

含 A 蛋白金黄色葡萄球菌菌株比较和培养基的选择

赵炳华 严菊英

(浙江省卫生防疫站, 杭州)

自发现金黄色葡萄球菌 A 蛋白 (SPA) 借 Fc 段与 IgG 结合的功能以来^[1], 除用协同凝集和吸收试验作受检细菌或病毒分型、检出 IgM、IgA 抗体以外, 还结合 A 蛋白同位素或荧光素标记、A 蛋白标记红细胞或标记塑料平皿等技术^[2], 广泛用于微生物学、免疫学以及细胞表面抗原分析等方面的实验研究。这些研究均需 SPA 菌液或纯品 A 蛋白。近年来, 我们在自制 SPA 菌液过程中, 就不同菌株和培养基作了一些比较试验。现将比较结果报道如下。

材 料 和 方 法

一、SPA 菌株和参考菌液

SPA No.1800 株由本站中心实验室菌种库供给, Z5 株由成都生物制品所供给。

SPA 参考菌液, 批号 80-009CD, 购自上海生物制品研究所。

二、培养基

用下列各厂、牌的试剂, 按不同组合制备下列六种培养基(见表 1)。

调 pH 至 7.4, 按常规高压蒸气灭菌。每个扁瓶 100ml 分装平放。

三、菌液制备

SPA 菌种接种培养基、菌苔收获、洗涤和制备, 与一般文献报道基本相同^[2]。本试验均用灭菌生理盐水配制不同批的 10% (V/V) SPA 菌液, 并加入叠氮钠 (NaN₃, 最终浓度为 1:1000) 4℃ 保存备用。临用前, 再用生理盐水洗涤、离心 (2000 rpm 20 分钟) 一次, 仍配成 10% SPA 菌液使用。

四、乙型脑炎诊断血清的处理和 SPA 吸收梯度试验

乙型脑炎诊断血清: 由成都生物制品研究所提供。按常规用高岭土-鹅红细胞吸收处理^[3], 分为二份, 一份作常规血凝——抑制 (HI) 试验, 作为对照。

另一份用于 SPA 吸收梯度试验: 将 10% SPA 菌液按 0.1、0.3、0.5、1.0 (有时作到 2.0) ml 量, 分别注入各试管内, 离心去上清。各管内再加入已经处理过的乙型脑炎诊断血清 0.4

表 1 六种培养基的配方

试 剂 名 称	培 养 基 配 方 及 用 量 (g)					
	I	II	III	IV	V	VI
琼脂 (BR, 惠安化工厂)						10.0
营养琼脂 (上海医化所)	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	
胰蛋白胨 (tryptone, Oxoid 牌, 英国产)	2.0	2.0	1.0			
兽肉酵素分解物 (GAobo, 日本产)			1.0	2.0		
多聚肽 (polypeptone, KD260A, 日本产)						10.0
牛肉膏 (BR, 上海市牛奶公司综合厂)						2.5
牛肉浸膏 (BR, Oxoid 牌)	1.0					
牛肉浸膏 (BR, 成都市牛奶供应公司管理部)		1.0	1.0	1.0	1.0	
NaCl						2.5
20% 葡萄糖液 (后加)	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
蒸馏水 (ml)	100	200	200	200	200	500

ml。室温振摇 30 分钟后,再离心沉淀,上清液即为 SPA 吸收处理后的乙型脑炎诊断血清,与对照血清平行作 HI 试验。

结果与讨论

一、SPA 不同菌株和不同批号菌液比较

SPA No.1800 株与 Z5 株,分别按培养基 II 制成 10% 菌液,两者对乙型脑炎诊断血清 HI-I_gG 抗体的吸收梯度见表 2、3。

表 2 不同菌株 SPA 菌液对乙型脑炎诊断血清的吸收梯度比较

菌 株	10% SPA 菌液量 (ml)				对 照
	0.1	0.3	0.5	1.0	
No. 1800	640	<10	<10	<10	640
Z5	640	160	40	<10	640

* 表内数字为乙型脑炎诊断血清 HI-I_gG 抗体滴度的倒数。以下各表皆同。

由表 2 可见,10% No. 1800 株 SPA 菌液 0.3 ml 即可吸收乙型脑炎 HI-I_gG 抗体滴度由 1:640 降至 <1:10,而 10% Z5 株 SPA 菌液则需用 1.0 ml。No. 1800 株所产 A 蛋白的非特异性结合 I_gG 的效果明显优于 Z5 株。即使用同一培养基制成的不同批号 Z5 株菌液,吸收效果也不同。例如 Z5 株 701 批号 SPA 菌液要用 1.0 ml,618 批号菌液要用 2.0 ml,才能使乙型脑炎诊断血清 HI-I_gG 抗体滴度降至 <1:10 (见表 3),而 No.1800 株不同批号菌液则无此现象。由此可见,不同的 SPA 菌株,其 A 蛋白产量及稳定性各有差异^[2,4]。本试验证明以 No.1800 株制备的 SPA 菌液为好。

表 3 Z5 株不同批号 SPA 菌液吸收梯度比较

菌液批号	10% SPA 菌液量 (ml)					对 照
	0.1	0.3	0.5	1.0	2.0	
Z5 701 批	640	160	40	<10	<10	640
Z5 618 批	1280	640	640	80	<10	1280

二、不同培养基制备的 SPA 菌液比较

用六种培养基制备的 No.1800 株 SPA 菌液

中,含有胰蛋白胨的培养基 I、II、III 制成的 SPA 菌液,用 0.3 和 0.5 ml 即可使乙型脑炎诊断血清 HI-I_gG 抗体滴度降至 <1:10 (见表 4)。相反,不含胰蛋白胨的培养基 IV、V 制成的 SPA 菌液,要用 1.0 ml 才能使乙型脑炎诊断血清 HI-I_gG 抗体滴度降至 <1:10,而培养基 VI 制成的 SPA 菌液,即使用 1.0 ml 也只能使该血清 HI-I_gG 抗体滴度降至 1:160 (见表 4)。

表 4 不同培养基制备的 No.1800 株 SPA 菌液吸收效果比较

培养基	10% SPA 菌液量 (ml)				对 照
	0.1	0.3	0.5	1.0	
I	160	10	<10	<10	640
II	320	<10	<10	<10	640
III	160	20	<10	<10	320
IV	320	160	20	<10	640
V	640	160	40	<10	640
VI	320	320	320	160	640

SPA 菌株 A 蛋白的产量与所用培养基有关^[4]。上述结果表明,直接用营养琼脂和胰蛋白胨,按培养基 I、II、III 配方制备 SPA 菌液效果好,方便易行,比用 CCY 培养基^[2]或胰酶消化大豆肉汤^[4]容易购取或制备。

三、培育温度和收取菌苔的特征与 A 蛋白含量的关系

SPA 菌株 A 蛋白的产量,除接种时菌液浓度要合适外^[2],也随培育温度不同而有差别^[4]。据我们的试验发现,以 33℃ 和 37℃ 培育的菌苔制成的 SPA 菌液,两者 A 蛋白含量无甚差别,但收获菌苔时要注意菌苔表面特征。凡表面润滑,有光泽,此菌液的 A 蛋白含量就丰富;若培育过久,菌苔表面有绉纹,变粗糙,失去光泽,则 A 蛋白含量下降以至消失(见表 5)。

四、自制与商售参考 SPA 菌液比较

用自制的 No.1800 株 SPA 菌液和生物制品研究所生产供应的 SPA 参考菌液作吸收梯度比较,结果各用 0.5 ml SPA 菌液,均可使乙型脑炎诊断血清 HI-I_gG 抗体滴度由 1:640 降至 <1:10。

若以培养基 II 配制 1000 ml 培养基,以平均收取制成 10% SPA 菌液 200 ml 计算,每毫升

表 5 菌苔表面特征与 A 蛋白含量的关系

菌苔表面特征	10% SPA 菌液量 (ml)					对照
	0.1	0.3	0.5	1.0	2.0	
润滑,有光泽	160	<10	<10	<10	<10	320
粗糙,有皱纹	320	320	320	320	320	320

菌液的成本约为 5 分,加上水、电、器材等消耗,每毫升需资 2 角左右。为进行血清流行病学调查工作提供了自制 SPA 菌液的简便方法,既省

钱又易行。

参 考 文 献

- [1] Forsgren, A. and J. Sjoquist,: *J. Immunol.*, **97**: 822—827, 1966.
- [2] Going, J. W.: *J. Immunol. Methods.*, **20**: 241—253, 1978.
- [3] Clarke, D. H. and J. Casals,: *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, **7**: 561—573, 1958.
- [4] Cohen, S. and H. M. Sweeney,: *J. Bacteriol.*, **140**: 1028—1035, 1979.