

细菌鞭毛负染法

王全德 李进芬

(新乡医学院微生物学教研室, 河南)

摘要 研制了一种细菌新的鞭毛染色法——鞭毛负染法: 染液平铺在标本上, 然后倾斜玻片, 由染液上缘慢慢而连续地滴加冲洗液, 使玻片上形成一层具有憎水性金色金属光泽薄膜。镜下观察背景呈鲜艳的红紫色, 菌体呈深紫红色, 菌周及鞭毛无色, 对比非常清晰。该法方法简便, 取材容易, 重复性极好, 显示鞭毛的细菌种类多, 标本能够保存。

关键词 细菌; 鞭毛; 负染法

鞭毛染色依其染色结果, 分为正染色法及负染色法。正染色法较多, 负染色法罕见, 目前只有刚果红负染色法^[2,3], 该法虽然简便, 但是, 只能使少数细菌显示鞭毛, 鞭毛粗细不能控制,

菌体不着色, 标本不能保存。我们研制了一种

本文承谢少文教授审阅, 特此致谢; 孙淑萍、杨晓二位同志参加部分工作, 张会勤、高锦荣提出宝贵意见, 一并致谢。

新的鞭毛负染法,在国内外文献中尚未见报道。

材 料 和 方 法

(一) 染液

碱性复红 1.35g, 95% 乙醇(化学纯)10.00 ml, 甘油(化学纯) 55.00ml, 蒸馏水 33.65ml

碱性复红溶于乙醇内,依次加入甘油和水混匀后即可使用。该染液能够长期存放,并且可以用英雄牌打印油代替。

(二) 冲洗液

卢戈氏碘液(革兰氏第二液,最好是用前新配制) 100ml。

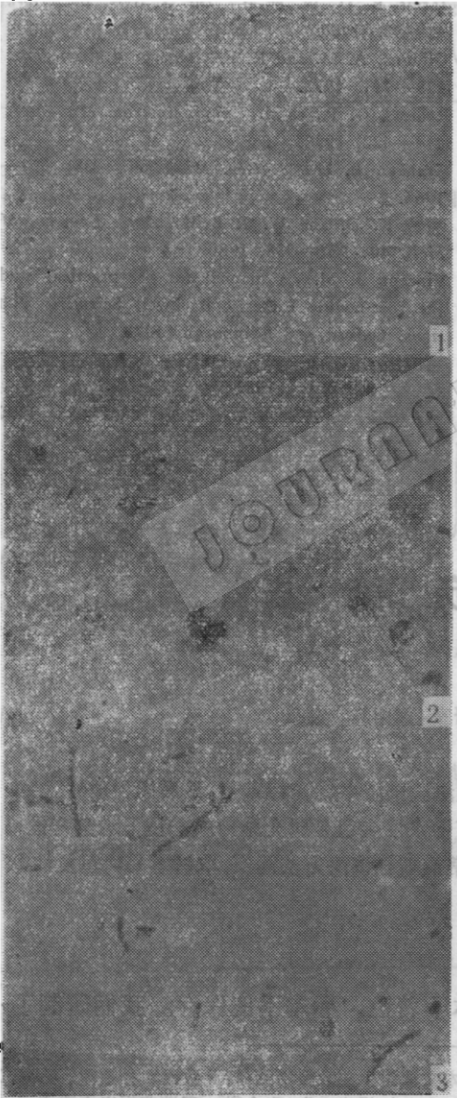


图1 鞭毛负染法的染色效果

1.绿脓杆菌, 2.伤寒杆菌, 3.变形杆菌

表1 18种有鞭毛的细菌显示鞭毛的最佳培养时间

细菌名称	血琼脂	普通琼脂	伊红美蓝
普通变形杆菌 (<i>Proteus vulgaris</i>)	+++ 8	+++ 8	+++ 8
奇异变形杆菌 (<i>P. mirabilis</i>)	+++ 24	+++ 24	+++ 24
雷极变形杆菌 (<i>P. rettgeri</i>)	+++ 24	+++ 24	+++ 24
摩根氏变形杆菌 (<i>P. morgani</i>)	+++ 24	+++ 24	+++ 24
粘质沙雷氏菌 (<i>Serratia marcescens</i>)	++ 24	++ 24	++ 24
伤寒杆菌 (<i>Salmonella typhi</i>)	+++ 8	+++ 8	+++ 8
甲型副伤寒杆菌 (<i>S. paratyphi A</i>)	+++ 8	+++ 8	+++ 8
乙型副伤寒杆菌 (<i>S. paratyphi B</i>)	+++ 8	+++ 8	+++ 8
丙型副伤寒杆菌 (<i>S. paratyphi C</i>)	+++ 8	+++ 8	+++ 8
猪霍乱杆菌 (<i>S. cholerae-suis</i>)	+++ 24	+++ 24	+++ 24
鼠伤寒杆菌 (<i>S. typhimurium</i>)	+++ 24	+++ 24	+++ 24
大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>)	++ 8	++ 8	++ 8
绿脓杆菌(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	+++ 24—48	+++ 24—48	+++ 24—48
粪产碱杆菌 (<i>Alcaligenes faecalis</i>)	+++ 24—48	+++ 24—48	+++ 24—48
水弧菌 (<i>Vibrio aquatilis</i>)	+ 24		
芽孢杆菌 (<i>Bacillus sp.</i>)	+++ 24	+++ 24	+++ 24
枯草芽孢杆菌 (<i>B. subtilis</i>)		++ 6	
破伤风杆菌 (<i>Clostridium tetani</i>)	+++ 48	+++ 48	

表中阿码数字表示显示鞭毛的最佳培养时间

1/10M NaOH 10—20ml。

NaOH 加在卢戈氏碘液中,混匀即可以使用,次日使用背景沉淀较好。此液可用一月左右。

(冲洗液另一配方: 每100ml蒸馏水内加入碘化钾 2g, 碘 0.01—0.40g)。

(三) 菌种和培养基

绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*) (单毛菌)、粪产碱杆菌(*Alcaligenes faecalis*) (丛毛菌)、普通变形杆菌(*Proteus vulgaris*) (周毛菌)等固体培养基培养物。

(四) 制片

接种环蘸取培养物少许,连同接种环放入

盛有蒸馏水的试管内，置 37℃ 温箱中 30—60 分钟，取一接种环菌液，放在洁净的玻璃片上，置温箱内令其充分干燥。

(五) 染色方法

染液平铺在标本上或在冲洗前轻轻甩去多余的染液，作用 5—10 分钟，倾斜玻片，冲洗液慢慢而连续地滴加在染液上缘，直到玻片上出现一层憎水性金色金属光泽薄膜为止，晾干。镜下观察，背景呈均匀而鲜艳的红紫色，菌体呈深紫红色，菌周及鞭毛无色，对比清晰，容易观察。

结 果

将本实验室现存的 18 种有鞭毛的细菌，接种在五种培养基上，培养不同时间(8、24、48 小时)，染色结果见表 1 和图 1。

实验的 5 种培养基中，肉汤及蛋白胨水培

培养基培养物，染不出鞭毛。血琼脂、普通琼脂及伊红美兰培养基培养物，容易显示鞭毛。

伤寒杆菌 H901、甲、乙、丙型副伤寒杆菌的幼嫩培养物，鞭毛丰富且不易断裂；普通变形杆菌幼嫩培养物，尤其是呈迁徙生长的菌膜最容易显示鞭毛；绿脓杆菌及粪产碱杆菌 24 小时以上的培养物，显示鞭毛的细菌多而且鞭毛粗；破伤风杆菌的鞭毛卷曲呈烫发状；枯草杆菌的鞭毛不容易显示，将该菌接种在普通琼脂培养基上，转种两次培养 6 小时，显示出了较短的鞭毛。

参 考 文 献

- [1] 史敏言：检验诊断学，人民卫生出版社，北京，1958 年，第 400 页。
- [2] 程景春：浙江医学，7(1)：59，1985。