

- with bone marrow mesenchymal stem cells and methylprednisolone in paraquat-induced acute lung injury [J]. BMC Emerg Med, 2013, 13(Suppl 1): S5.
- [5] 吴丽红, 李艳辉. 百草枯中毒发病机制的研究进展[J]. 中华急诊医学杂志, 2007, 16(5): 554-556.
- [6] 皮丽娟, 祝伟. 百草枯中毒致肺损伤的作用机制及治疗新进展[J]. 内科急危重症杂志, 2013, 19(4): 236-238.
- [7] 孙健波, 顾鹏毅, 李刚, 等. 孟鲁司特对百草枯所致大鼠肺损伤的治疗作用[J]. 中华急诊医学杂志, 2012, 21(11): 1198-1204.
- [8] 郭伟, 徐博, 姬新才, 等. 依达拉奉治疗百草枯中毒患者急性肺损伤的临床研究[J]. 陕西医学杂志, 2012, 41(8): 995-997.
- [9] 孔庆福, 张华, 王丽, 等. 急性百草枯中毒早期器官损害与
- 临床研究 •

- 细胞因子的变化[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2010, 17(3): 159-162.
- [10] 张燕, 许清玉, 刘向东, 等. 甲泼尼龙对百草枯中毒大鼠肾脏损伤的保护作用[J]. 中国医药导报, 2013, 10(1): 11-13.
- [11] 郭利涛, 王雪, 刘昱, 等. 急性百草枯中毒的血液灌流联合甲泼尼龙的治疗[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2011, 29(2): 136-137.
- [12] 鲁新. 连续性血液灌流透析及激素冲击治疗百草枯中毒伴多器官功能衰竭[J]. 中国危重病急救医学, 2008, 20(7): 448.

(收稿日期: 2016-09-05 修回日期: 2016-11-06)

Probact 细菌分离培养系统应用价值探讨

张燕萍, 王忠凯

(湖北省黄石市疾病预防控制中心检验科 435004)

摘要:目的 探讨 Probact 细菌分离培养系统对临床标本进行接种鉴定的应用价值。方法 随机抽取该院住院患者已明确微生物感染的临床标本 400 份, 其中血液标本、尿液标本、呼吸道标本、体液标本各 100 份, 同时分别采用传统手工划线法和 Probact 细菌分离培养系统进行接种培养, 分别在培养 16、20、24、36 h 评价菌落生长状况, 评价并比较两种接种培养方法的接种检出率、有效单个菌落数量、各时间段阳性比例等方面。结果 血液标本、尿液标本、体液标本采用两种方法进行细菌分离培养的 24 h 接种检出菌株数均差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 呼吸道标本采用 Probact 细菌分离培养系统进行分离接种的 24 h 检出菌株数显著高于传统手工法, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); Probact 细菌分离培养系统的 24 h 接种总检出率为 49.5%, 显著高于传统手工法 ($P < 0.05$)。血液标本、尿液标本、呼吸道标本、体液标本分别采用 Probact 细菌分离培养法进行分离接种的有效单个菌落数均高于传统手工法, 但无显著统计学差异 ($P > 0.05$)。在 400 份标本中, Probact 细菌分离培养法在 15 h 即占 24 h 分离得到的菌株数的 80.8%, 传统手工法在 15 h 分离得到的菌株数仅占 24 h 分离得到菌株数的 64.7%, Probact 细菌分离培养法分离得到的菌株比例显著高于传统手工法, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 Probact 细菌分离培养系统具有检出率高、培养时间短、有效单个菌落数效率高等优点, 明显优于传统手工划线法, 值得临床推广使用。

关键词: Probact 细菌分离培养系统; 应用价值; 自动化

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.07.042

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)07-0973-03

细菌分离培养是临床微生物实验室的基本工作, 对不同类型样本的细菌进行分离培养, 在临床疾病诊断、治疗中发挥重要作用, 且对临床抗菌药物的使用有指导作用^[1]。临床样本类型各异、储存方式不一, 自动化细菌分离培养较难实现。虽然国内外研究者进行了大量尝试, 但自动化细菌分离培养技术尚未成熟, 大部分临床实验室仍然采用手工接种法进行标本接种培养, 给实验室带来繁重的工作, 且威胁工作人员的人身安全, 越来越不能满足实验室的需求^[2]。随着国际上对标本自动化接种研究的深入, 出现了一些较实用的自动接种系统, 如 PREVI Isola、Inoqul 等^[3-4], 本研究以我国的 Probact 细菌分离培养系统为研究对象, 比较其与传统手工划线法在分离临床标本细菌中的应用价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本分类 随机数字表法抽取本中心 2015 年 11 月至 2016 年 8 月住院患者已明确微生物感染的临床标本 400 份, 其中血液标本、尿液标本、呼吸道标本、体液标本各 100 份。

1.2 测试仪器和耗材 采用杭州百思生物有限公司的血琼脂平板、含万古霉素的巧克力琼脂平板、中国兰琼脂平板, 1 μL 和 10 μL 接种环, 200 μL tip 枪头, 英国 Oxoid 公司的 Sputasol 痰消化液, 武汉迪艾斯科技有限公司生产的 Probact 细菌分离

培养装置以及配套培养装置等。

1.3 处理方法 (1)手工法: 血液和体液标本先经无菌操作从采集管转移到无菌管中, 采用 10 μL 接种环进行接种, 以三区划线法分别接种于血琼脂平板和中国兰琼脂平板。尿液标本采用 1 μL 接种环蘸取尿液后, 米字划线法垂直涂布于平板, 连续划线法密集涂布整个平板, 分别接种到血琼脂平板和中国兰琼脂平板。呼吸道标本先采用 Sputasol 痰消化液进行消化 10 min, 混匀后用一次性无菌棉签涂布于第一区, 用 10 μL 接种环进行三区划线, 分别接种于血琼脂平板、含万古霉素的巧克力琼脂平板、中国兰琼脂平板。均置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温孵育箱中, 分别于 16、20、24、36 h 观察菌落生长状况。(2)Probact 细菌分离培养法: Probact 细菌分离培养装置由自动化样本预处理振荡仪、分离培养装置等组成。①自动化样本预处理振荡仪, 将呼吸道标本用 Sputasol 痰消化液进行消化, 转移入专用样本采集杯, 置于样本预处理振荡仪内震荡 10 min, 是样本均质化。将体液标本加入营养肉汤液置于无菌采集管中震荡 5 min。处理完毕的标本将自动转移至分离培养装置。②自动分离培养装置, 仪器将采用 1 μL 接种环蘸取标本, 按照三区划线法或设定的方式进行分区划线接种, 其中, 血液、体液、尿液标本分别接种于血琼脂平板和中国兰琼脂平板, 呼吸道标本分别接种于血

琼脂平板、含万古霉素的巧克力琼脂平板、中国兰琼脂平板。设置相应的温度和气体环境培育 36 h, 分别于 16、20、24、36 h 观察菌落生长状况。

1.4 观察指标 对于采用 Probact 细菌分离培养法和传统手工分离法进行培养的四种标本, 分别在 16、20、24、36 h 观察菌落生长情况, 从接种检出率、有效单个菌落数量。

1.5 统计学处理 使用 SPSS19.0 统计软件对本研究数据进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以 t 检验进行组间比较, 计数资料采用 χ^2 检验, 当 $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种方法 24 h 接种检出率评价结果 血液标本、尿液标本、体液标本采用两种方法进行细菌分离培养的 24 h 接种检出菌株数差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 呼吸道标本采用 Probact 细菌分离培养系统进行分离接种的 24 h 检出菌株数显著高于传统手工法, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); Probact 细菌分离培养系统的 24h 接种总检出率为 49.5%, 显著高于传统手工法, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 两种方法 24 h 接种检出率评价结果						
分离方法	血液标本	尿液标本	呼吸道标本	体液标本	总数	检出率 (%)
Probact 法	93	45	31	29	198	49.5%
传统手工法	89	40	18	23	170	42.5%
χ^2	0.98	0.51	4.57	0.94		3.95
P	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05		<0.05

2.2 两种接种方法的有效单个菌落数量评价结果 血液标本、尿液标本、呼吸道标本、体液标本分别采用 Probact 细菌分离培养法进行分离接种的有效单个菌落数均高于传统手工法, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 两种分离接种培养方法 24 h 接种获得的单个有效菌落数差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 两种接种方法的有效单个菌落数量评价结果 [$n(\%)$]					
离方法	血液标本	尿液标本	呼吸道标本	体液标本	总数
Probact 法	91(97.8)	40(88.9)	24(77.4)	26(89.7)	181(91.4)
传统手工法	85(95.5)	32(80.0)	12(66.7)	18(78.3)	147(86.5)
χ^2	0.78	1.29	3.27	1.28	1.49
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

2.3 两种方法各时间段分离菌株阳性比例比较结果 在 400 份标本中, Probact 细菌分离培养法在 15、20、24、36 h 分离得到的菌株数分别为 160、181、198、231, 15 h 即出现相较于 24 h 分离得到菌株数的 80.0% 以上。传统手工法在 15、20、24、36 h 分离得到的菌株数分别为 110、147、170、182, 15 h 分离得到的菌株数仅占 24 h 分离得到菌株数的 64.7%。在 15 h 时, Probact 细菌分离培养法分离得到的菌株比例显著高于传统手工法, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 两种方法各时间段分离菌株阳性比例比较结果 [$n(\%)$]				
分离方法	15 h	20 h	24 h	36 h
Probact 法	160(80.8)	181(91.4)	198	231
传统手工法	110(64.7)	147(86.5)	170	182
χ^2	12.14	2.31	3.27	1.28
P	$P < 0.05$	$P > 0.05$		

3 讨 论

随着医学技术的进步, 临床微生物检验技术飞速发展, 各

种快速检验方法大大提高了临床微生物检验效率。循证医学的研究表明, 病原菌分离培养是诊断感染性疾病的金标准; 体外药敏实验也能减少抗菌素的滥用, 提升个体化治疗手段。传统的细菌分离方法主要是手工接种环分区划线法, 随着临床样本量的提高, 工作量大大增加, 样本处理时间延后, 已越来越不能满足临床实验室的需求^[5]。此方法尚存在一些弊端^[6-7]: 样本不能及时处理可能影响细菌的活性, 降低分离培养阳性率, 影响准确性; 此操作对个人水平要求较高, 培养周期和实践经验要求高; 此方法受操作者水平、习惯影响大, 同一样本结果不均一; 最重要的一点是, 此方法将操作者暴露于临床样本, 危害操作者的人身安全。因此, 探索新的细菌分离接种方法或仪器是一项亟待解决的问题。

目前国内外进行了很多自动化接种仪的研究, 但技术还不成熟, 仅少数自动化接种仪器投放市场, 国内很少有配备自动化接种仪的临床实验室。自动化接种仪强调自动化、标准化的操作, 致力于减少人力操作、缩短培养时间、建立标准化程序、提高检出率, 为临床快速诊断、减少抗菌药物滥用提供帮助^[8]。在已经推出的自动化接种仪中, 意大利产的 Robobact system 全自动分离培养系统、法国的 PREVI Isola 自动化接种仪及 EasySpiral Pro 全自动螺旋接种仪是最具代表性的, 这些仪器将自动加样、自动接种、自动孵育集成于一台仪器, 操作简洁方便, 仍然采用经典的划线接种方法, 可以用于呼吸道标本、尿液、粪便、血液标本的分离培养, 大大提高了临床微生物实验室的工作效率, 是向自动化细菌分离培养迈进的一大步^[9]。但有些系统尚存在一些缺陷, 如处理临床标本种类有限, 灭菌处理困难, 接种环不能与接种平板表面完美结合导致平板利用率不高, 常出现假阴性结果等^[10]。现有自动化接种技术处理标本有限的一个重要因素是缺乏有效的自动标本均质化预处理功能, 他也是影响细菌检验质量的一个重要步骤^[11]。传统的手工进行均质化处理存在主观性, 重复性不佳, 手工处理降低了仪器自动化程度, 增加标本处理时间, 也增加了标本对操作人员的危害。因此, 开发可以对临床标本进行自动均质化处理的细菌分离培养系统是下一步需要解决的问题。

我国对自动化细菌分离培养技术的研究时间较短, 由发明专利转化为产品的研究寥寥无几, 对此技术的研究还处于起步阶段。Probact 细菌分离培养系统经过不断的改良, 加入了自动化标本前处理, 优化细菌孵育设施, 提高自动化程度, 已经能够对大多数临床样本进行自动化处理, 给临床微生物实验室提供了极大便利^[12]。然而对于 Probact 自动化细菌分离培养系统的分离效果、检出率等还缺乏有效的数据。

本研究从 24 h 接种检出率、有效单个菌落数量、各时间段阳性比例等方面出发, 评价并比较 Probact 自动化细菌分离培养系统和传统手工法的应用价值, 结果显示, 血液标本、尿液标本、体液标本采用两种方法进行细菌分离培养的 24 h 接种检出菌株数均无显著差异, 而呼吸道标本采用 Probact 细菌分离培养系统进行分离接种的 24 h 检出菌株数显著高于传统手工法, Probact 细菌分离培养系统的 24 h 接种总检出率为 49.5%, 显著高于传统手工法, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。表明 Probact 细菌分离培养系统在 24 h 接种检出率中存在优势, 其中对于呼吸道标本的处理, 可能由于 Probact 细菌分离培养系统的自动均质化处理过程操作简便、重复性好。血液标本、尿液标本、呼吸道标本、体液标本分别采用 Probact 细菌分离培养法进行分离接种的有效单个菌落数均高于传统手工法, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 这也是现有自动化细菌分离培养系统有待提升的一个方面。在 400 份标本中,

Proback 细菌分离培养法在 15 h 即出现相较于 24 h 分离得到菌株数的 80.0% 以上,而传统手工法在 15 h 分离得到的菌株数仅占 24 h 分离得到菌株数的 64.7%,表明 Proback 细菌分离培养法检出细菌所需时间较短。因此,Proback 细菌分离培养系统具有自动化程度高、检出率高、耗时长、有效单个菌落比例高等优点,为临床工作提供极大便利。然而 Proback 细菌分离培养系统还存在一些缺点,如提高一次性处理标本的数量,提高实验室效率;优化划线接种方案;提高设备灭菌措施^[13]。因此,还有待于研发更先进的自动化细菌分离培养系统。

综上所述,Proback 细菌分离培养系统具有检出率高、培养时间短、有效单个菌落数效率高等优点,明显优于传统手工划线法,值得临床推广使用。

参考文献

[1] 王云峰. 自动化临床微生物实验室建设与感染性疾病临床实验室诊断的现状与展望[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(7): 592-594.

[2] 郝晓柯. 国内实验室自动化的现状与思考[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(1): 25-28.

[3] 王敬华, 葛平, 陈蓉, 等. 临床微生物实验室细菌分离接种技术的研究进展[J]. 检验医学, 2015, 30(7): 757-760.

[4] 伊惠霞, 孟存仁. PREVL Isola 全自动接种仪在临床微生物检验中的应用[J]. 新疆医科大学学报, 2014, 37(8): 1019-1022.

[5] 王春玉, 陈中举, 闫少珍, 等. PREVI Isola 自动接种仪的应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(20): 2748-2749.

• 临床研究 •

[6] 张乐玲, 马丽霞, 王素兰, 等. 脐血采分和长期冻存后细菌培养的研究[J]. 国际儿科学杂志, 2012, 39(2): 212-214.

[7] Ledebor NA, Dallas SD. The automated clinical microbiology laboratory: fact or fantasy? [J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(9): 3140-3146.

[8] Mischnik A, Mieth M, Busch CJ, et al. First evaluation of automated specimen inoculation for wound swab samples by use of the Previ Isola system compared to manual inoculation in a routine laboratory: finding a cost-effective and accurate approach[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(8): 2732-2736.

[9] 王贺, 张林涛, 程敬伟, 等. 不同细菌分离法的临床应用比较研究[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(4): 291-295.

[10] Bourbeau PP, Ledebor NA. Automation in clinical microbiology[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(16): 1658-1665.

[11] 丁宸, 邵婧, 徐萍萍. Proback system 自动化细菌分离培养系统的性能评价[J]. 临床与病理杂志, 2015, 35(12): 2200-2204.

[12] 陈知行, 陈慧莉, 康梅, 等. Robobact System 自动接种培养仪的临床应用评价[J]. 中国医疗设备, 2008, 23(1): 58-60.

[13] Froment P, Marchandin H, Vande Perre P, et al. Automated versus manual sample inoculations in routine clinical microbiology: a performance evaluation of the fully automated InoqulA instrument[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(3): 796-802.

(收稿日期: 2016-10-22 修回日期: 2016-12-23)

围绝经期妇女宫颈病变活检及 HPV-DNA 结果分析

其其格, 陈志英, 左桂珠, 杨安安[△]

(解放军第 253 医院检验病理科, 呼和浩特 010051)

摘要:目的 对 152 例围绝经期妇女宫颈病变活检及宫颈人乳头瘤病毒-脱氧核糖核酸(HPV-DNA)检测结果与 164 例对照组检测结果进行比较分析。**方法** 选取该院 2012—2016 年妇产科门诊就诊发现宫颈病变的患者, 年龄在 45~55 岁者 152 例作为围绝经期研究对象, 年龄在 25~35 岁者 164 例作为对照组, 阴道镜下活检做出病理诊断, 同时检测 HPV-DNA。**结果** 宫颈低级别病变 CIN1 的发生率对照组明显高于围绝经期组, 宫颈高级别病变 CIN2~3、宫颈癌的发生率围绝经期组明显高于对照组。两组 HPV 感染率均较高, 感染率比较无显著差异。**结论** 宫颈高级别病变在围绝经期妇女发生率较高, 应高度重视围绝经期妇女的身体健康。

关键词: 围绝经期; 宫颈活检; 人乳头瘤病毒; 宫颈上皮内瘤变

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 07. 043

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)07-0975-03

围绝经期是妇女自生育期的规律月经过渡到绝经的阶段, 包括从出现与卵巢功能下降有关的内分泌、生物学和临床特征起, 至末次月经后一年^[1]。我国妇女平均绝经年龄为 49.5 岁, 80% 在 44~54 岁, 从卵巢功能开始衰退至绝经后 1 年内的时期称围绝经期^[2]。本研究选取了 152 例围绝经期妇女(45~55 岁)宫颈病变活检诊断结果及宫颈人乳头瘤病毒-脱氧核糖核酸(HPV-DNA)检测结果与年龄 25~35 岁育龄妇女宫颈病变结果进行对比, 具体结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 统计本院 2012 年 6 月至 2016 年 8 月妇产科

门诊诊断为宫颈上皮内病变(包括宫颈上皮内瘤变、宫颈癌)的患者, 选取 152 例年龄在 45~55 岁(平均年龄 49.29 岁)者作为研究对象, 称为围绝经期组, 其中 36 例已绝经; 164 例年龄在 25~35 岁(平均年龄 31.09 岁)者作为对照组。两组患者既往有不规则阴道出血、阴道分泌物增多等临床表现或常规细胞学检查异常, 自愿检测 HPV-DNA、行阴道镜检查并取活检, 取样及活检前 72 h 禁性生活, 且已排除曾经施行宫颈手术者。

1.2 检测方法

1.2.1 阴道镜下活检 阴道镜下常规从 3、6、9、12 点及可疑部位如宫颈醋白上皮、点状血管、白斑、异型血管、碘阴性区等