

定量检测[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 8(6): 180-181.

[4] 边保华. 956 例阴道分泌物标本沙眼衣原体检测结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2005, 19(7): 85-86.

[5] 李金明. 免疫测定技术的临床应用及应注意的问题[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(11): 1025-1028.

[6] Lack CM. Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections[J]. Clin Microbiol Rev, 1997, 10(8): 160-184.

[7] Burckhardt F, Warner P, Young H. What is the impact of change in diagnostic test method on surveillance data trends in chlamydia trachomatis infection? [J]. Sex Transm Infect, 2006, 82(1): 24-

30.

[8] 王宝玺, 朱学骏, 倪安平, 等. 沙眼衣原体培养 LCR 与荧光 PCR 在检测泌尿生殖道沙眼衣原体的意义[J]. 临床皮肤科杂志, 2002, 31(3): 146-148.

[9] 王则宇, 崔卫国, 郑业焕, 等. 沙眼衣原体检测存在问题的再探讨[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2008, 3(5): 62-63.

[10] 张莉, 叶兴东, 杨红云, 等. 细胞培养、酶联免疫法检测沙眼衣原体的比较研究[J]. 中国微生态学杂志, 2008, 20(5): 496-497.

(收稿日期: 2011-07-18)

• 经验交流 •

临床实验室微生物污染情况调查与生物安全防护研究

温志国, 王全哲, 安 亮

(包头医学院附属第三医院检验科, 内蒙古 014030)

摘要:目的 通过临床实验室微生物污染情况调查, 探讨生物安全防护对策。方法 采用细菌培养、聚合酶链式反应(PCR)及酶联免疫吸附试验(ELISA), 在 1 个月内随机检测 3 次实验室各区域及物表微生物。结果 除采血室及工作人员手之外, 其他区域及物表微生物污染均未达到合格标准要求。污染区、缓冲区、清洁区微生物污染情况并没有太大区别。结论 在保证通风、定期消毒、合理使用生物安全柜及做好个人防护的条件下, 实验区与生活区相对分开, 完全可以保证实验室生物安全。

关键词:实验室; 生物安全; 防护

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 18. 044 文献标识码: B 文章编号: 1673-4130(2011)18-2134-03

生物安全管理是临床实验室重要的管理内容之一, 它涉及实验室工作人员及外部环境的安全问题, 尤其国家实施《病原微生物实验室生物安全管理条例》及《医疗机构临床实验室管理办法》之后, 越来越受到临床实验室管理人员及各级卫生行政监管部门的重视, 广大学者在临床实验室生物安全管理等方面也进行了大量而有意义的探索^[1-4]。但在实验室建设、布局流程设计、人员防护要求、基础设施配置等实际操作方面, 不同人员在理解与执行等方面还存在很大的偏差, 造成理论与实际情况的严重脱节, 容易使实验室管理人员感到困惑。同时, 一些不切合实际的过度要求会使国内大部分实验室无所适从, 也会造成实验室资源的严重浪费。对此, 本组以本实验室为研究对象, 对实验室内部各区及各种物表进行了微生物污染情况调查, 同时结合国家标准《实验室生物安全通用要求》^[5], 世界卫生组织《Laboratory Biosafety Manual》第 3 版^[6], 美国《Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories》第 5 版^[7], 对防护对策进行了探讨, 以期为临床实验室生物安全管理提供一些理论依据。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 M-H 琼脂平板培养基(赛默飞世尔生物化学制品有限公司, 批号: XW09379); 注射用生理盐水; 二次灭菌的无菌棉签; 消毒液浓度监测卡; 2% 戊二醛溶液; 84 消毒片; 实时荧光定量 PCR 扩增仪(杭州博日科技); 乙型肝炎病毒实时荧光定量 PCR 试剂(中山大学达安基因有限公司, 批号: 2009017); 乙型肝炎病毒表面抗原 ELISA 检测试剂盒(北京万泰生物科技有限公司); 病毒取样器(海南兴南峰医疗器械有限公司)。

1.2 本实验室基本状况 本实验室布局流程基本符合要求, 设实验工作区(临检室、常规化学室、细菌室、免疫室)、缓冲区和清洁区(会议室、办公室、夜班室); 每日按照实验室内部制定的《生物安全手册》进行操作台面、地面清扫, 定期消毒, 每日通

风, 废弃物处理符合《消毒技术规范》要求; 生物安全柜使用符合要求; 未进行高致病性病原微生物检测及相关工作。

1.3 采样 按卫生部《消毒技术规范》和 GB15982—1995《医院消毒卫生标准》进行, 于每个工作日上午实验工作最集中的时段采样, 在 1 个月内随机检测 3 d。

1.4 细菌培养与鉴定 严格按照《全国临床检验操作规程(第 3 版)》进行。

1.5 乙型肝炎病毒监测方法 使用病毒取样器, 采用荧光定量 PCR 法进行乙型肝炎病毒检测, 用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测乙型肝炎病毒表面抗原, 并进行平行对照试验。

1.6 菌落的计算方法 空气菌落数的计算方式: CFU/m³ = 50 000N/AT, 其中 N 为菌群数, A 为培养皿面积, T 为放置时间。台面、墙面、手、工作服、门把手、电话等物表面菌落数计算方式: 菌落数(CFU/cm²) = 平板上的菌落数 × 稀释倍数/采样面积。

1.7 合格标准 依据 GB15982—1995《医院消毒卫生标准》, 临床实验室为Ⅲ类环境, 要求空气中的细菌总数小于或等于 500 CFU/m³, 物体表面的细菌总数小于或等于 10 CFU/cm²。

2 结 果

2.1 实验室所有区域, 除采血室空气、工作人员手之外, 菌落数均不超标。 采血室空气超标为通风不良及人员相对集中所致。见表 1。

2.2 污染区、缓冲区、清洁区微生物污染情况并没有太大区别。 相反, 清洁区空气污染较严重, 原因在于工作人员更多关注污染区生物安全而忽略了清洁区。

2.3 鉴于对病毒人群感染率及相关标本数量的考虑, 本组以乙型肝炎病毒为代表选取有代表性区域进行病毒检测, 同时分别用酶联免疫吸附试验(ELISA)和聚合酶链式反应(PCR)进行了平行试验, 结果显示工作人员手、标本分检台及试管架病毒含

量相对较高,但也仅仅处于检测方法学下限,其他区域并未检测出。但提示实验室生物危害主要来源于产生气溶胶的操作过程,因此,产生气溶胶的实验操作应在生物安全柜内进行。

2.4 在物品表面类中,工作人员手表的菌落数最高,本组选取的工作人员为标本离心、分检人员,污染概率相对较高,具有代表性。

表 1 各区域及物表微生物分布及种类情况比较

采样区域	菌落数 ^a	乙型肝炎病毒 ^b		细菌种类
		PCR 法	ELISA 法	
标本分检室空气	157.6	阴性	阴性	表皮葡萄球菌、微球菌、枯草杆菌
标本分检室墙面	0	—	—	
标本分检室台面	0.2	阴性	阴性	
实验区空气	78.6	阴性	阴性	表皮葡萄球菌、微球菌、枯草杆菌
实验区台面	0	阴性	阴性	
实验区墙面	0	—	—	
采血室空气	652.55	阴性	阴性	表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、
采血室台面	0.2	—	—	微球菌
采血室墙面	0	—	—	
标本分检离心机	0.6	阴性	阴性	微球菌
生物安全柜	0	阴性	阴性	
生化仪	0.4	—	—	表皮葡萄球菌、微球菌
显微镜	3	—	—	表皮葡萄球菌、微球菌、枯草杆菌
门把手	0.8	—	—	表皮葡萄球菌、微球菌
电话	6.4	—	—	金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、微球菌
标本试管架	5.5	阴性	阴性	
缓冲区空气	94.3	—	—	表皮葡萄球菌、微球菌、杂菌
缓冲区地面	5	—	—	表皮葡萄球菌、微球菌、杂菌
缓冲区墙面	0	—	—	
会议室空气	78.62	—	—	枯草杆菌、微球菌、杂菌
会议室台面	9.6	—	—	金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、微球菌、杂菌
工作人员手	35	阴性	阴性	金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、微球菌、表皮葡萄球菌
工作服	3.7	阴性	阴性	微球菌、表皮葡萄球菌

^a:菌落数单位,空气为 CFU/m³,物表为 CFU/cm²; ^b:PCR 单位为 copy/mL;—:无检测。

3 讨 论

由实验结果可以看出,严格坚持消毒管理办法,定期清扫与消毒,实验室微生物污染并非想象中那么严重。相反,清洁区不进行同样的消毒管理,依然存在很大问题。实验室良好通风是保证生物安全的中中之重,结合世界卫生组织及美国疾控中心的相关标准要求,自然通风或单向通风都是可取的,但必须保证^[8-9]。

现在国内大部分实验室均采用真空采血管进行标本采集,同时闭盖离心。根据离心机、工作人员手及试管架污染情况来看,实验室污染主要来自于开盖产生的气溶胶,所以在生物安全柜中进行标本分检是必须的,同时正确选择和使用生物安全柜是保证实验室生物安全的有效屏障。从工作人员手污染情况可以看出,实验过程中应佩戴口罩,实验结束应进行有效消毒^[10]。

基于以上几点及本组实验结果,同时结合国内外相关标准要求,临床实验室作为 2 级生物安全实验室,在保证通风、定期消毒、合理使用生物安全柜及做好个人防护的条件下,临床实验室在布局流程上只要做到实验区与生活区相对分开即可,至

于缓冲区并不是显得特别重要,考虑目前我国实验室的发展状况及实际微生物污染情况,在保证生物安全的基础上,合理配置资源,避免过度建设与浪费是每一个实验室管理者及相关监管部门应该考虑的问题。同时,本组也旨在为临床实验室生物安全管理提供一些理论依据。

参考文献

[1] 陈巍,谢忠平,李文忠. 实验室感染与我国生物安全防护实验室的建设要求[J]. 中国自然医学杂志,2006,8(1):72-73.

[2] 娄峥. 临床微生物实验室生物安全[J]. 检验医学,2005,20(3):281-283.

[3] 肖义夫,唐文革,刘南,等. 重庆市医疗卫生机构实验室生物安全现状调查与对策[J]. 国际检验医学杂志,2008,7(29):604-606.

[4] 曹也丁,孟宪敏,丑承璋,等. 探索实验室生物安全管理有效途径[J]. 中华医院管理杂志,2010,1(26):153-155.

[5] GB19489-2008. 实验室生物安全通用要求[S].

[6] World Health Organization. Biosafety Manual,3rd edition[S]. Geneva:WHO,2004.

- [7] Centers for Diseases Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories 5th edition 2007[S].

[8] 范潇萍,邓桂超,梁炎,等. 实验室生物安全建设管理与应用[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(11):1049-1050.

[9] 杨文才,李嘉,姚毅,等. 做好医学检验学生实验室生物安全防护
- 教育[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(10):1192.

[10] 孟宪军,史志旭. 加强生物安全柜正确使用以及感染风险[J]. 现代预防医学,2010,16(37):3081-3082.
- (收稿日期:2011-07-22)

• 经验交流 •

8 995 例婚检者 3 项血液传染性标志物检测结果分析

朱建军¹,吴 芹²,刘 芳¹,董文玲¹

(1. 江苏省盐城市盐都区妇幼保健所 224001;2. 盐城卫生职业技术学院,江苏 224005)

摘 要:**目的** 了解自愿参加免费婚检者乙型肝炎病毒、梅毒螺旋体及人类免疫缺陷病毒(HIV)的感染状况。**方法** 对 8 995例婚检者,进行 3 项血液传染性标志物检测。**结果** 8 995 例婚检者中,乙型肝炎病毒表面抗原的阳性者 407 例(4. 52%);梅毒螺旋体抗体阳性者 42 例(0. 47%);抗-HIV 阳性者 0 例(0. 00%)。**结论** 开展婚前血液传染性指标检测,对提高优生优育、减少母婴垂直传播、控减新生儿传染病发生极为重要。

关键词:肝炎表面抗原,乙型; HIV; 梅毒螺旋体
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 18. 045 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2011)18-2136-02

乙型肝炎病毒(HBV)、梅毒螺旋体和人类免疫缺陷病毒(HIV)3 种传染性疾病通过母婴垂直传播概率很高,为了优生优育,提高人口素质,盐城市盐都区在全市首推免费婚前医学检查,并将乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、梅毒螺旋体抗体和艾滋病抗体(抗-HIV)检测纳入必查项目。现对 8 995 例婚检者进行 HBsAg、梅毒螺旋体抗体和抗-HIV 检测并分析,以了解 3 种传染性疾病在自愿参加免费婚检者中的感染情况。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 10 月至 2010 年 9 月期间,在盐都区婚检指定机构——区妇幼保健所自愿参加的免费婚检者共 8 995 例。用一次性真空管空腹抽取静脉血,分离血清后分别检测乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、梅毒螺旋体抗体和艾滋病抗体(抗-HIV)3 项标志物,同时对所有婚检者做丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测。

1.2 方法 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测血清中的 HBsAg^[1]。HBsAg 阳性者为乙型肝炎病毒感染,对 HBsAg 阳性者建议自费加测乙型肝炎两对半,同时采用速率法检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)。

1.3 仪器与试剂 仪器主要有酶标仪(Anthos 2010)、洗板机(Anthos fluido)。HBsAg 及乙型肝炎两对半试剂采用上海科华生物技术公司制品,丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂采用中生北控生物科技股份有限公司制品。梅毒先采用 TP-ELISA 法筛查,阳性者再用梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)确诊,TPPA 阳性者为梅毒感染。TP-ELISA 为英科新创(厦门)科技有限公司提供的梅毒螺旋体抗体酶联免疫诊断试剂盒,TP-PA 为日本富士株式会社提供的梅毒螺旋体明胶凝集试验试剂盒。采用酶联免疫吸附试验检测血清中的抗-HIV,抗-HIV 阳性者为艾滋病病毒感染。艾滋病病毒抗体检测采用英科新创(厦门)科技有限公司生产的人类免疫缺陷病毒(HIV)1+2 型抗体酶联免疫吸附诊断试剂盒(双抗原夹心法)。阳性者送盐城市疾病预防控制中心,复检抗-HIV 阳性者为艾滋病病毒感染。以上产品均为合格产品,所用试剂均在有效期内。所有实验严格按照质控和操作说明来完成。

2 结 果

2.1 8 995 例婚检者 3 项血液传染性标志物检测结果 8 995

名自愿免费婚检者,男 4 493 例,女 4 502 例。HBsAg 阳性率 4. 52%(407/8 995),其中男性阳性率 5. 48%(246/4 493),女性阳性率 3. 58%(161/4 502),男性高于女性,差异有统计学意义($\chi^2=18. 77, P<0. 001$)。梅毒抗体 TP-ELISA 法阳性 43 例,经 TPPA 确诊阳性 42 例为梅毒感染,男、女性比为 1. 1:1。其中男 22 例,占 52. 38%;女 20 例,占 47. 62%,差异无统计学意义($P>0. 05$)。未检出抗-HIV 阳性。见表 1。

表 1 3 项血液传染性标志物检测结果				
性别	例数(n)	HBsAg 阳性	梅毒抗体阳性	抗-HIV 阳性
男性	4 493	246	22	0
女性	4 502	161	20	0
合计	8 995	407(4. 52%)	42(0. 47%)	0(0. 00%)

2.2 部分 HBsAg 阳性者 ALT 和两对半模式分析 407 例 HBsAg 阳性的婚检者中,ALT 增高 46 例,阳性率 11. 30%。HBsAg 阳性者中有 114 例自费加测了乙型肝炎两对半,两对半有 4 种组合模式,其中主要为 1 号和 2 号模式。1 号模式为 HBsAg、HBeAg 和抗-HBc 阳性,即通常所说的“大三阳”,共 39 例,占 34. 21%;2 号模式为 HBsAg、抗-HBe 和抗-HBc 阳性,即通常所说的“小三阳”,共 59 例,占 51. 75%。见表 2。

表 2 114 例 HBsAg 阳性者两对半模式分析						
模式 编号	HBV 血清标志物					检出 构成比 例数 (%)
	HBsAg	抗-HBs	HBeAg	抗-HBe	抗-HBc	
1	+	—	+	—	+	39 34. 21
2	+	—	—	+	+	59 51. 75
3	+	—	—	—	+	12 10. 53
4	+	—	+	—	—	4 3. 51

3 讨 论

乙型肝炎、梅毒、艾滋病等传染病是医学上公认的影响结婚和生育的疾病,婚前医学检查是对准备结婚的男女双方可能患影响结婚和生育的疾病进行的医学检查,它是提高出生人口素质的第一道防线^[2]。准备结婚的男女双方可以通过婚前医