

用奥卜托新碱敏感试验鉴定肺炎双球菌*

张宝亭

(锦州铁路中心医院检验科)

为了便于临床诊断和治疗,要求对肺炎双球菌的鉴定简便,又易于和草绿色链球菌区别开。奥卜托新碱可杀死肺炎双球菌,在血清中 1:400,000 时仍有杀死作用。1963 年开始我们试用奥卜托新碱 (Optochin basicum, 简称 OB) 来鉴定肺炎双球菌(以下简称 OB 试验),现将试验结果报告如下。

实验材料和方法

(一) 实验材料

1. 培养基及菌株

(1) 7% 羊血琼脂平碟; (2) 菊糖血清液培养基; (3) 含血清肉浸液; (4) 10% 胆酸盐溶液; (5) 菌株; 采自本院住院患者(咽、鼻、痰)分泌物分离之肺炎双球菌及草绿色链球菌。

2. 含奥卜托新碱纸片制备, 试药配制

(1) 滤纸选择和试药配制

① 用打孔器轧成直径 6 毫米的圆片, 分装 (100 片/瓶), 高压灭菌备用。

② 奥卜托新碱配成 1:4000 的溶液(先以 1N HCl 溶解加蒸馏水后, 用 N/10 NaOH 滴至中性, 再以蒸馏水补足至需要量), 置于 4℃ 冰箱备用。

(2) 含药纸片制备

① 湿纸片: 将灭菌纸片浸于 1:4000 浓度药液内置于冰箱中备用, 或分别保存, 临试验时蘸取药液直接应用亦可。

② 干纸片: 将灭菌纸片浸于 1:4000 药液内置于冰箱中 60 分钟后, 放烤箱 60—80℃ 烘干, 保存冰箱备用。

(二) 实验方法

挑选可疑的肺炎双球菌菌落直接均匀涂抹接种羊血琼脂平碟的 1/4 或 1/6 部分, 和做一般药物敏感试验相同, 把含药纸片贴上, 37℃ 培养 18—24 小时后观察结果, 阳性者在纸片周围出现宽窄不等之抑菌圈。

后期改用干纸片试验, 其结果亦甚满意, 二者抑菌程度无大差异。

同时对阳性结果进行形态、生化(菊糖发酵, 胆酸盐溶菌)试验, 部分菌株作动物毒力试验(15—20 克小白鼠腹腔注射 0.5 毫升/24 小时培养物)以及荚膜染色等对照鉴定。

实验结果

1. 对本院 1963—1965 年住院患者中所检出的 112

表 1 112 株肺炎双球菌培养检查鉴定结果 (1963—1965)

年 份	年 龄 组	实 验 例 数	标 本 种 类			形 态 革 兰 氏 染 色	7% 羊 血 琼 脂 上	血 清 肉 浸 液 中	10% 胆 盐 溶 菌 试 验		菊 糖 发 酵 试 验		小 白 鼠 毒 力 试 验			“OB 试 验”						
																湿 片 抑 菌 (毫 米)			干 片 抑 菌 (毫 米)			
			鼻 拭	咽 拭	痰 液	双 球 菌	短 链 状	甲 型 溶 血	+	-	+	-	未 检 查	+	-	+	>10	>20	+	>10	>20	
1963	成 人	20	1	0	19	19	1†	20	20	20	0	19	1*	18	2	0	20	(±)		0	0	0
	儿 童	19	0	19	0	18	~1†	19	19	19	0	19	0	18	1	0	19	(±)		0	0	0
1964	成 人	4	0	0	4	4	0	4	4	4	0	4	0	0	4	0	4	2	2	4	2	2
	儿 童	20	0	20	0	19	1†	20	20	17	3*	15	5*	3	17	0	20	11	9	20	13	7
1965	成 人	12	0	0	12	10	2†	12	12	12	0	12	0	1	11	0	12	8	4	12	7	5
	儿 童	37	0	37	0	36	1†	37	37	36	1*	36	1*	3	34	0	37	29	8	37	25	12
计	—	112	1	76	35	106	6†	112	112	102	4*	105	7*	43	69	0	112	50	23	73	47	26

附注 1. 表中“+”表示阳性; 2. 表中“-”表示阴性; 3. 表中“+”为未统计者; 4. 表中“†”为短链状; 5. 表中“*”为胆酸盐试验阴性(试管法); 6. 表中“×”为菊糖发酵阴性。

* 本文承遵义医学院微生物教研组陈立予同志审阅, 药

理学部分承本院张尚禄同志校阅, 本科细菌室刘菊影同志协助进行试验, 一并致谢。

肺炎双球菌做了“OB 试验”，结果皆为阳性、同时对这些阳性菌株还进行了较为系统的鉴定，结果见表 1。表中显示这 112 个菌株的“OB 试验”结果与胆酸盐溶菌试验、菊糖发酵等的结果相当一致，特别与小白鼠毒力试验结果相一致，其中 17 例结果不一致的菌株中有 6 例呈短链状，4 例未被胆酸盐溶解（其中 3 例菌株死亡，1 例原因未明），7 例菊糖发酵未成功（4 例培养中未生长，3 例阴性反应）。最后对这些有差异的存活菌株进行了小白鼠毒力试验观察，全部在 24 小时内死亡，解剖取病变材料涂片荚膜染色和取心血分离培养，证实动物是由肺炎双球菌感染致死，并得到纯培养。分析结果还是符合肺炎双球菌的。

2. 对 77 株草绿色链球菌按常规方法进行了一般鉴定和“OB 试验”，为比较目的将表 1 中肺炎双球菌表 2 112 株肺炎双球菌与 77 株草绿色链球菌鉴定比较

试 验 比 较 项 目			112 株肺炎双球菌鉴定结果 112	77 株草绿色链球菌鉴定结果 77
“OB 试 验” 抑 菌 程 度 (毫米)	+		112	0
	抑菌圈未统计		39	0
	湿片	>10	50	0
		>20	23	0
	干片	>10	47	0
>20		26	0	
形 态 (革兰氏染色)	阳性双球菌		106	22
	阳性短链状		6	55
5% 羊血琼脂呈甲型溶血			112	77
血清肉浸液中生长情况		混浊生长	112	3*
		沉淀生长	0	74
生 化 反 应	10%胆酸盐溶菌试验	+	108	0
		-	4	77
	菊糖发酵试验	+	105	0
		-	7	77
附 注			表中*为血清肉浸液中生长(混浊者)。	

的鉴定结果与鉴定草绿色链球菌所得到的结果一并列于表 2。由表 2 可知草绿色链球菌“OB 试验”都为阴性，有 3 例在血清肉浸液内呈现混浊生长，菊糖发酵全部阴性。对生长混浊的 3 例菌株作了反复鉴定，包括“OB 试验”和动物试验（方法见前），结果“OB 试验”和毒力反应均为阴性，还是符合于草绿色链球菌的，而与肺炎双球菌不同。

3. 以上实验检查 112 株“OB 试验”阳性肺炎双球菌，抑菌圈直径平均为 15—25 毫米，抑菌圈边缘清楚，其大小与接种量有关，菌量多者抑菌圈小，反之抑菌圈则大。

比较 77 株不被胆酸盐溶解的草绿色链球菌都不为“OB 试验”纸片所抑制（阴性），而“OB 试验”对肺炎双球菌确有明显抑制作用，从“OB 试验”抑菌的差别程度两类菌株是容易区别的。

讨 论

1. 肺炎双球菌与草绿色链球菌，在羊血琼脂平碟（培养基）上都呈甲型溶血，初步分离时形态不典型者难以区别，除非同时发现典型菌落和形态排列才有助于一般鉴别，虽有荚膜染色等方法，但在实际工作上有时得不到满意结果，为满足临床急需诊疗要求，本试验可较快的获得细菌学的诊断。

2. 对检出的 112 株肺炎双球菌进行“OB 试验”的结果和胆酸盐溶菌、菊糖发酵等试验则有相当一致的反应，特别和小白鼠毒力试验结果相一致。“OB 试验”抑菌圈平均在 15—25 毫米、与 Marlene, K. 等用盐酸乙基氢化羟基奎宁实验结果（15—30 毫米）基本相符，此可证明本试验的可靠性较高。

3. 本试验方法简便，特异性高，适于一般临床化验室应用。根据多年来的工作实践我们认为该项试验是鉴别肺炎双球菌与草绿色链球菌一个较为可靠的方法。

4. 干纸片虽较湿纸片抑菌程度稍差，但同样可得到阳性结果，且便于保存和携带，适于一般基层医院化验室或医疗队应用。