

# 绿脓菌素分型的研究

郭宝福 李桂芹 于丽萍

(黑龙江省科学院应用微生物研究所, 哈尔滨)

早在 1925 年 Gratia 发现某些大肠菌具有抑制其它大肠菌生长的物质, 命名为大肠菌素<sup>[1]</sup>。以后 Fredericq 等人进一步研究又发现了巨型杆菌产生巨杆菌素, 鼠疫杆菌产生鼠疫菌素, 荧光假单胞菌产生荧光菌素及绿脓假单胞菌产生绿脓菌素<sup>[2]</sup>。这些物质统称为细菌素。

半数以上的细菌均能产生细菌素。Halbert 报告 14 株大肠杆菌中有 11 株产生大肠菌素<sup>[3]</sup>。Hamon 报告 15 株绿脓假单胞菌有 10 株产生绿脓菌素<sup>[4]</sup>。滨村宪克报告 23 株绿脓假单胞菌有 14 株产生绿脓菌素<sup>[5]</sup>。

绿脓菌素分型研究国外早有报道, Darrell 等人分离出 11 型绿脓菌素<sup>[6]</sup>, Zabransky 等人分离出 15 型绿脓菌素<sup>[7]</sup>, Gillies 等人分离出 36

型绿脓菌素<sup>[8]</sup>。景山真等人对绿脓菌素的结构和功能进行了进一步研究<sup>[9]</sup>。

本文报告了从临床收集的 217 株绿脓假单胞菌进行的绿脓菌素分型结果。

## 材料和方法

### (一) 使用的指示菌株

主要来自国家医学微生物细菌保藏中心的绿脓假单胞菌。菌号为 10201、10202、10203、10204、10205、10206、10207、10208、10209、10210、10116、10117、10118、10119、10121、10122、10123、10124、10125 和 Pa103。本试验按顺序分别用 1—20 号表示。按 Darrell 和 Wabba 方法选择出标准指示菌<sup>[6]</sup>。即在平皿中

加入含有  $10^{-5}M$  的碘乙酸、0.1% 的枸橼酸钠和 0.1% 的磷酸二氢钾的蛋白胨琼脂培养基,待其凝固后,在其直径方向上涂抹被检株,于  $37^{\circ}C$  培养 24 小时后,用无菌的载玻片刮去生长的菌苔,往平皿盖内注入氯仿少许,倒放 30 分钟后,打开一部分平皿盖,使氯仿挥发掉。然后将经肉汤培养 6 小时的几株指示菌与上述被检株呈垂直方向以适当间隔划线接种,于  $37^{\circ}C$  培养 16 小时后,抑制指示菌生长的判定被检株为阳性。

### (二) 被检菌株

从我国部分省市的医院临床烧伤患者创面、外伤感染部位、患者的血、尿和痰等取标本,

共采集 217 株绿脓假单胞菌。

### (三) 分型方法和型别建立

绿脓菌素分型是采用 Darrell 和 Wahba 方法略加改良<sup>[6]</sup>。型别是根据被检菌产生的绿脓菌素抑制每个指示菌的不同而确定的,相同者归属同一型,不产生绿脓菌素者归为 NT 型。

## 结果和讨论

### (一) 指示菌的选择

在选择指示菌中,每株菌产生的绿脓菌素及对绿脓菌素的敏感株见表 1。

从表 1 中看到,20 株绿脓假单胞菌中,有

表 1 绿脓菌素的分布

指示菌株	绿脓菌素产生株																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+
4	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
7	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+
8	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+
9	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+
10	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
14	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
18	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+

注:“+”抑制,“-”非抑制

18 株菌产生绿脓菌素,占 90%,这与有些学者报道的半数以上的细菌均能产生细菌素的结果一致,并略高此数<sup>[3,4,5]</sup>。有 15 株菌对绿脓菌素敏感,占 75%,与浜村憲克报告的 23 株菌中有 15 株菌对绿脓菌素敏感(占 70%)的结果相同<sup>[9]</sup>。本试验还指出,所有产生绿脓菌素的菌,

对其自身菌产生的绿脓菌素都是不敏感株;在不产生绿脓菌素的菌中,其自身株对所有菌株并不都是不敏感的,这一点证实了浜村憲克的试验结果<sup>[9]</sup>。

本试验选择产生绿脓菌素抑菌作用较多的菌为指示菌,依次是 17(17)、18(13)、9(11)、

3(10)、14(9)号五株指示菌。而7、10、20号指示菌与8株产生绿脓菌素菌都有反应,但考虑到一些学者在绿脓菌研究方面广泛使用20号菌,所以定20号菌为第六株菌。结果选出了六株标准指示菌、即10119、10123、10124、10203、10209和Pa103。

## (二) 绿脓菌素的分型

绿脓菌素的分型及分型模式见表2。表2结果说明收集的217株绿脓假单胞菌,以6株指示菌分型,其中32株不能产生绿脓菌素的

表2 绿脓菌素型的模式及其分布

绿脓菌素型	指示菌						菌株数
	10203	10209	10119	10123	10124	Pa103	
1	+	-	-	-	-	-	10
2	+	-	+	+	+	-	14
3	-	+	-	-	-	+	6
4	+	-	-	+	-	-	8
5	-	+	+	+	+	+	7
6	+	-	+	+	+	+	21
7	-	-	-	+	+	-	7
8	-	-	+	+	+	+	18
9	+	+	+	+	+	+	38
10	+	-	+	-	-	-	4
11	+	-	-	+	+	+	5
12	+	-	-	-	+	-	8
13	+	+	+	+	-	-	6
14	+	-	+	-	+	+	6
15	-	+	+	-	-	-	5
16	+	+	-	-	+	+	8
17	-	-	-	+	+	+	4
18	+	+	+	+	+	-	5
19	-	-	-	+	-	-	5
NT	-	-	-	-	-	-	32
合计							217

菌,列为NT型。185株能产生绿脓菌素的菌,可分出19个绿脓菌素型,分型率为85.3%,其中6、8、9型较多,占全部型别的35.5%;10、17型较少,占全部型别的3.6%。

由于6株指示菌仅来源于20株产生菌,所以在分型过程中,不可能包括全部被检菌,还可能新的型别增加。由此可见,指示菌数量不同,分出的绿脓菌素型别也不同。Gillies等人曾用8株绿脓菌作指示菌,共分出36个型<sup>[8]</sup>,Darrell等人用12株指示菌,分出了15个型<sup>[6]</sup>。为使操作简便又能得到满意结果,看来采用6—8株指示菌为宜。

从绿脓菌素分型率来看,Agarwal等人进行110株绿脓假单胞菌的绿脓菌素分型,有81株可分型,分型率为73.6%<sup>[10]</sup>,Darrell等人进行356株菌的绿脓菌素分型,312株可分型,分型率为87.7%<sup>[6]</sup>。本试验的分型率为85.3%,与国外学者试验结果是相一致的。

## 参 考 文 献

- [1] Gratia, A.: *Compt. Rend. Soc. Biol.* 93: 1040, 1925.
- [2] Fredericq, P.: *Colicins. Ann. Rev. Microb.* 11: 7, 1957.
- [3] Halbert, S. P.: *J. Immunol.* 58: 153, 1948.
- [4] Hamon, Y.: *Ann. Inst. Pasteur.* 91: 82, 1956.
- [5] 浜村憲克: *ウイルス* 12: 194, 1962.
- [6] Darrell, J. H. and Wahba, A. H.: *J. Clin. Path.* 17: 236, 1964.
- [7] Zabransky, R. J. et al.: *Appl. Microb.* 17: 293, 1969.
- [8] Gillies, R. R. et al.: *J. Path. Bact.* 91: 339, 1966.
- [9] 景山真: *日本细菌学杂志*, 38(1): 13, 1983.
- [10] Agarwal, S. K. et al.: *India. J. Med. Res.* 78: 196, 1983.