

“双层溶血环实验”中的“三位一体化”管理

钟女奇 周红 李美玉 徐霖 晏辉钧

中山大学中山医学院

DOI:10.12238/bmtr.v5i2.6049

[摘要] “安全、质量、效能”三位一体化管理是新时代发展需求的主流,医学微生物学实验教学的目的是培养学生生物安全意识及具备相关技能。为顺应时代要求,在资源有限的条件下更好地完成实验教学任务,本病原实验室在教的同时,也长期致力于相关教学管理模式的探索和应用。在某些实验项目的管理上,力求全面综合,统筹兼顾。其中,“双层溶血环实验”教学是示教式的实验课,实验全程已达到“安全、质量、效能”三位一体化管理。

[关键词] 实验教学; 安全; 质量; 效能; 三位一体

中图分类号: R556.6 文献标识码: A

The "Three in One" Management in the "Double Layer Hemolytic Ring Experiment"

Nvqi Zhong Hong Zhou Meiyu Li Lin Xu Huijun Yan

Zhongshan School of Medicine, SYSU

[Abstract] The integrated management of "safety, quality, and efficiency" is the mainstream of the development needs of the new era. The purpose of medical microbiology experimental teaching is to cultivate students' biosafety awareness and relevant skills. In order to meet the requirements of the times and better complete experimental teaching tasks under limited resources, our pathogen laboratory has been committed to exploring and applying relevant teaching management models while teaching. In the management of certain experimental projects, we strive to be comprehensive and balanced. Among them, the "Double layer Hemolytic Ring Experiment" teaching is a teaching style experimental course, and the entire process of the experiment has achieved an integrated management of "safety, quality, and efficiency".

[Key words] experimental teaching; safety, quality, efficiency; three in one

前言

医学专业的教学过程中,微生物学实验教学是十分重要的教学内容。双层溶血环是产气荚膜梭菌在血平板上生长特性之一,也是医学微生物学教学实验中重要且常规的实验内容之一。通过双层溶血环实验获得清晰、亮丽的双层溶血环效果,能够维持较长时间、更好地示教给学生,这是此实验的教学目的与质量要求。但是,在相应的实验教学中,存在一定的危险因素。为此,还需要积极的做好相应的管理和控制工作。基于以上的目的,我们顺应时代发展的要求,在进行这项实验教辅工作的全程中,进行了有效的相关管理措施,做到“安全、质量、效能”三位一体化管理;以下是其的必要性、重要性与实践效果图,笔者希望能够为同仁们抛砖引玉,在高校教学改革探索中提供经验借鉴。

1 “双层溶血环实验”

“双层溶血环实验”是医学微生物学实验教学课之一,该实验的依据是“产气荚膜梭菌产生的 α 、 θ 外毒素能破坏红细胞膜,该菌在血平板培养基上培养一段时间后,出现双层溶血环现

象(α 外毒素引起不完全溶血的外环, θ 外毒素引起完全溶血的内环)^[2]。该实验教学目的是通过示教“双层溶血环的实验”结果,让医科学生知道产气荚膜梭菌特性,加深对其的强致病性的理解与生物安全意识。在具体的教学过程中,示教结果是由教辅技术人员去操作完成的,其进行此试验的目的是做出“清晰、亮丽的双层溶血环”结果给学生们看,以使学生对其的印象深刻、牢固学习效果,进而为整个实验教学质量提供了保障。

2 “双层溶血环实验”中的“三位一体化”管理

2.1 安全管理

产气荚膜梭菌既能产生强烈的外毒素,又有多种侵袭性酶,并有荚膜,构成其强大的侵袭力,引起感染致病,甚至导致气性坏疽和食物中毒。其中最重要的是气性坏疽,死亡率高达40%~100%,所以对该毒株应当予以严格的管理。在开展相关实验操作的过程中注意严格操作,不得马虎。在实验教学过程,对于所应用的毒株需要进行严格的管控(参见图1),各项操作必须在二级生物安全柜内严格实施无菌操作技术。同时,由于产气荚

膜梭菌的菌株在厌氧环境中进行培养之后会产生多种有害物质(如丁酸、丁醇等)与大量气体,因此,在实验操作中,不主张在敞开的环境中开启厌氧罐,也不能立即观察。为保证人员安全,必须在有排风系统的设备中(通风橱内)操作,待废气排净后方可保存或示教(参见图1)^[1]。另外,在实验结束之后,对于相关材料必须严格密封与标记,并作高压灭菌处理(参见图1)。



图1 “双层溶血环实验”安全管理

2.2 质量管理

达到教学要求与符合安全要求,实验结果能很好的满足教学的需要(参见图2、3)。在应用不同培养基进行培养和相关实验操作之后,苯乙醇厌氧培养基(EPA)与兔血琼脂平板培养基(CRBA)均可以观察到出现双层溶血环,相应的溶血环亮丽、清晰,可以满足实际教学展示的需求。另外,在实验结果的稳定性方面,通过观察发现,不同培养基所得实验结果均可以在室温条件下或者4℃环境下维持一定的时间,满足实验教学的需求。

但是,经过对比可以观察到,不同培养基在最终培养效果方面存在一定的差异。其中,在应用兔血琼脂平板培养基(CRBA)的过程中,同一菌株对兔血的溶血活性存在一定的差异,因此在具体实验中需要耗费一定的时间进行筛选。这一过程中,还会消耗掉大量的实验材料,容易造成材料的浪费^[3]。同时,对兔血琼脂平板培养基(CRBA)的培养效果进行观察还发现,在兔血琼脂平板培养基(CRBA)平板上虽然可以观察到双层溶血环,但有时

会出现两个溶血环分界不够清晰的问题。而苯乙醇厌氧培养基(EPA)则更容易分离出单菌落,两环分界十分明显、环很有观感,不存在滞泥感。另外,在实验结果的稳定性方面,通过对比发现,在室温条件下,苯乙醇厌氧培养基(EPA)的双层溶血环效果可以维持1周左右的时间,而兔血琼脂平板培养基(CRBA)内双层溶血环在室温条件下大多只能维持1天左右的时间。在4℃下,兔血琼脂平板培养基(CRBA)内双层溶血环所维持的时间在5~6天,苯乙醇厌氧培养基(EPA)出现的双层溶血环则可以维持4周左右的时间。



图2 “双层溶血环实验”质量管理/苯乙醇厌氧培养基(EPA)效果



图3 “双层溶血环实验”质量管理/兔血琼脂平板培养基(CRBA)效果

2.3 效能管理

“双层溶血环实验”中,双层溶血环的稳定性以及实验效果与多种因素相关,除了实验过程中的厌氧条件和所选择菌株的情况之外,实验中所使用的培养基的具体类型也会产生重要的影响。在以往的实验教学中,应用较多的大多是自制的兔血琼脂平板培养基等培养基。但是,这些培养基大多存在制作时间较长,制作成本较高等问题。为此,我们实验室选择了市场上可购买的、价格适合的苯乙醇厌氧培养基(EPA),去替代费时、费力、费资金、由实验室自制的培养基(兔血平板CRBA、羊血平板SRBA)。苯乙醇厌氧培养基(EPA)中含有一定的苯乙醇,可以发挥

出良好的保鲜、防腐作用,可以对红细胞的新鲜度予以良好的维持。因此,与传统自制培养基相比较,使用苯乙醇厌氧培养基(EPA)所获得的双层溶血环会呈现相对较大的情况,且维持效果较好,短时间内不会出现双环融合、单环等情况^[4]。对于苯乙醇厌氧培养基(EPA)在“双层溶血环实验”中的具体应用效果,开展了相关的实验分析,与传统自制培养基的应用效果进行了对比。通过进行相关的比较实验,得出的实验结果是两者均可以满足教学示教需要。但是通过比较发现苯乙醇厌氧培养基(EPA)更易分离出单菌落,观察发现存在明显的两环分界,环很有观感,且可在4℃条件下维持大约4周的时间,与传统自制培养基相比较在效果与稳定性的维持上更胜一筹,更提高了效能、质量、安全的要求。



图4 “双层溶血环实验”效能管理

基于以上三要素的必须性,在根据时代发展的需求下,我们实验室将该实验进行“安全、质量、效能”一体化管理^[1-4]。

3 讨论分析

“安全、质量、效能”三者的关系如何,如何达到一体化管理?这种管理是要求相关操作者,必须知其然与知其所以然的。

首先,质量与安全是相辅相成的,何者为首考因素,要具体

问题具体分析;按理教学的最大目标是质量,但是对于这种涉及生物安全的实验课,在“产气荚膜梭菌的双层溶血环实验教学模式”的构思中要考虑到的因素有:菌株的毒性、操作设施、人员与环境的安全保障,实验效果质量如何等;就目前我们实验室的设施、场地是有限性的,就教育对象本科生而言,将安全位居第一,即实施“示教式的教学模式”是稳妥、有效的。只有在安全有保障的前提下,才能让学生静心地学习、激发其对医学微生物实验课的学习兴趣,才能达到教学目的与相应的教学质量。其次,在“安全,质量”有保障的前提下,提高效能也是必须的,这也是全球发展的最终趋势与结果。表面上看来,购买的培养基EPA价格与市面上出售的要高些,但是因其维持稳定性很好,能达到一周,甚至更长,所以需要的量不多;而自制的羊血或兔血血平板实验效果很不稳定,需要用较多的量去测试、筛选、淘汰,很费时、费力、费经费,因此在提高效能上,苯乙醇厌氧培养基(EPA)更胜一筹。

[课题项目]

本项目受中山大学中山医学院2022年校级质量工程及教改项目院系自行立项项目(教务【2022】91号)经费资助。

[参考文献]

[1]邓娟,何晓燕,屠静,等.“医学微生物学”本科实验教学中生物安全的落实与实践[J].微生物学通报,2018,45(3):504-508.

[2]钟女奇,朱兆玲,陈剑煌,等.两种培养基在双层溶血环实验中的应用效果比较[J].临床医药文献电子杂志,2020,7(37):2-32.

[3]宋姗姗,杨艾华,王小敏.学生参与式医学微生物学实验示教品的制作与应用[J].Basic Medical Education, 2022,2(24):100-102.

[4]刘伯玉,刘浩,刘春燕,等.医学微生物学实验教学体系优化的思考[J].基础医学教育,2023,2(25):123-126.

作者简介:

钟女奇(1972--),女,汉族,广东兴宁人,大学本科,学士,实验师,从事基础科研技术、实验动物质量检测、基础医学病原生物学教学技术辅助工作。