

细菌生长的热谱图测定*

谢昌礼 汤厚宽 宋昭华 屈松生

(武汉大学化学系, 武汉)

廖耀庭 刘海水

(广州军区武汉总医院, 武汉)

细菌细胞内的各种代谢过程都伴有一定的热效应。用微量热法连续测量细菌生长过程中的这种热效应的变化, 可获得细菌生长的“热谱图”(thermograph), 为细菌代谢和生长特性的研究提供有用的数据。早在 60 年代, Forrest 等就对此法进行过广泛研究^[1,2]。而后 Boling 等则用此法测得了肠杆菌科的 10 属 17 种细菌在脑心浸液培养基中生长的热谱图^[3], 对用热谱图鉴别细菌进行了有益的探索。但他们测得的热谱图似不够完整, 本文应用微量热法测得了细菌生长的完整的热谱图。

材料与 方法

(一) 菌株

大肠杆菌 (*Escherichia coli*), 浓度 800 万个/ml; 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*), 浓度 800 万个/ml; 伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*), 浓度 800 万个/ml; 猪霍乱沙门氏菌 (*Salmonella choleraesuis*); 浓度 800 万个/ml; 弗氏志贺氏菌 (*Shigella flexneri*); 肺炎克雷伯氏菌 (*Klebsiella pneumoniae*); 阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*); 司徒氏普罗威登斯菌 (*Providencia stuartii*); 雷极氏普罗威登斯菌 (*Providencia rettgeri*); 产气肠杆菌 (*Enterobacter aerogenes*); D 群链球菌 (D group of streptococci); 弗氏柠檬酸杆菌 (*C. diversus*); 绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*); 共 13 种。

(二) 培养基

硫酸镁肉汤培养基, 每 1000 ml 含: NaCl 5g, 柠檬酸钠 6.2g, K₂HPO₄ 2g, MgSO₄ 5g, 对氨基苯甲酸 0.02g, 牛肉膏 3g, 蛋白胨 5g, 豚豚 5g, 胰酶 5g, 2 mol/L NaOH 2.5 ml。配制方法是: 将水煮沸, 加入上述各物, 混合放凉, 再用 2 mol/L NaOH 将 pH 调至 7.2—7.4, 用滤纸过滤

后分装于试管或小瓶, 在 1 kg/cm² 压力下灭菌 20 min。放凉后可置冰箱备用。

以上菌样和培养基均由广州军区武汉总医院检验科提供。

(三) 仪器和测定方法

微量热计: LKB 2277 型“BAM”生物活性监测系统 (LKB 公司)。

实验采用连续流动方式、差示量热, 详见文献 [4]。

先按如下顺序清洗和消毒流动池: 以 40 ml/h 流速的无菌蒸馏水清洗 30 min; 以 40 ml/h 流速的 0.1 mol/L H₂SO₄ (或 HCl) 溶液清洗 20 min; 以 25 ml/h 流速的 75% 酒精清洗、消毒 20 min; 以 40 ml/h 流速的无菌蒸馏水清洗 30 min。清洗完毕后, 以 10 ml/h 流速的无菌蒸馏水走基线, 待基线稳定后, 以相同流速泵入菌样和培养基的混合液, 确认样品液充满流动池 (其容积为 0.6 ml) 时停泵。仪器即开始测量记录流动池内细菌生长的热谱曲线。

当记录笔返回基线后, 即认为实验结束。必要时可对仪器进行电标定。

结果与 讨论

对 13 种被试细菌测得的热谱图如图 1 所示。由图可见, 这些热谱曲线清晰而完整, 与细菌生长过程的各个阶段 (包括延滞期、对数期、稳定期及衰亡期) 能很好地吻合。在相同的条件 (如相同的培养基和培养温度等) 下, 对每一种菌进行多次检测, 发现不同种细菌的热谱曲线具有不同的富有特征性的模式, 且重现性良好, 说明有可能利用这些热谱图作为“指纹图”来鉴别不同的细菌。当

本文于 1988 年 6 月 11 日收到。

* 国家自然科学基金资助课题。

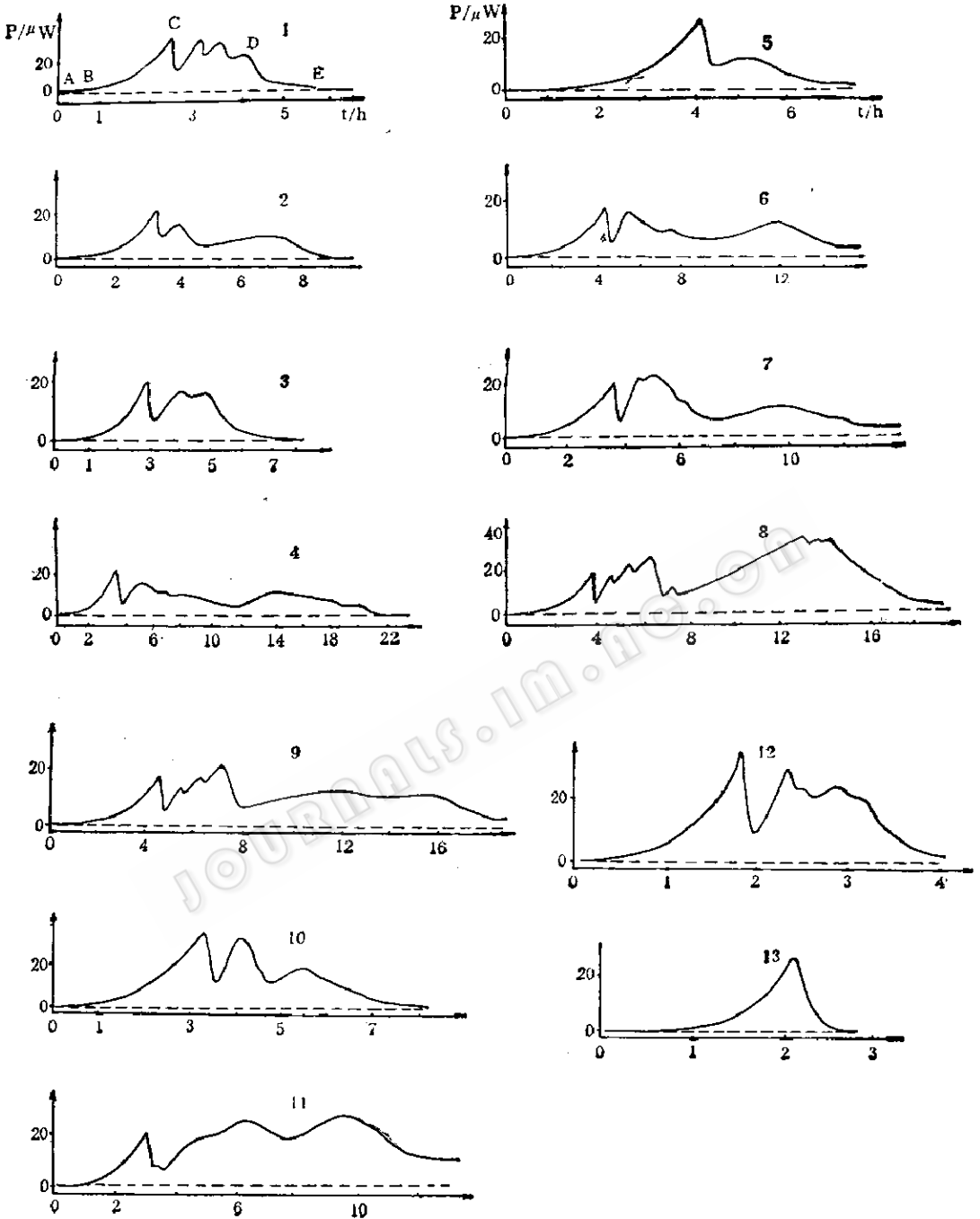


图1 37℃下用硫酸镁肉汤培养细菌的热谱图

1. 大肠杆菌; 2. 金黄色葡萄球菌; 3. 伤寒沙门氏菌; 4. 猪霍乱沙门氏菌; 5. 福氏志贺氏菌; 6. 肺炎克雷伯氏菌; 7. 阴沟肠杆菌; 8. 司徒氏普罗威登斯菌; 9. 雷极氏普罗威登斯菌; 10. 产气肠杆菌; 11. D群链球菌; 12. 弗氏柠檬酸细菌; 13. 绿脓杆菌。

然,本实验的被试菌数太少,尚需进一步实验证明。

从细菌生长的热谱曲线的指数生长段可以算出细菌生长的速率常数和传代时间。表1所列就

是被试的13种细菌在硫酸镁肉汤培养基(37℃)中生长时的速率常数和传代时间。这为微生物代谢、生物热力学和临床医学的研究提供了丰富的

表 1 37℃ 下细菌的生长速率常数和传代时间

菌 样	生长速率常数 K/min ⁻¹	传代时间 G/min
大肠杆菌	0.03969	17.5
金黄色葡萄球菌	0.03817	18.2
伤寒菌	0.02364	29.3
福氏志贺氏菌	0.02977	23.3
猪霍乱菌	0.02849	24.3
弗氏柠檬酸细菌	0.03315	20.1
D群链球菌	0.02401	28.9
产气肠杆菌	0.02442	28.4
肺炎克雷伯氏菌	0.02403	28.8
雷极氏普罗威登斯菌	0.02460	28.2
司徒氏威登斯菌	0.03117	22.2
绿脓杆菌	0.02069	33.5
阴沟肠杆菌	0.01651	42.0

信息。

我们的初步实验表明，微量热法为研究细菌细胞的代谢过程及其有关特性提供了一种有效的方法，对热化学及生物学的研究都是很有意义的。

参 考 文 献

- [1] Forrest, W. W.: *Biochemical Microcalorimetry*, (ed. by Brown, H. D.), Academic Press, New York, 1969.
- [2] ———: *Methods in Microbiology*, Vol. 6B, (ed. by Norris, J. R. et al.), Academic Press, New York, pp. 285—318, 1972.
- [3] Boling, E. A. et al.: *Nature* (London), 241: 472—473, 1973.
- [4] Monk, P. et al.: *Acta Chem. Scand.*, 22: 1842—1852, 1968.

DETERMINATION OF THERMOGRAMS OF BACTERIAL GROWTH

Xie Changli Tang Houkuan Song Zhaohua Qu Songsheng

(Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan)

Liao Yaoting Liu Haishui

(Army Hospital of Guangzhou Military District, Wuhan)

The fundamental growth thermograms of bacteria have been determined by using the microcalorimetric method. These perfect thermogram curves reflect the changes of bacterial growth patterns (including the lag phase of growth, log growth, stationary phase and the decline phase of growth). In our experiments, highly characteristic and reproducible

growth patterns are observed under same condition, therefore one can use these thermograms as "finger print" to discriminate bacteria. On the other hand, there thermogram curves contain ample information, which are very significant for the studies on microorganism metabolism, bio-thermokinetic and clinical fields.