

BS-400 全自动分枝杆菌液体培养系统 对分枝杆菌培养的效果评价

岳永宁 范大鹏 商学钗 李浩 李奂谕 周锦阳 蔡龙

【摘要】 目的：评价 BS-400 全自动分枝杆菌液体培养系统(简称“BS-400 培养系统”)在临床标本中培养分枝杆菌的效果。**方法：**搜集 2022 年 3—5 月在浙江大学附属杭州市胸科医院就诊的疑似结核病患者标本 427 份用于本研究,标本包括除血液和粪便外的 331 份呼吸道标本(包括痰液和呼吸道灌洗液)和 96 份非呼吸道标本(包括脑脊液、组织、分泌物、尿液、骨髓和坏死物等)。所有标本同时使用 BACTEC MGIT 960 液体培养系统(简称“MGIT 960 培养系统”)和 BS-400 培养系统进行培养,培养阳性标本进行细菌分离和菌种鉴定。比较两种培养系统对不同类型标本分枝杆菌培养阳性率、检测时间、污染率及成本差异,并以 MGIT 960 培养系统培养结果为参照标准,评价 BS-400 培养系统对不同类型标本分枝杆菌感染的检测效能。**结果：**BS-400 培养系统对呼吸道标本的培养阳性率为 32.02%(106/331),污染率为 5.14%(17/331);对非呼吸道标本的培养阳性率为 17.70%(17/96),污染率为 1.04%(1/96),与 MGIT 960 培养系统[分别为 32.93%(109/331)和 5.44%(18/331),15.63%(15/96)和 2.08%(2/96)]相比,差异均无统计学意义(χ^2 值分别为 0.062、0.030、0.150、0.339, P 值分别为 0.803、0.862、0.699、1.000)。BS-400 培养系统检测时间为 12.31(7.89,19.56) d, MGIT 960 培养系统检测时间为 9.79(7.00,16.58) d, 差异无统计学意义($Z=-1.895, P=0.058$)。以 MGIT 960 培养系统培养结果为参照标准,BS-400 培养系统检测呼吸道标本分枝杆菌感染的敏感度为 93.58%(102/109)、特异度为 98.20%(218/222), $Kappa$ 值为 0.924;检测非呼吸道标本分枝杆菌感染的敏感度为 100.00(15/15)、特异度为 97.53%(79/81), $Kappa$ 值为 0.925。BS-400 培养系统检测成本[(55±10)元/份]约为 MGIT 960 培养系统检测成本[(75±10)元/份]的 70%。**结论：**BS-400 培养系统对疑似结核病患者临床标本中分枝杆菌的检测效能较高,具有较好的应用价值。

【关键词】 分枝杆菌属; 感染; 培养技术; 评价研究

【中图分类号】 R378.91

Evaluation of the effect of BS-400 Automatic Mycobacterium Liquid Culture System on Mycobacterium culture Yue Yongning, Fan Dapeng, Shang Xuechai, Li Hao, Li Huanyu, Zhou Jinyang, Cai Long. Clinical Laboratory Center, Hangzhou Thoracic Hospital Affiliated to Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310004, China
Corresponding author: Cai Long, Email: cailong317@hotmail.com

【Abstract】 Objective: To evaluate the effectiveness of the BS-400 Automatic Mycobacterium Liquid Culture System (BS-400 Culture System) in cultivating Mycobacterium in clinical specimens. **Methods:** A total of 427 specimens of suspected tuberculosis patients who visited Hangzhou Thoracic Hospital Affiliated to Zhejiang University School of Medicine from March to May 2022 were collected. The specimens included 331 respiratory tract specimens (including sputum and respiratory lavage fluid) and 96 non-respiratory tract specimens (including cerebrospinal fluid, tissues, secretions, urine, bone marrow, necrosis, etc.), except blood and feces. All specimens were simultaneously cultured using the BACTEC MGIT 960 liquid culture system (MGIT 960 culture system) and the BS-400 culture system. Bacterial isolation and species identification would be carried out on samples with positive culture results. The differences in the positive rate, detection time, contamination rate, and cost of two culture systems for different types of Mycobacterium specimens were compared, and the detection efficiency of the BS-400 culture system for Mycobacterium infections in different types of specimens was evaluated using the



开放科学(资源服务)标识码(OSID)的开放科学计划以二维码为入口,提供丰富的线上扩展功能,包括作者对论文背景的语音介绍、该研究的附加说明、与读者的交互问答、拓展学术圈等。读者“扫一扫”此二维码即可获得上述增值服务。

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2023KY195)

作者单位:浙江大学医学院附属杭州市胸科医院临床检验实验中心,杭州 310004

通信作者:蔡龙,Email:cailong317@hotmail.com

culture results of the MGIT 960 culture system as a reference standard. **Results:** The positive rate of BS-400 culture system for respiratory tract specimens was 32.02% (106/331), and the contamination rate was 5.14% (17/331); the positive rate of culture for non-respiratory tract specimens was 17.70% (17/96), and the contamination rate was 1.04% (1/96), compared with those of MGIT 960 culture system (32.93% (109/331) and 5.44% (18/331), 15.63% (15/96) and 2.08% (2/96), respectively), the difference was not statistically significant (χ^2 values were 0.062, 0.030, 0.150, and 0.339, P values were 0.803, 0.862, 0.699, and 1.000, respectively). The detection time was 12.31 (7.89, 19.56) days of the BS-400 culture system, and was 9.79 (7.00, 16.58) days of the MGIT 960 culture system, with no statistically significant difference ($Z = -1.895$, $P = 0.058$). Using the culture results of MGIT 960 culture system as a reference standard, the sensitivity and specificity of BS-400 culture system for detecting Mycobacterium infection specimens in respiratory tract were 93.58% (102/109) and 98.20% (218/222), and the $Kappa$ value was 0.924; the sensitivity and specificity for detecting Mycobacterium infection specimens in non-respiratory tract were 100.00% (15/15) and 97.53% (79/81), and the $Kappa$ value was 0.925. The testing cost of the BS-400 culture system (RMB (55±10) yuan per specimen) was approximately 70% of that of the MGIT 960 culture system (RMB (75±10) yuan per specimen). **Conclusion:** BS-400 culture system has high detection efficiency for Mycobacterium in clinical samples of suspected tuberculosis patients, and has good application value.

【Key words】 Mycobacterium; Infection; Culture techniques; Evaluation studies

【Fund program】 Zhejiang Medical and Health Science and Technology Plan Project (2023KY195)

近年来,许多分子生物学方法应用于分枝杆菌病的诊断,我国 2017 年也重新修订了肺结核诊断标准,将分子生物学检测阳性作为结核病病原学阳性的依据^[1]。虽然分子生物学检测结核分枝杆菌的时效性优于结核病实验室传统检测方法,但还没有一种方法可以取代培养法常规用于临床实验室。分枝杆菌检测的“金标准”仍然是培养法。培养菌株可用于后续的菌种鉴定和耐药性监测。目前,BACTEC MGIT 960 液体培养系统(简称“MGIT 960 培养系统”)是分枝杆菌培养被广泛认可的最优培养技术之一。因此,MGIT 960 培养系统可以作为其他分枝杆菌培养新方法的比较标准。

最近几年,我国自主研发了多种新兴的分枝杆菌液体培养技术,因其价格优势,为国内许多结核病实验室使用,但对其检测性能的评价并不多。因此,笔者以 MGIT 960 培养结果为参照标准,对 BS-400 全自动分枝杆菌液体培养系统(简称“BS-400 培养系统”)进行评估,评价其对分枝杆菌的检测效能,为其在我国医疗单位的广泛应用提供证据支持。

材料和方法

一、标本来源

搜集 2022 年 3—5 月在浙江大学附属杭州市胸科医院就诊的疑似结核病患者标本 427 份用于本研究,标本包括除血液和粪便外的 331 份呼吸道标本(包括痰液和呼吸道灌洗液)和 96 份非呼吸道标本(包括脑脊液、组织、分泌物、尿液、骨髓和坏死物等)。所有标本同时使用 MGIT 960 培养系统和 BS-400 培养系统进行培养。

二、仪器和试剂

1. 培养仪器和试剂: MGIT 960 培养系统、MGIT 960 液体培养管、MGIT 生长添加剂和杂菌

抑制剂均购自美国 BD 公司。BS-400 培养系统、分枝杆菌液体培养管及培养添加剂均购自珠海贝索生物技术有限公司。实验室自行配置 N-乙酰基-L-半胱氨酸-4%氢氧化钠(NALC-NaOH)和磷酸盐缓冲液(PBS;pH=6.8)。结核分枝杆菌 H37Rv 标准株由中国疾病预防控制中心国家结核病参比实验室提供。

2. 菌型鉴定试剂:结核分枝杆菌 MPB64 抗原检测试剂盒购自杭州创新生物检控技术有限公司;抗酸杆菌染液购自珠海贝索生物技术有限公司;分枝杆菌菌种鉴定试剂盒(DNA 微阵列芯片法)购自成都博奥晶芯生物科技有限公司。

三、研究方法

1. 诊断标准:疑似结核病的诊断参照《WS 196—2017 结核病分类》^[2]和《WS 288—2017 肺结核诊断》^[1]标准。

2. 分枝杆菌培养:取 1~2 ml 标本置于 50 ml 无菌离心管内,加入 1~2 倍体积的消化液,消化去污染 15 min,弃上清液后加入 PBS(pH=6.8)至离心管 45~50 ml 标志处,拧紧盖子涡旋振荡混匀,3000×g 离心 15 min 后加入 1~2 ml PBS 混匀。分别将 0.5 ml 悬浮液接种到 MGIT 960 培养系统和 BS-400 培养系统液体培养基中。无菌标本(通过无菌操作获取的包括脑脊液、分泌物、骨髓和坏死物等)直接接种,组织标本进行无菌研磨后接种。在 37℃ 下孵育所有培养物,直至发现阳性或孵育 42 d。从仪器中取出任何被确定为阳性的样品,制备涂片并进行显微镜检查确认阳性、污染和阴性。检测时间基于最早仪器报阳时间。

3. 分枝杆菌菌种鉴定:对所有经过抗酸杆菌染色确认阳性的分枝杆菌进行结核分枝杆菌 MPB64 抗原检测,区分结核分枝杆菌和非结核分枝杆菌。非结核分枝杆菌进行 DNA 微阵列芯片法进行菌种鉴定。

四、统计学处理

使用 SPSS 20.0 软件进行数据的统计分析。计数资料采用“频数和百分率/构成比(%)”描述,组间差异的比较采用 χ^2 检验;正态分布的计量资料采用“ $\bar{x} \pm s$ ”描述;偏态分布的计量资料采用“中位数(四分位数)[$M(Q_1, Q_3)$]”描述,组间差异的比较采用 Wilcoxon 符号秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。以 MGIT 960 培养系统培养结果为参照标准,评价 BS-400 培养系统对不同标本分枝杆菌感染的检测效能。采用 Kappa 检验检测两种液体培养系统的检测效能^[3], Kappa 值 ≤ 0.40 时,表明一致性较差; $0.40 < \text{Kappa 值} < 0.75$ 时,表明一致性一般; Kappa 值 ≥ 0.75 时,表明高度一致性。

结 果

一、两种液体培养系统对不同标本的检测结果

BS-400 培养系统对呼吸道标本的培养阳性率为 32.02%,污染率为 5.14%;对非呼吸道标本的培养阳性率为 17.70%,污染率为 1.04%,与 MGIT 960 培养系统(分别为 32.93%和 5.44%,15.63%和 2.08%)相比,差异均无统计学意义,见表 1。

二、两种液体培养系统分离不同分枝杆菌的结果

427 份标本同时采用两种系统进行分枝杆菌分离培养,任意一种培养在仪器报阳性后经实验室人员进行涂片鉴定确认阳性,共计 130 份标本分枝杆菌感染阳性,包括 101 份结核分枝杆菌复合群感染

标本,17 份鸟胞内分枝杆菌感染标本和 12 份其他分枝杆菌感染标本。BS-400 培养系统和 MGIT 960 培养系统对上述 130 份分枝杆菌感染标本的培养阳性率分别为 94.61%(123/130)和 95.38%(124/130),差异无统计学意义;检测时间差异亦无统计学意义。具体见表 2。

三、检测效能及成本分析

以 MGIT 960 培养系统培养结果为参照标准,BS-400 培养系统检测呼吸道标本的敏感度为 93.58%,特异度为 98.20%;检测非呼吸道标本的敏感度为 100.00%,特异度为 97.53%,两种培养系统检测结果高度一致, Kappa 值均 ≥ 0.90 (表 3)。BS-400 培养系统每份标本的检测成本为(55±10)元,低于 MGIT 960 系统的检测成本[(75±10)元],前者的检测成本仅为后者的 70%左右。

讨 论

本研究对 BS-400 培养系统与 MGIT 960 培养系统进行了评估。BS-400 培养系统和 MGIT 960 培养系统对不同标本中分枝杆菌的培养阳性率差异均无统计学意义,且均对呼吸道标本的培养阳性率要高于非呼吸道标本。但是本研究中两种系统的培养阳性率均低于徐银娟等^[4]对国产改良 Middlebrook 液体培养系统和 MGIT 960 系统的评价结果。究其原因,一方面是本次研究的疑似结核患者的标本为连续纳入,并未剔除随访结核病患

表 1 两种培养系统检测不同类型标本分枝杆菌阳性及污染情况

培养系统	呼吸道标本(331份)		非呼吸道标本(96份)		合计(427份)	
	阳性[份 (阳性率,%)]	污染[份 (污染率,%)]	阳性[份 (阳性率,%)]	污染[份 (污染率,%)]	阳性[份 (阳性率,%)]	污染[份 (污染率,%)]
BS-400 培养系统	106(32.02)	17(5.14)	17(17.70)	1(1.04)	123(28.81)	18(4.22)
MGIT 960 培养系统	109(32.93)	18(5.44)	15(15.63)	2(2.08)	124(29.04)	20(4.68)
χ^2 值	0.062	0.030	0.150	0.339	0.006	0.110
P 值	0.803	0.862	0.699	1.000	0.940	0.740

注 MGIT 960 培养系统: BACTEC MGIT 960 液体培养系统; BS-400 培养系统: BS-400 全自动分枝杆菌液体培养系统

表 2 两种培养系统检测不同分枝杆菌菌种感染标本情况

培养系统	结核分枝杆菌复合群 感染标本(101份)		鸟胞内分枝杆菌 感染标本(17份)		其他分枝杆菌 感染标本(12份)		合计 (130份)	
	阳性[份(阳 性率,%)]	检测时间[d, $M(Q_1, Q_3)$]	阳性[份(阳 性率,%)]	检测时间[d, $M(Q_1, Q_3)$]	阳性[份(阳 性率,%)]	检测时间[d, $M(Q_1, Q_3)$]	阳性[份(阳 性率,%)]	检测时间[d, $M(Q_1, Q_3)$]
BS-400 培养系统	96(95.05)	13.25(10.13, 20.96)	17(100.00)	6.42(4.10, 10.38)	10(83.33)	7.77(3.26, 20.01)	123(94.61)	12.31(7.89, 19.56)
MGIT 960 培养系统	95(94.10)	12.04(8.83, 18.13)	17(100.00)	5.13(3.92, 7.75)	12(100.00)	3.98(3.63, 6.47)	124(95.38)	9.79(7.00, 16.58)
统计检验值	$\chi^2=0.332$	$Z=-1.310$	—	$Z=-0.741$	—	$Z=-1.122$	$\chi^2=0.358$	$Z=-1.895$
P 值	1.000	0.190	—	0.459	—	0.262	1.000	0.058

注 MGIT 960 培养系统: BACTEC MGIT 960 液体培养系统; BS-400 培养系统: BS-400 全自动分枝杆菌液体培养系统; “—”表示未检测

表 3 BS-400 培养系统对不同分枝杆菌感染标本的检测效能

BS-400 培养系统	MGIT 960 培养系统		敏感度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	Kappa 值
	阳性(份)	阴性(份)					
呼吸道标本			93.58	98.20	96.23	96.89	0.924
阳性	102	4					
阴性	7	218					
非呼吸道标本			100.00	97.53	88.24	100.00	0.925
阳性	15	2					
阴性	0	79					

注 敏感度=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%;特异度=真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数)×100%;阳性预测值=真阳性例数/(真阳性例数+假阳性例数)×100%;阴性预测值=真阴性例数/(真阴性例数+假阴性例数)×100%;MGIT 960 培养系统: BACTEC MGIT 960 液体培养系统;BS-400 培养系统: BS-400 全自动分枝杆菌液体培养系统

者的标本,可能拉低了培养阳性率;另一方面,本研究加入了非呼吸道标本,也在一定程度上降低了培养阳性率。在标本检测污染率方面,《结核病诊断实验室检验规程》^[5]要求培养污染率控制在 2%~5%,BS-400 培养系统和 MGIT 960 培养系统的污染率分别为 4.22%和 4.68%,BS-400 培养系统略低于 MGIT 960 培养系统的污染率,但均在合格范围内。液体培养的污染率控制需要注意在前处理过程中的无菌操作,加强污染控制;更需要考虑液体培养基营养成分不同的相关性。本研究使用的 427 份呼吸道和非呼吸道临床标本是应用统一的前处理方法,同时将等量的标本处理液加入到两种培养系统试剂中进行培养。两个培养系统对分枝杆菌的培养阳性率和污染率的结果均无明显差异,说明 BS-400 培养系统检测分枝杆菌的能力与 MGIT 960 培养系统相当。

本研究中,虽然 BS-400 培养系统的检测时间略高于 MGIT 960 培养系统的检测时间。但是对照陈军等^[6]报道 BacT/Alert 3D 系统和罗氏培养基的检测平均时间(19.9 d 和 26.4 d),BS-400 培养系统对分枝杆菌的检测时间优于其他分枝杆菌检测系统。本研究还对任意一种培养系统报阳性的分枝杆菌菌株进行了后续的分枝杆菌菌种鉴定并对其结果进行了分析,结果显示,101 份结核分枝杆菌复合群感染标本、17 份鸟胞内分枝杆菌感染标本和 12 份其他分枝杆菌感染标本应用 BS-400 培养系统和 MGIT 960 培养系统的培养阳性率均未见差异,说明 BS-400 培养系统对不同分枝杆菌感染标本的检测能力和 MGIT 960 培养系统不相上下。以 MGIT 960 培养系统培养结果为参照标准,BS-400 培养系统检测分枝杆菌感染呼吸道标本和非呼吸道标本的敏感度和特异度均较好,Kappa 值均大于 0.9,说明两个培养系统的检测一致性较好。但是在检测成本方面,BS-400 培养系统每份标本的检测成本仅为

MGIT 960 培养系统的 70%左右。可见,BS-400 培养系统常规应用于临床标本分枝杆菌培养具有一定的优势。

综上所述,BS-400 培养系统对分枝杆菌感染标本的培养阳性率、检测时间和污染率方面与 MGIT 960 培养系统相比未见明显差异,检测效能良好,价格合适。但本研究为单中心研究,且个别标本类型数量有限,可能降低结果的可信度,尚需扩大样本量以进一步验证所得结论。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献 岳永宁: 酝酿和设计实验、实施研究、采集数据、分析/解释数据、起草文章、统计分析;范大鹏: 酝酿和设计实验、分析/解释数据、对文章的知识性内容作批评性审阅、统计分析、支持性贡献;商学钗: 实施研究、采集数据、分析/解释数据、起草文章、统计分析;李浩: 实施研究、采集数据、分析/解释数据、对文章的知识性内容作批评性审阅、统计分析;李奕谕: 实施研究、起草文章;周锦阳: 实施研究;蔡龙: 酝酿和设计实验、对文章的知识性内容作批评性审阅、获取研究经费、行政/技术/材料支持、指导、支持性贡献

参 考 文 献

[1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS 288—2017 肺结核诊断. 2017-11-09.
 [2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS 196—2017 结核病分类. 2017-11-09.
 [3] 夏邦世, 吴金华. Kappa 一致性检验在检验医学研究中的应用. 中华检验医学杂志, 2006, 29(1): 83-84.
 [4] 徐银娟, 赵国连, 崔晓利, 等. 新型国产改良 Middlebrook 液体培养试剂对结核分枝杆菌培养效果的评价. 中国防痨杂志, 2022, 44(1): 60-63. doi:10.19982/j.issn.1000-6621.20210459.
 [5] 赵雁林, 逢宇. 结核病诊断实验室检验规程. 北京: 人民卫生出版社, 2020: 36-44.
 [6] 陈军, 王飞, 任易, 等. BacT/Alert 3D 系统与罗氏培养基分离分枝杆菌的比较. 中国防痨杂志, 2007, 29(2): 151-153. doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2007.02.011.

(收稿日期: 2022-10-20; 网络出版时间: 2023-04-06)

(本文编辑: 李敬文)