

细菌超声分散计数仪在分枝杆菌药物敏感性试验中的应用价值

蔡杏珊 刘燕文 张院良 陈俊宇 马尚明 谭耀驹

【摘要】 目的 评估细菌超声分散计数仪(简称“分散仪”)在分枝杆菌药物敏感性试验(简称“药敏试验”)中的应用价值。**方法** 使用分散仪和磨菌瓶两种方法对结核分枝杆菌(MTB)标准株 H37Rv 和 130 株临床分离株进行分散处理,通过肉眼观察和抗酸染色两种方法对比这两种处理方式的分散效果;同时通过平板菌落计数和药敏试验来评估分散仪处理对分枝杆菌的活性及药敏结果的影响。**结果** (1)分散效果:130 株分枝杆菌临床分离株中,111 株菌落形态为粗糙型,包括 MTB 98 株,龟脓肿分枝杆菌、耻垢分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌等共 13 株,经分散仪和磨菌瓶两种方法处理后肉眼及显微镜观察,菌落呈现均匀分散的菌株分别占 94.59%(105/111)和 60.36%(67/111),差异有统计学意义($\chi^2=37.28, P<0.05$)。(2)菌株活性:上述两种方法处理后的菌悬液经 7H10 平板和中性罗氏培养基培养,分别于 (12.10 ± 1.85) d 和 (11.50 ± 2.05) d 长出中等大小菌落,差异无统计学意义($t=1.30, P>0.05$)。统计上述两法处理后接种在 7H10 平板上的菌落数,分别为 $(215.00\pm0.95)\times10^4$ CFU/ml 和 $(207.00\pm1.10)\times10^4$ CFU/ml,差异无统计学意义($t=0.93, P>0.05$);罗氏培养基菌落数分别为 $(178.00\pm1.31)\times10^4$ CFU/ml 和 $(185.00\pm1.75)\times10^4$ CFU/ml,差异无统计学意义($t=1.01, P>0.05$)。(3)药敏试验:分散仪处理与磨菌瓶处理菌悬液对异烟肼、链霉素、利福平、乙胺丁醇等一线抗结核药物的药敏试验结果符合率分别为 100.00%(130/130)、90.00%(117/130)、96.15%(125/130)、98.46%(128/130), $Kappa$ 值分别为 1.00、0.73、0.88、0.90;对阿米卡星、左氧氟沙星、莫西沙星、力克菲萘、利福布汀、丙硫异烟胺、利奈唑胺等二线抗结核药物的药敏试验结果符合率分别为 98.46%(128/130)、98.46%(128/130)、98.46%(128/130)、98.46%(128/130)、98.46%(128/130)、98.46%(128/130)、99.23%(129/130), $Kappa$ 值分别为 0.74、0.85、0.79、0.85、0.89、0.91、1.00。两种处理方法处理后的菌悬液应用 MGIT 960 液体比例法进行药敏试验的报告阳性时间分别为 (8.90 ± 0.97) d 和 (9.30 ± 1.23) d,差异无统计学意义($t=1.02, P>0.05$)。**结论** 在分枝杆菌药敏试验的菌悬液制备过程中,对比传统磨菌瓶处理方法,分散仪处理能更快、更好地实现菌株分散,并且达到菌落分散和浊度检测一体化,同时不影响菌株的活性和药敏试验结果。

【关键词】 分枝杆菌; 结核; 超声处理; 结核,抗多种药物性

Value of the bacterial ultrasonic dispersion counter applicated in mycobacterial drug susceptibility testing CAI Xing-shan, LIU Yan-wen, ZHANG Yuan-liang, CHEN Jun-yu, MA Shang-ming, TAN Yao-ju. Clinical Laboratory, Guangzhou Chest Hospital, Guangzhou 510095, China

Corresponding author: TAN Yao-ju, Email: gzchtan@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the application of the bacterial ultrasonic dispersion counter (indicated as instrument below) in mycobacterial drug susceptibility testing. **Methods** *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and 130 strains of clinical isolates were de-clumped by both declumping instrument and bacterial clusters. The de-clumping efficiencies of these two methods were compared by visual observation and acid-fast staining, while the effect of de-clumping instrument on activity and drug sensitivity of *Mycobacterium* was evaluated using the plate count and drug susceptibility test, respectively. **Results** (1) De-clumping effect. Of the 130 strains, 111 were rough mycobacterial strains, including 98 *Mycobacterium tuberculosis* strains and 13 non-tuberculosis mycobacterium strains such as *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacteria smegmatis* and *Mycobacterium kansasii*, et al; evaluated by visual observation and microscopic examination, homogenous declumping of the bacterial clusters were 94.59% (105/111) and 60.36% (67/111) strains after being treated with declumping instrument and bacterial clusters, respectively, the

difference was statistically significant ($\chi^2 = 37.28$, $P < 0.05$). (2) Viability of strain. After being processed by 7H10 and Löwenstein-Jensen media for (12.10 ± 1.85) days and (11.50 ± 2.05) days, sizes of bacterial colonies of the bacterial suspension treated with the above two methods showed no significant difference ($t = 1.30$, $P > 0.05$). Numbers of bacterial colonies on 7H10 of the two bacterial suspensions were $(215.00 \pm 0.95) \times 10^4$ CFU/ml and $(207.00 \pm 1.10) \times 10^4$ CFU/ml, respectively, there was no statistically significant difference ($t = 0.93$, $P > 0.05$); so was the difference on the Löwenstein-Jensen media ($(178.00 \pm 1.31) \times 10^4$ CFU/ml vs. $(185.00 \pm 1.75) \times 10^4$ CFU/ml, $t = 1.01$, $P > 0.05$). (3) Drug susceptibility testing. The coincident rates of bacterial suspensions treated with de-clumping instrument and bacterial clusters to first-line drugs, such as isoniazide, streptomycin, rifampicin and ethambutol were 100.00% (130/130), 90.00% (117/130), 96.15% (125/130) and 98.46% (128/130) with *Kappa* values of 1.00, 0.73, 0.88 and 0.90, respectively; while the coincident rates to second-line drugs, such as amikacin, levofloxacin, moxifloxacin, isoniazid-aminosalicylate, rifabutine, protionamide and linezolid were 98.46% (128/130), 98.46% (128/130), 98.46% (128/130), 98.46% (128/130), 98.46% (128/130), 98.46% (128/130) and 99.23% (129/130) with *Kappa* values of 0.74, 0.85, 0.79, 0.85, 0.89, 0.91 and 1.00, respectively. The positive times of the two bacterial suspensions treated with drug sensitive test by MGIT 960 liquid proportion method were (8.90 ± 0.97) days and (9.30 ± 1.23) days, there was no statistically significant difference ($t = 1.02$, $P > 0.05$). **Conclusion** Compared to the traditional mechanical grinding, the instrument helps to achieving faster and better de-clumping effects in the process of preparing bacterial suspensions for mycobacterial drug susceptibility testing. It could also achieving the integration of colonies dispersion and turbidity detection without affecting the bacterial viability or drug susceptibility.

【Key words】 *Mycobacterium tuberculosis*; Sonication; Tuberculosis, multidrug-resistant

结核分枝杆菌(MTB)的药物敏感性试验(简称“药敏试验”)是耐药结核病诊断的金标准。目前在各级结核病诊断实验室中,最常用的耐药检测方法仍然是基于固体培养基培养的比例法和 MGIT 960 的液体比例法^[1],而菌悬液标本的制备是其关键步骤^[2]。常用的方法是磨菌瓶法:通过振荡瓶中的玻璃珠与菌落,从而使菌落分散,然后加入含 0.5% Tween-80 的生理盐水进行稀释,与麦氏 1 号标准比浊管或比浊仪比浊并稀释至 1 个麦氏浊度(MCF),经稀释后接种到含药罗氏管进行耐药性检测。上述方法虽然能使菌落分散成菌体,成功完成药敏检测,但存在操作繁琐、耗时长、比浊粗糙,以及生物安全风险等问题。而细菌超声分散计数仪采用超声分散的原理使菌落分散,同时自动检测浊度,最后经人工接种到含药培养管培养进行耐药性检测,具有操作简单、安全、标准化,耗时短等优势。笔者分别采用细菌超声分散计数仪(简称“分散仪”)和传统的研磨瓶法制备临床 MTB 菌株的菌悬液样本,以评估分散仪在 MTB 药敏试验中的应用价值。

材料和方法

1. 菌株来源:实验中所用的 MTB 标准菌株 H37Rv 和 130 株分枝杆菌临床分离株均由广州市胸科医院检验科实验室提供。

2. 主要仪器与试剂:(1)仪器:细菌超声分散计数仪(超声功率为 19 W;广东体必康生物科技有限公司生产)、37 °C 恒温培养箱、4 °C 冰箱、生物安全

柜、奥林巴斯光学显微镜、Eppendorf 微量移液器、BD960 全自动快速分枝杆菌培养仪。(2)试剂耗材:磨菌瓶、直径 9 cm 平板、平板封口膜、7H9 培养基、7H10 培养基、罗氏中性培养基、接种环、生理盐水、0.5% Tween-80 生理盐水、1.5 ml Eppendorf 管、超声分散专用试管、载玻片、镜油、Baso 抗酸染色液。

3. 分散仪分散效果试验:H37Rv 标准株和 130 株分枝杆菌临床分离株均采用接种环挑取罗氏培养基内菌落约一环,放入预先加有 2 ml 生理盐水的超声分散专用试管中,然后将该试管放入分散仪中进行超声分散:超声 5 s,间隔 5 s,持续 1 min。根据仪器提示加入相应体积稀释液,将菌悬液稀释至 1 MCF(1 mg/ml)。取同浓度磨菌瓶研磨的菌悬液样本,肉眼观察对比这两种不同方式处理后菌悬液的分散效果。用生理盐水将分散仪和研磨瓶分别处理制备的 1 MCF 菌悬液进行 10 倍梯度稀释,直至 10^{-4} mg/ml,然后各取 0.1 ml 菌液进行抗酸染色。根据肉眼观察和显微镜观察两种方法来评价不同处理方式的分散效果。

4. 分散仪分散后菌株活性试验:分散仪和磨菌瓶均对 H37Rv 标准株和 130 株分枝杆菌临床分离株进行分散处理,制备浊度为 1 MCF 的菌悬液样本,再用生理盐水对菌悬液进行 10 倍梯度稀释,直至 10^{-3} mg/ml,然后分别取 100 μ l 菌悬液接种至 7H10 固体培养基平板和中性罗氏培养基上。接种时用接种环将菌液均匀涂布于平板和罗氏培养基

上,最后将两种培养基置于 37℃ 恒温培养箱中培养。培养过程中定期观察菌落生长状态,待 14 d 菌落生长至合适大小时进行菌落计数,并统计分析结果。

5. 分散仪对药敏试验结果的影响:分散仪和磨菌瓶均对 H37Rv 标准株和 130 株分枝杆菌临床分离株进行分散处理,参照文献[3]进行药敏试验,以评估两种分散处理方法对分枝杆菌药敏试验结果的影响。一线药物(异烟肼、利福平、链霉素、乙胺丁醇)的药敏试验采用 MGIT 960 法,待仪器自动报告结果时,记录报阳时间并分析结果;二线药物(阿米卡星、左氧氟沙星、莫西沙星、力克菲蒺、利福布汀、丙硫异烟胺、利奈唑胺)采用传统固体比例法进行药敏试验,于 30 d 时统计菌落数并分析结果。

6. 质量控制:采用 H37Rv 标准菌株作为分散仪和磨菌瓶处理的分散菌落,菌悬液接种 7H10 平板及罗氏培养基用以验证处理后菌悬液的活性,接种含药培养基以验证药敏试验的准确性,并以其结果作为本研究的质量控制。

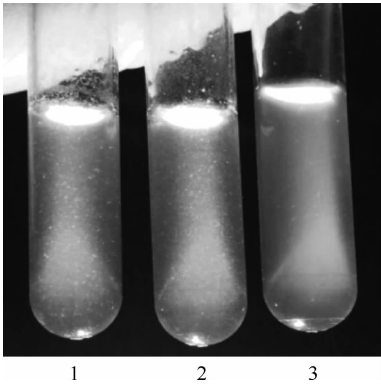
7. 统计学分析:采用 SPSS 19.0 软件进行分析。应用卡方检验对分散仪和磨菌瓶处理后菌悬液均匀的菌株百分率进行比较;对两法处理后接种培养基的菌落数和报告阳性时间进行 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义;对两法处理后的菌液药敏培养结果进行一致性检验($Kappa$ 检验), $Kappa\geq 0.75$ 认为两者一致性较好。

结 果

1. 分散效果:应用分散仪和磨菌瓶两种处理方式对 130 株分枝杆菌临床分离株及 H37Rv 标准株进行处理,肉眼观察结果表明,分散仪分散的菌液更均匀,无明显大的菌落颗粒;而磨菌瓶研磨处理后的菌液中存在明显较大的菌落颗粒,见图 1。

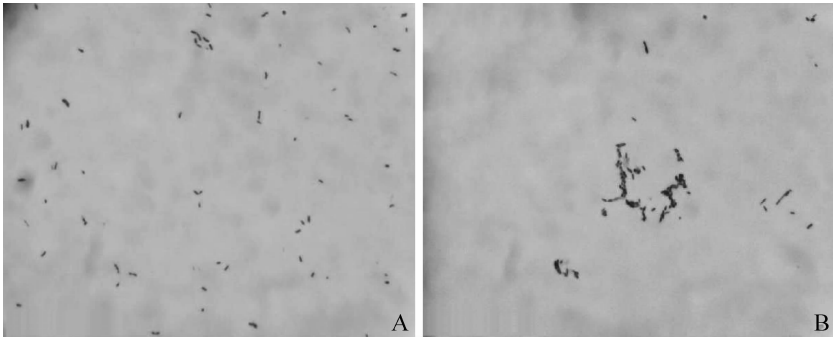
抗酸染色镜检结果表明,分散仪分散后的菌悬液菌体分散得更均匀,无明显的菌体聚集现象,而研磨瓶处理后的菌悬液存在明显的菌体聚集现象,见图 2。

130 株临床分离株中,有 111 株菌落形态呈粗糙型,包括 MTB 98 株,龟脓肿分枝杆菌、耻垢分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌等共 13 株;在分散仪和磨菌



1 号和 2 号管均为磨菌瓶处理后的菌悬液;3 号管为分散仪分散后的菌悬液

图 1 磨菌瓶和分散仪处理后菌悬液分散效果的比较



A:分散仪分散(抗酸染色 $\times 1000$);B:研磨瓶分散(抗酸染色 $\times 1000$)

图 2 不同分散方式处理后的结核分枝杆菌 H37Rv 标准株菌悬液抗酸染色镜检结果

瓶处理后肉眼及镜下所见的菌落呈现均匀分散的菌株分别占 94.59%(105/111)和 60.36%(67/111),差异有统计学意义($\chi^2=37.28, P<0.05$)。19 株菌落形态呈光滑湿润型的分枝杆菌经上述两种方法处理后肉眼及显微镜所见的菌落全部呈均匀分散。

2. 菌株活性验证:将分散仪和磨菌瓶分别处理后的 130 株临床分枝杆菌分离株菌悬液接种在 7H10 米氏平板和罗氏培养基上,分别于(12.10 \pm 1.85) d 和(11.50 \pm 2.05) d 长出中等大小菌落,两处理方法的报告阳性时间差异无统计学意义($t=1.30, P>0.05$)。统计上述两法处理后接种在 7H10 平板上的菌落数,分别为(215.00 \pm 0.95) $\times 10^4$ CFU/ml 和(207.00 \pm 1.10) $\times 10^4$ CFU/ml,差异无统计学意义($t=0.93, P>0.05$);罗氏培养基菌落数分别为(178.00 \pm 1.31) $\times 10^4$ CFU/ml 和(185.00 \pm 1.75) $\times 10^4$ CFU/ml,差异无统计学意义($t=1.01, P>0.05$)。

3. 药敏试验结果:通过分散仪和磨菌瓶这两种处理方式完成对 MTB 标准菌株 H37Rv 和分枝杆菌临床分离株的菌悬液制备,然后进行药敏试验。

结果表明,分散仪处理与磨菌瓶处理比较,对于异烟肼、链霉素、利福平、乙胺丁醇等一线抗结核药物的药敏试验结果符合率分别为 100.00%(130/130)、90.00%(117/130)、96.15%(125/130)、98.46%(128/130), *Kappa* 值分别为 1.00、0.73、0.88、0.90,见表 1;对阿米卡星、左氧氟沙星、莫西沙星、力克菲蒺、利福布汀、丙硫异烟胺、利奈唑胺等二线抗结核药物的药敏试验结果符合率分别为 98.46%(128/130)、98.46%(128/130)、98.46%(128/130)、98.46%(128/130)、98.46%(128/130)、98.46%(128/130)、99.23%(129/130), *Kappa* 值分别为 0.74、0.85、0.79、0.85、0.89、0.91、1.00,见表 2。同时,以上两种处理方法处理后的菌悬液应用 MGIT 960 液体比例法进行药敏试验的报告阳性时间分别为(8.90±0.97) d 和(9.30±1.23) d,差异无统计学意义($t=1.02, P>0.05$)。

讨 论

超声波是一种频率高于 20 000 Hz 的声波,已广泛用于诊断学、治疗学、工程学、生物学等领域,并取得巨大的成就。本研究所用的细菌超声分散计数仪以液体为媒介,通过超声波在液体中的“空化”作用,将液体中聚集成团的菌落进行分散和解团聚,从而达到分散细菌的作用。小功率的超声有分散作用而无损于细菌体,但大功率的超声可使细菌及细胞破碎。笔者从分散仪对分枝杆菌的分散效果、细菌活性和耐药性的影响等方面探讨其在分枝杆菌处理

过程中的应用价值。

分散仪对试管内菌落超声 5 s,间隔 5 s,持续 1 min,与传统磨菌瓶分散处理方式相比,分散仪对菌落形态为粗糙型的分枝杆菌处理具有明显的分散效果,能均匀分散的菌株占 94.59%,大于磨菌瓶处理的 60.36%;在菌株活力方面,两法处理后接种在 7H10 和罗氏培养基上的菌落数相接近,菌落的生长时间也没有差异;两法处理后所做的 11 种药物的耐药性检测结果一致性也很好。研究表明,分散仪不但可以很好地分散分枝杆菌,而且对细菌没有造成损伤,对菌株的活性和耐药性无明显影响,同时操作更简便,自动分散,同步实现分散浊度,整个分散过程在密闭空间内完成,给操作人员提供更好的安全保障。

分子检测方法是目前在临床 MTB 耐药检测中比较流行的检测方法^[4-6]。该方法的主要优点是快速、方便。但还存在一些缺点,如检测敏感度低,不能同时检测多种耐药突变基因等。传统的 MTB 药敏试验技术成熟,能全面检测出针对多种不同药物具有耐药性的菌株,但该方法操作复杂,操作环境相对开放,实验过程中产生的气溶胶对操作人员的生命安全存在潜在威胁,且实验周期较长,通常 4~8 周才能得到结果。在传统药敏试验的前期菌悬液制备阶段,通过分散仪来代替传统磨菌瓶研磨处理,更能保证安全、高效和标准化的操作,使实验过程更加规范化和系统化。

表 1 分散仪和磨菌瓶处理菌悬液进行一线抗结核药物药敏试验结果的比较(株)

| 分散仪 处理组 | 磨菌瓶处理组 | | | | | | | | | | | |
|------------|--------|----|-----|-----|----|-----|-----|----|-----|------|----|-----|
| | 异烟肼 | | | 链霉素 | | | 利福平 | | | 乙胺丁醇 | | |
| | 敏感 | 耐药 | 合计 | 敏感 | 耐药 | 合计 | 敏感 | 耐药 | 合计 | 敏感 | 耐药 | 合计 |
| 敏感 | 103 | 0 | 103 | 92 | 6 | 98 | 100 | 2 | 102 | 115 | 1 | 116 |
| 耐药 | 0 | 27 | 27 | 7 | 25 | 32 | 3 | 25 | 28 | 1 | 13 | 14 |
| 合计 | 103 | 27 | 130 | 99 | 31 | 130 | 103 | 27 | 130 | 116 | 14 | 130 |

表 2 分散仪和磨菌瓶处理菌悬液进行二线抗结核药物药敏试验结果的比较(株)

| 分散仪 处理组 | 磨菌瓶处理组 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|--------|----|-----|-------|----|-----|------|----|-----|------|----|-----|------|----|-----|-------|----|-----|------|----|-----|
| | 阿米卡星 | | | 左氧氟沙星 | | | 莫西沙星 | | | 力克菲蒺 | | | 利福布汀 | | | 丙硫异烟胺 | | | 利奈唑胺 | | |
| | 敏感 | 耐药 | 合计 | 敏感 | 耐药 | 合计 | 敏感 | 耐药 | 合计 | 敏感 | 耐药 | 合计 | 敏感 | 耐药 | 合计 | 敏感 | 耐药 | 合计 | 敏感 | 耐药 | 合计 |
| 敏感 | 124 | 1 | 125 | 120 | 1 | 121 | 122 | 1 | 123 | 120 | 1 | 121 | 116 | 1 | 117 | 113 | 1 | 114 | 129 | 1 | 130 |
| 耐药 | 1 | 4 | 5 | 1 | 8 | 9 | 1 | 6 | 7 | 1 | 8 | 9 | 1 | 12 | 13 | 1 | 15 | 16 | 0 | 0 | 0 |
| 合计 | 125 | 5 | 130 | 121 | 9 | 130 | 123 | 7 | 130 | 121 | 9 | 130 | 117 | 13 | 130 | 114 | 16 | 130 | 129 | 1 | 130 |

参 考 文 献

[1] 申晓娜,赵雁林,肖和平. 结核分枝杆菌药物敏感性表型检测的研究进展. 中国防痨杂志, 2013, 35(6): 463-467.

[2] 中国防痨协会. 结核病诊断细菌学检验规程. 中国防痨杂志, 1996, 18(2): 127-134.

[3] 赵雁林, 逢宇. 结核病实验室检验规程. 北京: 人民卫生出版社, 2015.

[4] Therese KL, Jayanthi U, Madhavan HN. Application of nested polymerase chain reaction (nPCR) using MPB 64 gene primers to detect *Mycobacterium tuberculosis* DNA in clinical specimens from extrapulmonary tuberculosis patients. Indian J

Med Res, 2005, 122(2): 165-170.

[5] Marin M, Garcia de Viedma D, Ruiz-Serrano MJ, et al. Rapid direct detection of multiple rifampin and isoniazid resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory samples by real-time PCR. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(11): 4293-4300.

[6] Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. N Engl J Med, 2010, 363(11): 1005-1015.

(收稿日期: 2016-08-31)
(本文编辑: 李敬文)

《中国防痨杂志》与《结核病与肺部健康杂志》征订启事

2015 年 8 月, 中国防痨协会选举产生了第十一届理事会, 刘剑君理事长担任《中国防痨杂志》期刊社总负责人, 成诗明秘书长担任《中国防痨杂志》期刊社副社长; 随后于 12 月, 《中国防痨杂志》第九届编辑委员会和《结核病与肺部健康杂志》第二届编辑委员会正式成立。中国防痨协会聘任肖和平教授为《中国防痨杂志》第九届编辑委员会主编; 聘任唐神结教授为《结核病与肺部健康杂志》第二届编辑委员会主编; 聘任薛爱华编审为两刊常务副主编, 兼两刊编辑部主任; 聘任范永德副编审为两刊编委会委员, 《中国防痨杂志》期刊社办公室主任兼《结核病与肺部健康杂志》编辑部副主任; 聘任李敬文编辑为两刊编委会委员, 兼《中国防痨杂志》编辑部副主任。

《中国防痨杂志》(月刊, 主编: 肖和平) 为中国科协主管、中国防痨协会主办、《中国防痨杂志》期刊社出版的国内外公开发行的高级学术期刊, 是我国惟一的结核病防治专业的中央性高级科技核心期刊, 2016 年中国科学技术信息研究所公布的核心影响因子为 1.603, 在 1985 种科技核心期刊中

排名第 63 位。《结核病与肺部健康杂志》(季刊, 主编: 唐神结) 是中国科协主管、中国防痨协会主办、《中国防痨杂志》期刊社出版的中央性高级学术期刊, 被《中国核心期刊(遴选)数据库》收录, 2016 年中国科学技术信息研究所公布的扩展影响因子为 1.544, 是我国新兴的以报道结核病和肺部疾病预防与控制、诊断与治疗、基础研究、健康教育为主的中央性高级学术期刊。

自 2016 年始, 中国防痨协会决定不再大批量为团体会员和个人会员赠送《中国防痨杂志》和《结核病与肺部健康杂志》, 希望相关单位及专家积极订阅两刊。同时, 为方便广大读者、作者能够更好地浏览和收藏杂志, 现推出《中国防痨杂志》和《结核病与肺部健康杂志》合订本, 合订本均采用精装本, 烫金题字, 装订精美。订购者请速与编辑部联系, 数量有限, 订完为止。征订单可在《中国防痨杂志》或《结核病与肺部健康杂志》网站下载, 网址为 <http://www.zgflzz.cn>; <http://www.jtblh.cn>。订购电话: 010-62257587, Email: zgflzz@163.com, 联系人: 王然。

| | | | | | | | |
|--|--|--------------------------|------------|---|-------|--|--|
| 订阅期刊 | | | | | | | |
| 刊 名 | | 期数/年 | 每期(元,含挂号费) | 全年(元,含挂号费) | 订数(套) | | |
| 2017 年《中国防痨杂志》 | | 12 期 | 18 | 216 | | | |
| 2017 年《结核病与肺部健康杂志》 | | 4 期 | 12 | 48 | | | |
| 2016 年《中国防痨杂志》合订本 | | 12 期 | | 226 | | | |
| 2016 年《结核病与肺部健康杂志》合订本 | | 4 期 | | 58 | | | |
| 付款金额: ¥ | | | | | | | |
| 付款方式: <input type="checkbox"/> 邮局 <input type="checkbox"/> 银行 <input type="checkbox"/> 支付宝 | | | | | | | |
| 备注说明: (只订购某期请在此行说明) | | | | | | | |
| 特别提醒: 价格含挂号邮寄费。 | | | | | | | |
| 收刊信息 | | | | | | | |
| 收 件 人 | | 邮 编 | 手 机 | 邮 箱 | | | |
| 邮寄地址 | | | | | | | |
| 发票信息 | | | | | | | |
| 发票抬头 | | | | 收 件 人 | | | |
| 邮寄地址 | | | | 手机号码 | | | |
| 邮局汇款 | | 银行汇款 | | 支付宝 | | | |
| 收款人: 中国防痨杂志编辑部 | | 收款人: 《中国防痨杂志》期刊社 | | 户 名: 《中国防痨杂志》期刊社 | | | |
| 地 址: 北京市西城区东光胡同 5 号 | | 开户行: 工商银行永定门分理处 | | 账 户: zgflzz@163.com | | | |
| 邮 编: 100035 | | 账 号: 0200001519217904993 | | | | | |