

不详。本院为进一步诊治拟“血小板减少待查”收入院。血常规检查:白细胞 $4.08 \times 10^9/L$ (校正后);红细胞 $4.68 \times 10^{12}/L$;血红蛋白 $88 g/L$,血小板计数 $19 \times 10^9/L$ 。外周血涂片检查:淋巴细胞 0.12,异常淋巴细胞 0.06,杆状 0.44,分叶 0.34,单核 0.04,有核红细胞 24 个/100 WBC。细胞形态:中性杆状及分叶可见中毒颗粒及空泡,可见细胞吞噬真菌病原体,病原体在细胞内外均有,多在细胞内,被吞噬于细胞内的菌体相对较小,形态较规则,游离于吞噬细胞外的菌体大小不一,形态各异;有圆形、椭圆形、腊肠形且具有横隔,其内有瑞氏染色较深的物质约占菌体的 1/3(图 1),为马尔尼菲青霉菌所特有^[2]。高度怀疑马尔尼菲青霉菌感染,与临床医师沟通,建议做进一步检查,微生物学培养血液标本检出马尔尼菲青霉菌,后经免疫学证实人类免疫缺陷病毒抗体呈阳性。

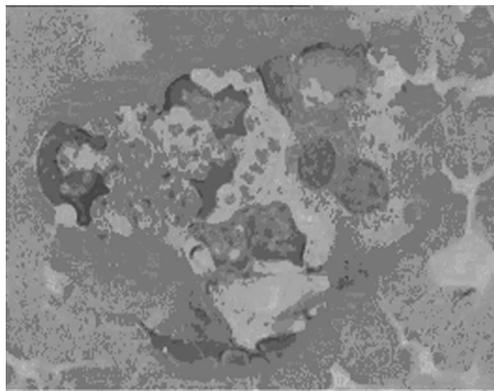


图 1 患者马尔尼菲青霉菌的细胞形态(瑞氏染色 $\times 1000$)

2 讨论

由于免疫缺陷人群的增加以及抗菌药物的广泛使用,我国

艾滋病患者人数不断增加,马尔尼菲青霉菌感染人类的概率随之增加。马尔尼菲青霉菌是唯一的温度依赖双相性青霉菌,并具有深部致病力,是重要的人类致病菌,从临床标本中分离出马尔尼菲青霉菌是确诊本病的重要依据^[3],但由于马尔尼菲青霉菌其临床表现复杂且无特异性,容易漏诊或误诊。它是可以治愈,但如果延误诊断和治疗,病死率极高。

因此,早期诊断,及时药物治疗是关键^[4]。血液涂片与骨髓检查比常规真菌双相培养法可提前 7~10 d^[5],为减少误诊及漏诊,如三者结合可以为早期诊断、治疗提供依据,降低病死率。

参考文献

- [1] 刘博,付萍. 马尔尼菲青霉菌病的研究进展[J]. 皮肤病与性病,2010,32(3):26-27.
- [2] 黄长武,李兴禄,黄艺,等. 马尔尼菲青霉菌的鉴定[J]. 微生物学杂志,2006,26(1):61-65.
- [3] 王慧珠,田敬华,李敏,等. HIV 阳性患者血培养法分离马尔尼菲青霉菌[J]. 中国皮肤性病学杂志,2011,25(6):478-479.
- [4] 侯德凤. 艾滋病合并马尔尼菲青霉菌病感染率和实验室检查及药敏分析[J]. 华西医学,2010,25(5):919-921.
- [5] 卢业成,郑师陵,陈万山,等. 骨髓检查在艾滋病合并播散性马尔尼菲青霉菌感染早期诊断中的应用[J]. 中华临床感染病杂志,2008,1(2):69-72.

(收稿日期:2013-07-22 修回日期:2013-10-03)

微生物实验室内部质量控制分析

吴正铜(广西壮族自治区环江毛南族自治县疾病预防控制中心 547100)

【关键词】 微生物实验室; 内部; 质量控制

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.02.078 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2014)02-0287-02

随着经济全球化和国际间的交流合作越来越密切,国内外的各种进出口商检、检疫以及医疗机构和疾病预防控制系统等对样品微生物的检测越来越多。在检验过程中,常常用到定性实验和手工操作,这些都离不开人为的主观判断,由于个体差异可能会导致检验结果不一致^[1]。因而对微生物实验室进行质量控制,确保检验结果的准确性是非常重要的。质量控制包括室内质量控制和室间质量控制,其中室内质量控制是质量保证的核心和基础,也是做好室间质控的基础和前提,它贯穿于微生物学检验质量控制技术的各个方面。作者根据国内一些资料和结合自身的工作经验,总结出要做好微生物实验室内部质量控制,主要从以下 9 个方面着手。

1 实验室技术人员

1.1 从事微生物检验的技术人员必须经过系统、全面的基础培训教育,包括微生物学、基础微生物学、临床医学等知识的学习,以及一定的专业化技能培训,经考核合格后持证上岗。

1.2 实验室人员应定期或不定期到上级技术指导单位进行业

务培训或进修学习,更新和掌握微生物新知识和新技术,随时了解微生物实验室的质量控制。

1.3 实验室技术人员的有关学习、培训经历及个人的技术业绩材料要整理完善和归档保存。

2 工作手册

2.1 实验室技术负责人要组织专业人员根据所在实验室的条件需要而编写标准的工作手册,并定期进行修改、完善和补充,使之成为全体人员需要共同遵守的标准操作程序,不能因为人员的变动而随意更改。工作手册应该包含以下内容:实验室可开展的检验项目;各检验项目具体的操作规程;仪器设备的操作步骤;标本采集和处理指南;培养基和试剂的配制方法及保存措施;菌(毒)种管理;环境设施的监控和要求;废弃物的处理;实验室的安全措施等^[2]。

2.2 实验室还应同时配备一些参考书,如关于部分少见微生物的检验参考书,以指导某些少见菌种的分离鉴定。

2.3 专业杂志是了解新的检验方法的主要来源,实验室应订

阅一些权威的、知名度很高的专业杂志,以便快速了解、掌握新检验方法的有关信息。

3 标准菌株

3.1 标准菌株是指具备典型的、稳定的生理生化特征,并被国际社会所认可的菌株。它来自权威机构,如我国的卫生和计划生育委员会(原卫生部)药品生物制品鉴定所菌种保藏中心,美国菌种保藏中心等。各检验中心下发的质控菌株可作为平时试验用的质控菌株。

3.2 实验室应保存其试验所需要的标准菌毒株,并设有专人管理,在文件中明确其职责,对菌毒株的保存地点或设施应有严格的措施、要求,使其他人员无法获得。保存方法分为一般保存法和冷冻保存法。一般保存法是将细菌接种于半固体培养基中,35℃培养 18~24 h 后封盖 1 cm 厚的无菌液状石蜡置 4℃保存,此方法简单、方便,不需要贵重仪器,故在大多数实验室广泛使用,是最简单的保存法。冷冻干燥保存法的优点主要是不改变菌种的性状以及保存时间长,缺点是要有专门的冷冻干燥设备,但此法是最可靠的菌种保存方法。

4 培养基

4.1 配制好的培养基应标明名称、浓度、pH 值、配制日期、失效日期、配制者姓名等信息,同时应做全面检定和性能试验,配制完成的培养基 pH 应与规定的 pH 相差±0.2 之内。

4.2 培养基质量好坏通常以目标细菌能否在培养基中生长或能否形成典型菌落而其他细菌受抑制不能生长或生长很弱来判断。购买培养基时,应该选择著名的生物培养基生产公司生产的产品。

5 试剂、染色剂和诊断血清

5.1 试剂和染色剂必须注明购入日期,按试剂要求的条件贮存并在有效期内使用。使用配制时要做好记录,对稳定性较差的试剂,每次实验时必须进行阳性和阴性对照实验。

5.2 诊断血清的来源必须可靠,在购进各种诊断血清时,在检查其基本特性的同时,均应详细记录诊断血清名称、包装规格及数量、生产厂家、联系电话、厂址、邮编、批号、失效期、购买日期、验收者姓名等。在使用时应观察其是否澄清透明,如果有任何混浊和颜色改变,都不能再使用。

6 仪器设备

6.1 大容量高压灭菌器必须定期(一般为 3 年)邀请特种设备检验所对其性能进行全面检测,并取得检测合格证书。新购买的灭菌器必须进行灭菌性能检测,检测合格后方可投入使用。要定期用生物指示剂,化学指示剂或留点温度计对灭菌器的灭菌效果进行监测,发现异常问题立刻停止工作,查找原因并予以纠正。

6.2 二氧化碳培养箱要定期检查箱内 CO₂ 的浓度,可用 CO₂ 检测仪或血气分析仪测定。也可用淋病奈瑟菌或脑膜炎奈瑟菌等 CO₂ 依赖细菌进行生长试验。

6.3 生物安全柜必须定期请专业技术人员对仪器作一个全面检查。紫外线消毒效果监测是每个季度进行检测一次。

6.4 定期对微生物鉴定仪的探测部位进行清洁,并用标准模板进行校正。及时更新微生物鉴定系统操作软件,对每批号的鉴定卡板条用标准菌株进行一次测定,并核对每个反应结果和药物敏感结果与标准的一致性。

7 环境洁净度

7.1 微生物实验室常常需要用到洁净室和超净工作台,它们的洁净度对产品的微生物检验结果影响很大,所以应定期监测其消毒灭菌效果以保证其符合样品检测所需的环境要求,当洁净度不符合要求时,应立即采取有效措施进行彻底消毒,直至符合要求为止。

7.2 无菌室和超净工作台应有日常维护及监控的记录。日常维护包括紫外线灯擦拭,空气消毒及全面的清洁卫生,监控紫外线强度和空气沉降菌菌落总数,空气中紫外线灯以 30 W 功率计,紫外线灯下方垂直 1.0 m 处的 253.7 nm 紫外线辐射强度应大于或等于 70 uw/cm²[3];空气沉降菌菌落总数以直径为 9 cm 平板暴露 0.5 h 计,百级环境沉降菌菌落应达到每个器皿的沉降菌小于或等于 1 cfu^[4]。

8 检测方法

实验室所使用的检验方法必须是经确认的现行有效版本。在日常工作中,应采用已知的标准菌株或阳性标本进行适时或定期监控,可以帮助发现了解检测过程客观存在的变异、程度和原因。

9 标本检验过程的控制

9.1 标本的采集和运送标本的采集是否符合要求,将直接影响检验质量。临床标本采集应在病程急性期,使用抗菌药物前,食物中毒标本采集应具有典型性和代表性,采集后用无菌容器送检,必要时需冷藏、保温或厌氧处理。

9.2 标本培养前的涂片是非常必要和重要的,一方面可确定标本是否合格,另一方面可直接发现病原体,尤其是形态特征典型者。

9.3 血清学鉴定单凭血清学凝集试验阳性不能判断结果,因为有可能存在交叉抗原或粗糙型菌落造成的假凝集,因此挑出的典型菌落要做生化反应和血清学凝集反应,两者都符合时才能确认报告。

综上所述,影响微生物实验室检测质量的内部因素很多,分布在整个检测过程,为了避免实验过程中人为、仪器、试剂等因素对检测结果的影响,保证结果的准确、可靠和有可比性,必须不折不扣地全面加强内部质量控制,才能保证得到准确、可靠、满意的检测结果。

参考文献

- [1] 张卓然. 临床微生物学和微生物检验[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:528.
- [2] 黄薇,蔡炯,黄剑屏,等. 疾病预防控制系统微生物实验室质量控制与评价[J]. 中国卫生检验杂志,2007,17(1):134-135.
- [3] 中国国家标准化管理委员会. GB/T27405-2008 实验室质量控制控制规范-食品微生物检测[S]. 北京:中国标准出版社,2008:21.
- [4] 中国国家标准化管理委员会. GB/T16294-2010 医药工业洁净室(区)沉降菌的测试方法[S]. 北京:中国标准出版社,2011:13-17.