

# 肺炎球菌在不同培养基上的存活期及变异情况的比较

北京药品生物制品检定所菌种室

肺炎双球菌在培养基上存活的时间均较短，一般是1—2周，给工作造成了不少困难。为了解决这个问题，我们对肺炎球菌在三种不同培养基上的存活期及变异情况进行了比较，结果以新鲜脱纤维羊血培养基较好。保存在这种培养基上的肺炎球菌大多数可存活3个月以上，并很少变异，培养基的制备也很简便。

## 材料和方法

### 一、培养基

#### (一) 脱纤维羊血培养基

将脱纤维绵羊血无菌分装于试管内，每管约2毫升，经无菌试验检查合格后，置冰箱保存备用。

#### (二) 1% 兔血清琼脂半固体培养基。

#### (三) 葡萄糖明胶培养基。

### 二、菌种

本所冷冻干燥保存的肺炎球菌33株，共13个血清型。

### 三、方法

将待检的肺炎球菌接种于5%兔血清肉汤中，37℃培养20小时呈现均匀混浊生长后，再分别用毛细吸管接种于上述三种培养基上，于37℃培养18—20小时，并检查其生长情况，然后置冰箱0—5℃保存。

在保存期间，定期吸取培养物鉴定存活情况，并检查其菌落、菌形、溶血、胆汁溶解及荚膜等情况。存活期达三个月以上的菌株，还进行了生化及血清试验，观察菌种有无变异。

## 实验结果

表1 肺炎球菌在三种培养基上存活期的比较

培养基	菌株数	存活期													
		一个月		二个月		三个月		三个半月		四个月		四个半月		五个月	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
羊血培养基	23	23	100	21	91.2	18	78.3	17	73.9	5	21.7	3	13.0	0	0
1%兔血清琼脂半固体培养基	33	21	63.6	5	15.1	2	6.1	2	6.1	1	3.0	0	0	0	0
葡萄糖明胶培养基	17	5	29.4	1	5.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

注：1. 存活菌株数；2. 存活菌株百分比(%)。

由表1可见，肺炎球菌保存在绵羊血培养基上的存活时间最长，而在葡萄糖明胶培养基上保存的存活

时间最短。

从表2结果中可以看出，保存期在三个月以上时，

表2 肺炎球菌在新、旧羊血培养基上存活时间的差别

培养基	菌株数	存活期													
		一个月		二个月		三个月		三个半月		四个月		四个半月		五个月	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
新鲜羊血	16	16	100	15	93.7	15	93.7	14	87.5	5	31.3	3	18.8	0	0
陈旧羊血	7	7	100	6	85.7	3	43.8	3	43.8	0	0	0	0	0	0

注：新鲜羊血的采集时间在半个月以内，陈旧羊血的采集时间半个月以上。1、2同表1。

**表3 肺炎球菌在羊血培养基中保存与相应血清荚膜肿胀反应**

菌号	原保存菌株			保存三个月			保存四个月		
	血清学反应			血清学反应			血清学反应		
	血清型	凝集	肿胀	血清型	凝集	肿胀	血清型	凝集	肿胀
31004	4	+	++	4	++	++			
31005	12	+++	++	12	+++	++			
31006	8	+	+	8	+	±	3	+	±
	3	±	±	3	+	-			
31007	10	++	++	10	++	++			
31008	10	++	++	10	++	+++			
31011	5	+	++	5	++	++			
31013	17	++	++	17	+++	++			
31014	18	++	++	18	+++	++	18	+++	++
31015	19	++	++	19	++	++			
31018	36	++	++	36	++	++			
	9	±	±	9	-	-			
31019	31	++	++	31	+	++			
31103	17	++	++	17	++	++			
31106	4	+	++	4	++	++			
31107	5	++	++	5	++	++	5	++	+

**表4 肺炎球菌保存在羊血培养基中菌形、胆汁溶解、荚膜的变异情况**

菌号	原保存菌株			保存三个月			保存四个月		
	菌形	胆汁试验	荚膜试验	菌形	胆汁试验	荚膜试验	菌形	胆汁试验	荚膜试验
31004	双球	+	良好	双球	+	+	双球	+	+
31005	”	+	”	”	+	+	”	+	+
31006	”	+	少	”	+	+	”	+	+
31007	”	+	+	”	+	+	未长		
31008	”	+	良好	”	+	+	”		
31010	”	+	+	”	+	+	”		
31011	”	+	少	”	+	+	”		
31013	”	+	+	”	+	+	”		
31014	”	+	良好	”	+	+	双球	+	+
31015	”	+	少	”	+	+	未长		
31018	”	+	”	”	+	+	”		
31019	”	+	良好	”	+	+	”		
31103	”	+	+	”	+	+	”		
31106	”	+	+	”	+	+	”		
31107	”	+	+	”	+	+	双球	+	+

注：+阳性。

肺炎球菌在新鲜羊血的存活率比在陈旧羊血培养基高。

关于肺炎球菌在培养基上保存时间的变异情况，详见表3, 4, 5。

**表5 肺炎球菌在羊血培养基中保存三个月后生化反应变化情况**

菌号	保存前			保存三个月		
	水杨素	甘露醇	菊糖	水杨素	甘露醇	菊糖
31004	+ <sup>3</sup>	-	+	+	-	+
31005	+ <sup>2</sup>	+ <sup>6</sup>	+	+	+ <sup>4</sup>	+
31006	+ <sup>6</sup>	+ <sup>6</sup>	+ <sup>7</sup>	+	-	-
31007	+ <sup>2</sup>	+ <sup>6</sup>	+	+ <sup>7</sup>	-	+
31008	+ <sup>2</sup>	+ <sup>6</sup>	+	-	+ <sup>2</sup>	+
31011	+	+ <sup>6</sup>	+ <sup>6</sup>	+	-	+
31013	+	+ <sup>4</sup>	+	+	-	+
31014	+ <sup>2</sup>	-	-	+	-	-
31015	+ <sup>2</sup>	+ <sup>6</sup>	+	+	-	+
31018	+ <sup>6</sup>	-	+	+ <sup>2</sup>	-	+
31019	+ <sup>2</sup>	+	+	+	-	+
31103	+	+	+	+	-	+
31106	+ <sup>2</sup>	+ <sup>2</sup>	+ <sup>6</sup>	+ <sup>2</sup>	+ <sup>2</sup>	-
31107	+ <sup>2</sup>	-	+	+	-	+

注：+发酵阳性，+<sup>2-7</sup>发酵天数。

从表3、4可以看出，肺炎球菌在羊血培养基上保存三个月时，其菌形、胆汁溶解、荚膜试验及血清型均无明显的变异。而在生化反应方面(见表5)则有一定的差异，如保存前的14株肺炎球菌对下列各糖类的发酵阳性率分别为：水杨素100%，甘露醇71.4%；菊糖92.8%。于羊血中保存三个月后则其发酵阳性率分别降为：水杨素92.8%，甘露醇21.4%；菊糖78.5%。