DOI:10.3969/j. issn. 1671-9638. 2017. 01. 022

· 综述 ·

### 艰难梭菌感染实验室检测方法进展

### Advances in laboratory testing for Clostridium difficile infection

刘 昊(LIU Hao),徐修礼(XU Xiu-li),张瑞雪(ZHANG Rui-xue)

(第四军医大学西京医院全军临床检验医学研究所,陕西 西安 710032)

(Institute of Clinical Laboratory Medicine, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

[关 键 词] 艰难梭菌;艰难梭菌感染;培养;基因检测;分子生物学方法

[中图分类号] R378.8 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9638(2017)01-0089-05

艰难梭菌(Clostridium difficile,CD)是一种专性厌氧的革兰阳性芽孢杆菌,1935年首次在新生儿肠道正常菌群中被分离出来。1978年起人们发现该细菌是引起抗生素相关性腹泻、医院性腹泻及假膜性肠炎的主要病原体。有资料显示,25%~30%的抗生素相关性腹泻以及90%以上的假膜性肠炎均是由CD引起的,美国由艰难梭菌感染(Clostridium-difficile infection,CDI)所致的病死率可达7.1%[1]。但是,不是所有的CD均会产生典型的临床症状,CD致病主要是因为产生A、B两种毒素。有研究认为,毒素B对于CDI感染的发生、发展至关重要[2]。因此,对于CDI的诊断应当基于毒素的检测,而不仅仅是细菌的鉴定。

对产毒素 CD 的快速检测是采取及时的感染控制措施和适当治疗的关键。2010 年美国卫生保健流行病学会(Society for Healthcare Epidemiology of America, SHEA)和美国感染病学会(Infectious Diseases Society of America, IDSA)发表了对于CDI 患者的管理指南[3],该指南对诊断方法进行了说明,认为只应对腹泻患者的粪便样本进行检测,对无症状患者不应进行CD 相关的实验室检查与治疗。其推荐的实验室诊断方法包括产毒素的CD培养、毒素 A/B 酶免疫分析法、细胞培养毒素中和试验、两步法及核酸扩增法等,其中核酸扩增法具有广阔的应用前景。实验室检查是艰难梭菌相关性腹泻诊断、治疗及预防控制过程中的重要依据。最常用

的酶免疫分析法简单、快速但缺乏灵敏性,而更敏感的毒素中和实验及产毒素 CD 培养费时费力无法满足临床要求。近年来,分子生物学方法的快速发展,以 Xpert C. difficile、illumigene C. Difficile、BD MAX C. diff 等为代表的 CD 诊断新方法缩短了检测周期,且灵敏度非常高,为 CDI 的诊治提供了新的手段,具有广阔的应用前景。为更好地了解 CD 感染实验室诊断,现就 CD 的检测方法做一综述。

1 细胞培养毒素中和试验(cell culture cytotoxicity neutralization assay, CCNA)

一直以来,CCNA被认为是CDI实验室诊断的金标准,原理为直接检测由毒素所致单层培养细胞的变性、坏死、凋亡等细胞病变效应。由于其操作复杂,主观性强,对实验环境及条件要求苛刻,难以标准化,且比较昂贵,故难以在临床上推广使用。且近年来随着产毒素CD培养及分子生物学方法的发展,其作为"金标准"的地位受到了挑战。研究[4-5]表明,与核酸扩增法和产毒素的CD培养相比,CCNA的灵敏度较低,普遍低于90%。

### 2 产毒素的 CD 培养(toxigenic culture, TC)

近年来,随着 CDI 发病率的不断增高,高致病性的新菌株型别的产生迫使实验室再次关注发展细

[收稿日期] 2016-06-18

[作者简介] 刘昊(1989-),男(汉族),陕西省西安市人,检验技师,主要从事感染性疾病的实验室诊断。

[通信作者] 徐修礼 E-mail:xxlxxl@fmmu.edu.cn

菌培养,以寻求新的检测方法。传统的 CD 培养是将粪便标本直接接种于环丝氨酸头孢西丁果糖琼脂 (cycloserine-cefoxitin fructose agar, CCFA) 语 培养 基上厌氧培养48 h。后来在此基础上做了许多改进,包括加入马血、牛磺胆酸盐和溶解酵素等以促进孢子的萌发,提高灵敏度。另外,在培养之前将粪便用乙醇冲击或加热处理,杀灭其他细菌,有利于孢子富集。和直接接种相比,肉汤富集培养可提高敏感度约 20% [7]。

另外,显色培养基也被用于 CD 的培养及鉴定。 BioMérieux 先后开发了 IDCd 培养基, CLO 培养基 和 chromID C. diffile(CDIF)培养基[8]。 Eckert 等[9]比较了 CCFA48 h、CLO48 h、CDIF 24 h 与 48 h 4 种培养基的性能,以 4 种培养基混合培养作为 金标准,得出其灵敏度分别为 70.4%、85.2%、74. 1%和87%。而 Carson 等[8] 从培养时间,是否进行 乙醇冲击前处理等方面进一步比较了 CCFA 与 CDIF 培养基的性能,发现对谷氨酸脱氢酶阳性的 粪便样本在 CDIF 上直接培养和经乙醇冲击前处理 后培养的灵敏度和复苏率一致,而在 CCFA 上经乙 醇冲击前处理后培养比直接培养灵敏度和复苏率高 10%。在 CDIF 上培养 24 h 与 48 h 的结果比较, CCFA 与 CDIF 上均培养 48 h 后的结果比较,差异 均存在统计学意义,由此进一步说明了 CDIF 用于 CD培养、鉴定和核糖体分型方面的优势。

由于只有产毒素的 CD 才具有致病性,因此,对于培养阳性并鉴定为 CD 的菌落还需进行毒素检测。产毒素的 CD 培养操作繁琐且耗时较长,但其优点为灵敏度高、可获得菌株,分离菌可进一步用于基因分型,获知细菌传播机制,是流行病学研究的基础。目前,一般作为金标准用于新检测方法的评估、临床耐药监测以及评估新的治疗方法,偶尔也可用于患者的管理。

## 3 酶免疫分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测毒素

目前,国内大部分实验室均采用 ELISA 法检测 CD 毒素 A和 B,该方法耗时短,成本低,特异性高,但因其敏感性较低而逐渐被认为是次选方法。Planche等[10]对英国临床实验室常用的6种 ELISA 试剂盒性能评价的文章进行系统综述,最终发现各种试剂盒的诊断性能指标间存在差异,认为可能与各方法选择的cut off 值不同有关。按照文章中作

者提出的将灵敏度 90%和假阳性率低于 3%作为可接受的标准,6 种检测试剂盒均不能满足该标准,由此作者得出结论,ELISA 检测毒素不能单独作为CDI 的常规实验室诊断方法。

Eastwood 等[11] 采用 6 种 ELISA 检测 600 例 腹泻患者的粪便样本,并进行 3 种横向分析,以产毒素的 CD 培养作为金标准,得出灵敏度在 60%~81%之间,特异度在 91%~99. 4%之间。同样无一种方法的结果满足 Planche 等[10] 提出的标准,另外,文章也提到不一致的检测结果不能通过重复试验纠正,由此提出,若需要重复实验,建议选择另外一种检测方法。其他研究[12] 同样提出了重复检测的限制性。

## 4 谷氨酸脱氢酶 (glutamate dehydrogenase, GDH)

GDH为CD表面大量表达的抗原性酶蛋白,产生数量高于毒素且具有较强稳定性,可作为粪便中CD存在的标志物。检测GDH抗原具有非常高的敏感性和阴性预测值,早期研究[13]报道,该方法的灵敏度高于90%,阴性预测值可达99%,可作为GDH检测的首选筛查方法。然而,最近研究[14]发现,对于非流行性BI/NAP1/027菌株,GDH的检测灵敏度可能仅69%左右。另外,由于产毒和非产毒CD以及梭菌属其他种类细菌均可产生此酶,GDH检测缺少特异性,故不能单独作为快速诊断CD的首选方法,而通常将其作为两步法或三步法的初筛实验应用于临床。

The *C. Diff* QUIK Chek Complete Assay (TechLab, Blacksburg, VA, USA) [15] 将 GDH 抗原检测和毒素 A&B 检测结合起来,能够在 30 min左右获得结果。Kim 等 [16] 评价该方法,阴性预测值达 98.5%,GDH 检测部分的灵敏度是 91%,而毒素检测部分的灵敏度较低  $(61\% \sim 78\%)$ 。因此,实验室可能需要另一种更敏感的方法检测 GDH 阳性而毒素阴性的情况,分子生物学无疑是最好的选择。

# 5 核酸扩增法 (nucleic acid amplification test, NAAT)

CD 毒素 A 和毒素 B 分别由 tcd A 和 tcd B 基 因编码,而其表达被认为是由 tcd C 基因下调或缺 陷引起的。基因检测可预测产毒性 CD 的存在,及 其产毒能力的强弱。目前,聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)方法主要应用于实时荧光定量PCR,RT-PCR和环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)等检测粪便标本中的产毒素CD,上述方法的敏感性高,特异性强,更方便、快速,但价格昂贵,并且由于其敏感性高,一些无症状携带者在检测中也可能为阳性。Deshpande等[17]对1995—2010年发表的以CCNA或TC为金标准评价实时PCR检测性能的文章(其中19篇符合标准)进行meta分析。PCR的合并灵敏度为90%,特异度为96%。诊断方法的准确度与CD的流行率有关,在CD流行率分别为<10%,10%~20%和>20%时,阳性预测值和阴性预测值分别为71%、79%,93%、99%,98%、96%,因此,可

认为实时 PCR 对于 CDI 的诊断具有较高的灵敏度和特异度。

截至目前,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration,FDA)批准了 9 种 CD 分子检测平台<sup>[18]</sup>,包括 BD GeneOhm、BD Max、ProDesse ProGastro Cd Assay、Cepheid GeneXpert *C. difficile* Assay、Meridian Illumigene、Focus Technologies Simplexa、Great Basin Portrait Analyzer、Quidel AmpliVue *C. difficile* Assay、Nanosphere Verigene,其中 Meridian Illumigene 和 Quidel AmpliVue *C. difficile* Assay 检测的是毒素 A 基因,其他均检测的是毒素 B 基因。另外,FDA 批准的上述检测平台中仅 Meridian Illumigene 采用的是环介导等温扩增技术。各检测方法的性能比较见表 1。

M = = === 100 km / 11 = =====						
方法	检测基因	基因检测技术	样本 处理方式	检测周期 (min)	灵敏度 (%)	特异度 (%)
BD GeneOhm	tcd B	定量 PCR	手工	75~90	82.1~100	90.6~99.2
BD Max	tcd B	定量 PCR	自动	120	99.7	99.7
ProDesse ProGastro Cd Assay	tcd B	定量 PCR	自动	180	77.3~100	$93.4 \sim 99.2$
Cepheid GeneXpert C. difficile Assay	tcd B, 027	多重定量 PCR	自动	$29 \sim 45$	94.4~100	$93.0 \sim 99.2$
Meridian Illumigene	tcd A	环介导等温扩增技术	手工	70	86.7 $\sim$ 98.1	$98 \sim 100$
Focus Technologies Simplexa	tcd B	定量 PCR/双荧光探针引物	手工	60	90.1	93.0
Great Basin Portrait Analyzer	tcd B	解旋扩增技术;基因芯片检测	手工	70	79.6~90.1	$93.0 \sim 95.8$
Quidel AmpliVue C. difficile Assay	tcd A	解旋扩增技术;采用手提暗盒获得可见结果	手工	80	93.6	94.1
Nanosphere Verigene	tcd B, 027	PCR 结合胶体金探针富集和银信号扩增	自动	150	98.7	87.6

表 1 FDA 批准的 9 种 NAATs 检测试剂盒的性能比较[18]

BD-GeneOhmTM C. diff 是第一个被 FDA 批准的分子检测方法,是一个基于实时 PCR 检测 CD 毒素 B基因的平台。该方法采用专用珠子溶菌手工提取 DNA 后,在 Cepheid Smart Cycler 上进行扩增,其检测结果约在 2 h 后给出[19]。根据参比方法的不同其灵敏度为  $84\% \sim 96\%$ ,特异度为  $94\% \sim 99\%$ 。

Cepheid GeneXpert C. difficile Assay 需要在其专门的仪器 GeneXpert 中完成检测,该诊断方法采用全自动实时荧光定量 PCR 原理,将样品处理、核酸扩增、目标序列的实时检测整合于一体,能在 50 min 内检测患者粪便中 CD 产生的毒素 B,甚至二元毒素,提供流行病学信息,有助于患者的早期治疗及感染预防控制。Bababy等[20]对一所肿瘤医院的 560 份粪便标本进行检测,将该方法与两步法(用酶免疫法检测 GDH 作为初筛,阳性标本再用毒素中和试验进一步证实)进行比较,该研究分两个阶段,第一阶段仅对 GDH 阳性标本同时用 Xpert

PCR 和 CCNA 实验进行检测,结果不一致者再行粪便培养和细胞毒性检测进一步验证,结果 GDH-Xpert PCR 和 GDH-CCNA 的一致率为 72%,其敏感度和特异度分别为 100%和 97%,57%和 97%。第二阶段则分别用 Xpert PCR 和 GDH-CCNA 检测,一致率为 95%。另外,对其中 45份 Xpert PCR检测阳性的标本进行基因分型,并与 PCR-核糖体分型、基因测序进行比较,一致性可达 90%以上。由此可见,Xpert PCR 检测 CDI 具有较高的敏感度和特异度,加之其基因分型能力,检测快速、方便,极大地满足了临床需求。

Viala 等<sup>[21]</sup>评价 3 种检测粪便中 CD 毒素基因的分子诊断试剂盒性能,以 TC 作为金标准,检测当地一所医院的 89 份粪便标本,最终得出,BD GeneOhm  $C.\ diff$ 、Xpert  $C.\ Difficile$  和 illumigene  $C.\ diff$  3 种方法的灵敏度分别为 95.5%、97.8% 和 86.7%,特异度分别为 97.9%、97.9%和 100%,准确度分别为 96.8%、97.9%和 93.6%。 Xpert C.

Difficile 和 illumigene C. Difficile 仅需 1 h 便可 完成检测,而 BD GeneOhm C. diff 需花费 2~3 h, 综合来看,Xpert C. diff 性能更佳,应用于临床优势更明显。

2012年 Le 等[22] 提出一种新的全自动实时 PCR 检测 CD 毒素 B 基因的方法—BD MAX C. diff (Becton, Dickinson, Franklin Lakes, NJ). 它与 Xpert C. difficile 操作基本相同,取约 10 uL 粪便至 BD MAX 样品缓冲管中,震荡混匀后放入 BD MAX 仪器中, DNA 提取(50~90 min, 取决于 样本中可提取 DNA 的量)和实时 PCR 过程 (30 min)均通过仪器自动完成。Le 等[22] 检测 360 例腹泻患者的粪便样本,以TC为金标准,得出BD MAX C. diff 的灵敏度和特异度分别为 97.73%、 99.68%。以 TC 为金标准,比较 Cepheid GeneXpert、BD MAX 2 种全自动 CD 分子诊断方法[23],其 灵敏度和特异度比较,差异无统计学意义。两者具 有全封闭系统、全自动操作、污染可能性小、人为错 误少、结果精确度高、检测时间短等优点,因此,均可 作为全自动快速分子诊断方法应用于 CDI 诊断。 但 Xpert C. diff 一次性可同时检测的样本量取决 于 GeneXpert 仪器的大小规格,与 GeneXpert 相 比,BD MAX 仪器最大的优势在于在相同的 PCR 平台上,可同时进行24个样本的检测[23]。

上述几种 NAATs 检测方法虽然基本原理、操作过程及花费时间等有所区别,但检测的灵敏度和特异度均非常高,且差异无统计学意义,但目前尚无文献对新的检测方法做系统综述。值得肯定的是,分子生物学方法与产毒素 CD 培养的结果一致性高,且优于 CCNA, ELISA 和两步法。但需要指出的是,该种方法检测 CD 毒素基因,对无症状携带者 CDI 的诊断可能会存在问题。文献[24] 报道,分子生物学方法的使用可能会使 CDI 的发病率增高 50%以上,此外,上述几种 FDA 批准的分子检测方法可能对实验室的设备条件及工作人员有较高的专业要求。尽管如此,该方法仍是目前实验室应用最广泛的方法。

综上所述,产毒素 CD 培养作为 CDI 诊断的金标准,其在流行病学调查、耐药监测及方法评估等方面的作用是无法替代的,但因该方法自身的局限性尚不能很好的满足临床需要。基于 GDH 检测的两步法或三步法优于 ELISA 检测毒素,可应用于临床。而分子生物学方法无疑是当前较好的 CDI 检测方法,可与 GDH 检测联用也可单独用于 CD 毒

素的检测,但其检测性能及成本效益还需进一步研究。因此,在现有 CD 诊断方法尚存缺陷的今天,各种方法取长补短,互相补充,可以为 CD 相关性腹泻的诊治提供有力依据。

#### [参考文献]

- [1] Reveles KR, Lee GC, Boyd NK, et al. The rise in *Clostridium difficile* infection incidence among hospitalized adults in the United States: 2001 2010 [J]. Am J Infect Control, 2014, 42(10): 1028 1032.
- [2] 杨雪妹,吴允孚. 艰难梭菌的生物学特性与实验室诊断[J]. 中国感染与化疗杂志,2013,13(3):232-234.
- [3] Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA)[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2010, 31(5): 431 – 455.
- [4] Barbut F, Braun M, Burghoffer B, et al. Rapid detection of toxigenic strains of *Clostridium difficile* in diarrheal stools by real-time PCR[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47 (4): 1276 1277.
- [5] Stamper PD, Alcabasa A, Aird D, et al. Comparison of a commercial real-time PCR assay for tcdB detection to a cell culture cytotoxicity assay and toxigenic culture for direct detection of toxin-producing *Clostridium difficile* in clinical samples[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(2): 373 378.
- [6] George WL, Sutter VL, Citron D, et al. Selective and differential medium for isolation of Clostridium difficile[J]. J Clin Microbiol, 1979, 9(2): 214-219.
- [7] Arroyo LG, Rousseau J, Willey BM, et al. Use of a selective enrichment broth to recover *Clostridium difficile* from stool swabs stored under different conditions[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(10): 5341-5343.
- [8] Carson KC, Boseiwaqa LV, Thean SK, et al. Isolation of Clostridium difficile from faecal specimens – a comparison of chromID C. difficile agar and cycloserine-cefoxitin-fructose agar[J]. J Med Microbiol, 2013, 62(Pt 9): 1423 – 1427.
- [9] Eckert C, Burghoffer B, Lalande V, et al. Evaluation of the chromogenic agar chromID C. difficile [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(3): 1002 1004.
- [10] Planche T, Aghaizu A, Holliman R, et al. Diagnosis of Clostridium difficile infection by toxin detection kits: a systematic review [J]. Lancet Infect Dis, 2008, 8(12): 777 - 784.
- [11] Eastwood K, Else P, Charlett A, et al. Comparison of nine commercially available *Clostridium difficile* toxin detection assays, a real-time PCR assay for *C. difficile* tcdB, and a glutamate dehydrogenase detection assay to cytotoxin testing and cytotoxigenic culture methods[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(10): 3211 3217.
- [12] Nemat H, Khan R, Ashraf MS, et al. Diagnostic value of re-

- peated enzyme immunoassays in *Clostridium difficile* infection[J]. Am J Gastroenterol, 2009, 104 (8): 2035 2041.
- [13] Fenner L, Widmer AF, Goy G, et al. Rapid and reliable diagnostic algorithm for detection of *Clostridium difficile* [J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(11): 328 330.
- [14] Tenover FC, Novak-Weekley S, Woods CW, et al. Impact of strain type on detection of toxigenic Clostridium difficile: comparison of molecular diagnostic and enzyme immunoassay approaches[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(10): 3719 - 3724.
- [15] Quinn CD, Sefers SE, Babiker W, et al. C diff Quik Chek complete enzyme immunoassay provides a reliable first-line method for detection of *Clostridium difficile* in stool specimens [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(2); 603 605.
- [16] Kim H, Kim WH, Kim M, et al. Evaluation of a rapid membrane enzyme immunoassay for the simultaneous detection of glutamate dehydrogenase and toxin for the diagnosis of *Clostridium difficile* infection[J]. Ann Lab Med, 2014, 34 (3): 235 239.
- [17] Deshpande A, Pasupuleti V, Rolston DD, et al. Diagnostic accuracy of real-time polymerase chain reaction in detection of Clostridium difficile in the stool samples of patients with suspected Clostridium difficile infection; a meta-analysis[J]. Clin Infect Dis, 2011, 53(7); e81 e90.
- [18] Burnham CA, Carroll KC. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection: an ongoing conundrum for clinicians and for clinical laboratories[J]. Clin Microbiol Rev, 2013, 26(3): 604 630.
- [19] Terhes G, Urbán E, Sóki J, et al. Comparison of a rapid molecular method, the BD GeneOhm Cdiff assay to the most fre-

- quently used laboratory tests for detection of toxin-producing *Clostridium difficile* in diarrheal feces[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47: 3478 3481.
- [20] Babady NE, Stiles J, Ruggiero P, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert Clostridium difficile Epi assay for diagnosis of Clostridium difficile infection and typing of the NAP1 strain at a cancer hospital[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48 (12): 4519 4524.
- [21] Viala C, Le Monnier A, Maataoui N, et al. Comparison of commercial molecular assays for toxigenic Clostridium difficile detection in stools: BD GeneOhm Cdiff, XPert C. difficile and illumigene C. difficile [J]. J Microbiol Methods, 2012, 90(2): 83 - 85.
- [22] Le Guern R, Herwegh S, Grandbastien B, et al. Evaluation of a new molecular test, the BD Max Cdiff, for detection of toxigenic *Clostridium difficile* in fecal samples[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(9); 3089 3090.
- [23] Dalpke AH, Hofko M, Zorn M, et al. Evaluation of the fully automated BD MAX Cdiff and Xpert C. difficile assays for direct detection of Clostridium difficile in stool specimens [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(6): 1906 - 1908.
- [24] Iv EC, Iii EC, Johnson DA. Clinical update for the diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* infection [J]. World J Gastrointest Pharmacol Ther, 2014, 5(1): 1-26.

(本文编辑:曾翠)

#### (上接第88页)

文献<sup>[2]</sup>报道,被乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)污染锐器损伤后相应病原体感染率分别为6%~30%、0.4%~6%。本院检验人员锐器伤漏报率达68.06%,不及刘晓容等<sup>[3]</sup>报道的89.55%漏报率,但远超过国家卫生部门规定的20%。

针对检验人员职业暴露率发生较高的现状,从2011年起本院采取了一系列干预措施。首先,检验科与感染管理科协作,对检验人员职业暴露与防护问题进行多次专场讲座,提高了工作人员对职业暴露的防护意识和技能;其次,检验科针对采血室、免疫室的锐器伤高发问题,严格规范各项操作流程。职业暴露发生率由2011年的53.66%下降至2014年的20.90%。美国疾病控制与预防中心的评定表明,62%~88%的锐器伤可以通过规范各项操作,降低诊疗操作风险来预防[+5]。

总之,检验人员由于职业的特殊性,长期暴露在

高风险的工作环境中,所以,应时刻保持防护意识, 不断提高防护技能,纠正工作中不良习惯,维护医疗 环境安全,最大限度控制实验室感染。

#### [参考文献]

- [1] 范珊红,王线妮,雷巧玲,等. 锐器伤行为控制的实践与进展 [J]. 中国感染控制杂志,2013,12(2):157-160.
- [2] 李妙芳. 骨科医生手术器械损伤的调查研究[J]. 中国感染控制杂志,2009,8(4):265-270.
- [3] 刘晓容. 医务人员锐器伤漏报分析及对策[J]. 重庆医学,2011,40(36):3675-3676.
- [4] Black L, Parker G, Jagger J. Chinks in the armor: activation patterns of hollow-bore safety-engineered sharp devices[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2012, 33 (8):842-844.
- [5] Strauss K. Risk of needlestick injury from injecting needles [J]. Nurs Times, 2012, 108 (40):12,14,16.

(本文编辑:左双燕)