

# 污水中沙门氏菌前增菌检查法的研究

北京市卫生防疫站微生物检验科

从污水中分离沙门氏菌,一般先经增菌,然后再分离培养。最广泛使用的增菌培养基有亚硒酸盐(SF)、四硫磺酸盐和 Rappaport 氏增菌液等。但这些增菌液对伤寒沙门氏菌、猪霍乱沙门氏菌和肠炎沙门氏菌检出率较低,从污水中更不易检出。

近些年来,有人用提高培养温度<sup>[1]</sup>及采用前增菌法<sup>[2]</sup>来提高沙门氏菌的阳性检出率。

我们综合采用这两种方法,从污水中分离沙门氏菌,以2倍浓度的 Hobb's 增菌液,于37℃培养,分离伤寒沙门氏菌。并对不同温度条件下,直接增菌效果的比较和前增菌法实际应用的效果进行了观察。

## 一、培养基的制备

### (一) 增菌培养基

Hobb's<sup>[3]</sup>增菌液(SFM)成份:

亚硒酸氢钠 8 克, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 8 克,甘露醇 8

克,蛋白胨 10 克,蒸馏水 1000 毫升。

制备:上述成份中,除亚硒酸氢钠外,先加热溶解,必要时用 1N HCl 或 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 调 pH 到 7.5。勿用 NaOH 调节。冷却后加入亚硒酸氢钠。立即使用,不用消毒。也可用常压蒸汽消毒 10—15 分钟。

亚硒酸盐葡萄糖增菌液(SFG)

改良 Hobb's 增菌液(SFL)成份:

亚硒酸氢钠 4 克, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 6—8 克,乳糖 5 克,蛋白胨 10 克,蒸馏水 1,000 毫升。

制备方法同 SFM。

### (二) 分离培养基

肠道病原分离琼脂(HE)<sup>[4,5]</sup>

亚硫酸铋琼脂(BS)<sup>[6]</sup>

## 二、方法与结果

(一) 沙门氏菌在三种增菌培养基中生长情况的比较

表 1 含不同浓度的亚硒酸盐的三种增菌液增菌效果比较\*

菌 株	接种菌数 (个)	37℃					43℃	
		SFG		SFM			SFL	
		亚硒酸盐浓度		亚硒酸盐浓度			亚硒酸盐浓度	
		0.8%	1.0%	0.6%	0.8%	1.0%	0.4%	0.6%
乙型副伤寒沙门氏菌	170	+++	—	+++	+++	+	++++	+++
甲型副伤寒沙门氏菌	145	+++	—	+++	+++	—	++++	+++
伤寒沙门氏菌 I	170	+++	+	+++	+++	++	+	+
伤寒沙门氏菌 II	170	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
德比沙门氏菌	500	+++	—	+++	+++	++	++++	++++
鼠伤寒沙门氏菌	161	+++	—	+++	+++	+	++++	++++
伦敦沙门氏菌	110	+	—	+++	+++	+	++++	++++
鸭沙门氏菌	180	+++	—	+++	+++	—	++++	++++
猪霍乱沙门氏菌	40	—	—	+	—	—	—	—
肠炎沙门氏菌	49	17	—	++	—	—	—	—

\* + 平板菌落在 50 以下者; ++ 平板菌落在 50—100 者; +++ 平板菌落在 100—300 者; ++++ 平板菌落在 300 以上者。

按常规方法,将实验用菌株,接种在普通肉汁斜面上,37℃培养16—24小时,制成与细菌比浊标准管相同浓度的菌悬液,然后稀释至 $10^{-6}$ ,取出1毫升,接种到每管10毫升的SFG、SFM、SFL三种增菌液中,将SFG、SFM试管置37℃,SFL试管置43℃,培养16—24小时后,转种在HE平板上,比较生长情况,结果见表1。

表1结果表明,伤寒沙门氏菌在37℃条件下,在亚硒酸盐浓度为0.6—0.8%的SFM、SFG增菌液中,两株伤寒沙门氏菌生长情况无差别。当亚硒酸盐的浓度增大到1%时,则受到显著抑制。而在43℃条件下,亚硒酸盐浓度为0.4—0.6%的SFL增菌液中,两株伤寒沙门氏菌也同样受到明显抑制。

其他沙门氏菌,在37℃,亚硒酸盐浓度为0.6%的SFM、SFG增菌液中生长良好,在亚硒酸盐浓度为0.8%的SFM、SFG中受到不同程度的抑制。在亚硒酸盐为1%的增菌液中,绝大多数菌株不能生长。

肠炎沙门氏菌和猪霍乱沙门氏菌,在上述各浓度的亚硒酸盐增菌液中,均受到明显抑制。

(二)在两种温度条件下直接增菌法的比较

取平行污水样品\*,每份450毫升,分别加入10倍浓度的SF增菌液50毫升,混匀,分别放37℃、43℃培养20小时左右,取出后,各加10%的碳酸钠2毫升,10%的硫酸铁2毫升,充分混合,静置30分钟以上,沉淀集菌,弃上清液,用白金环挑取沉淀物,在HE平板上划线分离,37℃培养20小时左右,挑选可疑菌落,接种肠系综合鉴别培养管中,37℃培养后,根据初步生化反应,血清学鉴定,进行初步分型,再做系统生化鉴定。

在34份样品中,经37℃增菌,有10份阳性样品,阳性检出率为29.4%,经43℃增菌,有22份阳性样品,阳性检出率为64.7%。

(三)前增菌法和直接增菌法的比较

从每个采水点,每次取同样污水两份,每份

450毫升。1份直接加入10倍浓度的SFL增菌液50毫升,混匀,置43℃培养20小时左右。另一份按前增菌法进行:先加入50毫升10倍浓度的磷酸盐缓冲蛋白胨水(根据污水温度的高低,可先将胨水予热,然后加入污水样品中)到450毫升污水中,混匀,放37℃培养5—6小时,取出25毫升,转种到225毫升SFL增菌液中,置43℃培养20小时左右。同上述法沉淀集菌,取沉淀物,分别在HE平板上划线。

采用直接增菌法,在12份样品中,有7份为阳性,阳性检出率为58.3%;而前增菌法,12份样品均为阳性,阳性检出率为100%。

(四)前增菌法实际应用效果观察

按上述前增菌法,共做95份污水标本,进一步确证前增菌法的实际应用效果。

1. 37℃前增菌法应用效果:在63份样品中,用SFM增菌后,在HE平板上,有3份样品分离出伤寒杆菌,阳性检出率为4.7%,有11份样品分离出其他沙门氏菌,阳性检出率为17.4%。在BS平板上,有26份样品分离出伤寒沙门氏菌,阳性检出率为42%;有23份样品分离出其他沙门氏菌,阳性检出率为36.5%。

2. 43℃前增菌法分离其他沙门氏菌,结果在95份样品中,在HE平板上,有65份分离出沙门氏菌,阳性检出率为68.4%;在BS平板上,有84份样品分离出沙门氏菌,阳性检出率为87.4%。仅BS平板上有2份样品分离出伤寒沙门氏菌,HE平板未检出伤寒沙门氏菌。

#### 参 考 资 料

- [1] Nabbut, N. H.: *J. Hyg Camb.*, 71:49, 1973.
- [2] Edel, W. & E. H. Kampelmacher: *Bull. Wild Hlth Org*, 48:167, 1973.
- [3] Ryan, W. J.: *J. Med. Microbiol.*, 5:533, 1972.
- [4] King, S. et al.: *Applied Microbiol.*, 16:577, 1968.
- [5] King, S. et al.: *Applied Microbiol.*, 16:579, 1968.
- [6] Bailey, D. W.: *Diagnostic Microbiology*, Fourth Edition, 1974.

\* 污水采自北京市朝阳区高碑店污水厂,八里庄大队,朝阳医院,小庄泵房。