

解脲脲原体生物学特性的研究

李宁丽* 黄谷良 林特夫

(安徽蚌埠医学院微生物学教研室)

摘要 本文研究了4株解脲脲原体的生物学特性,发现解脲脲原体在不含血清的液体培养基中加有青霉素 3.1×10^3 — 1.2×10^4 u/ml 即可生长2—4代;在半固体培养基培养时,除指示剂变色外无肉眼可见生长现象。解脲脲原体不同株对醋酸铊敏感性不一,当浓度 < 0.1 mg/ml 时,无抑制生长作用。

关键词 解脲脲原体;青霉素;穿刺线;醋酸铊

脲原体 (Ureaplasma) 是支原体中的一个属。解脲脲原体 (U. urealyticum) 是脲原体属的唯一一种。它首先由 Shepard 分离,在国外报道较多。在国内自叶元康于1984年^[1]首先分离后尚未见其它报道。对国内菌株的特性了解甚少。本文对4株解脲脲原体在无血清培养基和半固体培养基中的生长情况及其对醋酸铊的敏感性进行了研究和测定。

材料与 方法

(一) 供试菌株

解脲脲原体 U_1 、 U_2 、 U_3 和 U_4 株由本室分离(经生化反应、尿素酶测定、生长特征及 G + C 含量测定均符合解脲脲原体鉴定标准)。人型支原体 H_1 (标准株) 由首都儿科研究所提供, H_2 由本室分离。

(二) 培养基

以牛肉浸出液、猪胃消化液各 50ml、NaCl 0.5g、0.4% 酚红 0.5ml 作为母液。半固体培养基在母液中另加琼脂 0.3g。解脲脲原体培养基在母液中加入尿素 0.15g。人型支原体培养基在母液中加入盐酸精氨酸 0.25g。上述两种培养基在灭菌后加入人血清 15ml, 青霉素 G 钾盐 100 u/ml。

(三) 青霉素 G 钾盐稀释液

取试管 20 只,从第一管含青霉素 40 万 u/ml 开始,用不含血清的培养基 1ml 作对倍稀释至 19 管,第 20 管即不含血清也不含青霉素。以

含血清但不加青霉素的为对照管。各管中均接种 10^6 ccu 生长菌液,培养后,将呈阳性生长管的菌液再移入含相同浓度青霉素管中。如此反复观察解脲脲原体在含不同浓度青霉素(不含血清)管中的生长情况。

(四) 醋酸铊稀释液

取 10% 醋酸铊 (CH_3COOTl , 263.42, 上海试剂一厂出品) 水溶液 1ml, 另取 1ml 液体培养基(含血清)依次进行倍比稀释至第 10 管,使其浓度为 0.049—25 mg/ml。接种 10^6 ccu 生长菌液, 7 天仍不生长者为阴性。

(五) 菌种接种方法

在半固体培养基上分别用穿刺法与混种液接种^[2]。

试验结果

(一) 青霉素与解脲脲原体生长关系(图 1)

从图 1 看出, 4 株解脲脲原体和 2 株人型支原体在含青霉素的无血清培养基中的生长情况不同。 U_1 、 U_3 和 U_4 在青霉素浓度为 1.56×10^3 u/ml 及 2.5×10^4 u/ml 时可生长 1 代, 在 3.125×10^3 — 1.25×10^4 u/ml 时可生长 2 代。 U_2 在 1.25×10^4 — 2.5×10^4 u/ml 时可生长 3 代, 在 3.125×10^3 — 6.25×10^3 u/ml 时可生长 4 代, 在 7.8×10^3 — 1.56×10^4 u/ml 时可生长

* 现在安徽医科大学微生物教研室工作。

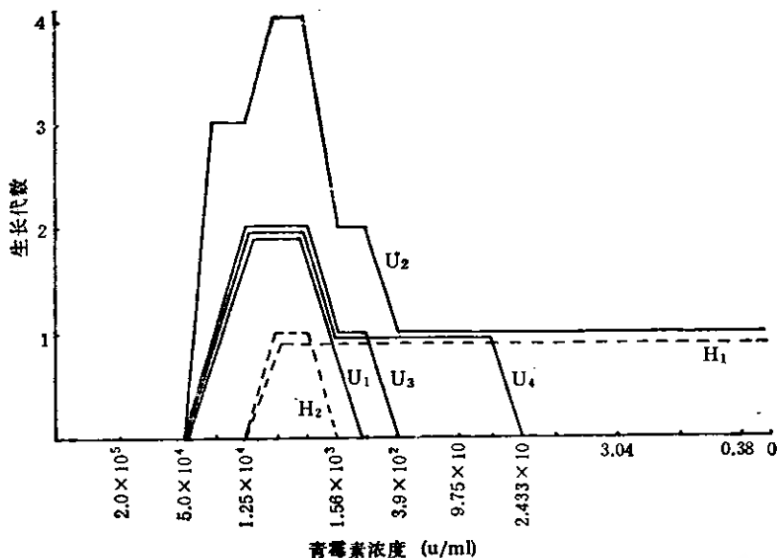


图1 解脲脲原体和人型支原体在含青霉素的无血清培养基中生长情况
(U₁-U₄为解脲脲原体; H₁和H₂为人型支原体)

2代,在 $< 3.9 \times 10^3$ u/ml时可生长1代。在 $> 5.0 \times 10^4$ u/ml时4株解脲脲原体均不生长。H₁在青霉素浓度 $< 6.25 \times 10^3$ u/ml时可生长1代;H₂在 3.125×10^3 — 6.25×10^3 u/ml时可生长1代。在青霉素浓度为0时,U₂和H₁可生长1代,其余各株不能生长。该实验重复多次结果相同。

(二) 解脲脲原体在半固体培养基中生长情况

在半固体培养基上,人型支原体经穿刺接种

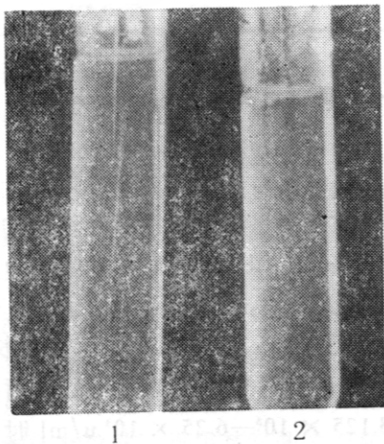


图2 解脲脲原体和人型支原体经穿刺法接种后的生长情况

1.人型支原体 2.解脲脲原体

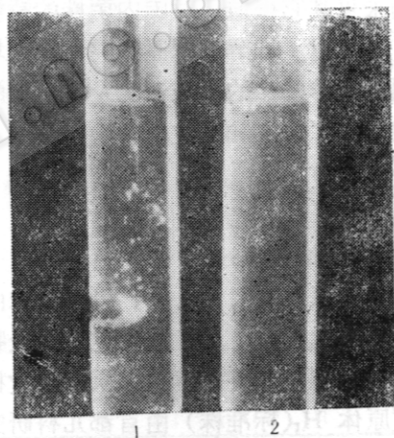


图3 解脲脲原体和人型支原体经混种法接种后的生长情况

1.人型支原体 2.解脲脲原体

种后有明显穿刺线形成(图2-1),而解脲脲原本体则无穿刺线形成(图2-2)。人型支原体在经混种接种后出现密集生长的菌落(图3-1),而解脲脲原体无密集菌落生长(图3-2)。在远离穿刺线处取琼脂移种后仍有脲原体生长。脲原体在斜面培养基上点种,在不同培养时间取接种点上方的琼脂移种,结果随培养时间的延长,移种后出现脲原体生长的半径加大。电镜观察解脲脲原体表面无鞭毛或纤毛样物质(图4)。



图4 解脲脲原体形态,电镜负染 $\times 60000$

(三) 醋酸铊敏感试验

人型支原体对醋酸铊不敏感。当醋酸铊浓度为 $< 12.5 \text{ mg/ml}$ 时,对人型支原体的生长无明显影响。4株解脲脲原体对醋酸铊的敏感性不同。 U_3 与 U_4 在醋酸铊浓度为 $0.2-0.4 \text{ mg/ml}$ 时开始出现生长延迟。 U_1 与 U_2 在醋酸铊浓度为 12.5 mg/ml 时出现生长延迟。

讨 论

1. 解脲脲原体必需在培养基中加有动物血清才能完成合成胆固醇的功能。因血浆脂蛋白分子作为胆固醇载体,将胆固醇从支原体膜外运至膜内,以维持支原体膜功能,故认为一般支原体(除无胆甾原体外)在无血清时不能生长^[3]。国外有人用血浆提取物和卵黄代替血浆,在某些支原体培养中获得成功^[4]。而青霉素是作为抑菌剂加入支原体培养基^[5]中。尚未见到青霉素有促进支原体生长报道。作者在实验中发现当青霉素浓度为 $3.125 \times 10^3-1.25 \times 10^4 \text{ u/ml}$ 时,所分纯的4株解脲脲原体在无血清培养基中亦可生长2-4代。人型支原体在青霉素浓度为 $3125-6250 \text{ u/ml}$ 时仅可生长1代。其作用机制尚待研究。作者还认为,在短期培养制备支原体抗原时为避免血清抗原的渗入,可用

青霉素(浓度 $3.125 \times 10^3-6.25 \times 10^3 \text{ u/ml}$)代替血清培养解脲脲原体和人型支原体。

2. 在半固体培养基中的生长情况:解脲脲原体与其它支原体一样,在固体培养时产生“油煎蛋”状菌落,但菌落微小。在液体培养时根据指示剂变色来指示生长。在半固体培养基中生长与其它支原体不同。穿刺接种时无穿刺线形成。混种接种时无特征性菌落。除 pH 改变外,无任何可见生长现象。但在远离穿刺部位有脲原体存在,表明解脲脲原体可在琼脂间运动。

3. 除解脲脲原体和生殖道支原体^[6]外,对一般支原体的培养均可加入醋酸铊 $0.01-0.25 \text{ mg/ml}$ ^[2,5],与青霉素共同应用,可分别抑制革兰氏阴性与阳性杂菌生长。Shepard 等认为脲原体的脲酶活性基团巯基对重金属离子(如铝、汞、铊等)十分敏感,醋酸铊可抑制生长^[7]。但也有人认为醋酸铊仅使菌生长延迟^[8]。本实验结果表明不同株的解脲脲原体对醋酸铊敏感性不同。当醋酸铊浓度 $< 0.1 \text{ mg/ml}$ 时,对4株脲原体的生长无影响。故临床上初次分离脲原体时,在培养基中加入 $0.01-0.1 \text{ mg/ml}$ 醋酸铊,可以加强抑制杂菌和提高检出率的作用。

参 考 文 献

- 1 叶元康等:蚌埠医学院学报,7(4):250,1984.
- 2 胡宗汉等:中华微生物学和免疫学杂志,1(3):196,1981.
- 3 Sayed IA. et al.: *J. Bacteriol.* 151(2):629,1982.
- 4 Sasaki T. et al.: *Microbiol. Immunol.* 37(5):491,1987.
- 5 Freundt EA. et al.: *Methods in Mycoplasmaology*. Vol. 1. Academic Press. New York. P. 127, 1983.
- 6 Tully GJ. et al: *The Lancet*. 1: 1288, 1981.
- 7 Freundt E A: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed., The Williams and Wilkins Company, Baltimore, P. 929, 1974.
- 8 Freeman BA: *Burrows Textbook of Microbiology*. 22nd ed., Company Philodophia. P. 687, 1985.