

用硝普酸鈉 (Sodium nitroprusside) 等測定 細菌培養液中的靛基質及其應用於 臨床細菌檢驗中的初步報告*

王 慧

(湖南醫學院微生物學教研組)

在腸道細菌鑑定中,菌液內靛基質的測定是利用某些藥物與靛基質(Indol)作用時,能產生某種特殊的顏色,因而可用作後者存在的標誌。如通常在細菌學上用以測定靛基質的方法是 Ehrlich 氏法,即是利用對位二甲氨基苯醛 (*p*-dimethylaminobenzaldehyde) 與靛基質形成 Rosindol^[1]。Ehrlich 氏法應用於細菌診斷學上已經很久,且經多人改進,其特殊性及敏感度較高,所以常為一般化驗室採用,不過由於對位二甲氨基苯醛價格昂貴,因此, Ehrlich 氏法也不是一種毫無缺點的方法。

根據文獻方面的記載, Legal 氏^[2]首先試用硝普酸鈉等來測定靛基質,硝普酸鈉法的長處是所用藥物價格較廉,且較易獲得,但其應用時試劑的分量,以及應用於細菌鑑定上的敏感度和特殊性如何,文獻上尚無明確的記載。我們自 1951 年起曾用 20 種細菌,計 670 株,對此進行研究,茲將結果報導如下。

(一) 硝普酸鈉法操作規程的釐定

菌液的準備:取 2 株大腸桿菌、2 株產生靛基質的類大腸桿菌、4 株不定志賀氏菌 (*Shigella ambigua*) 及 1 株產生靛基質的副痢疾志賀氏菌 (*Shigella paradysenteriae*) 分別接種入 20—50 毫升的 Bacto-tryptone 液體培養基^[3]內,將其置於 37°C 的恆溫箱中培養 1 日後,每管取菌液 0.5 毫升,首先用 Ehrlich 氏法測定菌液內有無靛基質存在,如有靛基質存在,則將其未經稀釋的原菌液及經蒸餾水稀釋為 1:2、1:4、1:8 和 1:16 的菌液各 0.5 毫升,繼續進行下列試驗。

方法:將硝普酸鈉溶液(該溶液配製好後須盛入顏色瓶內,以免感光分解)、氫氧化鈉溶液及醋酸依次加入上述各種濃度的菌液中,每加完一試劑後即搖動試管,使菌液與試劑充分混合,如菌液內有靛基質存在,則依次加完各試劑後出現純藍色、藍綠色或草

* 1956 年 10 月 12 日收到。

綠色。按出現顏色之深淺度依次記為 4、3、2 及 1。如菌液內依次加入各種試劑後呈現米黃色，則為陰性反應。

試驗 1：硝酸鈉最適宜的濃度和用量的測定

取上述所製備好的菌液，按表 1 將每個菌株不同稀釋度的菌液，分別加入不同濃度

表 1 使用不同濃度硝酸鈉溶液結果的比較

<div> <div>硝酸鈉濃度</div> <div>菌液稀釋度</div> </div>		2%, 3%, 4% 或 5%	1%	0.5%	0.25%	0.125%	0.0625%	0.03125%
大腸桿菌 (1 號)	未稀釋	4	4	4	3	2	1	—
	1:2	3	3	3	2	1	—	—
	1:4	2	2	2	1	±	—	—
	1:8	±	±	±	—	—	—	—
大腸桿菌 (2 號)	未稀釋	4	4	4	3	2	1	—
	1:2	3	3	3 ⁻	2	1	—	—
	1:4	1	1	1 ⁻	±	—	—	—
	1:8	—	—	—	—	—	—	—
類大腸桿菌 (1 號)	未稀釋	3	3	3	2	1	1 ⁻	—
	1:2	2	2	2	1	1 ⁻	—	—
	1:4	1	1	1	—	—	—	—
	1:8	—	—	—	—	—	—	—
類大腸桿菌 (2 號)	未稀釋	4	4	4	3	2	1	—
	1:2	3	3	3	2	1	±	—
	1:4	2	2	1	1	±	—	—
	1:8	1	1	—	—	—	—	—
不定志賀氏菌 (26 號)	未稀釋	4	4	3 ⁺	3 ⁺	3	3	1
	1:2	3	3	3	3	2	2	—
	1:4	2	2	2	2	1	—	—
	1:8	1	1	1 ⁻	1 ⁻	±	—	—
不定志賀氏菌 (27 號)	未稀釋	4	4	4	4	3	2	1
	1:2	3	3	3	3	2	1	—
	1:4	1	1	1	1	±	—	—
	1:8	—	—	—	—	—	—	—
不定志賀氏菌 (30 號)	未稀釋	4	4	4	4	3	3	2
	1:2	4	4	3	3	3	2	1
	1:4	3	3	2	2	2	1	—
	1:8	2	2	1	1	—	—	—
	1:16	1	1	±	—	—	—	—
副痢疾志賀氏菌	未稀釋	4	4	4	3	2	1	±
	1:2	3	3	3	2	1	±	—
	1:4	2	2	2	1	—	—	—
	1:8	1	1	1	—	—	—	—
	1:16	±	±	±	—	—	—	—

的硝喹酸鈉溶液 0.2 毫升,將試管稍加震搖後,再分別先後加入 4*N* 的氫氧化鈉 0.2 毫升及 50% 的醋酸 0.2 毫升。

根據 Legal 氏^[2]的記錄,用硝喹酸鈉等測定靛基質時,如待測溶液內有靛基質存在時,加入硝喹酸鈉溶液後呈現黃色,再加氫氧化鈉時即轉為深紫藍色,最後加入醋酸即轉變為純藍色。在本試驗中,我們發現菌液加硝喹酸鈉溶液後,如使用硝喹酸鈉的濃度在 1% 以上時,則菌液原有的淡黃色加深,並且黃色加深的程度與所加硝喹酸鈉的濃度成正比。如使用的硝喹酸鈉溶液濃度在 0.5% 以下,則加入菌液後無顯著顏色改變。經我們仔細分析後,發現硝喹酸鈉溶液本身具有淺棕色,並且棕色的深淺度,與其溶液的濃度成正比。當使用的硝喹酸鈉溶液濃度在 0.5% 以下時,溶液本身的顏色很淺,因此加入菌液後不能顯現;而當使用的硝喹酸鈉溶液濃度在 1% 以上時,由于溶液本身即具較顯著的棕色,加入菌液後,雖為菌液所沖淡,但仍可加深菌液原有的黃色。

在本試驗中,當菌液加硝喹酸鈉後再加 4*N* 的氫氧化鈉 0.2 毫升後,特別在未經稀釋的原菌液內,如使用硝喹酸鈉溶液的濃度為 0.25% 時,所測 8 株細菌中僅有 2 株的菌液出現了紫藍色,4 株的菌液原來的淡黃色略為加深,另 2 株菌液無顯著顏色的變化;當使用的硝喹酸鈉溶液的濃度為 0.125% 及 0.0625% 時,8 株細菌中有 6 株的菌液出現淺紫藍色,另 2 株的菌液無顯著顏色改變;當使用的硝喹酸鈉溶液濃度為 0.03125% 時,8 株的菌液都無顏色改變;而當使用硝喹酸鈉溶液濃度在 0.5% 以上時,菌液加硝喹酸鈉後再加氫氧化鈉,菌液常均轉變為金黃色或棕紅色,並且發現所出現顏色的深度,與所用硝喹酸鈉的濃度成正比,而與菌液的稀釋度成反比。為了闡明使用的硝喹酸鈉溶液濃度在 1% 以上,再加 4*N* 氫氧化鈉常不出現紫藍色的原因,我們曾取淺棕色油墨與紫藍色油墨混合,結果發現混合物常為金黃色到棕紅色,特別是僅取少量紫藍色油墨與較大量的淺棕色油墨混合時,結果僅使原來淺棕色稍稍加深,或甚至不影響原來的淺棕色。根據上述顏色油墨混合的結果,我們揣測在本試驗中,當使用硝喹酸鈉溶液濃度在 1% 以上,由於硝喹酸鈉溶液本身即具有淺棕色,加以菌液本身也具有黃色,如菌液內靛基質的含量不高時,產生紫藍色物質不多,少量紫藍色物質與較大量的淺棕色及黃色物質混合,故出現了金黃色或棕紅色。

在本試驗中,當菌液加硝喹酸鈉和氫氧化鈉後,不論出現了紫藍色,棕紅色,金黃色或僅將菌液黃色稍稍加深,但加入 50% 的醋酸 0.2 毫升後均可轉變為純藍色、藍綠色或草綠色,特別當使用的硝喹酸鈉溶液的濃度在 2% 以上時,出現藍綠色或草綠色的機會尤多。我們認為草綠色或藍綠色的出現,是由於菌液內靛基質先後與硝喹酸鈉、氫氧化鈉及醋酸作用後產生的純藍色,與過多的硝喹酸鈉和淡黃色的菌液混合產生,故藍綠色或草綠色的出現,也表示菌液內有靛基質的存在。

從表 1 的結果,8 株細菌中有 4 株細菌 (1 號大腸桿菌、1 號類大腸桿菌、27 號不

定志賀氏菌及副痢疾志賀氏菌)用 0.5% 的硝磺酸鈉即可,而另外 4 株細菌(2 號大腸桿菌、2 號類大腸桿菌、26 號不定志賀氏菌及 30 號不定志賀氏菌)則使用 1% 的硝磺酸鈉溶液更好。爲了不損害本法的敏感度,我們認爲用本法測定菌液內的靛基質時,如用 0.5 毫升菌液做試驗,加 1% 的硝磺酸鈉 0.2 毫升爲適宜。

在本試驗之前,我們曾用未經稀釋的 2 株產生靛基質量極多的大腸桿菌培養液來作試驗,以測定最適宜的硝磺酸鈉溶液之濃度及用量,當時試用的濃度有 20%、15%、10%、5%、2%、1% 及 0.5% 的硝磺酸鈉,結果發現如使用的硝磺酸鈉的濃度在 10% 以上時,則硝磺酸鈉溶液本身的棕紅色能影響結果的觀察,故認爲硝磺酸鈉的濃度以 5% 爲適宜,並將此濃度之硝磺酸鈉應用於臨床細菌培養室達 3 年之久,其結果雖與 Ehrlich 氏法相同,但顏色反應却以草綠色或藍綠色出現較多,以後我們發現用 1% 的硝磺酸鈉的陽性率和用 5% 硝磺酸鈉比較並無差別,而顏色反應又以出現藍色爲多,所以我們主張用 1% 的硝磺酸鈉。

試驗 2: 氫氧化鈉的最適宜的濃度和用量的測定

取上述所準備好的菌液,按表 2 將每個菌株各種稀釋度的菌液,均加 1% 硝磺酸鈉溶液 0.2 毫升,然後分別加入 8N、4N、2N、1N 及 0.5N 的氫氧化鈉 0.2 毫升,將試管稍加震搖後,再各加 50% 醋酸 0.2 毫升。在已加 8N 氫氧化鈉 0.2 毫升的各管中,再加 50% 醋酸 0.2 毫升時,菌液上層立刻出現了純藍色、藍綠色或草綠色,但將試管稍加震搖後所產生的顏色又立刻消失,以後繼續再加醋酸,每加 0.05 毫升後即將試管振搖,直至所出現的顏色不迅速消失爲止,並記錄加入醋酸的總量,結果我們發現凡加 8N 氫氧化鈉 0.2 毫升的各管中,若加入 50% 醋酸總量在 0.35 毫升以上時,所產生的顏色較爲穩定,故本試驗中凡加 8N 的氫氧化鈉的各管,均加 0.35 毫升 50% 的醋酸。從表 2 的結果,我們發現在本試驗中,如果所用醋酸的毫克當量等於或大於所用氫氧化鈉的毫克當量 1.8 倍以上,甚或超過氫氧化鈉的毫克當量 16 倍時,產生的顏色較穩定。特別當所用醋酸的毫克當量爲氫氧化鈉的毫克當量的 2—4 倍時,在未經稀釋的菌液內,陽性顏色反應可維持 4—24 小時之久而不消失。

又在本試驗中,當使用的氫氧化鈉濃度爲 1N 或 0.5N 時,即使以後加入的醋酸的毫克當量,爲氫氧化鈉的毫克當量的 2—4 倍,但陽性的顏色反應,通常在半小時後即行消失。

此外,菌液的稀釋度與試驗時顏色的穩定性也有關,菌液的稀釋度愈大,出現的顏色不但較淺,而且也較易消失,這似乎說明:靛基質含量很少時,陽性反應顏色的顯現也較不能持久。

在表 2 的結果中,8 個菌株中有 5 個菌株(1 號大腸桿菌、27 號不定志賀氏菌、29 號不定志賀氏菌、30 號不定志賀氏菌及副痢疾志賀氏)用 4N 的氫氧化鈉即產生與用

8 N 氫氧化鈉一樣的結果, 2 個菌株 (2 號大腸桿菌及 2 號類大腸桿菌) 則用 8 N 氫氧化鈉時顏色出現較顯著, 但相差不太大, 所以我們認為可以使用 4 N 的氫氧化鈉。且期待測菌液量為 0.5 毫升時, 使用量可為 0.2 毫升。

表 2 使用不同濃度氫氧化鈉結果的比較

氫氧化鈉濃度 菌液稀釋度		8 N	4 N	2 N	1 N	0.5 N
菌 名						
大腸桿菌 (1 號)	未稀釋	4	4	4	3	1
	1:2	3	3	3-	2	±
	1:4	2	2	1	1	-
	1:8	-	-	-	-	-
大腸桿菌 (2 號)	未稀釋	4	4	3	3	2
	1:2	3	3	2	1	±
	1:4	1	±	±	-	-
	1:8	-	-	-	-	-
類大腸桿菌 (1 號)	未稀釋	3	3	3	2	1
	1:2	2	2	2	1	-
	1:4	1	1	1	-	-
	1:8	-	-	-	-	-
類大腸桿菌 (2 號)	未稀釋	4	3	3	2	1
	1:2	3	2	2	±	-
	1:4	2	1	1	-	-
	1:8	1	±	-	-	-
不定志賀氏菌 (27 號)	未稀釋	4	4	4	3	2
	1:2	3	3	3-	2	1
	1:4	2	2	2-	1	-
	1:8	1	1	1-	-	-
不定志賀氏菌 (29 號)	未稀釋	4	4	4	3	3-
	1:2	3	3	3	2	2
	1:4	2	2	2	1	±
	1:8	1	1	1-	-	-
不定志賀氏菌 (30 號)	未稀釋	4	4	4	4	3
	1:2	3	3	3	3	2
	1:4	2	2	2-	1	1
	1:8	1	1	1-	-	-
	1:16	1-	1-	-	-	-
副痢疾志賀氏菌	未稀釋	4	4	3	2	1
	1:2	3	3	2	1	-
	1:4	2	2	1	-	-
	1:8	1	1	-	-	-
	1:16	±	±	-	-	-

試驗 3：醋酸的最適宜的濃度和用量的測定

方法是取上述已經準備好的菌液按表 3 稀釋，先後各管均加入 1% 硝鎂酸鈉 0.2 毫升和 4 N 的氫氧化鈉 0.2 毫升，然後在未經稀釋的菌液內，按表 3 分別加入不同濃度的醋酸，每加 0.05 毫升後即將試管搖動，直至出現的純藍色、藍綠色或草綠色不再消失為止，記下所用醋酸的量，然後將同量的醋酸分別加入各種相應稀釋度的菌液內。

表 3 使用不同濃度醋酸結果的比較

醋酸濃度 醋酸用量(毫升) 菌液稀釋度		99.7%	50%	40%	30%	20%	10%	5%	3%	2%
菌 名		0.1	0.2	0.25	0.3	0.4	0.7	1.0	1.6	2.4
大腸桿菌 (1 號)	未稀釋	4	4	3	2	2	1	1-	±	-
	1:2	3	3	1	1	1	±	-	-	-
	1:4	2	2	-	-	-	-	-	-	-
	1:8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
類大腸桿菌 (1 號)	未稀釋	4	4	3	3	3	2	2	1	±
	1:2	3	3	2	2	2	2-	1	-	-
	1:4	2	2	1	-	-	-	-	-	-
	1:8	1	1	-	-	-	-	-	-	-
不定志賀氏菌 (29 號)	未稀釋	4	4	3	3	3	2	1	-	-
	1:2	3	3	2	1+	1	1	-	-	-
	1:4	2	2	1	1	-	-	-	-	-
	1:8	1	1	-	-	-	-	-	-	-
副痢疾志賀氏菌	未稀釋	4	4	3	2	2	2	1	1-	1-
	1:2	3	3	2	2-	1	1-	1-	-	-
	1:4	2	2	1	-	-	-	-	-	-
	1:8	1	1	-	-	-	-	-	-	-

從表 3 的結果，我們可以看出，醋酸的用量與其濃度成反比。使用較稀的醋酸時，除要增大用量外，敏感度也降低。由表 3 所得的結果看來，用本法測定菌液內胨基質時，如待測菌液為 0.5 毫升時，50% 的醋酸加 0.2 毫升是最適宜的濃度和用量。

和試驗 2 一樣，在本試驗中，我們也可看出陽性反應的顏色的持久性，與所用氫氧化鈉的毫克當量和醋酸的毫克當量對比關係相同。換言之，當使用的醋酸的毫克當量大於所用氫氧化鈉的毫克當量 2 倍以上時，陽性反應出現的顏色較穩定。此外，我們也發現陽性反應顏色的持久性與菌液內胨基質的含量成正比。

根據上面試驗 1、試驗 2 及試驗 3 的結果，我們初步擬定用硝鎂酸鈉等來測定菌液內胨基質時的操作規程如下：

取受檢菌液 0.5 毫升，首先加入 1% 硝鎂酸鈉 0.2 毫升，振搖，使菌液與試劑充分混合後，隨後加 4 N 氫氧化鈉 0.2 毫升，再振搖，使菌液與試劑充分混合後，最後加 50%

醋酸 0.2 毫升, 如有純藍色、藍綠色或草綠色出現, 即可記為陽性, 表示菌液內有靛基質存在: 如出現黃色, 則為陰性反應, 表示菌液內無靛基質存在。如受檢菌液量多於 0.5 毫升時, 各種試劑的用量應相應的增加。

(二) 硝磺酸鈉法與 Ehrlich 氏法測定菌液內靛基質時二者敏感度的比較

取已在 Bacto-tryptone 液體培養基^[3]內培養 1 日及已在 Bacto-peptone 液體培養基^[4]內培養 2 日的 2 株大腸桿菌、1 株類大腸桿菌、2 株不定志賀氏菌及 1 株副痢疾志賀氏

表 4 硝磺酸鈉法與 Ehrlich 氏法測定菌液內靛基質時二者敏感度的比較

菌 名	培養基種類 試驗方法 菌液稀釋度	Bacto-tryptone 液體培養基		Bacto-peptone 液體培養基	
		Ehrlich 氏法	硝磺酸鈉法	Ehrlich 氏法	硝磺酸鈉法
大腸桿菌 (1 號)	未稀釋	4	4	4	2
	1:2	2	3	2	1
	1:4	2	2	±	±
	1:8	1	±	—	—
	1:16	—	—	—	—
大腸桿菌 (3 號)	未稀釋	4	4	4	4
	1:2	3	3	3	3
	1:4	2	1	1	1
	1:8	2	—	—	—
	1:16	1	—	—	—
類大腸桿菌 (626 號)	未稀釋	2	4	2	2
	1:2	2	3	1	1
	1:4	3	2	—	—
	1:8	4	1	—	—
	1:16	2	—	—	—
	1:32	1	—	—	—
不定志賀氏菌 (26 號)	未稀釋	4	4	3	3
	1:2	3	3	2	2
	1:4	2	2	1	1
	1:8	1	1	—	—
	1:16	—	—	—	—
不定志賀氏菌 (27 號)	未稀釋	4	4	3	3
	1:2	3	3	2	3-
	1:4	1	2	±	1
	1:8	—	1	—	—
	1:16	—	—	—	—
副痢疾志賀氏菌	未稀釋	4	4	4	4
	1:2	3	4-	3	4
	1:4	2	3	1	3
	1:8	1	2	—	1
	1:16	—	1	—	—

菌的菌液,按表 4 分別將部分菌液,用雙蒸水稀釋為 1:2、1:4 及 1:8,每個菌株不同濃度的菌液均分裝於 2 小試管內,每管量 0.5 毫升。取各個菌株不同稀釋度的菌液 1 管,分別依前述操作規程用硝鎂酸鈉等作靛基質試驗(以後簡稱硝鎂酸鈉法),並以 Ehrlich 氏法作對照。Ehrlich 氏法亦係取上面製備好的菌液,分別先後加 Ehrlich 氏第 1 號試劑^[3]及第 2 號試劑^[3]各 0.3 毫升,如未出現紅色,則將菌液稍稍加熱,凡菌液內出現紅色者,則記為陽性反應,如無紅色出現,則為陰性反應。

根據表 4 的結果,我們看出用 Bacto-tryptone 液體培養基的菌液時,6 株細菌中有 3 株細菌(1 號大腸桿菌、3 號大腸桿菌及 626 號類大腸桿菌)用 Ehrlich 氏法來測定靛基質時較用硝鎂酸鈉法為敏感,1 個菌株(26 號不定志賀氏菌)二法相等,而有 2 個菌株(27 號不定志賀氏菌及副痢疾志賀氏菌)硝鎂酸鈉法較 Ehrlich 氏法略為敏感;而用 Bacto-peptone 液體培養基的菌液時 6 個菌株中的 4 個細菌(1 號大腸桿菌、3 號大腸桿菌、626 號類大腸桿菌及 26 號不定志賀氏菌)用 Ehrlich 氏法和硝鎂酸鈉法所獲結果近似或相同,而有 2 個菌株(27 號不定志賀氏菌和副痢疾志賀氏菌)硝鎂酸鈉法較 Ehrlich 氏法略為敏感。從上面這些記錄看來,我們認為由於使用培養基的種類以及菌株不同,Ehrlich 氏法在某些試驗中較硝鎂酸鈉法為敏感,在某些試驗中二法的敏感度相同,而在另一些試驗中硝鎂酸鈉法甚至較 Ehrlich 氏法為敏感。在用 Bacto-tryptone 液體培養基的菌液時,Ehrlich 氏法較硝鎂酸鈉法為敏感的菌株數為多(本試驗中 6 個菌株中有 3 個菌株),但在用 Bacto-peptone 液體培養基的菌液時,硝鎂酸鈉法的敏感度與 Ehrlich 氏法相似,甚或較為敏感(6 株細菌中有 2 株細菌)。是否因為 Bacto-tryptone 液體培養基內較 Bacto-peptone 液體培養基內色氨酸的含量較高,由於色氨酸的存在而增加了紅色出現呢?我們認為這是不可能的,因為色氨酸在有鹽酸存在的情況下,與對位二甲氨基苯醛作用是產生藍色物質^[5]。根據 Hopkins 氏和 Cole 氏^[6,9]、Herter 氏^[7,9]及 Salkowski 氏^[8,9]等的研究,Ehrlich 氏法的試劑,與靛基質- β -醋酸^[5]和靛基質- β -丙酸,都產生紅色物質,肉眼觀察時,不能與靛基質所產生的紅色物質相區別,而硝鎂酸鈉法所用各試劑,尚沒有發現同上述二種物質作用而產生與靛基質作用相同的顏色^[9-11],因此我們想在不同培養基內,不同菌株,用 Ehrlich 氏法測定靛基質較硝鎂酸鈉法為敏感的原因,可能係該菌液內除有靛基質外,尚有靛基質- β -醋酸和靛基質- β -丙酸,因此菌液的稀釋度雖然較大,但加 Ehrlich 氏試劑時,仍可出現紅色。當然,我們現在尚不知道在腸道細菌的鑑定中,區別靛基質與靛基質- β -醋酸和靛基質- β -丙酸有無實際應用上的意義。關於 27 號不定志賀氏菌和副痢疾志賀氏菌的菌液,為什麼硝鎂酸鈉法較 Ehrlich 氏法還要敏感呢?我們認為可能是有一部分細菌的代謝產物,阻礙了對位二甲氨基苯醛與少量靛基質的作用,而使紅色不能出現,但也可能是由於硝鎂酸鈉法在用於測定菌液內的靛基質時,較 Ehrlich 氏法為敏感。

在本試驗中，我們的細菌接種量並不大，培養的時間也不特別長，當菌液未經稀釋，或僅稀釋 2—4 倍時，Ehrlich 氏法的陽性率，並不比硝磺酸鈉法的陽性率高，因此我們初步認為用硝磺酸鈉法來測定菌液內的靛基質時的敏感度，近似於 Ehrlich 氏法。

(三) 硝磺酸鈉法與 Ehrlich 氏法應用於臨床細菌鑑定時的比較

取每管有 1 毫升的 Bacto-tryptone 液體培養基的試管，接種一金屬耳的待鑑定的細菌，置於 35—37°C 的恆溫箱內培養 10—40 小時，然後平分成 2 管，分別用硝磺酸鈉法及 Ehrlich 氏法測定菌液內有無靛基質存在。

從表 5 的結果，我們發現除 11 株綠膿桿菌外，以 Ehrlich 氏法測定靛基質陽性的 281 個菌株，用硝磺酸鈉法測定亦屬陽性，而用 Ehrlich 氏法測定沒有產生靛基質的 378 個菌株，用硝磺酸鈉法測定時，也是陰性結果，因此我們初步認為在臨床細菌學鑑定上是可以硝磺酸鈉法來代替 Ehrlich 氏法的。

表 5 硝磺酸鈉法與 Ehrlich 氏法應用於臨床細菌鑑定時的比較

菌 名	試驗方法 試驗結果 試驗菌株總數	Ehrlich 氏法		硝 磺 酸 鈉 法	
		陽性數	陰性數	陽性數	陰性數
大 腸 桿 菌	150	150	—	150	—
類 大 腸 桿 菌	98	63	35	63	35
副 大 腸 桿 菌	4	—	4	—	4
產 氣 桿 菌	12	—	12	—	12
富里德蘭氏肺炎桿菌	20	2	18	2	18
變 形 桿 菌	15	6	9	6	9
傷 寒 桿 菌	29	—	29	—	29
甲 型 副 傷 寒 桿 菌	18	—	18	—	18
乙 型 副 傷 寒 桿 菌	12	—	12	—	12
丙 型 副 傷 寒 桿 菌	4	—	4	—	4
腸 炎 沙 門 氏 菌	2	—	2	—	2
豬 霍 亂 沙 門 氏 菌	5	—	5	—	5
痢 疾 志 賀 氏 菌	3	—	3	—	3
蘇 耐 氏 志 賀 氏 菌	10	—	10	—	10
副 痢 疾 志 賀 氏 菌	214	29	185	29	185
不 定 志 賀 氏 菌	29	29	—	29	—
碱 性 志 賀 氏 菌	2	2	—	2	—
產 碱 糞 桿 菌	12	—	12	—	12
金 黃 色 葡 萄 球 菌	10	—	10	—	10
綠 膿 桿 菌	21	11	10	—	21

Sandiford 氏^[12]曾指出綠膿桿菌的綠膿素 (Pyocyanin) 與 Ehrlich 氏法試劑中的酸相互作用形成一種紅色物質，可造成假陽性的靛基質反應，我們曾試用 21 株綠膿桿菌，結果發現有 11 株產有綠色的綠膿桿菌菌液，加 Ehrlich 氏法試劑後，出現了紅色，而用

硝基酸鈉法測定時, 菌液內原來綠色消失, 靛基質反應呈陰性。由此可見綠膿桿菌的綠膿素, 不影響硝基酸鈉法的結果。

總 結

(一) 報告一種初步擬定的用硝基酸鈉、氫氧化鈉及醋酸等來測定細菌培養液中的靛基質的操作規程。

(二) 作者曾用 6 株現成產生靛基質的細菌的培養液及其稀釋液, 用硝基酸鈉法作靛基質試驗, 並以 Ehrlich 氏法作對照, 以測定其敏感度, 結果發現二者極為相近。

(三) 將硝基酸鈉法應用於臨床細菌檢驗與 Ehrlich 氏法比較時, 在 20 種細菌 (共計 670 株) 中除 11 株綠膿桿菌外, 其餘 Ehrlich 氏法陽性的 281 株細菌, 硝基酸鈉法也是陽性, 而 Ehrlich 氏法陰性的 378 株細菌, 硝基酸鈉法亦為陰性, 所以, 硝基酸鈉法的特殊性, 亦和 Ehrlich 氏法近似。

(四) 根據上述各試驗, 我們認為在臨床細菌鑑定中測定靛基質時, 硝基酸鈉法可以用來代替 Ehrlich 氏法。

與 Ehrlich 氏法比較時, 硝基酸鈉法顏色反應出現較快, 陽性反應和陰性反應的顏色相差很大, 易於辨別, 而且試劑價格較廉, 當菌液內靛基質含量較低時, 亦不需要加熱^[9]。

附註: 本文承劉秉陽教授指正, 特此致謝。

參 考 文 獻

- [1] 余 瀆: 細菌學, 第一版, 北京人民衛生出版社。421 頁, 1954 年。
- [2] R. H. A. Plimmer: *Organic and Biochemistry*, fifth edition, p. 355, 1933.
- [3] Difco Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures, eighth edition, U. S. A. p. 41, 1948.
- [4] Schaub and Foley: *Diagnostic Bacteriology*, fourth edition, p. 308, 1952.
- [5] Mark R. Evereth: *Medical Biochemistry*, second edition, p. 377, 1946.
- [6] Hopkins and Cole: *Jour. Physiol.* **29**: 451, 1903.
- [7] Herter: *Jour. Biol. Chem.* **4**: 253, 1908.
- [8] Salkowski: *Biochem. Zeitschr.* **97**: 123, 1919.
- [9] Carl R. Fellers and Ray W. Clough: *Jour. Bacteriol.* **10**: 105, 1925.
- [10] Frieber: *Centralbl. Bakt. Orig.*, **64**: 65, 1921.
- [11] R. H. A. Plimmer: *Organic and Biochemistry*, fifth edition, p. 358—359, 1933.
- [12] Topley and Wilson: *Principles of Bacteriology and Immunity*, third edition, p. 507, 1946.

A PRELIMINARY REPORT ON THE USE OF SODIUM NITRO-PRUSSIDE FOR DETECTION OF INDOL IN FLUID CULTURES OF BACTERIA AND ITS CLINICAL APPLICATION

WANG HUI

Department of bacteriology, Hunan medical college

(ABSTRACT)

A method for detecting indol in fluid cultures of intestinal bacteria by using sodium nitroprusside, sodium hydroxide, and acetic acid is described.

The fluid cultures and their dilutions of 6 stock strains of indol producing bacteria were used to determine the sensitivity of this method in comparison with the Ehrlich's method. It was found that the sensitivity of both methods is quite similar.

Both methods were used clinically in the examinations of bacteria. Among (670 strains of) 20 species of bacteria, with the exception of 11 strains of *Pseudomonas aeruginosa*, 281 strains were positive for both Ehrlich's method and this method concurrently, and 378 strains were negative for both Ehrlich's method and this method concurrently.

Basing on the findings above, we are of the opinion that this method can be used clinically to substitute the Ehrlich's method in detecting indol substance in the fluid cultures of bacteria.

In comparing with the Ehrlich's method, the color reaction of this method appears quicker, the difference of the color between the positive and negative reactions is more prominent, the reagents used in this method are less expensive, and unlike the Ehrlich's method, it does not need any heat to hasten the reaction, when the indol content of the fluid culture is low.