

· 短篇论著 ·

变色液体培养基快速培养分支杆菌的临床应用

熊国亮¹, 雷建平¹, 周萍珍¹, 赵承红¹, 张慧慧¹

快速分离临床标本中分支杆菌一直是结核病学领域迫切需要解决的课题。结核分支杆菌分裂周期长, 生长速度慢, 在改良罗氏培养基上一般需要 2~8 周才能看到可分辨的菌落, 难于满足临床需要, 我们应用变色液体培养基对临床痰标本进行培养可快速检出生长的分支杆菌, 现报告如下。

材料与方法

一、材料

1. 临床痰标本: 留取我院结核科 113 例住院肺结核病人晨痰。

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; 标准菌株: H₃₇R_v 菌购自中国药品生物检定所; 改良罗氏培养基按照文献^[1]自配。

二、方法

1. 取改良罗氏培养基上培养 15 天的 H₃₇R_v 菌落, 用含 0.5% 吐温 80 无菌生理盐水研磨后, 调其浓度为 NO1 MacFarLand 单位, 相当湿菌浓度 1mg/ml, 按 1:10 继续稀释为 1×10⁻¹ mg/ml, 1×10⁻² mg/ml, 1×10⁻³ mg/ml, 1×10⁻⁴ mg/ml, 1×10⁻⁵ mg/ml, 1×10⁻⁶ mg/ml, 1×10⁻⁷ mg/ml, 各分别接种 0.1ml 于变色液体培养基和改良罗氏培养基, 37℃ 培养。

2. 临床痰标本经 2~4 倍体积的 4% NaOH 消化 20min, 以 3000rpm/min, 离心 10min, 沉淀用无菌 1/15mol pH6.8 的磷酸盐缓冲液洗涤 2 次后, 再加 0.5ml 无菌磷酸缓冲液混匀后, 分别取 0.2ml 接种于变色液体培养基和改良罗氏培养基, 37℃ 培养。所有痰标本都同时做涂片抗酸染色。

3. 结果观察与报告: 变色培养基接种后, 每天观察 1 次, 2 周后每周观察 3 次, 若培养基变为紫红色或底层有紫红色颗粒沉淀, 经抗酸染色证实有分支杆菌时, 报告分支杆菌生长阳性, 6 周无此变化报告阴性。改良罗氏培养基按照文献^[1]观察与报告。

结 果

1. 不同菌量的标准结核分支杆菌 (H₃₇R_v) 在变色液体培养基中的平均检出时间为 8.7±5.3 ($\bar{x} \pm$

S) 天, 在改良罗氏培养基的平均检出时为 28.2±12.1 ($\bar{x} \pm S$) 天, 其中 1×10⁻³ mg/ml 管、1×10⁻⁴ mg/ml 管在变色液体培养基中的检出时间分别为 6 天和 11 天, 在改良罗氏培养基中的检出时间分别为 17 和 21 天, 变色液体培养基的检出时间明显短于改良罗氏培养基。1×10⁻⁷ mg 管在变色液体培养基和改良罗氏培养基培养 60 天均无生长。

2. 113 例临床痰标本, 变色液体培养基阳性率 54.9% (62/113) 与改良罗氏培养基阳性率 52.2% (59/113) 无显著差异 ($\chi^2 = 0.16$ $P > 0.5$)。变色液体培养基平均检出时间 (12 天) 比改良罗氏培养基平均检出时间 (29 天) 提前了 17 天。其中涂阳 37 例标本, 变色液体培养基和改良罗氏培养基检出阳性均为 35 例。涂阴 76 例标本, 变色液体培养基检出阳性 27 例, 改良罗氏培养基检出阳性 24 例。变色液体培养基和改良罗氏培养基的污染率分别为 4.4% (5/113), 2.7% (3/113), 污染菌均为铜绿假单胞菌或霉菌。

讨 论

分支杆菌变色液体培养基为营养丰富, 含有多种抗生素的选择培养基^[2]。我们的结果表明: 变色液体培养基阳性率高, 检出时间短, 检测的灵敏性与罗氏培养基一致, 污染率低。实验中 2 例涂阳培阴结果, 可能与病人化疗后结核菌死亡或成为低活力菌有关。在分支杆菌变色液体培养基中直接加入已知浓度的抗结核药物, 可用于分支杆菌的快速药敏试验^[3]。应用变色液体培养基对临床标本进行培养, 操作简便, 不需特殊仪器和技术, 具有应用价值。

参考文献:

- 1 中国防痨协会. 结核病诊断细菌学检验规程 [M]. 北京: 中国防痨协会, 1995. 9~12.
- 2 熊礼宽, 杨应周, 黄伟, 等. 一种新型快速检出分支杆菌变色液体培养基的评价 [J]. 中华检验医学杂志, 2001, 24(1): 49.
- 3 熊礼宽, 何林, 曹开源, 等. 变色液体培养基系统快速鉴定结核分支杆菌和耐药性测定 [J]. 中华检验医学杂志, 2001, 24(5): 306~307.