

从污水中检出沙门氏菌方法的改进

路文彬 孟 琛 刘 园

(北京市卫生防疫站)

从污水中分离沙门氏菌的前增菌法,所用的增菌液分离菌型不够广泛,甚至有些沙门氏菌不能生长,实践表明该法的检出效果很不理想。为此我们对前增菌法进行了改进,获得较好结果。

材 料 和 方 法

一、材料

(一) 培养基

1. 10 倍浓度的磷酸盐缓冲胨水 (PBP)^[1]
2. 改良的氯化镁孔雀绿增菌液 (R₁₀)^[2] 成

分:

甲液: 胰胨或多价胨 0.5 克, 氯化钠 0.8 克, 磷酸二氢钾 0.16 克, 蒸馏水 100 毫升。

乙液: 氯化镁 ($\text{MgCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 40 克, 蒸馏水 100 毫升。

丙液: 孔雀绿 0.4 克, 蒸馏水 100 毫升。

上述三者按甲液 100 毫升、乙液 10 毫升和丙液 1 毫升的比例混匀, 分装中试管内, 每管 10 毫升。15 磅消毒 30 分钟, 备用。

3. 氯化铋孔雀绿增菌液 (SCM)^[3]

4. 亚硒酸氢钠甘露醇增菌液 (SFM)^[4]: 此

液制备时,除亚硒酸氢钠外,将其它成分溶于蒸馏水中,10磅消毒15分钟,分装中试管,每管10毫升,备用。

5. 亚硫酸铋琼脂 (BSA)^[2]

(二) 沙门氏菌属诊断血清

成都生物制品研究所出品。

(三) 污水标本

35件污水标本采自北京和平里地区下水道污水。

二、方法

1. 采样: 用前增菌法的采样方法,取污水450毫升加入装有50毫升PBP的500毫升广口瓶中,混匀,37℃培养5—6小时。

2. 增菌培养: 从35件标本培养物中,取0.1毫升接种在R₁₀中,取1毫升接种在SCM中,取1毫升接种在SFM中。前二者放43℃培养24和48小时,后者在37℃培养24小时。

3. 分离培养: 在BSA平板上,R₁₀和SCM于24和48小时各分离一次。SFM仅于24小时分离一次。分离后放37℃培养40小时左右,观察结果。

4. 挑选菌落: 从BSA平板上挑选可疑沙门氏菌菌落,每板选4个。由于24和48小时各分离一次,故每件标本、每种方法至少选8个菌落。被选的菌落转种肠杆菌综合鉴别培养基上,37℃培养16小时以上,根据生化反应进行血清学分型。

结 果

一、不同增菌法的增菌效果

35件污水标本,用三种增菌液增菌法R₁₀/43℃、SCM/43℃和SFM/37℃进行检查,结果见表1。

表1结果表明,对一般沙门氏菌的阳性检出率R₁₀为100%,SCM为88.5%。二者均未检出伤寒沙门氏菌。而SFM只检出27件伤寒沙门氏菌,阳性率为77.1%。

二、三种增菌法分离的菌株数和血清型

从35件标本中,用R₁₀/43℃法共获得202株沙门氏菌,包括13个血清型;用SCM/43℃法

表1 不同增菌法的效果比较*

	增菌时间 (小时)	增 菌 方 法		
		一般沙门氏菌		伤寒沙 门氏菌
		R ₁₀ /43℃	SCM/43℃	SFM/37℃
阳性标本数	24	35	28	27
阳性率(%)		100	88.5	77.1
阳性标本数	48	30	27	--
阳性率(%)		85.7	77.1	

* 检查标本数为35件。

共获得164株沙门氏菌,包括10个血清型。而用SFM/37℃法共获得96株沙门氏菌,包括4个血清型(其中伤寒沙门氏菌84株,鼠伤寒沙门氏菌2株,鸭沙门氏菌1株,乙型副伤寒沙门氏菌9株)。

三、不同增菌时间的增菌效果(见表2)

表2 不同增菌时间的增菌效果

增 菌 液	R ₁₀		SCM	
增菌时间(小时)	24	48	24	48
分离菌株数及菌型	110(10)*	92(13)	91(10)	73(10)

* 括号内的数字为菌型数。

表2表明,R₁₀增菌培养48小时,分离菌株数比24小时少,但分离的血清型较多;同样,SCM增菌培养48小时,分离的菌株数也比24小时少,但获得同样多的菌型。说明延长增菌时间,能分离出更多血清型的沙门氏菌。

四、三种增菌法分离的血清型

从35件污水标本中获得的462株沙门氏菌,共分离出15个不同血清型(见表3),其中斯坦利沙门氏菌(*S. stanley*)和田纳西沙门氏菌(*S. tennessee*)是本次实验中新分离到的菌型。

讨 论

1 1976年用原法检查396件污水标本,用SFL/43℃和SFM/37℃共分离出857株沙门氏菌,得到21个血清型,总平均阳性率为91.9%,一般沙门氏菌阳性率为88.3%,伤寒沙门氏菌阳性率为34.6%。而用新改进的方法检查35件污水标本,用R₁₀/43℃共分离出202株沙门氏

表 3 血清型一览表

菌 型 名 称	菌株数(个)	菌 型 名 称	菌株数(个)
阿哥纳沙门氏菌 (<i>S. agona</i>)	15	科特布斯沙门氏菌 (<i>S. kottbus</i>)	2
剑桥沙门氏菌 (<i>S. cambridge</i>)	2	曼哈顿沙门氏菌 (<i>S. manhattan</i>)	56
婴儿沙门氏菌 (<i>S. infantis</i>)	1	明斯特沙门氏菌 (<i>S. muenster</i>)	1
火鸡沙门氏菌 (<i>S. meleagridis</i>)	55	乙型副伤寒沙门氏菌 (<i>S. paratyphi-B</i>)	20
波茨坦沙门氏菌 (<i>S. possdam</i>)	1	伤寒沙门氏菌 (<i>S. typhi</i>)	84
鼠伤寒沙门氏菌 (<i>S. typhimurium</i>)	27	斯坦利沙门氏菌 (<i>S. stanley</i>)	16
鸭沙门氏菌 (<i>S. anatum</i>)	38	田纳西沙门氏菌 (<i>S. tennessee</i>)	21
德彼沙门氏菌 (<i>S. derby</i>)	123		

菌, 13 个血清型, 阳性率为 100%; 用 SCM/43℃ 法分离出 164 株沙门氏菌, 10 个血清型, 阳性率为 88.5%; 用 SFM/37℃ 法共分离出伤寒沙门氏菌 84 株, 阳性率为 77.1%, 其他沙门氏菌仅分离出 12 株。

2. 检查一份污水标本所用的增菌培养基量, 原法为 225 毫升/瓶, 而新法为 10 毫升/瓶。新法比原法节省培养基用量 20 倍左右。

3. 实验中体会到, 如果用 SCM/43℃ 法, 将标本接种量由 1 毫升改为 0.1 毫升, 对沙门氏菌阳性检出率及获得的菌型数可能会更高。这一点还有待进一步探讨。

4. 实验中还证明了, 新改良的 R₁₀, 不仅适合在 43℃ 下培养沙门氏菌, 而且还适合更多血清型的沙门氏菌的增殖。这与 Vassiliadis 等报道的一致。SFM 适合分离伤寒沙门氏菌, 不适合一般沙门氏菌的增殖, 此点与 Ryan 等人所描述的一致。至于 Iveson 等指出的 SCM 适宜多种血清型沙门氏菌的增殖, 特别是对猪霍乱沙门氏菌和肠炎沙门氏菌的增殖更为有效。这一点还有待进一步验证。

5. 采样方法问题: 国内外采用的 Moor's 纱布团法和直接采污水法, 都强调标本的送检时间, 最长不超过 2 小时, 最好在半小时内。这一

点在一般情况下不易做到, 手续烦琐, 菌的增殖易受影响。而前增菌法的采样方法, 是在采样瓶中加入缓冲陈水后, 再放入污水标本。沙门氏菌在其内正常繁殖, 不受送检时间长短的影响。而且在培养过程中受损伤的菌能得到修补, 冬眠状态的菌能得到复甦等。说明此法优于其它采样法。

6. 通过各项实验比较, 我们认为用前增菌法的采样方法, 于 37℃ 培养, 用 R₁₀/43℃ 选择性增菌, BSA 平板分离, 是从污水中检查一般沙门氏菌较理想的方法。用 SFM/37℃ 选择性增菌, BSA 平板分离, 是目前从污水中检查伤寒沙门氏菌的较好方法。

参 考 文 献

- [1] 北京市卫生防疫站微生物检验科: 微生物学通报, 5(2): 14, 1978。
- [2] Vassiliadis, P. et Coll.: *Annales de Microbiology*. (Institut Pasteur), 127B, 195, 1975。
- [3] Iveson, J. B. et al.: *J. Hyg Camb.*, 67(3): 457, 1969。
- [4] Ryan, W. J.: *J. Med. Microbiol.*, 5(4): 533, 1972。
- [5] Bailey, W. R. and E. G. Scott: *Diagnostic Microbiology: a textbook for the isolation and identification of Pathogenic Microorganisms*, p. 364, 1974。