

其表达沉默在甲状腺乳头状发生发展中起一定影响。

综上所述, LKB1 在甲状腺乳头状癌的形成及淋巴结转移中起负向调节作用。而 LKB1 在甲状腺乳头状癌中的低表达对甲状腺乳头状癌的增殖、凋亡和淋巴转移的影响有待进一步研究, 可望为甲状腺乳头状癌基础研究提供更多的证据并为甲状腺乳头状癌的分子诊断及治疗提供潜在的分子基础。

参考文献

- Shorning BY, Clarke AR. LKB1 loss of function studied in vivo[J]. FEBS Lett, 2011, 585(7): 958-966
- Carcangiu ML, Chambers JT, Voynick IM, et al. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. Part I: Clinical and histologic correlations [J]. Am J Clin Pathol, 1990, 94(3): 247-254
- 杨晶金, 姚军, 沈峰清, 等. Notch-1 信号通路与甲状腺乳头状癌的关系[J]. 中国细胞生物学学报, 2012, 34(2): 120-126
- Hemminki A, Markie D, Tomlinson I, et al. A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome [J]. Nature, 1998, 391(6663): 184-187
- Jenne DE, Rammann H, Nezu J, et al. Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase [J]. Nature Genetics, 1998, 18(1): 38-43
- Rowan A, Bataille V, MacKie R, et al. Somatic mutations in the Peutz-Jeghers (LKB1/STKII) gene in sporadic malignant melanomas [J]. J Invest Dermatol, 1999, 112(4): 509-511
- Morén A, Raja E, Heldin CH, et al. Negative regulation of TGF β signaling by the kinase LKB1 and the scaffolding protein LIPI [J]. J

- Biol Chem, 2011, 286(1): 341-353
- Gaude H, Aznar N, Delay A, et al. Molecular chaperone complexes with antagonizing activities regulate stability and activity of the tumor suppressor LKB1 [J]. Oncogene, 2012, 31(12): 1582-1591
- Gill RK, Yang SH, Meerzaman D, et al. Frequent homozygous deletion of the LKB1/STK11 gene in non-small cell lung cancer [J]. Oncogene, 2011, 30(35): 3784-3791
- Esteller M, Avizienyte E, Corn PG, et al. Epigenetic inactivation of LKB1 in primary tumors associated with the Peutz-Jeghers syndrome. Oncogene [J]. 2000, 19(1): 164-168
- 沈赞, 吴晴, 岳麓, 等. 抑癌基因 LKB1 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义 [J]. 中华医学会杂志, 2005, 85(10): 15-18
- Huang J, Manning BD. The TSC1-TSC2 complex: a molecular switchboard controlling cell growth [J]. Biochem J, 2008, 412(2): 179-190
- Kim DW, Chung HK, Park KC, et al. Tumor suppressor LKB1 inhibits activation of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) by thyroid oncogenic tyrosine kinase rearranged in transformation (RET)/papillary thyroid carcinoma (PTC) [J]. Mol Endocrinol, 2007, 21(12): 3039-3049
- Morton JP, Jamieson NB, Karim SA, et al. LKB1 haploinsufficiency cooperates with Kras to promote pancreatic cancer through suppression of p21-dependent growth arrest [J]. Gastroenterology, 2010, 139(2): 586-597
- Lee JH, Koh H, Kim M, et al. JNK pathway mediates apoptotic cell death induced by tumor suppressor LKB1 in Drosophila [J]. Cell Death Differ, 2006, 13(7): 1110-1122

(收稿日期: 2012-05-22)

(修回日期: 2012-06-15)

几种液体分枝杆菌分离培养方法的多中心应用评估

宋媛媛 夏 辉 赵雁林

摘 要 目的 评估自动化及手动液体分枝杆菌分离培养系统的临床应用效果。**方法** 采集 2008 年 11 月~2009 年 4 月就诊的肺结核可疑症状者痰标本 1012 例, 其中涂阳 472 例, 涂阴 540 例。对每份痰标本进行 L-J 培养及 4 种液体培养。**结果** 使用 L-J 培养、MGIT™ 960、BacT/ALERT 3D、MicroMGIT™ 手动判读仪、紫外灯的检出率分别为 47.1% (477/1012)、52.5% (531/1012)、51.9% (310/597)、51.8% (524/1012)、52.8% (429/812)。几种液体培养方法检出率均高于 L-J 培养, 具有统计学差异 ($P < 0.05$)。自动化 MGIT™ 960 和 MicroMGIT™ 手动判读仪、紫外灯的检出率无统计学差异 ($P > 0.05$)。5 种培养方法阳性结果报告时间分别为 21.1 ± 8.1 天、 11.0 ± 5.9 天、 16.4 ± 8.3 天、 11.8 ± 6.6 天、 10.7 ± 5.6 天。4 种液体培养方法阳性结果报告时间均短于 L-J 方法 ($P < 0.05$)。MGIT™ 960 阳性结果报告时间短于 MicroMGIT™ 手动判读仪, 且有统计学差异 ($P = 0.048$), 但比紫外灯长, 两者比较无统计学差异 ($P = 0.520$)。**结论** 自动化及手动液体培养方法较 L-J 方法均能检出更多分枝杆菌, 且能缩短阳性结果报告时间, 且手动判读系统不需要昂贵仪器, 更加适合基层实验室推广应用。

关键词 结核 分枝杆菌 分离培养

基金项目: 国家科技部重大专项基金资助项目 (2008ZX10003-009)

作者单位: 102206 北京, 中国疾病预防控制中心结核病预防控制中心 (注: 宋媛媛、夏辉为共同第一作者)

通讯作者: 赵雁林, 电子信箱: zhaoyanlin@chinatb.org

Multicentre Study of Effectiveness of Liquid Medium Culture for Mycobacterium Detection. Song Yuanyuan, Xia Hui, Zhao Yanlin.

National Centre for Tuberculosis Control and Prevention, China CDC, Beijing 102206, China

Abstract Objective To evaluate the effectiveness of automatic and manual liquid culture methods for detection of Mycobacterium. **Methods** Totally 1012 specimens from pulmonary tuberculosis suspects were collected from November 2008 to April 2009. Among them, 472 were smear microscopy positive and 540 negative. All specimens were isolated by L-J method, MGIT™ 960, BacT/Alert 3D system, MicroMGIT™ reader and UV lamp. **Results** The positive rate of L-J method, MGIT™ 960, BacT/Alert 3D and MicroMGIT™ reader and UV lamp were 47.1% (77/1012), 52.5% (531/1012), 51.9% (310/597), 51.8% (524/1012), 52.8% (429/812), respectively. The liquid culture positive rate was significantly higher than that of L-J method ($P < 0.05$). There are no significantly difference between automatic MGIT™ 960 and manual MicroMGIT™ reader or UV lamp ($P > 0.05$). The mean time of detection positive result with L-J method, MGIT™ 960, BacT/Alert 3D system, MicroMGIT™ and UV lamp were 21.1 ± 8.1 , 11.0 ± 5.9 , 16.4 ± 8.3 , 11.8 ± 6.6 , 10.7 ± 5.6 days, respectively. The mean detection time of liquid culture was statistically shorter than solid medium culture ($P < 0.05$). The median time of detection of automatic MGIT™ 960 was statistically shorter than manual MicroMGIT™ reader ($P = 0.048$), but was longer than UV lamp ($P = 0.520$). **Conclusion** Automatic and manual liquid medium methods could detect more Mycobacterium than solid medium method, shorten the detection time. Manual liquid medium method may be used in more laboratories with its low cost.

Key words Tuberculosis; Mycobacterium; Culture

中国是全球 22 个结核病高负担国家之一,疫情居全球第 2 位,仅次于印度。也是全球 27 个耐多药结核病流行严重国家之一。2007 ~ 2008 年首次全国结核病耐药性调查结果显示 5.7% 初治病例和 25.6% 复治病例为耐多药 (MDR) 结核病。约 8% 的 MDR 结核病患者为广泛耐药 (XDR)^[1]。而目前我国结核病的主要诊断手段还是依赖于已有 120 余年历史的涂片显微镜检查抗酸杆菌,因此迫切需要新型诊断技术改变现状。固体培养需要至少约 3 ~ 8 周的时间才能得到结果,往往延误病人的诊疗。液体培养较固体培养方法可缩短结果报告时间。目前市场上已有适合大工作量的自动化仪器,但是价格较昂贵,因此又研发出一些适于基层单位应用的手工判读系统。本研究通过多中心研究,与 L-J 培养对比分析自动化液体培养系统及手工判读液体培养系统。

对象与方法

1. 对象:2008 年 11 月 ~ 2009 年 4 月到北京、天津、广州及上海的 5 家省级以上结核病防治机构就诊的肺结核可疑症状的痰标本。其中阳性 472 份,阴性 540 份。

2. 方法:(1) 仪器与试剂:① BacT/Alert 3D 全自动分枝杆菌培养系统, BacT/Alert MP 培养瓶、复溶液和抗生素干粉添加剂均为生物梅里埃试剂;② MGIT™ 960 自动分枝杆菌培养仪、MicroMGIT™ 手动判读仪, MGIT™ 960 7ml 培养管、MGIT™ 4ml 培养管、营养添加剂, 杂菌抑制剂均为美国 BD 公司产品;③ 普通紫外灯 (判读时佩戴防护眼镜) 或紫外投射装置。(2) 实验方法:吸取适量黏液样或干酪样痰标本至 50ml 无菌离心管内,按照《结核病诊断实验室检验规程》^[2] 推荐的 NALC - NaOH 法进行前处理,充分液化后加入 0.067mmol/ml pH 值 6.8 的磷酸缓冲液 (PBS) 至刻度 45ml,混匀后 3000r/min 离心 15min,去上清液加入 2ml PBS,混匀后分别加 0.5ml 至 BacT/

Alert MP, MGIT™ 960 7ml、MGIT4 ml 管内,并接种 2 滴 (约 0.1ml) 于 2 支 L-J 培养基。BacT/Alert、MGIT™ 960 7ml 管分别置于仪器内孵育,由仪器自动监测结果, MGIT 4ml 管放入 37℃ 温箱内孵育,第 2 天起每天使用 MicroMGIT™ 手动判读仪或紫外灯判读阴阳性,直至第 42 天 (仪器或手工判读仪提示阳性后,抽取培养液涂片,经抗酸染色证实后报告阳性结果)。培养 42 天后未生长者则报告阴性结果。L-J 培养基放入 37℃ 孵箱内,第 3 天和第 7 天观察 1 次,以后每周观察 1 次细菌生长情况,有菌落生长者报告阳性,8 周未见菌落生长者报告阴性。(3) 天津和北京的一个实验室未进行 BacT/Alert 3D,上海未开展紫外灯方法评估。

3. 统计学方法:应用 SPSS 16.0 软件对数据进行统计分析,各方法阳性检出率间差异比较采用 χ^2 检验,每种方法结果报告时间用 t 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

1. 不同方法阳性检出率比较:共纳入 1012 例,其中涂片阳性 472 例,涂片阴性 540 例。5 个实验室对 1012 例病例均使用 L-J 培养, MGIT™ 960 和 MicroMGIT™ 手动判读仪方法进行了检测。仅 3 个实验室进行了 BacT/ ALERT 3D 检测,共 597 份标本。4 个实验室进行了紫外灯方法检测,共 812 份标本。L-J 培养、MGIT™ 960、BacT/ ALERT 3D、MicroMGIT™ 手动判读仪、紫外灯的阳性检出率分别为 47.1% (477/1012)、52.5% (531/1012)、51.9% (310/597)、51.8% (524/1012)、52.8% (429/812)。4 种液体培养方法的检出率均高于 L-J 培养方法,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。自动化 BACTEC™ MGIT™ 960 和 MicroMGIT™ 手动判读仪、紫外灯的检出率无统计学差异 ($P > 0.05$)。MGIT™ 960 与 BacT/ ALERT 3D 检出率无统计学差异 ($P > 0.05$)。在涂片阴性标本

中 L-J 培养、MGIT™ 960、BacT/ALERT 3D、MicroMGIT™ 手动判读仪、紫外灯的阳性检出率分别为 12.4% (67/540)、18.1% (98/540)、19.9% (66/332)、16.5% (16.5/540) 和 14.4% (59/409)。4 种液体分离培养方法在涂阴标本种的检出率较 L-J 方法高 2.0% ~ 7.5%, 且均具有统计学差异 ($P < 0.05$)。几种方法污染率分别为: 5.6% (57/1012)、4.1% (41/1012)、3.6% (36/1012)、3.7% (30/812) 和 4.5% (27/597)。

2. 不同培养方法阳性结果报告时间比较: L-J 培养、MGIT™ 960、BacT/ALERT 3D、MicroMGIT™ 手动判读仪、紫外灯培养阳性报告时间均值分别为 21.1 ± 8.1 天、 11.0 ± 5.9 天、 16.4 ± 8.3 天、 11.8 ± 6.6 天、 10.7 ± 5.6 天。几种液体培养方法报告时间均短于 L-J 阳性结果报告时间 ($P < 0.05$)。MGIT™ 960 阳性结果报告时间短于 MicroMGIT™ 手动判读仪, 且有统计学差异 ($P = 0.048$)。MGIT™ 960 阳性结果报告时间长于紫外灯, 但无统计学差异 ($P = 0.50$)。MGIT™ 960 时间短于 BacT/ALERT 3D, 且有统计学差异 ($P < 0.05$)。

讨 论

与涂片镜检比较, 分枝杆菌分离培养的灵敏度提高, 且可以分离出分枝杆菌进行后续的药物敏感性试验。本研究通过多中心研究的结果显示几种液体培养方法与 L-J 培养比较均有较高的阳性检出率, 且有统计学差异, 与同类报道相近^[3,4]。另外阳性结果的报告时间液体培养较固体培养明显缩短, 由 20 天缩短至 10 天, 缩短了近 1 倍的时间, 这对于结核病的治疗来说非常重要, 同时世界卫生组织已经推荐基于液体培养基的药物敏感性试验, 因此液体培养即可以满足缩短病人开始治疗的时间有助于确诊, 另一方面还可以分离出菌株用于后续的药物敏感性试验。几种液体培养方法和固体培养的污染率均在 3% ~ 5% 之间, 在可接受的范围。

尽管液体分离培养系统被广泛认可, 但自动化的仪器设备成本较高, 因此本研究特意比较了自动化和

基于手工判读方法的液体分离培养系统, 结果显示自动化 BACTEC™ MGIT™ 960 和手动判读仪、紫外灯对于分枝杆菌的对于分枝杆菌的阳性检出率无统计学差异 ($P > 0.05$)。就阳性结果报告时间而言, 手工液体判读液体培养系统与自动化 BACTEC™ MGIT™ 960 相比接近, 均为 10 天左右。

Mueller 等^[5]在赞比亚进行的一项固体培养和液体培养成本分析的研究中, 使用手动液体培养 MGIT、自动液体培养 MGIT、商业生产的改良罗氏培养 L-J 和实验室自制的改良罗氏培养 L-J 方法检测, 每个痰标本培养的成本比较接近 (均在 28 ~ 32 美元之间)。发现 1 个结核分枝杆菌阳性样本的成本分别为 197、202、312 和 340 美元。当仅对涂片阴性的样本进行检测时, 应用手动液体培养 MGIT 确定 1 个额外的结核分枝杆菌阳性样本需要 487 美元, 其他几种方法价格更高。由此可见从成本角度手工判读系统确实具有优势, 另外结合其较好的阳性检出率表现, 在资源有限的实验室可以使用此方法, 但同时需要注意的是手工判读系统需要每天进行判读, 对于工作量太大的实验室会增加实验室人员工作量, 因此手工判读液体培养系统可能最适于应用于基层资源较有限且工作量较低的实验室。

参考文献

- 1 Yanlin Z, Shaofa X, Lixia W, *et al.* National survey of drug-resistant tuberculosis in China [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366 (23): 2161 - 2170
- 2 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断实验室检验规程 [M]. 北京: 中国教育文化出版社, 2006
- 3 蔡杏珊, 谢敏娜, 罗春明, 等. MGIT 及 BacT/Alert MP 液体培养基检测分枝杆菌效果的评价 [J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32 (21): 2649 - 2471
- 4 李静, 桂晓红, 孙丕, 等. MGIT 液体培养基检测分枝杆菌效果的评价 [J]. *中华检验医学杂志*, 2011, 34 (2): 111 - 114
- 5 Mueller DH, Mwenge L, Muyoyeta M, *et al.* Costs and cost-effectiveness of tuberculosis cultures using solid and liquid media in a developing country [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2008, 12 (10): 1196 - 1202

(收稿日期: 2012-06-13)

(修回日期: 2012-06-28)

欢迎订阅

欢迎赐稿