

BACTEC™ MGIT™ 320 液体快速培养在检测结核分枝杆菌及耐药性中的应用

叶碧峰, 雷永良, 王晓光, 刘敏, 陈秀英

丽水市疾病预防控制中心, 浙江 丽水 323000

摘要: **目的** 评价 BACTEC™ MGIT™ 320 液体培养在快速检测结核分枝杆菌及耐药性的应用效果。**方法** 收集 500 例患者痰标本进行液体培养, 并与涂片抗酸和固体罗氏培养法进行阳性检出率比较。**结果** 在三种方法中, 液体培养结核分枝杆菌结果阳性检出率最高, 为 33.6% (168/500)。在 385 份抗酸染色阴性标本中, 用液体和固体培养检出率分别为 16.9% (65/385)、9.9% (38/385)。液体培养阳性及药敏出结果时间平均 10.7 天、7 天, 固体为 35 天、28 天。上述数据差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。液体和固体两种方法检测耐药结果符合率均大于 98.4%, 污染率差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 液体培养法检测结核分枝杆菌, 阳性检出率高, 有时间优势, 且对涂阴的患者更有效。

关键词: 液体培养; 结核分枝杆菌

The application of BACTEC™ MGIT™ 320 liquid culture in the rapid detection of Mycobacterium tuberculosis and drug resistance

YE Bi-feng, LEI Yong-liang*, WANG Xiao-guang, LIU Min, CHEN Xiu-ying

(Lishui Center for Disease Control and Prevention, Lishui, Zhejiang 323000, China)

结核病是严重危害人类健康的呼吸道传染病。根据世界卫生组织的统计, 全球三分之一的人口曾感染结核分枝杆菌。我国结核发病率居全球第二, 80% 的结核病患者生活在农村地区, 基层医院在肺结核防治方面起主要作用^[1]。BACTEC™ MGIT™ 320 液体培养是结核菌培养和鉴定方法上一项全自动检测技术^[2, 3], 不但能较快速发现结核分枝杆菌^[4, 5], 而且液体药敏的检测有助于较早发现耐药患者, 能提高低浓度标本的结核分枝杆菌阳性检出率^[6]。为此, 本研究采集了 500 例初、复治肺结核患者的痰标本同时进行 BACTEC™ MGIT™ 320 液体培养和传统的固体罗氏培养并进行了对照研究, 现将两种培养方法的检测和药敏结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本 500 例痰标本来自 2012 年 9 月至 2014 年 9 月丽水市中医院结核病门诊及住院接受治疗的初、复治结核病患者, 其中男 240 例, 女 260 例, 年龄 18~76 岁, 平均 (40.2±21.3) 岁, 其中抗酸染色涂阳 115 例, 涂阴 385 例。初、复治患者性别、年龄、取材差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 仪器与材料 采用美国 BD 公司生产的 BACTEC™ MGIT™ 320 全自动分枝杆菌快速培养药敏分析系统及其配套试剂, 包括振荡器、离心机、生物安全柜、MGIT 培养管、MGIT ADC 营养添加剂、PANTA 杂菌抑制剂等。链霉素 (SM)、异烟肼 (INH)、利福平 (RFP) 和乙胺丁醇 (EMB) 等药敏试剂盒由 BD 公司提供; 罗氏培养基由杭州嘉伟生

Corresponding author: LEI Yong-liang, E-mail: LS2123365@126.com

作者简介: 叶碧峰 (1985-), 女, 本科, 检验师, 主要从事卫生检验工作。

通讯作者: 雷永良, LS2123365@126.com

物制品有限公司提供；抗酸染色液购自珠海贝索生物技术有限公司。

1.3 痰标本的处理和培养 检测痰标本均严格按照试剂盒说明书进行。使用 320 液体、罗氏固体、抗酸涂片三种方法处理标本及接种，使用 2.9 %枸橼酸三钠、4% NaOH、0.5% N-乙酰-L-半胱氨酸为前处理液。若发现菌落生长者，经抗酸染色证实为抗酸菌，则报告抗酸杆菌培养阳性，若 8 周仍无菌落生长，报告培养阴性。

1.4 药敏试验 ①液体培养法：生长对照管，生理盐水以 1:100 稀释液体培养菌液，从中吸取 500 ul 加入含药培养基 SM、INH、RFP、EMB，即每管内含 100 ul 药物、800 ul SIRE 营养添加剂、500 ul 液体培养菌液，连同药敏架上机，4-13 天内仪器读取。②固体培养法：取对照培养基和四种含药培养基成品，分别接种 10—2 mg 和 10—4 mg 结核菌，37℃培养，每周观察 1 次，4 周后每天观察。

1.5 统计学分析 使用 SPSS 19.0 软件采用 χ^2 检验， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 痰标本培养结果 ①使用三种方法检测结核分枝杆菌，其中涂片抗酸染色阳性检出率 23%（115/500）；MGIT 液体培养阳性检出率 33.6%（168/500）；固体罗氏培养法阳性检出率 26.2%（131/500），三种方法的阳性检出率差异有统计学意义（ $\chi^2=22.011$ ， $P<0.001$ ）；其中涂片法和液体法比较差异有统计学意义（ $\chi^2=21.682$ ， $P<0.001$ ）；液体法和固体法比较差异无统计学意义（ $\chi^2=0.005$ ， $P=0.946$ ）。②在 385 例涂片抗酸阴性标本中，MGIT 液体培养法和固体罗氏培养法涂阴培阳率分别是 16.9%（65/385）和 9.9%（38/385），MGIT 液体培养法和固体罗氏培养法阳性检出例数在涂片抗酸阴性样本中差异有统计学意义（ $\chi^2=8.171$ ， $P=0.004$ ），见表 1。

表 1 500 例痰标本检测情况

培养方法	样本数	涂片抗酸染色				合计	
		阳性	检出率（%）	阴性	检出率（%）	总数	检出率（%）
液体培养	500						
阳性		103	89.6	65	16.9	168	33.6
阴性		12	10.4	320	83.1	332	66.4
固体培养	500						
阳性		93	80.7	38	9.9	131	26.2
阴性		22	19.3	347	90.1	369	73.8

2.2 培养阳性及药敏报告时间 液体培养阳性出结果时间平均 10.7 天（4~25 天），固体为 35 天（9~58 天），见表 2。差异有统计学意义（ $\chi^2=2.039$ ， $P<0.001$ ）。液体培养药敏出结果时间平均 7 天（5~7 天），固体为 28 天。

表 2 液体和固体培养法分离培养阳性报告时间情况

培养方法	培养天数（天）						
	<5	5~10	11~15	16~20	21~25	26~30	>30
液体	5	43	63	42	15	0	0
固体	0	1	8	12	10	24	76

2.3 两种方法耐药检测结果符合率 液体法检测 SM、INH、RFP、EMB 耐药分别为 57、43、19、11 株；固体法检测 SM、INH、RFP、EMB 耐药分别为 56、45、16、15 株；药敏结果符合率均>98.4%，2 种检验方法差异均无统计学意义（P>0.05），见表 3。

表 3 液体和固体培养法药敏分析结果比较表

	SM		INH		RFP		EMB	
	液体法	固体法	液体法	固体法	液体法	固体法	液体法	固体法
耐药	57	56	43	45	19	16	11	15
敏感	0	1	2	0	1	4	6	2
特异度（%）	100	98.2	95.6	100	95	80	64.8	88.2
χ^2	0.01		0.05		0.266		0.632	
P 值	1.00		0.911		0.612		0.552	
符合率（%）	99.8（499/500）		99.6（498/500）		99（495/500）		98.4（492/500）	

2.4 培养污染率 液体培养污染率为 5.8%（29/500），固体为 2.8%（14/500），差异有统计学意义（ $\chi^2=5.468$ ，P=0.028）。

3 讨论

目前，直接涂片镜检是结核菌实验室诊断最重要方法，MGIT 液体培养阳性检出率高于涂片抗酸法，与固体罗氏培养法无差异^[7]。在涂片抗酸阴性样本中使用 MGIT 液体培养法阳性检出率高，对涂阴的患者更有效。MGIT 液体培养法分离培养率高于固体罗氏培养法，320 比起其他分子方法有活菌生长可以后续做药敏实验。

大多数医院结核实验室采用罗氏固体培养法培养结核分枝杆菌阳性率一般达不到 40%，其比例法药敏试验出结果也需一个月以上，诊断周期长，对病人治疗以及传染源控制的意义显然是不明显的。对两种痰培养结果时间比对，BACTEC™ MGIT™ 320 液体培养加药敏诊断总时间不超过 25 天，而传统罗氏培养加药敏诊断至少需要 3 个月，因此，开展结核分枝杆菌的液体培养和药敏检测是比较理想的培养方法^[8]。使用液体和固体两种方法检测耐药情况，结果符合率高。

比较两种结核分枝杆菌培养方法污染率不难发现罗氏固体培养方法的污染率低于液体培养方法，可能的原因为固体培养操作中所用材料相对较少，容易控制污染的发生。因此，液体培养的方法虽然具有出结果时间短、灵敏度高、阳性结果检出率高、自动化程度高等优点，但是同时污染事件发生率高于罗氏培养基固体培养方法。由此可见，关于控制液体培养法或改良 MGIT 方法培养结核分枝杆菌污染率显得格外重要^[9]。

参考文献

[1] 顾小红, 蒋汉茂, 肖湘瑛, 等. 液基夹层杯检测结核杆菌的应用价值[J].实用预防医学; 2013, 20(1):92

[2] Jhamb SS, Goyal A, Singh PP. Determination of the activity of standard anti-tuberculosis drugs against intramacrophage Mycobacterium tuberculosis, in vitro: MGIT 960 as a viable alternative for BACTEC 460[J]. Braz J Infect Dis, 2014,18(3):336-340.

[3] 白广红, 朱蕾, 高漫, 7种实验方法诊断结核病的临床应用价值[J].临床荟萃, 2014,29(06):608-611.

[4] Feyzioglu B, Dogan M, Sanli OO, et al., Comparison of the performance of TK system with LJ

and MGIT methods in the diagnosis of tuberculosis[J]. Int J Clin Exp Med, 2014,7(4):1084-1088.

- [5] Ciftci, IH, Karakece E. Comparative evaluation of TK SLC-L, a rapid liquid mycobacterial culture medium, with the MGIT system[J]. BMC Infect Dis, 2014. 14:.130.
- [6] 黄文忠, 王平平, 周燕珍. BacT/ALERT 3D检测技术应用于结核分枝杆菌快速培养的效果评价[J]. 浙江预防医学, 2014,26(03): 217-220.
- [7] Joloba ML, Johnson JL, Feng PJ, et al., What is the most reliable solid culture medium for tuberculosis treatment trials?[J]. Tuberculosis (Edinb), 2014,94(3): 311-316.
- [8] Gomathi, NS , Kumar V. Reliability of Mycobacterial Growth Indicator Tube (MGIT) 960 for the detection of isoniazid resistance in a tuberculosis endemic setting[J]. Indian J Med Res, 2014,139(3): 471-473.
- [9] Hwang SM¹, Hwang KC, Hong YJ, et al. Improving antitubercular drug susceptibility testing with liquid media[J]. Ann Clin Lab Sci, 2014,44(2): 123-130.