

研究简报

类胸膜肺炎微生物 (PPLO) 污染传代细胞的检查、清除及某些生物性状的探讨

汪秀明 程晓光 汪俊湘 吴洁如

(湖南医学院微生物学教研组,长沙)

我们自 1963 年底以来,先后发现传代细胞传代时贴壁不良,培养液易变酸,胞浆颗粒增加,繁殖减慢,形成单层后容易脱落;经卡那霉素处理后有所改善。这些情况与文献报导类胸膜肺炎微生物 (PPLO) 污染传代细胞时的致病作用相似^[1-5]。为此进行了 PPLO 的分离及某些生物性状的探讨,以期对 PPLO 的检查、清除及其污染来源等问题有所帮助。

分离方法及结果 将 2 株 HeLa 细胞、2 株传代肝细胞、1 株 D-6 细胞、1 株传代人羊膜 (FL) 细胞的培养液及 25 头乳牛血清,分别接种于人胚肺单层细胞培养管及人工 PPLO 固体培养基^[2]上,进行 PPLO 的分离。结果 6 株传代细胞培养液在 PPLO 固体培养基上,均长出典型的荷包蛋样集落,直径约 200 微米(图 1、2),且均能使人胚肺细胞变圆、聚集及显虫蚀样脱落现象(图 3、4)。而 25 头乳牛血清接种在 PPLO 固体培养基上,都无集落出现,也不能使人胚肺细胞发生病变(只有 8 头乳牛血清接种了人胚肺单层细胞)。

分离出微生物的生物性状检查 所分出的 6 株微生物在人工 PPLO 培养基(固体、半固体、液体)上均易生长。传代细胞株如 HeLa 细胞、传代肝细胞、传代人羊膜细胞、D-6 细胞等经这些微生物感染后,可出现圆细胞增多、胞浆颗粒增加且欠透明、细胞易于脱落、培养液易变酸等现象。原代细胞中以人胚肺细胞最为敏感,人胚肝细胞次之(病变每不典型),而人胚肾细胞则不敏感。但感染量不能太少,否则病变不显著或不出现,而以同样少量微生物接种于 PPLO 固体培养基上,于 8—14 日后,可出现典型集落生长,因此人胚肺细胞用于分离时,不及 PPLO 固体培养基(特别是塞橡皮塞的扁

平小瓶固体培养基)易于发现这种微生物的存在。感染的人胚肺细胞培养液中所含的微生物,在普通冰箱下能存活 3 月。

将分出的 6 株微生物中的 4 株(来源于不同的传代细胞),分别接种于 PPLO 糖发酵管,37℃ 培养,于 3 日内均能使葡萄糖及糊精发酵产酸。但培养 3 周后,仍不能使乳糖、蔗糖、卫茅醇、甘露醇及甘露糖发酵,这与 PPLO 的特性相符合^[6]。

用传代肝细胞及传代人羊膜细胞所分出的微生物,仿 Carter 等氏方法^[7]进行细菌“返祖”试验,即于 PPLO 固体及液体培养基上交替传种培养,间隔 1 周,共传 5—7 次,检查有无细菌自生长物中“返祖”长出,经 3 次试验都没有发现细菌长出。

污染传代细胞 PPLO 的清除 污染的传代细胞经每毫升营养液含 1000 单位青霉素及 1000 微克链霉素处理后,PPLO 不受抑制,以每毫升营养液含 100 微克卡那霉素处理,PPLO 仅暂时受到抑制。但污染的传代肝细胞改用每毫升营养液含 200 微克四环素处理,每 2—3 日换液一次,经 18 日后,再换用常规抗菌素,未再检出 PPLO。该细胞株已继续传种 25 代,逐代均进行 PPLO 的检查,都属阴性。

小结 由 6 株传代细胞培养液中,均分离出 PPLO 一类的微生物。从生化性状及细菌“返祖”试验的结果来看,支持所分出的微生物似 PPLO 属,而不似细菌的 L 型。污染的传代肝细胞,经每毫升营养液含 100 微克卡那霉素处理后,再用每毫升营养液含 200 微克四环素处理,能除去所污染的 PPLO。

本文 1965 年 9 月 9 日收到。

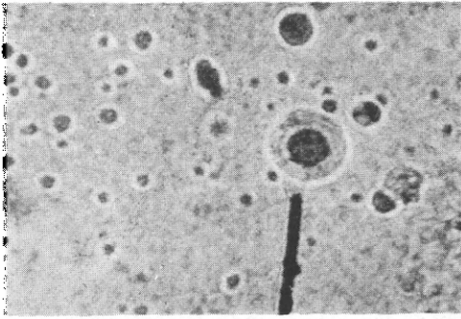


图1 HeLa 细胞-PPLO 株在人工固体培养基上生长的集落。 78×

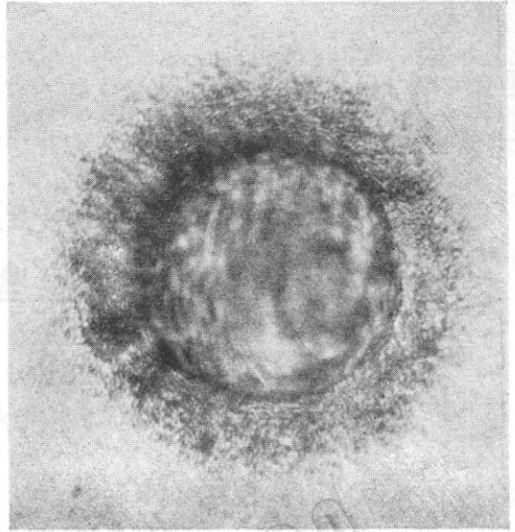


图2 同左, 热固定染色法^[2,8]。 750×

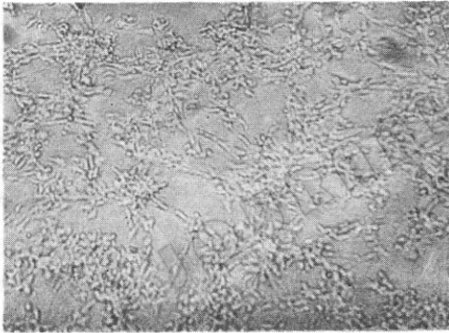


图3 HeLa 细胞-PPLO 株对原代人胚肺细胞的致病变作用。 78×

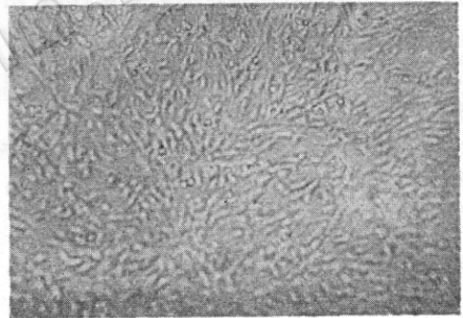


图4 正常原代人胚肺细胞单层。 78×

由 25 头新生乳牛血清, 均未分离出 PPLO, 说明本室所用的乳牛血清, 不是细胞受 PPLO 污染的来源。

参 考 文 献

- [1] 曾 毅: 国外医学动态, 7:15—17, 1963。
- [2] 何南祥、郭茂福、陈志慧、俞扬、王妮娜: 中华医学杂志, 50:78—83, 1964。
- [3] Collier, L. H.: *Nature*, 180:757—758, 1957。

- [4] Pollock, M. E., Kenney, G. E. and Syverton, J. T.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 105:10—15, 1960。
- [5] Kenney, G. E. and Pollock, M. E.: *Fed. Proc.*, 21:161, 1962。
- [6] Edward, G. D. FF., *J. Gen. Microbiol.*, 10: 27—64, 1954。
- [7] Carter, G. R. and Grieg, A. S.: *Canad. J. Microbiol.*, 9:317—320, 1963。
- [8] Clark, H. W., Fowler, R. C. and Brown, T. McP.: *J. Bact.*, 81:500—504, 1961。