

荚膜染色纸片的制备和应用

王煜 汪琴 杨海茹 杜晓岚 韩桂荣

(沈阳市皇姑区卫生防疫站 沈阳 110035)

摘要 本文报告细菌荚膜染色纸片的制备和应用结果。与常用的墨汁法相比较,证明了用荚膜染色纸片进行细菌荚膜染色的可能性。本法操作简单,纸片携带方便,染色效果良好,有推广应用价值。

关键词 荚膜染色纸片;荚膜染色

1990年以来,参照国内外科技信息,在研制芽孢染色纸片的基础上^[1,2],研制出一种荚膜染色纸片。经过实验应用,使用这种荚膜染色纸片进行细菌荚膜染色,技术操作简单,使用方便,染色效果良好,现报告如下。

材料与方法

1. 定性滤纸:杭州新华造纸厂生产。

2. 染料:黑色素(Nigrosin W. S.);结晶紫;95%医用乙醇。

3. 荚膜染色纸片:将一定浓度的黑色素结晶紫分别吸附到定性滤纸上,置清洁的暗处晾干。将黑色素纸裁 $0.5 \times 0.5\text{cm}$ 的正方形纸片

(I号纸片)。将结晶紫纸裁成 $2.5 \times 1.5\text{cm}$ 的长方形纸片(II号纸片)。另将95%乙醇盛于塑料瓶中。制好的上述纸片,置干燥处贮存备用。有效期一年。^①

4. 荚膜染色用菌种:染色用菌种共20株。带荚膜的细菌8株:肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)1株(沈阳医学院提供)。产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)2株(哈尔滨市卫生防疫站提供)。肺炎克雷伯氏菌

① 本研究承哈尔滨市卫生防疫站徐迪诚主任医师、中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所李爱芳副研究员大力协助;中国科学院微生物研究所蔡妙英研究员鉴定

(*Klebsiella pneumoniae*) 2株(黑龙江省临床检验中心与哈尔滨铁路中心医院提供)。棕色固氮菌(*Azotobacter vinelandii*) 1株(中国科学院微生物研究所提供)。固氮菌(*Azotobacter* sp.) 1株,炭疽芽孢杆菌(*Bacillus anthracis*) 1株,无荚膜的细菌12株:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) 1株,大肠埃希氏菌(*E. coli*) 2株,宋内氏志贺氏菌(*Shigella sonnei*) 2株,(均为本实验室保存的临床菌株)。白喉棒杆菌(*Corynebacterium diphtheriae*) 1株,嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*) 1株,温和气单胞菌(*A. sobria*) 1株,香气黄杆菌(*Flavobacterium odoratum*) 1株,河弧菌(*Vibrio fluvialis*) 1株,类志贺邻单胞菌(*Plesiomonas shigelloides*) 1株(均由哈尔滨市卫生防疫站提供)。

上述菌种,先在适宜的培养基上分离培养,以获得纯培养物。

结 果

以常规墨汁法对照^[3],用制好的,室温保存的荚膜染色纸片,在制成3、6、9个月及1年后,用于肺炎克雷伯氏菌的荚膜染色。

用荚膜染色纸片进行细菌染色的操作程序:

1. 将黑色素纸片放在玻璃片上,滴加灭菌蒸馏水一小滴,2—3分钟后将黑色素纸片取下。

2. 用接种环取细菌培养物与洗脱的黑色素液混合,做成薄膜,自然干燥,95%乙醇固定,待干。

3. 将紫色纸片覆盖在黑色薄膜上,滴灭菌蒸馏水作用2—3分钟,待紫色素洗脱下后,轻轻取下纸片,自然干燥,火焰固定,轻轻水洗。干燥后,油浸,镜检。

结果:带荚膜的8株细菌菌体染成紫色,背景呈紫灰色,荚膜无色,不带荚膜的12株细菌,菌体染成紫色,背景均呈灰黑色。与墨汁法的染色结果吻合。室温保存下的此种纸片,在3、6、9个月及1年后用于肺炎克雷伯氏菌的荚膜

染色,效果相同。

讨 论

许多细菌的表层被覆着较厚的粘液层,有的细菌在显微镜下可观察到膜样物(荚膜)而与外界明显区分^[4]。确定细菌有无荚膜对细菌鉴定十分有用,如仅从涂抹标本染色可立即推断确定肺炎克雷伯氏菌、新型隐球菌、肺炎链球菌与产气荚膜梭菌。在现代微生物实验室中,荚膜染色通常用Hiss氏法,配好的染液因为不经常使用,贮存时间稍长而易于干涸,造成浪费。

我们参照墨汁法与Hiss氏荚膜染色法的染色原理与操作技术,将其中的墨汁改换成黑色素,利用它易于在滤纸上吸附又易于洗脱溶出的特点制成黑色素纸片。另将Hiss氏法中的龙胆紫改换成结晶紫,将其吸附到滤纸片上制成结晶紫纸片。当进行第一次染色操作时,因细菌不着色,背景均染成浅黑色,第二次染色时,细菌菌体染成淡紫色,荚膜因难以着色而呈无色。从而在染色标本中背景出现黑色到灰黑色,菌体紫色,荚膜无色的明显对比的结果。从我们对20株细菌的染色结果表明,用自制的荚膜染色纸片做细菌荚膜染色是可行的。技术操作简单,纸片易于保存和携带,成本费用低廉,适合广大基层实验室使用。经有关单位的考核应用和中国科学院微生物研究所鉴定,证明了荚膜染色纸片的有效性,进一步推广使用,有一定潜在的社会效益和经济效益。

参 考 文 献

1. 日本制药株式会社:制品要览I,日本大阪,106页,1987。
2. 韩桂荣等:中国公共卫生,7(6):290,1991。
3. Lennette E H et al.: Manual of Clinical Microbiology (4th Ed), American Society of Microbiology, Washington, P. 325, 1986。
4. Jawell E et al.: Review of Medical Microbiology, 17th Ed, Appleton and Lange, Norwalk, P. 103, 1987。

(1992-04-14 收稿)