

一次性厌氧菌培养平板的制备与实验使用

李建秋 祁 锋 刁凤英

(黑龙江省医院烧伤科, 哈尔滨 150036)

摘要 我们设计并制作的一次性厌氧菌培养平板, 经初步实验使用结果表明它对临床常见厌氧菌培养效果好、较常用培养方法具有不用现配培养基, 不用接种棒涂菌, 可在有氧环境下进行操作等优点。故这是一种极其简单、有效的厌氧菌培养装置。

关键词: 一次性; 厌氧菌; 培养

厌氧菌感染遍及临床各科, 在许多致命的感染中起重要作用^[1]。因此, 从临床标本中培养检查厌氧菌是临床检验和卫生防疫部门的一项重要工作。由于厌氧菌培养技术操作复杂, 要求条件较高, 致使普及受到一定限制。近年来我们着眼于将厌氧菌培养技术的简化和轻便适用, 研制出了一次性厌氧菌培养平板, 现将研制和应用结果一并报告如下。

材 料 与 方 法

(一) 材料

1. 供试菌株: 共 8 株, 其中有 (1) 双歧杆菌 1 株, 由中国预防医学科学院流行病学微生物研究所提供; (2) 脆弱拟杆菌 3 株、普通拟杆菌 2 株及多型拟杆菌 1 株, 均由中国人民解放军 304 医院提供; (3) 布氏互营芽孢菌 1 株, 由中国科学院微生物研究所提供。

2. GAM 半固体培养基^[2]。

3. 一次性厌氧菌培养皿, 本院自制。

4. 825 型厌氧罐及厌氧袋, 沈阳市第五人民医院生产。厌氧手套箱, 日本产。

5. CJ-1 型磁力搅拌器, 北京离心机厂生产。

6. 指示剂: 美蓝半固体指示剂^[3]。

(二) 方法

1. 一次性厌氧菌培养平板的制备: (1) 材质及结构: 系由硬质、透明有机玻璃平皿及其附件构成。皿的外形、厚度及大小与普通培养皿相似。皿高 20mm、直径 84mm, 厚 3mm, 皿盖和

皿底结合部为叩合结构。皿盖上方距边缘 20mm 处有一直径为 19mm 的圆孔, 孔由橡皮塞封堵、塞的下端制一横向缺口, 口内放一长 20mm、直径 2mm 金属棒。皿底边缘放一长 35mm、高 15mm 塑料薄挡板, 与皿缘形成一小槽 (图 1)。

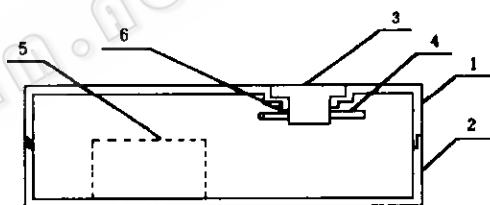


图 1 一次性厌氧菌培养皿剖面图

1. 皿盖, 2. 皿底, 3. 橡皮塞, 4. 金属棒,
5. 指示剂槽, 6. 固定金属棒的橡皮塞缺口

(2) 制作方法: 在厌氧手套箱中将溶化并保持 50℃ 左右的 GAM 培养基约 20ml 注入皿内, 再把美蓝半固体指示剂放入小槽。然后将皿盖和皿底扣合胶封, 制毕取出后用 100—200 万 rad 剂量钴 60 辐照消毒 20 小时, 即可置室内备用。

2. 一次性厌氧菌培养平板培养方法: 将各供试菌种对数生长期的新鲜培养物制成 10^4-10^6 cfu/ml 盐水菌悬液, 用无菌注射器抽取后经橡皮塞向各平板内加入一滴, 接着稍倾斜

本工作承蒙哈尔滨市防疫站徐迪成, 张澜老师指导。承蒙解放军 304 医院熊德鑫及中科院微生物所赵玉峰、东秀珠两位老师的大力支持, 特此致谢。

针头即可将金属棒捅掉落至培养基表面,把平板放在磁力搅拌器上,开机使棒在其表面旋转作四区涂菌,最后将板放入 37℃ 普通温箱培养 48 小时。与此同时,用厌氧手套箱及厌氧罐按常规方法对供试菌进行培养,作为对照。判断结果时如指示剂不变色、接种菌生长丰盛者记录为(++);有细菌生长者记录为(+);指示剂变蓝、无细菌生长者记录为(-)。对生长的细菌,可按菌落特征、革兰氏染色及形态来确定是否为原

来的接种菌。

结 果 与 讨 论

供试菌株在一次性厌氧菌培养平板和厌氧手套箱培养,厌氧罐培养作为对照。菌株生长情况从表 1 可以看到,在一次性厌氧菌培养平板培养的 8 株菌中,7 株中度厌氧菌生长为(++),一株生长为(+)。6 株在厌氧手套箱中培养,

表 1 八株厌氧菌接种一次性厌氧菌培养平板及对照法生长情况比较 *

菌 种	一次性 厌氧菌 平板	对 照 法	
		厌氧手套箱	厌氧罐
青春双歧杆菌 (<i>Bifidobacterium adolescentis</i>)	++		+
脆弱拟杆菌 (<i>Bacteroides fragilis</i>)-1 23743	++	++	+
(<i>Bacteroides fragilis</i>) 2 23745	++		+
(<i>Bacteroides fragilis</i>)-3 英 21	++	++	
普通拟杆菌 (<i>Bacteroides Vulgatus</i>)29327(2 株)	++	++	+
多型拟杆菌 (<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>)29741	++	++	+
布氏互营芽孢菌 (<i>Syntrophospora byantis</i>)DSM 3014B	+	+	

* “+” 生长, “++” 生长丰盛, 培养条件均为 37℃ 48 小时。

其中 5 株生长为(++), 一株为(+)。而在厌氧罐中培养的 6 株菌生长均为(+)。这一结果表明, 用一次性厌氧菌平板对供试的厌氧菌培养效果与厌氧手套箱相似, 但优于厌氧罐。

固体培养基培养厌氧菌的方法有: 予还原培养基滚管法、厌氧手套箱法和厌氧罐法等^[4], 前两种方法比较理想, 能够满足极端厌氧菌及临床多见的中度厌氧菌的需要, 但设备费用高, 技术操作复杂, 临床医疗及预防机构不易推广。目前常用的厌氧罐法虽无上述问题, 但仅能用于中度厌氧菌培养, 而且使用时还需要抽气、换气或消耗、1—2 个厌氧袋。而一次性厌氧菌平板法解决了前述各法存在的问题, 培养效果可与手套箱法媲美, 该法具有四大特点:

1. 可以免去临时配置培养基的麻烦, 便于

将临床标本或增菌培养物直接接种, 随用随取, 操作极其简单。

2. 培养检查临床厌氧菌, 可在需氧条件下操作, 无须厌氧培养装置。

3. 使用金属棒旋转涂菌, 菌落生长均匀, 易生长单个菌落, 便于获得纯培养物。

4. 价格低廉。

参 考 文 献

1. 刘秉阳等: 中华流行病学杂志, 9(2):3, 1988。
2. 陈聪敏等编: 厌氧菌及其感染, 第一版, 上海医科大学出版社, 第 238 页, 1989。
3. 陈聪敏等编: 厌氧菌及其感染, 第一版, 上海医科大学出版社, 第 259 页, 1989。
4. Sylvia Silver, DAMY (ASCP): Anaerobic bocteriology for the clinical laboratory pp.35—40, The C.V.Closby Campany,1980.

(1992-7-8 收稿)