

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20222832

· 论 著 ·

## 双培养法提高涂片阴性分枝杆菌检出率的回顾性研究

陈晓丽, 叶 龙, 周典蓉, 赵 越, 袁凯旋, 欧阳峰, 顾 兵

(广东省人民医院 广东省医学科学院, 广东 广州 510080)

**[摘要]** **目的** 探讨双培养法对提高涂片阴性分枝杆菌检出率的应用价值。**方法** 收集某院 2019 年 1 月—2021 年 9 月送检住院首诊患者的普筛标本, 并按固体培养、液体培养、固-液双培养进行分组。另选取涂片分枝杆菌阴性, 固体、液体或固-液双培养阳性的患者, 将其按送检标本部位分为肺分枝杆菌组和肺外分枝杆菌组, 分析两组患者的临床特征。**结果** 共调查涂片阴性患者 6 492 例, 其中固体组 3 234 例, 液体组 1 938 例, 双培养组 1 320 例, 253 例培养阳性, 检出率 3.90%, 固体组、液体组、双培养组培养阳性检出率分别为 2.35% (76 例)、4.54% (88 例)、6.74% (89 例); 肺分枝杆菌检出率分别为 3.11%、6.02%、7.13%, 肺外分枝杆菌检出率分别为 1.02%、2.68%、6.09%。253 例涂片阴性培养阳性的患者中男性 143 例、女性 110 例; 平均年龄 (58.34 ± 18.47) 岁; 检出时间中位数分别为 34.65、10.45、9.89 d。肺分枝杆菌组中男性、咳嗽咳痰、呼吸道基础疾病、胸部 CT 有炎性渗出、结核感染 T 细胞斑点试验结果阳性所占比例较肺外分枝杆菌组高, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。固-液体双培养组肺外分枝杆菌检出率较固体组、液体组培养高 (均  $P < 0.001$ ), 固-液体双培养组肺分枝杆菌检出率较固体组高 ( $P < 0.001$ )。**结论** 肺结核患者伴有咳嗽咳痰、呼吸道疾病、胸部 CT 炎性渗出等特征, 而肺外结核无典型特征。肺外结核的临床体征较肺结核隐匿, 易漏诊, 而固-液双培养法可以在优化标本前处理及工作流程方面提高分枝杆菌的检出率。

**[关键词]** 涂片阴性; 分枝杆菌病; 固-液双培养; 检出率; 检出时间

**[中图分类号]** R181.3<sup>+</sup>2

## Retrospective study on double culture method to improve the detection rate of smear-negative *Mycobacterium*

CHEN Xiao-li, YE Long, ZHOU Dian-rong, ZHAO Yue, YUAN Kai-xuan, OUYANG Feng, GU Bing (Guangdong Provincial People's Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the application value of double culture method in improving the detection rate of smear-negative *Mycobacterium*. **Methods** The screened specimens of patients with the initial diagnosis in a hospital from January 2019 to September 2021 were collected and grouped according to solid culture, liquid culture and solid-liquid double culture. In addition, patients with smear-negative *Mycobacterium*, positive solid, positive liquid or positive solid-liquid double culture were selected, they were divided into pulmonary *Mycobacterium* (PM) group and extrapulmonary *Mycobacterium* (EPM) group according to specimen sites, clinical characteristics of two groups of patients were analyzed. **Results** A total of 6 492 smear-negative patients were surveyed, 3 234 were in solid group, 1 938 in liquid group and 1 320 in double culture group, 253 patients (3.90%) were positive for culture, positive culture detection rates of patients in solid culture, liquid culture and solid-liquid double culture group were 2.35% ( $n = 76$ ), 4.54% ( $n = 88$ ) and 6.74% ( $n = 89$ ) respectively; detection rates of PM were 3.11%, 6.02% and 7.13% respectively, detection rates of EPM were 1.02%, 2.68% and 6.09% respectively. Among 253 smear-negative but culture positive patients, 143 were male and 110 were female; the mean age was (58.34 ± 18.47)

[收稿日期] 2022-05-05

[作者简介] 陈晓丽(1982-), 女(汉族), 广东省潮州市人, 检验主管技师, 主要从事临床微生物检验研究。

[通信作者] 顾兵 E-mail: gubing@gdph.org.cn

years; the median detection time were 34.65, 10.45 and 9.89 days respectively. Among patients in PM group, the proportion of male patients, cough and expectoration, underlying respiratory diseases, inflammatory exudation showed on chest CT, positive results of tuberculosis T cell spot test were all higher than EPM group, differences were all significant (all  $P < 0.05$ ). Positive detection rate of EPM of solid-liquid double culture group was higher than solid and liquid groups (both  $P < 0.001$ ), positive detection rate of PM in solid-liquid double culture group was higher than solid culture group ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** Patients with PM have the characteristics of cough and expectoration, respiratory diseases, inflammatory exudation on chest CT, while patients with EPM have no typical characteristics. Clinical signs of EPM are more concealed than that of PM, and it is easy to miss diagnosis, solid-liquid double culture method can improve the detection rate of *Mycobacterium* in optimizing the sample pre-treatment and workflow.

**[Key words]** smear-negative; mycobacterial disease; solid-liquid double culture; detection rate; detection time

分枝杆菌病是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)和非结核分枝杆菌(*Nontuberculosis mycobacteria*)感染易感人群引起的全身性慢性传染病。世界卫生组织(WHO)发布的《2020 年全球结核病报告》<sup>[1]</sup>显示,受新型冠状病毒肺炎疫情影响,全球结核病(tuberculosis, TB)病死率十多年来首次上升,全球约有 150 万人死于 TB,病死率为 15%,高于 2019 年的 14%。据美国结核病监测系统(NTSS)报告,美国 2020 年 TB 发病率为 2.2/10 万,肺外结核(extrapulmonary tuberculosis, EPTB)约占所有 TB 患者的 15%~20%<sup>[2-3]</sup>。目前,大部分实验室检测分枝杆菌的病原学方法为涂片萋-尼(Ziehl-Neelsen)法和分枝杆菌培养法,涂片法操作简单、快捷,但敏感性较低,而传统培养法耗时长,难以满足临床对早期可疑分枝杆菌感染快速诊断的需求。与涂阳分枝杆菌病相比,涂阴分枝杆菌病的鉴别仍然是诊断的挑战。本研究旨在探究实验室开展固-液双培养流程对提高涂片阴性分枝杆菌检出率的应用价值,并明确双培养流程的最佳标本应用范围,以期为提高实验室分枝杆菌的检出提供科学的参考方案。

## 1 资料与方法

1.1 研究资料 回顾性分析广东省人民医院 2019 年 1 月—2021 年 9 月住院首诊普筛送检抗酸菌培养的患者,根据纳入标准和排除标准筛选出研究对象,并剔除重复患者送检的标本,按固体培养、液体培养、固-液双培养进行分组。另选取涂片分枝杆菌阴性,固体、液体或固-液双培养阳性的患者,将其按送检标本部位分为肺分枝杆菌组和肺外分枝杆菌组,分析两组患者的临床特征。纳入标准:均为初次涂片结果阴性患者。排除标准:已明确诊断分枝

杆菌病的患者;艾滋病阳性、免疫系统疾病者;接受免疫抑制疗法的患者。

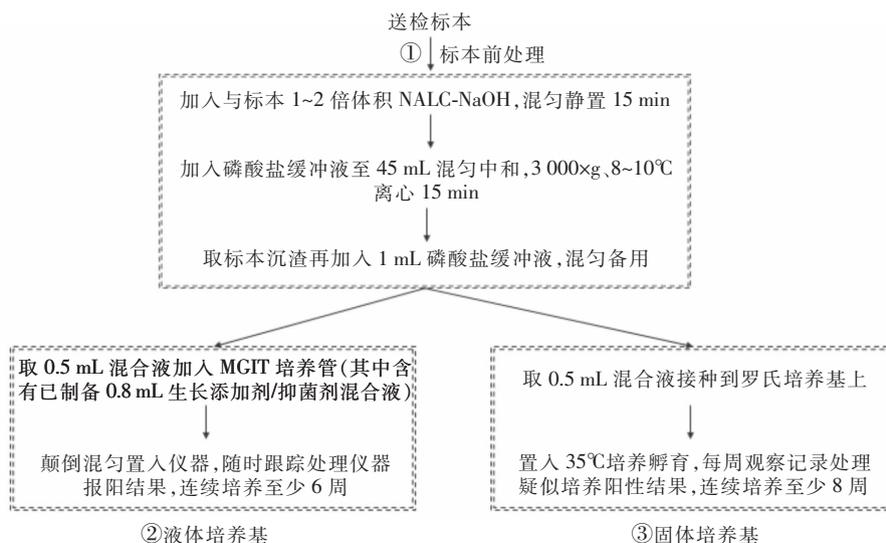
### 1.2 研究方法

1.2.1 涂片染色 参照《全国临床检验操作规程》(第 4 版)操作步骤,痰、创面分泌物标本直接涂片,纤支镜冲洗液、支气管肺泡灌洗液、无菌体液等液体标本则取离心浓缩物涂片,组织标本经无菌研磨后取组织匀浆涂片,经紫外线照射 30 min 后采用萋-尼法染色,于普通光学显微镜油镜下观察计数<sup>[4]</sup>,染液购自珠海贝索生物技术有限公司。

1.2.2 固体法培养 加入与呼吸道标本等量的 4% NaOH 溶液,取液化完成后的离心沉淀浓缩液 100 mL 接种罗氏斜面培养基(购自江门市凯林贸易有限公司),无菌体液、组织标本则经前处理后取浓缩物及组织匀浆 100 mL 接种罗氏斜面培养基,置 35℃培养箱孵育,每周观察并记录培养结果,连续培养至少 8 周。

1.2.3 液体法培养 加入与呼吸道标本 1~2 倍体积的 N-乙酰-L 半胱氨酸(NALC) + 2% NaOH 消化液混匀静置 15 min,无菌体液、组织标本则经前处理后取浓缩物及组织匀浆 1 000 mL,加入磷酸盐缓冲液至 45 mL 混匀中和,3 000 × g, 8~10℃离心 15 min,取沉渣加入 1 mL 磷酸盐缓冲液制备标本混合液。取 0.5 mL 标本混合液加入已制备含有 0.8 mL 生长添加剂/抑菌剂混合液的 MGIT 培养管,颠倒混匀置入 BACTEC MGIT 960 全自动分枝杆菌培养仪(仪器及相关配套试剂购自美国 BD 生物技术有限公司),设置仪器每 60 min 自动监测一次,随时跟踪处理仪器报阳结果,连续培养至少 6 周。

1.2.4 固-液双培养法 在液体培养的基础上,取其处理后的标本同时进行固体培养,工作流程及观察方法见图 1。



注:分枝杆菌培养管 BACTEC MGIT 试管(批号:245122);分枝杆菌培养添加剂试剂盒(批号:245124);NALC-NaOH 消化液(批号:240862)。

图 1 固-液双培养工作流程图

Figure 1 Flow chart of solid-liquid double culture

1.3 统计学方法 应用 SPSS 26.0 统计软件对数据进行分析,对于符合正态分布的连续变量以均数 $\pm$ 标准差表示,若不符合正态分布,则以中位数( $M$ )及百分位数( $P_{25}$ ,  $P_{75}$ )表示;对不符合正态分布的三组变量的两两比较,采用非参数秩和检验, $\alpha$  分割法,取  $P < 0.017$  时差异有统计学差异;分类资料采用  $\chi^2$  检验或 Fisher's 确切检验法,  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 基本情况 共纳入 6 492 例患者,按不同培养法分组,可分为固体组 3 234 例,液体组 1 938 例,双培养组 1 320 例,253 例培养阳性,检出率 3.90%,各组培养阳性检出率分别为 2.35%(76 例)、4.54%(88 例)、6.74%(89 例)。三种培养法患者的临床症状分布比较,差异无统计学意义( $\chi^2 = 9.338$ ,  $P = 0.053$ )。见表 1。

涂片分枝杆菌阴性,固体、液体或固-液双培养阳性的 253 例患者中男性 143 例,女性 110 例,平均年龄( $58.34 \pm 18.47$ )岁。对各组检出时间(time-to-detection, TTD)进行分析,固体组 TTD 为 34.65 (24.37, 43.10) d,液体组为 10.45 (5.33, 18.08) d,双培养组为 9.89 (5.73, 19.09) d;液体组和双培养组的 TTD 均低于固体组,差异有统计学意义( $Z$  值分别为 8.508、8.430, 均  $P < 0.001$ );而液体组与双

培养组比较,差异无统计学意义( $Z = 0.021$ ,  $P = 0.984$ )。

表 1 不同培养法患者的临床症状分布(例)

Table 1 Distribution of clinical symptoms of patients with different culture methods (No. of cases)

组别	患者例数	临床表现		
		咳嗽咳痰	发热	无症状
固体培养组	3 234	1 405	687	1 142
液体培养组	1 938	891	349	698
固-液双培养组	1 320	601	270	449

### 2.2 不同培养法患者肺和肺外分枝杆菌检出情况

固体组、液体组和双培养组肺分枝杆菌检出率分别为 3.11%、6.02%、7.13%;肺外分枝杆菌检出率分别为 1.02%、2.68%、6.09%。固体组、液体组肺分枝杆菌阳性检出率均高于肺外组,差异有统计学意义( $P < 0.001$ ),而双培养组肺与肺外分枝杆菌阳性检出率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。不同培养法肺分枝杆菌检出率比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 26.513$ ,  $P < 0.001$ );液体组、双培养组肺分枝杆菌检出率均高于固体组(均  $P < 0.001$ )。不同培养法肺外分枝杆菌检出率比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 35.618$ ,  $P < 0.001$ );液体组、双培养组肺外分枝杆菌检出率均高于固体组(均  $P < 0.001$ );双培养组肺外分枝杆菌检出率高于液体组( $P < 0.001$ )。见表 2。

**表 2** 不同培养法肺和肺外分枝杆菌检出情况

**Table 2** Detection results of pulmonary and extrapulmonary *Mycobacterium* with different culture methods

组别	总标本数(份)	培养阳性(份)	培养阴性(份)	培养阳性检出率(%)	$\chi^2$	<i>P</i>
固体培养组					14.237	<0.001
肺	2 058	64	1 994	3.11		
肺外	1 176	12	1 164	1.02		
液体培养组					12.290	<0.001
肺	1 080	65	1 015	6.02		
肺外	858	23	835	2.68		
固-液双培养组					0.541	0.462
肺	827	59	768	7.13		
肺外	493	30	463	6.09		

2.3 涂片阴性培养阳性的标本类型分布 253 例涂片阴性培养阳性患者送检的标本中肺标本 188 份,包括痰(30.44%)、纤支镜冲洗液(24.90%)和支气管肺泡灌洗液(18.97%);肺外标本 65 份,主要由肺外组织(11.46%)、创面分泌物(5.93%)和胸腔积液(3.16%)构成。见表 3。

2.4 253 例患者的临床特征分析 253 例涂片阴性培养阳性患者中肺分枝杆菌病 188 例(74.31%)、肺外分枝杆菌病 65 例(25.69%)。两组患者的性别分布比较,差异有统计学意义( $P=0.025$ )。肺分枝杆菌病组咳嗽咳痰的比率较肺外分枝杆菌病组高(77.13% VS 21.54%),差异有统计学意义( $P<0.001$ )。肺分枝杆菌病组呼吸道疾病患者的比率较肺外分枝杆菌病组高(85.11% VS 38.46%),差异有统计学意义( $P<0.001$ )。肺分枝杆菌病组胸部 CT 表现有炎性渗出的比例较肺外分枝杆菌病组高(91.49% VS 72.31%),差异有统计学意义( $P<0.001$ )。肺分枝杆菌病组结核感染 T 细胞斑点试验(T-SPOT)阳性检

出率高于肺外分枝杆菌病组(87.23% VS 73.85%),差异有统计学意义( $P=0.012$ )。见表 4。

**表 3** 涂片阴性培养阳性的标本类型分布

**Table 3** Distribution of smear-negative but culture-positive specimens

标本类型	检出份数	构成比(%)
<b>肺</b>	<b>188</b>	<b>74.31</b>
痰	77	30.44
纤支镜冲洗液	63	24.90
支气管肺泡灌洗液	48	18.97
<b>肺外</b>	<b>65</b>	<b>25.69</b>
肺外组织	29	11.46
创面分泌物	15	5.93
胸腔积液	8	3.16
其他肺外标本	13	5.14
<b>合计</b>	<b>253</b>	<b>100.00</b>

**表 4** 肺分枝杆菌组与肺外分枝杆菌组患者的临床特征比较

**Table 4** Comparison of clinical characteristics between patients in PM group and EPM group

基本特征	肺分枝杆菌组( $n=188$ )		肺外分枝杆菌组( $n=65$ )		$\chi^2$	<i>P</i>
	例数	构成比(%)	例数	构成比(%)		
性别					5.046	0.025
男性	114	60.64	29	44.62		
女性	74	39.36	36	55.38		
年龄(岁)					3.036	0.356
<18	1	0.53	2	3.08		
18~	21	11.17	7	10.77		
41~	71	37.77	21	32.31		
>65	95	50.53	35	53.85		

续表 4 (Table 4, Continued)

基本特征	肺分枝杆菌组 ( $n = 188$ )		肺外分枝杆菌组 ( $n = 65$ )		$\chi^2$	$P$
	例数	构成比 (%)	例数	构成比 (%)		
<b>症状</b>						
咳嗽咳痰	145	77.13	14	21.54	63.922	<0.001
发热	52	27.66	16	24.62	0.228	0.633
<b>基础疾病</b>						
呼吸道疾病	160	85.11	25	38.46	53.471	<0.001
糖尿病	28	14.89	13	20.00	0.927	0.336
心血管疾病	66	35.11	24	36.92	0.070	0.792
消化道疾病	38	20.21	7	10.77	2.946	0.086
肾疾病	43	22.87	19	29.23	1.056	0.304
肝疾病	40	21.28	9	13.85	1.708	0.191
神经系统疾病	14	7.45	8	12.31	1.437	0.231
恶性肿瘤	38	20.21	8	12.31	2.029	0.154
<b>胸部 CT 表现</b>					13.256	<0.001
有炎性渗出	172	91.49	47	72.31		
无炎性渗出	16	8.51	18	27.69		
<b>结核 DNA(TB-DNA)</b>					0.855	0.652
<500	139	73.94	45	69.23		
500~	28	14.89	10	15.38		
>10 000	21	11.17	10	15.38		
<b>T-SPOT</b>					6.375	0.012
阴性	24	12.77	17	26.15		
阳性	164	87.23	48	73.85		

### 3 讨论

结核分枝杆菌是 TB 的病原体,因感染部位不同,可分为肺结核(pulmonary tuberculosis,PTB)和 EPTB,大多数感染表现为无临床症状、被控制的状态,称为潜伏性结核感染(LTBI);小部分感染者出现有症状的活动性 TB<sup>[5]</sup>。中国在 WHO 结核病负担最高的国家中排名第三(8.4%)<sup>[1]</sup>,因此,早期 TB 的检测与诊断对感染的预防与控制具有重要意义。

涂片镜检(萋-尼染色法)可辅助分枝杆菌病的诊断,其操作简单快速,对设施要求不高,检查费用低,是普筛的首选方法,但因敏感度不足、涂片质量不稳定等局限性,可能会延误诊断。培养作为诊断分枝杆菌病的金标准,目前大部分实验室常用的培养方法有固体培养法和液体培养法。固体培养法成本较低、操作简单,通过肉眼观察菌落形态即可得到初步的鉴别,广泛适用于各级实验室,但培养时间

长,阴性结果需连续观察 8 周,阳性检出率受限于标本含菌量、培养前处理等。液体培养法敏感度相对较高,培养基添加的促生长因子能为分枝杆菌的生长提供充分的营养,检出率可提高 10%,阳性 TTD 仅约 14 d,但污染率偏高<sup>[6-7]</sup>,因此,需防止操作过程的污染。此法通过自动化检测设备,可以降低实验室生物安全风险,但同时也增加检查费用<sup>[8-9]</sup>。

加拿大结核病标准第七版<sup>[10]</sup>指出,每份送涂片镜检的标本都应设置在一种固体培养基和一种液体培养基中进行培养。Zhao 等<sup>[11]</sup>研究结果显示,MGIT 960 系统的平均 TTD(11.78 ± 5.16)d 短于罗氏培养。本研究中,固体组 TTD 为 34.65(24.37, 43.10)d,液体组为 10.45(5.33, 18.08)d,双培养组为 9.89(5.73, 19.09)d,液体组和双培养组的 TTD 均低于固体组,差异有统计学意义(均  $P < 0.001$ );而液体组与双培养组比较,差异无统计学意义( $P = 0.984$ )。因双培养组大部分以液体培养先检出,故 TTD 与液体组差异不大。液体组分枝杆菌检出率

为 4.54%，优于固体组的 2.35%，固-液体双培养组分枝杆菌检出率为 6.74%，表明在本研究设计的双培养流程中样本前处理的优化也能提高传统固体培养的检出率。

对 253 例涂片阴性培养阳性患者的临床资料分析发现，肺分枝杆菌病患者中男性、咳嗽咳痰、患呼吸道基础疾病、胸部 CT 炎性渗出和 T-SPOT 阳性的比例较肺外分枝杆菌组高。肺外分枝杆菌病患者临床表现不典型，以椎体病变（疼痛和压痛）较为多见，其次为胸膜（发热）、肾及膀胱（尿频和尿痛）等。PTB 患者早期临床体征也不明显，常表现干咳无痰，送检标本不合格导致涂片阴性，涂片阴性的 TB 在无规范诊断方案的情况下，误诊率可高达 35%~52%，而 EPTB 临床表现多变，准确检测及诊断更具挑战性<sup>[12-13]</sup>。固体组、液体组肺分枝杆菌阳性检出率均高于肺外组，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。本研究中液体培养组肺分枝杆菌检出率较固体培养肺组高，与 Thangavelu 等<sup>[14]</sup>研究结果一致。固-液体双培养组肺外分枝杆菌检出率较另两组高，且耗时最短，固-液体双培养组中肺外分枝杆菌阳性检出率与肺组比较，差异无统计学意义，因此，优化标本培养前处理及工作流程可明显提高分枝杆菌检出率，尤其是肺外分枝杆菌的检出。Gröschel 等<sup>[15]</sup>调查结果显示，美国青少年 TB 发病率为 1.0/10 万人，本研究结果显示青少年组 TB 患者数少，这与研究单位为大型综合医院中老年住院患者居多，导致入组年龄分段差距大有关。Snow 等<sup>[16]</sup>研究指出，青少年患病占全球所有新发 PTB 病例的 17%，因此，加强关注青少年生理、心理环境，对该病的研究和防控有重要作用<sup>[17-18]</sup>。

目前，我国分枝杆菌病诊疗现状是 90% 以上病患在综合医院首诊，在患者肺标本涂片找到分枝杆菌或培养阳性后即需转至专科医院完成鉴定及药敏试验方能确诊治疗。期望随着当代质谱、分子生物学等诊断技术的高速发展，未来综合医院乃至基层实验室在做好生物安全防护的基础上，都能快速完成分枝杆菌的鉴定及药敏试验，尽早对患者进行确诊治疗，有效遏制疾病的医院及社区传播。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

## [参考文献]

[1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2020

[EB/OL]. [2022-04-28]. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/336069>.

- [2] Deutsch-Feldman M, Pratt RH, Price SF, et al. Tuberculosis - United States, 2020[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2021, 70(12): 409-414.
- [3] Sharma SK, Mohan A, Kohli M. Extrapulmonary tuberculosis[J]. Expert Rev Respir Med, 2021, 15(7): 931-948.
- [4] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 773-774.
- Shang H, Wang YS, Shen ZY. National guide to clinical laboratory procedures[M]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015: 773-774.
- [5] Cadena AM, Fortune SM, Flynn JL. Heterogeneity in tuberculosis[J]. Nat Rev Immunol, 2017, 17(11): 691-702.
- [6] 赵雁林, 中国防痨协会基础委员会. 结核病实验室诊断技术培训教程[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014.
- Zhao YL, Basic Committee of China Anti Tuberculosis Association. Tuberculosis laboratory diagnostic technology training course[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2014.
- [7] 周林, 刘二勇. 结核病诊断标准解读[J]. 寄生虫病与感染性疾病, 2019, 17(1): 7-9.
- Zhou L, Liu EY. Interpretation of the newly promulgated tuberculosis diagnostic criteria[J]. Parasitoses and Infectious Diseases, 2019, 17(1): 7-9.
- [8] 王黎霞, 成诗明, 周林, 等. 中华人民共和国卫生行业标准 肺结核诊断: WS 288—2017[J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(7): 642-652.
- Wang LX, Cheng SM, Zhou L, et al. Diagnosis for pulmonary tuberculosis: WS 288-2017[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2018, 17(7): 642-652.
- [9] 李辉. 液体培养方法在结核病和耐药结核病诊断中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(8): 637-638.
- Li H. Application of liquid culture method in the diagnosis of tuberculosis and drug-resistant tuberculosis[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2014, 37(8): 637-638.
- [10] Christianson S, Jamieson F, Sharma MK, et al. Appendix D: Canadian tuberculosis standards 7th edition: 2014 - tuberculosis and mycobacteriology laboratory standards; services and policies[EB/OL]. [2022-04-28]. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/infectious-diseases/canadian-tuberculosis-standards-7th-edition/appendix-d.html>.
- [11] Zhao P, Yu Q, Chen L, et al. Evaluation of a liquid culture system in the detection of mycobacteria at an antituberculosis institution in China: a retrospective study[J]. J Int Med Res, 2016, 44(5): 1055-1060.
- [12] Orvankundil S, Jose BP, Yacoob FL, et al. Culture positivity of smear negative pulmonary and extrapulmonary tuberculosis - a study from North Kerala, India[J]. J Family Med Prim Care, 2019, 8(9): 2903-2907.
- [13] Gambhir S, Ravina M, Rangan K, et al. Imaging in extrapulmonary tuberculosis[J]. Int J Infect Dis, 2017, 56: 237-

247.

- [14] Thangavelu K, Jamir I, Ellappan K, et al. Comparison of MGIT 960 with Lowenstein Jensen media for recovery of mycobacteria from extrapulmonary specimens in Southern India [J]. *J Clin Diagn Res*, 2021, 15(3): DC01 - DC04.
- [15] Gröschel MI, van den Boom M, Migliori GB, et al. Prioritising children and adolescents in the tuberculosis response of the WHO European Region [J]. *Eur Respir Rev*, 2019, 28(151): 180106.
- [16] Snow KJ, Sismanidis C, Denholm J, et al. The incidence of tuberculosis among adolescents and young adults; a global estimate [J]. *Eur Respir J*, 2018, 51(2): 1702352.
- [17] Cowger TL, Wortham JM, Burton DC. Epidemiology of tuberculosis among children and adolescents in the USA, 2007 - 17: an analysis of national surveillance data [J]. *Lancet Public Health*, 2019, 4(10): e506 - e516.
- [18] 朱宝平, 王茜, 贾雪. 青少年结核病的影响因素研究 [J]. *实用*

预防医学, 2021, 28(10): 1278 - 1280.

Zhu BP, Wang Q, Jia X. Factors influencing tuberculosis in adolescents [J]. *Practical Preventive Medicine*, 2021, 28(10): 1278 - 1280.

(本文编辑:陈玉华)

**本文引用格式:**陈晓丽,叶龙,周典蓉,等. 双培养法提高涂片阴性分枝杆菌检出率的回顾性研究 [J]. *中国感染控制杂志*, 2022, 21(8): 805 - 811. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20222832.

**Cite this article as:** CHEN Xiao-li, YE Long, ZHOU Dian-rong, et al. Retrospective study on double culture method to improve the detection rate of smear-negative *Mycobacterium* [J]. *Chin J Infect Control*, 2022, 21(8): 805 - 811. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20222832.