

# 腹泻粪便中小肠结肠炎耶尔森菌检验的价值结果分析

龙 安

柳州市中医医院检验科 广西柳州 545001

〔摘要〕目的 浅析腹泻粪便中小肠结肠炎耶尔森菌检验的价值结果。方法 采用随机数字表法将我院于 2019 年 1 月至 2019 年 12 月间收治的 94 例小肠结肠炎腹泻患者分为 2 组各 47 例，均取粪便样本作研究样本，评价反转录-聚合酶链反应法 (R T-PCR) 法检验与常培养法检验的结果。结果 观察组小肠结肠炎耶尔森菌阳性 3 例，对照组小肠结肠炎耶尔森菌阳性 1 例，观察组小肠结肠炎耶尔森菌阴性 44 例，对照组小肠结肠炎耶尔森菌阴性 46 例，观察组小肠结肠炎耶尔森菌检验阳性率为 6.38%，高于对照组 2.13%，( $\chi^2=2.217$ ,  $P=0.137$ )。结论 腹泻粪便应用 R T-PCR 法检验准确率高。

〔关键词〕腹泻；粪便；结肠炎；小肠结肠炎耶尔森菌；检验；感染；细菌；胃肠炎

〔中图分类号〕R446 〔文献标识码〕A 〔文章编号〕2095-7165 (2020) 10-110-02

小肠结肠炎腹泻是感染性腹泻的一种，病因与寄生虫、多种微生物及其产物有关<sup>[1]</sup>，感染性腹泻致病菌为小肠结肠炎耶尔森菌，小肠结肠炎耶尔森菌是经粪-口途径进入人体，感染后可在机体潜伏 1 周，腹泻病程多在 3d 左右<sup>[2]</sup>，临床表现包括急性胃肠炎表现、肠道外感染表现等，腹泻严重影响患者正常生活，损害健康，降低生活质量，如未得到及时有效的救治可能导致机体出现胃肠炎、腹泻、呼吸系统疾病等<sup>[3]</sup>。小肠结肠炎耶尔森菌可在人、畜之间传播，具有较强的传染能力，因此早期诊断意义重大，临床传统检验方法为常规培养法，但该检验法会受到多种外界因素影响导致结果准确性不高；近年来随着临床检验技术不断发展进步，反转录-聚合酶链反应法 (R T-PCR) 法也被应用到小肠结肠炎耶尔森菌检验中<sup>[4]</sup>。我院于 2019 年 1 月至 2019 年 12 月间收治的 94 例小肠结肠炎腹泻患者的粪便样本作研究样本，评价 R T-PCR 与常规培养法的检验价值，现将本次研究全部内容整理后作以下论述：

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

采用随机数字表法将我院于 2019 年 1 月至 2019 年 12 月间收治的 94 例小肠结肠炎腹泻患者分为 2 组各 47 例，均取粪便样本作研究样本，观察组中男 31 例、女 16 例，年龄范围在 22-64 岁，平均为 (41.5±5.0) 岁，腹泻病程时间在 3-7d，平均为 (5.1±1.0)d。对照组中男 30 例、女 17 例，年龄范围在 21-65 岁，平均为 (42.0±4.8) 岁，腹泻病程时间在 3-7d，平均为 (4.8±0.8)d。研究已上报本单位伦理委员会并获得批准，以上基线资料对比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

纳入标准：患者排便次数明显增加、粪便性状改变；机体合并酸碱失衡、电解质紊乱表现；对研究表示知情同意。

排除标准：排除合并其他免疫、血液系统疾病者；排除临床症状不完整者；排除精神障碍者；排除消化系统肿瘤者。

### 1.2 方法

指导患者正确采集粪便样本，指导采集新鲜粪便，放置入容器中，确保未混入尿液、水等杂质，及时送检；放置到 Cary-Blair 保存液中存放，取 0.5g 标本加入 50ml 氯化钠注射液，将标本置于菌液中实施培养。

观察组给予 R T-PCR 法检验，将标本置于 16℃ 条件下培养 18h 后抽取 200 μg 混合物进行 DNA 检查，反应体系包括探针、混合液、引物、模板以及 BSA，扩增产物长度在 154bp，在 95℃ 条件下进行反应，分析小肠结肠炎耶尔森菌数量。

对照组给予常培养法检验，混合标本后放置在 16℃ 环境中，18h 后取出标本，抽取 5 μg 在 CN 平板上完成接种，再放置于 25℃ 中培养，获得结果符合相关要求后筛选菌群，进行对比。

### 1.3 观察指标

常规培养法显示小肠结肠炎耶尔森菌阳性标准：发现与标准菌株相同生化反应的菌株；阴性标准：未见此反应的菌株<sup>[5]</sup>。

R T-PCR 法显示小肠结肠炎耶尔森菌阳性标准：样品扩增后，可见预期条带；阴性标准：样品扩增后未见条带<sup>[6]</sup>。

### 1.4 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计软件，计量资料用  $\bar{x} \pm s$  差表示，采用 t 检验，计数资料用百分比表示，采用  $\chi^2$  检验， $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 比较检验结果

观察组小肠结肠炎耶尔森菌阳性 3 例，对照组小肠结肠炎耶尔森菌阳性 1 例，观察组小肠结肠炎耶尔森菌阴性 44 例，对照组小肠结肠炎耶尔森菌阴性 46 例，观察组小肠结肠炎耶尔森菌检验阳性率为 6.38%，高于对照组 2.13%，( $\chi^2=2.217$ ,  $P=0.137$ )。

## 3 讨论

小肠结肠炎耶尔森菌是导致小肠结肠炎主要的致病菌，感染后可导致多种症状出现，以腹泻较为常见，传染途径包括被污染的猪肉、水源等，机体感染病菌后可出现交叉感染现象，病情缺乏特异性，临床误诊率较高，因此采取科学的检验方法对疾病诊断意义重大<sup>[7]</sup>。

小肠结肠炎耶尔森菌属于有机培养菌，通过呼吸、发酵进行代谢，因小肠结肠炎耶尔森菌生长速度缓慢，通过人工措施促使细菌繁殖，检验成本较低、设备投入少、对检验人员操作要求相对低，但常规培养流程相对复杂，具有一定缺陷。如本次研究结果显示，观察组小肠结肠炎耶尔森菌阳性 3 例，对照组小肠结肠炎耶尔森菌阳性 1 例，观察组小肠结肠炎耶尔森菌阴性 44 例，对照组小肠结肠炎耶尔森菌阴性 46 例，观察组小肠结肠炎耶尔森菌检验阳性率为 6.38%，高于对照组 2.13%，( $\chi^2=2.217$ ,  $P=0.137$ )。分析原因发现，对照组给予常规培养法，常规培养要求严格执行无菌操作，保护标本避免受到外界细菌污染，是一种人工细菌生长繁殖技术，对操作人员技术水平要求不高，且常规培养法缺乏自动化特点，耗时耗力，获得结果需要花费较长时间，可能延误疾病治疗。观察组给予 R T-PCR 法检验法，RT-PCR 法是一种具有生化技术，具有双重技术，包括合 cDNA 聚合酶链式扩增 (PCR) 和 RNA 反转录 (RT) 技术，检验原理是提取细胞与组织中的总 DNA，在 mRNA 模板上利用反转录酶转录呈 cDNA，再行 PCR 扩增，检测基因表达，该技术在细菌检验中应用可获得高质量的 RNA，不含反转录的抑制剂，可成功合成 cDNA，增加检验的准确性，同时检验过程用时相对较短，标本不易受到污染<sup>[8]</sup>。但该检验方

(下转第 112 页)

反之在阻滞在不同时相。

研究表明,患者中不同类型的 AZF 微缺失反映了不同的临床表现, AZFa 缺失精子阻滞在青春期之前,表现为唯支持细胞综合征 (sertoli cell only syndrome, SCOS) 和小睾丸,为绝对的无精子症; AZFb 区缺失的患者,精子阻滞在减数分裂前期或减速分裂中,主要停留在精母细胞阶段,睾丸中可见精原细胞和初级精母细胞,但没有精子生成<sup>[8]</sup>; AZFc 区缺失情况比较复杂,对于同一患者,一些生精小管内仅见支持细胞,而另一些生精小管内可见精原细胞,精母细胞,精子细胞甚至精子,精液检查为严重少精,有时可见少量活动精子,但畸形精子数量明显增多<sup>[9]</sup>; AZFd 区缺失者精子数量与年龄之间关系密切,一般年龄越大,其精子数量越少。AZFd 区缺失的临床意义尚存争议。有研究报道 SY145 及 SY152 可能与精子形态异常相关,其缺失可能导致少精子症或者精子形态异常<sup>[10]</sup>,另外还发现了其他与精子发生有关基因,如 Y 染色体长臂的 SMCY 基因、短臂上的 SRY、ZFY 和 TSPY 基因<sup>[11]</sup>。

对于无精子症和严重少精子症患者进行 Y 染色体微缺失的检测是很有必要的,如果患者是 AZFc 区或部分 AZFb 区缺失,则有 50% 的几率可以检出精子,但如果是整个 AZFb 缺失,则检测出成熟精子的可能性几乎为零<sup>[12]</sup>。如果患者缺失的部位是在 AZFa 区,则没有精子形成的可能<sup>[13]</sup>,因此对于没有可能形成精子的患者就不需要进行辅助生殖,可使患者身体和精神伤害降到最低,减少经济负担。AZFa 区域缺失,可说明患者无法应用睾丸精子卵胞浆内单精子注射技术加以辅助生殖,而对于 AZFc 区域缺失患者,临床可采用睾丸精子穿刺方法进行精子获取,然后采用睾丸精子卵胞浆内单精子注射技术进行后代繁殖,但这种缺失会遗传给男性后代<sup>[13]</sup>,故该类患者可行(孕前诊断 PGD)辅助生殖,选择生育女性后代。综上所述, Y 染色体 AZF 基因微缺失对于男性不育有重大意义,通过检测可以帮助临床尽快明确部分男性不育的根本原因,从而指导临床制定出更加合理的辅助生殖诊疗方案,更好的造福于患者。

[参考文献]

[1] Naasse Y, haroute H, et al. Chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in infertile men from Morocco [J]. BMC

Urol, 2015, 15:95.

[2] 陈文杨, 沈丽霞, 张葵荣. 男性不育的遗传因素研究进展 [J]. 神经药理学报, 2016, 6(5):53-64.

[3] Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, et al. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013 [J]. Andrology, 2014, 2(1):5-19.

[4] 王晓峰, 朱积川, 邓春华. 中国男科疾病诊断治疗指南(2013 版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013.

[5] Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm [J]. Hum Genet, 1976, 34(2):119-124.

[6] Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, et al. Human Y chromosome azoospermia factors(AZF) mapped to different subregions in Yq 11 [J]. Hum Mol Genet, 1996, 5(7):933-943.

[7] Kent M, Muallem A, Shultz J, et al. Defining regions of the Y chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y chromosome microdeletion detection [J]. Mol Reprod Dev, 1999(53):27-41.

[8] Hopps CV, et al. Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions [J]. Human Reproduction, 2003, 18(8):1660-1665.

[9] Reijo R, et al. Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome [J]. Lancet, 1996, 347(9011):1290-1293.

[10] Müşlümanoğlu MH, Turgut M, Cilingir O, et al. Role of the AZFd locus in spermatogenesis [J]. Fertil Steril, 2005, 84(2):519-522.

[11] 石之麟, 王沙燕, 李启运. Y 染色体基因微缺失与男性不育症 [J]. 中国生育健康杂志, 2004, 15(6):342-345.

[12] Krausz C, Quintana-Murci L, McElreavey K. Prognostic value of Y deletion analysis: What is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis? [J]. Human Reproduction, 2000, 15(7):1431-1434.

[13] 刘锋, 邓志华, 邹彦. Y 染色体微缺失与男性不育的关系 [J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(20):1885-1886.

表 3: 不同组别 Y 染色体缺失结果统计

组别	缺失类型	缺失例数	缺失位点	缺失率 (%)
无精子症组 (n=102)	AZFa	1	sY84、sY86	11.8 (12/102)
	AZFb+c+d	6	sY127、sY134、sY254、sY255、sY145、sY152	
	AZFc+d	4	sY254、sY255、sY145、sY152	
	AZFd	1	sY145、sY152	
少精子症组 (n=37)	AZFc+d	6	sY254、sY255、sY145、sY152	18.9 (7/37)
	AZFd	1	sY145、sY152	
不育症组	--	115	--	0
合计: 254		19		7.5 (19/254)

(上接第 110 页)

法亦存在一定缺陷, 如对检验人员素质要求高、检验试验结果可能存在假阴性、假阳性现象, 且检验对设备投入要求较高, 检测花费成本高, 不适用于普遍使用。

综上所述, 腹泻粪便应用 RT-PCR 法检验准确率高。

[参考文献]

[1] 徐石秀. 不同方法检验腹泻患者粪便中小肠结肠炎耶尔森菌的价值 [J]. 医疗装备, 2018, 31(9):70-71.

[2] 周东梅. RT-PCR 法应用于 50 例小肠结肠炎耶尔森菌(腹泻粪便中)检验的临床价值 [J]. 延边大学医学学报, 2018, 41(2):142-143.

[3] 潘凌子, 伦永志. 粪便标本小肠结肠炎耶尔森菌菌检方法的比较 [J]. 中国微生态学杂志, 2018, 30(3):340-343.

[4] 满玉霞, 臧慧平, 庞瑞昌. 小肠结肠炎腹泻不同检验方法对粪便中耶尔森菌检查结果比较 [J]. 临床检验杂志(电子版), 2019, 8(3):14-16.

[5] 李晓蕾, 张连涛, 梁贤栋, 等. RT-PCR 法检验腹泻患者小肠结肠炎耶尔森菌的应用效果 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2019, 29(17):55-56.

[6] 姜灿祥, 李文, 刘墨言. 新生儿坏死性小肠结肠炎的影响因素分析 [J]. 全科护理, 2020, 18(16):2033-2036.

[7] 张艳丽. 两种方法检验腹泻粪便中小肠结肠炎耶尔森菌的结果观察 [J]. 医学食疗与健康, 2020, 18(2):183-184.

[8] 王美娥, 胡朝军, 李萍, 等. 血清 ANCA 和 GAB 不同类型抗体检测在溃疡性结肠炎中的临床应用 [J]. 临床检验杂志, 2020, 38(1):73-75.