DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.03.036

腹泻患者肠道病原菌的分离培养结果分析

薛 强 (第三军医大学西南医院检验科) 630038

腹泻是消化道的一种常见病。采大便标本进行细菌培养是诊断该病的重要手段之一。由此可见实验室能否准确地检出病原菌,其培养基的选择甚为关键。通常情况下,实验室进行肠道菌培养时,往往将标本单纯接种至SS平板或麦康凯平板上。置37℃ 24 h后观察其细菌是否发酵乳糖。凡能发酵乳糖者基本上被视为无致病菌生长。笔者近年来同时采用SS平板、麦康凯平板、血琼脂平板、沙保罗氏琼脂培养基从腹泻患者大便中分离培养出106株病原菌。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源

均采自我院门诊及住院腹泻患者的大便标本。患者年龄最小的3个月,最大的67岁。男性48例,女性58例。

1.2 细菌培养

采用分区划线法将标本同时接种至4种不同的培养基。一般的细菌置36℃ 24 h后观察结果,霉菌及耶尔森氏菌分别置25℃、28℃放48～72 h后观察结果。

1.3 生化鉴定

根据纯培养后菌落的形态特点、染色结果及氧化酶试验等初步判出细菌科别。然后根据细菌的不同科别分别进行不同的生化反应及血清学鉴定[1]。

2 结果及讨论

从SS平板、麦康凯平板、血平板及沙保罗氏培养基中分别检出病原菌83株、87株、106株、8株。其中血平板的检出率最高。而SS平板的检出率仅为血平板的78.3%,麦康凯平板的检出率为血平板的82.1%。60株志贺氏菌及沙门氏菌在SS平板、麦康凯平板及血平板3种培养基中均生长(详细见附表)。35株肠杆菌科的其它细菌在血平板上生长,而在SS平板上只有23株生长。其原因是SS平板为强选择性培养基,有许多细菌不能生长或生长不良。麦康凯平板上27株细菌生长。虽然阳性率高于SS平板,但仍有许多细菌不能存活。另外3株金黄色葡萄球菌仅在血平板上生长。8株酵母样菌在血平板及沙保氏培养基上均生长。

附表 4种培养基对各种肠道病原菌的检出结果

细菌名称	例数	SS平板	麦康凯平板	血平板	沙保氏培养基
福氏志贺氏痢疾杆菌	47	47	47	47	0
宋氏志贺氏痢疾杆菌	5	5	5	5	0
鲍氏志贺氏痢疾杆菌	2	2	2	2	0
肠炎沙门氏菌	3	3	3	3	0
伤寒沙门氏菌	2	2	2	2	0
鼠伤寒沙门氏菌	1	1	1	1	0
致病性大肠埃希氏菌	7	5	6	7	0
侵袭性大肠埃希氏菌	2	1	2	2	0
嗜水气单胞菌	5	3	3	5	0
温和气单胞菌	12	9	10	12	0
弗劳地枸橼酸杆菌	1	0	1	1	0
迟缓爱德华菌	1	0	0	1	0
结肠耶尔森氏菌	7	5	5	7	0
金黄色葡萄球菌	3	0	0	3	0
酵母样菌	8	0	0	8	8
合 计	106	83	87	106	8

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

上述结果表明：在有目的地培养沙门氏及志贺氏痢疾杆菌时，为了抑制某些细菌生长，可以直接选用SS平板和麦康凯平板[2]。除此之外，很有必要加用血平板联合使用，以提高病原菌的检出率。特别对于不明原因的腹泻患者更为重要。无论是霉菌感染还是细菌感染性腹泻均能收到较好效果。

关键词 腹泻微生物学；肠道病原菌；分离培养

中图法分类号 R574.62

参考文献

1 中华人民共和国医政司. 全国临床检验操作规程. 南京：东南大学出版社，1991：422

2 叶应妩，李健斋，王玉琛，主编. 临床实验诊断学（下册）. 北京：人民卫生出版社，1989：1950

（收稿：1993-06-28；修回：1994-03-11）

应用PCR技术检测结核标本的评价

熊鸿燕 （第三军医大学医疗医学系流行病学教研室）630038

薛 强 （第三军医大学西南医院检验科）630038

近年来结核病（TB）在人群中的发生频率上升，成为当今世界一严重的健康问题[1]时诊断、治疗病人，防治疾病的传播，临床和流行病学的检验急需建立快速准确的检测结核菌的方法。本试验用一结核杆菌特异、重复DNA序列作PCR扩增，用于TB可疑标本和非TB标本的检测。明显提高了快速检测TB标本的准确性。

1 材料与方法

1.1 临床标本的准备

临床可疑TB病人的标本，一部分（约0.3～0.4 ml）直接涂片，荧光染色[2]，荧光显微镜查找分枝杆菌；另一部分（0.05～0.5 ml）加等体积1 mol/L NaOH，混匀后置室温10 min，加适量1 mol/L NaH_2PO_4，使pH值为7.0左右，混匀，8 000 rpm离心10 min，弃上清液，将沉淀悬浮于400 μl 50 mmol/L Tris－HCl－5 mmol/L EDTA（pH8.0）中。取200 μl接种于5 ml罗氏培养液[3]中，37℃孵育25～31 d后用荧光染色法查找分枝杆菌；另200 μl用Eisenach[4]法制备DNA。

非结核阴性对照标本取自无TB的上呼吸道感染病人和正常工作人员的痰液；传染科和消化科无TB的肝硬化病人的腹水；心内科病人的胸水。DNA制备方法同前。

1.2 PCR扩增

本试验所选的扩增序列为复合型结核杆菌的一123 bp特异重复片段[5]。引物序列为 $P_1$5′－CCTGCGAGCGTAGGCGTCGG，$P_2$5′－CTCGTCCAGCGCCGCTTCGG。引物的合成由中国科学院上海细胞生物学研究所完成。Taq DNA多聚酶及四种dNTP由华美生物制品公司提供。

10 μl临床样本DNA溶液加入10 μl 10×PCR扩增缓冲液，两种引物各加140 ng，加入4种dNTP混合液，使其最终浓度均为0.2 mmol/L。加去离子水，使总反应体积为100 μl。将混合液置95℃处理5 min，加入2.5 U Taq DNA多聚酶，置基因扩增仪（GeneAmp PCR system 9600。Perkin-elmer corporation）94℃变性2 min，68℃退火、延伸2 min，重复25～30次。扩增同时，分别设阳性、阴性对照。阳性对照的DNA模板由标准结核菌株H_{37}Rv（北京结核病肺部肿瘤研究所提供）中提取。扩增产物作2%琼脂糖凝胶电泳，溴化乙锭染色后在302 nm紫外观测仪下观察123 bp扩增片段，出现该片段即为阳性结果。

2 结果

把分析的临床样本用涂片荧光染色检查、培养后荧光染色检查和PCR检查，结果表明（见附表），在可疑结核样本中，PCR和培养法检测的灵敏性相近，阳性检测出率分别为19/33、15/33，差异无统计学意义（$P>0.05$）。直接荧光染色法的检测灵敏性最差，阳性率为6/33，与PCR相比差异非常显著（$P<0.01$）。

附表 可疑结核样本和非结核对照样本检测结果

样本类型	来源（份数）	检测阳性结果数			
		染色	培养	PCR	培养和PCR
可疑结核样本					
	痰 (25)	5	11	13	10
	尿 (4)	0	1	2	1
	胸水 (2)	0	1	2	1
	腹水 (1)	0	1	1	1
	脑脊液 (1)	1	1	1	1
非结核对照样本					
	痰 (10)	0	N★	1△	
	腹水 (4)	0	N	0	
	胸水 (2)	0	N	0	

★：N表示未做此项检测；△：进一步将扩增产物用Sal I内切酶消化，出现阴性结果

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net