

• 检验技术与方法 •

使用中消毒剂两种细菌学监测方法的比较

李朝金, 郑强, 何鹏, 王逊

(中国十九冶集团有限公司职工医院检验科, 四川攀枝花 617023)

摘要:目的 比较 UF-1000i 尿沉渣分析仪(UF-1000i)的细菌计数与培养法在使用中消毒剂的细菌学监测中的应用价值。方法 同时用中和试剂对应采样各 160 份, 分别进行培养和用 UF-1000i 进行细菌计数。比较 UF-1000i 细菌计数与培养法对监测结果判定的差异性。结果 UF-1000i 细菌计数与培养法对监测结果判定的一致性分别为: 对合格的判定, 符合率达 100%; 对不合格的判定, 前者多于后者。结论 UF-1000i 细菌计数可用于使用中的戊二醛、次氯酸钠、碘酒和酒精的细菌学监测, 可起到过筛、快速检测的作用。

关键词:消毒剂; 灭菌; 尿沉渣分析仪; 细菌培养
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.11.036 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)11-1357-02

使用中消毒剂的细菌学监测, 培养法需要培养基的准备、平板的倾注等烦琐工作, 影响环节较多, 而且对监测样品的问题不能快速反馈给相应科室/部门(一般细菌要 24~48 h 后, 真菌培养要等到 7 d 后才能发出报告)。在培养期间, 有问题的消毒剂如果仍在使用是很危险的。所以, 对使用中的消毒剂快速得出能否继续使用的结论显得尤为重要。笔者使用 UF-1000i 尿沉渣分析仪(简称 UF-1000i)对使用中的消毒剂进行细菌计数, 与培养法进行比较, 结果满意, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 使用中消毒剂: 碘酒、酒精、戊二醛、次氯酸钠各 40 份共 160 份。标准菌株: 金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、大肠埃希菌(ATCC25922)、白色念珠菌(ATCC90028), 由四川省临床检验中心提供。

1.2 仪器与试剂 美国赛默飞世尔 370 培养箱; 日本 SYS-MEX UF-1000i 尿沉渣分析仪及配套试剂和质控物; 自制中和试剂, 有特殊要求的按照卫生部 2002 年 11 月颁发的《消毒技术规范》(下称规范)的要求加入相应成分, 使用前现制备; 自制营养琼脂培养基, 使用前现制备。

1.3 方法

1.3.1 UF-1000i 对死菌的计数 将 ATCC25923 金黄色葡萄球菌、ATCC25922 大肠埃希菌、ATCC90028 白色念珠菌培养物配制成 0.5 麦氏单位浓度生理盐水菌悬液, 分别取 1 mL 加入 9 mL 新鲜配制的、未使用的消毒剂中消毒至合格时间后, 分别进行培养并用 UF-1000i 对其进行检测, 比较二者消毒前

后的结果。

1.3.2 阴、阳性对照试验 阴性对照实验: 以新鲜配制、未使用的消毒剂及无菌中和试剂二者平行作为 UF-1000i 检测和细菌培养阴性对照。阳性对照试验: 用 ATCC25923 金黄色葡萄球菌、ATCC25922 大肠埃希菌、ATCC90028 白色念珠菌作为阳性对照, 把每一种细菌培养物配制成 0.5、1.0、2.0 麦氏单位 3 种不同浓度菌悬液, 分别取 1 mL 加入 3 份含 9 mL 中和试剂的灭菌管。平行作为 UF-1000i 检测和细菌培养阳性对照。

1.3.3 UF-1000i 计数实际值的确定 以新鲜配制消毒合格的中和试剂为空白对照。用样本计数值减去相应空白对照值得出测试值。将样本进行细菌活体染色, 用显微镜直接计数法求出死菌值, 用测试值减去死菌值即为实际值。

1.3.4 UF-1000i 判定标准 使用中消毒剂细菌浓度小于 0.1 个/微升, 并且无酵母样细胞和红细胞为合格^[1-2]。

1.3.5 采样方法 对应取 1 mL 消毒液加 9 mL 中和试剂各 160 份。

1.3.6 实验方法 UF-1000i 测定用采样液直接测试。将培养用样本各取 1 mL 分别注入 9 cm 平板内, 再分别加入 25 mL 普通营养琼脂和沙保罗琼脂, 混均, 分别培养 48 h、7 d 后观察结果。设阴阳性对照, 所有操作均由经过专门培训合格的人员严格按照各项操作规程作业。

2 结果

2.1 UF-1000i 对死菌的计数结果 见表 1。

表 1 消毒前后 UF-1000i 测定与培养结果

样本	消毒前				消毒后			
	UF-1000i 结果(个/微升)			培养结果	UF-1000i 结果(个/微升)			培养结果
	红细胞	细菌	酵母样菌		红细胞	细菌	酵母样菌	
ATCC90028 白色念珠菌生理盐水菌悬液	443	0	956	有菌生长	0	0	0	无菌生长
ATCC25922 大肠埃希菌生理盐水菌悬液	0	3 125	0	有菌生长	0	0	0	无菌生长
ATCC25923 金黄色葡萄球菌生理盐水菌悬液	0	3 407	0	有菌生长	0	0	0	无菌生长

表 2 UF-1000i 直接判定与培养法判定的结果比较

消毒剂	检测份数 (n)	合格			不合格		
		UF-1000i 直接判定(n)	培养法判定(n)	符合率(%)	UF-1000i 直接判定(n)	培养法判定(n)	符合率(%)
碘酒	40	36	36	100.0	4	3	75.0
酒精	40	37	37	100.0	3	2	66.7

续表 2 UF-1000i 直接判定与培养法判定的结果比较

消毒剂	检测份数 (n)	合格			不合格		
		UF-1000i 直接判定(n)	培养法判定(n)	符合率(%)	UF-1000i 直接判定(n)	培养法判定(n)	符合率(%)
次氯酸钠	40	35	35	100.0	5	4	80.0
戊二醛	40	34	34	100.0	6	4	66.7

2.2 用 UF-1000i 测定与培养的结果比较 见表 2。

2.3 UF-1000i 判定与培养结果不一致的结果比较 见表 3。

表 3 UF-1000i 判定与培养结果不一致的结果比较

样本	n	UF-1000i 分析结果(个/微升)			培养结果
		红细胞	细菌	酵母样菌	
碘酒	1	2.0	0.0	0.0	无菌生长
酒精	1	0.5	0.0	0.0	无菌生长
次氯酸钠	1	1.0	0.0	0.0	无菌生长
戊二醛	2	0.5	0.0	0.0	无菌生长
		1.0	0.0	0.0	无菌生长

3 讨 论

UF-1000i 配置了细菌专用通道,能够对样本中所含杆菌属(如大肠杆菌)和球菌属(如葡萄球菌)进行高速、高精度区分和定量计数。沉渣通道稀释液含有酵母菌染色辅助剂,其通过与沉渣染液发生反应,在激光照射下发出荧光,数据收集处理系统对这些荧光信息和散射光信号进行分析处理。从而实现对酵母样菌的直接计数。根据判定标准,从表 2 可以看出,UF-1000i 细菌计数与培养法对监测结果判定的一致性分别为:对合格的判定,符合率达 100%;对不合格的判定,二者符合率也比较高(66.7%~80.0%),提示对正在使用的消毒剂进行细菌学监测,使用 UF-1000i 即刻测定,可以起到过筛作用,对细菌超标和有真菌的样本就可以快速地通知临床,从而使临床快速采取措施,更加有利于医院感染的控制。

从表 1 中可看出,经过化学消毒法消毒至合格后,用 UF-1000i 进行细菌计数,红细胞、细菌、酵母样菌的结果均为 0.0 个/微升。故在 UF-1000i 的细菌计数上无须考虑死菌问题,直接将测试值减去空白对照,即为实际值。关于 UF-1000i 对化学消毒法的死菌无法识别的原因,可能是因为仪器是结合细菌的染色特征和形态来识别细菌的,而化学消毒法破坏了细菌的结构和形态。

从表 1 中可以看出酵母样细胞部分被误认为红细胞,与文献[1-2]报道一致。因《规范》要求任何样本不得检出真菌,故

关于 UF-1000i 判定标准中加上有无酵母样细胞和红细胞,所以,只要样本中酵母样菌或/和红细胞实际值大于 0 就判定为不合格。

从表 2 中可以看出,UF-1000i 判定为不合格的样本多于培养法,从表 3 中可以看出主要原因是在标准中除细菌数量外另加上了有无红细胞,而由于仪器及样本的原因可能造成红细胞的假阳性。所以,在通过 UF-1000i 判定不合格的时候,可以先通知临床采取措施,然后再行培养鉴定,等结果出来后再分析查找原因。

文献报道 UF-1000i 对碘酒和酒精无法直接判断^[3-5],本研究采用中和试剂进行采样后上机测定,提高了酒精的电导率,也使碘酒的颜色比原液变浅,实现了 UF-1000i 对碘酒和酒精的直接判断。

综上所述,对碘酒、酒精、次氯酸钠和戊二醛的细菌学监测,有条件的医院可以用 UF-1000i 进行过筛,可以起到快速检测的作用。但在应用过程中应明确,UF-1000i 仅是起到过筛作用,对 UF-1000i 判定不合格的样本以及在可疑污染情况下要求进行相应指标检测等特殊情况下必须进行培养而不能通过 UF-1000i 直接判定。

参考文献

[1] 刘华,王颖,钟亚玲,等. UF-100 尿沉渣分析仪细菌计数与尿培养的比较[J]. 现代预防医学杂志,2005,32(5):497-498.

[2] 冯春颜,朱飞,席雅娟. 类酵母细胞对 UF-50 尿沉渣分析仪测定结果的影响[J]. 江西医学检验杂志,2005,23(3):215-216,218.

[3] 李朝金,古小琼,李靖,等. UF-1000i 尿沉渣分析仪细菌计数在院感卫生学监测中的应用[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(1):36-37.

[4] 孙世忠,孙丽丽,刘丽文. UF-1000i 尿沉渣分析仪细菌检测结果的临床应用价值[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(3):284-285.

[5] 杨波,招强光,贺松,等. IQ200 尿沉渣仪、UF-1000I 流式尿分析仪与手工显微镜计数 3 种方法的比较[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(8):891-893.

(收稿日期:2012-01-04)

(上接第 1346 页)

Immunobiology,2011,216(1/2):200-207.

[22] Khader SA,Bell GK,Pearl JE,et al. IL-23 and IL-17 in the establishment of protective pulmonary CD4⁺ T cell responses after vaccination and during Mycobacterium tuberculosis challenge[J]. Nat Immunol,2007,8(4):369-377.

[23] Scriba TJ,Kalsdorf B,Abrahams DA,et al. Distinct, specific IL-17-and IL-22-producing CD4⁺ T cell subsets contribute to the human anti-mycobacterial immune response[J]. J Immunol,2008,

180(3):1962-1970.

[24] Torrado E,Cooper AM. IL-17 and Th17 cells in tuberculosis[J]. Cytokine Growth Factor Rev,2010,21(6):455-462.

[25] Okamoto Yoshida Y,Umemura M,Yahagi A,et al. Essential role of IL-17A in the formation of a mycobacterial infection-induced granuloma in the lung[J]. J Immunol,2010,184(8):4414-4422.

(收稿日期:2011-12-15)