liquid culture mediums and Lowenstein-Jensen cultures were applied to detect MTb in 230 cases of sputum specimens from patients of Tuberculosis Clinic at the same time. **Results** of the 230 cases of sputum specimens, the positive rates of sputum smear test, rapid liquid culture test and Lowenstein-Jensen culture test were 27.8%, 47.4% and 47.0%, respectively. There was no significant differences of the positive rate between the two methods for cultivation of MTb ($P>0.05$). **Conclusion** Color-changing liquid cultivation, with advantages such as specific, reliable and fast for the detection of MTb, might have positive significance for early detection and therapy of patients with tuberculosis.

Key words: tuberculosis, pulmonary; mycobacterium, tuberculosis; rapid culture mediums

结核病严重危害人类健康, 已成为重大的公共卫生问题和社会问题。中国结核疫情和结核分枝杆菌耐药情况相当严重, 因此结核病已成为重点防治的传染病^[1-4]。控制结核病的关键在于早期诊断, 准确鉴别诊断结核病和非结核分枝杆菌感染, 快速检出多药耐药菌株, 以便早期治疗。涂片抗酸染色查找抗酸杆菌阳性率低, 常用固体培养基培养时间长。尽管分枝杆菌快速检测仪 (BACTEC 460TB, 960, ESP II 和 3D) 能快速检出分枝杆菌, 但仪器及试剂价格昂贵, 难以在基层实验室推广。所以分枝杆菌诊断技术的发展远远不能满足临床实验室的需要^[5-8]。近年来, 变色液体培养基的应用越来越多, 因此, 笔者对以变色液体培养基培养分枝杆菌的结果可靠性进行了研究, 并与酸性罗氏培养基临床应用效果进行了比较, 结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 9 月 1~20 日于深圳市宝安区慢性病防治院结核门诊就诊疑似肺结核初诊患者 230 例, 临床症状包括慢性咳嗽、咳痰 3 周以上或伴有咯血等, 胸部 X 片检查可见阴影。

1.2 仪器与试剂 分枝杆菌变色液体培养基由深圳市怡百世生物技术有限公司提供, 为进一步法分枝杆菌快速培养、鉴定及药敏试剂盒。酸性罗氏培养基由深圳市慢性病防治中心病原检验科提供。10 株人型结核分枝杆菌由深圳市宝安区慢性病防治院检验科鉴定、确认和保存。

1.3 方法

1.3.1 痰标本采集及预处理 所有患者于抗结核治疗前采集

合格的浓痰标本。取部分痰标本制备痰涂片, 制备方法参照相关文献, 并经抗酸染色后镜检^[9-11]。余下痰标本按试剂盒说明书要求进行培养前处理。

1.3.2 分枝杆菌变色液体培养基培养 将经前处理的标本混匀后接种于变色液体培养基, 充分混匀后, 取 200 μ L 混匀液加入微孔板各孔中, 再向各孔中加入无菌液状石蜡 50 μ L, 37 $^{\circ}$ C 培养; 按试剂盒说明书要求观察培养瓶和各反应孔颜色变化, 判读并记录培养瓶、培养孔结果 (本研究不记录药敏结果)。

1.3.3 酸性罗氏培养基培养 将经前处理的标本按说明书要求接种酸性罗氏培养基, 37 $^{\circ}$ C 培养。

1.3.4 质量控制 全程用卡介苗 (BCG) 菌株进行质量监控, 确保结果在质控范围内。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 统计学软件进行统计分析。计数资料以百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 痰涂片结果 230 例痰涂片阳性检出率为 27.8% (64/230)。

2.2 标准菌株培养结果 10 株人型结核分枝杆菌标准株在变色液体培养基中均生长良好, 培养 4~9 d 后可见培养基变为紫红色, 底层紫色沉淀经抗酸染色呈阳性; 在酸性罗氏培养基上培养 2 周后均生长良好。

2.3 痰标本培养结果 64 例痰涂片阳性患者痰标本在变色液体培养基和酸性罗氏培养基培养均为阳性; 166 例痰涂片阴性患者痰标本中, 23 例仅在变色液体培养基培养为阳性, 22 例

* 基金项目: 2010 年深圳市科技计划项目 (201003376)。 △ 通讯作者, E-mail: mbywgh@126.com。

仅在酸性罗氏培养基培养为阳性,22 例在两种培养基培养均为阳性。变色液体培养基阳性检出率为 47.4%(109/230),酸性罗氏培养基阳性检出率为 47.0%(108/230),组间阳性检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。变色液体培养基和酸性罗氏培养基涂片阳性标本的平均时间分别为 12、18 d,检出涂片阴性但培养阳性标本的平均时间分别为 23、31 d,污染率分别为 4.4%(10/230)和 2.2%(5/230)。

3 讨 论

加强实验室质量控制,提高痰菌检出率,发现传染源是治疗结核病和控制结核病流行关键措施。早期及时发现传染源更是控制结核病流行的主要环节。早期发现结核病和非结核分枝杆菌感染患者,特别是快速发现多药耐药和泛耐药结核病患者,对临床及时、合理使用抗菌药物,减少疾病传播及结核病的彻底控制极为重要。如何提供有坚实的技术支持的快速诊断方法日益受到广泛关注。为此,本研究对分枝杆菌变色液体培养基的临床应用效果进行初步探索,以期为该检测系统的广泛推广奠定基础。

本研究中,10 株分枝杆菌标准株在变色液体培养基和酸性罗氏培养基中均生长良好,表明试验过程可行。变色液体培养基为营养丰富的选择性培养基,其组成成分中的抗菌药物可抑制其他微生物生长,而丰富的营养则可促进分枝杆菌生长,培养基中的色素底物在活的分枝杆菌的作用下被分解而使培养基变为紫红色。

本研究中的临床标本检测表明,64 例痰涂片阳性患者痰标本变色液体培养基和酸性罗氏培养基培养均为阳性,说明两法具有良好可比性,特异度为 100.0%;230 例痰标本经两种培养基培养,前者阳性检出率为 47.4%(109/230),后者为 47.0%(108/230),组间阳性检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。痰涂片阳性标本经变色液体培养基和酸性罗氏培养基培养,培养阳性结果的平均检出时间分别为 12、18 d,痰涂片阴性标本培养阳性结果的平均检出时间分别为 23、31 d,说明变色液体培养基培养阳性结果检出时间较酸性罗氏培养基短。变色液体培养基和酸性罗氏培养基的污染率分别为 4.4%(10/230)和 2.2%(5/230),虽在可控制范围之内,但有较大差

异,说明变色液体培养基污染率相对较高,相关原因有待进一步深入研究。

本研究结果与王莉莉等^[12]所进行的变色液体培养基相关研究结果较为一致,均说明变色液体培养基具有操作简便、费用低廉、无需特殊仪器,特异度、灵敏度、可比性较好等优点,值得在基层医疗机构推广应用。

参考文献

[1] 珥凤玲,王黎霞,李亮.中国全球基金耐多药结核病项目阶段性实施结果分析[J].中国防痨杂志,2010,32(11):700-704.

[2] 刘宇红,姜广路,赵立平,等.第四次全国结核病流行病学抽样调查-结核分枝杆菌耐药性分析与评价[J].中华结核和呼吸杂志,2002,25(4):224-227.

[3] 钟球,尹建军,钱明,等.广东省结核病耐药性基线调查研究[J].中国防痨杂志,2011,33(7):393-399.

[4] 李尚伦.耐多药肺结核防治筹资研究综述[J].中国防痨杂志,2011,33(4):244-247.

[5] 韩敏,乐军.结核病诊断和耐药性检测新技术[J].国际检验医学杂志,2010,31(3):260-262.

[6] 吴雪琼,张宗德,乐军.分枝杆菌分子生物学[M].北京:人民军医出版社,2010:1-185.

[7] 李鹏,马艳娇,夏伟,等.环介导等温扩增在病原诊断中应用[J].国际检验医学杂志,2011,32(3):343-344.

[8] 温贵华,薛碧媚.3 种检测方法诊断结核病结果分析[J].国际检验医学杂志,2007,28(6):507-508.

[9] 卫生部结核病控制中心.痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册[M].北京:中国协和医科大学出版,2009:7-14.

[10] 丛玉隆,尹一兵,陈瑜.检验医学高级教程(下册)[M].北京:人民军医出版社,2010:992-995.

[11] 刘小立,冯铁建,样应周.慢性病防治工作规范[M].北京:人民卫生出版社,2010:243-245.

[12] 王莉莉,张莹蓉,胡忠义.分枝杆菌快速变色培养基应用初探[J].中华结核和呼吸杂志,2001,24(8):460-461.

(收稿日期:2011-12-03)

(上接第 525 页)

为 CIN I 患者,采用 P16 蛋白免疫组化检查进行分流,尤其是对于 P16 蛋白表达评分大于或等于 6 分,年龄大于或等于 30 岁患者,宜早期给予临床干预,预防病变进展。目前,更大样本量的临床前瞻性研究仍在进行中,科学的临床干预方案有待进一步总结制订。

参考文献

[1] Wang SS,Sherman ME,Hildesheim A,et al. Cervical adenocarcinoma and squamous cell carcinoma incidence trends among white women and black women in the United States for 1976-2000[J]. Cancer,2004,100(5):1035-1044.

[2] Eleuterio J Jr,Giraldo PC,Goncalves AK,et al. Prognostic markers of high-grade squamous intraepithelial lesions: the role of p16INK4a and highrisk human papillomavirus[J]. Acta Obstet Gynecol Scand,2007,86(1):94-98.

[3] Gatalica Z,Lele SM,Rampy BA,et al. The expression of Fhit protein is related inversely to disease progression in patients with breast carcinoma[J]. Cancer,2000,88(6):1378-1383.

[4] Graflund M,Sorbe B,Sigurdardóttir S,et al. Relation between

HPV-DNA and expression of p53, bcl-2, p21WAF-1, MIB-1, HER-2/neu and DNA ploidy in early cervical carcinoma: correlation with clinical outcome[J]. Oncol Rep,2004,12(1):169-176.

[5] Hoory T,Monie A,Gravitt P,et al. Molecular epidemiology of human papillomavirus[J]. J Formos Med Assoc,2008,107(3):198-217.

[6] 刘从容. HPV 感染的宫颈病理学进展[J]. 现代妇产科进展,2011,20(5):337-339.

[7] Eun JN. Expression of the p16INK4a and Ki-67 in relation to the grade of cervical intraepithelial neoplasia and high-risk human papillomavirus infection[J]. J Gynecol Oncol,2008,19(3):162-168.

[8] Negri G,Vittadello F,Romano F,et al. P16(INK4a) expression and progression risk of low-grade intraepithelial neoplasia of the cervix uteri[J]. Virchows Arch,2004,445(6):616-620.

[9] 张凌,杜辉,刘志红,等.年龄与 HPV 载量对细胞学阴性宫颈上皮内瘤变的辅助诊断价值[J].中国妇产科临床杂志,2011,12(4):256-260.

(收稿日期:2011-12-10)