

# 鞭毛染色法的研究

張大中

(廣東省佛山衛生學校細菌科)

關於鞭毛染色法，文獻中有許多方法，但是多是複雜而且結果不肯定的。因此許多細菌學工作者對能否染好鞭毛的信心不大，本人在這方面曾經作了一些工作，並且發現用了一種比較簡便的方法，能獲得很好的結果。現在將初步結果供諸參考，希望大家試用並給予批評和指教。

## 材料及方法

1. 菌種及接種方法：將保存的摩根氏桿菌、霍亂弧菌、傷寒桿菌及白色葡萄球菌接種在普通肉湯中，在 37°C 孵育約 18 小時。

2. 洗滌法：是取生長菌的肉湯培養基，加等量無菌蒸餾水，遠心沉澱（每分鐘 2,000 轉）10 分鐘，去掉上清液，將沉澱物再加 2 毫升無菌蒸餾水，再同樣遠心沉澱至所需要的次數為止，最後一次的沉澱物即是洗滌後的菌液。

3. 塗片：在本試驗中特別用新的方法，乃是滴上洗滌菌液後，大力而迅速用白金耳研磨菌液而試驗塗抹時對鞭毛之影響。

4. 染色：塗片乾燥後，將下列染液 (1)，染 10 分鐘；水洗，即用複染劑 (2)，染 2 分鐘；以後用水洗，印乾鏡檢，結果菌體呈藍色，鞭毛呈紅色。

### (1) 染液：

|            |       |
|------------|-------|
| 鉀明礬飽和水溶液   | 20 毫升 |
| 鞣酸液 (20%)  | 10 毫升 |
| 蒸餾水        | 10 毫升 |
| 酒精 (95%)   | 15 毫升 |
| 鹼性複紅酒精飽和溶液 | 3 毫升  |

## (2) 複染劑:

|     |        |
|-----|--------|
| 美藍  | 0.1 克  |
| 硼砂  | 1.0 克  |
| 蒸餾水 | 100 毫升 |

## 實 驗 結 果

1. 菌液洗滌次數的比較: 首先將不洗和洗滌 1—4 次的菌液作比較, 結果見表 1。

表 1 摩根氏桿菌洗滌結果

| 洗滌次數  | 塗片方法      | 結 果                              |
|-------|-----------|----------------------------------|
| 不 洗   | 大力塗10餘次   | 有極少數菌體出現一兩條很短的類似鞭毛               |
| 洗 1 次 | 大力塗10餘次   | 與不洗差不多                           |
| 洗 2 次 | 大力塗10餘次   | 菌體藍色, 周身帶有很幼小的鞭毛。                |
| 洗 3 次 | 大力塗10餘次   | 菌體藍色, 稍漲大, 鞭毛紅色稍漲大伸長, 有小部分菌體沒有鞭毛 |
| 洗 4 次 | 大力塗10餘次   | 菌體鞭毛均很漲大, 有 $\frac{1}{2}$ 菌體沒有鞭毛 |
| 洗 4 次 | 大力塗 100 次 | 完全沒有鞭毛                           |

可以看見洗滌次數少的, 鞭毛比較小, 而洗滌次數過多, 鞭毛雖大但容易脫落, 變形桿菌以洗滌 3 次最好, 若洗滌 4 次則受不起大力塗抹。

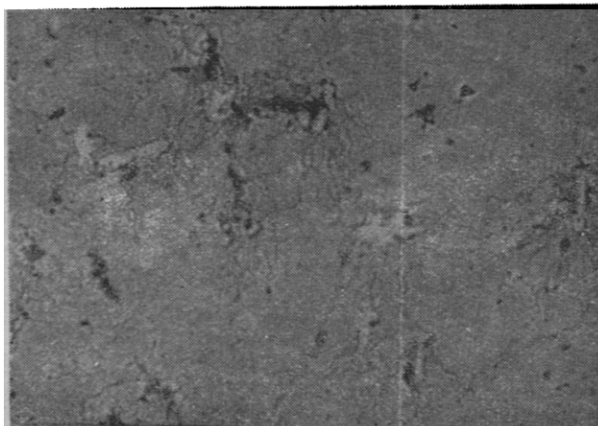
圖 1  $\times 1,300$

表 2

| 結果<br>菌名 | 洗滌次數 | 第 1 次 | 第 2 次 | 第 3 次  | 第 4 次    | 第 5 次        | 第 6 次    |
|----------|------|-------|-------|--------|----------|--------------|----------|
| 霍亂弧菌     |      | 沒有鞭毛  | 沒有鞭毛  | 沒有鞭毛   | 有幼小的單端單毛 | 單端單毛，菌體鞭毛稍漲大 | 菌體鞭毛甚漲大  |
| 傷寒桿菌     |      | 沒有鞭毛  | 有鞭毛痕跡 | 有很短的鞭毛 | 有很長的周身叢毛 |              |          |
| 白色葡萄球菌   |      | 沒有鞭毛  | 沒有鞭毛  | 沒有鞭毛   | 沒有鞭毛     | 沒有鞭毛         | 無鞭毛，菌體漲大 |

在表 2 上可見傷寒桿菌以洗滌 4 次最好，霍亂弧菌以洗滌 5 次最好，葡萄球菌雖洗滌 6 次也看不見鞭毛。

表 3

| 操作<br>菌名 | 洗滌次數 | 塗抹次數  | 使用玻片           | 固定法 | 結 果   |
|----------|------|-------|----------------|-----|---|
| 傷寒       | 4    | 50    | 已浸清潔液的         | 自乾  | 周身叢毛甚清楚   |
| 傷寒       | 4    | 100   | 已浸清潔液的         | 自乾  | 周身叢毛甚清楚   |
| 傷寒       | 4    | 200   | 已浸清潔液的         | 自乾  | 周身叢毛甚清楚   |
| 傷寒       | 4    | 500   | 已浸清潔液的         | 自乾  | 周身叢毛甚清楚   |
| 傷寒       | 4    | 1,000 | 已浸清潔液的         | 自乾  | 周身叢毛甚清楚   |
| 傷寒       | 4    | 1,500 | 已浸清潔液的         | 自乾  | 一部分鞭毛脫落，與菌體分離，但仍有<br>很多菌體具有週身鞭毛或部分鞭毛，完全<br>脫落者 10—20% |
| 傷寒       | 4    | 10 餘次 | 未浸清潔液但<br>無油質的 | 自乾  | 周身叢毛甚清楚   |
| 傷寒       | 4    | 10 餘次 | 已浸清潔液的         | 火焰  | 完全沒有鞭毛  |
| 傷寒       | 4    | 10 餘次 | 未浸清潔液但<br>有油質的 | 自乾  | 有一部分菌體有很多短的鞭毛   |
| 霍亂       | 6    | 10 餘次 | 已浸清潔液的         | 自乾  | 大部分菌體鞭毛脫落，有 $\frac{1}{2}$ 菌體具有<br>單端單毛                |

在表 3 上也可以看見祇要用清潔無油玻片不一定經過清潔液潔淨過也可得到很好結果，火焰對鞭毛的害處也在同表中看見。霍亂弧菌因洗滌過多，故受不起大力塗抹。

## 總 結

1. 細菌鞭毛必需用洗滌方法，染色後才可在顯微鏡下看到。
2. 各種細菌所要求之洗滌次數不同，一般洗滌次數不足則鞭毛短而細，洗滌過多則鞭毛及菌體均漲大異常，且易脫落。

3. 若洗滌次數適宜塗片研磨，雖經 1,500 次亦能保持大多數鞭毛，故不必顧慮塗片時會將鞭毛弄脫。
4. 染色以第 1 液 10 分鐘，第 2 液 2 分鐘最好。
5. 固定時勿通過火焰。
6. 保存菌種祇接種於肉湯一次便得染出鞭毛。
7. 鞭毛染出之關鍵在於洗滌次數之適宜與否，塗片可按普通方法，塗抹至薄度適宜為止。

### 參 考 文 獻

謝少文，周輯五：林氏細菌學檢查法。20 頁。

## A NEW PROCEDURE FOR FLAGELLA STAINING

CHANG, T. C

A new approach for the demonstration of flagella by the usual stains is described. The chief differences from the usual technique are washing of the bacterial suspension before smears are prepared, and the trituration of the organisms by means of the platinum loop for as many as 1,500 times after the smears have been prepared. The results are self evident from the microphotographs that accompany the current communication. It seems that further trial of the new procedure is warranted.