

平菇汤培养基的研究及应用

申建维 袁 玮 杨思义 邓巧玲 李 婷

(武汉钢铁公司第二职工医院检验科 武汉 430085)

摘要: 研究以平菇汤为基础成分,代替动物组织提取物,制备平菇液体培养基,平菇血琼脂培养基。平菇血琼脂培养基对 140 份痰及中段尿标本阳性菌的检出率为 34.3%,传统血琼脂培养基对阳性菌的检出率为 32.1%。平菇液体培养基和普通营养肉汤培养基同时对 80 份分泌物标本培养,其检出率分别为 38.8% 和 36.3% ($p > 0.05$)。平菇汤培养基制备简便,成本低廉,有较好的实用价值。

关键词: 平菇汤,培养基,普通培养

中图分类号: R446.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654(2000)05-0335-04

STUDY AND APPLICATION ON THE MUSHROOM BROTH CULTURE

SHEN Jian-Wei, YUAN Wei, YANG Si-Yi, DENG Qiao-Ling, Li Ping

(The Laboratory in the second hospital, Wuhan 430085)

Abstract: Mushroom broth is used to replace animal tissue extract to produce mushroom culture solution and mushroom blood agar medium. For 140 case of sputum and urine culture, the positive rate on mushroom blood agar medium is 34.3%, while it on traditional blood agar medium is 32.1%. 80 case of secreta were cultured on mushroom culture solution and general broth culture, the positive rate being respectively 38.8% and 36.3% ($p > 0.05$). It shows that mushroom broth culture, which is processed conveniently and cheaply, has good practical value.

Key words: Mushroom broth, Medium, General culture

目前,用于临床标本检测的普通培养基主要成分大部分以进口牛肉膏粉、多价蛋白胨,豚豚、胰蛋白胨等动物组织提取物作为主要原料,由于这些原料大多依靠进口,因此增加了实际应用的成本,且易受潮而难以保存。现在市场上虽有商品化培养基,但费用高。而用传统培养基,制备手续繁琐,配方也较复杂。我们研制的平菇汤培养基经实验比较,证实结果满意,现将实验结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 自制培养基

1.1.1 平菇浸出液的制备: 鲜平菇 1000g,将其洗净切碎,置烧杯内,加入蒸馏水 1000mL,煮沸 30min,稍冷后以纱布、脱脂棉及定性滤纸滤至清晰透明后用蒸馏水补足至 1000mL,即得平菇浸出液。

1.1.2 平菇血琼脂培养基: 琼脂粉 6.0g,氯化钠 3.0g,溶于 600mL 平菇浸出液中,调整 pH7.4~7.6,高压灭菌,103.43kPa,20min,冷至 60℃ 时加入 5% 脱纤维羊血,混匀后倾注平皿,经无菌试验后置于 4℃ 冰箱内备用。

收稿日期: 1999-04-19, 修回日期: 1999-11-01

1.1.3 平菇液体培养基:氯化钠 3.0g, 平菇浸出液 600mL 中, 调整 pH7.4~7.6, 分装于 15×150mm 无菌试管内, 每支 5mL。高压灭菌 103.43kPa, 20min, 无菌试验后置于冰箱内备用。

1.2 对照培养基

血琼脂培养基、普通营养肉汤培养基按常规方法制备, 见参考文献 [1]。

1.3 标准菌株及临床标本来源

1.3.1 标准菌株:金黄色葡萄球菌 ATCC25923, 大肠埃希氏菌 ATCC25922, 铜绿假单胞菌 ATCC27853, 由武汉市临床检验中心微生物实验室提供。溶血性链球菌、肺炎链球菌、表皮葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、奇异变形杆菌, 由本实验室提供。

1.3.2 临床标本来源:收集本院门诊、住院初诊为上呼吸道感染、泌尿系感染及化脓性感染患者的痰、中段尿及分泌物标本共 220 份。

1.4 生长指数(GI)测定

将金黄色葡萄球菌 ATCC25923, 大肠埃希氏菌 ATCC25922 同时接种于平菇血琼脂培养基及传统血琼脂培养基上, 经 18~24h 37℃ 培养, 分别挑取单个菌落置无菌生理盐水中制成相当于 0.5 号麦氏比浊管浊度的菌悬液。经 10 倍连续稀释后各取 0.1mL, 分别接种于上述两种不同培养基上, 用 L 型棒涂布均匀, 置于 37℃ 培养 24h, 用卡尺准确量取菌落直径。GI 等于平皿上生长菌落数少于 10 个的最高稀释倍的对数, 乘以该平皿上菌落平均直径。如 10^{-4} 稀释时平板上生长 6 个菌落, 菌落平均直径为 2.5mm, 则 $GI = 4 \times 2.5 = 10$ 。

1.5 标本分离培养

将痰标本及中段尿标本分别接种于两种不同的血琼脂培养基上, 37℃ 培养 24h 后观察, 挑

取可疑菌落按常规方法鉴定到种^[2]。

将 80 份分泌物标本用 2 支无菌棉拭子送检, 分别接种于两种液体培养基中, 于 37℃ 温箱中培养, 24h 后观察培养基变混浊者移种于两种血琼脂培养基上, 于 37℃ 培养 24h, 观察菌落形态及生物学特性, 按常规方法鉴定到种。

1.6 统计学分析

两种血琼脂培养基分离出的阳性菌用 χ^2 检验, 比较平菇血平板与传统血平板的 GI 用 t 检验。

2 结果与讨论

2.1 培养结果

分泌物标本同时接种于平菇液体培养基和普通营养肉汤培养基上, 80 份标本分别有 31 份 (38.8%) 及 29 份 (36.3%) 阳性菌生长。经统计学处理, $\chi^2 = 0.107, p > 0.05$ 。两种液体培养基对致病菌的检出率无显著性差异。在平菇血平板和传统血平板上, 80 份标本分别有 30 份 (37.5%) 及 28 份 (35%) 生长, 经统计学处理 $\chi^2 = 0.018, p > 0.05$ 。两种血平板对致病菌的检出率无显著差异。

2.2 平菇血琼脂培养基和传统血平板的培养结果

平菇血琼脂培养基和传统血平板上对 60 份中段尿标本阳性菌的检出率分别为 25.0% (15/60), 23.3 (14/60), 经统计学处理, $\chi^2 = 0.045, p > 0.05$ 。对 80 份痰样本阳性菌的检出率分别为 41.3% (33/80) 及 38.8% (31/80)。经统计学处理, $\chi^2 = 0.113, p > 0.05$, 两种培养基无显著性差异。

2.3 两种标准菌株的 GI 值

金黄色葡萄球菌 ATCC25923 和人肠埃希氏菌 ATCC25922 在两种血平板上的 GI。

表1 两种标准菌株在不同培养基上GI比较

菌 名	传统血平板		平菇血平板		t(p值)
	菌落平均直径(mm)	GI	菌落平均直径(mm)	GI	
金黄色葡萄球菌	2.20	8.09	2.01	8.03	0.876(>0.05)
大肠埃希氏菌	2.49	9.97	2.49	9.98	0.301(>0.05)

2.4 220 份临床标本中分离出的阳性菌株种类

见表 2。

表2 220份临床标本培养结果

菌 名	分离标本数	
	传统血平板	平菇血平板
大肠埃希氏菌	18	17
金黄色葡萄球菌	19	20
铜绿假单胞菌	9	11
表皮葡萄球菌	11	10
弗氏柠檬酸菌	2	3
肺炎克雷伯氏菌	3	4
奇异变形杆菌	2	3
产气肠杆菌	2	2
D族链球菌	2	2
嗜麦芽假单胞菌	2	2
白色念珠菌	1	1
腐生葡萄球菌	1	1
阴沟肠杆菌	1	1
液化沙雷氏菌	0	1
合 计	73	78

2.5 培养基质控结果

为了保证自制培养基能够达到预期目的和效果,对该培养基进行了质量控制监测。即用已知阳性菌株来测知该培养基是否达到要求。质控结果见表3。

2.6 讨论

(1)一般微生物在生长繁殖过程中不仅要为其补充碳源、氮源、无机盐类等营养物质,还需要某些有机化合物。由于细菌不能自己合成,故必须在培养基中给予提供。平菇为菌藻类植物,别名侧耳,又名糙皮侧耳。平菇中可供食用的有平菇侧耳、环丙侧耳等8个品种。本地区主要为平菇侧耳。平菇具有丰富的营养物质,其蛋白质含量为21.175%,还含有18种氨基酸包括亮氨酸、赖氨酸等8种人体必需氨基酸。碳水化合物、无机盐(包括钾、钠、钙、磷、铁及微量元素镁、锰、铜、锌及硒等)和维生素类(主

表3 平菇培养基质控结果

培 养 基	菌名	发育状况	观察结果
平菇液体培养基	铜绿假单胞菌	良好	产生色素并有菌膜形成
平菇血琼脂培养基	溶血性链球菌	良好	菌落针尖样,呈 β 溶血
平菇血琼脂培养基	金黄色葡萄球菌	良好	产生金黄色色素,有明显透明溶血环
平菇血琼脂培养基	奇异变形杆菌	良好	菌落呈迁徙扩散生长
平菇血琼脂培养基	肺炎克雷伯氏菌	良好	菌落大,灰白色,粘液状

要为V-E、硫胺素、尼克酸、抗坏血酸、核黄素等)^[3]。这些成分为细菌提供了丰富的营养成分及生长因子。实验证明平菇液中所含的蛋白质及氨基酸可提供细菌生长的氮源,碳水化合物可提供碳源,无机盐类中的钾、钠、钙、镁、磷等则是细菌生长繁殖过程中不可缺少的生长因子。微量元素锰、铜、锌、硒等可供细菌菌体合成和细菌生长所需酶的激活剂。维生素中的硫胺素、核黄素可提供细菌的代谢过程中的生物活性物质。(2)两种液体培养基及两种血琼脂培养基培养结果:应用自制平菇液体培养基和普通营养肉汤培养基同时对80份分泌物标本(包括脓汁、阴道分泌物、前列腺液等样本)培养,阳性率分别为38.8%和36.6%,应用两种血琼脂培养基对140份痰、中段尿样本同时进行培养,阳性率分别为34.3%和32.1%。两种自制

培养基结果与传统培养基结果相符。(3)临床标本分离出的阳性菌株以大肠埃希氏菌、葡萄球菌属、铜绿假单胞菌所占比例较大。标准菌株在两种血平板上的生长指数无显著差异。两种培养基在 10^{-4} 倍数稀释时均有细菌生长,因此认为自行研制的血琼脂培养基是较好的细菌生长培养基,完全可代替目前使用的传统血琼脂培养基。同时平菇培养基内含有较丰富的营养物质,能使细菌生长迅速,菌落形态典型。(4)平菇培养基由于具有制备简便、价格低廉、来源丰富、容易获得等特点,适用于基层实验室的细菌检测工作,因此完全可代替普通肉汤培养基及传统血琼脂培养基,目前正在实验,以平菇液为基础配制成不同用途的培养基,如平菇巧克力培养基用于嗜血杆菌及苛养菌的培养。平菇琼脂培养基代替营养琼脂已用于院内感染

中空气培养的监测,有着良好应用前景和使用价值.

参 考 文 献

[1] 李仲兴,郑家齐,李家宏主编. 诊断细菌学. 香港:黄河

文化出版社,1992,641~641.

[2] 叶应妩,王毓三主编. 全国临床检验操作规程. 南京:东南大学出版社,1991,412~414.

[3] 北京市卫生防疫站等主编. 食物营养成分表. 北京:轻工业出版社,1990:43.