

X光片明胶培养基制作和应用

孙忠 冉祥杰 王松枝 孙喜泰

(哈尔滨市卫生防疫站, 黑龙江省 150010)

田军川

(齐齐哈尔市卫生防疫站, 黑龙江省 161000)

摘要 用12种基础液筛选出的自制基础液X光片明胶培养基法和常规法,对专性厌氧菌、兼性厌氧菌和需氧芽孢菌三大类共174株分三批做对比试验。结果表明,三批的总符合率为100%,经统计学处理,两种方法无显著差异。且前法在工艺和观察方法上简单,敏感性好,反应明显,原料来源广泛,成本低、保存期长等方面优于常规法。

关键词 明胶培养基; X光片; 制作

明胶液化试验是细菌鉴定的重要生化特性。常规明胶培养基^[1,2],结果判定麻烦,制作程序繁琐,保存期短,22℃出现结果慢。1973年Blegevic^[3]研制的X光片明胶简易测定法,国外已广泛应用,但国内尚未见报道。自1985年以来,我们从自行配制的9种基础液,日本产的TEP和GAM,上海产的硫乙醇酸盐共12种基础液中进行筛选,利用选定的自制基础液X光片明胶培养基和常规法,将三大类174株专性厌氧菌、兼性厌氧菌和需氧芽孢杆菌分三批做对比试验,取得良好结果。

材料和方法

(一) 材料

1. 菌株:专性厌氧菌62株,其中50株由卫生部长春生物制品研究所,农业部中国兽药监察所提供。12株由美国疾病控制中心、Vpi及日本专业实验室提供。兼性厌氧菌53株,由卫生部生物制品检定所、中国科学院微生物研究所、日本专业实验室提供。少数是地方菌株。需氧芽孢杆菌59株,由中国科学院微生物研究所提供。

2. 基础液:对肝消化液,牛心消化液、牛肉肝消化液、TEP基础液、日本产GAM和上海产厌氧菌基础液等12种液体进行了筛选,已

确定的基础液配方(g)为:蛋白胨10、大豆胨3、豚胨10、氯化钠5、酵母浸膏3、 K_2HPO_4 2.5、牛心肝浸液200ml。加水至1000ml, pH7.3,过滤, $1.05kg/cm^2$ 灭菌15分钟。

3. 常规营养明胶培养基(g)为:明胶12,蛋白胨1.5,牛肉汁100ml。pH7.0,分装小试管,高压灭菌。

4. X光胶片:选取辽阳、上海生产的X光曝光胶片,大小为 $0.5 \times 1.5cm$ 方条,置于干燥小试管内。

5. 明胶:瑞士Fluka产。

(二) 方法

将X光胶片插进小试管,经过 ^{60}Co 照射后,加入基础液2ml,再将已知菌的新鲜培养物,制成100亿/ml细菌悬液接种1滴于小试管,放37℃培养24小时。同时设置营养明胶培养基管,30℃培养两天和一周,每天观察结果。

结果判定:X光片结果胶膜脱落为阳性,胶膜不脱落为阴性。明胶管液化为阳性,不液化为阴性。

本试验承蒙中国科学院微生物所给予验证指导,以及哈尔滨市公卫学院王舒敏、李勇、葛洪三位同志参与本试验,在此一并致以诚挚谢意。本工作指导者:张澜、徐迪诚主任医师。
© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

试验结果

用X光胶片法与常规法做对比试验,分三批进行:第一批(1985—1986年)62株专性厌氧菌,两法符合率为96%(表1)。第二批(1990年)53株兼性厌氧菌,两法符合率为100%(表2)。第三批(1992年)59株需氧芽孢菌,两法符合率为100%(表3)。三批实验共进行了174株菌的比较,两种方法的总符合率为98.8%。我们选定的自制基础液具有敏感性好,保存期长(保存一年半X光片胶质不脱落),成本低等优点,优于常规法。基础液的筛选成功和自制基础液配方的选定均属国内首次。此法有推广价值。

表1 专性厌氧菌两法对比结果

菌名	菌株数	两法符合数	符合率%
破伤风梭菌	26	24	92.3
产气荚膜梭菌	10	10	100
败毒梭菌	10	10	100
难辨梭菌	1	1	
脆弱拟杆菌	4	4	100
吉氏拟杆菌	1	1	
产黑色素拟杆菌	2	2	100
具核梭杆菌	1	1	
坏死梭杆菌	1	1	
消化链球菌	1	1	
疱疮丙酸杆菌	2	2	100
韦荣氏球菌	1	1	
衣氏放线菌	1	1	
迟缓真杆菌	1	1	
合计	62	60	96

经统计学处理,两种方法无显著差异。

表2 兼性厌氧菌两法对比结果

菌名	菌株数	两法符合数	符合率%
粘质沙雷氏菌	1	1	
液化沙雷氏菌	1	1	
聚团肠杆菌	2	2	100
阴沟肠杆菌	2	2	100
沙门氏菌	1	1	
铜绿假单胞菌	1	1	
金黄色葡萄球菌	1	1	
木糖葡萄球菌	2	2	100
链球菌(sp)	1	1	
粪链球菌	1	1	
棒状菌群(9001)	—	—	
酵米面假单胞菌	7	7	100
阴道加德纳氏菌	1	1	
粘质沙雷氏菌	2	2	100
铜绿假单胞菌	2	2	100
侵袭性大肠菌	4	4	100
鼠伤寒沙门氏菌	2	2	100
费氏柠檬酸杆菌	1	1	
普通变形菌	2	2	100
洋葱假单胞菌	2	2	100
嗜水气单胞菌	2	2	100
类志贺邻单胞菌	2	2	100
金黄色葡萄球菌	1	1	
铜绿假单胞菌*	2	2	100
荧光假单胞菌*	2	2	100
类产碱假单胞菌*	2	2	100
产碱菌IVe群*	—	—	
固氮菌*	—	—	
大黄欧文氏菌*	—	—	
嗜水气单胞菌*	2	2	100
合计	53	53	100

*示菌株是经中国科学院微生物研究所验证。

表 3 需氧芽胞菌两法对比结果

菌 名	菌株数	两法符合数	符合率%	菌 名	菌株数	两法符合数	符合率%
蜡样芽胞杆菌* (9001)	1	1		枯草芽胞杆菌*	2	2	100
(9004)	1	1		凝结芽胞杆菌*	2	2	100
(90109)	7	7	100	环状芽胞杆菌*	—	—	
(90132)	1	1		嗜热脂肪芽胞杆菌*	—	—	
(90151)	1	1		短芽胞杆菌*	7	7	100
(90178)	1	1		地衣芽胞杆菌*	2	2	100
(90183)	1	1		球状芽胞杆菌*	2	2	100
未定芽胞杆菌	1	1		草状芽胞杆菌*	2	2	100
巨大芽胞杆菌* (9085)	—	—		蜂房芽胞杆菌*	—	—	
蜡样芽胞杆菌	1	1		蜡状芽胞杆菌*	4	4	100
枯草芽胞杆菌	5	5	100	苏云金芽胞杆菌*	2	2	100
环状芽胞杆菌	1	1		短小芽胞杆菌*	2	2	100
短小芽胞杆菌	1	1		巨大芽胞杆菌*	2	2	100
坚强芽胞杆菌*	—	—		巨大芽胞杆菌*	2	2	100
合 计					59	59	100

参考文献

1. Colluel RR: *Methods in Microbiology*, 19: 35—37, 1978.
2. 坂崎利一: *Bacterial Collture Media*, 近代出版社, 1978.
3. Blageric D J et al.: *Appl Microbiol*. 25: 107, 1973.

4. 竹田美等: 病原细菌生化学的检查法, 第二版, 医学书院, 第 110 页, 1985.
5. 刘秉阳等: 中华流行病学杂志 (特刊 2 号), 9: 434, 1988.
(1992-12-15 收稿)

(上接第 225 页)

7. 采用接种过其他临床标本的, 经 48h 孵育无菌生长的废弃的血平板, 接种绿脓杆菌, 放在微需氧袋内吸收袋中的氧气, 可以节省材料。

8. *Hp* 与慢性胃炎和胃及十二指肠溃疡有密切关系, 已引起了人们的关注, 不少人进行了培养研究。培养 *Hp* 一般采用厌氧培养箱, 抽气换气法, 操作较复杂, 成本较大, 不易推广到基层实验室。烛缸法、化学法和直接检查法均不理想。我们采用废弃的血袋, 废弃的血平板作材料, 发现绿脓杆菌法分离培养 *Hp* 效果

非常好, 阳性率 66.6% (46/69), 解决了 *Hp* 生长所需要的微需氧环境问题。本法操作简单, 培养简便可靠, 适于推广使用。

参 考 文 献

1. Lennette, EH: *Manual of Clinical Microbiology*. 4th ed., Washington: American Society for Microbiology, p. 1056, 306, 1985.
2. 陈聪敏等: 厌氧菌及其感染, 上海医科大学出版社, 上海, p. 186—187, 1989.
3. 刘定祥等: 中华医学检验杂志, 11(3): 156—158, 1988.
(1992-02-09 收稿)