

• 临床研究 •

显色固液双相培养基快速检测结核分枝杆菌的临床应用评价

王智存, 白广红, 施 婕, 邹远妩, 王 卓, 朱 蕾, 李晓晓

(陕西省结核病防治院, 西安 710100)

摘要:目的 探讨固液双相培养基快速检测结核分枝杆菌的临床价值。方法 对 350 例患者的痰标本分别进行涂片抗酸染色、改良罗氏培养法、固液双相培养法、Bactec 960 培养法检测。结果 350 例痰标本涂片抗酸染色法阳性率为 14.8%, 改良罗氏培养法为 24.0%, 固液双相法为 35.7%, Bactec 960 培养法为 40.3%, 改良罗氏培养法与涂片抗酸染色法比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 固液双相培养法与改良罗氏培养法比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 固液双相培养法与 Bactec 960 培养法比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。改良罗氏培养法平均报告阳性时间为 21.5 d, 固液双相培养法液相平均为 13.2 d, 固相为 16.4 d, Bactec 960 培养法平均为 11.8 d。结论 固液双相培养法操作简便, 阳性率高, 时间短, 适合基层医院快速检测结核分枝杆菌。

关键词: 结核分枝杆菌; 培养; 结核病

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.19.042

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)19-2756-02

全国第 5 次结核病流行抽样调查报告, 2010 年全国人口有活动性肺结核患者 499 万例, 乡村明显高于城镇, 无症状肺结核患者比例明显增加, 有症状患者初诊结核病院或专科医院仅占 3.2%^[1]。结核病防治的关键是早期诊断, 早期治疗。涂片抗酸染色率低 (10%~20%), 我国普及和通用方法为改良罗氏培养法, 但时间长 (8 周), 液体快速培养法 (Bactec 960 培养基等) 营养成分高, 速度快, 平均报告阳性率时间 13 d, 但价格昂贵, 需特殊仪器, 不能在综合医院和基层医院普及和应用。现探讨结合液体和固体培养基特点, 研究显色固液双相培养基应用于临床的效果。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 350 例痰标本来自 2014 年 5~12 月该院门诊和住院患者采集的清晨痰液, 标本量 3~5 mL, 形状为干酪痰、血痰、黏液痰, 排除唾液样痰标本, 同一患者只使用 1 份痰标本。

1.2 培养基 改良罗氏培养基 (7 毫升/支) 购自珠海贝索生物技术有限公司, Bactec 960 培养基和添加剂购自 BD 公司, 固液双相培养基以改良罗氏培养基为基础, 加入含 10% 添加剂的 7H9 液体培养基 4 mL, 约占斜面的一半。

1.3 方法

1.3.1 痰标本消化处理 痰标本涂片抗酸染色后加入 1~2 倍体积 NALC-NaOH 混合溶液震荡, 消化离心处理^[2]。

1.3.2 接种培养 标本加 200 μ L 至改良罗氏培养基和固液双相培养基; Bactec 960 7H9 培养基加标本 500 μ L, 置 Bactec 960 中培养检测。改良罗氏法还需 37 $^{\circ}$ C 平卧放置斜面 24 h 后直立放置, 培养后 3、7 d 观察细菌生长情况, 此后每周观察 1 次, 培养阳性随报告罗氏培养基结果观察及判断参考《结核病诊断实验室检验规程》进行^[3]。固液双相培养基第 9 天加入过滤除菌 0.1 g/L 刃天青 (沃凯公司) 显色液 30 μ L 至固液双相培养基, 颜色从蓝色变为粉红色, 即利于细菌生长。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析, 计数资料以百分率表示, 组间比较使用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 种方法检测痰标本的结果比较 改良罗氏培养法与涂片抗酸染色法比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 9.34, P < 0.01$), 固液双相培养法与改良罗氏培养法比较, 差异有统计学意义

($\chi^2 = 11.466, P < 0.01$), 固液双相培养法与 Bactec 960 培养法比较, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.55, P > 0.05$); 改良罗氏培养法污染率为 2.0%, 固液双相培养法为 2.6%, Bactec 960 培养法为 5.42%。见表 1。

表 1 4 种方法检测痰标本结果比较

检测方法	n	阳性率 [% (n/n)]	污染率 (%)
涂片抗酸染色法	350	14.8 (52/350)	—
改良罗氏培养法	350	24.0 (84/350)	2.00
固液双相培养法	350	35.7 (125/350)	2.60
Bactec960 培养法	350	40.3 (141/350)	5.42

注: — 表示无数据。

2.2 3 种方法报告阳性时间结果比较 改良罗氏培养法平均报告阳性时间 21.5 d, 固液双相培养法液相 13.2 d, 固相 16.4 d, Bactec 960 培养法 11.8 d。见表 2。

表 2 3 种方法培养结核分枝杆菌阳性耗时结果比较 (n)

检测方法	1 周	2 周	3 周	4 周	5 周	6 周	7 周	8 周	合计
改良罗氏培养法	0	18	33	23	7	2	1	0	84
固液双相培养法	3	65	53	4	—	—	—	—	125
Bactec 960 培养法	5	69	64	3	—	—	—	—	141

注: — 表示无数据。

2.3 2 种方法检测阳性菌落结果比较 固液双相培养法与改良罗氏培养法阳性菌落 (++)、(+++)、(++++) 结果比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 菌落 (+) 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 2 种方法检测阳性菌落生长结果比较 (n)

检测方法	+	++	+++	++++	合计
改良罗氏培养法	6	28	38	12	84
固液双相培养法	2	11	77	35	125
χ^2	2.822 4	19.922 1	5.434 7	5.420 9	
P	>0.05	<0.01	<0.05	<0.05	

3 讨 论

探讨适合我国结核病疫情的细菌学检查方法,早期发现传染源,规范治疗避免耐药性和减少疫情传播极为重要。

结核分枝杆菌培养法作为结核病诊断的“金标准”,传统罗氏培养法 3~8 周才能得到结果,Bactec 960 培养法等液体培养基营养丰富,可使用仪器进行连续监测,平均报告阳性时间为 13 d,具有自动化和高灵敏度优点^[4]。

本研究表明,涂片抗酸染色法阳性率为 14.8%,改良罗氏培养法 24.0%,固液双相培养法为 35.7%,Bactec 960 培养法为 40.3%。固液双相培养法与涂片抗酸染色法、改良罗氏培养法比较,差异有统计意义($P < 0.05$),与 Bactec 960 培养法比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。固液双相培养基采用固液双相一体化统计,其营养丰富,可减少污染,提高阳性率,孔雀绿可进一步避免杂菌污染,分离纯化获得单个菌落,对结核分枝杆菌有促进生长的作用。培养阳性菌落直观明白,省去抗酸染色步骤,减少工作量,为结核分枝杆菌药敏试验奠定基础,Bactec 960 培养阳性管中结核分枝杆菌形成条索状^[5]。7H9 培养管培养基对菌液浓度配制时浊度影响,使细菌浓度较难控制,影响药敏试验中细菌接种量,造成药物敏感试验结果不准确。

改良罗氏培养法平均报告阳性时间 21.5 d,固液双相培养法相平均时间 13.2 d,固相平均时间 16.4 d,Bactec 960 培养法 11.8 d。结核分枝杆菌生长缓慢:(1)标本经酸或碱处理后直接接种至培养基,至少需 2~3 d 培养基才能缓冲酸碱,达到 pH 7.2 左右,而本组固液双相培养基接种 pH 6.8 PBS 消化混合液后,减少培养基缓冲时间^[6]。(2)细菌在固体培养基不能有效吸收营养成分而导致细菌对数生长期延长,改良罗氏培养基接种后需倾斜,平放斜面 24 h 以便细菌充分接触培养基,细菌在双相培养基内可使细菌浸泡在营养成分中以利于新陈代谢,对数生长期提前,省去改良罗氏培养基平卧放置斜面的操作,操作简便快捷。液体培养基阳性标本呈絮状沉淀生成,难以鉴别杂菌污染,而固液双相培养基生长的菌落则呈典型菜花状,易于判断。刃天青是一种氧化还原指示剂,在氧化状态呈紫蓝色,且在还原状态下呈粉红色或红色还原产物。通过培养结核分枝杆菌还原刃天青盐从而判断细菌是否生长^[7]。

• 临床研究 •

该方法显色剂用量少,不需仪器,比较方便,可快速检测液相中是否有结核菌生长。实际应用中加入刃天青试剂后一般需要过夜培养。张朝宝等^[8]研究 XTT/mpms 试剂只需继续培养 4 h,且 XTT/mpms 和 TH9 培养基 37 °C 恒温培养时间至少在 7 d 内保持相对稳定,其工作浓度对分枝杆菌具有低细胞毒性。

综上所述,固液双相培养法操作简便,试剂成本低,阳性率高,不需特殊仪器,阳性平均时间比改良罗氏培养法提前 1 周,便于综合医院和基层医院检测结核分枝杆菌,具有一定的临床价值。

参考文献

- [1] 王宇. 全国第五次结核病流行病学抽样调查资料汇编 [M]. 北京:军事医学科学出版社,2011:17-47.
- [2] 赵雁井,王黎霞,成诗明,等. 分枝杆菌分离培养标准化操作程序及质量保证手册 [M]. 北京:人民卫生出版社,2013:31-32.
- [3] 赵雁井,绛宇. 结核病实验室检验规程 [M]. 北京:人民卫生出版社,2015:32-39.
- [4] Li HM, Xue QW, Wang W, et al. New BACTECMGIT960 automatic rapid mycobacterial culture and identification instrument and its application [J]. Mod Sci Instr, 2000, 28(2): 61-62.
- [5] 黄明期,张丽水,陈新朝,等. 胶体金法结合涂片形态学特征快速鉴别结核分枝杆菌复合群的应用评价 [J]. 中国防痨杂志, 2012, 34(12): 830-834.
- [6] 赵大力,韩中波,周亚丽. 结核分枝杆菌固液双相培养基的研究 [J]. 中国实验诊断学, 2011, 12(8): 2088-2089.
- [7] 王敏,付光宇,罗江卫. 刃天青显色法检测结核分枝杆菌的耐药性 [J]. 检验医学与临床, 2012, 9(13): 1587-1590.
- [8] 张朝宝,马俊,温子禄,等. XTT/mcpMS 混合先色素应用于检验分枝杆菌药物筛选的性能评估 [J]. 临床检验杂志, 2013, 31(5): 344-348.

(收稿日期:2016-03-12 修回日期:2016-05-17)

冠心病患者血清脂蛋白相关磷脂酶 A2、超敏 C 反应蛋白等指标变化分析

李玉艳,梁琳琳,张照亮,高 卉

(天津医科大学总医院滨海医院检验科 300480)

摘要:目的 探讨冠心病(CHD)患者血清脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)等炎症指标变化的评估价值。**方法** 选取该院心内科 CHD 患者 124 例,其中心肌梗死(AMI)组患者 42 例,稳定型心绞痛(SAP)组患者 36 例,不稳定型心绞痛(UA)组患者 46 例,同时收集 120 例健康体检者作为健康对照组。采用酶动力学法对全部研究对象的血清 Lp-PLA2 进行检测,并检测外周血白细胞计数(WBC),白细胞介素-18(IL-18)、hs-CRP。**结果** CHD 患者血清 Lp-PLA2、IL-18、hs-CRP 水平明显高于健康对照者,差异有统计学意义($P < 0.05$);且 Lp-PLA2、IL-18 及 WBC 之间呈正相关。**结论** Lp-PLA2 可能会协同其他炎症因子在动脉粥样硬化的炎症反应中产生协调作用,是 CHD 新型炎症标志物。

关键词:冠心病; 脂蛋白相关磷脂酶 A2; 白细胞介素-18; 超敏 C 反应蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.19.043 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2016)19-2757-03

多种危险因素的多重作用引起动脉粥样硬化产生。通常情况下冠心病(CHD)患者存在 1 个或多个危险因素,其中炎

性已被认为是导致动脉粥样硬化发生、发展的关键因素,多种炎症因子参与造成斑块的产生、发展和最终破裂^[1]。有研究发