·论著·

胞内菌抗酸染色法检测体液标本结核分枝杆菌的应用价值

杨翰　崔晓利　李爱芳　尤震宇　谈小文　党丽云

【摘要】 **目的**　探讨胞内菌抗酸染色法检测体液标本结核分枝杆菌的应用价值。**方法**　收集西安市胸科医院 2013 年 4 月至 2015 年 4 月共 1236 份疑似结核病患者的脑脊液(237 份)、胸腹腔积液标本(999 份)。通过白细胞胞内结核分枝杆菌抗酸染色(改良抗酸染色法,简称"胞内菌法")、BACTEC MGIT 960 液体培养(简称"MGIT 960 培养"),及聚合酶链反应荧光探针法(简称"PCR 法")对上述标本进行结核分枝杆菌检测。**结果**　在胸腹腔积液标本检测中,MGIT 960 培养法的敏感度(18.52%,160/864)和阳性率(16.02%,160/999)最高;胞内菌检测法次之(分别为 13.66%,118/864;11.81%,118/999),PCR 法最低(分别为 6.94%,60/864;6.01%,60/999);胞内菌法阳性率与 MGIT 960 培养法、PCR 法比较差异均有统计学意义(χ^2 分别为 10.26、29.00,P 值均<0.01)。在脑脊液标本检测中,胞内菌法检测的敏感度(22.15%,35/158)和阳性率(14.77%,35/237)最高,MGIT 960 培养法次之(分别为 12.03%,19/158;8.02%,19/237),PCR 法最低(分别为 3.16%,5/158;2.11%,5/237);胞内菌法阳性率与 MGIT 960 培养法、PCR 法比较差异均有统计学意义($\chi^2_{960}=5.36$,$P=0.020$;$\chi^2_{PCR}=23.36$,$P=0.020$)。**结论**　结核分枝杆菌胞内抗酸染色对体液标本中结核分枝杆菌的检验具有重要意义,是一种经济、简单,且达到预期阳性率的检验方法。

【关键词】 分枝杆菌,结核;　染色与标记;　诊断技术和方法;　对比研究;　数据说明,统计

Application value of intracellular acid-fast staining in detection of *Mycobacterium tuberculosis* in body fluid specimens

YANG Han, CUI Xiao-li, LI Ai-fang, YOU Zhen-yu, TAN Xiao-wen, DANG Li-yun. Xi'an Chest Hospital, Xi'an 710061, China

Corresponding author: DANG Li-yun, Email: dangliyun@sina.com

【**Abstract**】 **Objective**　To explore the application value of intracellular acid-fast staining in the detection of *Mycobacterium tuberculosis* (TB) in body fluid specimens. **Methods**　A total of 1236 body fluid specimens were collected from the patients who were suspected to have TB and sought health care at Xi'an Chest Hospital from April 2013 to April 2015, including 237 cerebrospinal fluid specimens and 999 pleural effusion and ascites specimens. The tests for detection of *Mycobacterium tuberculosis* were performed to the above samples by using the following methods: acid fast staining of *Mycobacterium tuberculosis* in leukocytes (modified acid-fast staining method or intracellular staining method), BACTEC MGIT 960 liquid culture of *Mycobacterium tuberculosis* (MGIT 960 liquid culture method) and polymerase chain reaction (PCR) fluorescence probe method (PCR method). **Results**　As for the pleural effusion specimens, the sensitivity (18.52%, 160/864) and the positive rate (16.02%, 160/999) were found to be the highest ones by using the MGIT 960 liquid culture method, followed by using the intracellular staining method (sensitivity 13.66%, 118/864; positive rate 11.81%, 118/999), the sensitivity (6.94%, 60/864) and the positive rate (6.01%, 60/999) were the lowest ones by using the PCR method. The positive rate by using the intracellular staining method was significantly different from that by using the MGIT 960 liquid culture method and the PCR method ($\chi^2_{960}=10.26$, $\chi^2_{PCR}=29.00$; $P<0.01$). For the cerebrospinal fluid specimens, the sensitivity (22.15%, 35/158) and the positive rate (14.77%, 35/237) were the highest ones by using the intracellular acid-fast staining method, followed by using the MGIT 960 liquid culture method (sensitivity 12.03%, 19/158; positive rate 8.02%, 19/237) and the lowest ones were found by using the PCR method (sensitivity 3.16%, 5/158; positive rate 2.11%, 5/237). The positive rate by using the intracellular staining method was significantly higher than that by using the MGIT 960 liquid culture method and the PCR method ($\chi^2_{960}=5.36$, $P=0.020$; $\chi^2_{PCR}=23.36$, $P=$

doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2018.04.006

作者单位:710061 西安市胸科医院

通信作者:党丽云,Email:dangliyun@sina.com

0.020). **Conclusion** *Mycobacterium tuberculosis* intracellular acid-fast staining method is very important in detection of *Mycobacterium tuberculosis* in the body fluid specimens, and it is an economic, simple, achieving the expected positive rate test method.

【Key words】 *Mycobacterium tuberculosis*; Staining and labeling; Diagnostic techniques and methods; Comparative study; Data interpretation, statistical

目前,结核病在全球范围内发病及死亡呈缓慢上升趋势。据 2016 年 11 月 10 日 WHO 最新数据报道,全球 2016 年结核病发病 1040 万例,死亡(含 HIV 感染患者)130 万例;其中中国发病 89.5 万例,死亡 5 万例(含 HIV 感染患者)[1]。随着结核病的日趋严重,目前对结核病的检测主要集中在早期对结核分枝杆菌病原学的循证及药物敏感性试验(简称"药敏试验")的检测上。肺部的结核感染,因为痰液标本易取,往往通过大量集菌痰液而提高结核分枝杆菌的检出阳性率;而肺外的结核感染,例如结核性胸腹膜炎和结核性脑膜炎,采集样本不仅需要有创检查,并且由于采集样本量少而缺乏临床诊断价值,因此对病原学检出的限制就更多,要求则更高。结核分枝杆菌的胞内细菌染色[2-3]是一种利用离心沉淀器将脑脊液、胸腹腔积液标本中细胞等有形成分离心固定在玻片上,通过破膜液破坏白细胞细胞膜,使得染色剂更加容易进入细胞内,从而提高细胞内结核分枝杆菌的染色效果;与普通抗酸染色比较,该方法不仅可以观察到在白细胞内的结核分枝杆菌,还可观察到细胞外的结核分枝杆菌,提高了脑脊液、胸腹腔积液标本的涂片阳性检出率。笔者通过结核分枝杆菌的白细胞胞内细菌抗酸染色(简称"胞内菌法"),结核分枝杆菌 BACTEC MGIT 960 液体培养(简称"MGIT 960 培养")及聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)荧光探针法(简称"PCR 法")分别对结核性胸腹膜炎及结核性脑膜炎患者标本进行病原学检测,以期找到一种简单、经济且又能够满足阳性检出率要求的方法。

材料和方法

1. 材料情况:收集 2013 年 4 月至 2015 年 4 月西安市胸科医院收治的 1236 例疑似结核病患者的脑脊液、胸腹腔积液标本,其中脑脊液(CSF) 237 份,胸腹腔积液 999 份。参照《WS 288-2017 肺结核诊断》[4]《结核性脑膜炎诊治指南》(Thwaites 诊断标准)[5],共临床诊断 1022 例(82.69%)。以临床诊断为标准,回顾性分析各方法对不同标本的检测效能。

2. 仪器和试剂:FMV-6 微型细胞玻片离心沉淀器,低速离心机,光学显微镜,抗酸染色试剂盒(批号:412091;珠海贝索生物有限公司),0.1 mol/L 磷酸盐(PBS)缓冲液(pH 7.5,货号:W17D0619KH,科昊生物工程有限责任公司),破膜液(0.3% Triton X-100,货号:T8200, Solarbio),甲醛丙酮固定液(货号:RLG2625,上海容创生物技术有限公司),结核分枝杆菌抗原检测试剂盒(批号:TB140701、TB150902;杭州创新生物检控技术有限公司),分枝杆菌核酸检测试剂盒(批号:0108141504;北京博奥生物科技有限公司),ABI7300 荧光定量 PCR 仪(美国应用生物公司),结核分枝杆菌液体培养试剂盒(BD 医疗器械有限公司),液体培养系统(BACTEC™ MGIT 960 操作系统)。

3. 胞内菌抗酸染色[6]:根据《结核病实验室诊断技术培训教程》[7]收集标本。胞内细菌染色步骤:(1)涂片:取 0.5 ml 体液标本加入 FMV-6 微型细胞玻片离心沉淀器的沉淀管中,50×*g* 离心 3 min,待体液标本的有形成分完全沉淀到挂胶玻片上;(2)固定:将涂片浸于固定液中 30 s,水洗,晾干;(3)破膜:固定后的涂片浸泡于 0.3% Trition X-100 破膜液中 30 min,0.1 mol/L PBS 缓冲液洗 3 次;(4)晾干、染色:石碳酸复红染液初染 5 min,水洗,3%盐酸酒精脱色 1 min,水洗,美蓝染液复染 1 min,水洗,晾干;(5)显微镜下观察抗酸染色情况:分枝杆菌呈红色,背景为蓝色(图 1)。

4. 胸腹腔积液标本分枝杆菌 MGIT 960 培养:6% NaOH 溶液与胸腹腔积液标本各 2 ml 以 1∶1 混合(NaOH 终浓度达到 3%)加入到 50 ml 离心管中,静置 15 min,加入 0.1 mol/L PBS 至 45 ml,相对离心力 3000×*g* 离心 20 min,弃上清,加入 1 ml 0.1 mol/L PBS 混匀,接种 0.5 ml 至 MGIT 960 培养管中,置于 MGIT 960 培养箱中培养 42 d。若 MGIT 960 系统报阳性,取出再经涂片抗酸染色确认是否为分枝杆菌,抗酸阳性则进行 MPB64 蛋白免疫胶体金法检测鉴定菌种,MPB64 蛋白阳性为结核分枝杆菌,阴性为非结核分枝杆菌;若 MGIT 960 系统报阴性,则为分枝杆菌培养阴性。

5. CSF 标本分枝杆菌液体培养:取 0.5 ml 清亮 CSF 无菌操作直接倒入 MGIT 960 培养管中,肉眼

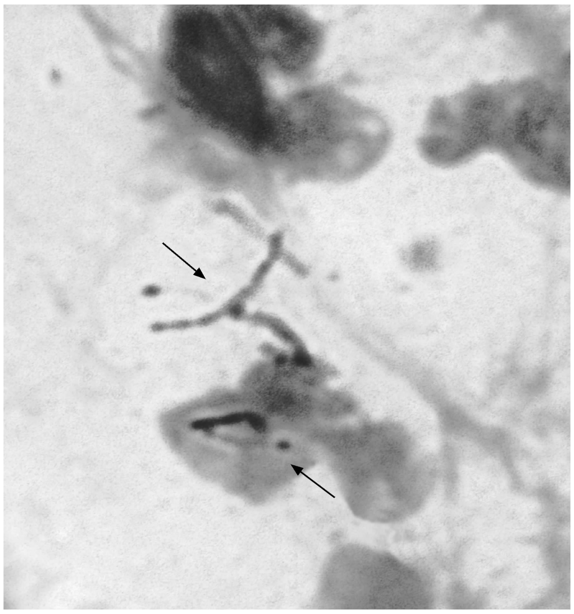

图 1　胞内菌法检测细胞内外结核分枝杆菌(改良抗酸染色 10×100)。下方箭头：细胞内分枝杆菌；上方箭头：细胞外分枝杆菌

可见明显浑浊 CSF 标本(若 CSF 标本>2 ml，离心沉淀弃上清保留 2 ml；若 CSF 标本<2 ml，则使用全部量标本)与等量 6% NaOH 溶液混合(NaOH 终浓度达到 3%)加入到 50 ml 离心管中，静置 15 min，再加入 0.1 mol/L PBS 至 45 ml，相对离心力 3000×g 离心 20 min，弃上清，加入 1 ml PBS 混匀，接种 0.5 ml 至 MGIT 960 培养管中，置于 MGIT 960 培养箱中培养 42 d[8]。若 MGIT 960 报阳性，取出涂片抗酸染色确认是否为分枝杆菌，抗酸阳性则进行 MPB64 蛋白抗原检测鉴定菌种，MPB64 蛋白阳性为结核分枝杆菌，阴性为非结核分枝杆菌；若 MGIT 960 报阴性，则分枝杆菌培养阴性。

6. MPB64 蛋白免疫胶体金法检测方法[9]：取 100 μl 液体培养基菌悬液加入到试剂检测孔中，15 min 后观察，1 h 内判定结果。结果判读：检测线和质控线均出现紫红色条带为阳性；质控线出现，但检测线未出现紫红色条带者为阴性；质控线未出者表示试剂存在问题，须重新检测

7. PCR-荧光探针法[10-11]：是检测结核分枝杆菌的一种分子生物学方法，本研究简称"PCR 法"。取 1 ml 标本加入 1.5 ml 离心管中，15 000×g 离心 5 min，弃上清，加入 1 ml 生理盐水涡旋震荡后，15 000×g 离心 5 min，弃上清。向沉淀中加入 50 μl 核酸提取液并转入带磁珠的核酸提取管中，提取仪快速震荡 10 min，然后 95 ℃水浴 5 min。取 2 μl 提取好的核酸溶液加入 18 μl PCR 扩增试剂中，进行扩增：37 ℃、300 s(1 个循环)，94 ℃、180 s(1 个循环)，94 ℃、15 s(40 个循环)，60 ℃、30 s(40 个循环)，50 ℃、10 s(1 个循环)；荧光采集点选择 60 ℃、30 s，同时检测羟基荧光素(FAM)通道(结核分枝杆菌拷贝通道)和 5-六氯荧光素氨基磷酸酯(5-hexachloro-fluorescein，HEX)通道(分枝杆菌拷贝通道)。结果判读：样本曲线与阈值线交点的横坐标读数 Ct 值<40 的样本为阳性，Ct 值>40 或无数值的为阴性，检测结果的解释[12-13]，见表 1。

表 1　PCR 法结果解释

检测结果		结果解释
FAM 通道	HEX 通道	
+	+	结核分枝杆菌核酸检测阳性
+	−	结核分枝杆菌核酸检测阳性
−	+	非结核分枝杆菌核酸检测阳性
−	−	分枝杆菌核酸检测阴性

注　"+"为阳性(Ct 值<40)；"−"为阴性(Ct 值>40 或无数值)

8. 质控方法：(1)萋-尼染色(Ziehl-Neelson)液使用 H37Rv 标准菌株进行阳性标本的质控，抗酸染色阴性对照使用已知健康人群痰液。(2)PCR 法采用 L-J 质控法，0.5 麦氏单位 H37Rv 菌悬液提取核酸调至 1×10^{10} IU/ml 作为阳性质控应用液，以 $\bar{x}\pm2s$ 为警告线，$\bar{x}\pm3s$ 为失控线($\bar{x}$ 为每月阳性质控 Ct 值的平均值，s 为每月阳性质控 Ct 值的标准差)；阴性对照用于检测环境及操作过程中的污染。(3)结核分枝杆菌液体培养：使用 1 麦氏单位标准菌株(H37Rv)稀释 100 倍后，将 0.5 ml 稀释后菌液加入培养管中，放入 MGIT 960 培养箱内，6～10 d 显示阳性结果则质控合格。

9. 相关公式：敏感度＝真阳性例数/(真阳性例数＋假阴性例数)×100%；特异度＝真阴性例数/(真阴性例数＋假阳性例数)×100%；阳性预测值＝真阳性例数/(真阳性例数＋假阳性例数)×100%；阴性预测值＝真阴性例数/(真阴性例数＋假阴性例数)×100%；一致性＝(真阳性例数＋真阴性例数)/总例数×100%。

10. 统计学分析[14]：采用 SPSS 19.0 软件对数据进行分析，胞内菌法与 MGIT 960 培养、PCR 法两两比较采用配对卡方检验，检验水准 $\alpha=0.05$，本研究 3 个实验组两两比较，校正 $\alpha'=\frac{\alpha}{n-1}=\frac{0.05}{n-1}=0.025$，即 $P<0.025$ 为差异具有统计学意义。

结　果

1. 不同标本经3种方法检测的结果分析：MGIT 960培养法、PCR法和胞内菌法检测经临床诊断的999份胸腹腔积液和237份CSF的结果见表2。

2. 胞内菌法与MGIT 960培养、PCR法的比较：统计发现，在对胸腹腔积液和CSF标本的检测中，胞内菌法、MGIT 960培养、PCR法的阳性率差异均具有统计学意义(表3)。

3. 评价3种方法的检测效能：以最终临床诊断为标准，结合表2中的数据，计算3种方法对不同标本的检测效能。结果显示，3种方法特异度均为100.00%；而3种方法的敏感度差异较大，其中胞内菌法在3种检测方法中有着良好的敏感度，在CSF中其敏感度要高于其他两种方法(表4)。

表2　3种方法对不同标本类型的检测结果[例(率，%)]

检测方法	胸腹腔积液(999份)		脑脊液(237份)		合计(1236份)	
	确诊患者	未确诊患者	确诊患者	未确诊患者	确诊患者	确诊患者
胞内菌法						
阳性	118(11.81)	0(0.00)	35(14.77)	0(0.00)	153(12.38)	0(0.00)
阴性	746(74.67)	135(13.51)	123(51.90)	79(33.33)	869(70.31)	214(17.31)
MGIT 960培养法						
阳性	160(16.02)	0(0.00)	19(8.02)	0(0.00)	179(14.48)	0(0.00)
阴性	704(70.47)	135(13.51)	139(58.65)	79(33.33)	843(68.20)	214(17.31)
PCR法						
阳性	60(6.01)	0(0.00)	5(2.11)	0(0.00)	65(5.26)	0(0.00)
阴性	804(80.48)	135(13.51)	153(64.56)	79(33.33)	957(77.43)	214(17.31)

表3　3种方法对不同标本阳性检出率的比较[阳性份数(率，%)]

标本类型	胸腹腔积液(999份)	χ^2值	P值	脑脊液(237份)	χ^2值	P值
胞内菌法	118(11.81)	—	—	35(14.77)	—	—
MGIT 960培养法	160(16.02)	10.26	0.002	19(8.02)	5.36	0.020
PCR法	60(6.01)	29.00	<0.01	5(2.11)	23.36	<0.01

表4　以临床诊断为标准3种方法对不同标本类型的检测效能(%)

标本类型	检测方法	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	一致性
胞内菌法	胸腹腔积液(999份)	13.66	100.00	100.00	15.32	25.33
	脑脊液(237份)	22.15	100.00	100.00	39.11	48.10
	胸腹腔积液+脑脊液(1236份)	14.97	100.00	100.00	19.76	29.70
MGIT 960培养法	胸腹腔积液(999份)	18.52	100.00	100.00	16.09	29.53
	脑脊液(237份)	12.03	100.00	100.00	36.24	41.35
	胸腹腔积液+脑脊液(1236份)	17.51	100.00	100.00	20.25	31.80
PCR法	胸腹腔积液(999份)	6.94	100.00	100.00	14.38	19.52
	脑脊液(237份)	3.16	100.00	100.00	34.05	35.44
	胸腹腔积液+脑脊液(1236份)	6.36	100.00	100.00	18.27	22.57

注　敏感度=真阳性份数/(真阳性份数+假阴性份数)×100%；特异度=真阴性份数/(真阴性份数+假阳性份数)×100%；阳性预测值=真阳性份数/(真阳性份数+假阳性份数)×100%；阴性预测值=真阴性份数/(真阴性份数+假阴性份数)×100%；一致性=(真阳性份数+真阴性份数)/总份数×100%

讨　论

结核病的诊断以培养结果为“金标准”，加之后续的菌种鉴定和体外药敏试验，对临床的应用价值较高。但传统结核分枝杆菌培养检测时间长，对结核病的早期诊断治疗带来影响。抗酸染色涂片镜检，因操作方便、实验无需特别仪器、价格低廉，在基层及专科医院可常规开展，其阳性结果可作为病原学诊断结核病的金标准；但抗酸染色涂片法阳性率低，大量涂阴患者不能排除结核病，容易被忽视而造成某些结核病患者的漏诊和漏治问题。近年来，DNA、RNA 等分子检测技术的发展使得结核分枝杆菌的检出时间大大缩短，但由于配套的相关设备及仪器价格昂贵，技术要求高，不适用于基层医院的广泛开展。因此，寻找一种检测周期短、检出阳性率高，且价格低廉的临床检测方法，对结核性胸腹膜炎、结核性脑膜炎等肺外结核的普查和在基层医院的应用意义重大。

结核分枝杆菌为兼性胞内菌，细胞内抗酸染色与传统的抗酸染色法相比，既可以破坏白细胞细胞膜，使细胞膜穿孔，使得染液易于进入细胞内，便于对细胞内结核分枝杆菌的染色观察，也可以同时检测到细胞外的结核分枝杆菌（图 1）；而传统染色法，染色液较难进入。因此，在进行不同上述标本进行检测时，该方法可以有效地观察到白细胞吞噬的已着色分枝杆菌，其阳性检出率明显高于传统抗酸染色法[15-16]。

本研究中，对于胸腹腔积液等易采集且样本量大的标本，胞内菌法检测有着较高的阳性率（11.81%），接近培养阳性率（16.02%），高于 PCR 法（6.01%）。对疑似结核性脑膜炎的患者进行筛查时，发现结核分枝杆菌胞内菌法的检测阳性率（14.77%）要明显高于 MGIT 960 培养法（8.02%）和 PCR 法（2.11%），差异均有统计学意义。可以看出，在标本量足够（如胸腹腔积液）的情况下，胞内菌法检测可以达到，甚至高于 MGIT 960 培养法的阳性率。而临床中常遇到标本量较少的情况（如 CSF），此时胞内菌法的阳性率要明显优于培养的方法，其原因可能为胞内菌法检测可以将标本中所有细胞的有形成分固定于玻片，破膜后白细胞内结核分枝杆菌更加容易着色，肉眼即可以观察到所有染色成分，提高了阳性检出率；而 MGIT 960 培养法对于前处理水平、含菌量、细菌生存状态（活菌、死菌）的要求较高，所以在小样本量时，胞内菌检测方法优势明显。

本研究中，PCR 法检测阳性率明显低于其他 2 种检测，原因可能为结核分枝杆菌在胸腹腔积液、CSF 中本身含量太少，在操作时样本量少而无法进行大量的集菌，单次吸取的样本含菌量少，可提取到的 DNA 含量达不到检测限。有文献报道，巢式 PCR 检测线应达到 10^4～10^8 拷贝/ml，PCR 试剂盒检出阈值要达到 100 条菌/样本才可检测出[17-18]。而胞内菌法观察全视野，可检测到低至 1 条的结核分枝杆菌。因此，在条件允许的情况下，CSF、胸腹腔积液标本进行 PCR 法检测时应当进行浓缩集菌，以提高阳性率。

本研究中，MGIT 960 培养是诊断分枝杆菌病的金标准；胞内菌法是一种改良抗酸染色法，即查找抗酸染色阳性分枝杆菌，也是诊断分枝杆菌病的重要参考；PCR 检测阳性同时影像学检查结果支持可临床诊断为结核病。MGIT 960 培养与胞内菌法检测阳性仅代表分枝杆菌阳性，还需进行菌种鉴定以区别结核病与非结核分枝杆菌病，以免造成误诊。笔者单位为结核病三级甲等专科医院，患者大多数由下级医院根据《WS 288—2017 肺结核诊断》中的标准诊断为结核病疑似患者时才转诊至我院，且未确诊的患者大多为具有恶性腹腔积液或流行性脑膜炎者；另外，我院地处中国西北部，非结核分枝杆菌病较为少见，感染率仅为 1.5%（3/201）[19]，故在本次研究患者中未分离出非结核分枝杆菌。因此，3 种方法特异度与阳性预测值在本次研究中均为 100.00%。综合性医院在使用以上 3 种方法时，若检测结果阳性时应当注意参照《WS 288—2017 肺结核诊断》中的标准做出结核病或者非结核分枝杆菌病的诊断。

综上所述，胞内菌法检测在实际临床应用中对体液标本有明显高于传统的抗酸染色的阳性率，且不亚于或高于结核分枝杆菌培养阳性率，尤其在小样本量的标本如 CSF、心包积液等应用价值较高。其设备要求不高，操作简单，样本量要求少，特别适用于广大的基层专科医院及综合性医院专科对结核性脑膜炎、胸腹膜炎的筛查诊断。但胞内菌法仅能为结核病的诊断提供参考依据，而无法像结核分枝杆菌培养与 PCR 那样对结核分枝杆菌的耐药性进行分析。

参 考 文 献

[1] World Health Organization. Global Health Observatory data repository (European Region). Geneva: World Health Organization, 2016.

[2] 邹月丽，白鸽，卜晖，等. 改良抗酸染色法在结核性脑膜炎诊断中的应用. 中国神经精神疾病杂志，2014，40(3)：149-151.
[3] 钱丽花. 改良抗酸染色法对结核性脑膜炎的诊断价值及影响因素的探讨. 石家庄：河北医科大学，2014.
[4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 肺结核诊断(WS 288-2017). (2017-11-09)[2017-12-27]. http://www.nhfpc.gov.cn/fzs/s7852d/201711/0819ad84540b4d97a1644bbc6ec4306d.shtml.
[5] Thwaites GE，Chau TT，Stepniewska K，et al. Diagnosis of adult tuberculous meningitis by use of clinical and laboratory features. Lancet，2002，360(9342)：1287-1292.
[6] Chen P，Shi M，Feng GD，et al. A highly efficient Ziehl-Neelsen stain：identifying de novo intracellular *Mycobacterium tuberculosis* and improving detection of extracellular *M. tuberculosis* in cerebrospinal fluid. J Clin Microbiol，2012，50(4)：1166-1170.
[7] 赵雁林. 结核病实验室诊断技术培训教程. 北京：人民卫生出版社，2014：13-17.
[8] 杨顺利，范梦柏，商亚丽，等. BACTEC-MGIT 960快速分离培养结核杆菌实验室检测效果分析. 中国药物与临床，2015，15(10)：1501-1503.
[9] 白广红，李耀军，焦向阳. 胶体金法快速检测结核分枝杆菌和非结核分枝杆菌的研究. 国际检验医学杂志，2013，34(10)：1274-1276.
[10] 张洁，邢青，王甦民，等. 传统培养法与PCR-荧光探针法鉴定分枝杆菌的对比研究. 中国防痨杂志，2015，37(3)：291-294.
[11] 何红彦，殷智晔，李敬，等. 结核性脑膜炎患者中几种病原诊断检测技术的应用. 中国感染与化疗杂志，2016，16(3)：336-339.
[12] 高建超，柳晓金，齐海亮，等. 三种方法检测脑脊液结核分枝杆菌结果分析. 现代预防医学，2015，42(5)：876-877，920.
[13] 杨柳，苏明权，马越云，等. 实时荧光定量聚合酶链反应技术对结核性脑膜炎的诊断价值. 中国实验诊断学，2015，19(1)：35-38.
[14] 史芸萍，刘军廷，么鸿雁，等. 统计学方法的合理选择和常见误区. 中国防痨杂志，2016，38(5)：346-348.
[15] 陈敏，陈捷，宋大伟. 三种检测技术联用在结核性胸膜炎诊断中的应用价值. 中国防痨杂志，2016，38(8)：634-638.
[16] 蔡杏珊，王嫩寒，周辉林，等. 改良萋-尼染色法检测分枝杆菌的效果评价. 中国防痨杂志，2015，37(6)：603-606.
[17] 孟小蓉，包勇，李凯，等. 巢式实时荧光定量聚合酶链反应检测结核分枝杆菌DNA的临床应用. 中华肺部疾病杂志(电子版)，2014，7(1)：32-36.
[18] 胡静，袁文清. PCR技术检测体液中结核分枝杆菌的结果分析. 国际检验医学杂志，2013，34(5)：588-589.
[19] 周爱萍，贺拥军，孙亚楠，等. 西安市非结核分枝杆菌感染现状调查分析. 中国人兽共患病学报，2015，31(12)：1196-1199.

(收稿日期：2017-09-19)
(本文编辑：孟莉　薛爱华)

第五届耐药结核病防控与诊治新进展研讨会征文通知

由《中国防痨杂志》期刊社、中国防痨协会结核病临床专业分会、中国医疗保健国际交流促进会结核病防治分会、同济大学附属上海市肺科医院联合主办的"第五届耐药结核病防控与诊治新进展研讨会"拟于2018年10月上旬在吉林省长春市召开。本届学术会议主题为"耐药结核病的规范诊治"，大会组委会除了邀请国内外耐药结核病知名的临床、基础研究、防控专家围绕着这一主题对国内外最新研究动向、最新理论进行精彩的专题学术讲座外，同时将遴选优秀会议征文进行大会发言；并且为《中国防痨杂志》组织1～2期相应的专题学术重点号。具体征文信息如下：

1. 征文要求：(1)稿件要求未在国内外公开发行刊物上发表(请在文题上方注明"未公开发表，未一稿多投")；(2)论著类稿件需提供全文+800字左右的摘要，摘要包括目的、方法、结果和结论，也可仅提供符合上述要求的摘要；(3)其他类型稿件为全文投稿；(4)全文4000字以内，编排顺序为：题目、邮编、单位(至科室)、姓名、中文摘要、正文、参考文献；(5)本次会议征文不接收通过邮局邮寄的纸质版论文，只接收Word版电子文件；格式为：题目3号黑体、正文5号宋体，单倍行距；(6)请务必附第一作者与通信作者的通信地址、联系电话、手机、Email。

2. 征文发送：(1)请通过Email发送至联系人邮箱，邮件注明"耐药结核病会议征文"；(2)征文截止日期：2018年9月20日。

3. 接收人：郭萌，手机：17718596164；Email：guomenggg@163.com。

入选论文将纳入会议《资料汇编》，经大会学术委员会评选出的优秀论文将推荐刊登于《中国防痨杂志》或《结核病与肺部健康杂志》，并安排大会发言。参加会议者均可获得国家级继续医学教育学分证书。欢迎结核病临床、基础研究、防控专家及其他关注本届会议主题的医学工作者积极撰写会议征文并参加本次论坛。

《中国防痨杂志》期刊社
中国防痨协会结核病临床专业分会
中国医促会结核病防治分会
同济大学附属上海市肺科医院
2018年1月