

大肠菌群检测用纸片的研制及实用效果观察

哈尔滨市卫生防疫站 纪舒萍 徐迪诚 赵卓 杨暑伏 张澜

大肠菌群是检测饮食品、污水及外环境污染程度的一项重要指标。目前国内沿用的发酵法，需要时间较长，难以满足工厂企业基层实验室的实际工作需要。1986年，我们研制出一种能检测固体、液体食品及外环境标本中大肠菌群的纸片，经实际应用，具有简便、快速、接种检样量大的优点，适合在我国各基层单位的实验室推广应用。现将纸片研制情况及实用效果报告如下：

材料与方 法

一、样品：市售清凉饮料579份，酒类128份，糖果糕点47份，肉制品及豆制品46份，乳及乳制品52份，水产品5份，餐具79份，医院新生儿病房用品32份，共计968份。

二、纸片的制备：参照文献^[1]，每100张小纸片中，含有蛋白胨2克、乳糖2克、肉膏0.5克、NaCl 1克、琼脂0.1克。10%去氧胆酸钠2毫升，指示剂适量。

每100张大纸片，上述成分的含量为100张小纸片的7.5倍。

三、检验方法与结果判定：

发酵法：按中华人民共和国国家标准^[2]进行。

纸片法：

1. 大肠菌群标准 < 3 的液体样品，纸片三大袋，每袋加样品10毫升；另六小袋，分别加入原倍及1:10稀释样品各1毫升，每种浓度各三袋。

大肠菌群标准 < 30 的固体样品及液体样品（如牛奶、冰棍、冰激凌等），按常规经前处理后操作。

2. 将样品接种于纸片，37℃培养15小时后

观察结果，根据阳性纸片数，查表计算MPN值。

3. 结果判定：纸片原呈淡绿色。纸片出现黄色表示发酵乳糖产酸；红点表示革兰氏阴性杆菌。大肠菌群阳性的纸片为黄色，其中带有红点。

4. 大肠菌群纸片放室温冷暗处避光保存，半年内使用有效。

结果与讨论

一、纸片法与发酵法对比试验：将样品接种于大肠菌群纸片上，37℃培养15小时后，将出现阳性反应的纸片红点无菌剪下，再接种于复发酵增菌管中，37℃培养18~24小时，产酸产气者确认为阳性结果。同时，按国家规定的发酵法进行操作做为对照试验。用两法同时检测968份标本，结果见表1、2。

表1 不同样品纸片法与发酵法的MPN值比较

	MPN相符		发酵法高于纸片法		纸片法高于发酵法		
	件数	%	件数	%	件数	%	
清凉饮料	579	559	96.5	2	0.3	18	3.1
酒 类	128	122	95.3	1	0.3	5	3.9
糖果糕点	47	47	100				
乳与乳制品	52	43	82.7	2	3.8	7	13.5
肉制品豆制品	46	42	91.3			4	8.7
水 产 品	5	5	100				
餐 具	76	74	93.7	1	1.3	4	5.1
医院新生儿病房用品	32	31	96.9			1	3.1
合计	968	923	95.4	6	0.6	39	4.0

由表1及表2可见，用两种方法对968份样品进行检验，MPN值符合者923份，符合

表 2 两种方法的合格率比较

件数	两法相符	纸片法合格、发酵法不合格	发酵法合格、纸片法不合格	符合率%
清凉饮料	579	571	8	98.6
酒 类	128	127	1	99.2
糖果糕点	47	47		100
乳与乳制品	52	51	1	98.1
肉制品豆制品	46	46		100
水产品	5	5		100
餐 具	79	78	1	98.7
医院新生儿病房用品	32	31	1	96.9
合 计	968	956	11	98.8

率为95.4%。两法的MPN不符合者45份,其中发酵法高于纸片法的6份,占样品份数的0.6%。纸片法高于发酵法的39份,占样品份数的4.0%。两法合格率的符合率为98.8%。两法MPN值及合格率之比无显著差异。对于出现的假阴性反应,经进一步证实,大部分为样品pH值过低所致。试验前如用灭菌的10%Na₂CO₃液调整pH值即可避免。少数样品出现假阴性反应的原因,尚待进一步探讨。本法经北京市卫生防疫站、上海市食品卫生监督检验所等10个单位考核验证,与发酵法的MPN值结果比较见表3。

二、大肠菌群纸片阳性菌落的证实试验:

将检查不同样品在纸片上出现的红点,无菌剪下100个,分别接种于复发酵培养基中,37℃培养18~24小时,产酸产气者再用EMB平板分离培养,37℃18小时后做革兰氏染色及靛基质、甲基红、V—P、柠檬酸盐、H₂S、明胶、动力、44℃乳糖发酵试验。验证结果全部为大肠菌群细菌。

三、大肠菌群纸片的敏感性和特异性试验:取标准大肠埃希氏菌(编号44815)的37℃、18小时肉汤培养物,连续10倍稀释后分别接种纸片和发酵培养基,用平板活菌计数法测定接种液的细菌含量,当每毫升含4个大肠埃希氏菌时,纸片即出现阳性反应。

表 3 各地纸片法和发酵法MPN值结果比较

件数	两法MPN相等件数	纸片法>发酵法件数	发酵法>纸片法件数	符合率%	
北京市卫生防疫站	90	76	12	2	84.4
上海市食品卫生检验所	29	26	1	2	89.7
长春市卫生防疫站	125	125			100
齐齐哈尔市卫生防疫站	52	52			100
牡丹江市卫生防疫站	50	49	1		98.0
大庆市卫生防疫站	102	91	10	1	89.2
哈尔滨市啤酒厂	50	49		1	98
哈尔滨市标局	50	50			100
哈尔滨市道外区卫生防疫站	50	43	7	0	86
哈尔滨市卫生防疫站	370	362	8		97.8
合 计	968	923	39	6	95.4

用已知大肠埃希氏菌、产气肠杆菌、柠檬酸细菌、克雷伯氏菌及宋内氏志贺氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、普通变形杆菌、副溶血性弧菌分别接种普通肉汤,37℃培养18~24小时,再分别接种大肠菌群纸片和乳糖胆盐发酵管,37℃培养,除大肠埃希氏菌、产气肠杆菌、克雷伯氏菌和柠檬酸细菌在大肠菌群纸片和乳糖胆盐发酵管呈阳性反应外,其他细菌均为阴性反应。说明该纸片具有较强的特异性。

摘 要

大肠菌群快速检验是国内外卫生细菌学检验工作中急待解决的课题,著者于1986年研制出一种能接种10毫升检样的大肠菌群纸片,用于检测固体及液体样品、餐具、污水和外环境等标本。经北京、上海、长春等七个城市的十个科研、卫生监督检验机构使用发酵管法做对照,检验各种样品968份,纸片法与发酵管法的符合率为95.4%,合格符合率为98.8%。大肠菌群纸片操作简便,报告结果时间短,特异性强,敏感性高,容易判定结果,不需要复杂设备,费用比发

酵管法降低75%，为全国首创，适合在我国的基层实验室推广使用。

The Investigation and Evaluation of a New Kind of Paper Disc for Rapid Identification of *E. coli* groups Ji Suping, et al., Harbin Municipal Health and Antiepidemic Station

Rapid identification of *E. coli* groups is one of the most pressing tasks which need to be solved in the field of hygiene bacteriology in the world. In 1986, we developed a kind of Paper Disc in which 10 ml sample can be inoculated to examine samples of solids, dinner service, sewage and external environment. In Beijing, Shanghai, Changchun, Harbin and other three cities, the scientific research units and hygiene supervision have checked the method against that of fermentation

tube with various samples in 968. The rate of coincidence was 95.40% and the correct coincidence was 98.85%. The method of Paper Disc is simple and rapid and also has high specificity and sensitivity. It is easy to interpret. The cost is 75% reduced than that of the fermentation tube since there is no need for complicated apparatus. This investigation is originated the first time in China and we believe it is practicable in many of the primary laboratories.

参 考 文 献

1. Баникова ЛА и Др.: Ускоренные методы бактериологического контроля молока и молочных продуктов. Москва. Медгиз. 1965.
2. 中华人民共和国卫生部: 食品卫生检验方法·微生物学部分·中国标准出版社·1986

(本项研究由佟维站长倡导, 姜增副站长给予大力支持; 曲艳秋、于振喜、张丹荧、王晓霞、张维善、武美琴同志参加部分工作, 在此一并感谢)

地方性斑疹伤寒50例临床与流行病学分析

河北省宣化县人民医院 何季铎 张效林 姚海贵

我院内科在1983年7月至12月接诊50例地方性斑疹伤寒, 现将资料完整的25例分析如下:

一、临床资料:

1. 年龄和性别: 男18例、女7例, 男女之比为2.5:1。最小年龄为18岁、最大年龄为49岁, 其中以20~31岁为发病高峰, 占81%。

2. 流行季节: 7月至9月7例、10月24例、11月18例、12月1例, 其中10至11月为发病高峰, 占84%, 符合夏末发病、秋季高峰、入冬尾声的特点。

3. 职业: 农民11例、工人6例、干部5例、学生2例、武警1例, 其中以农民为最多, 占44%。

4. 居住地区: 农村20例、城市5例、以农村发病最多, 占80%。

二、临床表现:

1. 起病较急、病情不重、预后良好。

2. 持续高烧、多有畏寒、很少寒战、体温波动在38~40.5°C之间, 很少超过41°C。

3. 有轻微的中枢神经系统中毒症状、如头晕、头痛、四肢酸痛、乏力肢软等。

4. 消化道症状: 有食欲不振、恶心、欲吐, 个别

有腹胀、便秘。

5. 很少见到皮疹: 有皮疹者多呈红色斑丘疹, 指压退色, 以胸腹和上肢内侧为多。

6. 上述症状均有朝轻暮重的特点, 当体温降至正常后, 全身症状立即明显改善。

三、实验室检查: 白细胞5000~10000/mm³占16例, 4900/mm³以下占5例, 11000/mm³以上占4例, 最低1例为3500/mm³, 最高1例为12300/mm³。本组50例均查外斐氏反应(OX19)、阳性滴度均在1:160以上, 最高达1:1280, 其中5例复查外斐氏反应, 第二次均比第一次明显升高。

四、诊断标准: 凡持续发烧7天以上, 无其他原因可寻, 外斐氏反应(OX19)阳性滴度在1:160以上者即可诊断。

五、疗效观察: 本组病例均在门诊治疗, 诊断一经确定, 立即投用四环素+TMP或四环素+Cos-mz。个别中毒症状较重者加服强的松(有明显禁忌症者例外), 佐用维生素C和B族维生素等。体温多在48~72小时复常, 极个别病例持续到4~5天, 总疗程7~10天, 本组治愈率100%, 无1例死亡。