

微生物实验室检验质量控制结果分析

杨 军(重庆市丰都县疾病预防控制中心 408200)

【摘要】 目的 通过参加室内质控考核提高微生物实验室的检验质量。**方法** 回顾性分析 2006 年参加重庆市疾病预防控制中心室内质控考核情况,对盲样菌种进行分离培养,并接种到多种平板上,同时做 15 种细菌生化鉴定生长,取 W0320a 号 TSI 斜面菌苔做沙门血清凝集试验,W0320b 号 TSI 斜面菌苔做致泻大肠埃希菌和志贺菌凝集试验。**结果** 质控考核为奇异变形杆菌、鸭沙门菌、致病大肠埃希菌、宋内氏志贺菌 4 种致病菌,检测结果上报市疾病预防控制中心微生物检验所,结果全部正确。**结论** 参加室内质控考核是对检验人员技能、实验室内质量控制情况的一种检验,不断提高检验人员检测水平,保证其测定数据达到确定检验质量标准。

【关键词】 实验室; 质量控制; 微生物

DIO:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.16.043

中图分类号:R446.5

文献标志码:B

文章编号:1672-9455(2010)16-1740-02

微生物质量控制分为实验室内和实验室间的质量控制。通过实验室内的质量控制可以保证微生物检验工作的准确性,通过实验室间的质量控制能够使各实验室之间达到一致的质量水平,及时发现实验室存在的不足之处,了解实验室检测能力。质量控制也是卫生行政部门制定疾病预防与控制策略及措施,为卫生监督提供实验室技术支持,为社会提供数据的公正、准确、科学的依据。所以每一年都要定期参加重庆市疾病预防控制中心室内质控考核,现将 2006 年质控考核情况及检验结果报道如下。

1 材料与与方法

1.1 材料 质控样品由市疾病预防控制中心微检所下发盲样菌种 W0320a、W0320b 干粉。

1.2 培养基及试剂 本次质控所用的培养基及 15 种细菌生化鉴定试剂由杭州天和微生物试剂有限公司提供,均在有效期内使用。诊断血清:沙门菌诊断血清 30 种,由宁波天润药业有限公司提供,批号 20060201,有效期 20080203。肠道致病性大肠埃希菌血清 15 种,由宁波天润药业有限公司提供,批号 20060901,有效期 20080318。志贺菌诊断血清 50 种,由宁波天润药业有限公司提供,批号 20050201,有效期 20080205。检验依据:《食品卫生微生物检验》GB/T4789.1-4789.31-2003。

1.3 检验方法 增菌:以无菌操作打开盲样,接种在无菌的营养肉汤管中,置 37℃ 培养 6 h 后转种到增菌液。置 37℃ 培养 18~24 h 再分离培养,观察各增菌液生长情况。W0320a、W0320b 分别在营养肉汤中呈混浊生长,在 SC、GN、肠道增菌肉汤中呈浑浊生长。转种:各取一环增菌液直接转入 SS、BS、麦康凯,HE、营养琼脂平板上,置 37℃ 培养 24 h。在 W0320a 号 BS、SS 平板上挑取待测菌落转种到三糖铁琼脂(TSI),在 W0320b 号 HE、SS 平板上挑取待测菌落转种到 TSI。W0320a、W0320b 号均同时做 15 种细菌生化鉴定,置 37℃ 培养 24 h 后观察结果。血清学鉴定:取 W0320a 号 TSI 斜面菌苔做沙门血清凝集试验;取 W0320b 号 TSI 斜面菌苔做致泻大肠埃希菌和志贺菌凝集试验。

2 结果

2.1 分离培养 W0320a 号在 BS 平板上形成黑色有金属光泽菌落形态,在 SS 平板上圆形、半透明、中心黑点;在营养琼脂平板上形成蔓延扩散生长形态。W0320b 号在麦康凯、SS 平板上形成半透明、凸起、边缘整齐、光滑湿润、中等大小的乳黄色菌落及扁平、粗糙的无色菌落形态;在 HE 平板上形成半透明、

中等大、蓝绿色菌落及黄色不透明菌落形态。分别镜检为革兰阴性杆菌。

2.2 生化检验

2.2.1 W0320a 在 TSI 生长情况 斜面为 K、底层为 A、硫化氢(+)、动力(+),并产气。作氧化酶试验为阴性。W0320a 在 15 种细菌生化鉴定生长情况:在甲基红(+),靛基质(-)、枸橼酸盐(+),赖氨酸(-)、鸟氨酸(+),山梨醇(-)、侧金盏花醇(-)、木胶糖(+)出现相同结果。出现不同结果为苯丙氨酸(+/-)、葡萄糖(+/-)、尿素(++++/-)。结果表明,W0320a 号质控样中含有 2 种致病菌,分别对其进行鉴定,在营养琼脂上呈蔓延扩散生长,迅速分解尿素,在 TSI 及 15 种细菌生化鉴定生长情况结果来看为奇异变形杆菌和沙门菌。

2.2.2 W0320b 在 TSI 也出现 2 种生长情况 斜面(A/K)、底层(A/A)、硫化氢(-/-)、动力(+/-)、产气(+/-)。W0320b 号在 15 种细菌生化鉴定上除山梨醇(+/-)、木胶糖(+/-)出现不同结果外,其余结果均与 W0320a 结果相同。结果表明,W0320b 号质控样中也同样含有 2 种致病菌,从 TSI 生长及生化情况来看,初步定为大肠埃希菌属和志贺菌属。

2.2.3 W0320a 号 TSI 斜面菌苔做沙门血清凝集试验的结果 O 抗原鉴定,A-F 多价 O 血清(+++),O10 因子血清(+++)。H 抗原第 I 相 e、h(+++),第 II 相 1、6(++++),生理盐水对照(-)。参照沙门菌抗原表判为鸭沙门菌。

2.2.4 (1)W0320b 号 TSI 斜面菌苔做致泻大肠埃希菌结果 本菌与大肠杆菌多价血清凝集并与所含单价 O111:K58(B4)凝集。生理盐水对照(-)做定量凝集试验:O111:K58 效价 1:1280(原效价为 1:2560)凝集。生理盐水对照(-)。本菌与大肠埃希菌多价血清凝集并与所含单价 O111:K58(B4)凝集。生理盐水对照(-)作定量凝集试验:O111:K58 效价 1:1280(原效价为 1:2560)凝集。生理盐水对照(-)。根据血清学与大肠埃希菌生化反应,确定为致病大肠埃希菌(EPEC)[O111:K58(B4)]。(2)W0320b 号 TSI 斜面菌苔做志贺菌凝集试验结果如下:志贺菌多价(+++),D 群 I 相(+++),生理盐水对照(-)。根据血清学与志贺菌生化反应,确定为宋内氏志贺菌。将质控考核盲样检测结果上报市疾病预防控制中心微检所,结果全部正确。

3 讨论

在鉴定细菌的过程中,要善于抓住一些特殊的生化反应进行有步骤的逐一排除其他相似菌,这样在分析多株细菌时,可

使分析鉴定清晰明朗。特别是一些菌单独特有的生化反应,更有鉴定价值。对于不典型的生化反应,要反复试验^[1],随时观察记录。生化反应要仔细观察,该设对照一定要设对照,并随时观察记录,要根据细菌在整个培养鉴定过程中的全貌及血清学鉴定,最终确定鉴定结果。

室内质控考核是对检验人员技能、实验室内质量控制情况的一种检验,是能力验证,能最有效地消除偏差,不断提高检验人员检测水平,保证其测定数据达到确定检验质量标准^[2]。室内质控考核也是提高实验室检验人员对突发性传染病及食物

中毒的病原诊断及应急处理能力。

参考文献

- [1] 刘恭植. 微生物学和微生物学检验[M]. 北京:人民卫生出版社,1987.
- [2] 王宏明. 微生物检验技术操作规程与质量控制及检测数据分析处理实用手册[M]. 北京:卫生科技出版社,2007.

(收稿日期:2010-02-28)

人乳头瘤病毒检测在宫颈疾病中的诊断价值

蔡兰兰,李振雪,樊冰(广东省深圳市光明新区公明人民医院检验科 518106)

【摘要】目的 探讨人乳头瘤病毒(HPV)检测在宫颈疾病中的诊断意义。**方法** 采用荧光定量 PCR 法对妇科门诊 598 例患者进行 13 种高危型 HPV 检测,并进行阴道镜、宫颈组织病理活检等检测,分析宫颈疾病的类型、HPV 的感染率及两者的关系。**结果** 598 例患者中 HPV DNA 阳性 236 例(39.5%),其中通过病理活检证实为慢性炎症 88 例,宫颈癌及癌前病变 148 例。**结论** 高危型 HPV 是诱发宫颈癌的重要因素,根据 HPV 的检测结果进行病理组织学检查,能够提高宫颈癌病变的早期检出率。

【关键词】 人乳头瘤病毒; 宫颈癌; 癌前病变

DIO:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.16.044

中图分类号:R737.33;R730.43

文献标志码:B

文章编号:1672-9455(2010)16-1741-02

宫颈癌是全球妇女最常见的恶性肿瘤之一,发病率在女性恶性肿瘤中居第 2 位,仅次于乳腺癌^[1],且发病率逐年上升,预防和控制宫颈癌的关键是早期诊断和治疗癌前病变。现在已经证明,高危型人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染是宫颈癌及癌前病变发病的主要危险因素,分子生物学研究结果显示,90%以上的宫颈癌伴有 HPV 感染,主要为 HPV16、18 亚型^[2],为了解高危型 HPV 在宫颈癌及癌前病变诊断中的意义,作者对 598 例患者的宫颈分泌物作了 13 种高危型 HPV 检测,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 1~12 月来本院宫颈专科门诊就诊的妇女,有临床指征做阴道镜活检的患者 598 例,年龄 19~55 岁,平均 38 岁。

1.2 方法 使用窥器暴露宫颈,用专用的 HPV 采样刷置入宫颈口内,逆时针方向转 3 圈,并停留 10 s。把采样刷放入专用的标本储存瓶里,折断采样刷多余的部分,将采样刷留在标本储存瓶里,以保留足够量的标本,盖好盖子,做好标记送检。对 HPV 阳性患者全部进行阴道镜检查。

1.3 HPV 基因分型 检测试剂盒由中山大学达安基因股份有限公司提供,应用荧光定量技术检测 HPV DNA。设阴性对照,临界值对照、强阳性模板经稀释成 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 ,用于做标准曲线,检测结果大于或等于 500 copy 者为阳性。

2 结果

2.1 HPV 检测 对 598 例患者进行 13 种高危型 HPV 检测,阳性 236 例,阳性率 39.5%,阴性 362 例,阴性率 60.5%。

2.2 病理活检 对 236 例 HPV 阳性患者进行病理活检,其中慢性炎症 88 例,占检测人数的 37.3%,宫颈癌及癌前病变为 148 例,占检测人数的 62.7%,其中宫颈上皮内瘤变(CIN) I 118 例, CIN II 20 例, CIN III 8 例,鳞癌 2 例。

3 讨论

HPV 是一种无包膜的双链闭环小分子 DNA 病毒,属于多孔病毒科乳头瘤病毒属,其感染具有种属特异性,主要感染人的皮肤或黏膜上皮细胞,引发感染部位的良、恶性病变。DNA 序列分析发现 HPV 至少有 200 多个基因型。迄今已确定基因组全序列的 HPV 基因型有 85 种。目前已知 HPV6、11、42、43、44 等属于低危型,一般不诱发癌变,主要引起肛门皮肤及男性外生殖器、女性大小阴唇、尿道口、阴道下段外生性疣类病变和低度宫颈上皮内瘤变,而 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 属于高危型,高危型 HPV 感染是宫颈癌和癌前病变宫颈上皮内瘤的主要致病因子^[3],是宫颈癌的主要病因,若感染持续存在并增生,临床上分为潜伏感染期、亚临床感染期、临床症状期和 HPV 相关的肿瘤期,经历宫颈癌前病变,最终导致宫颈癌。与子宫颈癌及癌前病变的发生相关。宫颈癌中,HPV16 型感染率达到 50%~60%, HPV18 型在宫颈鳞癌中感染率达 13.7%,在宫颈腺癌和腺鳞癌中达 36%^[4-5]。从本研究可以看出,在 236 例高危型 HPV 阳性患者中,宫颈癌及癌前病变 148 例,占检测人数的 62.7%,进一步证明了高危型 HPV 对宫颈上皮感染是宫颈癌及癌前病变的一个危险因素。因此,可以通过检测高危型 HPV 把潜在患宫颈癌风险的妇女检测出来,提高诊断的可信度,减低漏检风险。在临床上细胞学检测加上 HPV 检测,阴道镜活检是最好的检查方法。

目前使用最多的是美国 Digene 公司的 2 代杂交捕获分析(hybrid capture 2, HC2),也是美国食品和药品管理局(FDA)惟一批准用于临床的非放射性 HPV DNA 检测技术,具有较高的敏感度和特异度,但此检测试剂昂贵,完全依赖进口,在经济欠发达地区很难推广。实时荧光定量 PCR 检测(FQ-PCR)是最敏感的核酸扩增技术,可在较短时间内获得非常准确的结