

BacT/ALERT 3D 系统在结核性脑膜炎诊断中的应用

张继萍¹, 任丽娟², 李永利³, 叶迎宾¹, 黄秀香¹, 郑立恒⁴

(1. 邯郸市传染病医院 肺科, 河北 邯郸 056002; 2. 邯郸市第一医院 呼吸一科, 河北 邯郸 056000; 3. 曲周县中医院 内科, 河北 邯郸 057250; 4. 河北省胸科医院 检验科, 河北 石家庄 050000)

【摘要】目的: 评价 BacT/ALERT 3D 系统在诊断结核性脑膜炎中的应用价值。方法: 收集 2009 年 1 月 ~ 2014 年 6 月间 200 例结核性脑膜炎患者早期脑脊液标本 480 份, 每份标本分别用离心涂片法、罗氏培养法和 BacT/ALERT 3D 系统培养法检测, 对其结果进行分析, 总结 3 种方法对确诊结核性脑膜炎之间的差异。结果: 480 份脑脊液标本中, 离心涂片法、罗氏培养法、BacT/ALERT 3D 系统培养法的结核杆菌阳性检出率分别为 3. 13%、5. 42%、10. 63%, BacT/ALERT 3D 系统培养法结核杆菌初代分离时间短于罗氏培养法。结论: BacT/ALERT 3D 系统有较高的检出率、较快的检出时间, 有助于提高结核性脑膜炎的发现率, 值得临床推广应用。

【关键词】离心涂片法; 罗氏培养法; BacT/ALERT 3D 系统

【中图分类号】R 529. 3 **【文献标识码】**A

【DOI】10. 3969/j. issn. 1002-0217. 2015. 02. 023

Value of BacT/ALERT 3D microbial detection system in rapid diagnosis of tuberculosis meningitis

ZHANG Jiping, REN Lijuan, LI Yongli, YE Yingbin, HUANG Xiuxiang, ZHENG Liheng

Department of Pulmonary Diseases, Handan Infectious Disease Hospital, Handan 056002, China

【Abstract】Objective: To evaluate the application value of BacT/ALERT 3D microbial detection system in rapid diagnosis of tuberculosis meningitis.

Methods: 480 specimens in cerebrospinal fluid (CSF) of 200 patients diagnosed with tuberculosis meningitis were collected from January 2009 to June 2014. These specimens were processed for detection of the mycobacterium tuberculosis by centrifugal smear acid-fast stain (Ziehl-Neelsen staining) and Lowenstein-Jensen cultivation, as well as the BacT/ALERT 3D system. The above results were analyzed and compared regarding the positive rates in order to evaluate the value in diagnosing tuberculosis meningitis. **Results:** The positive rates of the centrifugal smear acid-fast smear, Lowenstein-Jensen cultivation and BacT/ALERT 3D system cultivation were 3. 13%, 5. 42% and 10. 63% respectively. **Conclusion:** BacT/Alert 3D microbial detection system may lead to higher sensitivity and shortened detection time, which is worthy of wider clinical recommendation.

【Key words】 centrifugal smear acid-fast stain; Lowenstein-Jensen cultivation; BacT/ALERT 3D system

结核病是严重危害人类健康的全球性传染性疾病之一, 近年来全世界发病率明显上升, 结核性脑膜炎(以下简称结脑)是最严重的肺外结核病, 病死率 30% 左右, 它是常见的中枢神经系统感染性疾病, 由于早期诊断困难, 误诊率较高。目前, 我国结脑发病率呈上升趋势, 快速、准确及阳性率高的检测方法对于结脑的诊断至关重要^[1-2]。结脑的实验室检测方法很多, 如何选择一种或几种相对有效的方法对结脑的诊断有着举足轻重的作用。本研究用 BacT/

ALERT 3D 系统培养结脑患者脑脊液标本, 并与离心涂片法、罗氏培养法进行比较, 以分析 BacT/ALERT 3D 快速培养系统在结脑诊断中的应用价值, 更好地指导临床工作。

1 资料与方法

1.1 标本 来源于 2009 年 1 月 ~ 2014 年 6 月邯郸市传染病医院 200 例结脑患者早期的 480 份脑脊液 (CSF) 标本。

基金项目: 河北省卫生厅重大课题项目(20120025); 邯郸市科技资助项目(1223108153)

收稿日期: 2014-08-15

作者简介: 张继萍(1977-), 女, 主治医师, 硕士 (电话) 18630032883 (电子信箱) zhangjiping1977@126.com;

郑立恒, 男, 主管检验师 (电子信箱) zhengliheng2006@163.com, 通讯作者。

1.2 结脑诊断标准 急性、亚急性或隐匿起病,多伴有发热、盗汗、乏力等中毒症状;有结核病史或发现颅外结核灶;有呕吐或脑膜刺激征等临床表现;PPD 试验阳性,脑脊液常规检查白细胞增加,脑脊液生化蛋白含量升高,葡萄糖、氯化物含量降低;抗酸杆菌涂片、结核抗体、PCR 等可以出现阳性;头颅 CT 有特异性改变;抗结核治疗有效。

1.3 材料与仪器 欧嘉隆公司(Organon Teknika) 的 BacT/ALERT 3D 仪及配套试剂,包括 MB/BacT 培养瓶、含有生长因子和抗生素添加剂(MAS)。

1.4 离心涂片法 取 2 mL CSF 加入一次性塑料试管中,3 000 r/min 离心 15 min,用吸管轻轻吸出上清液弃掉,吹打试管底部沉渣涂片,抗酸染色镜检。参照《痰涂片镜检质量保证手册》^[3]。

1.5 罗氏培养法 无菌抽取的 CSF 充分混匀,分别取 0.1 mL 直接接种到 2 个罗氏培养基上,置 36℃ 温箱内培养。接种后每周观察一次,发现菌落生长者,经抗酸染色证实为抗酸杆菌,即报告培养阳性,若满 8 周仍无菌生长即报告培养阴性。培养阳性标本经涂片抗酸染色镜检看是否有污染。

1.6 BacT/ALERT 3D 系统培养法 ①溶解 MAS (加 10 mL reconstituein fluid 至抗生素 MAS 中);②加 0.5 mL 溶解的 MAS 到 MB/BacT 培养瓶中,再加入 0.5 mL 混匀的无菌脑脊液,经对培养瓶条码扫描后放入 BacT/ALERT 3D 仪内自动培养检测。报告阳性的标本经涂片抗酸染色镜检是否有污染。

1.7 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计学分析软件进行处理,组间比较采用配对 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 480 份标本中,离心涂片法、罗氏培养法、BacT/ALERT 3D 系统培养法结核杆菌检出阳性率分别为 3.1% (15/480)、5.4% (26/480) 和 10.6% (51/480),BacT/ALERT 3D 系统培养法高于罗氏培养法结核杆菌的阳性检出率($P < 0.05$),并且前者从结核杆菌的初代分离所用时间短于后者,见表 1。BacT/ALERT 法污染率为 2.3%,罗氏培养法为 2.1%,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 15 份离心涂片法阳性标本 BacT/ALERT 3D 快速培养结核杆菌的阳性检出率为 86.7%,高于罗氏培养法的 66.7%,见表 2。配对 $\chi^2 = 1.333$, $P > 0.05$,差异无统计学意义。

2.3 465 份离心涂片法阴性标本 BacT/ALERT 3D 快速培养结核杆菌的阳性检出率为 8.2%,高于罗

氏培养法的 4.7%。见表 3,配对 $\chi^2 = 16.961$, $P < 0.01$,差异有统计学意义。

表 1 两种方法检出时间

检查方法	阳性率(%)	初分离平均时间(d)
BacT/ALERT 3D	10.6 (51/480)	26.24 ± 19.68
罗氏法	5.4 (26/480)	35.61 ± 28.25
χ^2 / t	8.8246	1.3850
P	<0.05	>0.05

表 2 15 份离心涂片法阳性标本两种方法检查结果

检查方法	BacT/ALERT 3D		合计
	阳性	阴性	
罗氏法	阳性	10	10
	阴性	3	5
合计		13	15

表 3 465 份离心涂片法阴性标本两种方法检查结果

检查方法	BacT/ALERT 3D		合计
	阳性	阴性	
罗氏法	阳性	14	16
	阴性	24	449
合计		38	465

3 讨论

结脑如能早期诊断及治疗,可大大降低其致畸率和病死率。目前结脑的诊断大多依靠病史、临床表现、影像学表现及组织活检来确诊,与其他脑膜炎的鉴别诊断存在困难。脑脊液离心涂片抗酸染色或培养发现结核菌是诊断结脑的“金标准”^[4],但离心涂片法虽然检测速度快,价格低廉,也只能检出含菌量较高的标本,无法检测出含菌量较低的标本,因此脑脊液结核杆菌的检出率极低,对早期诊断结脑的意义不大。传统的罗氏培养法较离心涂片法敏感性高并可鉴定死菌与活菌,但至少需要 2~8 周才能出现阳性结果^[5],且每周观察一次菌落生长情况,容易造成人为的报告延误^[6]。结核杆菌的快速、准确、阳性率高的诊断技术一直是结核病基础研究热点问题。BacT/ALERT 3D 快速培养检测系统的应用有效提高了培养效率,缩短了培养时间。该技术依靠 CO₂ 比色检测装置检测培养系统中结核杆菌的生长情况。培养瓶底部有颜色感应器,当有结核杆菌生长时,产生的 CO₂ 渗透至感应器经水饱和后产生氢离子(H⁺) 改变感应器的 pH 值,颜色由深绿色变为黄色,仪器自动报告有无结核杆菌生

长^[7],具有自动化程度高、污染率低、阳性率高等优点。

本课题 480 例脑脊液标本罗氏培养法阳性 26 例,阳性率为 5.42%,平均培养时间(35.61 ± 28.25) d; BacT/ALERT 3D 法阳性 51 例,阳性率为 10.6%,平均时间(26.24 ± 19.68) d,其中有 1 份标本在 57 d 后斜面上长出单个菌落,经鉴定为结核杆菌,而 BacT/ALERT 3D 培养法报告为阴性,可能为标本中含菌量很少,此法阴性报告时间短(42 d) 所造成。BacT/ALERT 3D 法污染率 2.3%,低于刘子龙等^[8] 报告的 4%,在抽取脑脊液和实验过程中必须严格无菌操作,进一步降低污染率。在离心涂片法阳性的 51 例标本中,有 2 例标本 BacT/ALERT 3D 系统培养法阴性,5 例罗氏培养法为阴性,但这些培养阴性的标本进行 real time PCR 试验检测结果均为阳性,出现这种情况的原因可能为:①标本中结核杆菌含量极低,处理过程中活性降低;②病人就诊前服用过对结核杆菌有抑制作用的药物;③ BacT/ALERT 3D 系统培养法加样量高于罗氏培养法。

综上所述,BacT/ALERT 3D 系统培养法比传统

细菌学检查方法具有更高检出率,检出时间短等优点,给结核患者的发现、诊断与鉴别诊断提供了有效的技术支持,具有较高的临床应用价值。

【参考文献】

[1] Van Kampen SC ,Oskam L ,Tuijn CJ *et al.* Survey of the diagnostic retooling process in National TB Reference Laboratories ,with special focus on rapid speciation tests endorsed by WHO in 2007 [J]. PLoS One 2012 ,7(8) : e43439.
 [2] Glaziou P ,Falzon D ,Floyd K *et al.* Global epidemiology of tuberculosis [J]. Semin Respir Crit Care Med 2013 ,34(1) : 3 - 16.
 [3] 中国防痨协会. 结核病诊断细菌学检验规程 [J]. 中国防痨杂志 ,1996 ,18(2) : 80 - 85.
 [4] Lodha R ,Kabra SK. Newer diagnostic modalities for tuberculosis [J]. Indian J Pediatr 2004 ,71(3) : 221 - 227.
 [5] Thwaites GE ,Chau TT ,Farrar JJ. Improving the bacteriological diagnosis of tuberculous meningitis [J]. J Clin Microbiol ,2004 ,42(1) : 78 - 379.
 [6] 吴龙章 ,蔡杏珊 ,吴幸怡 ,等. 四种检测方法对结核病临床诊断价值的探讨 [J]. 中华检验医学杂志 ,2007 ,30(7) : 742 - 745.
 [7] 朱长太 ,胡忠义. 结核分枝杆菌耐药性检测技术进展 [J]. 中华结核和呼吸杂志 ,2011 ,10(34) : 768 - 770.
 [8] 刘子龙 ,曹剑昆. BacT/ALERT 3D 检测系统在结核病诊治中的运用 [J]. 检验医学与临床 ,2010 ,7(3) : 246 - 247.

(上接第 178 页)

前列地尔是一种具有靶向治疗作用的前列腺素 E1 制剂,在肾脏保护方面的作用机理可能为:①通过前列腺素扩张肾脏血管,降低肾小球内高压,降低尿蛋白^[9];②抑制血小板聚集活化,激活血小板膜上的腺苷酸环化酶,使血小板内环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate ,cAMP) 含量增高,从而抑制血小板血栓素 A2 的释放,改善红细胞变形能力,增加肾脏血流量,改善肾脏微循环以及改善肾脏缺血、缺氧状态;③抑制肾素-醛固酮系统活性,延缓高血压肾病进展。此外,医学研究表明,慢性肾功能不全的进展还会受到细胞因子,间质细胞浸润等的影响^[10]。有研究表明,前列腺素 E1 有抑制免疫反应,尤其是抑制单核巨噬细胞、炎症细胞浸润及免疫复合物的形成,从而抑制炎症介质、细胞因子的生成而起到保护肾脏的作用^[11]。

本研究结果表明,前列地尔注射液对高血压肾病有较好的疗效,能够减少尿蛋白,降低血清肌酐及胱抑素 C 水平,改善高血压肾病患者肾功能相关指标,不良反应轻微,值得临床应用推广。

【参考文献】

[1] 蔡广研 ,寇佳 ,陈香美. 高血压肾损害诊治新认识 [J]. 中国实用内科杂志 ,2013 ,33(3) : 173 - 175.
 [2] KDIGO clinical practice guideline for the management of blood pressure in chronic kidney disease [J]. Kidney Int Suppl ,2012 ,2(5) : 337 - 414.
 [3] 袁平宗 ,鄢志丽. 血清胱抑素 C 测定对肾脏疾病的临床价值 [J]. 检验医学与临床 ,2010 ,7(12) : 1184 - 1185.
 [4] Prabhakar SS. Role of nitric oxide in diabetic nephropathy [J]. Semin Nephrol 2007 ,24(4) : 333 - 334.
 [5] 陈灏珠 ,林果为. 实用内科学 [M]. 13 版. 北京: 人民卫生出版社 ,2009: 2331 - 2334.
 [6] 王丽妍 ,刘文虎. 血管紧张素转换酶抑制剂联合血管紧张素 II 受体拮抗剂治疗慢性肾脏疾病的利弊 [J]. 中国实用内科杂志 ,2014 ,34(9) : 880 - 883.
 [7] 王海燕. 肾脏病学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社 ,2008: 1662 - 1671.
 [8] 蒋潇 ,陈楠. 慢性肾脏病高血压诊治: 指南和争议 [J]. 中国实用内科杂志 ,2014 ,34(6) : 572 - 575.
 [9] 李贤峰 ,王兆君. 前列地尔治疗心力衰竭的疗效与安全性研究进展 [J]. 中国误诊学杂志 ,2009 ,9(19) : 4553 - 4554.
 [10] 林琍 ,陈玲 ,贾汝汉. 前列腺素 E1 对慢性肾功能不全氮质血症患者的肾保护作用 [J]. 武汉大学学报: 医学版 ,2011 ,23(3) : 246 - 247.
 [11] 姜建国. 慢性重症肝炎并发肝肾综合征 30 例临床分析 [J]. 医学信息 ,2011 ,24(3) : 4545 - 4546.