

鉴别脑膜炎球菌用的半固体糖发酵管

我们曾将黄豆浸液玉米淀粉抗菌素培养基用于脑膜炎球菌的培养,效果很好。在1976和1983年对健康人群脑膜炎球菌带菌调查时,将黄豆浸液玉米淀粉配制制成半固体糖发酵管,鉴别脑膜炎球菌结果仍较满意。

半固体糖发酵管的培养基制备方法是:(1)基础培养基(g):胰酪6,脉酪6,氯化钠3,牛肉膏3,琼脂3,蒸馏水800ml,加热溶化。(2)玉米淀粉液:玉米淀粉3g(或玉米粉5g),用10ml蒸馏水拌成糊状,再用90ml煮沸的蒸馏水边倒边搅拌,微沸后备用(如用玉米粉需双层纱布过滤)。(3)黄豆浸出液:黄豆20g,加水200ml,加氯化钠20g,浸泡数小时,放入阿诺氏灭菌器灭菌1小时,取出后放入冰箱过夜,取上清液100ml。

将(2)和(3)培养基一并倒入溶化的(1)培养基内混匀,调pH7.2—7.4。再将混合培养基等量分成4份,分别加入葡萄糖、麦芽糖、果糖和蔗糖各1.5g,2%酸性复红1.25ml,混匀,按每管约2ml分装于试管(10×100mm)内,灭菌备用。

将调查时分离到的32株脑膜炎球菌(A群2株,B群30株)经卵黄双抗平板纯培养后,刮取菌苔,接种在半固体糖发酵管内(离液面三分之一处),37℃培养(勿需CO₂环境)8和18小时进行观察。

结果除1株(B群)延至48小时发酵葡萄糖和麦芽糖产酸外,其余均在18—24小时发酵糖产酸,同时出现发酵葡萄糖的时间稍迟于麦芽糖,有1株(B群)只发酵麦芽糖而不发酵葡萄糖的现象。发酵麦芽糖和葡萄糖的变色范围

多在半固体糖发酵管液面下的三分之一处,显微红色。如果发酵管内菌落生长量多,培养基全部呈红色,说明已被杂菌污染。为了促使脑膜炎球菌的生长,缩短糖发酵时间,我们参照Berger^[1]的作法,将半固体糖发酵管氯化钠的浓度提高到0.8%左右。

本文介绍的黄豆浸液玉米淀粉半固体糖发酵管和糖平板及血清半固体糖发酵管比较,虽然结果基本相符,但它反应灵敏,出结果快,而且取材方便,制备容易。一般认为脑膜炎球菌必须在含有天然动物蛋白(血液、血清、腹水及鸡蛋)的培养基上才能生长,而本文用半固体糖发酵管培养,其结果与含动物蛋白的培养基培养相同。说明半固体糖发酵管中的黄豆蛋白可以代替动物蛋白。由于脑膜炎球菌对麦芽糖和葡萄糖的发酵能力较弱,所产的酸只能使培养基的pH7.0下降至6.0,所以要求使用的指示剂要灵敏。本实验中使用的酸性复红即灵敏,色泽,易于观察。我们用0.3%琼脂半固体代替用的液体培养基,缩短了糖发酵的时间。这是由于半固体培养基可限制氧的供给,有利于CO₂的积聚,发酵产酸不易扩散,因而发酵时间缩短。

参考文献: [1] Андреева, З. М.: Лабор дело, 50: 259, 1979.

(浙江省嵊县卫生防疫站 钱伯钦、商南华、
钱鑫娟)

三种抗酸菌荧光抗体的制备与鉴定

本文主要介绍牛型结核菌、堪萨斯分枝杆菌和胞内分枝杆菌荧光抗体的制备和其菌型鉴定结果。三种抗酸菌的荧光抗体基本上按照人型结核菌荧光抗体的制备方法进行。所不同的是,免疫剂量加大至100mg/ml(湿重),免疫方案除了按人型结核菌免疫方法进行外,分别以0.5ml菌悬液加不完全佐剂加强免疫2—3次。三种

抗酸菌的免疫血清经双向琼脂扩散试验，其效价分别为 1:8, 1:4, 1:4。三种抗酸菌的荧光免疫球蛋白的标记——F/P 比值，牛型结核菌为 3.28, 堪萨斯分枝杆菌为 3.75, 胞内分枝杆菌为 4.32。工作效价均为 1:8。

三种抗酸菌荧光抗体的特异性用特异性染色和交叉反应来判定。三种抗酸菌的纯培养物涂片用相应的荧光抗体染色，均呈特异性染色。同一培养物涂片以正常家兔荧光血清染色，均为阴性。这一结果表明，三种抗酸菌的荧光抗体含有特异性抗体。

三种抗酸菌荧光抗体分别与下列 19 种抗酸菌(人型结核菌、牛型结核菌、堪萨斯杆菌、胞内分枝杆菌、鸟型分枝杆菌、猿分枝杆菌、胃分枝杆菌、瘰癧分枝杆菌、蟾分枝杆菌、草分枝杆菌、海分枝杆菌、溃疡分枝杆菌、土分枝杆菌、牡

牛分枝杆菌、金黄分枝杆菌、无色分枝杆菌、次要分枝杆菌、耻垢分枝杆菌和偶发分枝杆菌)进行交叉反应。结果表明，牛型结核菌荧光抗体与人型结核菌有较明显的交叉反应，与胃分枝杆菌、蟾分枝杆菌有轻度交叉反应，而同其它 15 种抗酸菌则无交叉反应。堪萨斯杆菌荧光抗体除与堪萨斯杆菌有交叉反应外，与人型结核菌、牛型结核菌、胞内分枝杆菌以及耻垢分枝杆菌有轻度交叉反应，而对其它抗酸菌则无交叉反应。胞内分枝杆菌荧光抗体除与胞内分枝杆菌有交叉反应外，对人型结核菌有轻度交叉反应，对其余菌种则无反应。总之，三种抗酸菌荧光抗体除了对少数抗酸菌有交叉反应外，其余菌种均为阴性染色。有交叉反应的菌种借助于各种菌的形态特点便可区别。