

· 论 著 ·

改良 TT 增菌液在分离肠道致病菌沙门菌和志贺菌的应用评价

罗宇鹏

(四川省成都市第五人民医院检验科 611130)

摘要:目的 分析改良 TT 增菌液在分离肠道致病中沙门菌和志贺菌的效果评价。方法 采用常规接种麦康凯平板及 SS 平板,同时另外加种改良 TT 增菌液(硫代硫酸钠碳酸钙增菌液)两种不同方法筛查沙门志贺菌,并参考该院历年菌株分离情况进行血清凝聚。采用 SPSS18.0 统计软件包处理数据,比较两种不同粪便培养方法对沙门菌和志贺菌的分离率之间差异。结果 2013~2015 年纳入统计分析粪便培养标本 790 例,采用常规方法分离出沙门菌属 30 例,阳性率 3.80%;志贺菌属 5 例,阳性率 0.63%;而采用改良 TT 增菌培养方法分离出沙门菌属 77 例,阳性率 9.75%,志贺菌属 7 例,阳性率 0.89%;采用改良 TT 增菌液培养方法沙门菌检出率是常规培养方法 2.57 倍,志贺菌属是 1.41 倍,两种方法对沙门志贺菌属的分离差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 改良 TT 增菌液能够显著提高粪便培养沙门菌和志贺菌的阳性分离率,为临床医生正确诊治患者提供较大帮助。

关键词:改良 TT 增菌液; 大便培养; 沙门菌; 志贺菌; 分离率

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.028

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)23-3313-02

Application evaluation of modified TT enrichment broth in separation of intestinal pathogenic Salmonella and Shigella bacteria

LUO Yupeng

(Department of Clinical Laboratory, Chengdu Municipal Fifth People's Hospital, Chengdu, Sichuan 611130, China)

Abstract: **Objective** To analyze the effect evaluation of modified TT enrichment broth in the separation of intestinal pathogenic Salmonella and Shigella bacteria. **Methods** The routine inoculation of Macconkey agar and SS agar were adopted, meanwhile two different methods for adding the modified TT enrichment broth(sodium thiosulfate and calcium carbonate) were used to screen Salmonella and Shigella bacteria. Serum coagulation was performed by referring to the bacterial isolation situation over the years. The SPSS 18.0 software was adopted to process the data. Then the difference in the separation rate of Salmonella and Shigella bacteria between the two different stool culture methods was compared. **Results** Totally 790 stool culture samples during 2013—2015 were included into the statistical analysis, 30 cases of Salmonella bacteria were isolated by adopting the routine method, the positive rate was 3.80%; 5 cases were Shigella bacteria, the positive rate was 0.63%; but 77 cases of Salmonella bacteria were isolated by adopting the modified TT enrichment broth method, the positive rate was 9.75%, 7 cases were Shigella bacteria, the positive rate was 0.89%; the detection rate of Salmonella bacteria by adopting the modified TT enrichment broth method was 2.57 times of the conventional culture method, which of Shigella bacteria was 1.41 times, showing that the difference of Salmonella and Shigella bacteria isolation between the two different methods had statistical significance($P<0.05$). **Conclusion** The modified TT enrichment broth can significantly improve the positive isolation rate of Salmonella and Shigella stool culture, which provides larger help for clinical doctor's correct diagnosis and treatment of patients.

Key words: modified TT enrichment broth; stool cultivation; Salmonella; Shigella; isolation rate

沙门菌和志贺菌是引起肠道致病菌的主要病原菌。其中沙门菌主要通过污染的食品或水源经口传染引起急性胃肠炎或食物中毒、菌血症或败血症、伤寒与副伤寒等。而志贺菌主要引起人类细菌性痢疾,引起发热、腹痛、腹泻、黏液脓血便等症状,小儿感染常可以发生中毒性菌痢引起全身中毒症状,抢救不及时往往可导致死亡。而沙门菌和志贺菌常规分离主要依靠采取粪便标本接种麦康凯、SS 平板或 XLD 平板(木糖赖氨酸去氧胆酸钠琼脂平板)隔夜培养后,挑取可疑菌落进行生化反应和血清凝集,但由于肠道中正常菌群将较多及临床抗菌药物使用后采集标本送检,使得沙门菌和志贺菌的检出率偏低,为临床医生正确诊治患者带来很大困扰。笔者对本院 2013~2015 年所送检的粪便标本采用加种改良 TT 增菌液与常规接种麦康凯和 SS 平板筛查沙门志贺菌两种不同方法进行对比分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 材料来源 选择 2013~2015 年本院门诊及住院患者所送检的粪便培养标本 7 743 例,纳入统计标本 790 例。标本纳入标准^[1]:粪便性状异常如稀便、水样便、黏液便、脓血便及血便;粪便涂片镜检白细胞 ≥ 5 /HP。

1.2 仪器、试剂与方法

1.2.1 仪器与试剂 珠海迪尔鉴定及药敏系统;营养琼脂平板、麦康凯平板、SS 平板、改良 TT 增菌液及其配套碘液均购自成都瑞琦实业有限公司;沙门志贺菌诊断血清均由宁波天润;珠海迪尔鉴定及药敏系统、普通培养箱及二氧化碳培养箱等。

1.2.2 改良 TT 增菌液及其配套碘液配方及制作流程^[1] 蛋白胨 5 g、酵母粉 5 g、胆盐 1 g、碳酸钙 10 g、硫代硫酸钠 30 g、蒸馏水 1 000 mL,将所有成分煮沸溶解,分装大试管,每支 10

mL, 121 ℃ 高压蒸汽灭菌后置 2~8 ℃ 保存备用; 配套碘液: 碘化钾 3.0 g, 碘 2.0 g, 蒸馏水 300 mL, 碾磨溶解避光备用; 上述两个产品均有成都瑞琦实业有限公司代配制。

1.2.3 质控菌株 大肠埃希菌 ATCC 25922、鼠伤寒沙门菌 ATCC14028、福氏志贺菌 ATCC12022、粪肠球菌 ATCC29212、奇异变形杆菌 ATCC12453 等购自国家卫生和计划生育委员会临床检验中心。

1.2.4 标本接种及培养方法 (1) 常规方法: 挑取理想部位粪便标本接种麦康凯及 SS 平板, 隔夜培养; (2) 改良方法: 取 200 μL 配套碘液至改良 TT 增菌液管中摇匀后, 在挑取理想部位粪便标本接种改良 TT 增菌液中隔夜培养后, 再将增菌液转种在麦康凯及 SS 平板。

1.2.5 病原菌的鉴定及血清学分型^[1-3] (1) 沙门菌: 挑取麦康凯平板无色透明菌落而 SS 平板产黑色色素中心透明可疑菌落进行分纯于营养琼脂平板 35 ℃ 隔夜培养后上迪尔鉴定药敏板, 若初步生化反应提示为沙门菌后, 用沙门菌诊断血清进行分型, 分型标准参照全国临床检验操作规程(第 4 版) 相关章节执行; (2) 志贺菌: 挑取麦康凯平板、SS 平板上均为无色透明可疑菌落分纯于营养琼脂平板 35 ℃ 隔夜培养后上迪尔鉴定药敏板, 若初步生化反应提示为志贺菌后, 用志贺菌诊断血清进行分型, 分型标准参照全国临床检验操作规程(第四版) 相关章节执行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行处理。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

采用常规方法分离出沙门菌 30 株, 志贺菌 5 株; 采用改良 TT 增菌液方法分离出沙门菌 77 株, 志贺菌 7 株; 采用 χ^2 检验, 两种不同粪便培养方法学分离的沙门菌属和志贺菌属阳性率比较, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 粪便培养常规方法与改良 TT 增菌液培养沙门菌与志贺菌分离率情况

方法	n	沙门菌属			志贺菌属		
		阳性	阳性率	假阴性率	阳性	阳性率	假阴性率
		(n)	(%)	(%)	(n)	(%)	(%)
常规培养	790	30	3.80	61.04	5	0.63	28.57
改良 TT 增菌培养	790	77	9.75	—	7	0.89	—

注: — 表示无数据。

3 讨 论

引起肠道腹泻的原因可以分为细菌性、真菌性及病毒性三大类, 而细菌性腹泻又可分为侵袭性腹泻和毒素性腹泻两大类, 在侵袭性腹泻中有沙门菌、志贺菌、致泻性大肠埃希菌中的肠致病性大肠杆菌(EPEC)、肠产毒性大肠杆菌(ETEC)、小肠耶尔森菌等^[4-6]。细菌性腹泻尤以沙门菌和志贺菌属最为多见。沙门菌属主要通过污染食品或水源经口传染, 引起急性胃肠炎或食物中毒、菌血症或败血症、伤寒与副伤寒或病原菌携带者等。志贺菌属主要引起人类细菌性痢疾, 表现为急性菌痢、慢性菌痢、隐匿性菌痢和携带者; 典型的急性菌痢表现为发热、腹痛、腹泻、黏液脓血便等症状。在小儿常可发生中毒性菌痢, 患儿常无明显的消化道症状而表现为中毒症状, 若抢救不及时, 往往可导致死亡。因此, 在临床粪便培养标本中对沙门

志贺菌属的分离显得尤为重要。

改良 TT 增菌液(硫代硫酸钠碳酸钙增菌液)由四硫黄酸盐(TT)增菌液衍生而来, 用于对沙门菌和志贺菌等肠道致病菌进行增菌。增菌液中的硫代硫酸钠、碳酸钙能够很好起到拮抗抗菌药物的作用, 碳酸钙更能使整个培养基在增菌培养过程中 pH 值始终维持在一个弱碱的状态, 因此特别适用于从经过经验性治疗后的粪便中分离沙门菌或志贺菌。通过表 1 的数据可以看出, 通过改良 TT 增菌培养对沙门菌、志贺菌的分离率远远高于常规培养的分离率, 差异有统计学意义($P<0.05$); 尤其对沙门菌属的检出率明显高于我国监测报道结果^[7-9]; 常规培养的方法对沙门志贺菌的检出率存在着较高的假阴性率, 对沙门菌属表现尤为明显, 假阴性率达 61.04%, 对志贺菌也存在着较高的假阴性率(28.57%)。

另外值得注意的是, 3 年志贺菌属总共才分离到 7 例标本, 检出率较低(0.89%), 即使使用改良 TT 增菌液也是如此, 这与相关研究报道的 18.78%、16.70% 明显偏低很多^[8-9]。究其原因, 志贺菌属的抵抗力弱于其他肠道杆菌, 加热至 60 ℃、10 min 就可杀死, 对酸和一般消毒剂敏感。在粪便中, 由于其他肠道菌产酸或噬菌体的作用常使志贺菌属在数小时内死亡, 因此要求粪便标本培养应迅速送检。本次分析中如此低的志贺菌属检出率或许与志贺菌属细菌自身对环境及化学消毒剂抵抗力较差、标本延迟送检延迟处理以及患者经验性使用抗菌药物等因素有关。

总之, 改良 TT 增菌液在肠道腹泻患者的粪便培养中对沙门志贺菌属尤其是沙门菌属的分离率有着显著提高, 从而有助于临床医生对肠道腹泻患者的正确诊治, 值得推广使用。

参考文献

[1] 陈东科, 孙长贵. 实用临床微生物学检验与图谱[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.

[2] 尚红、王毓三、申子瑜, 等. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.

[3] 周庭银. 临床微生物学诊断与图解[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2007.

[4] 张秀珍. 临床微生物检验问与答[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014.

[5] 王辉, 任健康. 临床微生物学检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.

[6] Tamm TI, Nepomnyashchii VV, Shakalova EA. Experimental substantiation of possibility of sanitation for purulent enteritis in mechanical acute ileus[J]. Klin Khir, 2015, 23(2): 73-75.

[7] 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型[J]. 实用预防医学, 2013, 20(8): 900-903.

[8] 沈丽珍, 陈素菜, 张爱鸣, 等. 感染性腹泻患者病原菌分布与耐药性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 25(23): 5338-5340.

[9] 顾蓓青, 祝慧华, 沈英莲, 等. 感染性腹泻常见病原菌的分布与耐药性分型[J]. 中国乡村医药, 2015, 22(23): 65-66.