

# 胎盤培養基適用性的研究\*

吳開宇 陳品衡 鄭 英

(福建省流行病研究所)

胎盤可以用來代替牛肉製成的<sup>[1,2]</sup>培養基,最近國內也有陳氏等及項氏等報告,但關於胎盤浸液究竟配製成什麼濃度能使細菌生長得較好,以及用這種培養基進行細菌試驗、傳代、保種時,對於細菌本身的生化及免疫等特性有無影響等問題,國內尚無較系統的報導。茲將實驗結果報導如下:

## 材 料 和 方 法

(一) 材料 1. 胎盤(來自省婦嬰保健院新鮮的胎盤); 2. 牛肉(市售); 3. 菌株(本所菌種室保存的); 4. 動物(家兔)。

### (二) 方法

1. 配製方法: 取新鮮胎盤,用水洗後,剝去羊膜,通過碎肉機研細後,加等量水(即 500:500)浸 20 小時,然後煮沸 15—20 分鐘;過濾,量濾出浸液,加水補足為 500 毫升,加入 1% 蛋白胨、0.5% 氯化鈉及苛性鈉溶液,使 pH 成 7.6,再煮沸 10 分鐘,加水補足原量;靜置 20 分鐘以後,過濾分裝,並在 125°C 的高熱下滅菌 30 分鐘。

2. 胎盤浸液化學成分的分析: 取上法配製的新鮮滅菌胎盤浸液(500:500),測定蛋白質、葡萄糖、氨基氮(係用甲醛滴定法測定<sup>[3]</sup>)等的含量,並以 500:1000 濃度的牛肉浸液作比較,其結果如表 1。另取牛肉浸液加大腸桿

表 1 胎盤與牛肉浸液化學成分比較

培養基 化學成分	胎 盤 浸 液	牛 肉 浸 液
總蛋白量	0.9—1.3 克 %	1.1—1.4 克 %
氨基氮	0.714—0.746 毫克/毫升	0.728—0.753 毫克/毫升
葡萄糖	8.2—16 毫克 %	75—100 毫克 %
鈣	*9.0 毫克 %	*3.0 毫克 %
氯化物	*440 毫克 %	*340 毫克 %

\* 只測定一次。

菌培養液孵育 48 小時後滅菌,並測定其中葡萄糖含量為 45—57 毫克 %。據此結果說明,500:500 的胎盤浸液中的蛋白質和氨基氮含量與 500:1000 的牛肉浸液相近。但葡萄糖含量平均只有牛肉浸液的 10% 左右。比大腸菌處理過的無糖牛肉浸液所含的葡萄糖量更低。

3. 配製濃度: 多數學者主張加倍量水浸成。為了進一步了解胎盤培養基最適宜的濃度,將傷寒及痢疾各菌株,接種於 3 種不同濃度的胎盤浸液及含不同濃度葡萄糖的 500:500 胎盤液中,經 24 小時後,取出加熱煮沸,混勻後,用 Hilger Spekker H 760 光電吸收計測定各菌生長的程度,所用濾光板為“H 508”。試驗結果列於表 2。

\* 1957 年 7 月 1 日收到。

表 2 以光電吸收計測定各菌株在不同濃度的胎盤浸液及葡萄糖胎盤浸液中,生長程度吸光度之比較

吸光度 菌種	培養基 種類及 濃度	不用濃度的胎盤浸液			500:500 胎盤浸液中 加不同濃度葡萄糖			牛肉湯
		500:1000	500:750	500:500	0.03%	0.05%	0.1%	500:1000
	志賀氏痢疾桿菌	0.15	0.21	0.415	0.570	0.603	0.543	0.445
	宋內氏痢疾桿菌	0.18	0.245	0.405	0.470	0.535	0.525	0.511
	傷寒桿菌	0.16	0.18	0.413	0.507	0.505	0.489	0.535

以上結果證明,傷寒或痢疾桿菌在 500:500 濃度的胎盤浸液中生長最好;但仍稍次於牛肉湯。如在胎盤浸液中加入適量葡萄糖;則可以彌補胎盤中糖量不足的缺點,實驗證明,加入 0.05% 的葡萄糖最為合適。

4. 生化試驗: 將各種痢疾桿菌、傷寒及副傷寒桿菌等分別接種於胎盤浸液及牛肉湯中;連續傳代,於第 10、20 代時進行生化反應試驗,觀察其變化情況。結果經胎盤培養基傳代後的各菌株在葡萄糖、麥芽糖、蔗糖、甘露醇、阿拉伯膠糖、衛矛醇、肌醇、薔薇醇、木醇、乳糖等的生化反應,與用牛肉湯培養基傳代後的相應菌株是完全一致的。這證明胎盤培養基可以用於菌種的保存或傳代,並不影響其生化特性。

5. 凝集試驗: 經胎盤培養基及牛肉培養基傳代 20 代後的各菌種,對診斷血清凝集價的比較,如表 3 所示。結果以 0.05% 葡萄糖胎盤浸液組的凝集價略高。

表 3 各菌株連續經胎盤基及牛肉基傳代 20 次後凝集價的比較

培養基種類 種類和凝集價 菌種	胎 盤 浸 液					0.05% 葡萄糖胎盤液					牛 肉 湯				
	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280
志賀氏痢疾桿菌	+++	+++	++	+	—	+++	+++	++	++	+	+++	+++	++	++	—
福氏痢疾桿菌	+++	+++	++	+	±	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	++	++	±
傷寒桿菌	+++	+++	++	++	—	+++	+++	++	++	+	+++	+++	+++	++	+
副傷寒桿菌	+++	+++	++	+	±	+++	+++	++	++	+	+++	+++	++	+	±

6. 免疫試驗: 用傳代 20 次的痢疾、傷寒、霍亂菌株,按標準方法(第一法)<sup>[5]</sup>免疫家兔,並測定其凝集價。結果,胎盤組的凝集價比牛肉培養基組略高,這證明胎盤基對細菌的抗原特性,無何影響。

討 論

關於配製濃度的問題,以往文獻上介紹的是加倍量水浸成的;但據本文胎盤浸液化學成分或用光電吸收計測定細菌生長程度的結果,均證明細菌在等量水浸成的濃度中生長較好,因此建議採用本法。這個見解是與加倍量水不同的<sup>[1,4]</sup>。

從化學成分的分析,亦證明了胎盤浸出液含葡萄糖量為 8.2—16 毫克%;平均僅有牛

肉湯中的含量的 10% 左右,且比用大腸菌處理過的肉湯的葡萄糖含量尚低。這點在細菌新陳代謝上,可能由於熱力及碳來源不足,因而影響細菌的生長。經進一步試驗證明,在胎盤基中加入 0.03—0.05% 葡萄糖後,則細菌生長的程度不遜於牛肉湯。另一方面由於胎盤浸液中葡萄糖含量較少,對腸道細菌的鑑別有優點,因此我們認為胎盤浸液可以取代無糖肉湯,用來配製腸道細菌的鑑別培養基。

用胎盤基傳種是否會影響細菌的生化反應?經試驗證明,通過胎盤基傳代 10—20 次後的菌株,其生化反應均與用牛肉基傳代的以及與原先未傳代前的情況無異。至於凝集價,在胎盤基生長的菌液對診斷血清比牛肉基稍低的問題,這可能由於胎盤基含糖量少的緣故。作者曾用在 0.05% 葡萄糖胎盤基生長的菌液,以同樣方法做凝集反應,結果比牛肉湯組的凝集價高。

用胎盤基培養後是否會影響細菌的免疫特性。作者曾用傷寒、霍亂、痢疾等各種細菌試驗,結果證明沒有影響。從經胎盤基傳種的菌株免疫兔子所獲得的血清,其凝集價比牛肉基組的凝集價約高一倍。究竟為什麼高?目前由於試驗菌株不多,尚難解釋。

胎盤基內是否含有某種抗體而能影響細菌的凝集反應?作者曾經將製成的胎盤浸液(未稀釋及 1:2、1:4 稀釋)對各種細菌作凝集反應,均呈陰性結果。證明如把胎盤的血液洗清,胎盤組織中是不含有任何凝集抗體的。

## 總 結

1. 胎盤可以作為細菌培養基的原料以代替牛肉。對細菌生長、生化及免疫特性等均無不良影響,可以應用於細菌檢驗工作中。

2. 關於胎盤培養基配製的濃度,證明以等量水浸成者對於細菌的生長最為適宜。按此製成的浸液中含總蛋白量為 0.9—1.3 克%;氨基氮為 0.714—0.746 毫克/毫升;葡萄糖為 8.2—16 毫克%;鈣 9.0 毫克%;氯化物為 440 毫克%。其中總蛋白量及氨基氮量與加倍量水浸成的牛肉湯相近。

3. 胎盤浸液中含糖量極微,可以代替無糖肉湯配製鑑別培養基。如配成肉湯或斜面時,為補救含糖量少的缺點,可於胎盤基中加入 0.03—0.05% 葡萄糖,使細菌生長得更好,且無不良的影響。

胎盤基的生化分析有一部分承福建醫學院及省立醫院生化室代做,特此誌謝。

## 參 考 文 獻

- [1] 陳雪帆等:臨床檢驗雜誌,第 1 號:50, 1957.
- [2] 項 駿等:臨床檢驗雜誌,第 2 號:72, 1957.
- [3] 中央生物製品研究所:生物製品通訊,創刊號:103, 1950.
- [4] H. J. 烏切斯基:醫用微生物學及其技術綱要,45, 1955.
- [5] Wadsworth: Standard Methods, 3th. Edition, 784, 1947.

## THE ADVANTAGES OF PLACENTA INFUSION OVER CONVENTIONAL MEAT INFUSION AS A BASIC MEDIUM

WU, K. Y., CHENG, P. H. and CHENG, Y.

*(Fukien Epidemical Institute, Foochow)*

Infusion made from human placenta has been proved, by our experimental studies, to commensurate with the requirements of a basic medium. On this medium not only good bacterial growths can be secured, but also the biological and immunological properties of organisms so grown were in no way altered.

Comparative studies of different growths in infusion broths with known but different placenta tissue concentrations were done with the help of photoelectric absorptiometer, and the 1:1 ratio of placenta to water has been found to be optimum.

The essential chemical constituents of our infusion, prepared as above, are as follows:

Total protein—0.9—1.3 gm%, amino-acid nitrogen—0.714—0.746 mg/ml glucose—8.2—16 mg%, calcium—9.0 mg%, chlorides 440 mg%.

As the infusion contains very little glucose, it has, therefore, the advantage to serve as a sugar-free broth without additional treatment. However for the preparation of nutrient infusion broth or agar, the addition of 0.03-0.05 gm% of glucose has been found to be satisfactory to give luxuriant growths.