

[2] 李艳, 邝浩斌, 刘宝瑛, 等. 糖尿病合并结核感染诊断中结核分枝杆菌检测方法的比较[J]. 现代医院, 2010, 10(1): 76-78.

[3] 石榴, 黄文杰. 结核病实验室诊断技术新进展[J]. 广东医学, 2008, 29(11): 1770-1771.

[4] Shankar P, Manjunath N, Mohan KK, et al. Rapid diagnosis of tuberculous meningitis by polymerase chain reaction[J]. Lancet, 1991, 237(8732): 5-7.

[5] 张红, 郑秀云, 姜行云. 痰结核菌两种不同检测方法分析[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(15): 3557.

[6] 柳红梅. 一种新型结核杆菌感染快速检测方法的应用[J]. 中国卫

生检验杂志, 2010, 20(3): 572-573.

[7] 李秀武, 刘建强, 郑荣坤, 等. FQ-PCR 技术在肺外结核中的诊断价值[J]. 中国防痨杂志, 2010, 32(12): 818-821.

[8] 张为民, 龚文波. 荧光定量 PCR 检测结核杆菌 DNA 与涂片抗酸染色结果的比较[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(23): 4272-4274.

[9] 张建武, 魏存乐, 吉焕英, 等. 结核 PCR 定量测定在结核病诊断中的应用[J]. 北方医学, 2013, 10(10): 58-60.

(收稿日期: 2014-11-17)

• 临床研究 •

结核分枝杆菌耐多药基因检测临床应用研究

高 漫, 李 蒙, 焦向阳
(陕西省结核病防治院, 陕西西安 710100)

摘要:目的 评价耐多药基因检测利福平、异烟肼药物敏感性的可行性。方法 收集该院 2014 年 6~12 月 94 例结核病患者标本采用耐多药基因检测仪检测利福平、异烟肼药物敏感性并与 BACTEC MGIT 960 培养仪检测结果进行比较分析。结果 2 种方法同时检测利福平、异烟肼药物敏感性符合率为 91.5%(86/94), 符合率较高。结论 耐多药基因检测结核分枝杆菌药物敏感性灵敏度高, 特异性强, 对结核病患者的早期及菌阴患者的及时、有效治疗具有重要意义。

关键词:分枝杆菌, 结核; 微生物敏感性试验; 基因, MDR; 实验室技术和方法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.02.041 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)02-0241-02

结核病是一种由结核分枝杆菌感染引起的严重危害人类健康的主要传染病, 可累及全身各个脏器^[1]。通过影像学检查与实验室涂片检查可快速诊断典型结核病, 但对不典型病例影像学无法与其他疾病区分、涂片阴性的病例就依赖于各脏器受结核分枝杆菌感染后产生的痰液、胸腹腔积液、脑脊液、灌洗液、脓液等标本的结核分枝杆菌培养结果, 这些标本成为检测结核分枝杆菌的主要对象, 培养阳性就可诊断为结核病, 结核分枝杆菌培养被视为诊断结核病的“金标准”^[2]。但由于结核分枝杆菌生长周期长, 就是用目前较先进的 BACTEC MGIT 960 培养仪进行培养, 结核分枝杆菌培养阳性也需平均 12 d 时间^[3], 进一步药敏试验还需平均 9 d 时间^[4]。临床医生对该类病例只能通过经验用药, 等待结核分枝杆菌药敏试验结果再调整用药, 对患者的治疗具有一定影响。所以, 一种快速、简便的药敏检测方法对于患者的早期及时治疗极为重要。耐多药基因检测操作简单、快速, 可以在 3 h 内得出利福平、异烟肼的耐药结果^[5]。本研究对耐多药基因检测方法进行了临床应用研究, 旨在评价其临床应用价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2014 年 6~12 月住院结核病患者痰液、胸腹腔积液、脑脊液、灌洗液、脓液等经培养为结核分枝杆菌阳性标本 94 例作为研究组, 以 H37Rv(野生型)为阴性对照(对照组), 同时进行耐多药基因检测并与 BACTEC MGIT 960 培养仪检测结果进行比较分析。

1.2 仪器与试剂 耐多药基因检测仪由上海宏石医疗科技有限公司生产, 试剂由厦门至善生物科技有限公司生产; BACTEC MGIT 960 培养仪及试剂由美国 BD 公司生产。

1.3 耐多药基因检测方法 采用荧光 PCR 溶解曲线法。该法是在 PCR 体系中加入两端分别标记有荧光基团与淬灭基团的探针, 在 PCR 过程中扩增出与探针序列互补的单链寡核苷酸序列, 在扩增完成后增加溶解曲线分析过程, 同时实时监测荧光值变化, 通过计算荧光值与温度的负导数获得探针与该序

列杂交产物的溶解曲线并得出熔点(T_m值), 从而推测得到该序列突变信息。如靶序列与探针完全匹配则探针与该序列杂交的熔点最高; 如探针与序列不完全匹配如序列发生点突变、插入或缺失则探针与该序列杂交的熔点低于探针与完全匹配序列杂交的熔点。熔点降低程度与点突变类型、插入或缺失碱基数量及突变位点位置有关。耐多药基因检测及 BACTEC MGIT 960 培养仪检测均严格按照标准操作规程进行。

1.4 统计学处理 计数资料以率或构成比表示, 采用 χ^2 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 对照组检测结果 阴性对照 H37Rv(野生型)经耐多药基因检测与 BACTEC MGIT 960 培养仪检测异烟肼、利福平药物敏感性均为异烟肼、利福平敏感。

2.2 研究组检测结果 94 例标本中耐多药基因检测利福平阴性率为 80.9%(76/94), 阳性率为 19.1%(18/94); BACTEC MGIT 960 培养仪检测利福平阴性率为 84.0%(79/94), 阳性率为 16.0%(15/94)。94 例标本中耐多药基因检测异烟肼阴性率为 83.0%(78/94), 阳性率为 17.0%(16/94); BACTEC MGIT 960 培养仪检测异烟肼阴性率为 76.6%(72/94), 阳性率为 23.4%(22/94)。见表 1。

检测方法	表 1 研究组检测结果(n=94)					
	利福平			异烟肼		
	野生型 (n)	突变型 (n)	突变率 (%)	野生型 (n)	突变型 (n)	突变率 (%)
耐多药基因	76	18	19.1	78	16	17.0
BACTECMGIT 960 培养仪	79	15	16.0	72	22	23.4

2.3 2 种方法符合率 对照组耐多药基因检测与 BACTEC MGIT 960 培养仪特异性与灵敏度相当, 研究组 94 例标本中

耐多药基因与 BACTEC MGIT 960 培养仪同时检测利福平、异烟肼结果相符 86 例,符合率为 91.5%(86/94),结果不符 8 例,不符率为 8.5%(8/94)。

3 讨 论

利福平、异烟肼是抗结核的主要一线药,敏感与否直接影响结核病患者疗效。用 BACTEC MGIT 960 培养仪检测结核分枝杆菌药物敏感性前提是结核分枝杆菌培养阳性才能进行药敏试验,药敏试验还需平均 9 d 才能出结果,总共需 23 d 左右^[6],若患者送标本之前经抗结核治疗,体内结核分枝杆菌已死亡则 BACTEC MGIT 960 培养仪检测结果为阴性,不能进行药敏试验^[7]。耐多药基因检测快速、简单,从分子生物学方面进行检测,对培养阳性或核酸提取阳性(对有生命力或无生命力的结核分枝杆菌核酸检测均为阳性)标本均可进行耐多药基因检测,仅需 3 h 即可检测出药物敏感性结果。

本研究结果显示,耐多药基因检测与 BACTEC MGIT 960 培养仪检测具有较好的一致性,符合率为 91.5%(86/94),在检测时间方面具有很大优势,仅需 3 h 即可检测出利福平、异烟肼药物敏感性结果,对结核病早期、菌阴结核病有效药物的选择具有重要意义。

作为一种实验方法,耐多药基因检测也有其局限性:(1)该实验只筛选核酸序列而不是氨基酸序列,因此,有可能不引起氨基酸改变的突变也会被判为突变;(2)耐药菌占总菌含量的 40% 以下可能会造成假阴性结果;(3)该产品从方法学上不能

• 临床研究 •

区分具体突变位点,因此,报告为突变的结果并不绝对表示耐药。但耐多药基因检测阳性率与 BACTEC MGIT 960 培养仪检测结果相当,价格相当,检测所需时间仅为 3 h,临床可根据患者病情需要选择检测方法。

参考文献

[1] 袁伟,秦川. 结核病动物模型研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2010,20(9):55-59.

[2] 沈玉祯. 结核病实验室诊断技术[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2013, 34(4):563-565.

[3] 梁亚萍,高漫. BACTEC MGIT 960 用于结核分枝杆菌快速培养的初步评价[J]. 中国预防医学杂志,2011,12(6):521-522.

[4] 周昌明,罗丹,廖光付. 结核分枝杆菌检测概述(综述)[J]. 中国城乡企业卫生,2009(4):89-91.

[5] 马艳艳,李辉,赵东阳,等. 荧光 PCR 熔解曲线法检测结核分枝杆菌耐利福平突变研究[J]. 口岸卫生控制,2011,16(5):21-24.

[6] 马艳艳,李辉,钱成,等. 结核杆菌基因型耐药检测研究[J]. 河南预防医学杂志,2010,21(5):321-324.

[7] 赵立平,于霞,姜广路,等. 对 BACTECTM MGIT960 培养报告结果为阴性的培养管中颗粒性物质的研究[J]. 中国防痨杂志, 2013,35(1):27-31.

(收稿日期:2015-07-02)

MCV、RDW 和 RBC 渗透脆性试验联合检测在珠蛋白生成障碍性贫血筛查中的价值

叶智良,赵 新,蔡毅瑜,刘 鼎,周绮娴
(佛山市妇幼保健院,广东佛山 528000)

摘 要:目的 评价平均红细胞容积(MCV)、红细胞体积分布宽度(RDW)和红细胞(RBC)渗透脆性试验在珠蛋白生成障碍性贫血(以下简称地贫)筛查中的价值。方法 选择到该院就诊的孕妇 152 例,其中经地贫基因诊断确诊为地贫者 110 例作为地贫组,经基因诊断确诊为正常者 42 例作为对照组。分别检测 MCV、RDW 和 RBC 渗透脆性试验,分析各单项检测和联合检测的灵敏度和特异性等评价指标。结果 地贫组患者中 MCV 检测阳性 99 例,RDW 检测阳性 83 例,RBC 渗透脆性试验阳性 69 例;对照组患者中 MCV 检测阳性 13 例,RDW 检测阳性 35 例,RBC 渗透脆性试验阳性 4 例。地贫组患者中 3 项目并联试验阳性 108 例,对照组患者中 3 项目并联试验阳性 17 例;地贫组患者中 3 项目串联试验阳性 64 例,对照组患者中 3 项目串联试验阳性 2 例。单项检测中以 MCV 灵敏度最高,RBC 渗透脆性试验特异性最高;3 项目并联试验灵敏度与 MCV、RBC 渗透脆性试验单项灵敏度比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 MCV、RDW 和 RBC 渗透脆性试验对产前地贫筛查有较高价值,3 项目并联试验灵敏度最高,可提高检出率,降低地贫筛查的漏诊率。

关键词:地中海贫血/诊断; 产前诊断; 红细胞容量; 红细胞指数; 红细胞渗透脆性试验
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.02.042 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)02-0242-02

珠蛋白生成障碍性贫血(以下简称地贫)是一种常染色体隐性遗传性血液病,是由仅珠蛋白链和β珠蛋白链合成缺陷导致的各种小细胞溶血性贫血。我国长江以南各省区为该病的高发区,广东省尤其是地贫的高发区,约 11.07% 携带地贫基因。地贫基因诊断为目前确诊地贫的方法,但其具有耗时长、分子生物学技术要求条件高、成本高、方法繁琐等缺点不适于临床实际的大规模筛查,一般基层单位也难以推广应用。而平均红细胞容积(MCV)、红细胞体积分布宽度(RDW)和红细胞(RBC)渗透脆性试验作为地贫筛查操作简单快速、方便经济,本研究收集分析了本院产科门诊孕妇 MCV、RDW、RBC 渗透脆性试验的数据,以评价其在地贫产前筛查中的价值,现报道

如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选择 2014 年 1~6 月到本院产科门诊就诊的孕妇 152 例,将经地贫基因诊断确诊为地贫者 110 例作为地贫组,经基因诊断确诊为正常者 42 例作为对照组。

1.2 方法

1.2.1 MCV、RDW 测定 采用日本 Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪测定。MCV<80 fL、RDW<16% 为异常。

1.2.2 RBC 渗透脆性试验 采用武汉长立 RBC 渗透脆性测定试剂盒(直接比色法),RBC 脆性小于 65% 为异常。

1.2.3 基因分析 采用深圳亚能生物技术基因检测试剂检测