

三糖含鉄尿素 (改良 Hajna 氏) 培养基用于腸道菌 初步鉴别的报告*

朱 清 滄

(西南铁路工程局卫生防疫站, 贵阳)

近年来, 我室在使用自制 SS 和 D-C 琼胶等选择性培养基作腸道细菌的分离工作中, 常因变形菌类细菌的菌落扩散受抑制而容易和致病菌菌落混淆。同时考虑到该类细菌所引起的食物中毒发生报告日渐增多^[1,2], 对其迅速加以区别已属必要。因此, 对 Hajna 氏三糖鉄琼胶做了改进, 使之能在观察糖类反应的同时观察尿素的分解, 并结合其他反应指出了鉴别的方向。

(一) 培养基

蛋白胨 20克	牛肉膏 3 克
氯化钠 5 克	葡萄糖 1 克
乳糖 10克	硫酸亚鉄鉍 0.2克
蔗糖 10克	硫代硫酸钠 0.2克
	蒸馏水加至 1 升

0.4% 酚红溶液 5 毫升

琼胶(粉末) 8 克

尿素 20克

配法:

先将基础成分溶于水, 加足水量后, 滴定并矫正 pH 为 7.4, 然后除尿素外顺次加入其他成分。包好瓶口, 放置消毒器中, 经 15 磅压力灭菌 20 分钟取出。趁热加入尿素, 待溶, 分装无菌试管使冷成高层斜面。此时培养基呈淡红色, 放 37°C 1 夜, 无菌试验后, 冰箱内保存备用。如不立即分装时, 则于临用前加入尿素煮溶后分装即可。

(二) 試驗步骤

由分离平板上挑取可疑菌落, 先在本培养基的斜面部由下而上蜿蜒划线后, 再穿刺入底层, 并接种 1 支半固体观察运动 (或在 6 小时后观察尿素分解反应时再种亦可)。半固体的棉塞和管壁间夹一凝基质试验滤纸条, 两管同时放 37°C 孵育。

(三) 反应观察

一般 6 小时左右 (当日下午) 先观察一次, 20 小时后取出, 记取结果。

能迅速分解尿素的细菌, 因可产生多量的氨而使 pH 迅速升高, 4—6 小时后, 可见培养基管由斜面至底层均变为櫻桃红色, 以后一直保持不退。若能产生 H_2S , 则首先于穿刺线周围出现黑色, 6 小时后, 逐渐扩散于基中段。

分解尿素迟缓的细菌, 开始亦呈糖类的发酵反应, 往往需 20 小时以后, 底层才同时变为深红色。

不分解尿素的细菌, 在本培养基上的反应和 Hajna 氏三糖鉄基相同, 此处不予赘述。

常见腸道菌的反应归纳于表 1。

(四) 試驗結果

观察了分离和鉴定的 1000 株细菌 (包括成都、贵阳、都匀等铁路医院送本室鉴定的菌株在内), 其中全部致病菌和部分其它腸道菌, 曾和较详细的生化学试验对照, 结果均相符合。

本文介绍的经改进的培养基能在观察原 Hajna 氏三糖综合反应的同时, 观察细菌是否分解尿素, 而将具有迅速分解特性的变形菌类加以筛选, 这样可以减少一道鉴别程序, 少用一种培养基和缩短时间。

对本培养基反应的稳定性是否因加入尿素后会受到影响的问题, 我们曾和常法 (使用 Hajna 氏三糖、单糖管和 Christensen 氏尿素基等) 进行了对照观察, 除了少数属 IV 类的阴沟杆菌, 24 小时以后才全部变红, 比尿素基的反应出现迟外, 其他均相符, 说明作为生化学性状初步观察的筛选性培养基管, 基本是稳定的。

* 本文蒙成都生物制品研究所方景旭主任审阅, 特此致谢。

本文 1963 年 7 月 27 日收到。

表 1 常見腸杆菌生化反应綜合鉴别表 (20 小时后观察)

菌 名	反应类型	下 段		斜 面	硫 化 氢	尿 素 酶	运 动 力	凝 基 质
		分解葡萄糖		分解乳糖或 蔗糖产酸				
		产酸	产气					
伤寒杆菌	I	+	-	-	+	-	+	-
其他沙门氏菌	I	+	+	-	+/-	-	+	-
亚利桑那菌	III/I	+	+	+/-	+	-	+	-
巴勒卢普菌	I/III	+	+	-/+	+	-	+	-
普罗非登斯菌	I/III	+	+/-	-/+	-	-	+	+
痢疾杆菌	II	+	-/♀	-	-	-	-	+/-
发碱-殊异菌	II/III	+	-	-/+	-	-	-	+
大肠杆菌	III	+	+	+	-	-	+	+
沙雷氏菌	III	+	-	+	-	-	+	-
阴沟杆菌	III/IV	+	+/-	+	-	-/+	+/-	-
克雷伯氏菌	IV/III	+/(-)	+	+/(-)	-	+	-	-
变形杆菌	IV	(-)	+	(-)	+/-	++	+	+/-
哈夫尼亚菌	II/III	+	-/+	-/+	±	-	±	-
粪产碱杆菌	V	-	-	-	-	-	+	-

注：“♀”微量气体；“(-)”反应被掩盖；“+/-”多为阳性；“+”阳性、产酸、有运动；

“++”迅速强阳性；“±”弱、不明显阳性。

在培养基的配制中,我们采用不分层的方法,也避免使用复合指示剂,因为成分和制作方法过于复杂时,往往不易正确掌握,同时用酚红作指示剂其优点在于反应界线清楚,由弱到强也可明显看出色泽的深浅变化,为一般实验室常备试剂和细菌工作者所习惯而乐于使用的。尿素的灭菌方法参考陈志航氏等的试验结果,并为多次使用所证实,只要避免高压和反复煮沸,就不致因尿素受高热水解而影响反应准确。至于直接于三糖尿素

基管口,悬凝基质试纸和于牢固体的底层观察运动,实际运用中发现,前者反应出现迟缓和有较多的假阴性,而后者又常因产气、色素变化而影响观察,故改为单用一半固体管,也可同时作为保存菌种用。

参 考 文 献

- [1] 季始荣: 中华医学杂志, 5: 394, 1955。
- [2] 乔树民: 中华医学杂志, 8: 607, 1957。