

细菌荚膜染色法的改进

张 鹏 程

(吉林省兽医研究所, 长春)

细菌荚膜染色法约有 10 余种(如米亨氏染色法、刚果红染色法、骆氏美蓝染色法等),但由于细菌荚膜易被固定步骤所破坏或变皱而失去原有形态,致荚膜不完整或在菌体周围出现残缺及模糊不清的环圈。笔者使用了细菌荚膜保护液,使细菌荚膜染色取得了较好的效果,现将改进的细菌荚膜染色法介绍如下。

材 料 和 方 法

一、染色液

1. 2% 刚果红液。

2. 1% 结晶紫液。

以上两液配制后置室温下一周,染色前用普通定性滤纸滤过。

3. 2% 盐酸酒精液。

二、荚膜保护液

健康驴血清(或兔血清、鸡血清、牛血清、马血清): 20% 蔗糖: 0.9% 生理盐水 = 1:1:3 (V/V)。

三、染色步骤

1. 在洁净的载玻片上滴加荚膜保护液一铂耳。2. 固体培养基培养 10—12 小时的下列菌株: 鸡多杀性巴氏杆菌(*Pasteurella multocida* C48-1, 中国兽药监察所), G190E40 (吉林省兽医药厂)、JPM003 (系吉林省兽医研究所分离并经中国兽药监察所鉴定的 0:5 型菌株)、华南弱毒株、广东 F₂ 菌株 (吉林农业大学牧医系提供); 大肠埃希氏杆菌 (*Escherichia coli*), 马流产沙门氏菌 (*Salmonella abortus-equi*), 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus pyogenes*) (均为兽医大学军马卫生研究所提供), 非荚膜菌——付结核分枝杆菌

(*Mycobacterium paratuberculosis*) 及草分枝杆菌 (*Mycobacterium phlei*) (均为吉林省兽医研究所提供), 每一玻片点一铂耳。3. 滴加 2% 刚果红液 2 铂耳。4. 轻轻混匀, 使成一薄膜状。5. 自然干燥或置于 22—24℃ 温箱中使其干燥。6. 滴加 2% 盐酸酒精固定, 任其自然干燥。7. 1% 结晶紫染色 3—5 分钟, 倾去染色液, 向载玻片上滴加蒸馏水, 倾去蒸馏水, 如此反复 3 次。

结 果 和 讨 论

1. 鸡多杀性巴氏杆菌 (C48-1、G190E40、JPM003、华南弱株、广东 F₂), 大肠埃希氏菌, 马流产沙门氏菌, 金黄色葡萄球菌的菌体均为蓝紫色, 整个菌体细胞周围有淡白色光环, 最外缘呈粉紫色。此淡白色光环及粉紫色边缘即为细菌的荚膜。

2. 非荚膜形成菌——付结核分枝杆菌及草分枝杆菌的菌体为紫色, 菌体细胞周围无任何结构。

3. 用不加保护液的细菌荚膜染色法染色的荚膜菌对照, 少数菌体周围呈现一圈带色的边, 多数菌体外围的带色边不完整, 有的模糊不清, 所有菌体周围均无清晰可见的淡白色边。

采用本方法时应注意以下两点: 1. 所有的供试荚膜菌株均在加有鸡裂解全血的马丁氏琼脂培养基上培养 10—12 小时才能作染色样品。2. 荚膜保护液中的驴血清可置于 4℃ 冰箱中贮存(链霉素小瓶分装, 容量 2ml), 也可在 -10—-15℃ 低温下保存。兔、牛、鸡、马血清与驴血清的效果相同。蔗糖浓度不宜超过 20%, 否则不易制成薄膜层涂片。