

沙门氏菌快速增菌培养的实验研究

邢念义 李海霞

(济南军区军事医学研究所, 济南)

摘要 用改良的沙门氏菌增菌培养基与 02 快速增菌培养基, 比较研究了鼠伤寒沙门氏菌、伤寒沙门氏菌、甲型副伤寒沙门氏菌、乙型副伤寒沙门氏菌、猪霍乱沙门氏菌及纽因吞沙门氏菌的增殖能力。以 OD 值测定菌量, 改良法较 02 法增长 1.43—3.97 倍。尤其是对鼠伤寒沙门氏菌和伤寒沙门氏菌的菌量增殖较多, 生长速度较快, 分别为 02 法的 3.97 和 3.7 倍。改良法可适合于这两种菌的增殖培养, 其次是纽因吞沙门氏菌和乙型副伤寒沙门氏菌的培养, 但对甲型副伤寒沙门氏菌和猪霍乱沙门氏菌的增长欠佳。改良的增菌培养基尚有抑制葡萄球菌和大肠杆菌生长的作用。

关键词 沙门氏菌; 增殖培养

由沙门氏菌, 尤其是由伤寒沙门氏菌和鼠伤寒沙门氏菌引起的伤寒病、鼠伤寒小儿腹泻及食物中毒等有逐年增多的趋势^[1-3]。研究它们的快速增殖能力, 提高其快速培养, 缩短细菌培养时间, 对于沙门氏菌的早期诊断有着实际意义。我们在沙门氏菌的增菌培养上, 比较研究了两种培养基的培养效果, 结果较为满意。

材料与 方法

(一) 材料

1. 供试菌株: (1) 致病性菌(选择沙门氏菌

属 A-F 菌群的一个 O 抗原代表株): 伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhosa* 50096)、鼠伤寒沙门氏菌 (*S. typhimurium* S-155)、甲型副伤寒沙门氏菌 (*S. paratyphi* A 50001)、乙型副伤寒沙门氏菌 (*S. paratyphi* B 50007)、猪霍乱沙门氏菌 (*S. Cho-Lerae-Suis* 491)、纽因吞沙门氏菌 (*S. newington* 50049), 由北京生物制品研究所惠赠。

(2) 其它菌株: 大肠杆菌 (*E. coli*), 从正常人粪便中培养分离。金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*), 是联合国标准株, 由军事

医学科学院微生物流行病学研究所惠赠。

2. 培养基: (1) 02 副霍乱增菌培养基(g): 蛋白胨 1.0, NaCl 0.5, 植物生长激素。pH 9.0, 用时调至 7.4。购自北京空军部队第四研究所。

(2) 改良增菌培养基 (g): 在 100 ml 1:1 牛肉浸液中加入蛋白胨 1.0, 胨 0.5, 胰胨 0.5, 硫代硫酸钠 0.3, 碘液 2ml, 02 增菌培养基 (干燥品) 5.1。pH 7.4。

(3) 普通肉汤培养基

3. 72 型分光光度计: 波长范围 420—700 nm。由北京第三分析仪器厂生产。

4. 标准菌液比浊管: 符合联合国国际标准菌数浓度。北京药品生物制品检定所制作。

(二) 方法

供试菌株接种于 2.5 ml 普通肉汤培养基, 37℃ 培养过夜, 用标准菌液比浊管测定细菌浓度 (菌数/ml)。分别加入制备好的改良增菌培养基和 02 增菌培养基 30ml 的三角瓶内, 使含菌量 400 万个/ml。混合后以无菌手续分装无菌试管内, 每管 2.5 ml, 置 37℃ 培养。每隔一小时取一管测 OD 值 (540 nm), 制成曲线, 分

析结果。同时用葡萄球菌 (G⁺) 和大肠杆菌 (G⁻) 作为对照, 观察改良和 02 增菌培养基对这两种菌是否有抑制作用, 并与普通肉汤培养基进行比较。

结果与讨论

用沙门氏菌属 A-F 菌群中的一个“O”抗原代表性菌株, 在两种增菌培养基上进行了增殖培养, 测定 OD 值, 判定菌的增殖能力。

(一) 致病性沙门氏菌增殖能力比较

用两种增菌培养基对致病性沙门氏菌的增殖能力进行了比较。表 1 和图 1—6 的结果指出, 改良的增菌培养基较 02 增菌培养基对 6 种致病性沙门氏菌增殖菌数皆多。一般增长一倍以上, 特别是对伤寒沙门氏菌和鼠伤寒沙门氏菌增长的菌数最高, 分别为 3.7 和 3.95 倍。其次是纽因吞沙门氏菌和乙型副伤寒沙门氏菌。对甲型副伤寒沙门氏菌和猪霍乱沙门氏菌增殖能力较差。因此, 改良的增菌培养基有加速沙门氏菌生长的作用, 特别适用于对鼠伤寒沙门氏菌和伤寒沙门氏菌的快速增菌培养。

表 1 增菌培养基对沙门氏菌增殖能力的比较 (OD 值)

培养时间 (h)	伤 寒 菌		鼠伤寒菌		甲型副伤寒菌		乙型副伤寒菌		猪霍乱菌		纽因吞菌	
	改良	02	改良	02	改良	02	改良	02	改良	02	改良	02
4	0.055	0.015	0.04	0.002	0.025	0.025	0.02	0.035	0.025	0.02	0.055	0.04
5	0.1	0.03	0.1	0.038	0.025	0.025	0.035	0.035	0.04	0.02	0.105	0.05
6	0.145	0.045	0.15	0.038	0.03	0.035	0.07	0.035	0.045	0.025	0.115	0.055
7	0.15	0.055	0.17	0.045	0.035	0.04	0.08	0.045	0.05	0.03	0.12	0.065
8	0.165	0.055	0.2	0.055	0.035	0.04	0.1	0.04	0.065	0.03	0.12	0.065

“注”: 1. 改良: 表示改良增菌培养基。2. 02: 表示 02 增菌培养基

实验结果还看出, 当沙门氏菌用改良和 02 两种增菌培养基作增殖培养时, 一般均在培养到 3 小时即开始增长, 到 4—6 小时即迅速生长。在改良/02 两种增菌培养基中培养 1—8 小时所测定的 OD 值, 依次为: 伤寒沙门氏菌 (0.02—0.165/0.015—0.065)、鼠伤寒沙门氏菌 (0.038—0.2/0—0.052)、纽因吞沙门氏菌 (0.01—0.115/0.01—0.016)、乙型副伤寒沙门氏菌 (0.02—0.1/0.02—0.045)、甲型副伤寒沙门氏菌 (0.015—0.05/0.005—0.035) 及猪霍乱沙门氏菌

(0.015—0.065/0.01—0.03)。由此可见, 沙门氏菌的菌数在每个小时的培养中, 在改良培养基上总是高于 02 培养基。

研究沙门氏菌增菌培养的目的, 是为了快速培养, 缩短培养时间, 为进一步作分离纯化、鉴定打好基础。因此, 我们认为, 用改良增菌培养基培养 4—6 小时, 作分离纯化培养和鉴定较为适宜。

(二) 两种培养基对沙门氏菌培养速度比较

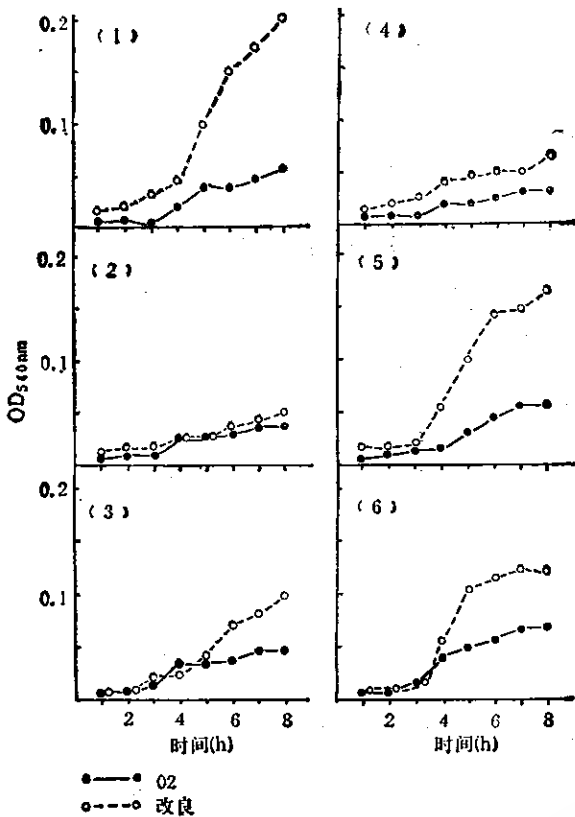


图 1—6 沙门氏菌在两种增菌培养基中生长情况

1. 鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*)
2. 甲型副伤寒沙门氏菌 (*S. paratyphi A*)
3. 乙型副伤寒沙门氏菌 (*S. paratyphi B*)
4. 猪霍乱沙门氏菌 (*S. cholerae-suis*)
5. 伤寒沙门氏菌 (*S. typhi*)
6. 纽因吞沙门氏菌 (*S. newington*)

O2 培养基是用于霍乱和副霍乱弧菌的快速增菌培养基。其中起主要作用的成份是植物生长激素。我们在此培养基中增加豚腺、胰腺和牛肉浸液等多种营养成份，使含有丰富的氨基酸。同时加入硫代硫酸钠和碘液的抑制成份。实验结果表明，改良增菌培养基既提高了沙门氏菌的增殖能力，又抑制了葡萄球菌、大肠杆菌的暂时生长。此种培养基充分显示了生长激素和丰富的营养成份的综合作用。

(三) 大肠杆菌和葡萄球菌增殖能力的比较

为了研究改良增菌培养基对肠道中其它细菌的增殖能力，我们用革兰氏阴性菌（大肠杆菌）及革兰氏阳性菌（金黄色葡萄球菌）进行了比较（图 7—9）。结果表明，两种增菌培养基对

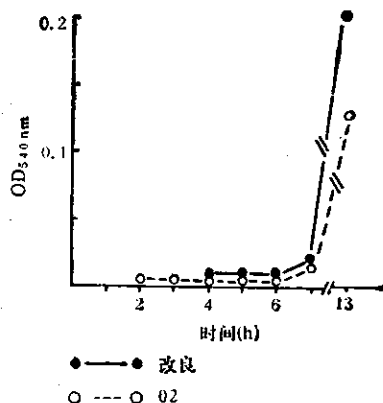


图 7 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 在两种增菌培养基中生长情况

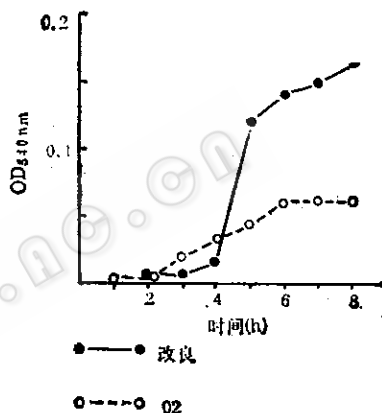


图 8 大肠杆菌 (*E. coli*) 在两种增菌培养基中生长情况

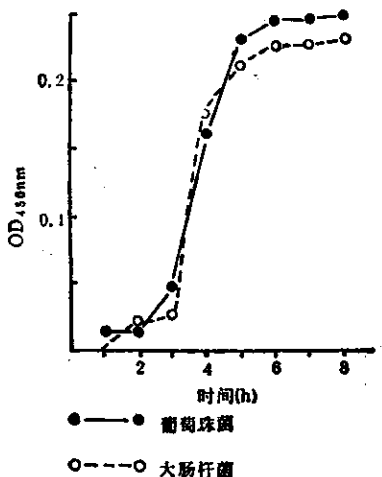


图 9 金黄色葡萄球菌和大肠杆菌在普通肉汤培养基中生长情况

这两种细菌皆有暂时的抑制作用，特别是对葡萄
(下转第137页)

(上接第119页)

萄球菌抑制生长较明显,待培养至7小时才开始生长;而用普通培养基培养作为对照,当培养至3小时即迅速增长。对这两种菌的试验也可说明,在增菌后5小时左右开始作分离培养较适宜。若增殖培养至7小时后再作分离培养,由于大肠杆菌和葡萄球菌的数量增多,可能会影响对致病菌的分离阳性率。

参 考 文 献

- [1] 王成科: 中国免疫学杂志, 1(3): 38, 1985。
- [2] 李敬恒等: 中华流行病学杂志, 5(3): 154, 1984。
- [3] 王德生: 中华儿科杂志, 17(2): 80, 1979。
- [4] 上海市卫生防疫站: 卫生防疫检验, 89 页, 上海科学技术出版社, 1965。