

玉米浆用于培养致病菌的研究

赵必均 张维菱 刘海水

(武汉部队总医院检验科细菌室)

玉米浆在工业微生物及抗生素的多种发酵产品的科研与生产中早有应用,但在临床细菌检验方面,尚未见用玉米浆培养致病菌的报道。鉴于玉米浆不仅含有细菌需要的各种营养成分,而且来源方便,价格低廉。我们用玉米浆代替常规使用的蛋白胨、豚胨和牛肉膏等成分,进行培养致病菌的研究,现将研究情况报道如下。

材 料 和 方 法

(一) 菌种 肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、脑膜炎奈瑟氏菌 (*Neisseria meningitidis*) 和流感嗜血杆菌 (*Hemophilus influenzae*) 由武汉生物制品所提供。金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、乙型溶血链球菌 (β type, *Streptococcus hemolyticus*)、福氏志贺氏菌 (*Shigella flexneri*)、伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*)、无硝不动杆菌 (*Acinetobacter anitratum*)、铜绿色假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 和大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*) 系本室从临床标本中分离获得,按常规方法^[1,2]鉴定。

(二) 培养基 将玉米浆(湖北省阳新淀粉厂生产,武汉市第二制药厂协助提供)稀释至3%浓度后,加入适量饱和 NaOH,调 pH 至 8.5 左右,煮沸 5 分钟,补水后过滤。若滤液颜色过

深,可加入 0.5% 活性炭,煮沸 5 分钟,使之脱色,然后补水再过滤,所得滤液即为 3% 玉米浆处理液。玉米浆营养琼脂的组成是 3% 玉米浆处理液 + 0.1% Na_2HPO_4 + 1.9% 琼脂。对照用营养琼脂的组成是 1% 蛋白胨(上海东海制药厂出品) + 0.25% 豚胨(英国进口) + 0.3% 牛肉浸膏(上海市牛奶公司综合厂出品) + 0.5% NaCl + 1.9% 琼脂。两种营养琼脂视不同细菌生长的最适 pH^[3],以 10% NaOH 分别调 pH 至 7.4—7.7,于 121℃ 高压灭菌 30 分钟。用这两种营养琼脂分别制备羊血琼脂平板和中国兰琼脂平板。 ϕ 9cm 的平皿中装量约 15ml。下文把玉米浆血琼脂平板和对照用血琼脂平板分别简称为 CBA 和 PBA,把玉米浆中国兰琼脂平板和对照用中国兰琼脂平板分别简称为 CCA 和 PCA。

(三) 活菌计数 将被试菌的纯培养物作成约为 $10 \times 10^8/\text{ml}$ 的菌悬液,以 0.033M (pH 7.2) 磷酸盐缓冲液稀释到 10^{-6} ,取该稀释度菌液 0.1ml,分别接种在 CBA 和 PBA 及 CCA 和 PCA 上,并用 L 形玻璃棒涂匀。每种平板一

本工作承蒙我科廖耀庭主任指导,特此致谢。

次接种 5 块。经 37℃ 于空气或 5—10% CO₂ 中培养 24 小时, 届时计数菌落和测量 10 个菌落的直径大小, 以比较被试菌在上述平板上生长情况。同时注意观察菌落特征、溶血和色素形成情况。每种菌重复实验 2—3 次。

(四) 临床标本的实验研究 取各种临床标本 94 份, 同时用 CBA、PBA 和 CCA、PCA 做分离培养, 比较观察分离的菌株数及其生长情况、菌落特征、溶血和色素形成情况。必要时, 做革兰氏染色后, 镜检, 观察细菌形态。

试验结果

从被试菌在 CBA 和 PBA 及 CCA 和 PCA 上出现的菌落数来看, 一般相差很少(表 1、2), 相差较多的也无显著差别 ($P > 0.05$), 说明 CBA 与 PBA 及 CCA 与 PCA 出现的菌数是基本一致的。就菌落直径而言, 由表 1 可见, 被试 10 种菌中有 7 个菌种在 CBA 比在 PBA 上长得更大, 相差非常显著 ($P < 0.001$) 或相差显著 ($0.05 > P > 0.01$)。乙型溶血性链球菌和流感嗜血杆菌在两种血琼脂平板上形成的菌落大小相等。仅肺炎链球菌在 PBA 比在 CBA 上长得更大, 有非常显著的差别 ($P < 0.001$)。

表 1 不同细菌在两种血琼脂平板上生长的比较

菌 种	菌落数(个)		菌落直径 (mm)	
	CBA	PBA	CBA	PBA
金黄色葡萄球菌	129±10	120±6	1.3±0.1	1.1±0.1
乙型溶血性链球菌	36±6	33±3	0.7±0.1	0.7±0.1
肺炎链球菌*	109±5 (110±5)	110±6 (111±13)	0.9±0.0 (1.1±0.1)	1.0±0.0 (1.2±0.0)
脑膜炎奈瑟氏菌**	230±11	233±4	2.4±0.1	1.9±0.1
流感嗜血杆菌***	220±12	220±11	0.8±0.1	0.8±0.1
福氏志贺氏菌	159±8	145±3	1.9±0.1	1.1±0.0
伤寒沙门氏菌	102±5	91±11	1.8±0.1	1.2±0.1
无硝不动杆菌	103±3	101±6	3.0±0.0	2.0±0.0
铜绿色假单胞菌	70±4	68±6	2.0±0.1	1.6±0.1
大肠埃希氏菌	44±5	37±6	1.9±0.1	1.7±0.2

* 第一栏数字指置空气中培养的结果; 括号内数字系置 CO₂ 中培养的结果。
** 用巧克力色琼脂平板, 置 5% CO₂ 中培养 48 小时。
*** 用巧克力色琼脂平板。

由表 2 可见, 除铜绿色假单胞菌在 CCA 和 PCA 上的菌落直径相同外, 其余被试 4 种菌在 CCA 比在 PCA 上长得更大, 差异非常显著 ($P < 0.001$)。

表 2 不同细菌在两种中国兰琼脂平板上生长的比较

菌 种	菌落数(个)		菌落直径 (mm)	
	CCA	PCA	CCA	PCA
福氏志贺氏菌	163±13	156±14	1.9±0.1	1.1±0.1
伤寒沙门氏菌	79±8	80±10	1.8±0.0	1.2±0.1
无硝不动杆菌	54±7	53±7	2.8±0.1	2.6±0.1
铜绿色假单胞菌	60±6	65±12	1.6±0.1	1.6±0.1
大肠埃希氏菌	44±3	42±4	3.0±0.3	2.1±0.1

临床标本的实验研究结果表明, 94 份临床标本在 CBA 和 PBA 上分离的菌株数都是 135 株, 分离出的细菌有金黄色和表皮葡萄球菌、各群链球菌、四联球菌、干燥和黄色奈瑟氏菌、枯草杆菌、类白喉杆菌、埃及嗜血杆菌、铜绿色假单胞菌、变形杆菌、大肠埃希氏菌及其它肠道杆菌科细菌。在 CCA 和 PCA 上分离的菌株数都是 64 株, 分离出的细菌有铜绿色假单胞菌、变形杆菌、大肠埃希氏菌及其它肠道杆菌科细菌。从生长情况看, 大多数菌株在 CBA 和 CCA 比在 PBA 和 PCA 上生长更好, 与上述定量实验的结果一致。

在定量实验和临床标本的实验研究中, 注意观察了菌落特征、细菌形态、溶血和色素形成的情况。绝大多数细菌在试验平板和对照平板上所表现的菌落特征是一致的, 但枯草杆菌在 PBA 上形成的菌落干燥, 而在 CBA 上却较湿润。对不同平板上的各种培养物涂片, 革兰氏染色后, 镜检, 未见形态上的差别。在溶血情况方面, 大多数能溶血的细菌在两种血琼脂平板上的溶血情况亦无差别。铜绿色假单胞菌在 PBA 上培养 24 小时后, 溶血明显; 在 CBA 上培养 24 小时, 溶血不明显, 但培养 48 小时后, 溶血明显。在色素形成方面, 葡萄球菌和铜绿色假单胞菌在试验平板和对照平板上形成色素情况均无差别。

讨 论

华北制药厂提供的资料表明,玉米浆含固形物 57% 以上,总蛋白含量 40% 以上,含有 18 种氨基酸、多种 B 族维生素及无机盐等丰富营养成分。作者原在研究室的分析资料表明,不同批次玉米浆中还原糖含量在 0.63—1.35%,氨基氮含量在 1.47—1.73%。还用纸层析方法定性分析玉米浆中氨基酸的种类,测出组、赖、精、丝、天门冬、甘、谷、苏、丙、脯、酪、蛋、缬、苯丙、亮和异亮等 16 种氨基酸。由于玉米浆中缺少色氨酸、半胱氨酸和胱氨酸,故不宜用它代替优质蛋白胨来制作与这些氨基酸有关的生化反应培养基。因玉米浆含有细菌所需要的上述营养成分,以玉米浆代替常规使用的蛋白胨、胨胨

和牛肉膏来制作营养琼脂,供分离培养细菌之用,是可行的。本文用营养要求不高和较高的有代表性的 10 个菌种进行定量实验及用临床标本进行实验研究的结果,都说明在常规细菌检验工作中可用 CBA 代替 PBA,CCA 代替 PCA。鉴于玉米浆不仅含有细菌所需要的各种营养成分,而且来源方便,价格低廉,既能满足工作需要,又可降低成本,增加经济效益,建议推广使用。

参 考 文 献

- [1] 武汉医学院附属第二医院检验科编: 实用临床医学检验 472—514 页,湖北人民出版社,1980。
- [2] 蒋康令等: 中华医学检验杂志, 5(4): 203—206, 1982。
- [3] 上海第二医学院主编: 医用微生物学,158—202 页,人民卫生出版社,1979。