

讨 论

2001 年以来,我省结核病防治工作得到了各级政府的高度重视,基本上形成了中央政府、省、市、县各级政府和国际援助等多渠道投资的机制,政府的承诺为落实各项技术政策起到了保证作用^[1],确保了全省 DOTS 覆盖率 100%,新涂阳肺结核患者的发现率平均达到 72.1%(我省 2001—2009 年估算新涂阳患者 103 562 例,实际发现 74 668 例),涂阳患者治愈率达到 91.2%,顺利实现了《全国结核病防治规划 2001—2010 年》的中期目标。

《山西省结核病防治计划(2001—2010 年)》实施前期,新涂阳肺结核患者登记率逐年提高,到 2006 年达到 37.71/10 万,从 2007 年开始缓慢下降;复治涂阳患者的比例逐年下降,说明我省结核病疫情形势发生了变化。

2005 年,卫生部下发《肺结核患者转诊和追踪实施办法(试行)》,旨在进一步规范肺结核患者的发现、转诊及追踪程序,以提高患者的发现率。我省非结防机构肺结核患者和疑似肺结核患者的转诊到位率逐年提高,但是仍不足 40%,低于全国平均水平(49.3%)^[2]。在一定程度上影响了患者发现率,这可能也是导致我省发现并治愈 1 例活动性肺结核患者的平均费用较高的原因^[3]。所以加强医防合作,积极发现肺结核患者仍是我省今后结核病防治工作的重点之一。

2001—2009 年,治愈或完成疗程的活动性肺结核患者共 151 080 例,《山西省结核病防治计划(2001—2010 年)》完成了既定目标任务,取得了良好的社会效果。但是,应看到

随着结核病防治工作重点向耐多药、流动人口、Mtb 与 HIV 双重感染等领域的转移,我省结核病防治工作面临大的挑战:首先是结核病防治工作经费需求不断加大,而全球基金等国际援助等项目的停止,一些曾经主要依靠援助项目维持工作的贫困县,结核病防治工作将受到很大影响;另一方面,虽然近几年我省结防人员数量不断增加,此次评估调查显示 2009 年全省有结核病专业技术人员 637 人,其中省级 10 人,市级 53 人,县级 574 人,远未达到国家结核病防治规划的要求,仍然不能满足结核病防治工作的需求;各级结核病实验室建设滞后,不能满足当前结防工作的需求。所以,进一步加大结核病防治经费的投入,加强结核病防治机构尤其是实验室能力建设,提升结核病防治专业人员的业务素质是保证我省结核病防治工作可持续发展的重要举措。

参 考 文 献

[1] 屠德华. 适应新形势 力争新成绩. 中国防痨杂志, 2001, 23 (4):212.

[2] 黄飞,王黎霞,成诗明,等. 医防合作对提高肺结核患者发现的影响. 中国防痨杂志, 2010, 32(7):361-365.

[3] 侯双翼,叶建君,詹先发,等. 湖北省世界银行贷款/英国赠款结核病控制项目实施效果分析(2002 年 1 月—2009 年 3 月). 中国防痨杂志, 2010, 32(3):136-139.

(收稿日期:2011-10-25)
(本文编辑:范永德)

支气管肺泡灌洗液检测对诊断痰涂片阴性肺结核的效果评价

李峰 可春梅 付津平 王彦洪 陈裕

近年来,肺结核患者的发病率仍呈逐步上升趋势,其中痰涂片阴性(涂阴)肺结核患者占肺结核总数的 40%~60%^[1]。因此,早期、有效的结核病诊断,尤其是对涂阴肺结核病的诊断已成为人们关注的重点之一^[2]。本研究对我院 2009 年 8 月至 2011 年 5 月住院的涂阴肺结核患者的支气管肺泡灌洗液进行集菌涂片,并与 BACTEC MGIT960 快速培养系统检测分枝杆菌的结果进行对比分析,旨在探讨支气管肺泡灌洗液检测技术对涂阴肺结核的诊断价值,兹报告如下。

作者单位:450052 郑州,河南省传染病医院(郑州市第六人民医院)检验科

通讯作者:可春梅,Email:shyqcn@163.com

材料和方法

1. 患者来源:入选患者为 2009 年 8 月至 2011 年 5 月期间在我院住院的涂阴肺结核患者 555 例,其中男性 379 例,女性 176 例;年龄 15~81 岁,平均年龄(33±13)岁。所有患者均留取痰标本 3 次以上,每次痰涂片抗酸染色结果均为阴性。结合临床症状和胸部 X 线结果、PPD 或血清抗体检测等初步诊断为肺结核^[3]。

2. 材料:上述患者的支气管肺泡灌洗液标本。采集方法如下:患者经术前准备后行鼻部局麻,之后经纤维支气管镜引入支气管肺泡灌洗管至黏膜表现异常的支气管或 X 线胸片提示肺部病变所属支气管,并超越支气管镜约 2~3 cm,注入 1.5 ml 气体使支气管肺泡灌洗管末端的球囊充气,嵌顿于支气管腔内,经灌洗管注入 10~20 ml 无菌生理盐水,通过此管负压吸引(压力为 25~100 mm Hg;1 mm Hg=0.133 kPa)将标本收集至无菌瓶内即可,2 h 内送检。

3. 仪器和培养基:美国 BD 公司生产的 BACTEC MGIT960 全自动分枝杆菌培养系统、MGIT 培养管(批号:9115036、9234537、0344881)及其相应配套试剂。

4. 痰室质量控制:(1)抗酸染色液:由郑州方欣生物科技有限责任公司提供。(2)室内质控:每日抽查痰涂片总数的 10%,由负责人审核抽查涂片与当日的所报结果是否符合。2009 年 1 月至 2011 年 5 月未有失控记录。每月统计 Mtb 培养污染率(污染率=当月培养污染例数/当月所做培养总例数×100%)均<5%。

5. 方法:(1)标本处理:将采集的患者支气管肺泡灌洗液 6~8 ml,平均分装在 A、B 管中,3000×g 离心 30 min 备用。(2)集菌涂片:将 A 管弃去上清液,取沉渣涂片,经抗酸染色后镜检,具体操作方法参见文献[4]。(3)培养法:①将 B 管弃去上清液,余 1 ml 与 4%NaOH 以 1:2 的比例加入罗氏离心管中混合,经旋涡混合器震荡 30 s,室温静置 15 min。②加入无菌生理盐水至罗氏离心管 50 ml 刻度处,旋紧管盖,3000×g 离心 20 min 后弃上清,加入 1 ml 无菌生理盐水混匀。③取 0.5 ml 接种至已加有 0.8 ml 抑菌剂的 MGIT 培养管。(以上步骤均在生物安全柜中进行)。④将 MGIT 培养管扫描后放入 BACTEC MGIT960 系统孵育抽屉中培养,由仪器自动监测。(4)结果报告:集菌涂片镜检发现抗酸杆菌报告抗酸杆菌集菌阳性。BACTEC MGIT960 快速培养系统报告阳性后取菌液涂片,经抗酸染色证实为抗酸杆菌,报告分枝杆菌培养阳性;超过 42 d 仪器报阴性、肉眼观察未长菌,报告分枝杆菌培养阴性;污染标本建议患者复查。(5)菌型鉴定:将两种方法阳性标本菌落均分别转种至对硝基苯甲酸(PNB)培养基与 2-羧酸胍嘌呤(TCH)培养基以鉴定菌型。

6. 统计学分析:对支气管肺泡灌洗液集菌涂片、快速培养检测分枝杆菌结果进行比较,采用配对资料卡方检验进行统计学处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

555 份支气管肺泡灌洗液标本经 BACTEC MGIT960 快速培养系统检测,有 4 份出现污染,污染率 0.72%,在实验室允许污染率范围内。555 份支气管肺泡灌洗液集菌涂片和 BACTEC MGIT960 快速培养系统检测阳性检出结果分别为:集菌涂片 37 例(6.67%),BACTEC MGIT960 快速培养系统检测 118 例(21.42%)(表 1)。两种方法阳性检出结果之间的差异具有统计学意义($\chi^2=72.09, P<0.005$),见表 2。两种方法联合检测,共检出分枝杆菌阳性标本 123 例,阳性率为 22.16%。经过菌型鉴定,此 123 例阳性标本菌落均为人结核分枝杆菌。

表 1 支气管肺泡灌洗液两种方法检测结果			
检测方法	阳性(例)	阴性(例)	阳性率(%)
集菌涂片(555 例)	37	518	6.67
BACTEC MGIT960 快速培养系统检测(551 例)	118	433	21.42

注:555 份支气管肺泡灌洗液标本经 BACTEC MGIT960 快速培养系统检测,有 4 份出现污染

表 2 集菌涂片与快速培养两种方法检测结果比较(例)

集菌涂片	BACTEC MGIT960 快速培养系统检测		合计
	阴性	阳性	
阴性	428	86	514
阳性	5	32	37
合计	433	118	551

注:两种方法检测结果比较, $\chi^2=72.09, v=1, P<0.005$; BACTEC MGIT960 快速培养系统检测有 4 份标本污染

讨 论

据报道,肺结核患者中,2/3 以上为菌阴型^[5],临床上往往依靠体征及影像学手段来诊断,易造成误诊漏诊,不利于结核病疫情控制。常规痰涂片抗酸杆菌阴性的肺结核患者并非全部为不排菌,其影响因素较多;如患者留取标本的合格性,病变严重程度,排菌量的多少,以及检测方法的局限性等,导致部分排菌患者诊断为菌阴型。国内外许多研究认为,菌阴肺结核接触者被感染几率为 7.3%~21.0%^[6]。因此,如何提高 Mtb 的检出率,早期发现传染源,有其重要价值。

支气管肺泡灌洗液是通过纤维支气管镜(简称“纤支镜”)向支气管肺泡注入生理盐水,对病变肺段进行支气管肺泡灌洗,通过负压吸引采集灌洗液。获得的标本是从呼吸道深部病灶处收集,收集量大,经集菌处理后作涂片或培养,可以提高 Mtb 的检出率。文献报道,支气管灌洗液集菌涂片和培养阳性率分别为 6.4%~38.3%、12.2%~87.3%^[7-10]。虽然结果差距较大,但论证后均肯定支气管肺泡灌洗液对菌阴肺结核有诊断价值。

本研究所采用的培养方法为 BACTEC MGIT960 分枝杆菌培养仪快速培养,该方法具有较高的灵敏度和特异度,与传统改良罗氏培养法相比,BACTEC MGIT960 快速培养的优越性更加突出^[11]。这主要因为 BACTEC MGIT960 培养基营养成分丰富,并有特殊的杂菌抑制剂。同时,BACTEC MGIT960 培养基是液体,扩大了细菌与营养物质的接触面,能促进分枝杆菌快速生长。另外,此系统具有灵敏特异的荧光检测系统,当培养出分枝杆菌时可及时判定,大大缩短阳性检出时间,实现快速检测。本研究对 555 例痰菌涂片阴性肺结核患者的支气管肺泡灌洗液进行集菌涂片和 BACTEC MGIT960 快速培养,阳性检出率分别为 6.67%与 21.42%,经统计学分析两种检测方法阳性率差异具有统计学意义,显示 BACTEC MGIT960 快速培养系统检测分枝杆菌优势突出。两种检测方法的阳性率均在文献报道^[6-9]范围之内,但是接近下限水平,可能与对象选择、患者状态、灌洗液量、检测方法的选择有关。两种方法联合检测,阳性检出率为 22.16%,高于单独做集菌涂片或单独做 BACTEC MGIT960 快速培养。

综上所述,支气管肺泡灌洗液诊断痰菌涂阴肺结核与目前先进的细菌学技术多项联合检测技术相结合,可有效提高 Mtb 检出率。对早期发现传染源,及时为临床提供准确的诊断和治疗依据,控制结核病疫情具有重要意义。

参 考 文 献

[1] 肖和平. 菌阴肺结核在结核病控制中的重要性. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28(10): 665-666.

[2] 欧喜超, 赵雁林. 结核病实验室诊断及存在的难题. 中华检验医学杂志, 2011, 34(2): 97-99.

[3] 中华医学会结核病学分会. 肺结核诊断和治疗指南. 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24(2): 70-74.

[4] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006.

[5] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组, 全国结核病流行病学抽样调查办公室. 2000 年全国结核病流行病学抽样调查报告. 中国防痨杂志, 2002, 24(2): 65-108.

[6] 顾红艳, 戴建忠, 施军卫, 等. 支气管肺泡灌洗液多指标联合检测对不典型肺结核的诊断价值探讨. 临床肺科杂志, 2008, 13(9): 1149-1150.

[7] 普兴福, 李梅春. 支气管肺泡灌洗液检测分枝杆菌在诊断肺结核中的应用. 中国防痨杂志, 2009, 31(11): 679.

[8] 陈东宁, 冯俐. 支气管镜多指标联合检测对菌阴肺结核的诊断价值探讨. 中国内镜杂志, 2007, 13(6): 590-592, 595.

[9] 肖海浩, 汤春梅, 张言斌, 等. 支气管镜及相关检测对菌阴肺结核的诊断价值. 医学综述, 2009, 15(24): 3817-3820.

[10] 彭勋, 常占平, 汪晓琴, 等. 纤支镜灌洗液的结核分枝杆菌快速培养对不典型肺结核的诊断价值. 中国防痨杂志, 2003, 25(3): 143-145.

[11] 袁淑平, 侯宏伟, 李欣, 等. 支气管肺泡灌洗液 BACTEC MGIT960 system 快速分离结核杆菌的效果评价. 河北医药, 2008, 30(9): 1384-1385.

(收稿日期: 2011-10-28)
(本文编辑: 张晓进)

3 种灭菌方法萆-尼染色阳性检出率比较

邹盛华 上官昌吉 黄明翔 张丽水

痰涂片检查抗酸杆菌, 因其操作技术简便易行, 设备条件要求简单, 费用低廉, 适用于结核病筛查, 便于在全世界范围内推广。从生物安全角度出发, 笔者分别采用 3 种方法对痰标本进行灭菌处理, 然后分别对 3 种方法进行灭菌处理的标本行萆-尼染色, 并分别对检出率进行分析对比, 以选取安全、高效的方法, 提高诊断率。“抗酸杆菌”种类很多, 且抗酸性强弱不同, 本次研究入选患者均为临床确诊为肺结核的患者, 因此文中涉及的“抗酸杆菌”均为 Mtb。

材料和方法

一、材料和试剂

选取本院 2011 年 1—6 月门诊和住院肺结核患者 258 例, 其中男性 130 例, 女性 128 例, 年龄 15~75 岁, 平均年龄 (41.8±18.5) 岁。诊断标准为中华医学会结核病学分会制定的《肺结核诊断和治疗指南》^[1]。嘱患者清晨漱口, 然后从深部咳痰于一次性无菌塑料瓶内送检, 每份痰标本不少于 3 ml。萆-尼染色试剂按文献^[2]的方法自行配制。

二、方法

258 例肺结核患者每例采集晨痰标本 4 份, 分别进行如下方法灭菌: 紫外线辐照法(A 组)、干燥箱烘烤法(B 组)、高压灭菌直接涂片法(C 组)及高压灭菌离心集菌法(D 组), 然后行萆-尼染色。所有标本在用 3 种方法灭菌后, 均行美国 BD 公司 BACTEC MGIT960 全自动分枝杆菌检测仪培养。

A 组: 使用折断的竹签茬端, 挑取痰标本中干酪样、脓样

或可疑部分每例约 0.05~0.1 ml, 于玻片右侧 2/3 处均匀涂抹成 10 mm×20 mm 的卵圆形痰膜, 于生物安全柜内紫外线辐照(波长为 254 nm 的紫外线灯管 30 W、距离 80 cm、照射时间 30 min), 然后行萆-尼染色。

B 组: 同 A 组制片后置 100℃干燥箱 5 min, 取出痰片, 并趁热行萆-尼染色, 可省略火焰加热步骤。

C 组: 取痰液每例约 2~3 ml, 经 103.43 Pa 高压灭菌 20~25 min, 直接涂片行萆-尼染色。

D 组: 取痰液每例约 2~3 ml 于 50 ml 尖底试管, 加 40 g/L NaOH 1~2 倍量混匀, 经 103.43 Pa 高压灭菌 20~25 min, 加无菌缓冲液或生理盐水至 45 ml, 3000 转/min(离心半径为 13.5 cm), 离心 20 min, 弃上清液, 取沉淀物涂片行萆-尼染色。

258 例肺结核患者中痰标本经 3 种灭菌方法处理后萆-尼染色均阳性的患者 92 例, 把 92 例萆-尼染色患者编号 1-92 号, 然后应用软件(随机数字生成器 beta2.1.1 build604 by 吴人玮)随机选取 30 例涂阳患者送检痰标本, 经上述方法灭菌后, 严格按照 BACTEC MGIT960 操作规程进行培养。

三、统计学处理

使用 SPSS 13.0 进行统计计算, 检测结果均用阳性率描述, 采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

3 种方法进行灭菌处理的痰标本行萆-尼染色, 抗酸杆菌呈紫红色, 细胞核及其他细菌呈蓝色, 颜色鲜对比明显。30 例涂阳患者所送检痰标本, 经 3 种方法灭菌后, 经 BACTEC MGIT960 分枝杆菌培养均为阴性, 证实 3 种方法灭菌效果均达到生物安全要求。3 种方法进行灭菌处理的

作者单位: 350008 福建省福州肺科医院检验科
通讯作者: 邹盛华, Email: fjfzzsh@sina.com