

• 个案与短篇 •

阴道加德纳菌的保存方法比较*

陈远翔, 向 军

(重庆市万州区妇幼保健院 404000)

关键词: 阴道加德纳菌; 保存方法; 比较

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.24.061

文献标识码: C

文章编号: 1673-4130(2016)24-3521-02

细菌性阴道病(BV),也称特异性阴道炎,临床表现为妇女阴道分泌物增多、伴有典型的腥臭味、呈灰白色、均匀稀薄、黏度较低。阴道加德纳菌(GV)是细菌性阴道病的重要致病菌之一^[1-2]。GV感染可引起输卵管异位妊娠、胎膜早破、产褥期感染、新生儿早产等不良妊娠结局^[3-4]。最新报道GV能明显刺激人类免疫缺陷病毒(HIV)在单核-巨噬系统T淋巴细胞中的表达,与HIV的传播率增高有关^[5]。菌种保存是分析该菌株流行病学、耐药性变迁、医院感染病原学调查的基础,一般常用的菌种保存方法有多种^[6-8],如:冷冻干燥保存法、磁珠法、滤纸法、肉汤保存法等。本文采用3种不同方法保存阴道加德纳菌,旨在为临床筛选出操作简便、实用、成本低廉的保存方法,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 菌株和培养基 共51株,其中50株为本院2014~2015年妇产科门诊患者泌尿生殖道分泌物中的分离菌,1株为标准菌株(ATCC 14018)(上海宝录生物公司代购,批号410-89-2),人血哥比琼脂培养基(自制)。

1.2 保存介质 滤纸(杭州富阳),甘油(四川西陇化工),脱脂奶粉(内蒙古伊利)。

1.3 仪器设备 -18℃冰箱(德国西门子),-80℃冰箱(日本三洋),CO₂水套式恒温箱(上海博讯),生物安全柜(济南鑫贝西)。

1.4 方 法

1.4.1 标准菌株复苏 标准菌种平衡至室温后打开外包装,捏碎菌种顶部内安瓶部分,使水化液流入含有菌种的底部,然后反复挤压软管底部促使细菌悬液分布均一。取出已经浸透细菌悬液的拭子接种于人血哥比琼脂培养基^[9],35℃,5% CO₂ 孵育48 h。

1.4.2 滤纸保存法 将普通定性滤纸剪成2.5×0.8 cm条状物高压灭菌备用(121℃,15 min),无菌操作滤纸刮取经过5% CO₂ 孵育48 h的菌株放入无菌EP管,用胶袋封口。

1.4.3 甘油保存法 EP管加入1 mL甘油高压灭菌(121℃,15 min),无菌操作滤纸刮取经过5% CO₂ 孵育48 h的菌株,放入已灭菌的无菌甘油EP管中,用胶袋封口。

1.4.4 牛奶保存法 10 g脱脂奶粉,0.5 g NaCl加入100 mL蒸馏水,搅拌溶解后每支EP管分装1 mL高压灭菌(121℃,15 min),无菌操作滤纸刮取经过5% CO₂ 孵育48 h的菌株,放入已灭菌的无菌牛奶EP管中,用胶袋封口。

1.4.5 菌种保存 将上述3种方法制备好的菌株分别置于-18℃和-80℃冰箱保存。

1.4.6 阴道加德纳菌复苏 分别于1、2年将阴道加德纳菌接种于人血哥比琼脂培养基,5% CO₂ 孵育48 h后观察。

每株每种方法复苏3支菌,计算平均存活率。

1.4.7 复苏后菌种鉴定 法国梅里埃API-Coryne棒状杆菌鉴定试剂盒。

1.5 统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行分析,计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

阴道加德纳菌按照不同方法分别置于-18℃和-80℃冰箱,回复至室温后再取出接种。5% CO₂ 孵育48 h,细菌生长情况见表1、2。

表1 阴道加德纳菌3种保存方法(-18℃)

保存方法	菌株(n)	12个月存活率(%)	24个月存活率(%)
滤纸法	51	0(0/51)	0
甘油法	51	3.9(2/51)	0(0/51)
牛奶法	51	100.0(51/51)	78.4(40/51)

表2 阴道加德纳菌3种保存方法(-80℃)

方法	菌种(n)	12个月存活率(%)	24个月存活率(%)
滤纸法	51	3.9(2/51)	0(0/51)
甘油法	51	84.0(42/51)	9.8(5/51)
牛奶法	51	100.0(51/51)	92.2(47/51)

如表1所示:-18℃保存,牛奶保存法12、24个月存活率分别为100.0%和78.4%,甘油保存法分别为3.9%、0%,滤纸法均为0%。3种方法之间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。表2显示-80℃条件下,每种保存方法相对于-18℃存活率都有所提高,3种方法组间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。由表1、2可知:在加入保护剂(甘油、牛奶)的保存环境比单独只采用滤纸保存效果更好,-80℃比-18℃保存效果更好。经统计学比较,-80℃牛奶保存法12、24个月存活率为100.0%、92.2%与其他两种方法比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

复苏后菌种采用法国梅里埃API-Coryne棒状杆菌试剂盒鉴定,成功复苏的菌种生化反应均没有变化,与目标菌鉴定结果相符。

3 讨 论

菌种保存的基本原理是挑选适宜的介质环境使其处于休眠状态,降低新陈代谢速度,长期保存后仍能保持菌种原有的

* 基金项目:重庆市万州区科技项目(201403045)。

优良特性。基本措施:低温、真空、干燥、加入保护剂。目前,国内大多数文献所报道采用冷冻真空干燥法保存效果最好^[10-11]。此法是将微生物在低温中迅速冷冻,真空状态下脱水干燥密封而成。但真空干燥设备价格昂贵,操作繁琐,不适用于医院菌种保存工作中普遍开展。国内学者徐雅娟等^[12]将牛奶保存法应用于金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌等 29 种临床常见细菌保存,结果发现菌株保存 36 个月显示存活率 100.0%。罗桂梅等^[13]采用牛奶保存法保存 85 株淋球菌,2 年内复活率 97.7%。表明牛奶保存法不仅可以用于普通细菌的保存,同样也可应用于苛养菌的保存。

阴道加德纳菌属苛养菌,营养要求高,在已有的文献中没有专门针对此菌的保存方法研究^[14-15]。本文比较 3 种方法对阴道加德纳菌的保存效果,结果发现:-80℃牛奶保存法 12、24 个月存活率分别为 100.0%、92.2%,相比于其他方法,差异有统计学意义($P < 0.05$)。研究同时表明,低温对于阴道加德纳菌保存有明显延长作用,其中甘油法-80℃,12 个月存活率(84.0%)明显高于同期-18℃存活率(3.9%)。

本研究表明,将牛奶保存法应用于阴道加德纳菌的保存是可行的。-80℃牛奶保存 12 个月、24 个月存活率分别为 100.0%、92.2%。阴道加德纳菌牛奶保存法具有操作简便、成本低廉等特点,值得推广应用。

参考文献

[1] Udayalaxmi, J, et al. Biotypes and virulence factors Of Gardnerella vaginalis isolated from cases of bacterial Vaginosis[J]. India J Med Microbiol, 2011, 29(2): 165-168.
 [2] Muzny CA, Schwebke JR. Gardnerella vaginalis; Still a Prime Suspect in the Pathogenesis of Bacterial Vaginosis [J]. Curr Infect Dis Rep, 2013, 115(2): 130-135.
 [3] 蓝玉清, 陆奉科. 直接免疫荧光法在阴道加德纳菌感染诊断

中的应用研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(18): 2437-2439.
 [4] 林子刚, 徐瑞宏. 细菌性阴道病实验检测方法研究进展 [J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(23): 3195-3197.
 [5] 李连青, 朱庆义, 刘俊芬, 等. 阴道加德纳菌对细菌性阴道病的病原学诊断评价[J]. 中华医学感染学杂志, 2005, 15(2): 226-229.
 [6] 陈晓燕, 林光. 微生物实验菌种保存方式探讨[J]. 临床合理用药杂志, 2014, 7(29): 129-130.
 [7] 车萍, 张颖颖, 田洪波, 等. 形态学实验室菌种保存的实验方法改革[J]. 现代医药卫生, 2013, 29(6): 912.
 [8] 彭德华, 薛荣利. 3 种常用方法保存临床常见菌种的比较 [J]. 甘肃科学学报, 2012, 24(3): 88-90.
 [9] 陈远翔, 向军. 3 种培养基对阴道加德纳菌分离效果评价 [J]. 现代预防医学, 2016, 43(3): 527-529.
 [10] 张秀珍. 当代细菌检验与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 370-376.
 [11] 陆德源. 医学微生物学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 216-220.
 [12] 徐雅娟, 袁桂峰, 陈森洲, 等. 29 种细菌用新鲜牛乳低温保存细菌的新方法[J]. 海南医学, 2008, 19(10): 150-153.
 [13] 罗桂梅, 刘红军, 刘三九, 等. 淋球菌保存方法的实验研究 [J]. 实用预防医学杂志, 2007, 14(1): 192-193.
 [14] 陈建江, 吕旭军, 苏利民, 等. 女性生殖道感染患者阴道加德纳菌培养方法的建立[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(2): 294-297.
 [15] 廖远泉, 廖晖. 阴道加德纳菌感染与细菌性阴道病研究进展[J]. 中国病原微生物学杂志, 2011, 6(7): 539-541.

(收稿日期: 2016-07-12 修回日期: 2016-09-28)

• 个案与短篇 •

标本溶血对甲状腺功能检测的影响

崔莎莎¹, 水波², 陈莹莹¹, 徐云¹

(1. 湖北省襄阳市中医医院检验科 441000; 2. 湖北省襄阳市中心血站 441000)

关键词: 溶血; 甲状腺激素; 化学发光免疫法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.24.062

文献标识码: C

文章编号: 1673-4130(2016)24-3522-02

甲状腺是人的一个重要的内分泌腺, 甲状腺激素调控着人类的生长发育和代谢活动。甲状腺疾病是最常见的内分泌疾病, 其诊断需要结合病史、临床表现和实验室检查, 其中实验室血清甲状腺激素等检测结果尤为重要^[1]。在日常检验工作中, 标本溶血作为分析前标本不合格中最常见的情况, 通常会影响检验结果的准确性, 进而影响临床医生的诊断^[2], 故被作为不合格而拒收是分析前质量控制(QC)的重要措施。标本溶血对化学发光免疫法测定血清游离甲状腺素(FT4)、血清游离三碘甲腺原氨酸(FT3)、促甲状腺激素(TSH)、抗甲状腺过氧化物酶抗体(TPO-Ab)有无干扰, 本文对此进行了分析探讨, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机抽取 2014 年 10 月至 2015 年 6 月在襄

阳市中医医院健康体检合格者(血脂等正常)60 例空腹静脉血, 分别均分于 3 支凝血管中(注意避免溶血), 其中 1 支离心分离血清作为非溶血标本; 1 支使用玻璃棒将其中的血块轻轻搅拌捣碎, 离心后使其呈明显红色以模拟轻度溶血现象; 1 支采用以前法用力搅拌捣碎模拟重度溶血现象。将分离溶血血清于 4℃存放待测。

1.2 仪器与试剂 贝克曼 DXI800 化学发光免疫分析仪及配套试剂盒, 质控品批号 LOT40302。

1.3 方法 按标准操作程序(SOP 文件), 用贝克曼 DXI800 化学发光免疫分析仪测定非溶血和溶血标本的 FT4、FT3、TSH 和 TPO-Ab 的浓度。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.0 软件进行统计学分析。其中计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异