

# 洗衣粉 S. S. 琼脂培养基的初步应用报告

李永慕

(辽宁省辽阳市庆阳化工厂职工医院)

分离肠道病原菌的培养基种类繁多,但效果却不一致,其中效果较满意者当推3号胆盐 S. S. 琼脂及去氧胆酸钠-牛胆酸钠琼脂(简称郑氏 S. S. 琼脂)。我院试用的洗衣粉-去氧胆酸钠琼脂(简称洗衣粉 S. S. 琼脂)效果又较前者为优,这种培养基对肠道病原菌不但有很高的阳性检出率,而且痢疾杆菌在这种培养基上呈特殊的粘性菌落,可以在分离培养基上初步鉴别痢疾菌和沙门氏菌菌落,使肠道培养基更趋于完善。

## 一、洗衣粉对肠道菌的选择性

国产洗衣粉多以烷基苯磺酸钠或脂肪醇硫酸钠为主体,系高效表面活性剂,其化学性质和胆盐类似。不同牌号洗衣粉因含助洗剂及填料等成分有差异,故只有少数牌号洗衣粉适用于制作肠道细菌培养基。烷基苯磺酸钠单体呈油糊状或软皂状,性质不甚稳定,且制成的培养基混浊,故制作肠道细菌分离培养基仍以商

品洗衣粉为宜。

洗衣粉对革兰氏阳性细菌有较强的抑制作用(表1),尤其对抵抗力较大的肠球菌的作用胜于牛胆酸钠。用 S. S. 琼脂培养基基础成分,分别加入不同牌号洗衣粉作比较试验,结果表明,其中以沈阳立新粉及旅大粉为最适宜,其次为上海粉(表2)。制作肠道细菌选择性培养基的最适浓度为0.4—0.5%,浓度大于0.8%对痢疾菌有抑制作用,1.2%对沙门氏菌有明显抑制作用,1.5%对大肠杆菌出现较强的抑制(表3)。

洗衣粉与各种胆盐对肠道细菌作用的比较结果(表4)表明,洗衣粉对肠道细菌的作用与3号胆盐及混合胆盐的作用近似。各种纯胆盐对痢疾杆菌均有不同程度的抑制作用,但洗衣粉对大肠杆菌的抑制作用远不及去氧胆酸钠和3号胆盐。根据洗衣粉对肠球菌的有效抑制力,同时痢疾杆菌又能良好地生长,再利用去氧胆酸钠对大肠杆菌的强烈抑制作用,因而运用优选法找出两者最优配比关系(见图1及表),据此制成一种良好的肠道细菌强选择性培养基。

表1 洗衣粉对革兰氏阳性菌的抑制作用

| 菌种      | 项目 | 试验菌株数 | 烷基苯磺酸钠<br>(0.2%) | 立新洗衣粉<br>(0.4%) | 牛胆酸钠<br>(0.85%) |
|---------|----|-------|------------------|-----------------|-----------------|
| 金黄色葡萄球菌 |    | 15    | 0/15             | 0/15            | 0/15            |
| 溶血性链球菌  |    | 15    | 0/15             | 0/15            | 0/15            |
| 粪链球菌    |    | 20    | 0/20             | 0/20            | 5/20            |
| 枯草杆菌    |    | 15    | 0/15             | 0/15            | 0/15            |

注:“0”表示全部抑制,数字表示生长株数。

表2 各种洗衣粉(0.4%)对肠道菌的作用

| 菌种     | 洗衣粉 | 立新粉       | 上海粉       | 白猫粉     | 五洲粉     | 北海粉     | 天津粉      | 旅大粉       |
|--------|-----|-----------|-----------|---------|---------|---------|----------|-----------|
| 志贺氏痢疾菌 |     | +++ (1.2) | ++ (1.0)  | -       | -       | -       | ++ (1.2) | +++ (1.4) |
| 宋内氏痢疾菌 |     | +++ (1.6) | ++ (1.5)  | + (1.0) | -       | -       | ++ (1.2) | +++ (1.6) |
| 福氏痢疾菌  |     | ++ (2.0)  | ++ (2.0)  | + (0.5) | + (0.2) | + (0.5) | ++ (1.6) | ++ (2.0)  |
| 伤寒沙门氏菌 |     | +++ (1.0) | +++ (1.0) | -       | -       | +       | +(0.8)   | +++ (1.0) |

注:“-”表示不生长;“+”表示1—100个菌落;“++”表示101—200个菌落;“+++”表示201个菌落以上;“( )”为菌落直径(毫米)。

表3 不同浓度洗衣粉对肠道菌的作用

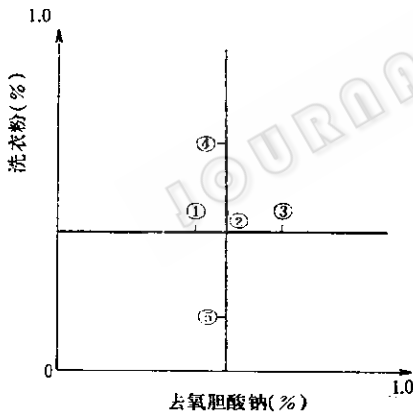
| 菌种     | 洗衣粉 (%)   |           |           |          | 伊红美蓝琼脂   |
|--------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
|        | 0.4       | 0.8       | 1.2       | 1.5      |          |
| 志贺氏痢疾菌 | 162 (1.4) | 158 (1.0) | —         | —        | 150(1.2) |
| 宋内氏痢疾菌 | 220 (1.2) | 200 (1.0) | 105 (1.0) | —        | 230(1.0) |
| 史氏痢疾菌  | 159 (1.4) | 150 (1.0) | 42 (0.8)  | —        | 165(1.2) |
| 福氏痢疾菌  | 115 (1.6) | 90 (1.0)  | 25 (1.0)  | 10 (1.0) | 100(1.0) |
| 伤寒沙门氏菌 | 140 (2.0) | 130 (2.0) | 75 (0.5)  | 40 (0.5) | 150(2.0) |
| 大肠杆菌   | 78 (3.0)  | 70 (3.0)  | 20 (3.0)  | 10 (2.5) | 270(3.0) |

注：数字为菌落数，弧号为菌落直径（毫米）。

表4 洗衣粉与各种胆盐对肠道细菌作用的比较

| 菌种        | 培养基 | 3号胆盐      | 去氧胆酸钠     | 牛胆酸钠      | 甘胆酸钠      | 混合胆盐      | 洗衣粉       |
|-----------|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 志贺氏痢疾菌(1) |     | +++ (1.2) | ++ (0.5)  | + (1.0)   | +++ (1.0) | +++ (1.0) | +++ (1.5) |
| 志贺氏痢疾菌(2) |     | +++ (1.5) | —         | —         | ++ (1.2)  | +++ (1.5) | +++ (1.5) |
| 宋内氏痢疾菌    |     | ++ (2.0)  | ++ (1.6)  | ++ (1.5)  | ++ (1.5)  | ++ (1.8)  | +++ (2.0) |
| 福氏痢疾菌     |     | +++ (1.5) | ++ (1.5)  | ++ (0.5)  | +++ (1.0) | +++ (1.5) | +++ (2.0) |
| 伤寒沙门氏菌    |     | +++ (1.5) | +++ (1.8) | ++ (1.5)  | +++ (1.5) | ++ (1.5)  | +++ (2.5) |
| 大肠杆菌(1)   |     | 15 (2.0)  | —         | +++ (2.0) | +++ (2.0) | + (2.0)   | ++ (2.0)  |
| 大肠杆菌(2)   |     | 33 (3.2)  | 1.0 (3.0) | ++ (3.0)  | ++ (3.0)  | 55 (3.2)  | ++ (3.2)  |

注：(1)各种胆盐含量为0.85%，(2)菌落数+，++，+++表示同表2，100个菌落以下用实数。



优选结果

| 编号 | 洗衣粉 (%) | 去氧胆酸钠 (%) | 比较    |
|----|---------|-----------|-------|
| 1  | 0.382   | 0.382     |       |
| 2  | 0.382   | 0.462     | 2:1 优 |
| 3  | 0.382   | 0.618     | 2:3 优 |
| 4  | 0.618   | 0.462     | 2:4 优 |
| 5  | 0.146   | 0.462     | 2:5 优 |

图1 洗衣粉与去氧胆酸钠量的优选

## 二、洗衣粉 S.S. 琼脂培养基的制备

### 1. 成分

|             |          |
|-------------|----------|
| 蛋白胨(北京全血胃胨) | 10.0 克   |
| 肉浸液         | 250.0 毫升 |
| 枸橼酸钠        | 8.5 克    |
| 硫代硫酸钠       | 8.5 克    |
| 枸橼酸铁        | 1.0 克    |
| 磷酸氢二钠       | 2.0 克    |
| 枸橼酸         | 0.35 克   |
| 中性红         | 2.5 毫克   |
| 碘           | 0.15 克   |
| 乳糖          | 10.0 克   |
| 琼脂          | 18.0 克   |
| 洗衣粉         | 4.5 克    |
| 去氧胆酸钠       | 4.5 克    |
| 蒸馏水         | 710.0 毫升 |

### 2. 制法

(1) 按上述量取蛋白胨、琼脂、乳糖、肉浸液(兔肉100克,蒸馏水200毫升,当量盐酸3毫升,置冰箱内浸泡24小时,经常摇动,加当量氢氧化钠4毫升,煮沸滤清)及蒸馏水加热溶解,调pH 7.4,再加洗衣粉及去氧胆酸钠,加热至煮沸,待冷至60℃加以下溶液。

(2) 加盐类溶液(枸橼酸钠 34 克, 蒸馏水 90 毫升, 加温溶解, 再溶入硫代硫酸钠 34 克及枸橼酸铁 4 克) 25 毫升, 混匀。

(3) 加缓冲液(磷酸氢二钠 20 克, 枸橼酸 3.5 克, 溶于 95 毫升蒸馏水中) 10 毫升, 混匀。

(4) 加 3% 中性红酒精溶液 0.8 毫升及碘液(碘 2 克, 碘化钾 2 克, 溶于 100 毫升蒸馏水中) 7.5 毫升, 混匀, 倾注平板即为洗衣粉-去氧胆酸钠琼脂培养基。

上述培养基除掉去氧胆酸钠即为洗衣粉-枸橼酸钠琼脂培养基(简称洗衣粉琼脂)。

### 三、洗衣粉培养基的应用效果

(1) 将试验菌株稀释成每毫升含  $10^3$  个细菌的菌液, 吸取 0.1 毫升加于平板培养基中, 用弯接种棒均匀

涂布于培养基表面, 置  $37^{\circ}\text{C}$  孵育 24 小时, 观察生长情况。由表 5 可见, 洗衣粉 S. S. 琼脂对大肠杆菌有较强的抑制力, 同时肠道病原菌能够良好生长。其次为郑氏 S. S. 琼脂及 3 号胆盐 S. S. 琼脂。后两种培养基对大肠杆菌抑制力也很强, 但对少数痢疾菌仍有一些抑制作用。弱选择性的洗衣粉琼脂, 虽然对大肠杆菌的抑制力较差, 但阳性率比麦康克琼脂、上海医药化验所 S. S. 琼脂及伊红美蓝琼脂为高。洗衣粉 S. S. 琼脂及洗衣粉琼脂上肠道细菌生长的菌落特征, 与含胆盐琼脂培养基上相同, 唯有痢疾菌的生长为粘性菌落, 用接种针挑动不易挑起或呈粘丝状。此种粘性菌落的特性以含烷基苯磺酸钠的洗衣粉为显著。沙门氏菌及副大肠杆菌则不显粘性。只有慢性痢疾中的非典型菌株及少数的伤寒杆菌(V 型)有时也出现粘性菌落。宋内氏痢疾杆菌常为光滑型和粗糙型菌落同时存在。

表 5 各种肠道细菌培养基的选择性比较

| 菌种     | 培养基 | 试验菌株 | 洗衣粉<br>S.S. | 3号胆盐<br>S.S. | 郑氏<br>S.S. | 上海医化<br>S.S. | 洗衣粉琼脂 | 伊红美蓝琼脂 |
|--------|-----|------|-------------|--------------|------------|--------------|-------|--------|
| 志贺氏痢疾菌 |     | 10   | 10/10       | 8/10         | 10/10      | 4/10         | 10/10 | 8/10   |
| 宋内氏痢疾菌 |     | 30   | 30/30       | 28/30        | 27/30      | 18/30        | 30/30 | 28/30  |
| 史氏痢疾菌  |     | 10   | 10/10       | 10/10        | 10/10      | 10/10        | 10/10 | 10/10  |
| 鲍氏痢疾菌  |     | 5    | 5/5         | 5/5          | 5/5        | 4/5          | 5/5   | 5/5    |
| 伤寒沙门氏菌 |     | 30   | 30/30       | 30/30        | 29/30      | 29/30        | 28/30 | 28/30  |
| 福氏痢疾菌  |     | 10   | 10/10       | 10/30        | 10/10      | 10/10        | 10/10 | 10/10  |
| 大肠杆菌   |     | 30   | +++         | +++          | +++        | ++           | ++    | 0      |

注: ++, +++ 表示对大肠杆菌的生长抑制力由弱至强的程度; “0”表示未有抑制作用; 分母表示试验菌株总数, 分子表示生长株数。

(2) 用痢疾菌和沙门氏菌感染粪便标本, 同时接种六种培养基进行比较观察(见表 6), 其中洗衣粉 S. S. 琼脂阳性率为 87.5%, 郑氏 S. S. 琼脂和 3 号胆盐 S. S. 琼脂阳性率分别为 79.3% 及 76.5%。

据 175 例阳性培养例的结果分析(表 7), 在洗衣粉 S. S. 琼脂和洗衣粉琼脂上同时出现阳性占 53.6%, 其余分别单独在一种培养基上出现。如果单用洗衣粉 S. S. 琼脂作分离培养, 阳性检出率为 93.6%, 有 6.4%

的阳性结果不能检出。若单用洗衣粉琼脂分离培养 59.9% 为阳性, 而 40.1% 的阳性结果不能检出。洗衣粉 S. S. 琼脂优于洗衣粉琼脂, 但两种培养基合并应用仍然能提高阳性检出率。在实际工作中, 我们把平皿的中央用玻璃做成高 4 毫米的中隔, 在两侧分别倾注洗衣粉 S. S. 琼脂和洗衣粉琼脂, 培养标本平行接种于两种培养基上, 这样一个平皿同时可获得两种培养基的结果, 应用方便。

表 6 626 份标本在不同培养基上阳性率的比较

| 项目   | 培养基  | 3号胆盐<br>S.S. | 郑氏<br>S.S. | 上医所<br>S.S. | 洗衣粉<br>S.S. | 洗衣粉琼脂 | 伊红美蓝琼脂 |
|------|------|--------------|------------|-------------|-------------|-------|--------|
| 痢疾菌  | 阳性数  | 455          | 473        | 228         | 520         | 388   | 142    |
|      | 阴性数  | 124          | 106        | 351         | 59          | 191   | 430    |
| 沙门氏菌 | 阳性数  | 25           | 25         | 10          | 29          | 20    | 8      |
|      | 阴性数  | 22           | 22         | 37          | 18          | 27    | 38     |
| 合计   | 阳性总数 | 480          | 498        | 238         | 549         | 408   | 150    |
|      | 百分率  | 76.5         | 79.3       | 38.0        | 87.5        | 65.1  | 24.0   |

表 7 175 例痢疾菌培养阳性例符合率比较

| 数 率    | 培养基 | 洗衣粉 S.S. + | 洗衣粉 S.S. + | 洗衣粉 S.S. - | 合 计 |
|--------|-----|------------|------------|------------|-----|
|        | 洗衣粉 | 洗衣粉        | 洗衣粉        | 洗衣粉        |     |
| 检出阳性份数 |     | 94         | 70         | 11         | 175 |
| 百 分 率  |     | 53.6       | 40.0       | 6.3        | 100 |

#### 四、讨 论

关于肠道细菌分离培养基,自从 Leifson 去氧胆酸钠-枸橼酸钠琼脂出现以后,才有强选择性培养基和弱选择性培养基之分。强选择性培养基既适合于病原菌的生长又对大肠杆菌有很强的抑制力,这是提高阳性率的重要条件。3号胆盐 S. S. 琼脂虽然效果较优,但在实际应用中仍然还有少数痢疾菌株不易生长。为了缓解培养基对痢疾杆菌的抑制作用,有人曾用 0.5% 去氧胆酸钠和 0.35% 的牛胆酸钠制成培养基,效果又较 3 号胆盐 S. S. 琼脂有明显提高。回顾肠道菌分离培养基的演变,开始用胆汁作培养基,只起抑制部分革兰氏阳性菌的作用,随后有了牛胆盐、甘胆酸钠和去氧胆酸钠等纯品胆盐,对大肠杆菌的抑制有了明显的加强,但不久发现用纯品胆盐做培养基,一些对胆盐敏感的菌株不能生长,因此又出现了混合胆盐如 3 号胆盐和混合胆盐(3)。郑氏用去氧胆酸钠和牛胆盐作适当的配比,制成的培养基胜过 3 号胆盐,说明人工配比较混合胆盐更适合临床应用要求。

我们应用表面活性剂——洗衣粉(烷基苯磺酸钠或脂肪醇硫酸钠)作胆盐的代用品,利用其对肠球菌的有效抑制力,同时选用胆盐中对大肠杆菌抑制力最强的去氧胆酸钠,制成强选择性洗衣粉 S. S. 琼脂培养基。在这种培养基上,只能生长少数大肠杆菌,多数情况不生长大肠杆菌,因此即使标本内致病菌数量很少,也可能在原始接种点上分离出病原菌,避免了由于培养基选择性差,致使大肠杆菌生长过多,遮盖了少数病原菌菌落。另外,在含洗衣粉的培养基上,痢疾菌为粘性菌落。在挑选菌落作生化试验时,则能初步区别痢疾菌落,使分离培养基不但能初步鉴别大肠杆菌与致病菌,进而还能初步区分痢疾菌和沙门氏菌菌落。

此外,培养基基础成分质量的优劣,对提高培养基的阳性率和选择性也很重要。经试验,北京豚比日本多价蛋白豚和英国豚更适宜于制备洗衣粉 S. S. 琼脂。兔肉浸液及大麦芽浸液对肠道致病菌有生长促进作用(见表 8),是很好的基础培养基成分。但大麦芽浸液因含糖多,不适宜作鉴别培养基。在培养基中加碘液以形成适量的四硫磺酸钠,能提高洗衣粉培养基的选择性。

表 8 基础培养基对肠道病原菌生长的比较

| 菌 种    | 肉 膏 豚 水 |       | 兔 肉 浸 液 |       | 牛 肉 浸 液 |       | 大 麦 芽 浸 液 |       |
|--------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|-----------|-------|
|        | 菌落直径    | 光 密 度 | 菌落直径    | 光 密 度 | 菌落直径    | 光 密 度 | 菌落直径      | 光 密 度 |
| 志贺氏痢疾菌 | 0.74    | 0.37  | 1.55    | 0.6   | 1.00    | 0.45  | 1.72      | 0.57  |
| 福氏痢疾菌  | 1.00    | 0.30  | 1.90    | 0.55  | 1.36    | 0.36  | 2.00      | 0.55  |
| 伤寒沙门氏菌 | 1.00    | 0.35  | 2.70    | 0.65  | 1.90    | 0.41  | 2.70      | 0.58  |

注:菌落直径以毫米表示;光密度为液体培养基中生长 18 小时的光密度数。

用洗衣粉制成的洗衣粉琼脂,对肠道致病菌的分离培养效果较麦康克琼脂及伊红美蓝琼脂为优。洗衣粉价格非常便宜,在缺乏去氧胆酸钠情况下,用洗衣粉琼脂分离肠道致病菌也能得到较高的阳性检出率。如果把洗衣粉琼脂作为一种弱选择培养基和洗衣粉 S. S. 琼脂同时应用,则能得到更高阳性检出率。

#### 参 考 资 料

[1] 郑翼宗:痢疾杆菌分离培养基的研究,微生物学报, 2: 121, 1957。

[2] 辽宁省防疫站:洗衣粉培养基,中华卫生杂志, 2: 125, 1966。

[3] 梁植权等:肠道细菌用胆盐的制备及物理性质,中华医学杂志, 41: 640, 1955。

[4] 程知义:医学微生物的进展, 84—92, 人民卫生出版社, 1960。

[5] 轻工业部食品局油脂处:合成洗涤剂与皂粉生产经验,轻工业出版社,第 41—47 页, 1959。