

在鉴定不需要生长因子的细菌 时应重视底物利用试验

赵乃昕

(山东潍坊医学院, 潍坊 261042)

医学细菌学检验和菌种鉴定时过去常做糖醇发酵试验,这对引起人和动物传染病的肠道杆菌和病原性弧菌是很方便适用的。可是对于近年来报道越来越多的非发酵型细菌来讲,它们不发酵糖醇类,仅在有氧氧化过程中产生少量的酸。此少量的酸的显示需要一定的条件,即低胨、半固体及用 BTB 这一敏感的 pH 指示剂。亦即用标准的 OF 培养基方可。即便如此,也常因培养基的配制及菌种的差别而致结果不易判断,影响正确的鉴定。而且产酸试验只限于糖醇类,对其它许多化合物就无能为力。而底物利用试验却可以试验糖醇类、有机酸的盐和氨基酸等各种有机化合物。早在 20 年前 Stanier 等^[1]在假单胞菌属的分类鉴定中就充分使用了底物利用试验,他们使用包括糖醇类、有机酸盐、氨基酸和其它有机化合物,共达 126 种进行试验。他们的工作奠定了假单胞菌属表型描述和分类的基础。底物利用试验是在无机盐基础培养基(Mineral Basal Medium, MBM)中加入单一的有机化合物为碳源,接种细菌,能利用此化合物的即生长,不利用的不生长。观察生长与否,现象十分明确,结果易于判断。底物利用试验最适用于不需要生长因子的菌种^[2],这一类非发酵菌有假单胞菌属、丛毛单胞菌属、食酸菌属、嗜氢菌属、伯克氏菌属、华丽单胞菌属、黄素单胞菌属、金杆菌属、氢杆菌属和不动杆菌属等。我们^[3]利用 120 余种底物进行底物利用试验、其它生化反应和遗传性状的实验,对发生在我国的酵母面中毒菌——椰毒假单胞菌进行了系统地描述,并确定了此菌的分类地位。

对于发酵型细菌,固然可方便地进行糖醇

发酵试验,而对于其中不需要生长因子的菌种,同样可进行底物利用试验,达到更广泛充分地描述和观察表型性状,使鉴定和分类建立在更准确可靠的基础之上。这些菌属包括埃希氏菌属、柠檬酸杆菌属、肠杆菌属、克雷伯氏菌属、欧文氏菌属、沙雷氏菌属、普罗非登斯菌属和气单胞菌属等。Grimont 与 Grimont^[4]使用底物利用试验,用了约 40 种底物,使沙雷氏菌得到详细的分种和分型。我们^[5]利用底物利用试验对来自临床的粘质沙雷氏菌进行了分型。底物利用试验可提供被试菌株的众多信息符号,几乎没有两个菌株是完全一致的,极利于流行病学追踪调查。

在进行底物利用试验之前,首先要知道此菌是否需要生长因子,只有对不需要生长因子的细菌方可在 MBM 上试验对有机化合物的利用与否。通常可接种到葡萄糖铵盐培养基(即 MBM+葡萄糖),生长者即不需要生长因子。能在西蒙氏柠檬酸盐琼脂上生长的细菌即不需要生长因子,但在此培养基上不生长的细菌不都是需要生长因子的,有的是因为不能利用柠檬酸盐而不生长,大肠埃希氏菌即是这种情况。所以建议生产使用葡萄糖铵盐培养基。

进行底物利用试验,可使用含有微量元素的无机盐基础培养基,如文献[6]所述,但在日常的一般细菌鉴定中,使用西蒙氏柠檬酸盐琼脂中的成分,只是将其中的柠檬酸盐换成不同的化合物即可。

对于需要生长因子的细菌,也可以做底物利用试验,但要在 MBM 中补加微量的酵母浸

膏(通常为0.02%~0.05%,要根据不同的菌属决定),再做底物利用试验,并要有阳性和阴性对照及不含底物的培养基对照。黄杆菌属、黄单胞菌属、土壤杆菌属、根瘤菌属和棒状杆菌属等属于这一类细菌。

据我们的经验,底物利用试验可以用斜面培养基(琼脂为1%),也可以做成平板培养基。底物的含量为0.3%。每个平板可同时试验10个菌株,将生理盐水菌悬液用接种环点种在琼脂表面,孵育48h后观察结果。也可在培养基中加入BTB,这样可同时看到pH变化。加入的BTB应是水溶液而不得使用乙醇溶液,因为有的菌种可以利用乙醇为碳源,此时便干扰了整个试验结果^[7]。

附带指出,在不少细菌学检验报道中,对糖醇类实验结果只讲阳性或阴性,而不说明做的是发酵试验,仅含微量脲的氧化产酸试验还是底物利用试验。而上述不同的试验,结果可以不同。方法与结果密切相关。因而,通常以下四种情况必须区别开来。(1)对于不需要生长因子的细菌(不论是专性需氧菌还是兼性厌氧菌)在MBM中进行的底物利用试验;(2)对于需

要生长因子的细菌,在MBM+微量酵母浸膏(<0.05%)中进行的底物利用试验;(3)对于发酵型细菌在含脲培养基(常为液体)中进行的糖醇发酵试验;(4)对于氧化型细菌在低脲(通常0.2%)的半固体培养基中以BTB为pH指示剂进行的糖醇类产酸试验和有机酸盐的产碱试验。

只有这样,才能较准确地观察细菌的表型性状,其实验结果才易被理解并方便对比。

参 考 文 献

- [1] Stanier R Y, Palleroni N J, Doudoroff M. J Gen Microbiol, 1966, 43: 159~271.
- [2] 赵乃昕, 马子行. 国外医学: 微生物学分册, 1996, 19(2): 20~23.
- [3] Zhao N, Ma M, Zhang Y, *et al.* Int J Syst Bacteriol, 1990, 40: 452~455.
- [4] Grimont P A K, Grimont F. Serratia, in Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1 The Williams and Baltimore, 1984. 477~484.
- [5] 赵乃昕, 成可径, 赵淑莲等. 微生物学通报, 1993, 20: 283~285.
- [6] Palleroni N J, Doudoroff M. Annu Rev Phytopathol, 1972, 10: 72~100.
- [7] 赵乃昕. 微生物学通报, 1986, 13(1): 封3.
