

用孔雀綠氯化鋁琼胶分离沙門氏菌的研究

王業鵬*

(外貿部長沙商品檢驗局)

分离沙門氏菌的鉴别方法和选择性培养基种类很多,最常用的伊紅美藍琼胶(E. M. B. 琼胶)和远藤氏(Endo)琼胶对大腸菌的抑制能力太弱。S.S. 琼胶和去氧胆酸盐-柠檬酸盐琼胶对大腸菌的抑制作用虽較前二者为強,但对变形菌的抑制作用則不够理想。由于变形菌不分解乳糖,在这些培养基上难与沙門氏菌相区别,因而常有錯选菌落或漏选沙門氏菌的情形。此外,这些培养基的制作手續比較繁复,所需胆盐的价格昂貴,并多靠进口,因此,需要寻找更好更省的方法。作者曾試用一定浓度的孔雀綠氯化鋁来分离沙門氏菌,获得較滿意的結果。

一、材料和方法

(一) 菌种及其来源

沙門氏菌: 武汉生物制品研究所——伤寒,副伤寒甲、乙,鸡伤寒,山夫頓堡,紐因頓,猪霍乱及鴨沙門氏菌各1株; 武汉商品檢驗局——副伤寒甲、丙,鼠伤寒,紐因頓,仙台,嬰兒及鴨沙門氏菌各1株; 安阳蛋厂——湯卜逊,山夫頓堡各1株; 大連商品檢驗局——紐波特1株; 天津商品檢驗局——山夫頓堡1株; 上海商品檢驗局——副伤寒乙及嬰兒沙門氏菌各1株; 长沙商品檢驗局——沙門氏菌(1)~3 1株(自蛋品中分离,未定型)。

变形杆菌: 1918, 13107, D₈, E₅ (均自蛋品中分离保存)。

大腸杆菌: D₇, E₂ (均自蛋品中分离保存)。

产气杆菌: A₁ (自蛋品中分离保存)。

副大腸杆菌: 汉巴(来自武汉商品檢驗局的巴那芦荟杆菌); 沪巴(来自上海商品檢驗局的巴那芦荟杆菌); 副大腸菌 E₁, D₁ (自蛋品中分离保存)。

(二) 培养基

孔雀綠氯化鋁琼胶(简称 M. A. 琼胶)

基础培养基: 蛋白胨(上海楊氏药厂)1克; 氯化鈉(C.P.) 0.5克; 牛肉膏0.3克; 琼胶(E. Merck) 2.5克; 蒸餾水100毫升; pH = 7.2。

加入成分: 乳糖(C. P.) 1克; 蔗糖(A.R.) 0.5克; 去氧胆酸钠(E. Merck) 0.067克; 0.2% 酚紅2毫升; 0.2% 孔雀綠(新中化学厂)1毫升; 10% 氯化鋁(AlCl₃·6H₂O) 0.3毫升。

将基础培养基作好,乘沸加入乳糖、蔗糖、胆盐和酚紅,搖勻,俟冷至50—60℃,加入氯化鋁及孔雀綠溶液,再細心搖勻(勿使发生气泡),迅速傾注平皿,每皿15—17毫升,培养基制成后为鮮綠色。基础培养基如系与加入成分同时使用以制成 M. A. 琼胶时,可不必高压灭菌。使用前于溫箱中烤去凝水。

(三) 方法

取上述保存菌种各一鉋环,分別接种于肉湯中,37℃培养12—18小时,再取該培养物各一鉋环涂

本文1960年5月24日收到。

* 現在天津市畜牧防治站工作。

于 M. A. 琼胶及各对照培养基上。每种細菌接种同样的培养基 3 皿。37℃ 下培养,于 12、18、24 小时观察結果,并測定独立菌落的直径。

二、試驗 結果

(一) 受試菌株在各种培养基上生长情形

受試菌株在 M. A. 琼胶上培养 24—48 小时,除伤寒一株受到較強的抑制,仅在划綫的前半有瘠薄的生长,菌落极小而干枯以外,其余沙門氏菌全能生长,菌落为透明、无色或浅蓝色,并使附近基質变紅。变形菌和大腸菌全部被抑制。产气杆菌虽能生长,但菌落为綠色或帶綠色的中心,附近基質有沉淀生成。副大腸菌亦能生长,其菌落不易与沙門氏菌区别。在 18 小时以內,副大腸菌的生长受到抑制,而大部分生长力強的沙門氏菌則有可見菌落出現。在对照的 S. S. 琼胶和 D. C.^[1, 2] 琼胶上,伤寒,副伤寒甲,鼠伤寒及仙台沙門氏菌全不見生长。副伤寒乙,湯卜遜,紐波特各 1 株,副伤寒丙 2 株,皆不見生长。对非致病菌,除 S. S. 琼胶对大腸菌有較強的抑制作用外,其余如变形菌,副大腸菌在这两种培养基上都能生长。大腸菌在 D. C. 琼胶上仍发育良好。

表 1 M. A. 琼胶与各选擇培养基抑制能力的比較

試 驗 株 数	培 基 培 养 时 間 及 有 生 长 的 株 数						
	S.S.	D.C.	E.M.B.	M.A.			
	(24 小时)	(24 小时)	(24 小时)	(12 小时)	(18 小时)	(24 小时)	(48 小时)
沙 門 氏 杆 菌 31	21	21	31	20	24	31 ^{(6)*}	31 ^{(8)*}
变 形 杆 菌 4	4	4	4	0	0	0	0
产 气 杆 菌 1	1	1	1	1	1	1	1
大 腸 杆 菌 2	0	2	2	0	0	0	0
副 大 腸 杆 菌 2	2	2	2	0	0	1	1
巴 那 声 普 杆 菌 2	2	2	2	0	0	1	1

* 括号内数字表示受到显著抑制但仍有部分生长的菌株。

(二) 氯化鋁浓度的影响

以 M. A. 琼胶为基础,但将氯化鋁的加入量予以增減时,对各菌株的影响如表 2。

表 2 不同氯化鋁濃度对各試驗菌种的影响

菌 属	試驗菌株	每 100 毫 升 培 养 基 中 加 入 0.2% 氯 化 鋁 (毫 升)					
		1	0.5	0.3	0.1	pH=7.2	pH=6.6
沙 門 氏 杆 菌	8	5	5	8	5	6	8
变 形 杆 菌	2	2	0	0	0	0	2
产 气 杆 菌	1	1	1	1	1	1	1
大 腸 杆 菌	1	1	1	0	0	1	1
巴 那 声 普 杆 菌	1	1	1	1	1	0	1

表 2 可見氯化鋁在培养基中的浓度为 1:1,000 时,变形菌及大腸菌能够生长;浓度为 1:10,000 时,对鸡伤寒,副伤寒乙、丙有抑制作用,而以 3:10,000 为最恰当。若完全抽出氯化鋁成分时,如 pH 值为 7.2 則鼠伤寒,鸡伤寒沙門氏菌等不生长;如 pH 值为 6.6 时,变

形菌和大腸菌又生长起来,影响致病菌的分离。

(三) 孔雀綠浓度的影响

以 M. A. 琼胶为基础, 将加入孔雀綠的量予以增減时, 各試驗菌株的生长亦受影响。孔雀綠在培养基中的浓度, 在 14/ 百万以下时, 变形菌和大腸菌的生长不受抑制, 如提高到 30/ 百万时, 則許多沙門氏菌受到抑制, 而以 20/ 百万为最恰当。結果见表 3。

表 3 不同孔雀綠濃度对各試驗菌株生长的影响

菌 属	試驗菌株	每 100 毫升培养基中加入 0.2% 孔雀綠(毫升)					
		0.5	0.7	1	1.5	2.0	2.5
沙 門 氏 杆 菌	8	8	8	8	2	2	0
变 形 杆 菌	2	2	2	0	0	0	0
产 气 杆 菌	1	1	1	1	1	1	1
大 腸 杆 菌	1	1	1	0	0	0	0
巴 那 芦 菩 杆 菌	1	1	1	1	0	0	0

(四) 培养基 pH 值的影响

当培养基的 pH 值下降到 6.2 时(伴随胆盐沉淀), 能抑制全部变形菌、大腸菌和副大腸菌的生长; 产气杆菌能生成干枯混浊的綠色菌落; 副伤寒乙, 猪霍乱, 嬰兒, 湯卜遜, 腸炎, 山夫頓堡, 紐因頓, 阿伯丁, 鼠伤寒, 紐波特及鴨沙門氏菌各 1 株能生成扁平的透明小菌落, 四周基質变紅; 但副伤寒甲、丙, 仙台, 伤寒, 鸡伤寒及鼠伤寒 2 株, 紐波特 1 株也被抑制, 不能生长。基础培养基的 $pH = 7.2$ 时, 加入氯化鋁后, pH 值降为 6.6—6.7, 培养基透明。經培养 48 小时, 除伤寒菌的生长受到較強的抑制外, 其余沙門氏菌均能生长, 但副大腸菌又能生长, 变形杆菌及大腸杆菌仍被抑制。

(五) 胆盐浓度的影响

少量胆盐的加入, 只起到沉淀的作用, 生长情况不受影响。 将胆盐加入量提高到 2:1,000, 反会促进变形杆菌的生长。

(六) 用孔雀綠-氯化鋁琼胶檢驗食品样品的結果

为了檢驗 M. A. 琼胶的实用效能, 采用食品試样 12 份, 按常規进行增菌、分离和鉴定, 并用多价血清(英国 Burroughs Wellcome 公司出品)作玻片凝集反应和生化試驗, 进行最后判定。在 12 份試样中, 用 M. A. 琼胶分离的, 发现 9 批有沙門氏菌, 而用 D. C. 琼胶分离者, 則无一批发现。

三、討 論

在 2% 的普通琼胶($pH = 7.2$)中, 加入 0.002% 的孔雀綠^[3]和 0.03% 的氯化鋁, 对变形菌和大腸菌有強大的抑制作用, 在 24 小时內, 几乎全不生长。在試驗的 31 株沙門氏菌中, 除对伤寒菌及湯卜遜, 紐波特各 1 株有較強的抑制作用外, 余均发育良好。 对产气菌的抑制作用虽弱一些, 但由于其綠、渾、干、凸的菌落形态, 則不难与无色透明并使附近基質变紅的沙門氏菌相区别。副大腸菌在 18 小时以內, 在本培养基上不見生长或仅在开始划綫处有极小的干枯生长。为了提高致病菌的检出率, 最好在此时挑选菌落 1 次。 副大腸菌在本培养基上培养 24 小时后, 亦能形成菌落, 无法与沙門氏菌相区别, 仍須作进一步

鉴定;最好与 1 种弱选择性培养基同时使用。

四、总 结

作者用沙門氏菌 31 株,变形菌 4 株,产气杆菌 1 株,大腸杆菌 4 株及副大腸杆菌 4 株,在 M. A. 琼胶上进行了試驗研究,总结如下:

(1) 在 20/百万的孔雀綠及 3/万的氯化鋁的存在下, pH 值降到 6.6 左右,于 24 小时到 48 小时内,能抑制变形杆菌和大腸杆菌的生长。在試驗的 31 株沙門氏菌中,除伤寒菌及湯卜逊、紐波特各 1 株受到較強的抑制作用外,其余各型沙門氏菌都能形成无色透明并使附近基質变紅的扁平菌落。产气杆菌能生成綠色、渾、凸并使附近基質发生沉淀的菌落,易与沙門氏菌区别。

(2) 用食品試样 12 份,以 M. A. 琼胶和 D. C. 琼胶作分离对比試驗。M. A. 琼胶对沙門氏菌的检出阳性率大大的高于 D. C. 琼胶。

(3) 本培养基的胆盐用量仅为 D. C. 琼胶的 1/7 或 S. S. 琼胶的 1/11,費用亦較之节省 5—8 倍。

参 考 文 献

- [1] 蔡宏道等著:实用临床檢驗学(下—),宏文书局出版,896 頁,1955。
- [2] Ганс Дрегер: "Диагностика бактерий группы сальмонеллы и ее применение при бактериологическом исследовании мяса", Медгиз, Москва, 20—22, 1957。

ИЗУЧЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ САЛМОНЕЛЛА НА АГАРЕ С МАЛАХИТГРЮМОМ И ХЛОРИСТЫМ АЛЮМИНИЕМ

Уон Йе-пун

(Чаншаское городское управление по исследованию товаров при
Министерстве внешней торговли)

1. Была испытана способность 31 штаммов Т.П.Э. группы, 4 штаммов протея, 1 штамма *Aerobacter aerogens*, 2 штаммов кишечных палочек и 4 штаммов промежуточных штаммов расти на агаре с хлористым алюминием в концентрации 1:10000 и малахитгрюмом в концентрации 2:100000 при pH 6.6. Среди этих штаммов Т.П.Э. группы за исключением бактерий тифа, в противоположность кишечной палочке и протею, не подавляются. Правда *A. aerogens* может расти на этой среде, однако колонии которого представляются зелеными и легко различаются от красных прозрачных колоний бактерий Т.П.Э. группы, а колонии промежуточных штаммов невозможно различать от бактерий Т.П.Э. группы.

2. Производилось испытание 12 проб на М.А. агаре и D.C. Агаре для обнаружения бактерий Т.П.Э. группы. Результаты испытания показали, что положительный процент обнаружения бактерий Т.П.Э. группы на М.А. агаре значительно выше, чем на D.C. агаре.

3. Вес добавления желчных солей к М.А. агару уменьшился на 6/7—10/11 в отдельности чем на D.C. агаре и S.S. агаре, и даже при этом затраты на это снизились до 1/5—1/8.