

## ·短篇论著·

## 噬菌体裂解法在肺结核分枝杆菌耐药性检测中的应用

林惠玲 崔健伟 王怡心 蒋英 李琼英

**摘要：**目的 探讨噬菌体裂解法在基层结核病防治机构实验中的应用价值。方法 应用噬菌体裂解法检测临床 108 例痰标本中结核分枝杆菌对利福平(R)、异烟肼(H)、链霉素(S)、乙胺丁醇(E)的耐药性,并与比例法比较。结果 以比例法检测结果为标准,噬菌体裂解法检测利福平(R)、异烟肼(H)、链霉素(S)、乙胺丁醇(E)耐药性的敏感性、特异性及准确性分别为 100.0%、96.0%和 96.3%、87.5%、95.7%和 94.4%、76.2%、100.0%和 95.4%、75.0%、96.0%和 94.4%。噬菌体裂解法检测利福平(R)、异烟肼(H)、链霉素(S)、乙胺丁醇(E)药敏结果与比例浓度法检测药敏结果符合率分别为 96.3%、94.4%、95.4%、94.4%。结论 噬菌体裂解法检测痰标本中结核分枝杆菌对利福平(R)、异烟肼(H)、链霉素(S)、乙胺丁醇(E)的耐药性具有较高的敏感性、特异性和准确性,与比例法比较,具有较高的符合率,且简便快速。

**关键词** 结核分枝杆菌 噬菌体 结核 耐药性

**中图分类号** R521.1 **文献标识码** A **文章编号** :1009-9727(2012)2-215-02

Application of phage-lysis method in clinical detection of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. LIN Hui-ling, CUI Jian-wei, WANG Yi-xin et al. (Department of Laboratory Medicine, Futian District Hospital for Prevention and Treatment of Chronic Diseases, Shenzhen 518048, Guangdong P. R. China)

**Abstract** **Objective** To assess the value of phage-lysis method in clinical detection of drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. **Methods** The resistance of *Mycobacterium tuberculosis* from 108 clinical isolated samples to rifampin, isoniazid, streptomycin and ethambutol were detected with phage-lysis method and comparing with the results of concentration ratio (CR) method's. **Results** The susceptibility, specificity and accuracy of PL method in detection of resisthance of *Mycobacterium tuberculosis* to rifampin were 100%, 96.0% and 96.3%; to isoniazid were 87.5%, 95.7%, 94.4%; to streptomycin 76.2%, 100%, 95.4% and to ethambutol were 75.0%, 96.0%, 94.4%. Coincidence of the results detected by CR and PL methods were 96.3% (rifampin), 94.4% (isoniazid), 95.4% (streptomycin), 94.4% (ethambutol). **Conclusion** Comparing with CR methods, PL method should be as the better choice for detecting drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* as it is simple, fast and without requiring sophisticated facilities and allowed application in general laboratories or those at grassroots levels.

**Key words** *Mycobacterium tuberculosis*; Phage; Tuberculosis; Drug resistance

结核病仍是一种主要的传染性疾病,据世界卫生组织统计,目前全球约有 20 亿人感染了结核分枝杆菌(MTB),而其中约有 5000 万人感染的是耐药 MTB<sup>[1]</sup>。结核病的全球传播由于耐药结核病的广泛存在而变得更加复杂<sup>[2]</sup>。2000 年我国第四次结核病流行病学调查资料显示,结核病耐药问题突出,总耐药率 27.8%。耐药结核病的(MDR-TB)发生率 10.7%<sup>[3]</sup>。结核病病死率高的原因之一是耐药患者的增多,因此快速检测 MTB 的耐药是指导成功治疗结核病的重要手段。目前使用的改良罗氏比例法,虽然稳定性好,是检测的金标准,但所需时间较长(4 周以上,阴性结果需 8 周才能报告)不能及时地为临床提供用药参考,不能及时指导临床用药。噬菌体裂解法利用噬菌体生长快,只能在活的结核分枝杆菌中增殖的特性,可以快速诊断结核病和检测结核分枝杆菌的药物敏感性,是一种敏感性和特异性较高的检测方法。本文利用结核分枝杆菌噬菌体裂解法进行结核分枝杆菌药物敏感性的应用研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 标本来源 108 份痰标本取自我院 2009 年 5 月~12 月临床确诊为肺结核的初诊患者。

1.1.2 药物及试剂 FASTPlaque TBMT 结核分枝杆菌快速诊断试剂盒由上海金浩科技有限公司提供。利福平(R)、异烟肼(H)、链霉素(S)、乙胺丁醇(E)药物购自沈阳红旗制药厂。试验浓度分别为 R40mg/l、H0.2mg/l、S4mg/l、E2mg/l。

### 1.2 方法

1.2.1 噬菌体裂解法 按照 FASTPlaque TBMT 试剂盒说明书操作,所有操作均在无菌条件下进行。

1.2.2 其它方法检测 MTB 的比例法药物敏感性检测按照中国防痨协会制定的结核病细菌学检验规程进行。

## 2 结果

用噬菌体裂解法检测 108 例培养阳性的痰标本 MTB 对 R、H、S、E 四种药物的敏感性,检测结果与比例法检测结果进行比较,见表 1。

以比例法药敏结果为判断标准,则噬菌体裂解法测定 R 耐药性的敏感度、特异度及符合率分别为 100%(7/7)、96%(97/101)、96.3%(104/108);测定 H 耐药性的敏感度、特异度及符合率分别为 87.5%(14/16)、95.7%(88/92)、94.4%(102/108);测定 S 耐药性的敏感度、特异度及符合率分别为 76.2%(16/21)、100%(87/87)、95.4%(103/108);测定 E 耐药性的敏感

作者单位:深圳市福田区慢性病防治院检验科 广东 深圳 518048

作者简介:林惠玲(1971~),女,本科学历,主管技师,主要从事检验工作。

表 1 噬菌体裂解法与比例法检测结核分枝杆菌耐药性的比较  
Table 1 Comparison of phage- lysis(PL)method with concentration ratio(CR)method

药物 Drug	菌株数 No.strains	噬菌体裂解法 PL method	比例法 CR method		敏感度 Susceptibility(%)	特异度 Specificity(%)	符合率 Coincidence(%)
			耐药株 Drug resistant strain	敏感株 Susceptive strain			
利福平 Rifampin	108	耐药株	7	4	100.0	96.0	96.3
		Drug resistant strain					
		敏感株	0	97			
异烟肼 Isoniazid	108	Susceptive strain			87.5	95.7	94.4
		耐药株	14	4			
		Drug resistant strain					
链霉素 Streptomycin	108	敏感株	2	88	76.2	100.0	95.4
		Susceptive strain					
		耐药株	16	0			
乙胺丁醇 Ethambutol	108	Drug resistant strain			75	96.0	94.4
		敏感株	5	87			
		Susceptive strain					
		耐药株	6	4			
		drug resistant strain					
		敏感株	2	96			
		Susceptive strain					

度、特异度及符合率分别为 75%(6/8)、96%(96/100)、94.4%(102/108)。

3 讨论

近年来 噬菌体裂解法已广泛应用于分枝杆菌的快速检测<sup>[4,5]</sup>, 并取得良好效果。该法是利用分枝杆菌噬菌体能感染分枝杆菌, 让抗结核药物与结核分枝杆菌作用一定时间后, 再加入杀病毒剂杀灭未能进入菌体内的噬菌体, 结果耐药菌能继续生长, 并被加入的噬菌体所感染, 而敏感株因被药物杀死, 不能被噬菌体感染, 则被加入的杀病毒剂杀死。感染进入耐药菌菌体内的噬菌体不受影响, 且在菌体内大量繁殖, 继而将细菌裂解, 释放出的噬菌体由于立即感染加入的指示细胞, 并使指示细胞裂解, 故在培养皿上出现肉眼可见的噬菌斑。因此, 只要根据肉眼可见的噬菌斑的有无即可判断待检结核分枝杆菌菌株对各种抗结核药物的耐药性。

本研究结果表明, 噬菌体裂解法检测利福平、异烟肼、链霉素、乙胺丁醇药敏结果与比例法药敏结果符合率分别为 96.3%、94.4%、95.4%和 94.4%, 结果与国内外用噬菌体裂解法检测 MTB 菌株耐药性的文献<sup>[6,7]</sup>报道结果基本相符。本研究结果与比例法比较, 噬菌体裂解法具有较高的敏感性和特异性, 且所需的时间仅约为 3d。

噬菌体裂解法是一种快速、简便的测定结核分枝杆菌耐药性的新方法, 与罗氏培养法(检测的金标准)耐药性测定结果具有较高的符合率, 普遍认为这是一种极具发展前景的新方法, 由于该方法具有较高的敏感性、特异性及符合率, 且所需时间较短(约 3d), 在临床上对肺结核患者的耐药筛查有重要的参考意义及临床应用价值, 基本上能满足临床诊治的要求, 及时地为临床提供用药参考, 防止耐药菌株的产生, 有效地提高了结核病的阴转率及治愈率, 为结核病的防治提供了重要的依据, 且不需特殊仪器设备, 操作技术难度不高, 只需注意无菌操作, 故在普通微生物实验室就能开展, 特别适合在基层结防机构实验室中推广应用。

参考文献:

[1] Cohn DL, Bustreo F, Raviglione MC et al. Dnl resistancetuberculo·sis review of worldwide situation and the WHOIATLD globalsurveil·lance project[J]. Clin Infect Dis ,1997 ,24 :121-130.

[2] World Heahh Organization.Anti-tuberculosis drug resistance in the world.Report No.2.prevalence and trends.Geneva.WHO.2000

[3] National Technical Steering Group of the Epidemiotogicat Sampling Survey in Tuberculosis Office of the Nationwide Epidemiologicat Sampling Survey for Tuberculosis Report of nati-onwide random survey for the epidemiology of tuberculosis in 2000. The Journal of The Chinese Antituberculosis Association. 2002 ,24 :65-108.(in chinese)

(全国结核病流行病学抽样调查技术指导组, 全国结核病流行病学调查办公室, 2000 年全国结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志 2002 ,24 :65-108)

[4] Jin AJ, Wang Gu ,Hu ZY etc Study on rapid detective technique for streptomycin resistance in Mycobacterium tuberculosis by phage amplified biologically assay [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine ,2005 ,28 :807-808. (in chinese)

(靳安佳, 王洁, 胡忠义, 等. 噬菌体生物扩增法检测肺结核患者痰标本临床应用研究[J]. 中华检验医学杂志 ,2005 ,28:807-808.)

[5] Albert H, Heydenrych A, Brookes R et al. Performance of a rapidphage-based test FASTPIaqueTB to diagnose pulmonary tuberculosis·from sputum specimens in South Africa [J]. Int J Tubere Lung Dis , 2002 ,(6) :529-537.

[6] Eltringham IJ, Wilson SM, Drobniewski FA et al. Evaluation of a bacteriophage-based assay(phage amplified biologically assay)as a rapid screen for resistance to isonizid ,ethambutol, streptomycin , phyazinamide and ciprofloxacin among clinical isolates of Myco·bacterium tuberculosis[J]. J Clin Microbiol ,1999 ,37 :3528-3532

[7] Wang J, Cui ZL, Hu ZY et al. Study on simultaneous detection of four drugs resistance anti-tuberculosis front line by phage amplified biologically assay [J]. Chinese Journal of Infectious Diseases , 2006 ,24 :102-105.(in Chinese)

(王洁, 崔振玲, 胡忠义. 噬菌体法同时检测四种一线抗结核药物耐药性[J]. 中华传染病杂志 ,2006 ,24 :102-105)

收稿日期 2011-10-17 编辑 符式刚