

PLT、MPV、PCT、PDW、血小板平均浓度(MPC)等,有学者认为MPV、PDW检测具有重要临床意义,特别是MPV可作为衡量血小板生成的参数,与PLT具有同等重要的意义^[6-7]。

妊娠晚期孕妇体内纤溶系统常发生改变,特别是妊高征患者常存在明显高凝状态,且有血栓形成倾向^[8-10]。本研究结果显示,中、重度妊高征患者分娩前MPV及PDW高于轻度妊高征患者和健康孕妇,PLT低于轻度妊高征患者和健康孕妇,提示中、重度妊高征患者可能或已经发生凝血功能障碍。MPV反映血小板活化水平,与血小板功能关系密切。PDW表示血小板体积大小离散度,其水平升高表明血小板大小悬殊,也表明存在不同程度的血小板消耗。有血栓倾向或血栓性疾病时,血小板消耗更多,导致血小板数量降低。PCT水平受血小板数目和体积影响,其临床意义类似血细胞比容(HCT)在贫血诊断中的价值。本研究结果显示PCT对妊高征的诊断意义不大,可能与中、重度妊高征患者血小板数目减少,而体积增大有关。

本文结果还显示,中、重度妊高征患者分娩前、后PLT及血小板参数(PCT除外)存在统计学差异($P < 0.05$),而轻度妊高征患者及健康孕妇分娩前、后各指标差异无统计学意义($P > 0.05$),表明外周血PLT及血小板参数(MPV、PDW)可作为判断妊高征病情及转归的辅助检测指标。

参考文献

[1] 何仲. 妇产科护理学[M]. 北京:北京大学医学出版社,2005:71-72.

- [2] 郑修霞. 妇产科护理学[M]. 4版. 北京:人民卫生出版社,2006:101.
- [3] 曹爱娥,熊安荣,胡晓英,等. 妊娠期高血压疾病患者部分血小板参数变化[J]. 中国妇幼保健,2008,23(24):3400-3401.
- [4] 乐杰. 妇产科学[M]. 7版. 北京:人民卫生出版社,2008:150-154.
- [5] 张文艳,包广杰. EDTA-K₂抗凝致血小板减少原因分析[J]. 郑州大学学报:医学版,2011,46(2):296-297.
- [6] Hollander MH, Paarlberg KM, Huisjes AJ. Gestational diabetes; a review of the current literature and guidelines[J]. Obstet Gynecol Surv, 2007, 62(2):125-136.
- [7] 赫玉华. 血液病血小板参数检测的临床意义[J]. 航空航天医药, 2010, 21(5):759-760.
- [8] 孙进学,李丽,丁良臣. 妊娠高血压综合征患者凝血、抗凝及纤溶系统的变化及其临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2009,10(5):490-491.
- [9] 王李利,张晓晓. 妊高征患者血管内皮产物变化的临床意义[J]. 中国误诊学杂志,2008,8(25):6114-6115.
- [10] 孙艳霞. 妊高征与晚期孕妇三项凝血指标变化的意义[J]. 公共卫生与预防医学,2007,18(4):118.

(收稿日期:2011-10-09)

微波灭菌法在固体琼脂培养基快速制备中的应用

邓毛子

(咸宁学院基础医学院医学微生物学教研室,湖北咸宁 437100)

摘要:目的 探讨微波灭菌法在固体琼脂培养基快速制备中的应用。方法 利用普通家用微波炉对含枯草杆菌黑色变种菌液的固体琼脂培养基进行不同条件灭菌处理后制备平板,37℃条件下连续7d,观察有无细菌生长以检测灭菌效果。以经微波及高压蒸汽灭菌后的培养基制备平板,接种大肠埃希菌、变形杆菌、金黄色葡萄球菌,37℃培养24h后观察菌落特征,并进行细菌染色检查,检测经微波灭菌的培养基是否影响待检细菌的生长及形态特征。结果 固体琼脂培养基融化时间及达到灭菌效果所需时间随微波火力的增加而缩短,随培养基量的增加而延长。微波灭菌不影响培养基对待检细菌的培养效果。结论 用微波炉对固体琼脂培养基进行灭菌,可以缩短灭菌时间,且不影响培养基对待检测菌的培养效果,是可用于制备少量固体琼脂培养基的快速、节能的方法。

关键词:培养基; 细菌学技术; 微波灭菌法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.06.056

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)06-0753-02

高压蒸汽灭菌法是普通固体琼脂培养基灭菌的常规方法,该方法最为有效,但耗时较长,一般至少需80min,不适用于实验室应急用品的快速制备。微波加热速度快,灭菌效率高,普遍应用于日常食品加热和灭菌。王娅等^[1]对家用微波炉用于培养基灭菌进行了一定程度的探讨,但没有提供完整、具体的制备方法。笔者以普通家用微波炉对普通固体琼脂培养基进行灭菌处理,发现了一套效果较为满意的制备方法。现将试验过程总结如下。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 微波炉(格兰仕,P7021TP-6),电热恒温培养箱(深圳三诺,DHP-9052),高压蒸汽灭菌器(上海三申,YM75AD),离心机(上海安亭科学仪器厂,TDL80-2B)。枯草杆菌黑色变种、大肠埃希菌、变形杆菌、金黄色葡萄球菌标准菌

株(华中科技大学同济医学院提供,由本室保存并进行菌种鉴定);营养琼脂(北京奥博星生物技术有限责任公司)。

1.2 方 法

1.2.1 枯草杆菌黑色变种菌液的制备 制备浓度达 5×10^{10} cfu/mL的枯草杆菌黑色变种菌液,4℃保存备用。具体制备过程参照《消毒技术规范》^[2]。

1.2.2 不同量培养基在微波炉不同火力条件下的融化时间确定及灭菌效果观察 配置浓度为45g/L的固体琼脂培养基,每瓶200mL,加入枯草杆菌黑色变种菌液1mL,使其含菌量达 $1 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8$ cfu/mL,盛于300mL锥形瓶中。将不同量的配制好的培养基分批置于微波炉中,分别在高、中、低火条件下加热,观察并记录融化时间,待完全融化后取出,倾注平板。将制好的平板置于37℃条件下进行恒温培养,连续7d观察

培养结果。

1.2.3 培养基制备 (1)经微波灭菌制备的固体琼脂培养基:按上述方法配制含一定量枯草杆菌黑色变种的固体琼脂培养基,将不同量的配制好的培养基分批置于微波炉中,在不同火力条件下加热,一定时间后取出,倾注平板,冷却后保存备用。(2)经高压蒸汽灭菌制备的固体琼脂培养基:配制浓度为 45 g/L 的固体琼脂培养基,经高压蒸汽灭菌后倾注平板^[3]。

1.2.4 微生物培养检测 37℃条件下对经上述 2 种方法制备的培养基进行恒温培养,连续 7 d 观察培养结果。

1.2.5 培养基质量检测 (1)将大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌及变形杆菌分别接种于经 2 种方法处理且达到灭菌效果的固体琼脂平板,37℃培养 24 h 后观察细菌生长状况。(2)革兰染色液、鞭毛染色液的制备:参照《病原生物学实验教程》^[4]。(3)细菌染色检查:挑取固体琼脂平板上生长的单个菌落分别进行革兰染色及鞭毛染色检查,观察细菌形态特征。

2 结 果

2.1 不同量固体琼脂培养基在不同微波火力下的熔化时间及灭菌效果 不同量固体琼脂培养基在不同微波火力下的熔化时间及灭菌效果见表 1。

表 1 不同量培养基在不同微波火力下的熔化时间及其灭菌效果

| 微波火力 | 瓶数* (n) | 熔化时间(min) | 37℃恒温培养 1 d# |
|------|---------|-----------|--------------|
| 低火 | 1 | 25 | 有菌 |
| | 2 | 60 | 有菌 |
| 中火 | 1 | 4 | 有菌 |
| | 2 | 8 | 有菌 |
| | 3 | 12 | 有菌 |
| | 4 | 18 | 有菌 |
| | 5 | 22 | 有菌 |
| 高火 | 6 | 27 | 有菌 |
| | 7 | 31 | 有菌 |
| | 1 | 3 | 有菌 |
| | 2 | 4 | 有菌 |
| | 3 | 8 | 有菌 |
| | 4 | 13 | 有菌 |
| | 5 | 17 | 有菌 |
| 6 | 21 | 有菌 | |
| 7 | 25 | 有菌 | |

*:每瓶培养基含量为 200 mL; #:培养 1 d 后即有细菌生长,故无 2~7 d 培养结果。

2.2 不同量培养基在不同微波火力下的灭菌时间测定及结果观察,其结果见表 2。

表 2 不同量培养基微波灭菌后 37℃恒温培养观察

| 微波火力 | 瓶数* (n) | 微波时间 (min) | 37℃恒温培养时间(d) | | | | | | |
|------|---------|------------|--------------|----|----|----|----|----|----|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 低火 | 1 | 30 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| | 2 | 65 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| 中火 | 1 | 5 | 有菌# | | | | | | |
| | 1 | 10 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| | 2 | 10 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| | 3 | 15 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| | 4 | 20 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| | 5 | 25 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| | 6 | 30 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| 7 | 35 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | |

续表 2 不同量培养基微波灭菌后 37℃恒温培养观察

| 微波火力 | 瓶数* (n) | 微波时间 (min) | 37℃恒温培养时间(d) | | | | | | |
|------|---------|------------|--------------|----|----|----|----|----|----|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 高火 | 1 | 5 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| | 2 | 5 | 有菌# | | | | | | |
| | 2 | 10 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| | 3 | 10 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| | 4 | 15 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| | 5 | 20 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| | 6 | 25 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 |
| 7 | 30 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | 无菌 | |

*:每瓶培养基含量为 200 mL; #:培养 1 d 后即有细菌生长,故无 2~7 d 培养结果。

2.3 平板上菌落特征及细菌染色观察 将大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌及变形杆菌接种至以微波低、中、高火及高压蒸汽灭菌后的培养基所制备的平板,37℃培养 24 h 后观察菌落特征,不同菌株单克隆生长菌落特征均较为典型;挑取单克隆菌落,涂片后进行革兰染色及鞭毛染色,显微镜观察显示不同菌株形态均较为典型。在不同培养基上生长的相同菌株,其菌落特征、形态染色特征无明显差异。

3 讨 论

本研究结果显示,不同量琼脂培养基在不同微波火力下均可达到灭菌效果。同时灭菌的培养基瓶数越多,其熔化时间及达到灭菌效果的时间越长,且耗时长短与微波火力密切相关。培养基瓶数相同时,其熔化及达到灭菌效果所需时间,低火条件下最长,中火次之,高火最短,且其灭菌时间均比高压蒸汽灭菌耗时短。不同菌株在经微波灭菌处理后的固体琼脂培养基上的菌落特征及形态染色均较为典型,说明使用微波对培养基进行灭菌处理,不影响培养基对待检细菌的培养效果。微波处理法制备固体琼脂培养基安全可靠,灭菌效果好,相比于传统高压蒸汽法更加快捷、节能,尤其适用于少量培养基的制备。

微波可杀灭多种微生物,而且不仅杀灭细菌的繁殖体、真菌及病毒,还可杀灭细菌的芽孢^[5-8]。微波灭菌的原理目前仍不明确,可能与微波主要通过热效应和非热效应两种形式发挥灭菌作用有关,国内学者普遍认为以热效应为主^[8-11]。尽管微波法制备固体琼脂培养基较传统高压蒸汽灭菌法更为快捷、节能,但在制备过程中存在以下不足:(1)家用微波炉体积较小,灭菌时一般只能采用最大容积为 300 mL 的锥形瓶,故只能用于少量培养基的灭菌。(2)在加热过程中有可能出现爆沸现象(装有培养基锥形瓶数量越少,越容易发生,1~2 瓶时易发生,3 瓶及以上基本不会发生),容易导致培养基的损失,故在 300 mL 锥形瓶中,培养基装入量以 200 mL 及其为宜。(3)使用棉塞封闭锥形瓶瓶口时,有可能发生棉塞烤焦甚至燃烧的现象;解决此问题可采用以下方法:使用硅胶塞,将棉塞在灭菌蒸馏水中浸透,或使用已用过的旧棉塞。

总之普通家用微波炉可用于固体琼脂培养基的制备,较传统高压蒸汽灭菌法更为方便、快捷及节能,但在大批量配制培养基方面不能完全取代高压蒸汽灭菌法。

参考文献

[1] 王娅,王春兰,陈绪云,等.家用微波炉用于培养基灭菌的探讨[J].中国民康医学,2008,20(7):693-696.
 [2] 中华人民共和国卫生部.消毒技术规范[M].北京:人民卫生出版社,2002:23,228.
 (下转第 756 页)

表 5 e601 和 AxYSM 检测 HBeAg 结果直线相关性分析 (n=26)

| 组别 | AxYSM(S/CO) | Roche e601(COD) | 回归方程 | r ² | P |
|----|---------------|-----------------|--------------------|----------------|-------|
| 全部 | 1.01~466.01 | 0.8~1 059.0 | Y=2.097 7X-43.0 | 0.940 8 | <0.05 |
| 低值 | 1.01~136.15 | 0.8~164.2 | Y=1.218 4X-2.3 | 0.997 8 | <0.05 |
| 中值 | 185.68~375.94 | 229.6~590.3 | Y=1.496 5X+12.2 | 0.836 9 | <0.05 |
| 高值 | 429.01~466.01 | 740.7~1 059.0 | Y=6.336 3X-1 854.6 | 0.533 0 | >0.05 |

3 讨 论

HBV 表面标志物定量检测在乙肝防治中具有重要意义,因此对检测自动化程度、灵敏度、准确度的要求越来越高。采用 ECLIA 的 Roche cobas e601 系统及与采用 MEIA 的雅培 AxSYM 系统均可用于 HBV 表面标志物检测,而采用不同方法的系统检测获得的结果是否具有可比性值得深入探讨。

本研究从 3 个方面进行了 e601 与 AxSYM 免疫分析系统检测 HBV 表面标志物的结果比对。模式比对显示,2 种系统检测 HBV 表面标志物的模式符合率为 100%,差异无统计学意义 (P>0.05),说明 2 种系统在结果阴、阳性判断方面没有差异。HBsAb 阳性提示机体具有针对 HBV 的免疫力,HBsAb 检测对判断是否需注射乙肝疫苗和免疫效果具有重要作用^[3-4]。HBsAb 定量检测结果比对显示,2 种系统检测结果差异无统计学意义 (P>0.05),低值和高值标本检测结果相关性较好,中值标本相关性差。慢性 HBV 携带者可通过长期服用抑制 HBV 复制的药物抑制肝细胞胞浆中 HBV DNA 的复制,使其无来源而耗竭,出现 HBsAg、HBeAg 的血清转换,达到临床治愈。因此 HBV 表面标志物滴度的检测对准确了解抗原-抗体转换,尤其是动态观察 HBsAg、HBeAg 血清转换,对评价抗病毒治疗效果具有一定的帮助作用^[2,5-10]。HBeAg 检测比对显示,2 种系统检测结果呈直线相关性,低值和中值标本检测结果相关性较好,高值标本相关性差。总体而言,2 种检测系统有较好的相关性,个别标本检测结果相关性差可能与试剂包被的片段不同、方法学差异和计算方法差异等有关。

对不同分析系统进行检测结果比对,对实现检验结果同城通用,进而减轻患者负担十分重要,对指导临床用药和预防疾病也具有很重要的参考意义。本研究只针对 e601 和 AxSYM 免疫分析系统的某些指标进行了比对,其他系统和其他指标的比对有待进一步研究。

参考文献

[1] World Health Organization. Hepatitis B[R/OL]. Geneva, Switzer-

land: WHO, 2012-02-13[2012-01-03], http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisB_whocdsscrlyO2002_2.pdf.

[2] 中华医学会肝病学会、中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华传染病杂志, 2005, 23(3): 421-431.

[3] 邱家洋, 李良军, 杨帆. HBV 感染标志物检测的临床价值比较[J]. 中国基层医药, 2011, 18(7): 879-880.

[4] 赵平, 赵成桂, 张臣, 等. 306 份血标本乙肝 5 项指标定量与定性检测结果分析[J]. 现代医学, 2011, 39(5): 551-553.

[5] Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update of recommendations[J]. Hepatology, 2004, 39(10): 857-861.

[6] EASL Jury. EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. 13-14 September, 2002: Geneva, Switzerland. Consensus statement (short version)[J]. J Hepatol, 2003, 38(4): 533-540.

[7] Liaw YF, Leung N, Guan R, et al. Asian Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2005 update[J]. Liver Int, 2005, 25(5): 472-489.

[8] McMahon BJ. Selecting appropriate management strategies for chronic hepatitis B: who to treat[J]. Am J Gastroenterol, 2006, 101(Suppl 1): 7-12.

[9] Kurihara T, Imazeki F, Yokosuka O, et al. Effect of lamivudine in HBeAg-positive chronic hepatitis B: discordant effect on HBeAg and HBV DNA according to pretreatment ALT level[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(21): 3346-3350.

[10] Liu CJ, Huang WL, Chen PJ, et al. End-of-treatment virologic response dose not predict relapse after lamivudine treatment for chronic hepatitis B[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(22): 3574-3278.

(收稿日期: 2011-10-09)

(上接第 754 页)

[3] 于爱莲. 医学微生物学实验指导[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 69-72.

[4] 曾自强. 病原生物学实验教程[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 249.

[5] 席晓莉, 吴道澄, 王刚. 微波灭菌的研究进展[J]. 生物医学工程杂志, 2002, 19(2): 334-336.

[6] 潘玉钦, 宫慰, 陈宝国, 等. 微波炉灭菌效果的试验观察[J]. 海峡预防医学杂志, 2002, 8(3): 59-60.

[7] 陈卫, 杭锋, 赵建新, 等. 微波杀菌过程中大肠杆菌与金黄色葡萄

球菌细胞膜通透性的改变[J]. 微生物学报, 2007, 47(4): 697-701.

[8] 吴晖, 高孔荣. 微波灭菌机理的研究[J]. 食品科学, 1996, 17(4): 3-6.

[9] 聂建红, 王瑞, 孙葳, 等. 微波灭菌及其应用[J]. 吉林医药学院学报, 2009, 30(1): 51-52.

[10] 卢智远, 石频频, 朱满座, 等. 微波及高强度电磁脉冲灭菌的机理分析[J]. 生物医学工程, 2008, 25(4): 811.

[11] 杭锋, 陈卫, 龚广予, 等. 微波杀菌机理与生物学效应[J]. 食品工业科技, 2009, 30(1): 333.

(收稿日期: 2011-11-09)