

- [4] Kurki T, Sironen A, Renkonen OV, et al. Bacterial vaginosis in early pregnancy and pregnant outcome[J]. Obstet Gynecol, 1992, 80(2):173-177.
- [5] 马玉楠. 细菌性阴道病及其诊断[J]. 中华医学检验杂志, 2000, 23(5):303-304.
- [6] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 324.
- [7] 陈莉, 韩宇研. 细胞性阴道病及对妇女生殖健康的危害[J]. 实用妇产科杂志, 1998, 14(2): 88.

· 经验交流 ·

甲型 H1N1 流感病毒核酸检测结果不符合标准判定模式的原因分析

李永红, 居军, 徐辉, 杨伟国, 王彦

(甘肃省临床检验中心, 兰州 730000)

摘要: 目的 分析 21 例不符合甲型 H1N1 流感病毒核酸检测结果判定模式的原因。方法 对 21 例出现特殊模式甲型 H1N1 流感病毒核酸检测结果的标本重复检测, 同时对患者重新采样并利用荧光实时聚合酶联反应(RT-PCR)定量检测, 将前后结果进行对照分析。结果 实验操作过程中模板损失造成病毒载量降低而引起检测结果不符标准的占 4.7% (1/21); 采样不标准引起检测结果模式不符标准的占 14.29% (3/21); 患者经临床治疗后体内病毒载量降低而引起检测结果模式不符标准的占 80.95% (17/21)。结论 甲型 H1N1 流感病毒核酸检测过程中, 实验操作、采样不标准以及患者经临床治疗后都有可能造成病毒载量降低而引起检测结果模式不符合结果判定标准, 同时临床治疗后机体内病毒含量下降是引起检测结果不符合判定标准的主要原因。

关键词: 流感病毒 A 型, H1N1 亚型; 核酸检测; 结果判定

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.09.047

文献标识码:B

文章编号: 1673-4130(2011)09-1009-02

2009 年甲型 H1N1 流感疫情的病原体是变异后的新型甲型 H1N1 流感病毒, 该毒株包含有猪流感、禽流感和人流感 3 种流感病毒的基因片段^[1], 因此建立了实时荧光聚合酶链反应(RT-PCR)法检测甲型 H1N1 流感病毒的技术方案, 此方案是用一组寡核苷酸引物和双重标记的 TaqMan 探针, 对甲型 H1N1 流感病毒进行定性检测。引物包括针对甲型流感病毒的 *Infa*、特异性检测猪甲型流感病毒的 *Sw Infa*、特异性检测猪流感病毒 H1 亚型的 *SwH1* 以及人类基因通用引物 *RnaseP*^[2], 根据此 4 种引物的扩增阳性组合确定甲型 H1N1 流感病毒定性检测结果, 同时制订了标准判定模式^[3]。但是, 在实际实验过程中, 经常会碰到不符合标准判定模式的检测结果, 通常认为是模板量偏低而引起某对引物扩增不稳定所致^[4], 而使检测标本中病毒载量减低的原因主要包括实验操作过程中核酸丢失、采样不标准导致核酸假性减低及患者体内病毒实际载量偏低, 本研究旨在分析不符合甲型 H1N1 流感病毒核酸检测结果判定模式的原因, 探讨如何为临床发放不符合判定标准的检测结果报告。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对甘肃省人民医院甲型流病房核酸检测确诊为甲型 H1N1 流感患者通过 2 d 以上抗病毒治疗, 取咽拭子后进行核酸检测, 结果为不符合标准判定模式中的 A、B、C 任意一种模式者共 21 例, 其中男 11 例, 女 10 例。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 荧光 PCR 仪(罗氏公司); 采样拭子和病毒采样液(万泰公司); 甲型流感 H1N1 病毒核酸检测试剂(金豪公司)。

1.2.2 检测方法 对 21 例出现特殊模式甲型 H1N1 流感病毒核酸检测结果的标本重复检测, 同时该患者重新采样, 并用荧光 RT-PCR 定量检测。

1.2.3 标本 RNA 提取及 H1N1 核酸检测 按金豪公司提供的试剂盒说明书步骤提取的病毒 RNA, 配制 PCR 反应体系:

- [8] 杨冬梓. 替硝唑治疗细菌性阴道病的疗效观察[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 1998, 14(6): 363.
- [9] 陈世红, 靳家玉. 细菌性阴道病诊治进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 1998, 14(3): 172-174.
- [10] 黎欣, 查国章, 龚风英. 细菌性阴道病诊断及治疗[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 1998, 14(3): 151-152.

(收稿日期: 2010-10-09)

RT-PCR 反应液 20 μL、DNA 聚合酶 1 μL, 逆转录酶系 0.35 μL、模板或阴性对照 5 μL。RT-PCR 反应条件: 50 °C 30 min, 93 °C 3 min, 1 个循环; 93 °C 15 s, 50 °C 30 s, 72 °C 1 min, 5 个循环; 93 °C 10 s, 55 °C 40 s, 40 个循环。

1.2.4 结果判断 见表 1。

表 1 判断检测结果的标准判断模式

H1N1 反应液	模式 1	模式 2	模式 3	模式 4	模式 5	模式 6
<i>FluA</i>	-	+	+	+	+	+/-
<i>SW FluA1</i>	-	-	+	-	+	+/-
<i>SW H1</i>	-	-	+	+	-	+/-
<i>RnaseP</i>	+	+	+	+	+	-
甲型 H1N1 流感 病毒 RNA 结果判断	阴性	阴性	阳性	阳性	阳性	标本异常, 重新采样检测

1.3 统计学处理 采用 χ^2 检验及费歇尔精确概率法。

2 结果

2.1 不符合标准判断模式的 2 种检测结果判断 见表 2、3。

表 2 不符合标准判断模式的 3 种检测结果

H1N1 反应液	模式 A	模式 B	模式 C
<i>FluA</i>	-	-	-
<i>SW FluA1</i>	+	+	-
<i>SW H1</i>	+	-	+
<i>RnaseP</i>	+	+	+

表 3 不符合标准判定模式的检测结果分布

模式	n	构成比(%)
A	5	23.81
B	9	42.86
C	7	33.33

2.2 对实验操作的重复实验 为了排除实验操作过程中引起的核酸丢失,对标本进行重复实验,结果有1例标本由模式A转变为标准判定模式3,说明有1例标本在甲型H1N1流感病毒核酸检测过称中由于操作原因,造成标本中核酸丢失,引起检测结果不符合标准判定模式。

2.3 对采样的重复实验 为了排除由于采样不标准的原因造成假性核酸减低,对标本来源患者进行重复采样后继续检测核酸,发现有2例由模式B转变为标准判定模式5,1例由模式C转变为标准判定模式3,说明有3例标本由于咽拭子采样不标准导致的核酸假性减低,引起检测结果不符合标准判定模式。其余17例标本检测结果出现不符合标准判定模式的可能原因是经过抗病毒治疗后,患者体内病毒载量下降所致。

2.4 引起不符合标准判定模式可能原因的分布 见表4。

表4 引起不符合标准判定模式可能原因的分布

原因	n	构成比(%)
实验操作	1	4.70
采样不准确	3	14.28
临床治疗	17	80.95

3 讨 论

甲型H1N1流感的实验室诊断方法主要包括病毒分离、血清学诊断、抗原快速检测和核酸检测。病毒分离要求实验室的生物安全等级高,需在BSL3实验室进行,且病毒分离、鉴定的时间长,不利于疫情的应急处理。血清学诊断需采取急性期和恢复期的血液标本,2次标本的采集时间跨度大(2~4周),只能起到回顾性诊断作用^[5]。抗原快速检测虽然检测时间短、操作简单,但其敏感性和特异性均差,且不能区分季节性流感和新型甲型H1N1流感,因而只能作为辅助诊断方法。核酸

• 经验交流 •

常用化学消毒剂手部消毒效果观察

秦 涛

(重庆市九龙坡区妇幼保健院检验科 400015)

摘要:目的 了解0.1%苯扎氯铵、1%有效碘碘伏、75%乙醇、0.2%过氧乙酸等4种常用的化学消毒剂对医务人员手部的消毒效果差异。**方法** 根据不同化学消毒剂的特性使用不同的消毒方法对医务人员手部进行消毒,采集消毒前、后的标本进行细菌培养,观察消毒效果的差异。**结果** 不同消毒剂使用后医务人员手部菌落数明显减少,消毒效果均达到技术规范要求。**结论** 规范地洗手及消毒剂使用前、后手部染菌量有显著的变化,能有效去除手部皮肤的各种微生物。

关键词: 苯扎氯铵化合物; 乙醇; 过乙酸; 消毒; 碘伏; 化学消毒剂

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.09.048

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2011)09-1010-02

在控制医院感染的众多措施中,手卫生是预防、控制和降低医院感染最简单和最有效的方法,如何切实提高手卫生执行率,降低医院感染率是目前迫切需要重视和解决的问题^[1]。每天坚持高质量的洗手消毒可使医院感染发生率降低25%~50%^[2-3]。因此,为了保证医务人员手部的消毒效果,选择作用时间短、刺激性小、效果显著的消毒方法和化学消毒剂十分重要。

1 材料与方法

1.1 材料 常用于手部皮肤消毒的化学消毒剂:0.1%苯扎氯铵(中和剂0.5%吐温80+1.0%卵磷脂)、1%有效碘碘伏(中和剂1.0%硫代硫酸钠)、75%乙醇(中和剂无菌生理盐水)和0.2%过氧乙酸(中和剂0.2%硫代硫酸钠)。细菌培养用营养琼脂(杭州天和生物技术有限公司提供)。

1.2 方法 75%乙醇、0.2%过氧乙酸均采用消毒液浸泡法消

检测与病毒分离、血清学诊断、抗原快速检测相比,具有检测灵敏度高、特异性强和检测时间短等优点,已被定为确诊的检测方法之一,同时已经建立比较完善的甲型H1N1流感病毒核酸检测方案和严格的结果判定标准^[6]。本研究对21例不符合甲型H1N1流感病毒核酸检测结果判定模式的原因进行了分析中,认为实验操作、采样不标准以及患者经临床治疗后造成病毒载量降低都有可能引起检测结果模式不符结果判定标准。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部.甲型H1N1流感诊疗方案(2009年试行版)[S].2009-05-08.
- [2] Chang HK, Park JH, Song MS, et al. Development of multiplex RT-PCR assays for rapid detection and subtyping of influenza type A viruses from clinical specimens[J]. J Microbiol Biotechnol, 2008, 18(6):1164-1169.
- [3] Lee CS, Kang BK, Lee DH, et al. One-step multiplex RT-PCR for detection and subtyping of swine influenza H1, H3, N1, N2 viruses in clinical samples using a dual priming oligonucleotide(DPO) system[J]. J Virol Methods, 2008, 151(1):30-34.
- [4] Payungporn S, Chutinimitkul S, Chaiseng A. Single stepmultiplex real-time RT-PCR for H5N1 influenza A virus detection[J]. J Virol Methods, 2006, 131(2):143-147.
- [5] Smith AB, Mock V, Melear R. Rapid detection of influenza A and B viruses in clinical specimens by LightCycler real time RT-PCR [J]. J Clin Virol, 2003, 28(1):51-58.
- [6] 卢亦愚,严菊英,冯燕,等.荧光定量RT-PCR快速检测乙型流感病毒核酸[J].浙江预防医学,2005,17(3):1-3.

(收稿日期:2010-10-09)

毒;1%有效碘碘伏溶液采用刷洗法消毒;0.1%苯扎氯铵为真空负压包装的摩丝状泡沫,要求覆盖整个手部并反复揉搓,每种消毒方式都应充分作用5 min以上。消毒前和消毒后各采集1次标本。取样方法严格按照国标中医院消毒卫生标准。采集标本时被检人五指并拢,将浸有无菌稀释液(中和剂)棉拭子在双手指曲面从指根到指端来回擦拭各2次,并随之转动采样棉拭子,无菌剪刀剪去手接触部位,将棉拭子放入5 mL稀释液(中和剂)的试管内,振打80次,用无菌吸管取0.2 mL接种营养琼脂培养基,放置35℃孵育48 h后观察结果。

1.3 统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行处理。

2 结 果

规范地洗手及用消毒剂泡手,作用前后手部染菌量有显著的变化,差异有统计学意义($P < 0.01$),能有效去除医务人员手部皮肤的各种微生物,见表1。