

北海市结核分枝杆菌耐药监测的培养结果分析

陶波山(广西壮族自治区北海市结核病防治院 536000)

【摘要】 目的 比较初治组与复治组的培养阳性率(下称培阳率)和污染率以及二次培养对培阳率和污染率的影响。**方法** 对 60 例初治和 22 例复治患者的 2 份涂阳痰标本接种于 4 支酸性罗氏培养基上进行培养。**结果** 初治组与复治组的二次培养阳性率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。初治组与复治组的污染率经二次培养后结果比较差异无统计学意义($\chi^2 = 1.15, P > 0.05$)。初治组、复治组和合计组初次培养和二次培养的培阳率比较,差异均无统计学意义($\chi^2 = 0.18, P > 0.05$; $\chi^2 = 0.46, P > 0.05$; $\chi^2 = 1.00, P > 0.05$)。初治组、复治组和合计组初次培养和二次培养的污染率比较差异均无统计学意义($\chi^2 = 0.29, P > 0.05$; $\chi^2 = 0.36, P > 0.05$; $\chi^2 = 0.64, P > 0.05$)。**结论** 初治组的培阳率显著高于复治组,初治组的污染率与复治组差异无统计学意义。二次培养不能显著提高培阳率,也不能显著减少污染率。

【关键词】 结核; 痰涂片; 痰培养

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.09.013 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)09-1050-02

Analysis of culture results of mycobacterium tuberculosis drug resistance surveillance in Guangxi Beihai TAO Bo-shan (Beihai TB prevention and treatment Hospital, Beihai, Guangxi 536000, China)

【Abstract】 Objective To Compared with the culture positive rate and the culture pollution rate of the group of first visit cases and the group of return visit cases as well as the influence of the second cultures to culture positive rate and the culture pollution rate. **Methods** Two smear positive sputum specimens in 60 patients with untreated and 22 patients with retreatment patients' were inoculated in four acidic L G culture medium to culture. **Results** There was statistically difference of the second culture positive rate between the group of first visit cases and the return visit cases ($\chi^2 = 5.46, P < 0.05$). There was no statistically difference of the culture pollution rate between the group of first visit cases and the return visit cases after the second cult ($\chi^2 = 1.15, P > 0.05$). There was no statistically difference of the first and the second culture positive rate in the group of first visit cases, the group of return visit cases and the total group ($\chi^2 = 0.18, P > 0.05$; $\chi^2 = 0.46, P > 0.05$; $\chi^2 = 1.00, P > 0.05$). There was no statistically difference of the first and the second culture pollution rate between the group of first visit cases, the return visit cases, and the total group ($\chi^2 = 0.29, P > 0.05$; $\chi^2 = 0.36, P > 0.05$; $\chi^2 = 0.64, P > 0.05$). **Conclusion** Obviously, the culture positive rate of the group of first visit cases is much higher than that of the return visit cases. There are no significant differences between the culture pollution rate of the group of first visit cases and the one of the group of return visit cases. Second culture can neither raise the culture positive rate nor decline the culture pollution rate obviously.

【Key words】 tuberculosis; sputum smear; sputum culture

第五轮中国全球基金结核项目,广西耐药监测项目于 2010 年 6 月开始在广西区内的 30 个市、县监测点展开。北海市是 30 个监测点之一。本文对此次耐药监测项目的培养阳性率(下称培阳率)与污染率结果进行比较分析,报道如下。

1 资料与方法

1.1 资料来源 资料来源于第五轮中国全球基金结核病项目,广西耐药监测北海市监测点。2010 年 6 月至 2011 年 6 月在本院就诊的初、复治痰涂片阳性患者。初、复治同时开始纳入,连续纳入,不挑选,不漏选。纳入对象标准:调查期间新登记的诊断的初、复治(含调查期间初次治疗失败转为复治的患者)肺结核痰涂片阳性患者是初治、复治实际纳入人数分别为 60、22 例。符合纳入条件每个患者保留 2 份涂片阳性痰标本。第一次做培养时用吸管吸了 1~2 mL 痰液进行处理、接种。剩余痰液标本置于-20 冰箱保存,以备二次培养使用。

1.2 痰直接涂片抗酸染色镜检法。操作方法按《痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册》^[1]标准要求进行。

1.3 痰结核菌分离培养检查 采用 4% 氢氧化钠(NaOH)为前处理液的碱处理方法。吸取 2 份痰液标本各 1~2 mL 至带螺旋盖中,视标本性状加入 1~2 倍体积的 4% NaOH 时行前处理。置涡旋振荡器上振荡 30~60 s,至标本充分混匀,室温放置 15 min。整个过程操作时间不超过 20 min。前处理完成后,每份标本以无菌吸管吸处理液 0.1 mL 均匀接种于 2 支酸性罗氏培养基斜面上,2 份痰标本共 4 支培养管。保持斜面水平向上,37℃培养 24 h 后,直立放置继续培养。至 8 周后报告结果。第 1 次培养满 8 周后阴性或培养过程中出现污染的标本再进行同份标本的 2 次接种。分枝杆菌培养报告标准按《结核病诊断实验室检验规程》执行。

1.4 质量控制 按《痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册》^[1]和《结核病诊断实验室检验规程》进行涂片和分离培养的室内和室间控制。

1.5 试剂来源 抗酸染液和酸性罗氏培养基均由珠海贝索生物技术有限公司提供。

1.6 统计学方法 采用 χ^2 检验进行统计分析。

2 结 果

2.1 培养阳性结果 见表 1。由表 1 可见,初次培养与二次培养阳性结果两组差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 两组培养阳性结果[n(%)]

组别	n	初次培养	二次培养	χ^2
初治组	60	56(93.3)*	58(96.7)▲	0.18
复治组	22	15(68.2)	17(77.3)	0.46
合计	82	71(86.6)	75(91.5)	1.00

注:与复治组比较,* $P<0.01$;▲ $P<0.05$ 。

2.2 培养污染率结果 见表 2。由表 2 可见,初次培养与二次培养污染率结果两组差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 两组培养污染率结果[n(%)]

组别	n	初次培养	二次培养	χ^2
初治组	240	8(3.3)*	6(2.5)*	0.29
复治组	88	7(7.9)	5(5.7)	0.36
合计	288	15(5.2)	11(3.9)	0.64

注:与复治组比较,* $P>0.05$ 。

3 讨 论

由表 1 可见,本次耐药监测的涂阳痰标本的总培阳率为 91.5%,与梅建等^[2]报道的 90.4%非常接近。其中初治组的涂阳培阳率为 96.7%,复治组的培阳率为 77.3%,两组比较差异有统计学意义,初治组与复治组的初次培养培阳率差异比较差异也有统计学意义。与袁中行等^[3]报道的初治组与复治组培阳率差异无统计学意义的结果不一致。初治组的培阳率比复治组的高可能与下列原因相关:复治组的患者由于长期接受抗结核药物治疗,在化疗药物及环境因素影响下结核分枝杆菌出现变异,变异的分枝杆菌有可能进入休眠状态,大部分时间处于代谢不活跃。变异的结核杆菌活力低下,在酸性罗氏培养基难以生长。变异的分枝杆菌只有在条件非常适合的情况下才能生长^[4]。或者排出的是死菌或属于其他不能在酸性罗氏培养基上生长的其他类型的抗酸杆菌。也有部分患者感染的是依赖某种抗结核药物才能生长的分枝杆菌,现有培养基的成分不足以激活其生长^[5]。结核分枝杆菌细胞壁缺陷的 L 型菌也是导致涂阳痰标本培养阴性的一个原因之一。由于初治组与复治组的培阳率差异有统计学意义,所以初治组与复治组的例数构成比对总的培阳率影响较大。初次培养与二次培养的培阳率比较,无论是初治组、复治组还是合计组差异均无统计学意义。由此说明二次培养并不能显著提高培阳率。因为在前处理液浓度固定,前处理的液化程度和液化时间把握恰当,并严格按操作规程操作的情况下,影响培阳率的最关键因素是患者菌株本身在罗氏培养基的生长能力。虽然二次培养不能显著提高培阳率,但还是比初次培养的阳性率略高,所以二次培养在耐药监测的调查中还是非常必要的,这样的耐药监测结

果就更完整、更准确、更有代表性。但在日常工作中是否有必要进行二次培养值得进一步探讨。

由表 2 可见,本次耐药监测的初治组、复治组及合计组的污染率分别为 2.5%、5.7%和 3.9%。污染率与文献^[6]报道结果接近。初治组、复治组及合计组的初次培养污染率与二次培养的污染率比较差异无统计学意义。由此说明二次培养未能显著降低培养的污染率。因为只有外源性因素造成的污染(如工作环境污染、操作规程不完善、前处理剂浓度过低或前处理剂使用不当及样品前处理时间过短等)才能通过二次培养降低它的污染率。此次耐药监测是经过省级结防所专门严格培训,受外源性因素影响较小。而内源性因素:如患者感染的菌株对前处理剂耐受,或是由肠道科细菌等原因引起的污染,应更换前处理液或对患者在临床上作出相应治疗后再重送标本做培养,才能把污染率降低到最低的比例^[7]。内源性因素并不能因为增加培养次数而使污染率有明显降低。初治组与复治组的初次培养污染率结果比较,差异无统计学意义;初治组与复治组的二次培养污染率结果比较,差异无统计学意义。无论是初次培养还是二次培养复治组的污染率都比初治组的污染率略高。这可能是因为复治组的患者大部分都是在未停药的情况下因初治失败而从转入复治。这类患者因长期服用抗结核菌药物,造成正常菌群失调,酵母菌生长的机会增加。

此次结核分枝杆菌耐药监测北海市监测点的涂阳痰标本培养阴性率和污染率分别为 8.5%和 3.9%,符合项目涂阳痰标本培养阴性率和污染率分别小于 10%和 5%的要求,为下一步做药敏试验打下了坚实的基础。

参考文献

[1] 卫生部疾病预防控制局 中国疾病预防控制中心. 中国结核病防治规划. 痰涂片镜检标准化操作及质量保证手册[S]. 北京:中国协和医科大学出版社,2009:7-11.

[2] 梅建,沈鑫,沈梅,等. 上海市结核分支杆菌耐药性监测研究报告[J]. 中国防痨杂志,2007,29(5):395-398.

[3] 袁中行,刘庆勇,仇红霞. 67 份结核菌株培养结果分析与体会[J]. 现代预防医学,2011,38(4):704-705.

[4] 夏洪娇,刘剑荣,彭可君. 噬菌体生物扩增法结合荧光染色法快速检测结核分枝杆菌[J]. 临床和实验医学杂志,2008,7(11):80.

[5] 杨绍敏,高丽,杨壁琿,等. 三种方法同时检测艾滋病合并结核分枝杆菌感染[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5(1):228-232.

[6] 王少萍,刘永仙,刘晓斌,等. 延安地区结核杆菌耐药性监测分析[J]. 山西医科大学学报,2009,40(1):58-60.

[7] 吴龙章,黄洁玲,谢敏娜,等. 减少分支杆菌培养污染的方法学研究[J]. 中国防痨杂志,2006,28(6):398-400.

(收稿日期:2011-12-16)