

CPS4 显色培养基在分离鉴定泌尿道病原菌中的价值

张银旺, 荣媛[△](武汉大学中南医院检验科, 武汉 430071)

【摘要】目的 评估 CPS4 显色培养基在分离鉴定泌尿道病原菌的诊断价值。**方法** 收集 2013 年 1~12 月武汉大学中南医院临床科室送检的中段尿细菌培养标本 1 074 份, 以 CPS4 显色培养基与传统方法分别进行分离鉴定, 并比较鉴定结果。**结果** 传统方法分离出病原菌 464 株, 其中大肠埃希菌 229 株(占 49.4%), 其次是肠球菌 98 株(占 21.1%), 检出复合菌株 29 例; 用 CPS4 显色培养基分离出病原菌 466 株, 检出复合菌株 33 例, 与传统方法的分离培养性能基本一致, 直接鉴定大肠埃希菌、肠球菌、变形杆菌及克雷伯菌属-肠杆菌属-沙雷菌属-枸橼酸杆菌属群(KESC 群)的符合率达 97% 以上, 且直接鉴定的细菌数占泌尿系统病原菌 85.3%。**结论** CPS4 显色培养基能简便、快速地分离鉴定临床常见的泌尿道病原菌, 且混合菌感染的分离鉴定更优, 有利于泌尿道感染的快速诊断。

【关键词】 显色培养基; 尿培养; 细菌鉴定; 泌尿道感染

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.23.016 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)23-3272-03

The application value of CPS4 chromogenic culture media in isolation and identification of urinary pathogens ZHANG Yin-wang, RONG Yuan[△] (Department of Clinical Laboratory, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430071, China)

【Abstract】Objective To evaluate the diagnostic value of CPS4 chromogenic culture media in isolation and identification of urinary pathogen. **Methods** 1 074 Urine samples were collected and cultured using CPS4 chromogenic and traditional culture media simultaneously, and the identification results were compared. **Results** 464 strains of pathogens including 29 compound stains were identified with traditional culture media. The principal pathogens were identified as *Escherichia coli* (229, 49.4%) and *enterococcus* (98, 21.1%). Meanwhile, 466 strains of pathogens including 33 compound stains were identified with CPS4 chromogenic culture media. By comparison, the performance of CPS4 chromogenic and traditional culture media was basically identical. The accuracy of CPS4 chromogenic culture media was 97% in identifying *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Proteus* and the *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* and *Citrobacter* group (KESC). 85.3% of urinary pathogens can be directly identified with color change by CPS4 chromogenic culture media. **Conclusion** The common urinary tract pathogens can be identified by CPS4 chromogenic culture media fast and conveniently, especially for multiple infectious samples, which could be worthy for rapid diagnosis of urinary infection.

【Key words】 chromogenic culture media; urine culture; bacterial identification; urinary tract infection

泌尿道感染是常见的感染性疾病, 尿培养与细菌计数是泌尿道感染的诊断依据, 而传统的尿培养与细菌计数需 2~3 d, 不利于临床的快速诊断。CPS4 显色培养基是一种改进的泌尿系统致病菌鉴定培养基, 用于尿样中常见细菌的快速鉴定与计数。为评估 CPS4 显色培养基分离鉴定泌尿道病原菌的价值, 本研究对 CPS4 显色培养基与传统方法的培养及鉴定结果进行比较, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料来源 收集 2013 年 1~12 月本院临床科室送检的中段尿细菌培养标本 1 074 份, 质控菌株采用由卫生部生物鉴定所提供的大肠埃希菌(ATCC25922)、粪肠球菌(ATCC29212)、普通变形杆菌(ATCC6380)。

1.2 仪器与试剂 CPS4 显色培养基 90 mm (批号 1002680980), 购自梅里埃(上海)生物制品有限公司; 哥伦比亚血琼脂平板(血平板)和麦康凯平板购自上海威晟生物科技有

限公司; 微量生化管购自杭州天和微生物试剂有限公司; VITEK-2 全自动细菌鉴定仪及鉴定卡购自法国梅里埃公司。

1.3 方 法

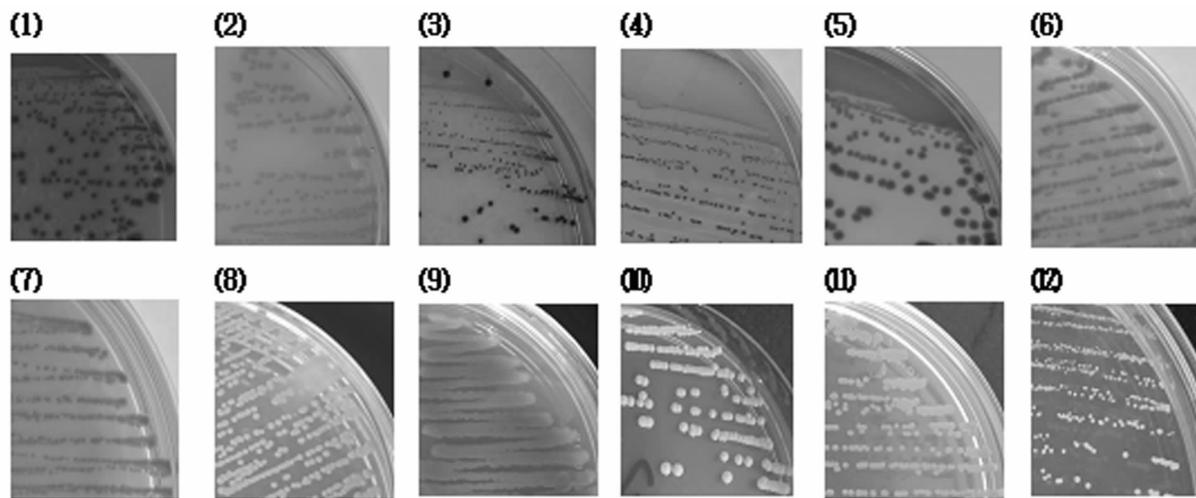
1.3.1 细菌培养 以无菌方法取中段尿标本, 用 10 μ L 定量环画线接种血平板、麦康凯平板及 CPS4 显色培养基, 35 $^{\circ}$ C 培养 18~24 h 后菌落计数。革兰阴性菌大于或等于 10^5 /mL 或革兰阳性菌大于或等于 10^4 /mL 为尿培养阳性。

1.3.2 细菌鉴定 (1)传统方法: 阳性标本从血平板上挑取单个菌落, 纯化后按《全国临床检验操作规程》进行鉴定^[1]; 必要时用 VITEK-2 全自动细菌鉴定仪鉴定菌种, 具体操作及质量控制按规定方法进行。(2)显色方法: 尿样标本接种于 CPS4 显色培养基, 35 $^{\circ}$ C 培养 18~24 h 后根据菌落形态、大小及颜色进行鉴定, 粉红或酒红为大肠埃希菌, 青绿色为肠球菌, 蓝绿或蓝灰色为克雷伯菌属-肠杆菌属-沙雷菌属-枸橼酸杆菌属群(KESC 群), 棕色或米色为变形杆菌。

2 结果

2.1 传统鉴定结果 1 074 份尿样标本经传统方法培养, 检出阳性结果 435 例, 阳性率为 40.5%; 两种以上的复合菌 29 例; 共分离出病原菌 464 株。经传统方法鉴定大肠埃希菌 229 株, 占 49.4%; 其次是肠球菌 98 株, 占 21.1%; 其他细菌分布, 见表 1。

2.2 显色鉴定结果 上述标本经 CPS4 显色培养基检测, 检出阳性结果 433 例; 复合菌 33 例; 共分离出病原菌 466 株。其中呈粉红或酒红色菌落为大肠埃希菌(227 株), 青绿色为肠球菌(97 株), 蓝绿或蓝灰色为 KESC 群(56 株), 棕色或米色为变形杆菌(19 株), 见表 1。各菌落形态, 见图 1。



注: (1) 大肠埃希菌; (2) 变形杆菌; (3) 产肠球菌; (4) D-链球菌; (5) 克雷伯菌; (6) 肠杆菌属菌; (7) 枸橼酸杆菌; (8) 沙雷菌; (9) 绿脓杆菌; (10) 不动杆菌; (11) 葡萄球菌; (12) 白色念珠菌。

图 1 试验菌株在定位显色平板上的显色特点

2.3 两种鉴定方法符合率 与传统方法鉴定结果相比, 用 CPS4 显色方法直接鉴定大肠埃希菌、肠球菌、KESC 菌群及变形杆菌的鉴定结果符合率高达 97.0% 以上, 且 CPS4 显色方法能直接鉴定的菌株数占泌尿道病原菌菌株数的 85.3% (396/464)。见表 1。

表 1 传统与 CPS4 显色方法鉴定泌尿道病原菌结果比较

细菌种类	传统鉴定 [n(%)]	CPS4 鉴定		符合率
		菌落颜色	菌株数 (%)	
大肠埃希菌	229(49.4)	粉红或酒红色半透明	224	97.8
肠球菌	98(21.1)	较小、青绿色	97	99.0
克雷伯菌属	36(7.8)	大黏、蓝绿或蓝灰色	36	100.0
ESC 菌群 ^a	20(4.3)	中大、蓝绿或蓝灰色	20	100.0
变形杆菌	19(4.1)	大扁平、棕色或米色	19	100.0
链球菌	13(2.8)	较小、蓝紫色或蓝绿	不能鉴定	—
鲍曼不动杆菌	16(3.4)	中大、圆形、灰白色米色	不能鉴定	—
铜绿假单胞菌	10(2.2)	大扁平、灰白色或棕色	不能鉴定	—
葡萄球菌	8(1.7)	中大、淡黄色或米色	不能鉴定	—
酵母样真菌	8(1.7)	较小、灰白色或米色	不能鉴定	—
其他细菌	7(1.5)	不定	不能鉴定	—

注: ^a 为肠杆菌属、沙雷菌属、枸橼酸杆菌属群; — 表示无数据。

3 讨论

CPS4 显色培养基是近年来发展的一种检测和鉴定细菌的新技术, 它由不同的胺类和 3 种显色底物复合而成, 可检测细菌特定酶的活性; 从而依据不同细菌含有的不同酶, 可直接鉴定尿样中常见病原菌^[2-3]。本实验结果显示, 泌尿系统病原菌以大肠埃希菌和肠球菌为主, 两者占泌尿道病原菌的 70% 以

上, 与相关报道一致^[4]。由于大肠埃希菌产 β 葡萄糖醛糖苷酶和(或) β 半乳糖苷酶, 在 CPS4 显色培养基上菌落呈现明显的粉红色或酒红色, 可直接鉴定到菌种。肠球菌在 CPS4 显色培养基上呈清晰、细小的蓝绿色, 可直接鉴定到菌属; 通过补充胆汁七叶苷、6.5% 氯化钠、阿拉伯糖及动力试验可进一步鉴别菌种^[5]。变形杆菌在 CPS4 显色培养基上呈棕褐色, 与大肠埃希菌颜色相近, 可直接在培养基上进一步做苯丙氨酸试验, 并结合血平板上迁徙生长极易鉴别^[6-8]。

克雷伯菌属、肠杆菌属、沙雷菌属及枸橼酸杆菌属在 CPS4 显色培养基上菌落呈蓝绿或蓝灰色, 故将其归纳为 KESC 群。由于克雷伯菌动力阴性, 菌落形态大而黏, 极易鉴别; KESC 群内其他细菌可做动力、靛基质、脱氧核糖核酸酶(DNase)、葡萄糖酸盐几个简单生化实验即可明确结果。本实验用上述方法鉴定 30 株肺炎克雷伯菌、6 株产酸克雷伯菌、13 株阴沟肠杆菌、5 株弗劳地枸橼酸杆菌及 2 株黏质沙雷菌, 结果全部正确。与传统方法比较, 用 CPS4 显色培养基鉴定大肠埃希菌、肠球菌、变形杆菌及 KESC 菌群的符合率高达 97.0% 以上, 且其鉴定的细菌占泌尿系统病原菌的 85.0% 以上。而链球菌属在 CPS4 显色培养基上菌落小, 多数呈浅蓝色, 少数呈粉红色, 也有不能生长的菌种。铜绿假单胞菌、不动杆菌、葡萄球菌及酵母样菌在 CPS4 显色培养基上菌落多数呈淡黄色或米色, 形态及颜色相近; 尽管用 CPS4 显色培养基鉴定不理想, 但所显示的菌落特征可为进一步鉴定提供参考。

本研究分离培养 1 074 份临床尿样标本, 结果显示 CPS4 显色培养基与传统血平板的分离培养性能基本一致。由于传统的分离方法常用麦康凯和血平板进行互补, 只能对是否利用乳糖进行区别, 对于菌落形态相似的混合感染难以区分^[8]; 而 CPS4 显色培养基上不同菌属的菌落显示出不同颜色, 对于两

种菌以上的混合感染可以很好的辨别、不易漏检。并且 CPS4 显色培养基能抑制变形杆菌的迁徙生长,有利于混合菌的分离。实验中发现用 CPS4 显色培养基分离混合感染菌 33 株,传统分离方法有 4 株漏检。

与传统的分离鉴定方法相比,CPS4 显色培养基仍存在不足之处。本研究发现,用 CPS4 显色培养基检测,其中有 5 株大肠埃希菌、1 株肠球菌未被检出;可能是这些菌株产生的 β 葡萄糖醛糖苷酶和(或) β 半乳糖苷酶含量较少或活性较弱,不足以游离出足够的产色基因而使菌落显色,亦可能是这些菌株在此次 CPS4 显色培养基中产生影响 β -葡萄糖醛糖苷酶活性的物质,从而干扰显色效果^[9]。此外,弧菌属细菌由于对盐的特别需求在此培养基上几乎不生长;实验中发现有 2 株棒状杆菌、1 株丹毒丝菌不生长;某些真菌生长慢。上述现象可能与细菌所需营养和生长速度不同,或培养基中加入的抑菌剂成分及浓度有关^[10]。

综上所述,用 CPS4 显色培养基做尿道病原菌的分离和鉴定,省去了对菌株进行纯培养的步骤,直接根据菌落颜色就可以做出初步判断,可简化鉴定程序,提高检测效率,有助于泌尿道感染的快速诊断,值得临床推广。

参考文献

- [1] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:801-821.
- [2] Pitkanen T, Paakkari P, Miettinen IT, et al. Comparison of media for enumeration of coliform bacteria and Escherich-

ia coil in non disinfected water[J]. J Microbial Methods, 2007,68(3):522-529.

- [3] Ciragil P, Gul M, Aral M, et al. Evaluation of a new chromogenic medium for isolation and identification of common urinary tract pathogens[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2006,25:108-111.
- [4] 朱德妹,汪复,胡付品. 2010 年中国 CHINET 尿液标本中细菌的分布和耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2012,12(4):241-250.
- [5] 杨自副,陈默蕊. 定位显色培养基在细菌快速初步鉴定中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(7):760-762.
- [6] 谢国艳,高志生. 快速鉴定大肠埃希菌方法的临床适用性的评估[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(4):96-97.
- [7] 赵声远,陈奕雯,李林徽. 显色培养基联合简单生化试验鉴定常见氧化酶阴性革兰阴性杆菌的能力验证[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2013,33(7):525-530.
- [8] 潘高辉,毛彩萍. 科玛嘉尿道定位显色培养基的应用评价[J]. 中国微生态学杂志,2006,18(2):140.
- [9] 李艳梅,刘洋,杨慧娟. 用尿道菌定位显色平板鉴定大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌的方法评估[J]. 吉林医学,2010,31(24):4154.
- [10] 张淑红,郑扬云,吴清平. 两种大肠杆菌显色培养基检测效果的比较[J]. 食品研究与开发,2012,33(10):130-133.

(收稿日期:2014-02-10 修回日期:2014-07-04)

(上接第 3271 页)

- [3] Chang M, Pan MR, Chen DY, et al. Human cytomegalovirus pp65 lower matrix protein: a humoral immunogen for systemic lupus erythematosus patients and autoantibody accelerator for NZB/W F1 mice[J]. Clin Exp Immunol, 2006,143(1):167-179.
- [4] Cariani E, Pollara CP, Valloncini B, et al. Relationship between pp65 antigenemia levels and real-time quantitative DNA PCR for Human Cytomegalovirus (HCMV) management in immunocompromised patients[J]. BMC Infect Dis, 2007,7(2):138.
- [5] Sui G, Soohoo C, Affar el B, et al. A DNA vector-based RNAi technology to suppress gene expression in mammalian cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002,99(8):5515-5520.
- [6] 谷鸿喜,张凤民,凌虹. 细胞培养技术[M]. 北京:北京大学医学出版社,2012:194-198.
- [7] 崔京涛,倪安平,吴叶丽,等. 自身免疫病和非自身免疫病患者巨细胞病毒抗原血症检测及抗病毒治疗后复检观察[J]. 中华医学杂志,2012,92(34):2426-2429.
- [8] 俞苏蒙,叶晓波,邢云卿,等. 新兵人群人巨细胞病毒感染的血清流行病学调查[J]. 现代预防医学,2010,37(20):3927-3928.

- [9] 吕静娟,胡文胜,余坚,等. 温州市区育龄妇女孕前巨细胞病毒感染现状调查[J]. 中国优生与遗传杂志,2011,19(2):100-101.
- [10] 万琼,警富明,邬国和,等. 白血病异基因造血干细胞移植受者巨细胞病毒感染的检测及临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(8):874-875.
- [11] 官琳妹,蔡鹏,汪艳. 肾移植术后巨细胞病毒 pp65 检测的临床意义[J]. 中国微生态学杂志,2012,24(2):165-166.
- [12] 翟文静,魏嘉琳,赵明峰,等. 巨细胞病毒定量 PCR 与 pp65 抗原测定监测异基因造血干细胞移植巨细胞病毒感染的比较[J]. 中国实验血液学杂志,2009,17(6):1522-1526.
- [13] Saracino A, Colucci R, Latorraca A, et al. The effects of preemptive therapy using a very low threshold of pp65 antigenemia to prevent cytomegalovirus disease in kidney transplant recipients: a single-center experience [J]. Transplant Proc, 2013,45(1):182-184.
- [14] 李薇,麦颖,张璇. 流式细胞术分析 HCMV-PP65 抗原在外周血各有核细胞群上的表达及意义[J]. 现代检验医学杂志,2010,25(2):61-64.

(收稿日期:2014-01-10 修回日期:2014-06-12)