

• 论 著 •

应用全面生化反应与血清学联合检测沙门菌的临床价值*

王娴默¹, 杨章元¹, 明亮¹, 谢良才¹, 鲁锦志¹, 肖林^{1△}, 李彦林²

(1. 荆州市第一人民医院, 湖北荆州 434000; 2. 昆明医科大学, 云南昆明 650100)

摘要:目的 探究全面生化反应与血清学检测在沙门菌临床检验中的价值。方法 选取 2013 年 4 月至 2014 年 4 月荆州市第一人民医院收治的 95 例疑似沙门菌感染的肠热症患者为研究对象, 随机分为研究组 48 例, 对照组 47 例。对照组予以常规检测, 研究组予以全面生化反应联合血清学检测, 比较两组检验结果。结果 研究组沙门菌检出率为 93.75%, 明显高于对照组的检出率 68.09%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 先采用全面生化反应试验, 再进行血清学检测, 可有效检出沙门菌, 值得在临床上推广应用。

关键词:沙门菌; 临床检验; 全面生化反应; 血清学检测

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.11.003

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)11-1486-02

Clinical value of combined detection of serological and biochemical test for Salmonellain*

Wang Xianmo¹, Yang Zhangyuan¹, Ming Liang¹, Xie Liangcai¹, Lu Jinzhi¹, Xiao Lin^{1△}, Li Yanlin²

(1. the First People's Hospital of Jingzhou City, Jingzhou, Hubei 434000, China; 2. Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650100, China)

Abstract: Objective To explore the value of comprehensive biochemical and serological test in Salmonella clinical test. **Methods** A total of 95 cases of suspected salmonella infection with enteric fever were selected as subjects in this study from April 2013 to April 2014, and 48 cases randomly divided in research group, 47 cases in control group. Regular inspection was conducted in the control group, comprehensive biochemical and serological test were conducted in the control group. Compared the results in the two groups. **Results** The salmonella detection rate in the research group was 93.75%, which was significant higher than 68.09% in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** Combined detection of comprehensive biochemical and serology test could detect Salmonella effectively, it is worthy of application and popularization in clinic.

Key words: Salmonella; clinical trial; comprehensive biochemical reactions; serologic testing

沙门菌是寄生于机体肠道内的肠道致病菌^[1-3], 该病菌的抗原构造和生化反应与革兰阴性菌相似, 是人类食物中毒的主要病原菌之一。一旦食用感染沙门菌的食物, 人体在数分钟内即可出现呕吐、腹泻、发热等感染症状, 且感染严重时可引发严重脱水而导致休克, 甚至危及患者生命安全^[4], 因此应采用科学有效的沙门菌检验方法, 对沙门菌感染进行及早诊断和治疗。本研究以 95 例疑似沙门菌感染的肠热症患者为研究对象, 探讨了全面生化反应联合血清学检测在沙门菌临床检验中的价值。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 4 月至 2014 年 4 月荆州市第一人民医院收治的 95 例疑似沙门菌感染的肠热症患者, 随机分为研究组 48 例, 对照组 47 例。研究组中男 20 例, 女 28 例, 年龄 22~50 岁, 平均(37.14±2.17)岁, 病程 20~32 d, 平均病程(26.18±1.06)d, 其中发热 22 例、全身不适 13 例、乏力 8 例、持续高热 3 例、肝脾肿大 2 例; 对照组中男 17 例, 女 30 例, 年龄 23~52 岁, 平均(38.46±2.25)岁, 病程 21~30 d, 平均病程(25.07±1.02)d, 其中发热 20 例、全身不适 14 例、乏力 9 例、持续高热 3 例、肝脾肿大 1 例。两组患者性别、年龄、病程、病情等一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 仪器与试剂 法国生物梅里埃 Vitek-32 全自动生化测定仪、温箱、显微镜、均质器、灭菌吸管、平皿、接种棒和橡皮乳头。孔雀绿增菌液、亚硒酸盐胱氨酸(SC)增菌液, 麦芽汁

(HE)琼脂、三糖铁(TSI)琼脂、沙门-志贺氏(SS)琼脂和亚硫酸铋琼脂、氰化钾培养基和氨基酸脱羧酶培养基均购自浙江宁波天润生物药业有限公司。沙门氏菌凝集血清购自兰州生物制品研究所。质控菌株购自中国食品药品检定研究院, 伤寒沙门菌 CMCC50096、伤寒沙门菌 CMCC50097、甲型沙门副伤寒菌 CMCC50001、乙型副伤寒沙门菌 CMCC50005、丙型副伤寒沙门菌 CMCC50306。所有试剂均在有效期内使用。

1.3 标本采集 对照组患者按照常规方法, 采集大便标本; 研究组根据患者不同阶段病情变化选择不同的标本采集方法, 肠热症患者病程第 1 周时采集静脉血, 发病 1~2 周阶段采集骨髓液; 伴有肠胃炎的肠热症患者发病 1 周时采集新鲜粪便送检, 而带菌者可利用经消毒的棉拭子采集直肠表面黏膜, 发病 1 周后肠热症患者可对中段尿进行采集, 2 800 r/min 离心 5 min 后进行检测; 疑似沙门菌食物中毒患者采集的标本除粪便外, 还包括呕吐物、可疑食物及可疑食物样品标本, 置于无菌器皿内送检。

1.4 鉴定方法 (1)对照组进行常规检测^[5], 大便标本称取 1 g, 放入装有 10 mL 灭菌生理盐水的试管中, 充分振荡后备用; 进行细菌分离培养, 在生物安全柜内以 1:10 的比例接种于 SC 增菌液中, 同时以无菌接种环分别划线接种于 HE 及沙门菌显色培养基上, 37℃培养 20 h。分离接种培养后, 在 SS 平板上生长出中等大小, 光滑湿润, 无色、半透明菌落, 在麦康凯平板上生长出中等大小, 光滑湿润, 无色、半透明菌落, 在山梨醇麦康凯琼脂

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30860286)。 作者简介: 王娴默, 女, 主治医师, 主要从事临床检验研究。 △ 通讯作者, E-mail: w-gaoda@tom.com。

平板上生长出中等大小、粉红色菌落,在血平板上生长出中等大小、灰白色、边缘整齐、不溶血菌落,在营养平板上生长出中等大小、圆形、光滑湿润菌落,在四号琼脂平板上不生长。涂片染色:此菌为革兰阴性小杆菌。根据细菌在各培养基上生长特性、革兰染色形态初步判定可疑沙门菌。(2) 研究组进行全面生化反应试验,挑取各种不同平板上的可疑菌落,并将可疑菌落接种至 1% TSI 琼脂中,再对 TSI 琼脂内的反应进行观察,若琼脂内含有斜面产酸和硫化氢阴性的菌株,则予以排除。另外,接种 TSI 琼脂时,可采用蛋白胨水接种,靛基质试验中蛋白胨为常用成分,同时接种尿素琼脂和氨基酸脱羧酶培养基,在(36±1)℃ 温度环境内培养 4~18 h,并采用生物梅里埃 Vitek-32 全自动生化鉴定仪进行生化反应,并按国家标准进行血清学鉴定^[6]。血清学检测先使血液凝集^[7],由于大部分沙门菌处于 A~F 群,因此凝集时选取 A~F 多价 O 血清的凝集行血清学检测,再对血清因子行定群处理,即采用 5 个 O 群的因子行血清定群,并且以 H 因子血清相行凝集,使 H 因子血清相中第一相与第二相凝集,利用凝集的结果判断血清型。凝集情况 O₂、O₄、O₇~O₁₁ 分别属于 A 群、B 群、C1 亚群、C2 亚群、D 群、E 群、F 群。综合 H 因子血清第一、二相,依据凝集结果决定所属血清型。沙门菌有菌体抗原“O”和鞭毛抗原“H”。依据菌体抗原结构分 A、B、C、D 等 34 个组,又根据鞭毛抗原不同区分组内各菌种。沙门菌有些仅对人类有致病性,如伤寒杆菌、副伤寒(甲和丙)沙门菌等;有些是动物和人类的共同致病菌,如副伤寒乙沙门菌、鼠伤寒杆菌、肠炎杆菌等^[8];有些仅对动物有致病性,如鸡痢沙门菌、鸡伤寒沙门菌等。引起人类疾病的沙门菌主要属于 A、B、C、D、E 5 组^[9]。其中除伤寒和副伤寒沙门菌外,以 B 组的鼠伤寒沙门菌、C 组的猪霍乱沙门菌、D 组的肠炎沙门菌及 E 组的鸭沙门菌等 10 型最为常见^[10]。临床可以依据菌群的分型分析对人类或动物的致病性,方便进一步的处理。检测过程严格按照 2010 年《GB4789.4 食品微生物学检验沙门氏菌检验》的要求进行。

1.5 生化反应与血清学检测结果判定标准 生化反应试验中液面试剂变为红色则呈阳性,变为黄色则呈阴性,可判断为沙门菌。血清学检测中伤寒沙门菌 O 凝集效价大于或等于 1:80, H 凝集效价大于或等于 1:160, 副伤寒沙门菌 H 凝集效价大于或等于 1:80, 则沙门菌抗血清呈阳性。

1.6 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

研究组阳性反应、阴性反应的例数分别为 45、3 例,对照组阳性反应、阴性反应的例数分别为 32、15 例,研究组与对照组沙门菌阳性检出率分别为 93.75%、68.09%,研究组明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨 论

近年来,随着国民生活水平的不断提高,饮食种类日益增多,食品安全问题也日益突出,人们常因食用感染肠道致病菌的食物而发生食物中毒,甚至危及生命安全。不洁的食物中含有多种肠道致病菌,其中沙门菌是最主要致病菌之一^[1-2],因此采用快速、高效的检测方法检出沙门菌对沙门菌感染相关疾病的诊断和治疗起关键性作用。

本研究结果显示,研究组沙门菌检出率为 93.75%,高于对照组的 68.09%,两组差异有统计学意义($P < 0.05$),这表明

全面生化反应联合血清学检测可明显提高沙门菌检出率。沙门菌感染可引发一系列胃肠道疾病,其中以肠热症最为常见。肠热症是伤寒病和副伤寒病的总称,主要由伤寒沙门菌和甲、乙、丙型副伤寒沙门菌引起^[10-11],常规检验虽然一定程度上可检出一定比例沙门菌,但由于该检测方法设备不足,且极易受温度等外界因素干扰,因此难以取得理想的检验效果,从而无法作为沙门菌检测的有效方法,难以为肠热症的诊断和后续治疗提供依据。生化反应试验采用尿素琼脂和氨基酸脱羧酶培养基等对可疑菌落进行培养^[12],通过液面颜色变化,可直观判断是否呈阳性,若呈阳性则为沙门菌。之后本研究采用血清学检测对生化反应试验结果进行验证,该检验方法通过可疑菌落与相应抗体凝集,将无菌生理盐水与可疑菌落、可疑菌落抗血清混合,并置于培养皿中,在温育 15~20 min 后,可检查是否有颗粒沉淀,并对照阳性反应标准,从而快速判定可疑菌落为沙门菌。本研究采用 2 种方法联合检测,可明显提升沙门菌检测的准确性,为肠热症等沙门菌感染疾病的诊断和治疗提供客观依据。

值得注意的是,急性腹泻患者应取首次就诊时粪便标本最佳,如使用抗菌药物后采集则影响检测结果,增加假阳性例数,可能引起漏诊。在菌落选择时,需选足量菌落进行生化反应。生化反应以纯培养物进行试验,如有血清学阳性,而生化反应特征不符,应对接种物进行纯化,使用纯化后的培养物进行生化试验。通过细节改进,才能为沙门氏菌的诊断提供有利保障。

综上所述,先采用全面生化反应试验,再进行血清学检测,可有效检出沙门菌,具有良好的检测效果,值得在临床上推广应用^[12]。

参 考 文 献

- [1] 谢益君,曹利君,陈米娜,等. 776 例腹泻患者肠道致病菌分析[J]. 浙江预防医学,2013,25(8):48-50.
- [2] 张平,李朝兰,周泽君,等. 沙门菌致 1 起食物中毒调查[J]. 预防医学情报杂志,2012,28(4):298-300.
- [3] 杨贤斌. 全面生化反应和血清学检验在沙门菌临床检验中的应用[J]. 求医问药:下半月刊,2013,11(9):175-176.
- [4] 周发为. 临床常用检验方法在检测沙门菌中效果分析[J]. 牡丹江医学院学报,2014,35(4):105-106.
- [5] 吴水英. 婴幼儿轮状病毒腹泻并发肠道菌群失调状态的探讨[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(23):5299-5301.
- [6] 余树荣. 微生物学和微生物学检验[M]. 北京:人民卫生出版社,1997:181.
- [7] 梁庆全. 全面生化反应和血清学检验在沙门菌临床检验中的应用[J]. 中国医药指南,2013,11(4):563.
- [8] 郭仲辉,陈冬雅,黎毓光,等. 沙门菌的检测及耐药性分析[J]. 实验与检验医学,2013,31(1):63-64.
- [9] 陈琼,孔繁德,彭海滨,等. 沙门菌分离株药物敏感试验和抗生素耐药性分析[J]. 中国抗生素杂志,2008,33(1):3.
- [10] 封会茹,赵伟,秦萌,等. 丰台区急性感染性腹泻病原菌分布及耐药性分析[J]. 实用预防医学,2013,20(8):900-903.
- [11] 李立芳. 全面生化反应和血清学检验在沙门菌临床检验中的应用研究[J]. 中外医学研究,2013,11(26):57.
- [12] 丛洪财. 全面生化反应和血清学检验在沙门菌临床检验中的应用[J]. 亚太传统医药,2011,7(5):98-99.