

## 结核分枝杆菌药敏试验方法改进的探讨

孙桂芝\* 张培元\* 康丽军\* 何庆明\*

**摘要 目的** 探讨改进结核分枝杆菌药敏试验方法。**方法** 以 BACTEC 法 7H12B 液体培养基分离出 50 例临床结核分枝杆菌菌株,经不同稀释后,直接接种于改良罗氏药敏培养基上,与 BACTEC 法药敏结果对比,观察其耐药性。**结果** 1.7H12B 液体培养基中结核分枝杆菌菌液 GI 值 500~900 时,1ml 相当于 1mg 结核分枝杆菌湿重的活菌(菌数  $10^6 \sim 10^7$ )。2.取 7H12B 液体培养基的菌液直接接种于罗氏药敏培养基,其耐药结果与 BACTEC 法相比,无显著性差异( $P > 0.05$ )。**结论** 此法可弥补 BACTEC 通常只有四种药敏的不足,与常规罗氏药敏方法比较,可提前报告 13~15 天。

**关键词** BACTEC 药敏试验

### Exploration on the reformed method of drug sensitivity test for *Mycobacterium tuberculosis*

Sun Guizhi, Zhang Peiyuan, Kang Lijun, et al. Beijing Chest Hospital 100095

**Abstract Objective** To explore the reformation on the method of drug sensitivity test for *Mycobacterium tuberculosis*. **Method** 50 M. TB was separated from the clinic by the 7H12B liquid medium used for BACTEC. After diluted at different density, directly vaccinated on the reformed Löwenstein-Jensen medium. Comparing with the drug sensitivity results of BACTEC, the reformed drug sensitivity method could be valued. **Result** 1. The number of M. TB in 1ml 7H12B liquid medium (GI 500~900) is equal to that of 1mg wet weight of M. TB ( $10^6 \sim 10^7$ ). 2. The bacteria liquid drawn from 7H12B liquid medium was directly vaccinated on the traditional Löwenstein-Jensen medium. With the drug sensitivity result comparing with that of BACTEC, there is no significant difference ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The method of BACTEC drug sensitivity test is usually used for only 4 kinds of anti-tuberculosis drugs. The reformed method could be used for more and remedy the defect of BACTEC. Comparing with the method of Löwenstein-Jensen drug sensitivity test, the time the new method used was short of 13 to 15 days.

**Key words** BACTEC Drug susceptibility test

自 BACTEC 法问世以来,以其报告时间短,初代分离率高等优点进入各实验室<sup>[1]</sup>,并广泛应用于防痨工作<sup>[2]</sup>。但 BACTEC 法药物敏感实验仅提供四种药敏结果在临床上应用显然是不够的。经典的改良罗氏法从初代分离至取得药物敏感结果,虽其抗菌谱广,但耗时过长。为探讨以 BACTEC 法进行初代分离以缩短培养时间,将 BACTEC 法培养阳性物直接转种于改良罗氏药敏培养基上观察药敏结果的改良方法以及 BACTEC 法培养物最适宜的 GI 值和接种菌量。我们将 BACTEC 法与罗氏药敏优点结合起来,对 50 例临床 BACTEC 培养阳性的初代分离菌株进行不同 GI 值菌落计数和分别移种于改良罗氏和 BACTEC 药敏培养基上进行对比。现将结果报告如下:

### 材料与方法

#### 一、BACTEC 法不同 GI 值结核菌阳性培养物活菌数测定

1. 标本来源:50 例取自本院排菌结核病人痰标本,按常规方法操作<sup>[3]</sup>,分别接种 7H12B 培养基中,每日测定 GI 值,当 GI 值至 500~900 时备用。

2. 选 330mm × 250mm 大口径试管按常规制备改良罗氏培养基,将其制成大斜面。

3. 活菌计数:将 7H12B 培养阳性且已确定为结核分枝杆菌的 50 例标本 (GI 值 500~900) 分为 GI 值 500~600, GI 值 600~700, GI 值 700~800 和 GI 值 800~900 四组。每例分四组取阳性培养物 0.1ml 稀释至  $10^{-4}$  (即每

\* 北京胸科医院 100095

份标本稀释 10 000 倍),取每份标本 1ml 均匀接种于改良罗氏培养基上,四周后计算菌落数,每例标本分四组求出菌落数。将 50 例每组菌落数求均值。不同 GI 值的四组阳性培养物,经培养后活菌落数差异无显著意义 ( $P > 0.05$ ),四组平均值为 249,乘以稀释倍数,则每毫升活菌为  $2.94 \times 10^6$ ,接近于 1mg 湿重的结核菌活菌数 ( $10^6 \sim 10^7$ )。

## 二、药物敏感试验

将准备好的 7H12B 培养基中菌液 (GI 值 500 ~ 900) 稀释至  $10^{-2}$  (取稀释液 9.9ml + 菌液 0.1ml),然后每份标本取 0.1ml,即活菌数为  $10^{-3}$ ,依次接种于改良罗氏 SM、INH、RFP、EB 药敏培养基上。同一份标本直接取 GI 值 500 ~ 900 培养物 0.1ml,分别接种于 BACTEC 四种药敏培养基中作为对照。

## 结 果

50 例标本分四组不同 GI 值的 BACTEC 培养物的菌落计数情况 (图 1) 及转种改良罗氏药敏培养基测定结果与 BACTEC 药敏的对照 (表 1)。

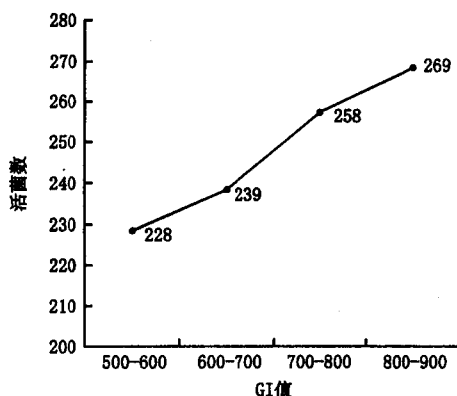


图 1 四组不同 GI 值活菌计数图

## 讨 论

通过 BACTEC 法的 50 例结核分枝杆菌阳性培养物 (GI 值 500 ~ 900) 接种于改良罗氏培养基进行活菌计数和药敏试验。可看出:1.1ml 的 GI 值 500 ~ 900 的培养物相当于 1mg 结核菌湿重的实际活菌数  $10^6 \sim 10^7$ ,培养物 GI

表 1 50 例 BACTEC 法与改良罗氏法药敏结果比较表

| 药物  | BACTEC 法药敏结果 |      | 改良罗氏药敏结果 |      | $\chi^2$ 值 | P 值        |
|-----|--------------|------|----------|------|------------|------------|
|     | 耐药例数         | 敏感例数 | 耐药例数     | 敏感例数 |            |            |
| INH | 10           | 40   | 10(2)    | 40   | 1.0        | $P > 0.05$ |
| EMB | 1            | 49   | 1(0)     | 49   | 1.0        | $P > 0.05$ |
| SM  | 15           | 35   | 15(5)    | 35   | 1.0        | $P > 0.05$ |
| RFP | 16           | 34   | 16(1)    | 34   | 1.0        | $P > 0.05$ |

注:()为改良罗氏药敏低度耐药例数

值在 500 ~ 900 之间时,组间菌落数变化不显著。2. 活菌计数,7H12B 阳性培养物 GI 值 500 ~ 900 时,稀释至  $10^{-2}$  接种 0.1ml 于改良罗氏药敏培养基上 (活菌数为  $10^{-3}$ ),与改良罗氏常规药敏方法接种量一致。因此,这二法结果有可靠的一致性。3. 由表 1 可见,将 BACTEC 法 7H12B 培养阳性标本,直接接种于改良罗氏培养基,各药敏结果与 BACTEC 法药敏结果符合率达 100%。4. 用 BACTEC 阳性培养物直接转种罗氏药敏培养基,INH、SM、RFP 药敏结果中,有少数低浓度耐药者在 BACTEC 法耐药试验中为敏感,与胡先彬等报告相符。转种罗氏培养基高度耐药者与 BACTEC 法耐药例数结果完全一致。转种改良罗氏药敏培养基敏感例与 BACTEC 法敏感例结果也完全相符,两种结果经统计学处理  $P > 0.05$ ,说明

两种方法结果有明显的一致性。5. 将 BACTEC 法初代分离率高、培养快与改良罗氏药敏抗菌谱广、可直接得到菌落及药敏试验结果与临床治疗结果一致性高的优点相结合,将标本中结核分枝杆菌用 BACTEC 法分离,直接接种于罗氏药敏培养基,可提前报告 10 ~ 15 天以上 (与传统改良罗氏法分离 + 药敏试验相比)。6. 本改良方法可为临床提供更多的药敏结果。7. 与 BACTEC 法相比可节省经费,减轻病人负担,在条件允许情况下可推广采用。

## 参 考 文 献

- 1 张立兴,自动快速检测结核菌及其它分支杆菌 BACTEC 法

的研究及应用。中国防痨杂志,1991,13:35—37.

- 2 Rohner P, Ninet B, Metral C, et al. Evaluation of the MB/BacT system and comparison to the BACTEC 460 system and solid media for isolation of mycobacteria from clinical specimens. J Clin Microbial. 1997,36:3127—3129.

- 3 中国防痨协会基础专业委员会主编. 结核病诊断细菌学检验规程. 北京: 中国防痨协会, 1995, 9—18.

(收稿 1998 - 10 - 29 修回 1999 - 03 - 05)