

因素和局限性^[7]。

从表 1 可见,两种方法检测精液质量分析各指标的结果存在一定的差异,与 SRA 法检测结果比较,CASA 法检测的精子活动率低于 SRA 法,可能是因为 CASA 系统在计算精子活动率时,精子只有发生一定的移位,CASA 系统才认为是活动的精子,而对原地摆动的精子则判定为不活动的精子,与参考文献^[8]结论相符。而在精子活动力方面,CASA 法检测到 a 级活力精子比例增高,d 级活力精子比例偏低,与 SRA 法结果相反,这可能与精液分析仪的参数设置有关^[9]。精子浓度对 CASA 法测定结果有一定影响,CASA 系统检测(20~50)×10⁹/L 浓度范围内的精液标本的精子浓度结果较理想,但在高浓度(>50×10⁹/L)和低浓度(<20×10⁹/L)标本检测上有一定的局限性,对在静态图上精子浓度低(<20×10⁹/L)的标本,应多检查几个视野,而对精子浓度高(>50×10⁹/L)的标本,应稀释后再检测,WHO 推荐可使用 Dulbecco 磷酸盐缓冲液-葡萄糖-牛血清蛋白溶液稀释标本,此外生理盐水也是较好的稀释液^[10]。本研究结果还发现,CASA 只能粗略地识别畸形精子,而不能确定为哪一类畸形,对精液中非精子有形成分(如精原细胞、白细胞、非细胞颗粒等)较多的标本,CASA 法提供的信息含糊不清,这可能与精子计数时采用的灰度阈值需将阈值调整到可将精子全部采集而不采集卵磷脂小体、白细胞等非精子微小颗粒状态有关^[11],故此项也须人工分析后输入到细胞数一栏。

综上所述,CASA 系统虽具有高效客观、高精度的特点,但它的影响因素和局限性也不容忽视,不能盲目依赖其结果^[12],应在 CASA 分析方法上结合 SRA 法,提高结果的准确性,为临床提供准确的诊断依据。

• 经验交流 •

应用两种培养基检测食品中金黄色葡萄球菌的比较

张倩华

(那坡县疾病预防控制中心,广西百色 533900)

摘要:目的 比较 Baird-Parker 培养基(BPA)和科玛嘉金黄色葡萄球菌显色培养基(CASA)的应用效果,为食品中金黄色葡萄球菌计数选用培养基提供依据。**方法** 按照 GB 4789.10-2010《食品卫生微生物学检验》进行金黄色葡萄球菌菌落计数及确证试验,并对两种培养基的应用效果进行分析。**结果** BPA 平板和 CASA 平板均检出同一份样品中的金黄色葡萄球菌,菌落计数分别为 90 CFU/g 和 70 CFU/g,疑似菌落检出率分别为 13.33%和 8.33%,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** BPA 和 CASA 用于食品中金黄色葡萄球菌计数均具有良好的效果,CASA 快速、简便和准确,可以作为食品中金黄色葡萄球菌计数的良好培养基。

关键词:食品; 金黄色葡萄球菌; 培养基

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.044

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)21-2960-03

在食源性疾病中,金黄色葡萄球菌感染是一种常见的致病因子,近年来,全球由金黄色葡萄球菌引起的胃肠炎位居第四^[1]。金黄色葡萄球菌引起的食物中毒在美国占 33%,加拿大占 45%^[2],我国约占 25%^[3],广西食品中金黄色葡萄球菌检出率为 8.37%^[4]。因此,早期发现食品中金黄色葡萄球菌是防止食物中毒、保证人类健康的关键。国标 GB 4789.10-2010《食品卫生微生物学检验》规定采用 BPA 平板作为食品中金黄色葡萄球菌计数的培养基。金黄色葡萄球菌显色培养基是近年来开发出来的针对金黄色葡萄球菌自身代谢产生的特异性酶与相应显色底物反应显色的原理来检测的新型培养基^[5]。

参考文献

- [1] 李玉山,王全光,冯晓霞,等.河南省育龄男性精液质量影响因素分析[J].中国男科学杂志,2011,25(8):15-19.
- [2] 左阳花,冯播,薛惠英,等.淮安地区 4 598 例不育男性精液质量分析[J].检验医学与临床,2012,9(2):168-169.
- [3] 刘成玉,罗春丽.临床检验基础[M].5 版.北京:人民卫生出版社,2012:240.
- [4] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:46.
- [5] 熊立凡,刘成玉.临床检验基础[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2007:244.
- [6] 葛利丽.计算机辅助精子质量分析系统与人工显微镜方法比对分析[J].检验医学与临床,2011,8(2):228-229.
- [7] 庞鹏宇.人工和计算机辅助技术用于精液质量分析的效果比较[J].中国热带医学,2007,7(7):1236-1237.
- [8] 李文峰,王兴华.计算机辅助精液分析(CASA)的质量控制[J].当代医学,2010,16(27):28-29.
- [9] 杨淑君,蒋雅莉.计算机辅助精液分析在诊断男性不育中的运用[J].检验医学与临床,2009,6(8):616-617.
- [10] 叶明桃,曹云霞,赵济华,等.两种稀释液在精液常规分析中的应用比较[J].中国优生与遗传杂志,2008,16(2):110-111.
- [11] 李丽,曾金良,卢卫国.提高计算机辅助精液分析结果的准确性[J].检验医学与临床,2012,9(8):963-965.
- [12] 高彩凤,陈志云.计算机辅助精子分析与常规精液分析的比较研究[J].检验医学,2011,26(1):48-50.

(收稿日期:2014-01-08)

为了解 BPA 和显色培养基在食品中培养分离金黄色葡萄球菌的效果,作者于 2011 年 3 月至 2013 年 12 月,采用国标第二法,以 BPA 平板和科玛嘉金黄色葡萄球菌显色培养基(CASA)同时对 60 份样品进行检测,结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 样品来源 选择 2011 年 3 月至 2013 年 12 月那坡县超市、农贸市场、烧烤店、熟食店、糕点店等,合计采样 60 份。产品分别来自国内 16 家食品企业,共 12 个品牌的产品,全部样品包装完整且均在保质期内。

1.2 主要试剂 7.5%氯化钠肉汤、营养琼脂、BPA、CASA、

脑心浸出液肉汤(BHD)、免血浆等均购自青岛海博生物技术有限公司,所用的培养基和试剂按其使用说明书进行操作。

1.3 方法 按照 GB 4789.10-2010《食品卫生微生物学检验》中金黄色葡萄球菌的检验方法,采用第二法金黄色葡萄球菌 Baird-Parker 平板计数,同时用 CASA 平板进行对比计数,确认试验为血浆凝固酶试验。

1.3.1 金黄色葡萄球菌菌落计数 选择 3 个适宜连续稀释度的样品匀液,在进行 10 倍递增稀释时,每个稀释度分别吸取 1 mL 样品匀液以 0.3、0.3、0.4 mL 接种量分别加入 3 个 BPA 平板和 3 个 CASA 平板,然后用 L 棒涂布整个平板(不触及平板边缘)。置 37 ℃ 培养,BPA 平板和 CASA 平板培养时间分别为 45~48 h 和 18~24 h。金黄色葡萄球菌在 BPA 平板上,菌落直径为 2~3 mm,颜色呈灰色到黑色,边缘为淡灰色,周围为一混浊带,在其外层有一透明圈。CASA 上,金黄色葡萄球菌菌落颜色为紫红色、红色或粉红色;其他细菌为蓝色、无色或奶油色。选择有典型的金黄色葡萄球菌菌落的平板,且同一稀释度 3 个平板所有菌落数合计在 20~200 CFU 之间的平板,计数典型菌落。从典型菌落中任选 5 个菌落(小于 5 个全选),分别进行血浆凝固酶试验确认,阳性菌株送广西壮族自治区疾病预防控制中心微生物检验所复核确认。

1.3.2 质量控制 金黄色葡萄球菌标准质控菌株(ATCC25923)由广东环凯微生物科技有限公司提供。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.5 软件进行统计学处理,率的比较用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

BPA 平板和 CASA 平板均检出同一份样品中的金黄色葡萄球菌,菌落计数分别为 90 CFU/g 和 70 CFU/g,两者的检出率经过统计学处理,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.00, P > 0.05$)。BPA 平板和 CASA 平板上的疑似菌落分离率分别为 13.33% (8/60) 和 8.33% (5/60),差异无统计学意义($\chi^2 = 0.78, P > 0.05$),见表 1。

表 1 Baird-Parker 平板和 CASA 培养分离金黄色葡萄球菌结果比较(n)

样品类型	检测数	Baird-Parker 平板		CASA 平板	
		疑似菌落	确认阳性	疑似菌落	确认阳性
熟肉制品	12	2	0	1	0
熟制米面	12	2	0	1	0
豆制品	12	1	0	1	0
幼儿食品	12	0	0	0	0
饼及糕点	12	3	1	2	1
合计	60	8	1	5	1

3 讨论

金黄色葡萄球菌的传统培养基有血琼脂、甘露醇高盐平板、哥伦比亚多粘菌素奈啶酸平板等,均属于非选择性培养基或弱选择性培养基,杂菌干扰较多,灵敏性和特异性较低。

BPA 是针对金黄色葡萄球菌的生物学特性,经过优化而成的选择性培养基,其成分中,牛肉膏粉、酵母膏粉和胰蛋白胨提供碳氮源、维生素和生长因子;甘氨酸和丙酮酸钠能刺激葡萄球菌生长;氯化锂和亚硫酸钾抑制非葡萄球菌生长;凝固酶阳性的细菌能将碲离子还原成单质碲,从而呈黑色菌落;产生

卵磷脂酶的微生物能分解卵磷脂使菌落周围产生晕圈,该反应又称为卵黄反应或乳光反应。Baird-Parker 培养基通过观察细菌是否同时还还原碲离子和产生卵磷脂酶来筛查金黄色葡萄球菌,具有良好的鉴别性。但 Baird-Parker 成品培养基配制后需高压灭菌,增加了工作量,培养时间也较长,若 18~24 h 内观察结果,则菌落长得较小,周围晕圈不明显,不利于结果观察^[6]。在日常检测过程中,也经常会出现不典型的菌落,造成误判,导致漏检^[7]。CASA 中添加了抑制革兰阴性菌生长的抑制剂和针对金黄色葡萄球菌的选择性色素;杂菌生长明显减少,当金黄色葡萄球菌在 CASA 平板上生长时,产生不溶于水的紫红色物质,使菌落呈紫红色,便于识别^[8-9];Samra 等^[10]采用 CASA、胰蛋白酶大豆血琼脂和甘露醇高盐平板同时对 942 份临床样本进行对比检测,结果 CASA 的敏感性和特异性分别为 99% 和 100%,优于传统培养基。此外,成品 CASA 配制后加热即可倾注平板备用,不需高压,减少了操作工序。

本中心检测资料显示,两种培养基阳性结果一致,菌落计数也在同一稀释度并且计数相当;都观察到一些疑似菌落,可能是一些细菌与金黄色葡萄球菌具有相同特性而形成的假阳性菌落,如杰氏棒杆菌、藤黄微球菌、施氏葡萄球菌、模仿葡萄球菌、停乳链球菌化脓链球菌等在 CASA 平板上形成疑似菌落^[11]。因此,两种培养基筛查到疑似菌落后,都需进行确认试验。

综上所述,CASA 操作快速、简便、准确,已成为基层实验室筛查金黄色葡萄球菌的常用培养基。目前,国产金黄色葡萄球菌显色培养基已经上市,其性能达到国外同类产品的水平,某些指标甚至优于国外的产品,而且价格大大降低^[12]。由于国标金黄色葡萄球菌平板计数培养基过于单一,建议将金黄色葡萄球菌显色培养基纳入国标选用培养基之一。

参考文献

[1] Hyeon JY, Chung GT, Bing SH, et al. A foodborne outbreak of *Staphylococcus aureus* associated with fried chicken in Republic of Korea[J]. J Microbiol Biotechnol, 2013, 23(1): 85-87.

[2] Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for foodborne disease outbreaks--United States, 2008[J]. MMWR, 2011, 60(35): 1197-1202.

[3] 毛雪丹,胡俊峰,刘秀梅.我国细菌性食源性疾病疾病负担的初步研究[J].中国食品卫生杂志,2011,23(2):132-135.

[4] 吕素玲,诸葛石养,韦程媛,等.广西食品中金黄色葡萄球菌污染状况及耐药情况[J].应用预防医学,2012,18(2):111-112.

[5] 陈碧英,陆志成,马晨芸,等.应用产色培养基快速检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌[J].国际检验医学杂志,2012,33(14):1719-1720.

[6] 梁景涛,谢翊,林秋芬,等.3种食品中金黄色葡萄球菌检测方法的比较研究[J].中国卫生检验杂志,2010,20(4):790-791.

[7] 鞠慧萍,孙鹏翔,石建华.应用不同培养基检测金黄色葡萄球菌的结果比较[J].农产品加工,2013,325(8):19-20.

[8] Gaillot O, Wetsch M, Fortineau N, et al. Evaluation of CHROMagar *Staph. aureus*, a new chromogenic medium, for isolation and presumptive identification of *staphylococcus aureus* from human clinical specimens[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(4):1587-1591.

[9] Carricajo A, Treny A, Fonsale N, et al. Performance of the chromogenic medium CHROMagar *Staph aureus* and the Staphychrom coagulase test in the detection and identification of *Staphylococcus*

aureus in clinical specimens[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(7): 2581-2583.

[10] Samra Z, Ofir O, Bahar J. Optimal detection of Staphylococcus aureus from clinical specimens using a new chromogenic medium [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2004, 49(4): 243-247.

[11] 黄汝添, 吴清平, 张菊梅, 等. 金黄色葡萄球菌显色培养基研究进

展[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(6): 1148-1150.

[12] 黄汝添, 吴清平, 张菊梅, 等. 三种金黄色葡萄球菌显色培养基检测效果的比较[J]. 微生物学通报, 2009, 36(8): 1105-1109.

(收稿日期: 2014-01-08)

• 经验交流 •

HCV-Ab、HCV-cAg 和 HCV-RNA 联合检测的临床价值

顾娟, 孙明忠

(盐城市第三人民医院检验科, 江苏盐城 224001)

摘要:目的 评价丙型肝炎病毒抗体(HCV-Ab)、丙型肝炎病毒核心抗原(HCV-cAg)以及 HCV-RNA 联合检测在 HCV 诊断中的应用价值。方法 采用 ELISA 法对 2 023 例输血和手术前住院患者的血液标本进行 HCV-Ab 和 HCV-cAg 的测定, 并对阳性标本采用 RT-PCR 法进行 HCV-RNA 的测定。结果 2 023 例筛查标本中 HCV-Ab(+)55 例, 其中 HCV-cAg(+)30 例, HCV-RNA(+)40 例; 1 968 例 HCV-Ab(-)的样本中检出 HCV-cAg(+)9 例, 其中 HCV-RNA(+)7 例, HCV-cAg 与 HCV-RNA 符合率为 83.0%(39/47)。结论 HCV-Ab 检测结合 HCV-cAg 或者 HCV-RNA 检测可以有效缩短 HCV 的窗口期, 降低漏检率。对于条件受限的基层医院 HCV-cAg 可以作为 HCV-Ab 常规检测的补充指标, 提高检出率。

关键词:丙型肝炎病毒抗体; 丙型肝炎病毒核心抗原; 丙型肝炎 RNA

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.045

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2014)21-2962-02

丙型肝炎病毒(简称丙肝)是一种由丙型肝炎病毒(HCV)感染引起的病毒性肝炎, 是临床常见的慢性进行性肝病之一。HCV 感染呈世界性分布, 全球至少有 2 亿 HCV 感染者, 而我国 HCV 感染人数达 4 000 万之多^[1]。流行病学研究显示, 丙肝慢性化的概率为 50%~85%, 感染 HCV 20 年后, 一般 10%~15% 的患者会发展为肝硬化。由于 HCV 具有高度的变异性, 在同型各株之间, 甚至同一患者不同时期分离出来的克隆之间, 亦有差异。HCV 基因序列的不同, 导致编码产物的抗原型也不同, 所以目前尚无有效预防 HCV 感染的疫苗。我国因丙肝而死亡的人数也呈逐年增加的趋势, 其中 2009 年报告的发病人数是 2001 年的 10.56 倍^[2-3]。因此建立一种针对 HCV 的具有较高敏感性、特异性和稳定性的检测方法, 对 HCV 感染的早期诊断和治疗具有重要意义。目前临床以丙型肝炎病毒抗体(HCV-Ab)检测为主, 但 HCV-Ab 阳性并不能说明患者携带的 HCV 是否具有传染性。笔者采用反转录聚合酶链反应(RT-PCR)技术检测了 HCV-RNA, 采用 ELISA 法检测 HCV-Ab 和丙型肝炎病毒核心抗原(HCV-cAg), 并对结果进行了分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2 023 例血液标本均来自 2013 年 10 月至 2014 年 1 月本院的输血和手术前住院患者, 其中男 1 085 例, 年龄 13~75 岁, 平均 47.6 岁; 女 938 例, 年龄 15~68 岁, 平均 42.3 岁。

1.2 仪器与试剂 上海科华 ST-360 酶标仪; 上海科华 ST-96W 洗板机; Roche 公司 Light Cycler 荧光定量 PCR 仪。HCV-Ab 和 HCV-RNA 检测试剂盒均来自上海科华生物工程有限公司; HCV-cAg 检测试剂盒来自山东莱博生物科技有限公司。HCV 质控血清由卫生部临床检验中心提供。

1.3 方法 首先采用 ELISA 法对 2 023 例标本进行 HCV-cAg 和 HCV-Ab 检测, 然后采用 RT-PCR 法对 HCV-Ab 和 HCV-cAg 检测中所得到的阳性标本进行 HCV-RNA 检测。所有操作严格按照说明书进行。

2 结果

2 023 例标本中, 检出 HCV-Ab、HCV-cAg、HCV-RNA 均为阳性的标本 30 例, HCV-Ab、HCV-RNA 双阳性标本 10 例, HCV-Ab 单阳性标本 15 例, HCV-cAg、HCV-RNA 双阳性标本 7 例, HCV-cAg 单阳性标本 2 例, 其余 1 959 例标本 HCV-Ab 和 HCV-cAg 均为阴性, 因此未进行 HCV-RNA 检测。HCV-cAg 和 HCV-RNA 的符合率为 83.0%(39/47)。

3 讨论

丙肝隐蔽性很强, 早期症状不明显, 大多数丙肝患者最初并不知道自己患病, 而且丙肝容易发展恶化为肝硬化甚至肝癌。丙肝患者患病 5 年以内的治愈率可达 70%~90%, 患病 5~10 年的治愈率为 55%~75%, 患病 10 年以上的治愈率将会明显降低。患者尽早进行抗病毒治疗才有可能终止或延缓病情的发展, 因此 HCV 感染的早期诊断非常重要。

目前临床诊断 HCV 感染仍以检测 HCV-Ab 为主, 但一般情况下, HCV 感染后到 HCV-Ab 产生中间有 6~12 周甚至更长的时间, 也就是常说的“窗口期”。因此, 通过检测 HCV-Ab 早期诊断 HCV 感染比较困难^[2,4]。笔者对 2 023 例标本均进行了 HCV-Ab 和 HCV-cAg 检测, 结果检出 9 例 HCV-Ab 阴性而 HCV-cAg 阳性的标本, 经确认, 其中有 7 例为 HCV-RNA 阳性。处于 HCV 感染“窗口期”的患者可能因检测不出 HCV-Ab 而被漏诊。所以补充检测 HCV-RNA 或 HCV-cAg, 可以缩短“窗口期”, 有利于 HCV 感染的早期诊断。少数免疫功能低下或者异常的患者往往产生抗体少甚至不产生抗体, 这时仅仅检测 HCV-Ab 也容易造成漏诊。HCV-RNA 能够更敏感、更准确地反映病毒的复制水平。在 HCV 感染的第 1 周即可用 RT-PCR 法从血液中检出 HCV-RNA, 但是 RT-PCR 方法复杂, 环境条件要求较高, 不易被广泛推广和接受^[5]。据文献报道^[6-8], HCV-RNA 和 HCV-cAg 二者之间具有较好的一致性, 本研究检测所得 HCV-cAg 与 HCV-RNA 符合率为 83.0%(39/47), 也较好地验证了这一点。HCV-cAg 是在 HCV 感染者体内出现的早期血清标志物, 几乎与 HCV-RNA