

采用小白鼠分纯钩端螺旋体菌株

张 尽 福 苏 琼 芳

(四川省达县地区卫生防疫站检验科)

近年来,随着钩端螺旋体病的调查研究工作的广泛开展,在实验诊断方面,除进行大量血清学试验外,对钩端螺旋体菌株(以下简称钩体菌株)进行培养,作好菌群鉴定,对生物制品和制订防治措施提供参考。但往往由于在采集标本及实验操作过程中无菌操作不严格,而使分离出的钩体菌株发生污染。用常规方法(凝集溶解实验)不能定群,一般采用荷兰猪来分纯或用蔡氏滤器除菌过滤。但这两种方法操作烦琐,需要一定设备,所需时间较长,基层单位开展工作很不方便。为了寻找一种操作简便、快速、经济、易于基层工作人员掌握的钩体菌株的分纯方法,我站于1973年—1975年,采用在小白鼠腹腔注射钩体菌培养液,再取鼠血、鼠肾接种培养基的方法,对已污染的55株钩体菌进行分纯,均能达到一次分纯的良好效果。此法对实验室工作有一定的现实意义,现介绍如下:

一、材料和方法

(一) 培养基的制备

按常规方法制备柯索夫或切氏培养基。

(二) 兔血清

来源于成都市、重庆市肉类联合加工厂及本站动物室所饲养的兔子所采取的混合兔血清,兔血清浓度为培养基的8%。

(三) 供试的钩体菌株

来自四川省渠县卫生防疫站和本站保存的已污染杂菌的55株钩体菌。其污染标志是培养物变浑浊(不是云雾状),在暗视野显微镜里观察有杂菌生长,将此培养物作革兰氏染色后,镜检有革兰氏阴性球菌或革兰氏阳性杆菌,有时出现革兰氏阳性球菌。

(四) 小白鼠

所采用的小白鼠均为本站动物室所饲养,不论鼠龄大小及雄雌,均可供实验。

(五) 试验方法

先将小白鼠捉好,腹部向上,头低于尾部,进行消毒。然后取0.5毫升已污染杂菌的钩体菌培养物,进行腹腔注射,随后将小白鼠放到烧杯内,40分钟后,在无菌操作间用注射器取鼠血,接种2—3支试管培养基,同时取鼠肾(双侧)接种2支试管培养基,置28—30℃温箱培养,逐日观察生长情况,一般在21—28天左右,钩体菌即生长好。

二、试验结果

本试验是将已污染杂菌的钩体菌株的培养物对小白鼠进行腹腔注射,再取鼠血、鼠肾接种,进行培养。我站自1973年至1975年共进行55株钩体菌分纯试验,均能达到一次分纯,效果较好。用鼠血接种,钩体菌6—11天长出;用鼠肾接种,钩体菌10—17天长出。一般在21—28天生长良好,完全能达到定群的目的。这种方法适用于条件设备较差的基层单位,并为普遍开展钩体菌的调查研究工作提供了方便。

三、讨论

1. 对于污染杂菌的钩体菌株,一般采用蔡氏滤器除菌过滤或用荷兰猪来分纯,但操作烦琐,尤其用荷兰猪来分纯,所需时间较长,动物价值高,不经济。本试验采用小白鼠来分纯钩体菌,操作简单、快速、易为基层医务人员掌握和应用。此种动物饲养简单、繁殖快、成本低,为实际工作提供了较好方法。至于其它动物是否比小白鼠更为理想,有待于今后进一步摸索。

2. 从本室工作来看,钩体菌株污染的原因主要由于在钩体菌群的调查研究工作中,接种标本时无菌操作不严格或夏季保存在冰箱中的培养基原已染菌所造成。因此,为了减少钩体菌株污染杂菌,必须严格无菌操作,同时所使用的培养基在使用前一定要进行无菌试验。