

绿脓杆菌甘露糖敏感血凝菌毛株的建立

牟希亚

(大连医学院, 大连)

首次从临床标本中选育出一株甘露糖敏感血凝(MSHA)阳性的绿脓杆菌菌毛株。此菌株具有MSHA强阳性,同时还能直接粘附凝集酵母细胞,传代已一年多,性质十分稳定。此菌株可作为绿脓杆菌MSHA阳性的一个标准株,用于微生物学、免疫学、病因学及遗传学等的研究。

关键词 甘露糖敏感血凝;绿脓杆菌菌毛株

自1955年Duguid氏命名细菌菌毛以来,各国的细菌学家陆续发现许多细菌能形成菌毛。在选育各类细菌菌毛的过程中,又发现有些细菌菌毛能引起甘露糖敏感血凝(简称MSHA型菌毛或称1型菌毛),并证实各种细菌的MSHA型菌毛都存在着共同的抗原性。但是在选育绿脓杆菌菌毛时,至今却未能发现有MSHA的特征^[1,2]。其他细菌的MSHA菌毛试验也缺少稳定的强阳性对照株。因此,细菌菌毛及粘附素的研究工作进展缓慢。

1984年4月,作者从临床标本中选育出一株国内外尚未见报道的绿脓杆菌MSHA菌毛株。按培养特性、色素、生化反应及血清学分群,鉴定为绿脓杆菌IV群。已经传代一年多,性质十分稳定。

材料和方法

(一) 材料

1.菌株:8株绿脓杆菌中有7株系从脓、痰、粪便及坏死组织等标本分离得到,1株为大连医学院微生物学教研室保存菌株。

2.培养基:菌毛选育采用普通血平板培养基等。

3.红细胞悬液:

(1) 无菌操作制备的豚鼠红细胞生理盐水悬液。

(2) 豚鼠、鸡和人红细胞生理盐水悬液。

(3) 含有甘露糖的三种红细胞的生理盐水悬液。

4.绿脓杆菌分群血清(购自成都生物制品研究所)。

(二) 方法

1.筛选及选育:8株绿脓杆菌各划线接种两个平板。分成两组,每组8个平板35—37℃培养18—24小时。

第一组8个平板,各加入无菌豚鼠红细胞悬液铺满平板,置37℃作用30分钟,用无菌生理盐水冲洗3—4次,吸干液体,挑取周围粘附有大量红细胞的细菌菌落,进行血凝试验及甘露糖血凝抑制试验。

第二组8个平板,直接选取菌落,进行血凝试验及甘露糖血凝抑制试验。

选取直接血凝试验及甘露糖血凝抑制试验结果为阳性的菌落,选育传代,增强并保持其MSHA性质。

2.在电镜及普通光学显微镜下摄影。

结 果

(一) 菌毛株血凝试验结果(表1)

(二) 甘露糖血凝抑制试验结果(图1-2)

用含有甘露糖的三种红细胞生理盐水

本文于1984年12月7日收到。

本文承张颖悟副教授审阅;电镜工作由许广沅同志完成;光学显微镜照像由杨佩满同志完成,特此一并致谢。

MSHA = Mannose Sensitive Haemagglutination

表 1 MSHA 与传代的关系

Table 1 Relation between MSHA and the propagation of *Ps. aeruginosa*

凝集程度 红细胞	第 1 代	第 5 代	第 10 代
豚鼠	++	+++	++++
鸡	+	+	++
人	—	—	—

注：—：不出现血凝；+：5 分钟内出现微弱血凝；++：5 分钟内出现中度血凝；+++：5 分钟内血凝明显；++++：半分钟内血凝明显。

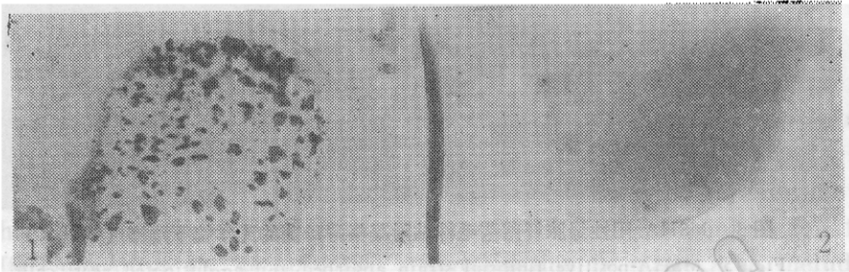


图 1 绿脓杆菌菌毛株甘露糖敏感血凝肉眼直接观察

Fig. 1 MSHA of *Ps. aeruginosa* fimbrial strain observed under naked eye
1. 甘露糖敏感血凝阳性结果 1. MSHA positive
2. 甘露糖敏感血凝受甘露糖抑制, 呈现血凝阴性反应 2. MSHA was inhibited by mannose



图 2 绿脓杆菌菌毛株电镜照片 (20,000×)

Fig. 2 Fimbrial strain observed under electromicroscope
1. 菌毛 1. Fimbriae 2. 单鞭毛 2. One single slender flagellum

悬液与细菌液进行血凝抑制试验, 结果菌毛株的 MSHA 被抑制, 置室温 30 分钟仍无凝集现象发生。液体呈现混浊, 油镜下观察见到红细胞及细菌菌体均匀分布在视

野中。
此外, 并以国外判定 1 型菌毛株的三项标准, 证明作者选育出的菌毛株的菌毛符合 1 型菌毛的标准^[3-7]: 1. MSHA 呈强

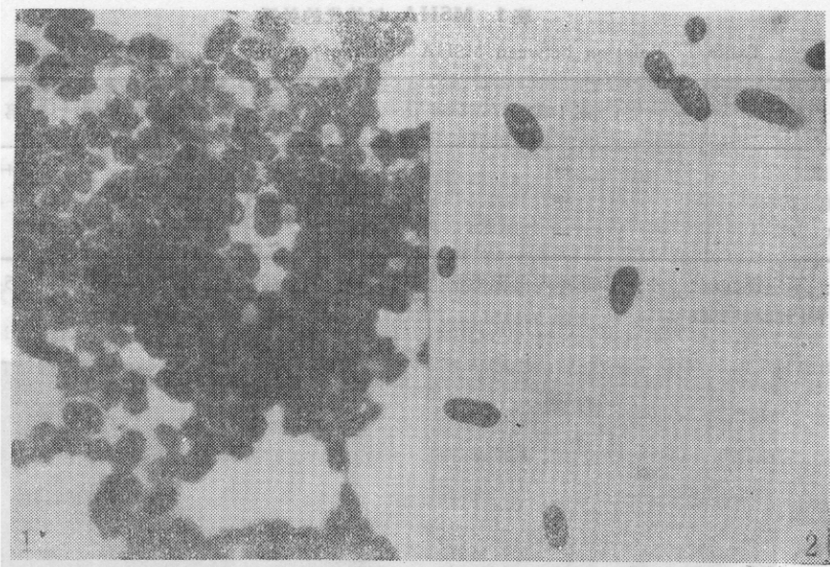


图3 MSHA 阳性绿脓杆菌菌毛株粘附凝集酵母菌的光学镜下观察 (1000×)

Fig. 3 MSHA-positive fimbrial strain adsorbed and agglutinated yeast cells

1. 许多绿脓杆菌 MSHA 菌毛株菌体粘附在酵母细胞的周围

1. Many MSHA-positive fimbrial cells of *Ps. aeruginosa* adsorbed around yeast cells

2. 绿脓杆菌 MSHA 阴性株, 不能粘附凝集酵母细胞

2. MSHA-negative strain of *Ps. aeruginosa* could not absorb and agglutinate yeast cells

阳性(图 1-1); 2. 平板菌落粘附红细胞试验呈强阳性; 3. 电镜下见到并拍摄出典型的绿脓杆菌菌毛株照片——菌体周围有许多纤细而直的菌毛, 菌体一端有细长而弯曲的单一鞭毛^[5,6](图 2)。

作者在取得 MSHA 阳性结果后, 又以酵母菌的直接凝集试验重复验证红细胞凝集现象为 MS 血凝^[1,4]。采取被绿脓杆菌 MSHA 菌毛株凝集的酵母细胞, 涂片革兰氏染色, 普通光学显微镜下观察, MSHA 阳性的绿脓杆菌菌毛株的许多菌体粘附在酵母细胞的周围 (图 3-1); 而绿脓杆菌 MSHA 阴性对照株, 则缺乏凝集和粘附酵母细胞的能力(图 3-2)。

讨 论

1977 年以来, 国外学者检查过许多绿脓杆菌, 至今未能选育出具有 MSHA 型的绿脓杆菌菌毛株^[1,2]。Gilboa 和 Garber, Glick

和 Garber 等人认为绿脓杆菌与其他革兰氏阴性细菌不同, 他缺乏将其 MSHA 凝集素固定(anchor)到细菌体表面上的基因, 因而绿脓杆菌活培养物不可能出现 MSHA^[1]。

最近发现各种细菌的 MSHA 型菌毛有共同抗原性, 使用 MSHA 菌毛株制备的菌苗, 自动免疫后, 具有广谱抗感染作用^[7]。作者选育的新菌株填补了绿脓杆菌 MSHA 菌毛株的空白。此菌株可向国际菌种保存中心推荐为绿脓杆菌 MSHA 阳性标准株, 用于微生物学、免疫学、病因学及遗传学等多个领域的研究。

参 考 文 献

- [1] Sharon, N. et al.: Adhesion and Microorganism Pathogenicity. (Ciba Foundation Symposium 80) Pitman Medical, pp. 119--141, 1981.
- [2] Ramphel, R. et al.: *Infect Immun.*, 43: 34--40, 1984.
- [3] Gastron, M. and F. K. DeGraaf: *Microbiol.*

- Rev.*, 46: 129—161, 1982.
- [4] Jann, K. et al.: *Infect Immun.*, 34: 980—983, 1983.
- [5] 余滨主编: 《医用微生物学》, 人民卫生出版社, 北京, 第23页; 346页, 1983.
- [6] Wolk, W. A. and M. F. Wheeler: *Basic Microbiology*, 3th ed., C. J. B. Lippincott Company, Philadelphia, Toronto, p. 46, 1973.
- [7] Levine, M. et al.: *Infect Immun.*, 39: 889—897, 1983.

SUCCESS IN ESTABLISHING THE MSHA-POSITIVE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* FIMBRIAL STRAIN

Mu Xiya

(Department of Microbiology, Dalian Medical College, Dalian)

The author had successfully selected breeding a MSHA-positive *Ps. aeruginosa* fimbrial strain on April, 1984. This new MSHA-positive fimbrial strain was isolated and selected from clinical specimens.

It has strong MSHA and yeast agglutination characteristics. Up to more than one year, after propagating many generations, it still persists its main properties.

This fimbrial strain may be used as

a standard positive control for fimbrial investigation in many area including microbiology, immunology, infection, epidemiology, etiology and genetics, etc.

Key words

MSHA; *Ps. aeruginosa* MSHA fimbrial strain