

# 裂解气相色谱法对不同株的肠膜状明串珠菌的鉴别

丁锡申 阎安庄 杨培珍

(卫生部药品生物制品检定所,北京)

近年来,裂解气相色谱法已成为一种灵敏、快速、简单而又特异的新技术,它已日益广泛地应用于检出和鉴别微生物。Reiner 等<sup>[1]</sup>制作并研究了数千份生物、医学材料的裂解色谱图,他们的结论是各图谱均存在 3—5 个可作为鉴别依据的“特征峰”。国内,周方<sup>[2]</sup>亦发表了八种杆菌的裂解色谱结果。

本文对肠膜状明串珠菌(下称 L. m 菌)的两个菌株(L. m 2 号和 L. m 1226 号)进行了裂解色谱分析,得到的色谱图中特征峰有明显差别,而且可以重复,从而完成了对 L. m 菌的两个菌株的鉴别工作。鉴别结果汇报如下。

## 材料与方 法

### 一、仪器设备与实验条件

SP-2305 气相色谱仪(全型);管式炉裂解器(LJ-001 型);裂解温度 650℃;载气用纯氮气,流量 25ml/分;燃气用氢气,流量 25ml/分;助燃气用压缩空气,流量 350ml/分。螺旋形不锈钢色谱柱长 2m,内径 4mm,填充物为 407 有机担体(80—100 目)。记录纸速 5mm/分。放大器衰减位置为 1/4。氢火焰电离鉴定器温度 200℃,以上仪器设备均为国产。

汽化室温度 200℃,柱箱采用程序升温,起

始温度 100℃,进样 3 分钟后以 6℃/分的速率升至 200℃,终温保持 15 分钟。每份样品分析 5 次以上,每次测定分别称取 L. m2 及 L. m1226 冻干菌粉 500—600 μg,在严格一致的实验条件下放入白金舟,推入裂解炉中裂解。将得到的图谱依峰出现的先后顺序编号,找出“指纹区”及“特征峰”,进行鉴别比较。

### 二、菌种

菌株 L. m2 号和 L. m 1226 号,均由中国医学科学院输血及血液学研究所供给。

### 三、菌体制备

培养基:1% 蔗糖(市售白砂糖),0.5% 蛋白胨(503 型),0.15% 磷酸氢二钠,pH 7.0—7.2。

将上述培养基制成培养液,经希氏漏斗过滤,10 磅 20 分钟灭菌,备用。将待测菌株(L. m2 号和 L. m 1226 号)分别接种于上述培养基,25℃ 培养 24 小时,转种,连续传 3 代,最后扩大到三角瓶,25℃ 培养 24 小时,取出以 3000 rpm 离心 20 分钟,弃上清液,用适量生理盐水洗涤菌体两次。菌体加适量蒸馏水分装安瓿,冻干备用。

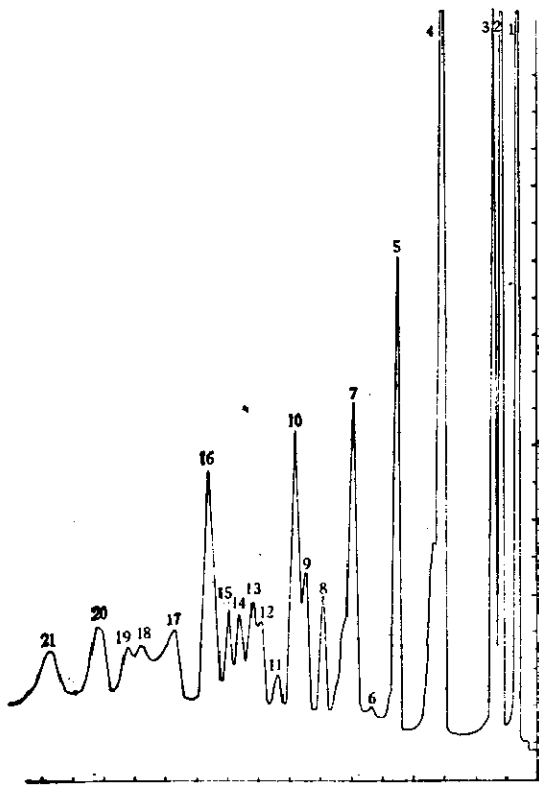


图 1-a LM2

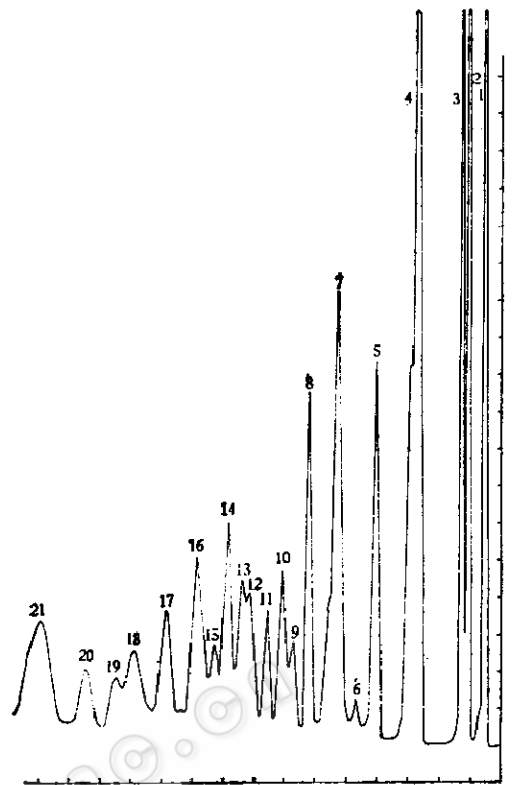


图 2 LM1226

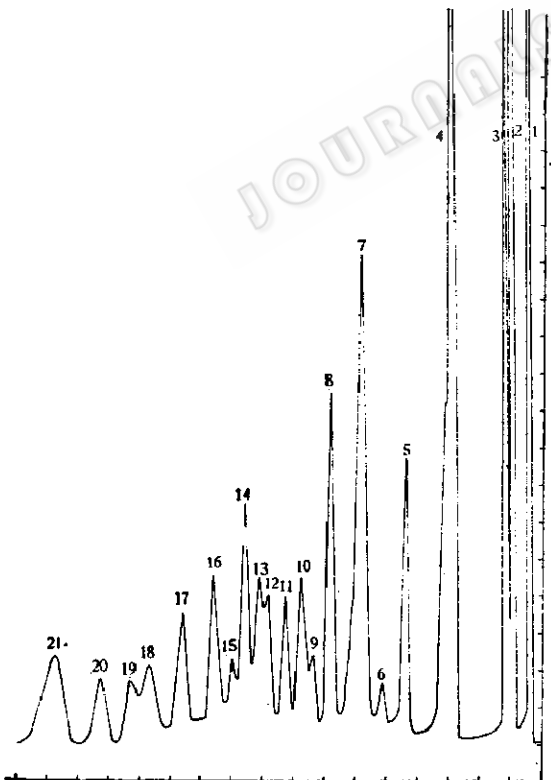


图 1-b LM1226

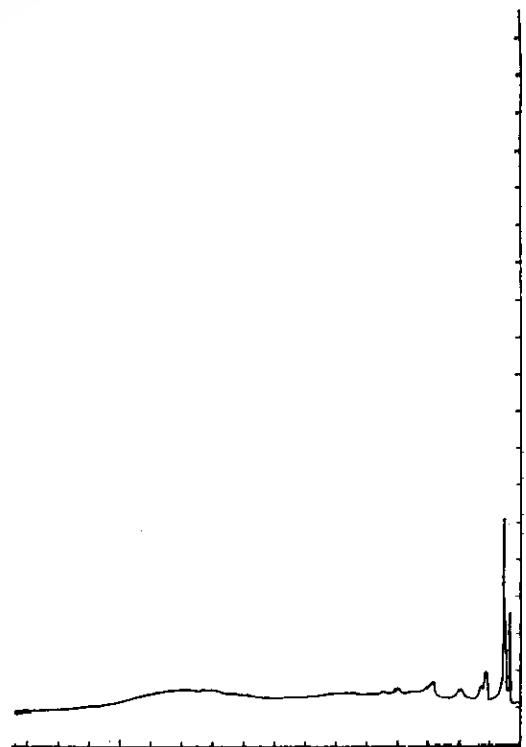


图 3 培养基沉淀物色谱图

# 结果与讨论

## 一、两菌株裂解图谱(见图 1-ab, 2)

由图 1 可见, 8 峰; 9、10 和 11 峰; 14 和 15 峰三组峰的峰高比例差别明显, 是 *L. m* 2 号和 *L. m* 1226 号菌株的“特征峰”。*L. m* 1226 号菌株的第 8 峰明显高于 *L. m* 2 号菌的第 8 峰。两株菌的第 9、10、11 峰和 14、15 峰的峰高比例差异悬殊。经过反复操作, 上述特征峰均稳定、重复性好(见图 1-b, 2)。

## 二、培养液沉淀物对色谱图的影响

试验用的培养液在配制后, 常出现微量絮状沉淀, 此沉淀物对色谱图有无干扰, 用收集菌

体的方法收集了沉淀。烘干后, 称取 500—600  $\mu\text{g}$ , 按菌体裂解法进行色谱分析。结果表明, 此沉淀物的色谱峰甚微弱, 对 *L. m* 菌株的特征峰并无干扰(见图 3)。

经典的细菌鉴别法是以该菌的形态、生化特性、血清学等为依据的, 但鉴别同种菌的不同株, 耗时多, 亦难得到满意结果。从本文管炉式裂解气相色谱系统的鉴别结果看, 今后如何用仪器分析方法鉴别微生物, 乃是一项新的、有价值的研究课题。

## 参 考 文 献

- [1] Reiner, E. et al.: *J. Chromatogr. Sci.* **16**(12): 623, 1978.
- [2] 周方: *微生物学通报*, **7**(3): 136, 1980.