

续表 1	各项检测精密度和结果对比分析[n/n(%)]	
检测项目	精密度	保存前后结果差异
GLU		
++++ (56 mmol/L)	25/26(96. 2)	29/30(96. 7)
+++ (17 mmol/L)	28/29(96. 5)	36/37(97. 3)
++ (6 mmol/L)	35/36(97. 2)	49/50(98. 0)
+(3 mmol/L)	33/34(97. 0)	32/34(94. 1)
NIT(+)	26/27(96. 3)	30/32(93. 4)
KET		
++++ (15 mmol/L)	21/22(95. 4)	19/20(95. 0)
+++ (5 mmol/L)	19/20(95. 0)	21/22(95. 4)
++ (1. 5 mmol/L)	30/31(96. 8)	26/27(96. 3)
+(0. 5 mmol/L)	33/34(97. 0)	31/32(96. 9)
RBC		
+++++ (250×10 ⁶ /L)	28/29(96. 5)	30/41(73. 2)
++++ (150×10 ⁶ /L)	31/32(96. 8)	23/31(74. 2)
+++ (50×10 ⁶ /L)	24/25(96. 0)	25/36(69. 4)
++ (25×10 ⁶ /L)	27/28(96. 4)	27/40(67. 5)
+(10×10 ⁶ /L)	40/42(95. 2)	28/45(62. 2)

3 讨 论

本研究显示,尿标本冷藏前后常规检测精密度基本无变化,重复性好。但检测结果变化程度随检测指标的不同而不同。冷藏前后, GLU, NIT, KET 结果一致性好,可采用冷藏保存标本进行复查;RBC 会出现假阴性结果,PRO 和 WBC 检测结果不确定,假阳性或假阴性结果均可出现,可能与样本数量有关。因此,标本冷藏保存对于 RBC、PRO 及 WBC 复查意义不大。

尿液化学分析已完全实现了自动化^[3]。Miditron Junior II 半自动尿液分析采用多联尿干化学试带,可同时检测尿液中 10 种成分^[4]。半自动尿液测量试纸测试尿液反射率比人工观察结果更精确,且测试精度较为恒定^[5-6]。干化学法测定 RBC 基于完成或受损 RBC 可释放血红蛋白,后者具有过氧化物酶活性,可氧化色原显色,既能测定完整 RBC 又可测定游离血红蛋白^[7]。干化学法测定 WBC 基于中性粒细胞胞内含有酯酶,可催化吲哚酚,后者与重氮盐反应呈现紫色复合物,颜色深浅

• 检验技术与方法 •

和细胞多少呈比例关系。受方法学本身的限制,RBC、WBC 检测可出现假阴性或假阳性结果^[8]。此外,仪器检测结果和镜检结果的可对比需进一步加以证实。

试纸条保存状态尤为重要,有研究表明试纸条长期暴露空气中可导致 NIT 检测特异性降低^[9],并造成 GLU、RBC 假阴性结果^[10]。为避免上述情况,本研究试验过程中保证了试纸条的密封性和完整性。

参考文献

[1] Nagel DW, Seiler DJ. Urinalysis with the new fully automated analyzer Supertron[J]. Eur J Clin Chem Clin Biochem, 1995, 33(1): 147-152.

[2] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:275-276.

[3] 彭黎明,王兰兰. 检验医学自动化及临床应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2003.

[4] 胡晓凤. 尿常规检查进展[J]. 中国医学杂志,2008,3(6):41.

[5] Peele JD, Gadsden RH, Crews R. Semi-automated vs visual reading of urinalysis dipsticks[J]. Clin Chem, 1977, 23(16): 2242-2246.

[6] Gambke B, Kouri T, Kutter D, et al. Multicentre evaluation of the urine analyser Miditron JuniorU[J]. Scand J Clin Lab Invest, 1997, 57(4): 605-611.

[7] 张悦梅. 尿常规测定红细胞白细胞假性结果分析与研究[J]. 中华临床医学研究杂志, 2006, 8(12): 15.

[8] 李卫滨,王德春. 尿液自动化分析仪检测假阴性问题的探讨[J]. 陕西医学检验, 2001, 16(2): 22.

[9] Gallagher EJ, Schwartz E, Weinstein RS. Performance characteristics of urine dipsticks stored in open containers[J]. Am J Emerg Med, 1990, 8(2): 121-123.

[10] Cohen HT, Spiegel DM. Air-exposed urine dipsticks give false positive results for glucose and false-negative results for blood[J]. Am J Clin Pathol, 1991, 96(4): 398-400.

(收稿日期:2012-06-26)

绝对浓度法与比例法检测结核分枝杆菌药物敏感性的探讨

刘 峰,闫晓芳,许文雅
(内蒙古医学院第二附属医院检验科,内蒙古呼和浩特 010030)

摘 要:目的 将比例法与绝对浓度法检测结核分枝杆菌的药物敏感性进行比较。方法 分别用比例法与绝对浓度法检测 128 株结核分枝杆菌对 4 种抗结核药物异烟肼(INH)、链霉素(SM)、利福平(RFP)、乙胺丁醇(EMB)的敏感性。结果 以比例法为标准,绝对浓度法检测 4 种药物的灵敏度分别为 81. 3%、90. 9%、100. 0%、30. 4%,特异度分别为 96. 8%、95. 0%、94. 1%、97. 1%。对 SM 敏感性的检测,绝对浓度法和比例法差异无统计学意义;而对 INH、RFP 和 EMB 的检测,两种方法差异有统计学意义(P<0. 05)。结论 建议有条件的实验室可以开展比例法药物敏感性试验。

关键词:结核分枝杆菌; 抗药性;细菌; 浓度; 比例法
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 19. 033

文献标识码:A **文章编号:**1673-4130(2012)19-2367-02

结核分枝杆菌的药物敏感性试验对于结核病的治疗起着举足轻重的作用。WHO 把比例法作为结核分枝杆菌药物敏感性检测的“金标准”^[1],而多年来国内各级实验室普遍沿用绝对浓度法进行常规的结核分枝杆菌药敏试验。这两种检测方

法的一致性始终是争论的焦点。为了便于国内结核菌药敏信息与国外进行比较,为临床提供更为准确的药敏信息,本研究对比比例法与绝对浓度法检测结核分枝杆菌的药物敏感性的比较作了探讨。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 49 株质控菌株由 WHO 提供,收集内蒙古呼和浩特结核病参比实验室提供的结核病定点医院 2010 年 7~9 月的结核分枝杆菌临床菌株 79 株,共 128 株。质控菌株 H37Rv 由国家 CDC 参比实验室提供。

1.2 试剂与仪器 异烟肼(INH)、链霉素(SM)、利福平(RFP)、乙胺丁醇(EMB)由国家 CDC 参比实验室提供。绝对浓度法和比例法所需的 L-J 含药培养基分别根据《结核病诊断细菌学检验规程》配制^[2]。

1.3 方法

1.3.1 绝对浓度法 参照《结核病诊断细菌学检验规程》^[2],将 1 g/L 的菌悬液 100 倍稀释至 10⁻² g/L,以灭菌吸管准确吸取菌液 0.1 mL 分别接种于含药培养基和对照培养基斜面上,每管接种菌量 10⁻³ mg,置 37 ℃ 培养,4 周后观察结果。结果报告包括无药对照及高、低浓度含药培养基上菌落生长情况,供临床医生参考。在对照培养基生长旺盛的前提下,低浓度含药培养基菌落生长 1+ 以上可提示耐药。

1.3.2 比例法 参照 WHO/IUATLD 标准^[1],具体操作如下:将待测菌液制备成 10⁻²、10⁻⁴ g/L 菌悬液,分别用 22 SWG 标准接种环蘸取 1 环(即 0.01 mL)的菌液,用划线法均匀接种至对照及含药培养基表面,应注意使菌液尽可能均匀分散于培养基斜面,最终的接种菌量为 10⁻⁴、10⁻⁶ mg。接种后培养基置于 37 ℃ 培养,4 周后读菌落数,计算耐药百分比,≤1% 为敏感(S),>1% 为耐药(R)。

1.4 统计学处理 耐药率=含药培养基上菌落数/对照培养基上菌落数×100%。应用 STATA8.0 软件进行数据处理,两种方法检测结核分枝杆菌的耐药率的比较采用配对四格表资料的 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

比例法检测结核分枝杆菌对 INH、SM、RFP 和 EMB 4 种药物的耐药率分别为 50.0%(64/128)、51.6%(66/128)、32.0%(41/128)和 18.8%(24/128);绝对浓度法检测的对 4 种药物的耐药率分别为 43.0%(55/128)、50.0%(64/128)、36.7%(47/128)和 9.4%(12/128)。以比例法为标准,绝对浓度法对 4 种药物的耐药性检测的灵敏度分别为 81.3%(52/64)、90.9%(60/66)、100.0%(41/41)、33.3%(8/24),特异度分别为 95.3%(61/64)、93.5%(58/62)、93.1%(81/87)、96.2%(100/104)。两种方法检测 4 种药物耐药性的符合率分别为 88.3%(113/128)、92.1%(118/128)、95.3%(122/128)以及 84.4%(108/128)。对于 SM 药物敏感性的检测,两种方法差异无统计学意义;而对 INH、RFP 和 EMB 的检测,两种方法差异有统计学意义($P<0.05$)。结果见表 1。

表 1 绝对浓度法与比例法检测 128 株结核分枝杆菌的比较

绝对浓度法	比例法(n)		灵敏度 (%)	特异度 (%)	符合率 (%)	χ^2	P
	R	S					
INH	R	52	3	81.3	95.3	88.3	7.14
	S	12	61				0.007 5
SM	R	60	4	90.9	93.5	92.1	1.00
	S	6	58				0.317 3
RFP	R	41	6	100.0	93.1	95.3	5.00
	S	0	81				0.025 3
EMB	R	8	4	33.3	96.2	84.4	8.89
	S	16	100				0.002 9

3 讨 论

绝对浓度法因其操作简单,多年来已被各级实验室作为常规的枝杆菌药敏试验并沿用至今。但绝对浓度法对于菌悬液的麦氏浓度的制备要求十分严格,同时对于接种量的要求也非常精确,因此随着操作者的不同存在很大的个体差异。其次,绝对浓度法未对“敏感”和“耐药”下明确的定义。与之相比,比例法的主要优点是比例法对药物敏感性试验中接种量进行了校正,它采用了两种菌液浓度(10⁻²、10⁻⁴ g/L),使得最终计算的耐药百分比更为精确^[3]。本次实验数据中也显示,相对于比例法,绝对浓度法对 INH 和 EMB 的敏感度只有 81.3% 和 33.3%,即与比例法相比,绝对浓度法漏检了相当一部分耐药菌株。

近年来,关于比例法能否代替绝对浓度法成为药物敏感性试验的常规方法始终是学术界争论的焦点。有文献认为,比例法和绝对浓度法这两种方法对 4 种抗结核药物(INH、SM、RFP、EMB)的耐药性检测在耐药率上没有显著性差异^[4];也有文献发现,比例法检测出的耐药率明显高于绝对浓度法^[3,5],测定最低抑菌浓度(MIC)发现造成两种方法差别的主要原因是两种方法的临界药物浓度的不同^[4]。还有文献报道,绝对浓度法在检测 INH 药物敏感性上与比例法差异有统计学意义^[6]。本次试验结果与以前发表的文献不一致主要在于使用了不同的统计方法,即配对四格表资料的 χ^2 检验。本研究发现比例法和绝对浓度法这两种方法在检测结核分枝杆菌对 INH、RFP 和 EMB 的药物敏感性时差异有统计学意义,而造成这个差异的原因究竟是由于本研究运用了不同的统计方法,还是样本量不足影响统计结果或者比例法和绝对浓度法这两种方法在检测结核分枝杆菌对 INH、RFP 和 EMB 的药物敏感性时的确存在差异,还有待于进一步的研究和讨论。

比例法是 WHO 推荐检测结核分枝杆菌药物敏感性试验的“金标准”,为了能更好地与国际接轨,便于信息交流,建议国内有条件的实验室可以开展比例法药物敏感性试验。

参考文献

[1] WHO/IUATLD global working group on antituberculosis drug resistance suveillance. Guidelines for suveillance of drug resistance in tuberculosis[S]. Geneva:WHO,1997.

[2] 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断细菌学检验规程[M]. 北京:中国教育文化出版社,2006:46-51.

[3] 刘宇红,王甦民,那希宽. 比例法测试结核分枝杆菌药物敏感性的探讨[J]. 中华结核和呼吸杂志,2002,23(2):89-92.

[4] 胡忠义,蔡慧梅,屠梅欣. 比例法和绝对浓度法测定结核分枝杆菌耐药性[J]. 临床肺科杂志,1999,4(3):167.

[5] 刘宇红,姜广路,赵立平. 第四次全国结核病流调分枝杆菌药敏试验的方法学探讨[J]. 中国防痨杂志,2003,25(1):16.

[6] 丁北川,赵亭,盖亚茹. 结核分枝杆菌药物敏感性不同检测方法结果的比较[J]. 中华结核和呼吸杂志,2000,23(7):423.

(收稿日期:2012-08-09)