

一株分解蔗糖的白喉杆菌变种

吉瑞庭 任文贵

(中国人民解放军昆明部队第72医院,云南)

白喉杆菌不分解蔗糖是与类白喉杆菌 *C. acnes*、*C. xerosis*、*C. hoagii* 的重要鉴别点。1980年7月,在一次白喉小流行中,分离到一株分解蔗糖的白喉杆菌变种,兹将结果述后。

材料与方法

一、材料

1. 菌株(编号39592): 自白喉患者的咽喉部伪膜处分离。

2. 培养基: 除常用普通培养基外,亚硝酸钾血琼脂、尿素蛋黄双糖琼脂、Elek 琼脂、5%兔血球肉汤悬液以及生化反应的各种发酵管,均按文献[1]方法制备。

3. 豚鼠: 300克左右,白毛。

4. 白喉抗毒素: 成都生物制品研究所供给,

二、方法

1. 细菌分离: 用咽喉拭子深入咽喉部伪膜处采标本,接种兔血平板上,37℃培养24小时,分别挑取疑似白喉杆菌菌落,先涂片,用Albert法^[1]染色,镜检。有疑似白喉杆菌者,再取单个菌落转到血平板和亚硝酸钾血平板上,反复检查菌形态,待纯化后再作其他试验。

2. 咽拭子直接涂片: 于细菌分离同时,直接涂抹标本于玻片上,自然干燥,火焰固定,Albert染色,镜检。

3. 菌落性状观察: 在血平板和亚硝酸钾血平板内,37℃培养24小时,观察一次。再置室温(18—22℃)5日观察一次。

4. 生化反应: 分离菌纯化后,先接种到尿素蛋黄双糖琼脂上,37℃培养24小时,观察反应。并取此培养物再接种到葡萄糖、乳糖等各种发酵管内,置37℃温箱观察14天。同时又将此双糖上的培养物接种到5%兔血球肉汤悬液中,置37℃温箱24小时,观察溶血现象。重点生化试验多次重复。

5. 毒力试验: 按文献[1]方法进行。试验动物接种白喉杆菌后,未注射抗毒素治疗。Elek平板法,设白色葡萄球菌阴性对照。

6. 返祖试验: 将分离菌接种到血清半固体琼脂中,密封管口,置室温(18—22℃)110天,再以Белая^[2]法用血清肉汤连传5代,以蔗糖发酵反应观察返祖情况。

试验结果

一、生物学性状

分离菌在血平板、亚硝酸钾血平板和尿素蛋黄琼脂上生长旺盛。37℃培养24小时后,血平板上生长的菌落为灰白色、圆形、凸起、光滑、不透明,直径约1cm左右,室温5日后,菌落增大,约3cm左右,菌落中心部变厚,周围可见狭窄的溶血环。亚硝酸钾血平板上菌落较湿润、

黑色、有光泽、菌落边缘整齐。

取培养物或咽拭子涂片, Albert 染色, 镜检, 均见明显两极异染颗粒(蓝黑色)细菌, 菌体稍弯, 色淡绿。培养物涂片, 细菌排列呈 V、Y 字型或手指状。

二、生化反应

除分解蔗糖外, 其他反应均与轻症型白喉杆菌同^[1,3,4](见表 1)。

表 1 分离菌的生化反应

菌株	生化反应														
	糖琼脂 尿素蛋 黄双	葡 萄 糖	乳 芽 糖	麦 芽 露	甘 蔗 糖	木 糖	鞣 糖	糊 精	肝 糖	可 溶 性 淀 粉	明 胶	5% 免 血 球 肉 汤	硝 酸 盐 还 原	靛 基 质 试 验	触 媒 试 验
39592	-/+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	轻溶	+	-	+

注: “-/+”示下层发酵产酸, 上层阴性。“+”24 小时内发酵产酸。“-”观察 2 周均阴性。

三、毒力试验

1. Elek 平板法: 分离菌培养 72 小时, 在滤纸与菌株连接处有轻微白色沉淀物。白色葡萄糖菌阴性对照则无此现象。

2. 豚鼠皮内试验: 接种白喉杆菌 24 小时后, 未注射抗毒素的动物, 注射部位发生了红肿, 48 小时开始坏死, 72 小时后显著坏死。对照动物则未发病。

四、返祖试验

返祖试验后, 作蔗糖发酵试验, 结果蔗糖仍分解。

讨 论

据本试验观察, 分离菌有明显两极异染颗粒, 菌体稍弯, 排列方式与白喉杆菌相似; 在生化反应上, 除分解蔗糖外, 不发酵乳糖、甘露醇、木糖、鞣糖。靛基质试验阴性, 触媒试验阳性, 并还原硝酸盐为亚硝酸盐。这一切都符合白喉杆菌的特性。因能分解葡萄糖与麦芽糖, 可与假白喉杆菌区别; 又因能发酵麦芽糖, 可排除类白喉杆菌 *C. flavidum* 和 *C. xerosis*。同时因能使兔血球溶血, 又不分解淀粉、肝糖和糊精, 故与轻症型白喉杆菌性状相同。再者, 分离菌毒力虽弱, 但对豚鼠有明显致病性, 经返祖试验, 未改变分解蔗糖的能力。故认为本试验分离菌是轻症型白喉杆菌分解蔗糖变种。

参 考 文 献

- [1] 上海市卫生防疫站: 卫生防疫检验(细菌检验), 第一版, 第 344、401、468 页, 1979 年, 上海科学技术出版社。
- [2] Беляя, Ю. А.; Ж. М. Э. И., 3: 65, 1962.
- [3] 朱忠男等: 临床医学检验, 第一版, 第 504 页, 1979 年, 上海科学技术出版社。
- [4] 西奈 比尔格(景冠华等译): 各种传染病微生物检查法, 第一版, 第 322 页, 1958 年, 人民卫生出版社。