

# 胆鹽中性紅培养基的研究\*

俞用川

(中国协和医学院細菌免疫学系)

分离腸系致病菌的鑒別培养基种类很多,其中数种含有胆鹽,如去氧胆酸鈉、牛胆酸鈉、胆醴甘氨酸鈉<sup>[1,2,3,4,5]</sup>。其目的在于利用胆鹽有抑制革蘭陽性菌生長的作用及其在酸性反应中生成凝膠的性質<sup>[6]</sup>,来帮助腸系細菌菌落的鑒別。这些作者也曾对各种培养基作了比較,例如 Irons 等<sup>[7]</sup>指出去氧胆酸鹽檸檬酸鹽瓊脂在分离福氏痢疾杆菌上較 Mc Conkey 氏瓊脂为优;Paulson 氏<sup>[8]</sup>比較去氧胆酸鹽瓊脂及去氧胆酸鹽檸檬酸鹽瓊脂認为两种培养基皆能抑制革蘭氏陽性菌;Rose 氏<sup>[9]</sup>用 SS 瓊脂分离福氏痢疾杆菌,陽性率比伊紅美藍培养基及去氧胆酸鹽檸檬酸鹽瓊脂为高。SS 瓊脂是較好的鑒別培养基,但其成分中胆鹽 No.3 的制法由于資本家的控制,未能公开,因此制备此种培养基有困难,在国内未能普遍应用。

金氏<sup>[5]</sup>曾以去氧胆酸鈉及胆醴甘氨酸鈉分別制作胆鹽培养基,陽性率較高,效果可与 SS 瓊脂相比,但此两种胆鹽国内尚無出品,为了摆脱对于外貨的依賴,由中国协和医学院生物化学系試制数批混合胆酸及胆鹽,其制法及物理性質已另文报导<sup>[5]</sup>,制出的成品由我們进行細菌学的試驗,本文系报告細菌学試驗的初步結果。

## 試驗材料及方法

### (一) 胆鹽中性紅培养基的制备:

#### 1. 胆鹽溶液,可用混合胆酸或胆鹽配制。

(1) 用混合胆酸配制的方法:于容器中加混合胆酸 1 克,  $N Na_2CO_3$  4 毫升,在沸水中加热,且用玻璃棒攪拌,待呈微黃色凝膠状态时(变为胆酸的鈉鹽),再加入蒸餾水 16 毫升,使成 5% 溶液,此时 pH 約为 8—9,在 8 磅压力下灭菌 15 分鐘。

(2) 用混合胆鹽配制的方法:于容器中加入混合胆鹽 1 克,蒸餾水 20 毫升,胆鹽全部溶解呈微黃色透明液体,在 8 磅压力下灭菌 15 分鐘。

#### 2. 培养基的制备:

\* 1956年5月29日收到。

乳糖	1 克
琼脂	3 克
中性紅水溶液(0.5%)	0.5 毫升
大豆湯(pH7.0)	100 毫升 <sup>5)</sup>

將上列物品于燒瓶中混勻后,在 8 磅压力下灭菌 15 分鐘,待冷至 40°C 左右时,加入 5% 胆鹽溶液 2.5 毫升(稀釋度为 1:800)、2 毫升(稀釋度为 1:1000),或 1.66 毫升(稀釋度为 1:1200),搖勻后傾入双玻皿中,凝固后置冰箱中保存。

## (二) 試驗菌种:

采用保存的菌种,計有伤寒杆菌,副伤寒杆菌(甲、乙、丙),痢疾杆菌(福氏、志賀氏、宋內氏、斯氏),腸炎杆菌、綠膿杆菌,变形杆菌,大腸杆菌,金黄色葡萄球菌,枯草杆菌,粪鏈球菌及細球菌。

## (三) 接种方法:

將試驗菌种接种于大豆湯 2 毫升中,在 37°C 培养 24 小时后作为接种材料,用划线法接种于胆鹽中性紅培养基上。

为了观察大腸杆菌与其他腸系致病菌混合接种后的菌落情况,將大腸杆菌菌液 1 毫升分别与伤寒杆菌、福氏痢疾杆菌等腸系致病菌菌液 2 毫升混合,搖勻后接种于胆鹽中性紅培养基上。

## 試驗結果

为了試驗混合胆酸的效果,我們試用了 6 批制品。以腸系致病菌生長不受抑制,且呈白色菌落;大腸杆菌呈深粉紅色菌落,且紅色不扩散到周圍培养基中;革蘭氏陽性菌生長受抑制等三方面为标准,結果見表 1。

表 1 混合胆酸中性紅培养基中細菌生長的情况

混合胆酸批号 稀釋度	第 1 号			第 2 号		
	1:800	1:1,000	1:1,200	1:800	1:1,000	1:1,200
伤 寒 杆 菌	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光
甲类副伤寒杆菌	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光
福氏痢疾杆菌	白、小、光	白、小、光	白、小、光	白、小、光	白、小、光	白、小、光
大腸杆菌	深粉、中、光	深粉、中、光	淺粉*、中、光	深粉、中、光	淺粉*、中、光	淺粉*、中、光
綠膿杆菌	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗
金黄色葡萄球菌	—	—	—	—	—	—
枯草杆菌	—	—	—	—	—	—
細球菌	—	—	—	—	+	+
粪鏈球菌	—	+	+	+	+	+

混合胆酸批号 稀釋度		第 3 号			第 4 号		
		1:800	1:1,000	1:1,200	1:800	1:1,000	1:1,200
伤寒杆菌	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	
甲类副伤寒杆菌	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	
福氏痢疾杆菌	白、小、光	白、小、光	白、小、光	白、小、光	白、小、光	白、小、光	
大腸杆菌	深粉、中、光	深粉、中、光	深粉、中、光	深粉、中、光	深粉、中、光	浅粉*、中、光	
綠膿杆菌	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	
金黄色葡萄球菌	-	-	-	-	-	-	
枯草杆菌	-	-	-	-	-	-	
細球菌	-	-	+	-	-	-	
粪鏈球菌	+	+	+	-	+	-	

  

混合胆酸批号 稀釋度		第 5 号			第 6 号		
		1:800	1:1,000	1:1,200	1:800	1:1,000	1:1,200
伤寒杆菌	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	
甲类副伤寒杆菌	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	
福氏痢疾杆菌	白、小、光	白、小、光	白、小、光	白、小、光	白、小、光	白、小、光	
大腸杆菌	深粉、中、光	深粉、中、光	浅粉*、中、光	深粉、中、光	浅粉*、中、光	浅粉*、中、光	
綠膿杆菌	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	
金黄色葡萄球菌	-	-	-	-	-	-	
枯草杆菌	-	-	-	-	-	-	
細球菌	-	+	+	-	-	+	
粪鏈球菌	-	+	+	-	+	+	

1. "白、綠、粉、浅粉"表示培养基上菌落的顏色。
2. "中、小"表示菌落的大小。
3. "光、粗"表示菌落的形态为光滑型或为粗糙型。
4. "+"表示菌落生長極少；"-"表示無生長。
5. \* 表示大腸杆菌菌落的粉紅色扩散到周圍培养基中。

由表 1 可以看出混合胆酸的稀釋度为 1:800 至 1:1,200 时,对腸系致病菌(伤寒杆菌、甲类副伤寒杆菌、福氏痢疾杆菌)的生長無影响,菌落的顏色、形狀、大小皆正常。大腸杆菌菌落顏色的深、浅及粉紅色扩散的程度,各批制品不完全一致。胆酸稀釋度为 1:800 时,大腸杆菌的菌落呈粉紅色,紅色不扩散,易与腸系致病菌的菌落相鑒別;随稀釋度的增加,菌落的紅顏色变浅,且粉紅色扩散到周圍培养基中。在稀釋度为 1:800 时,对革蘭氏陽性菌有抑制作用,但稀釋度增高时,对細球菌不能完全抑制,粪鏈球菌的抵抗力更大。上述結果說明混合胆酸按 1:800 稀釋度制备胆鹽中性紅培养基,可以达到鑒別腸系細菌的目的。

因为混合胆酸不易溶解于水須加入重碳酸鈉(NaHCO<sub>3</sub>)或碳酸鈉(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)使成为鈉鹽时,才能溶解。但制成的溶液稍呈混濁,且因加入的碳酸鹽較多,影响培养基

的pH;所以試用了兩批混合胆鹽(即胆鹽第7号及第8号都易溶于水),結果見表2。

表2 混合胆鹽中性紅培养基中細菌生長的情况

菌种	混合胆鹽批号 稀釋度	第7号			第8号			对 照 培养基中 不含胆鹽
		1:800	1:1,000	1:1,200	1:800	1:1,000	1:1,200	
伤寒杆菌		白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光
甲类副伤寒杆菌		白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光
乙类副伤寒杆菌		白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光
丙类副伤寒杆菌		白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光
福氏痢疾杆菌		白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光
志贺氏痢疾杆菌		白、中、光	白、小、粗	白、小、粗	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光
宋内氏痢疾杆菌		白、中、粗	白、中、粗	白、中、粗	白、中、粗	白、中、粗	白、中、粗	白、中、粗
斯氏痢疾杆菌		白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、小、光
腸炎杆菌		污 染	白、大、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光	白、中、光
綠膿杆菌		綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗	綠、大、粗
变形杆菌		白、大、粗	白、大、粗	白、大、粗	白、大、粗	白、大、粗	白、大、粗	白、中、光
大腸杆菌		粉、大、光	粉、大、光	淺粉*、 大、光	粉、大、光	粉*、大、光	淺粉*、 大、光	淺粉*、中、光
金黄色葡萄球菌		-	-	-	-	-	-	+++
枯草杆菌		-	-	-	-	-	-	+++
粪链球菌		-	-	-	-	+	++	+++
細球		-	-	-	-	-	-	+++

符号說明見表1。

"++", "+", "-"表示菌落生長的数量; "-"表示無生長

由表2可以看出細菌生長的情况与混合胆鹽的結果相似,以1:800稀釋度的效果为較好。

为了观察大腸杆菌与其他腸系致病菌混合接种后,生成的菌落是否容易鑒別,进行另一試驗結果見表3。

表3 腸系致病菌与非致病菌混合培养在胆鹽中性紅培养基中生長的情况

菌种	混合胆鹽批号 稀釋度	第7号			第8号			对 照 培养基中 不含胆鹽
		1:800	1:1,000	1:1,200	1:800	1:1,000	1:1,200	
大腸杆菌+伤寒杆菌		+	+	-	+	+	-	-
大腸杆菌+福氏痢疾杆菌		+	+	-	+	+	+	-
大腸杆菌+志贺氏痢疾杆菌		+	+	-	+	-	-	-
大腸杆菌+宋内氏痢疾杆菌		+	+	+	+	+	+	-
大腸杆菌+斯氏痢疾杆菌		+	-	-	+	-	-	-
大腸杆菌+腸炎杆菌		+	+	-	+	-	-	-
大腸杆菌+变形杆菌		+	+	-	+	-	-	-
大腸杆菌+粪链球菌		⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊖

1. "+"表示大腸杆菌的菌落呈粉紅色,腸系致病菌的菌落呈白色,易于鑒別。

2. "-"表示大腸杆菌的菌落呈淺粉紅色,且粉紅色扩散到周圍培养基中与腸系致病菌的菌落不易鑒別。

3. “±”表示大腸杆菌的菌落與腸系致病菌的菌落尚可鑒別。
4. “⊕”僅有大腸杆菌的菌落，糞鏈球菌不生長。
5. “⊖”大腸杆菌及糞鏈球菌都生長。

表 3 的結果說明培養基含混合胆鹽 1:800 時，腸系致病菌的菌落呈白色；大腸杆菌的菌落呈粉紅色，且粉紅色不擴散，兩種菌落極易鑒別；糞鏈球菌的生長亦被抑制，稀釋度增高時則不能達到鑒別的目的。

## 討 論

本試驗所用培養基的酸鹼度是 pH 7.0, Leifson 氏<sup>[1]</sup>曾使用去氧胆酸鈉(1:1,000)加于固體或液體培養基中，發現 pH 7.5 以下時，于接種 24 小時後，革蘭氏陽性菌無顯著生長，對腸系菌無抑制作用；在 pH 7.5 以上時，各種革蘭氏陽性菌開始生長。我們也進行了相似的試驗，與上述者結果相符合，在 pH 7.6 以上時，糞鏈球菌有顯著的生長；而去氧胆酸鈉在 pH 6.5 時即沉澱出來，所以我們培養基的酸鹼度採用 pH 7.0。

大腸杆菌發酵乳糖時，產生的酸量使胆酸沉澱，且與中性紅相結合，故菌落呈紅色，且紅色不擴散于周圍培養基中；隨膽鹽稀釋度的增加，大腸杆菌的菌落由深粉紅色漸變為淺粉紅色，菌落周圍培養基大部為粉紅色，影響腸系菌菌落的鑒別。因為大腸杆菌發酵乳糖所產生的酸使培養基的酸鹼度降低，足量的胆酸與中性紅結合沉澱而出，紅色局限于菌落的本身；胆酸量不足時，則產生的沉澱較少或不生沉澱，結合的中性紅也較少，所以菌落呈現粉紅色，而且紅色向周圍培養基中擴散。

各批混合胆酸或膽鹽的質量稍有差異，所以適宜的稀釋度也不完全一致，但在 1:800—1:1,000 範圍之內，可以達到鑒別腸系細菌的要求，為方便起見，我們都選用 1:800，此與金氏<sup>[2]</sup>使用去氧胆酸鈉的量大致相等。

為了更好的改進鑒別腸系細菌所用的培養基，進一步探求抑制大腸杆菌生長的藥劑，正在試驗中。本文所述的培養基在臨床化驗方面使用的效果以後另文報告。

因目前鑒別腸系細菌的培養基尚存在一些缺點，各方面實驗工作頗多。關於膽鹽的提制，也有各種不同的方法，希望國內同道，對本報告的缺點多加指正，並共同協力改善腸系細菌的鑒別診斷工作。

## 結 論

在混合膽鹽中性紅培養基中，混合膽鹽的稀釋度為 1:800 時，能清楚地鑒別出大腸杆菌和腸系致病菌的菌落，並使某些革蘭氏陽性菌的生長受到抑制。

本實驗由技術員楊燕玲同志協助進行，特此志謝。

## 参 考 文 献

- [1] Leifson, E.: *J. Pathology*, **40**: 581, 1935.  
[2] Paulson, M: *Am. J. Med. Sci.*, **193**: 688, 1937.  
[3] Rose, H. M., et al.: *J. Lab. and clin. Med.*, **27**: 1081, 1942.  
[4] Panja, G: *Indian Med. Gazette*, **78**: 43, 1943.  
[5] 金蓉桓: 微生物学报, **2**(1): 25, 1954.  
[6] 梁植权等: 中华医学杂志, 第七号: 640, 1955.  
[7] Irons, J. V., et al.: *J. Lab and clin Med.*, **25**: 81, 1939.

## STUDY OF A BILE-SALTS NEUTRAL RED MEDIUM

YU YUNG-CHUAN

*Department of Bacteriology, Chinese Union Medical College, Peking*

In continuation of the study previously reported from this laboratory of a differential medium employing bile salts prepared according to the method worked out in this institute, we have now compared the selective inhibition of the medium for a large number of stock cultures, both Grampositive and Gramnegative, after which, most effective amount of the bile salts to be employed was determined. In addition, the appearance of colonies of the intestinal pathogens and those of *B. coli* were noted, both in pure and mixed cultures. It was concluded that the bile salts as prepared could be used as a satisfactory ingredient in the differential medium for Salmonella and shigella group of organisms, and further study of clinical materials is justified.