

倾注平板表面扩展性菌落的防制*

刘 远 光

(广州市卫生防疫站, 广州)

倾注培养法是细菌定量测定常用的方法, 但是平板表面及底面常出现大小不同的扩展性菌落(分别为表膜及底膜), 影响准确计数^[1,2]。本文对于表面菌落扩散的抑制方法加以比较, 并提出了一种效果较好的简便方法。

一、人工加强扩散菌株后几种抑制方法的比较

倾碟法按一般常规进行, 琼脂凝固前在平板中央分别点种特选菌株之一, 这些菌株是经初步试验证明扩散能力较强的革兰氏阳性杆菌, 以保证在沒有处理的平板上最少有半个平面被扩散的菌落所占, 以测定药物及对减少凝水的方法抑制作用作比较。抑制方法如下:

1. 药物抑制法

酒精法 将平皿覆转, 放入无菌滤纸片一小块于皿盖内中央处, 并滴 10 滴 95% 酒精于其上。

冰醋酸法 将平皿覆转, 放入 1 滴冰醋酸于皿盖内中央。

2. 减少琼脂凝水法

正放法 不将平皿覆转。

陶盖法 将玻璃皿盖子换以陶质盖子(沒有上釉的), 平皿不覆转。

烤干琼脂凝水法(简称烤法) 将平皿移入 45℃ 温箱内覆转, 打开 30 分钟, 然后闭合平皿, 仍照覆转形式取出培养。

3. 对照

如常法将平皿覆转, 在培养前不加任何处理。

上述各平板均立即放于 37℃ 定温箱内培养 24 小时, 观察结果见表 1。

二、各种抑制方法对其他杂菌发育的影响

采用河水作为试验的对象, 因其中细菌未经人工处理, 不象经人工的食品加热干燥或加酸加碱等而发生变异, 故较有代表性。取河水样本 10 个, 等量作倾注培养, 按前法处理, 各样本均等量作两个倾注平板, 取其平均值, 结果见表 2。

由表 2 可见冰醋酸法最不宜采用。为再观察

表 1 应用各种抑制方法后生长的比例

菌株号	药物抑制法		减少琼脂凝水法			对照
	酒精法	冰醋酸法	正放法	陶盖法	烤法	常法
A	$\frac{4}{5}$	0	1	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{30}$	1
B	1	0	1	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{30}$	1
C	1	$\frac{1}{16}$	1	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{30}$	1
D	1	$\frac{2}{5}$	1	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{60}$	1
E	$\frac{4}{5}$	0	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{2}$
F	$\frac{1}{4}$	0	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{8}$	1
G	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{2}{3}$
H	1	0	$\frac{2}{3}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	1
I	1	0	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{16}$	1
J	$\frac{1}{2}$	0	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{8}$	1
超过半个平板(%)	70	0	50	0	0	90

注: “1”菌膜遮盖全平板表面;

“ $\frac{1}{4}$ ”四分之一平板被盖住;

“ $\frac{1}{60}$ ”菌膜约 1 平方厘米大小;

“0”肉眼不见生长物。

烤法与酒精法对细菌发育的影响, 取 1 株金黄色葡萄球菌与 1 株普通大肠杆菌, 用新鲜肉汤培养物各经稀释后等量做倾注平板四个, 两个用烤法

* 本文蒙孙任科长校阅, 谨此致谢。

本文 1964 年 5 月 4 日收到。

表 2 各种抑制菌膜法对其他杂菌发育的影响
(羣落数比较)

标本号	酒精法	冰醋酸法	烤 法	常 法 (对照)
1	22800	0	28800	28300
2	4320	0	10200	11000
3	2640	0	5280	4560
4	9840	480	18000	13900
5	3600	0	5100	5040
6	6040	0	5160	6320
7	8500	0	10800	11900
8	6000	2160	8640	8760
9	10300	2400	10100	7920
10	4320	300	5570	5280
平 均	7816	838	10765	10298
比例数	0.76	0.08	1.04	1

表 3 烤法及酒精法对两株细菌发育的影响

菌 株	酒 精 法			烤 法	
	平板号	菌落数	平均数	菌落数	平均数
金黄色葡萄球菌	1	418	383	650	576
	2	348		502	
普通大肠杆菌	1	1134	1512	3727	4257
	2	1890		4788	

注: 酒精法之菌落数出现较少, 菌落亦较为细小, 其大肠杆菌的平板均有底膜, 烤法之平板均无底膜出现。

处理, 另两个用酒精法处理, 于 37℃ 下培养 24 小时后观察, 结果见表 3。

三、初步实际试用

将烤法施用于 101 份检验标本(水及食品)与常法互相比, 其菌落数及菌膜的出现情况见表 4。

表 4 101 份标本的倾注平板各用烤法和常法
分别处理后, 菌落数及菌膜出现的情况

		烤 法	常 法
表 膜	大	0	16
	中	0	8
	小	2	19
底 膜	大	0	5
	中	0	11
	小	2	87
细菌羣落总数		294,772	171,146
可进行数菌落的 平板		101	85(101-16)
细菌羣落平均数		2,918	2,003

注: 大菌膜表示超过半个平板的菌膜; 表膜超过半个平板通常认为系实验室意外, 不作细菌羣落计数; 散布型菌落或底膜均当作一个菌落计算。

四、結論

比较了药物及减少琼脂凝水两种抑制菌落扩散的效果之后, 发现以烤干方法最好, 因为它不但抑制了扩散(表膜及底膜), 而且在用此法后, 几种细菌生长受到抑制又较少。烤干法简单易行。平板面向下, 在密闭的清洁的烤箱内是不容易受污染的。宜注意之点是: 浇制平板勿过厚; 不宜使用半固体培养基(采用优质琼脂至少 2%), 且在烤箱内不可同时堆积过多过密的平板, 免致影响效果。

参 考 文 献

- [1] 美国公共卫生学会编 (徐昭葵译): 乳品检验方法, 133—134, 轻工业出版社, 1959。
- [2] 邓定华编: 乳品细菌学检验法, 49—52, 人民卫生出版社, 1954。
- [3] 方景灿等编译: 实用细菌学手册, 555—557, 人民卫生出版社, 1954。
- [4] Breed, R.S., Murray, E. G. D. and Smith, N. R.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th ed, 616—617, London, 1957。