

# 大肠杆菌在增菌培养基中的生长实验

滕宝霞<sup>1,2</sup> (1. 甘肃省药品检验所, 甘肃 兰州 730000; 2. 兰州大学生命科学学院, 甘肃 兰州 730000)

**摘要:**目的 观察大肠杆菌在增菌培养基中繁殖的差异。方法 通过不同来源大肠杆菌在三种增菌培养基中繁殖菌落数的比较, 及在固体培养基中菌落大小的比较和对数生长实验, 比较大肠杆菌在不同培养液中繁殖的差异。结果 大肠杆菌在硫乙醇酸盐液体培养基中繁殖的速度最快, 营养肉汤其次, 胆盐乳糖增菌液最慢。结论 大肠杆菌在营养肉汤、硫乙醇酸盐液体培养基、胆盐乳糖增菌培养基中, 培养 8h 菌的落数, 存在显著差异 ( $t$  测验,  $\chi^2$  测验)。

**关键词:** 大肠杆菌; 增菌培养基; 菌落; 生长实验

中图分类号: R927.3 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2005)05-0406-03

## The study of *Bacillus coli* breded in enriched culture

TENG Bao-xia<sup>1,2</sup> (1. Gansu Provincial Institute for Drug Control, Lanzhou 730000; 2. Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To display the difference of *Bacillus coli* which breded in different enriched culture. **METHODS** Compare the difference of *Bacillus coli* which breded in three kinds of enriched culture and solid medium. **RESULTS** The speed of growth with *Bacillus coli* was the fastest in sulphure ethanol sour salt culture, lower in nutrition meat soup culture and the lowest in BL. **CONCLUSION** There is significant deviation in coenobiums with *Bacillus coli* which breded in MH, FT and BL enrichment culture

作者简介: 滕宝霞, 女, 40 岁, 1988 年毕业于兰州大学, 在读博士, 副主任药师, 研究方向: 新药药理及微生物免疫。

for eight hours.

KEY WORDS: *Bacillus coli*; enriched culture; colony; coenobium growth

中国药典 2000 年版规定,检测大肠杆菌的增菌培养基采用胆盐乳糖,是因为胆盐能抑制革兰阳性细菌的生长,乳糖有利于肠道杆菌的生长,提高阳性菌的检出率<sup>[1]</sup>。大肠杆菌在不同增菌液中的生长、繁殖的速度存在显著差异<sup>[2]</sup>。

1 实验材料

1.1 培养基

胆盐乳糖增菌液 (BL),批号 980521;硫乙醇酸盐液体培养基 (FT),批号 981216;营养肉汤 (MH),批号 980607;三种培养液琼脂培养基,在其液体培养基中加入 2%琼脂;伊红美蓝琼脂培养基,批号 980626;均购于中国药品生物制品检定所。

1.2 菌种

大肠杆菌 [CMCCB 44102,大<sub>44102</sub>]由中国药品生物制品检定所提供;大<sub>1</sub>、大<sub>2</sub>由食品中分离;大<sub>3</sub>、大<sub>4</sub>由大鼠粪便中分离,大<sub>5</sub>、大<sub>6</sub>由药品中分离。均在 EMB 平板上为紫黑色、圆形、凸起、光滑湿润,有金属光泽。均发酵乳糖,产酸,产气、IMVIC 为 ++-- ,大<sub>44102</sub>、大<sub>1</sub>、大<sub>2</sub>、大<sub>3</sub>及大<sub>4</sub>的 MUG 荧光强度为 (+++),大<sub>5</sub>为弱荧光(++) ,大<sub>6</sub>无荧光。

2 实验方法与结果

2.1 菌悬液制备

取各大肠杆菌斜面上的菌苔一白金耳,分别接种于 9mL 营养肉汤培养基中,培养 18h,用生理盐水稀释成每 1mL 含 50~100CFU。

2.2 菌落数的比较实验

取 50~100CFU 的菌悬液,分别加入 10mL 的三种增菌液中。于 37℃培养 8h,用生理盐水稀释成 1:100,分取 0.1mL 用 L 棒涂于 EMB 培养基上,于 37℃培养 18h,计数。结果见表 1。

2.3 菌落大小的比较实验

取 50~100CFU 菌悬液 0.1mL 用 L 棒涂于三种增菌液琼脂培养基上,于 37℃培养 18h,测量菌落直径。结果见表 2。

2.4 对数生长实验

取 50~100CFU 菌悬液分别加入 10mL 的三种增菌液中,于 37℃培养 6,12,18h,稀释成适宜浓度,取 0.1mL 用 L 表 3 大肠杆菌在三种增菌液中的对数生长实验

Tab 3 The comparative experiment about the logarithmic growth of *Bacillus coli* in three kinds of enrichment culture liquid

菌种	BL			MH			FT		
	6	12	18	6	12	18	6	12	18
大 <sub>44102</sub>	7.24 ±2.13	8.25 ±3.14	9.34 ±3.45	7.19 ±2.56	8.21 ±2.02	9.40 ±3.22	7.24 ±2.30	8.64 ±2.89	9.66 ±3.24
大 <sub>1</sub>	7.24 ±1.89	8.30 ±2.98	9.21 ±3.41	7.30 ±2.55	8.36 ±2.65	9.32 ±2.96	7.31 ±2.12	8.56 ±2.46	9.41 ±2.99
大 <sub>2</sub>	7.26 ±2.01	8.21 ±3.05	9.32 ±3.22	7.28 ±2.16	8.30 ±2.44	9.21 ±3.33	7.32 ±2.56	8.54 ±2.38	9.53 ±3.24
大 <sub>3</sub>	7.04 ±2.11	8.12 ±2.67	9.30 ±2.98	7.15 ±2.47	8.21 ±2.61	9.35 ±3.26	7.29 ±2.46	8.39 ±2.42	9.47 ±3.64
大 <sub>4</sub>	6.58 ±2.09	7.35 ±2.77	9.45 ±3.01	6.91 ±2.61	7.96 ±2.34	9.04 ±3.24	7.10 ±2.03	8.35 ±2.65	9.58 ±3.58
大 <sub>5</sub>	6.66 ±2.12	7.69 ±2.87	8.27 ±2.96	6.90 ±2.63	8.06 ±2.18	9.31 ±3.01	7.20 ±2.43	8.26 ±2.37	9.46 ±2.56
大 <sub>6</sub>	6.89 ±2.54	7.56 ±3.21	8.65 ±3.45	7.12 ±2.34	8.26 ±2.03	9.10 ±2.96	7.32 ±2.19	8.22 ±2.06	9.35 ±3.07

注:数据为 10 个平皿菌落数的平均值,与 BL 组比较,\* P<0.05,\*\* P<0.01

Note: Rustle was average number of ten cultue plates, compared with the BL group,\* P<0.05,\*\* P<0.01

棒涂于三种增菌液琼脂培养基上,于 37℃培养 18h,计数。取常用对数。结果见表 3。

表 1 大肠杆菌在三种增菌液中 8h 菌落数的比较实验

Tab 1 The compatative experiment about the number of *Baoillus coli* colony in three kinds of enrichment culture liquid in 8 hours

菌种	BL	MH	FT
大 <sub>44102</sub>	140 ±17	154 ±19	176 ±23*
大 <sub>1</sub>	171 ±26	198 ±25	206 ±27
大 <sub>2</sub>	182 ±22	184 ±30	210 ±35*
大 <sub>3</sub>	110 ±19	141 ±21*	196 ±26**
大 <sub>4</sub>	137 ±9	182 ±12*	196 ±18*
大 <sub>5</sub>	46 ±8	80 ±13*	94 ±26*
大 <sub>6</sub>	78 ±15	131 ±16**	208 ±23**

注:数据为 10 个平皿菌落数的平均值与 BL 组比较,\* P<0.05,\*\* P<0.01

Note: Result was average number of colony in ten culture-plates, compared with the BL group,\* P<0.05,\*\* P<0.01

表 2 大肠杆菌在三种增菌液的固体培养基中菌落大小的比较实验 (mm)

Tab 2 The comparative experiment about the size of *Baoillus coli* colony in three kinds of solid medium (mm)

菌种	BL	MH	FT
大 <sub>44102</sub>	1.7 ±0.2	1.9 ±0.3	2.2 ±0.6
大 <sub>1</sub>	1.9 ±0.3	1.6 ±0.4	2.2 ±0.5
大 <sub>2</sub>	1.7 ±0.2	1.6 ±0.4	2.0 ±0.7
大 <sub>3</sub>	1.6 ±0.2	1.7 ±0.6	2.1 ±0.4*
大 <sub>4</sub>	1.3 ±0.4	1.8 ±0.5*	2.4 ±0.5*
大 <sub>5</sub>	1.7 ±0.5	1.7 ±0.3	2.0 ±0.6
大 <sub>6</sub>	1.4 ±0.3	1.8 ±0.4*	2.1 ±0.5**

注:数据为 10 个菌落直径 (mm) 的平均值,与 BL 组比较,\* P<0.05,\*\* P<0.01

Note: Rustle was average number of ten culture plates, compared with the BL group,\* P<0.05,\*\* P<0.01

### 3 讨论

通过对不同来源大肠杆菌在三种增菌培养基中培养 8h 的菌落数、菌落大小和生长速度进行了对比实验,采用  $t$  测验<sup>[3]</sup>,比较 MH、FT 与 BL 增菌培养基对同一株大肠杆菌生长影响的差异程度;采用  $\chi^2$  测验,比较 MH、FT 与 BL 增菌培养基对大肠杆菌生长影响的差异程度。结果,大肠杆菌在 MH、FT 与 BL 增菌培养基中培养 8h 的菌落数,存在显著差异 ( $t$  测验,  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ;  $\chi^2$  测验,样本  $\chi^2 > \chi^2_{(1)} 0.05$ , 样本  $\chi^2 > \chi^2_{(1)} 0.01$ )。大肠杆菌在 FT 固体培养基中菌落大小与 BL 固体培养基比较,存在显著差异 ( $\chi^2$  测验,样本  $\chi^2 > \chi^2_{(1)} 0.05$ )。药品中污染的大肠杆菌因受到原料的处理、干燥、加温等加工过程的影响,存活的细菌受到不同程度的损伤,对于合成生产或半合成生产的药品,污染肠道杆菌的几率小,由于胆盐乳糖增菌液中含有选择性抑菌成分,往往不易获得阳性结果,将样品接种无选择性的增菌培养基中,如 MH 和 FT,进行培养,使受损

伤的细菌得以恢复,少量污染菌也能迅速增殖<sup>[4,5]</sup>。在口服制剂大肠杆菌检验中应合理选择培养液。

### 参考文献

- [1] 郑钧镛,王光宝.药品微生物学及检验技术[M].北京:人民卫生出版社,1989,15,286.
- [2] 滕宝霞.硫乙醇酸盐液体培养基在口服药品制剂控制菌检验中的应用[J].西北药学杂志,1997,12(2):75.
- [3] 周海钧.生物检定统计方法[J].北京:人民卫生出版社,1988,50-56.
- [4] 滕宝霞,张晓明,王锐,等.长时间放置药品中大肠杆菌的稳定性和检出率[J].现代应用药学,1997,14(1):45.
- [5] 马绪荣.大肠杆菌沙门氏菌增菌方法的研究[J].中国药事,1993,7(增刊):4.

收稿日期:2003-12-25