

绿脓杆菌新血清型菌株

陈清馥 柴志振 杨学海

(黑龙江省应用微生物研究所, 哈尔滨)

在进行绿脓杆菌血清型的研究中^[1], 分离到一株与绿脓杆菌 11 个分型血清不发生交叉凝集的绿脓杆菌菌株。通过鉴定证明是一株新血清型菌株。现报道如下。

材 料 和 方 法

1. 菌株来源: 系于上海瑞金医院烧伤科烧伤患者感染创面脓汁分离。本所编号 P742。

2. 分型血清: 绿脓杆菌 11 个分型血清由本研究室制备。

3. 细胞形态学特点: 观察革兰氏染色情况, 菌体大小, 菌体排列及染色均匀性等。

4. 菌落形态学特性, 在血液琼脂、普通琼脂培养基上观察菌落大小、形态、高低、光泽、边缘、稠度、臭味等。

5. 乙酰胺酶的产生试验: 绿脓杆菌的乙酰胺酶活性, 是该菌鉴定的重要条件, 而且是非常有效的^[2]。用此法可进一步确定绿脓杆菌。

培养基成分: K_2HPO_4 2g, NaCl 5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1g, CH_3CONH_2 1g, 蒸馏水 1,000 ml,

pH 6.8, 在小试管中分装 1 ml, 15 磅灭菌 25 分钟。

试验方法: 在培养基中接种琼脂斜面培养物一白金耳, 置 37℃ 培养 6 小时, 滴加奈氏试剂一滴, 立即产生红褐色沉淀为阳性结果, 被检菌即为绿脓杆菌。

奈氏试剂配制: HgCl₂ 2.5 克加蒸馏水 6ml, 加热溶解。KI 1g 溶于 6ml 蒸馏水中, 将两者混合起来。KOH 6g 溶于 6ml 蒸馏水中, 并将其加到前面的溶液内, 再加蒸馏水 17 ml (全量共 5ml) 于冰箱保存备用。用前过滤。

6. 血清学鉴定

绿脓杆菌菌落有解离现象^[3], 经肉汤连续 4 次传代, 划线于琼脂平板上置 37℃ 培养 48 小时以上, 能生成大 (La 型) 小 (Sm 型) 两种菌落。作凝集原和免疫原必须选取 La 型菌株。

(1) 与 11 个分型血清的凝集试验: 将 P742 号菌的 La 型菌株制成凝集原, 用玻片凝集法进行凝集反应^[1]。有明显凝集颗粒者为阳性结果, 呈均匀混浊状态为阴性结果。

(2) P742 菌株的免疫血清与 11 个代表株的凝集试验:

将 P742 菌株的 La 型菌制成免疫原, 免疫家兔制备血清^[1]。用该血清与 11 个代表株的“O”凝集原。以玻片凝集法进行凝集反应, 观察凝集反应结果。

7. 生理学和生物化学试验:

(1) 色素产生试验: 将 P742 菌株接种在普通琼脂、血液琼脂及产生色素培养基上观察色素产生与否。近年来由于临床上大量应用抗生素特别是氯霉素, 容易抑制色素的产生, 应用 King 氏产生色素培养基^[4], 可使色素重新产生。在该培养基上绝大多数菌株产生萤光色素和可溶的吩嗪色素、绿脓青素。King 培养基分 A 和 B 两种:

将两种培养基在 121℃ 25 分钟高压灭菌后, 凝成斜面或平板, 用时接种纯培养的被检菌, 观察有无色素产生。只有绿脓杆菌产生色素, 其他菌不产生。

(2) 溶血现象: 在血液琼脂培养基上观

察。

(3) 氯化钠耐受: 接种于 3% 氯化钠肉汤管中, 置 37℃ 培养 7 天, 观察生长情况。

(4) 42℃ 生长: 接种于普通琼脂斜面上, 放 42℃ 培养观察生长情况。

(5) 生化鉴定: 各种生化培养基按 Edwards & Ewing^[5] 的方法制备, 糖分解观察 14 天, 明胶液化观察一个月。

试验结果

(一) 菌体形态学特性

P742 菌为革兰氏阴性杆菌, 菌体直形偶尔有弯曲状, 二端圆形、菌体内无颗粒形成, 大多着色均匀, 菌体排列不整齐, 散在单独存在, 无荚膜、无芽胞, 极端单鞭毛, 菌体大小为 0.5 × 1.5 μm。

(二) 菌落形态学特性

在血液琼脂平板上为中等大小, 表面粗糙, 向四周游走生长, 边缘不整齐。在普通琼脂平板上, 培养 48 小时解离成大小两种菌落, 大菌落表面粗糙, 无光泽, 偏平呈山脉状, 边缘不整齐。小菌落表面光滑有光泽, 凸起伏, 圆形, 边缘整齐。在血液琼脂及普通琼脂平板上有生姜味。

(三) 血清学鉴定结果

P742 菌的“O”凝集原与绿脓杆菌 11 个分型血清不发生交叉凝集反应; P742 菌的免疫血清与绿脓杆菌 11 个代表株的“O”凝集原也不发生交叉凝集反应。

(四) 乙酰胺酶的产生试验结果

将 P742 菌株接种于乙酰胺酶产生试验培养基中, 37℃ 培养 6 小时, 滴加奈氏试剂一滴立即产生红褐沉淀, 证明有乙酰胺酶产生。

(五) 色素产生试验结果

在血液琼脂、普通琼脂及 King A 和 B 培养基上, 均有绿色色素产生。

(六) 生理学及生物化学试验结果

生理学及生物化学反应结果如表 1 所示: 由表可以看到该菌为氧化酶阳性, 对各类糖均不分解、液化明胶、在枸橼酸盐培养基上生

表 1 P742 菌株生化性质

	P742		P742
葡萄糖	-	甲基红	-
麦芽糖	-	靛基质	-
乳糖	-	VP 反应	-
鼠李糖	-	尿素酶	+
木糖	-	明胶液化	+
蔗糖	-	硝酸盐还原	+
甘露醇	-	H ₂ S 产生	-
枸橼酸钠	+	动力	+
枸橼酸铵盐	+	溶血	(+)
肌醇	-	42°C 生长	+
阿拉伯糖	-	氧化酶	+
烟金盏花肾醇	-	3% NaCl 生长	+

(+)微溶血

长, 在 42°C 及 3% 氯化钠培养基上生长良好, 还原硝酸盐。

小 结

P742 菌株为革兰氏阴性杆菌。生理生化学试验结果表明, 与绿脓杆菌的生理生化特性相符, 有乙酰胺酶产生。该菌株的“O”凝集原与绿脓杆菌 11 个分型血清不产生交叉凝集; 该菌株的免疫血清与绿脓杆菌 11 个型代表株的“O”凝集原也不产生交叉凝集反应。鉴定证明 P742 菌株为我国的绿脓杆菌新血清型菌株。从而我国绿脓杆菌的血清型由 11 个型增加到 12 个型。

参 考 文 献

- [1] 黑龙江省应用微生物研究所: 微生物学报, 19(2): 213-217, 1979。
- [2] 五岛瑛智子: 日本细菌学杂志, 27(5): 621, 1972。
- [3] 盐野谷博: 日本细菌学杂志, 23(5): 332, 1968。
- [4] 本间透: 绿脓杆菌とその感染症, 第 1 版, 29, 1975。
- [5] 郝士海等译: 肠道细菌科鉴定, 1972。