

# 兩種胆鹽瓊脂平板用於腸系 細菌初步鑑別的研究

金 啓 桓

(中國協和醫學院細菌學系)

用作初步鑑別腸系細菌的培養基，就文獻上記載在 1887 年 Wurtz 氏開始應用乳糖固體培養基，以石蕊液為指示劑。以後不斷有許多改進，其中 Holt-Harris 氏等<sup>[1]</sup> (1916 年) 首先提出單用一種染料作指示劑；但使乳糖發酵的細菌，常將菌落的顏色擴散到周圍培養基中，結果使整個培養基變色，因而使其中對乳糖無作用的致病菌無法區別。於是有人用一種含有鹼性染料和酸性染料的培養基者，即伊紅美藍瓊脂平板（即 EMB 培养基）。此後報導鑑別培養基的種類更多，各有優缺點。Frederick 氏<sup>[2]</sup> (1947 年) 指出 EMB 培养基有較高的毒性，可能影響一些沙門氏與志賀氏菌屬的生長，遂建議改用伊紅與堝綠瓊脂平板，並加亞硫酸鈉以除去堝綠的毒性。1949 年 Wayburn 等氏<sup>[3]</sup> 曾試用各種酸性與鹼性染料，結果證明酸復紅與美藍的毒性最低，乃採用酸復紅美藍瓊脂平板，惟此培养基的酸鹼度須在 pH 6.6，緩衝程度亦須適合，過低則不使乳糖發酵之菌落亦發生產酸現象，過高則產酸較弱之菌落又不易與不發酵者區別。

本實驗室近幾年來對腸系細菌的鑑別培养基亦曾作了些研究：陸氏<sup>[4]</sup> 曾將“SS”瓊脂平板和國內最常用的中國藍瓊脂平板作比較，而陳氏<sup>[5]</sup> 再將“SS”瓊脂平板中帶黑色菌落者加以分析。此外，本室亦曾作銻酸鉀瓊脂平板試驗<sup>[5]</sup>，但在此培养基上致病菌菌落與非致病菌菌落不易鑑別，故在實際應用上意義不大。根據我們的經驗，“SS”瓊脂平板<sup>[6]</sup> 對鑑別腸系細菌結果雖較佳，但製備不易，因原料如胆鹽（Bacto-Bile Salts No. 3）等尚無國產，因此對鑑別腸系細菌所用之培养基問題，目前仍是值得我們研究。

## 實驗材料及方法

培養基製備：

乳 糖	1 克
瓊 脂	3 克
中性紅水溶液(0.5%)	0.5 毫升
大豆湯 (pH 7.4—7.6)	100 毫升

上項物質混勻於瓶後，置高壓滅菌器，經 8 磅 15 分鐘滅菌。取出冷至 40°C 左右，加 1.25 毫升的無菌（經 8 磅 15 分鐘滅菌）10% 去氧胆酸鈉。溫度不可過高，過高則培養基全部變混，若用胆鹽甘氨酸鈉時則不受高溫影響。搖勻倒碟凝固後，置冰箱中保存備用。

大豆湯製法

黃豆浸汁(製備法見林氏細菌學檢查法)	15 毫升
豆餅消化液*	15 毫升
食 鹽	0.5 克
蒸餾水	70 毫升
酸鹼度：pH 7.4—7.6	

## 實驗結果

胆鹽培養基先後應用兩種，茲分述如下：

(一)培養基甲：乃用去氧胆酸鈉所製備。最初先試以各種保存菌種，結果革蘭氏陰性細菌生長情形很好，而革蘭氏陽性細菌的生長，可完全被抑制。於是開始應用於化驗室，並在常規檢查中和“SS”瓊脂平板相比較，共接種了 165 個標本，結果見表 1。

表 1 去氧胆酸鈉培養基和“SS”瓊脂平板上陽性率之比較

培 養 基	標 本 總 數	陽 性		陰 性	
		數 目	%	數 目	%
培 養 基 甲	165	21	13	144	87
“SS” 瓊 脂 平 板	165	18	11	147	89

由上表可以看出，雖然標本數目不多，但用培養基甲後，所得之陽性率略高，

\* 製法：先將豆餅磨成粉，取 50 克豆餅粉放入 1000 毫升蒸餾水中，搖勻後放入高壓蒸汽滅菌器中經 15 磅，15 分鐘蒸過，加入鹽酸使 pH 為 1—2 (pH 1.8 最適，12 N 濃鹽酸，大約加入 9 毫升即可)，加入胃液素 0.9 克 (最好先溶於 50 毫升水中，再加入)，將豆餅液放入 37—45°C 經 96 小時消化作用，再經紗布濾過及濾紙濾過，用氫氧化鈉滴定濾液至 pH 7.2—7.4，濾過後，經 8 磅 15 分鐘滅菌，即為豆餅消化液。

因此至少可以與“SS”瓊脂平板相比；但再仔細分析二者培養所得的陽性與陰性結果，尚不一致，詳見表 2。

表 2 兩種培養基培養後所得的不同結果

培 養 基 甲	“SS” 瓊 脂 平 板	數 目
致病菌	非致病菌	11
非致病菌	無生長	12
無生長	革蘭氏陽性細菌	1
非致病菌	致病菌	8
無生長	非致病菌	1
革蘭氏陽性細菌	無生長	0
致病菌	致病菌	10
非致病菌	非致病菌	120
非致病菌	革蘭氏陽性細菌	2
培 養 總 數		165

在上表中值得指出的有四點：

1. 在培養基甲中分離出致病菌，而在“SS”瓊脂平板中，沒有分離出致病菌者共 11 例，而 7 例是痢疾桿菌，（其中 5 例為產鹼痢疾桿菌，2 例為志賀氏痢疾桿菌）；另外 1 例為傷寒桿菌，3 例為副傷寒桿菌。

2. 在培養基甲中沒有分離出致病菌，而在“SS”瓊脂平板中分離出致病菌者，共有 8 例，其中 1 例為痢疾桿菌，2 例為傷寒桿菌，5 例為副傷寒桿菌。

3. 二種培養基均分離出致病菌者，共有 10 個標本。

4. 在培養基甲中沒有分離出致病菌或無菌生長，而在“SS”瓊脂平板上有革蘭氏陽性細菌者，有 3 例，（非常小的菌落，在雙糖培養基中，似宋內氏痢疾桿菌；但發酵乳糖和葡萄糖的能力很強，經塗片染色鏡檢，係革蘭氏陽性細菌，類似甲類鏈球菌，試將此菌再接再種於培養基甲中，經培養後，均未生長）。

此後，培養基甲已應用於常規化驗室。自 1952 年 7 月初至 1953 年 7 月底，共接種標本 2973 個，所得之陽性結果見表 3：

表 3 用胆鹽培養基甲培養 2973 個標本所得的陽性率

診 斷	標 本 數 目	培 養 陽 性 數	培 養 陽 性 率
初 步 診 斷 為 傷 寒	81	14	17.3%
初 步 診 斷 為 痢 疾	398	83	20.9%
診 斷 為 其 他 病	2482	137	5.5%
其 他	12	—	—

在上表中，初步診斷不是腸系傳染病者，種類很多，如體格檢查、發熱、腹瀉、腸炎、流產、糖尿病等，其中以體格檢查、腹瀉、腸炎佔多數。此外尚有診斷與培養結果不符合者，共 12 例，其中 11 例診斷為痢疾，而培養結果有 9 例為副傷寒乙桿菌，1 例為副傷寒甲桿菌，一例為沙門氏菌屬（未定種），另外一個標本，診斷為傷寒，而培養結果為產鹼痢疾桿菌。

(二)培養基乙：用胆醯甘氨酸鈉製成培養基，初步所作試驗，結果與培養基甲相同。以後，將此二種不同胆鹽所製備的培養基，在化驗室應用，按照 100 個標本的比較結果見表 4。

表 4 胆鹽培養基甲、乙所得結果之比較

培 養 基 甲	培 養 基 乙	數 目
致 病 菌	致 病 菌	10
致 病 菌	非 致 病 菌	2
非 致 病 菌	致 病 菌	1
非 致 病 菌	非 致 病 菌	85
非 致 病 菌	革蘭氏陽性細菌	2
革蘭氏陽性細菌	非 致 病 菌	0
培 養 總 數 目		100

由上表可知應用此兩種胆鹽培養基，所得之結果，除了在培養基甲上致病菌有兩個福氏痢疾桿菌及在培養基乙上致病菌有一副傷寒乙桿菌，略有不同外，其他結果可自表上看出二者基本上是相符合的；但必須指出在同一濃度下，胆醯甘氨酸鈉對革蘭氏陽性細菌抑制能力較差。

## 討 論

在本實驗室中，過去曾試用過幾種大便鑑別培養基；但對於中國藍、伊紅美藍、酸複紅美藍和烷綠培養基，都感到不滿意。因此在過去兩年中，曾試用去氧胆酸鈉的培養基，效果比較好。這個結果，已經在本報告中敘述；但是國內尚不能買到這一種胆鹽，因此我們又進行試用了一些其他胆鹽，有的是本國自製的，有的是自己用酸沉澱得到的，或用酒精乙醚提煉而得的；但結果都不滿意。最後用胆醯甘氨酸鈉，在初步試驗下，結果頗佳，但在實際應用的成效上，以後還須繼續研究，再作估價。

在本試驗中，有一點值得提出，即用不同染料作指示劑的時候，與培養基中所用的抑制劑胆鹽有關<sup>[7]</sup>；有的指示劑合用，有的不合用。所謂不合用者，即使乳糖發酵的菌落，亦不能將顏色集中在菌落本身上，而往往擴散到菌落周圍的培養基中去。這個事實 Holt-Harris 和 Teague 氏<sup>[1]</sup> 在 1916 年已經指出；但每為研究此問題者所忽視。故在此再提出，請研究者加以注意，在用不同抑制劑時，應考慮用適宜的染料，作為指示劑。

用胆鹽作為培養基中的抑制劑，已有很久的歷史；但是和“SS”瓊脂平板的比較和在國內應用的結果尚未見到，希望國內同道，對本報告中的缺點，多加批評和研究，使我們能在這方面研究出合用材料，以便自給，俾使我們的工作，更趨完善。

## 總 結

1. 胆鹽培養基製備較簡單，陽性率較高，效果可與“SS”瓊脂平板相比。
2. 胆鹽培養基對大腸桿菌抑制能力甚低，故接種標本者，應以白金耳多蘸標本部位，而少取材料接種，否則培養基鋪滿大腸桿菌，以致無法挑選致病菌，而影響陽性率。

## 參 考 文 獻

- [1] Holt-Harris, J. F. and Teague, O.: *J. Inf. Dis.*, **18**. 596-600, 1916.
- [2] Fredericq, P.: *J. Bact.* **54**. 662-663, 1947.
- [3] Wayburn, S. J. and Wynnei, E. S.: *J. Bact.* **58**. 429-432, 1949.
- [4] 陸秀芳: *Chin Med. J.* **67**. 500-503, 1949.
- [5] 陳華粹: 中南醫學雜誌, **1**. (3) 201-202, 1951.
- [6] Wadsworth, A. B., Standard. Method for the Examination of Water and Sewage, 9th. Ed. 1946, 228.
- [7] Leifson, E., *J. Path.* **40**. 581-599, 1935.

## COMPARATIVE STUDY OF BILE SALTS MEDIA FOR THE PRIMARY ISOLATION OF INTESTINAL PATHOGENS

CHIN, C. H.

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

In the isolation of intestinal pathogens, great need has been felt for an efficient combination for the suppression of the colon-aerogenes group and its differentiation from the salmonella-shigella group. A comparative study has been carried out among available bile salts, namely, sodium desoxycholate and sodium glycocholate. It has been found that while both were inferior to SS agar in their suppressive activity for the colon-aerogenes group, they equalled the latter in the ease of differentiation. The bile salts may therefore be temporarily employed until something better eventually turns up.