

分枝杆菌快速变色液体培养基临床应用的评价

赵锦 徐萍 王强 王健

(深圳市南山区慢性病防治院 深圳 518054)

长期以来,痰涂片抗酸染色镜检和细菌培养仍是现阶段我国临床常规确诊肺结核病的主要依据,传统的罗一琼(Lowenstein-Jensen, L-J)培养基也一直被延用至今,但是因其生长周期长(4~8周),不利于肺结核病例的早期诊断和及时治疗,目前临床上迫切需要一种新型快捷的培养基替代L-J培养基。近年来,分枝杆菌快速变色液体培养基在国外广泛应用^[1]。熊礼宽等^[2]于2001年报道了一种新型的分枝杆菌快速变色液体培养基与改良L-J培养基的比较研究。为了寻找替代传统培养方法,进一步提高传染源的早期实验室发现效率,我们于2002年开展了分枝杆菌快速变色液体培养基临床应用的研究,现将结果报道如下。

材料与方法

1. 病例来源:200例痰标本均来自2001年9月—2004年4月我院肺结核专科接诊的疑似肺结核病人,其中男性132例,女性68例。

2. 变色液体培养基:由深圳市怡百世生物技术有限公司提供。其主要成分为磷酸盐缓冲液、谷氨

酸钠、多种维生素、多种微量元素、甘油、马血清、变色剂以及甲氧卡氨嘧啶、氨苄青霉素、多粘菌素B、两性霉素B和萘啶酸等多种抗生素。

3. 改良L-J培养基:由深圳市慢性病防治院提供。

4. 方法:(1)痰标本收集:受检对象留取清晨痰标本3~5ml,无痰者用10%盐水作超声雾化、留即时痰1份备检。(2)涂片:采用痰直接涂片萁尼氏法抗酸染色镜检。(3)培养:痰标本采用4%NaOH经2~4倍体积消化20min后,台式高速离心机(TGL 16G型,上海医用分析仪器厂)5000~10000转/min离心10min,沉淀经pH6.8磷酸盐缓冲液洗涤2次,再加入1ml上述缓冲液混悬沉淀,各取0.5ml,分别接种于变色液体培养基和改良L-J培养基中37℃培养。(4)结果观察与报告:变色液体培养基接种后,每天观察1次,2周后隔天观察1次,若培养基变为紫红色或底层有紫色颗粒沉淀时,作涂片抗酸染色,证实有分枝杆菌时,报告分枝杆菌培养阳性。改良L-J培养基接种后分别于第3d和第7d观察结果,以后每周观察1次。8周末见生长,报告分枝杆菌培养阴性。

表 1 三种试验方法分枝杆菌检出结果比较

方法	痰标本数	结果					
		阳性数	阳性率(%)	阴性数	阴性率(%)	污染数	污染率(%)
涂片镜检	200	79	39	121	61	—	—
变色液体培养	200	98	49.0	102	51.0	9	4.5
L-J 培养	200	93	46.5	107	53.5	8	4

5.统计学处理:2 组样本阳性率的比较采用卡方检验, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

结 果

79 例涂片阳性痰标本中,L-J 培养阳性 77 例,涂阳培养率为 97.4%,变色液体培养基培养阳性 75 例,污染 2 例,涂阳培养率 94.9%。121 例痰涂片阴性标本中,二种培养法均为阳性 11 例。L-J 培养阳性 5 例,涂阴培养率为 13.2%(16/121)。变色液体培养基阳性 12 例,涂阴培养率为 19%(23/121)。L-J 培养基细菌生长天数最短 13 d,最长 45 d,平均为 26 d。变色液体培养基生长天数最短 4 d,最长 25 d,平均为 13 d。变色液体培养基污染率 4.5%(9/200),略高于 L-J 培养基 4%(8/200),但经统计学处理,二者无显著性差异($p > 0.05$)。200 例痰标本三种方法检测结果及两种培养方法细菌生长周期的比较见表 1、2。

表 2 二种分枝杆菌培养方法细菌生长周期比较

方法	细菌生长周期(d)									
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	平均
L-J 培养	0	0	20	23	19	7	13	4	7	26
变色液体培养	12	41	29	11	5	0	0	0	0	13

讨 论

深圳市怡百世生物技术有限公司研制的分枝杆菌变色液体培养基是一种营养丰富的选择培养基,通过多种抗生素抑制其他微生物的生长,同时具有丰富的营养成分促进分枝杆菌生长,当有活动分枝杆菌存在,则分解色素底物为紫红色。从本文采用的上述二种培养基所得的检测结果分析:变色液体

培养基总阳性率 49.0%,L-J 培养基总阳性率 46.5%,两者相比无显著性差异($P > 0.05$)。从细菌生长周期看,变色液体培养基平均生长 13 d,L-J 培养基平均生长时间为 26 d,前者细菌生长周期比后者缩短了一半。两种培养基接种 15 d 时培养阳性率比较,变色液体培养基高达 83.6%(82/98),而 L-J 培养基仅为 21.5%(20/93),两者相比有显著性差异($P < 0.05$)。显然,变色液体培养基分枝杆菌生长速度明显快于 L-J 培养基。

分析污染原因发现,变色液体培养基的污染可能与痰标本前处理及洗涤沉淀中尚未严格掌握无菌操作程序有关。

此外,我们在实验操作中发现,变色液体培养基结果判断具主观性,变色时间持续较短,仅 2~3 d 紫色即消失,需及时观察结果,因此,该培养基在如何选择稳定性强的指示剂方面尚待进一步探索和改进。

综上所述,通过对 200 例疑似肺结核痰标本应用上述两种培养基进行临床对照,比较结果表明,分枝杆菌快速变色液体培养基 2 周内培养阳性率高,污染率较低,操作简便、经济、实用,不需特殊仪器设备,在提高基层结核病实验室分枝杆菌与肺结核快速诊断的检测技术中可能具有临床应用前景。

参考文献:

1 Heifets L, Linder T, Sanchez T, et al. Two liquidmedium systems, mycobacteria growth indicator tube and MB Rodox Tube, form Mycobacterium tuberculosis isolation from sputum specimens[J]. J Clinical Microbiol, 2000,38:1227-1230

2 熊礼宽,杨应周,黄棉,等.一种新型快速检出分枝杆菌变色液体培养基的评价[J].中华医学检验,2001,24(1):49

(收稿日期:2005-08-09)