

# 检查细菌呼吸方式和运动性的一管多用鉴定培养基

姚玉虹 王晓燕 王宝玲 高瑞 王红 徐迪诚

(哈尔滨铁路中心医院 哈尔滨 150001)

**摘要** 自行研制一种检查细菌呼吸方式和运动性的一管多用鉴定细菌用培养基,可通过穿刺接种,37℃ 24~48h培养后在同一支高层培养基判定好氧性、厌氧性及运动性,经过接种临床常见40个菌属120个菌株的试验结果表明,该培养基有很好的实用性,其配方组成合理,材料易得,成本不高,质量稳定,使用简单,判定容易,可以省去厌氧菌培养检查器材和试剂,有助于提高细菌鉴定工作效率和质量。

**关键词** 培养基,一管多用功能,细菌鉴定

**分类号** Q93-335 **文献标识码** A **文章编号** 0253-2654(1999)-04-0274-04

## A NEW MEDIUM WITH MULTI-FUNCTIONS FOR DETERMINATIVE BACTERIOLOGY

Yao Yuhong Wang Xiaoyan Wang Baoling Gao Rui Wang Hong Xu Dicheng

(Harbin Railway Central Hospital, Harbin 150001)

**Abstract** A new bacterial determinative medium for type of respiration with high layered medium is inoculated microbes by a puncture. After culture in 37℃ and 24~48 hours three indices i.e. strict or facultative aerobic bacterial including 40 genera to totaling 120 strains. The results display that the medium served well. As the costs of its contents reasonable, the sources of the widely obtainable, were standardized, ingredient its use of widely, the results of test easily determined. Its use its quality easily the use of anaerobic equipment and reagents, its use improves the quality and efficiency in bacterial identification. So, we propose its routine use in determinative bacteriology for clinical specimen isolated.

**Key words** Bacterial media, Multi-functions in one culture medium, Bacterial identification

引起临床感染、院内感染和食物中毒的病原细菌和条件致病菌的种类繁多,涉及许多菌科、菌属和菌种。及时、准确地提供对它们的鉴定结果是各临床微生物实验室的主要任务。而细菌呼吸方式和运动性,是鉴定细菌不可少的生物学特征。为了不断提高细菌鉴定工作的效率和质量水平,节约试剂和器材,1997年以来,我们研制

出一种检查细菌呼吸方式和运动性的一管多用鉴定细菌用培养基,从而使细菌的好氧生长、厌氧生长与运动性试验三项分类鉴定指标能在同一支试管中观察。该培养基制备简单,材料易得,特异性好,质量稳定,已推广使用,通过国家

专业科研机构的鉴定。现报道如下:

法:

酪胨 17.0g(内蒙古海拉尔生物制品厂分析纯),大豆胨 3.0g(上海生化试剂厂分析纯),葡萄糖 6.0g(天津化学试剂厂分析纯),氯化钠 2.5g(哈尔滨化学试剂总厂分析纯),硫乙醇酸

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

一管多用鉴定细菌用培养基的组成及用

表1 不同菌种接种一管多用鉴定细菌用培养基的试验结果

菌种名称*	株数	37℃ 24~48h的生长特征			菌种名称*	株数	37℃ 24~48h的生长特征		
		好氧	厌氧	运动性		好氧	厌氧	运动性	
<b>肠杆菌科:</b>					<b>禽败血巴斯德氏菌 52901</b>				
大肠埃希氏菌 25922	1	+	+	-	多杀巴斯德氏菌	1	+	+	-
大肠埃希氏菌 44102	1	+	+	-	胎儿弯曲菌空肠亚种 2001	1	+	-	+
大肠埃希氏菌 44101	1	+	+	-	幽门弯曲菌	1	+	-	+
大肠埃希氏菌	10	+	+	-	嗜肺军团菌	3	+	-	+
肺炎克雷伯氏菌 46101	1	+	+	-	阴道加德纳氏菌	1	+	+	-
肺炎克雷伯氏菌 46104	1	+	+	-	猪布鲁氏菌	1	+	-	-
肺炎克雷伯氏菌	8	+	+	-	<b>革兰氏阴性球菌:</b>				
普通变形菌49001	1	+	+	+	淋病奈瑟氏菌 29106	1	+	-	-
奇异变形菌 49003	1	+	+	+	脑膜炎奈瑟氏菌	1	+	-	-
莫根氏莫菌	2	+	+	-	卡它布兰汉氏菌 20103	1	+	-	-
彭氏变形菌	2	+	+	+	<b>革兰氏阳性球菌:</b>				
弗氏柠檬酸杆菌 48001	1	+	+	-	藤黄微球菌 28003	1	+	-	-
无丙二酸柠檬酸杆菌	2	+	+	-	金黄色葡萄球菌 26001	1	+	-	-
弗氏志贺氏菌1.1868	1	+	+	-	表皮葡萄球菌 26069	1	+	+	-
宋氏志贺氏菌	11	+	+	-	肺炎链球菌 31001	1	+	+	-
伤寒沙门氏菌 50089	1	+	+	+	粪肠球菌	1	+	+	-
鼠伤寒沙门氏菌 50333	1	+	+	+	<b>革兰氏阳性杆菌:</b>				
鸭沙门氏菌 50083	1	+	+	-	单核细胞增生李斯特氏菌 54001	1	+	-	-
乙种副伤寒沙门氏菌	1	+	+	+	枯草芽孢杆菌 63501	1	+	-	+1
粘质沙雷氏菌 1.1857	1	+	+	+	蜡样芽孢杆菌 63301	1	+	-	+1
深红沙雷氏菌	5	+	+	+	解脲棒杆菌	1	+	+	-
小肠结肠炎耶尔森氏菌 52201	1	+	+	-	类白喉棒状杆菌 38201	1	+	+	-
鼠疫耶尔森氏菌(EV, MII)	2	+	+	-	奴卡氏菌	1	+	-	-
发光致病杆菌	2	+	+	-	<b>厌氧菌:</b>				
<b>弧菌科:</b>					乳杆菌 4356	1	-	+	-3
O1群霍乱弧菌 16004	1	+	-	-	小韦荣氏球菌 10790D	1	-	+	-3
非O1群霍乱弧菌 17007	1	+	-	-	放线菌 15987, 19246	2	-	+	-3
类志贺邻单胞菌	1	+	-	-	脆弱拟杆菌	2	-	+	-3
豚鼠气单胞菌	1	+	-	-	厌氧消化球菌	2	-	+	-3
嗜水气单胞菌	8	+	-	+	易变链球菌 25175	1	+	+	-3
<b>非发酵革兰氏阴性杆菌:</b>					双酶梭菌 64931	1	-	+	-3
铜绿假单胞菌 1.1785	1	+	-	+2	梭杆菌 13124	1	-	+	-3
荧光假单胞菌 1.1802	1	+	-	+2	<b>酵母样真菌:</b>				
葱头伯克霍尔德氏菌 1.1813	1	+	-	+2	白假丝酵母 2538	1	+	-	-
乙酸钙不动杆菌 1.2004	1	+	-	-	白假丝酵母	5	+	-	-
乙酸钙不动杆菌	3	+	-	-	平常假丝酵母 2.1799	1	+	-	-
<b>其他革兰氏阴性杆菌:</b>					新型隐球酵母 2.1562	1	+	-	-

注: +, 表示阳性结果, - , 表示阴性结果, +1: 表示25℃后阳性结果, 2: 表示用鞭毛染色法确定, 3: 表示用毛细管法确定, \*表示无菌种编号者为参考菌株。

钠 0.5g(北京市化工厂 分析纯), L-胱氨酸 0.1g(中科院生化研究所 分析纯), 酵母膏 5.0g(上海酵母厂 分析纯), 琼脂 1.3g(广州白云山制药厂 分析纯), 蒸馏水 1000mL。

加热溶解, pH7.2, 分装中试管。每支试管装量约为试管的 2/3,  $1.01 \times 10^5$  Pa 15min 灭菌, 置高层。然后, 置室温阴暗处避光保存, 勿放冰箱储存。

## 1.2 实验菌种

实验菌种包括两部分, 共 120 株: 其中标准菌株, 计 42 株, 由中国科学院微生物研究所、中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所、中国药品生物制品检定所及中国人民解放军 304 医院提供; 其余 78 株由辽宁省卫生防疫站及我院微生物实验室从标本中分离获得; 均经革兰氏阴性杆菌编码鉴定系列培养基进行编码鉴定, 菌株中一部分采用法国 BIOMÉRIEUX 的 API-20E, API-20NE, API-20ALX 及 FORTUNE 的 Automatic Bacterial Drug Sensitivity System 作出鉴定。实验菌种名称及株数见表 1。

## 1.3 方法

**1.3.1 接种培养:** 制好的一管多用鉴定细菌用培养基立即使用。如果用贮存的培养基, 应事先在 100℃ 水浴中加热 10min 驱氧, 迅速冷却后使用(不应二次加热)。接种时, 取各菌种在适宜平板或斜面培养基的 37℃ 18~72h 新鲜培养物—白金耳穿刺接种培养基, 然后置 37℃ 孵箱培养(如疑为耶尔森氏菌应同时用一管置 25℃ 培养)。

**1.3.2 关于一管多用鉴定细菌用培养基的特异性问题:** 将各菌种的 37℃ 18~24h(军团菌等生长缓慢者应延长至 72h) 穿刺培养物从孵箱取出, 参照以下特征判定结果。

**好氧(微需氧)生长:** 接种的菌株在表面生长为好氧性生长; 弯曲菌在距表面 2~3mm 处呈环状带生长为微需氧性生长。

**厌氧生长:** 接种的菌株在表层 5~10mm 以下或在管底部生长。

**兼性厌氧生长:** 接种的菌株在培养基各层接种线周围均见生长。

**运动性:** 由穿刺线上细菌的生长状况判定结果。呈线状生长的解释为缺乏运动性; 沿穿刺线向四周扩散生长的说明细菌具有运动性。好氧菌在生长 12~16h 后判定其运动性(军团菌等生长缓慢的于 72h 后判定), 结果无法判定时应作悬滴标本检查确定。检查厌氧菌的运动性时, 将培养物熔封于玻璃毛细管中, 然后立即用塑胶固定在载玻片上镜检观察, 排除分子运动或固有运动后方能确定。

**质控标准:** 好氧生长, 有运动性: 用铜绿假单胞菌 "10101 株。兼性厌氧生长, 有运动性: 用大肠埃希氏菌 "25922 株。厌氧生长, 有运动性: 用双酶梭菌 "64931 株。

**1.3.3 一管多用鉴定细菌用培养基的稳定性:** 将一批质控试验合格的培养基, 置室温用塑料袋密封保存, 每隔两个月从中任取 3 支分别接种质控用菌株, 37℃ 培养 24~48h 后观察生长状况, 并与新制备的培养基立即接种质控用菌株的试验结果对比观察。连续进行 6 次, 以确定培养基的稳定性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 一管多用鉴定细菌用培养基的实用性

当前, 细菌分类体系尚在不断完善之中, 但被各国广为采用者仍为《Bergey 氏系统细菌学手册》的分类系统。按该分类系统鉴定临床细菌, 好氧性、厌氧性及运动性是必做的生物学特征。我们将临床常见的好氧菌、厌氧菌及兼性厌氧菌与酵母样真菌, 涉及 40 个菌属 120 株菌, 穿刺接种所研制的一管所用鉴定细菌用培养基, 37℃ 培养 24~72h 后, 它们的好氧生长、厌氧生长及运动性如表 1 所列。结果充分表明, 在该培养基上, 37℃ 培养后的不同菌种都能表达各自原有的上述特征。因此, 一管多用鉴定细菌用培养基的实用性是可以肯定的。

### 2.2 一管多用鉴定细菌用培养基配方组成的合理性

在一管多用鉴定细菌用培养基中, 富含临床常见细菌生长的必需营养物质。其中所用酪类和酵母膏组合, 能支持许多致病菌与条件致

病菌生长发育。鉴于一般陈中硫氨基酸含量不足(如胱氨酸等),在培养基中我们加入了L-胱氨酸,这是该培养基的一个特点。

另外,在培养基中加入了硫乙醇酸钠。它是一种强还原剂,从而使培养基的氧化还原电势下降,为厌氧菌的生长发育创造了条件,培养基中加入的胱氨酸也同样起到还原剂作用。再者,在培养基中还含有少量琼脂,借此能保持一定的粘稠性,防止外界空气混入,也可间接地保持较低的氧化还原电势。所以,在一管多用鉴定细菌用培养基中,好氧菌能很好地在上部生长(微需氧菌在表层的稍下方生长),厌氧菌在下部或管底部才能生长,兼性厌氧菌在全管上下层次都能生长。运动性通过细菌在穿刺线的生长状况可以充分显示。

### 2.3 一管多用鉴定细菌用培养基的稳定性

将试验用培养基密封于塑料袋中,置室温阴暗处保存,每隔两个月从中取出3支,重复接种质控菌株,6次的实验结果与新制备培养基的反应结果证明互相符合。因此认为,该培养基在密封性良好的条件下保存一年后其质量稳定,仍可使用。

### 2.4 使用中应注意的问题

用于培养具有营养要求特殊的菌种,应补充营养成分。如:血红素等。

用此种培养基保存菌种时(尤其是发酵葡萄糖产酸的革兰氏阴性杆菌),要在培养基中按18mL加0.1g的比例补加碳酸钙,防止因酸度增高,细菌死亡。

使用贮存的此种培养基,必须煮沸加热,迅速冷却驱氧后使用。

该培养基也可用于临床血液、脑脊液、胆汁、深部脓肿等无菌穿刺液的增菌培养。但要除去其中的琼脂成分,仅按40~50mL的除琼脂培养基接种1mL标本的比例增大用量。

总之,我们制备的一管多用鉴定细菌用培养基,既可检查细菌的呼吸方式,又能同时检查运动性,对常见临床初步分离细菌的鉴定提供了方便条件,也有助于提高工作效率,具有广泛的实用性。特别是省去了专为厌氧菌培养检查需要专门配置的器材和试剂。由于它制备简单,成本不高,而且使用方便,判定容易,进一步推广应用必将产生良好的效益。

**致谢** 本研究承蒙日本国高知市民病院临床检查部藤田电明主任,中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所张树波教授、万超群教授及中国科学院微生物研究所周宇光副研究员,中国人民解放军304医院熊德鑫教授的热情指导和协助,并提出改进建议,在此表示衷心感谢。

### 参 考 文 献

- [1] 坂崎利一,吉崎悦郎,三木宽二.新细菌培地学讲座(第2版).东京:近代出版,1988,179.
- [2] Vera J. Bacteriol, 1954, 47~59.
- [3] 坂崎利一,他.细菌.真菌.原虫用培地(第四版).东京:日本制药株式会社,1987,129.
- [4] Barrow G I, Feltham R K I A. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria (3rd ed), Cambridge University Press, 1993, 105.
- [5] 徐迪诚,蔡妙英.革兰氏阴性杆菌新编码鉴定手册.哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1994.
- [6] Thomas. Microbiological Media. Scott Laboratories INC, 1989, 186.