

EMB 琼脂中伊红美蓝适宜配比的选择

米建华

(兰州市药品检验所)

于波 王光宝

(甘肃省药品检验所)

伊红美蓝 (EMB) 琼脂是分离鉴别大肠杆菌和肠道致病菌的常用培养基。EMB 琼脂的配方中伊红 (E)、美蓝 (M) 和乳糖的用量不同^[1-4],使大肠菌落的颜色及金属光泽有很大差异,较难使用统一的选择标准。为了改善和稳定其鉴别性能,本文作了伊红、美蓝的配比试验,结果如下。

材 料 和 方 法

1. 伊红和美蓝的水溶液配制: 取伊红 (Y)2g 和美蓝 0.5g 分别放入容量瓶内,各加蒸馏水 100ml, 溶解、过滤后分别装在棕色瓶

内。

2. 肉膏汤: 牛肉膏 3g, NaCl 5g, 蛋白胨 10g, 加蒸馏水 1000ml, pH 7.6。

3. EMB 琼脂的配制: (1) 组成(见表 1)。

(2) 制法: 取 100ml 肉膏汤分装三角瓶内,按表 1 配方量加入其它成分。经 10 磅 20 分高压灭菌后,制成平板备用。以上海医学化学研究所生产的 EMB 琼脂干燥品为对照。

4. 菌种: 普通大肠杆菌(菌号 44102), 由卫生部药品生物制品检定所供给。致病性大肠杆菌,由甘肃省卫生防疫站供给。绿脓杆菌,由甘肃省药检所供给。

表 1 EMB 琼脂的组成

培养基编号	EM 配比 (E:M)	2% 伊红液 (g/ml)	0.5% 美蓝液 (g/ml)	乳 糖 (g)	琼 脂 (g)	pH7.6 肉膏汤 (ml)
1	8:1	0.04/2	0.005/1	2	1.8	100
2	8:1	0.04/2	0.005/1	1	1.8	100
3	8:1	0.04/2	0.005/1	0.5	1.8	100
4	6:1	0.04/2	0.0065/1.3	2	1.8	100
5	6:1	0.04/2	0.0065/1.3	1	1.8	100
6	6:1	0.04/2	0.0065/1.3	0.5	1.8	100
7	5:1	0.04/2	0.008/1.6	2	1.8	100
8	5:1	0.04/2	0.008/1.6	1	1.8	100
9	5:1	0.04/2	0.008/1.6	0.5	1.8	100
10	4:1	0.04/2	0.01/2	2	1.8	100
11	4:1	0.04/2	0.01/2	1	1.8	100
12	4:1	0.04/2	0.01/2	0.5	1.8	100
13	3:1	0.03/1.5	0.01/2	2	1.8	100
14	3:1	0.03/1.5	0.01/2	1	1.8	100
15	3:1	0.03/1.5	0.01/2	0.5	1.8	100
16	1:1	0.03/2	0.03/6	2	1.8	100
17	1:1	0.03/2	0.03/6	1	1.8	100
18	1:1	0.03/2	0.03/6	0.5	1.8	100

表 2 EMB 琼脂的不同组成对细菌测定结果*

培养基编号	EM 配比量 (E:M)	乳 糖 量 (g)	普通大肠杆菌		致病性大肠杆菌		绿脓杆菌		基底颜色	菌 落 清晰度
			菌落颜色	金属光泽	菌落颜色	金属光泽	菌落颜色	金属光泽		
1	8:1	2	紫黑	+	紫黑	+	无色	-	淡棕	+++
2	8:1	1	紫黑	+	紫黑	+	无色	-	淡棕	+++
3	8:1	0.5	紫黑	+	紫黑	+	无色	-	淡棕	+++
4	6:1	2	紫黑	+	紫黑	++	无色	-	棕红	+++
5	6:1	1	紫黑	+	紫黑	++	无色	-	棕红	+++
6	6:1	0.5	紫黑	+	紫黑	++	无色	-	棕红	+++
7	5:1	2	紫黑	++	紫黑	+++	微蓝	-	棕红	+++
8	5:1	1	紫黑	++	紫黑	+++	微蓝	-	棕红	+++
9	5:1	0.5	紫黑	++	紫黑	+++	微蓝	-	棕红	+++
10	4:1	2	紫蓝	+++	紫蓝	+++	微蓝	-	棕紫	+
11	4:1	1	紫蓝	+++	紫蓝	+++	微蓝	-	棕紫	+
12	4:1	0.5	紫蓝	+++	紫蓝	+++	微蓝	-	棕紫	+
13	3:1	2	紫蓝	+++	紫蓝	+++	微蓝	-	深紫	+
14	3:1	1	紫蓝	+++	紫蓝	+++	微蓝	-	深紫	+
15	3:1	0.5	紫蓝	+++	紫蓝	+++	微蓝	-	深紫	+
16	1:1	2	深蓝	-	深蓝	-	浅蓝	-	紫蓝	-
17	1:1	1	深蓝	-	深蓝	-	浅蓝	-	紫蓝	-
18	1:1	0.5	深蓝	-	深蓝	-	浅蓝	-	紫蓝	-
干燥琼脂对照			紫黑	+	紫黑	+	无色	-		+++

* “+++”菌落清晰,金属光泽较弱,“++”菌落清晰度及金属光泽稍差和较弱,“-”菌落颜色难辨,无金属光泽。

试验结果

一、EMB 琼脂的不同组成对细菌的检测结果

由不同组成制成的 EMB 琼脂平板, 分别划线接种普通大肠杆菌、致病性大肠杆菌和绿脓杆菌各两个平板, 置 37°C 培养 18—24 小时。比较各种菌落的颜色、金属光泽和培养基的基底颜色, 以及菌落的清晰程度等。结果见表 2。

从表 2 结果看, 伊红美蓝的配比以 (1—9 号培养基 5:1, 6:1, 8:1 的效果较好, 5:1 最好, 平板的基底颜色呈棕红色或淡棕红色, 大肠杆菌分解乳糖产酸后, 菌落呈紫黑色, 金属光泽明显可见, 鉴别性能良好。随着美蓝量的逐渐增加, 伊红量相对减少 (10—15 号配方), 基底颜色渐深呈棕紫或深紫色, 此时大肠杆菌菌落的金属光泽虽较强, 但菌落颜色也变为紫蓝或深紫色, 同基底难以区别。当美蓝和伊红的用量相等时 (16—18 号培养基), 大肠菌落的颜色变为深蓝色, 产生金属光泽的性能也随之消失, 更难以辨认。各个培养基的乳糖用量在 0.5—2.0% 时, 对大肠菌落的影响不大, 故一般选用 1% 即可。

讨 论

本实验证明, 在 EMB 琼脂平板上, 大肠杆菌的菌落是否呈紫黑色、金属光泽有无和强弱、基底颜色深浅、菌落的清晰度等, 除受此菌分解乳糖产酸能力的影响外, 更主要的是受伊红美蓝两种指示剂配比的影响。因而在满足细菌所需乳糖量 (0.5—2.0%) 的条件下, 伊红美蓝的配比便起着决定性的作用。例如, 当 E:M 在 5:1、6:1 和 8:1 时, 大肠菌落不仅呈典型的紫黑色, 金属光泽也较强, 棕红色的基底衬托着紫黑色的菌落, 鲜明可辨, 完全符合常规检验中的基本要求。因此我们认为 EMB 琼脂的乳糖量为 1%, 伊红美蓝配比为 5:1 时, 效果最好。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生部: 食品卫生检验方法(初稿), 技术标准出版社, 68 页, 1976。
- [2] 张宽厚: 细菌生理学, 人民卫生出版社, 233 页, 1962, 北京。
- [3] 卫生部药品生物制品检定所: 药品微生物学及活菌的检验方法, 14 页, 1976。
- [4] 盛彤笙、朱晓屏等: 兽医微生物学实验指导, 畜牧兽医图书出版社, 218 页, 1957。