

泡囊假单胞菌的分离及鉴定

王建升 张立志 刘朱梅

(河北省人民医院 石家庄 050051)

摘要 从一例心包积液患者的心包液中, 分离到一株氧化代谢、氧化酶阳性, 具单极毛运动的革兰氏阴性杆菌。经形态、生理生化特性鉴定, DNA 的 G+C mol% 测定和 Biolog 自动系列的验证, 确认为泡囊假单胞菌 (*Pseudomonas vesicularis*)。指出该菌可使免疫力低下患者发生感染。对该菌分类地位的变迁进行了讨论。

关键词 泡囊假单胞菌, 分离, 鉴定

泡囊假单胞菌是 Buing 等^[1]于 1953 年发现的, 但假单胞菌的命名还是由 Galarmeaut 和 Sefson^[2]在 1964 年才提出的。该菌可以从医用水蛭和河流中分离到^[3]。临床上可从尿道、膀胱、子宫颈标本中分离到^[4~6]。国内曾有一株分离于尿标本的报告^[7]。最近我们从一例患者的心包积液中分离到, 并进行生理、生化及分子生物学指标的鉴定, 又经快速 Biolog 鉴定系统的验证, 鉴于如此全面系统的研究还不多见, 现报道如下:

1 材料和方法

1.1 菌株

来源于一例宫体癌合并心包积液患者的心包积液。

1.2 培养基

试验所用培养基购自浙江军区卫生防疫检验所; 快速鉴定系统用美国 Biolog 公司的 Micro plate。

1.3 分离培养和鉴定方法

无菌操作将心包积液接种于牛肉汤管, 35℃ 培养 48h, 牛肉汤变混浊, 转种至平板, 35℃ 培养 48h 后, 长出灰白色菌落, 挑菌落分别观察动力, 形态染色及生化特性做进一步鉴定^[8,9]。

1.4 药敏试验

用纸片扩散法(纸片购自上海市医学化验所, 并用质控菌株大肠埃希氏菌 ATCC25922 标定后使用)。使用 MHA 培养基。按常规操作和判断结果。

1.5 DNA 的 G + C mol% 的测定

DNA 的提取根据 Marmur 的方法^[10], Tm 值用 Sprecord UV Vis 等 SX 分光光度计以点温计直接测定法^[11]。

2 结果

2.1 形态特征

革兰氏阴性杆菌, 无荚膜, 无芽胞, 无抗酸性, 无两极浓染现象。单根极毛。

2.2 培养特性

专性需氧, 35℃培养 24h, 在血平板上长出针尖状的菌落, 48h后, 形成圆形, 湿润, 不透明的灰白色菌落, 无色素、无气味、无溶血现象。麦康凯普通琼脂平板上均能生长; SS 平板上不生长; 4℃及 42℃环境中不生长; 克氏双糖铁上、下层均不产酸; 硫化氢阴性; 牛肉汤管内均匀混浊生长。

2.3 生理生化特性

葡萄糖的 O/F 测定为氧化型产酸。氧化酶、接触酶均为阳性。不产荧光色素。

阳性特性: 对乳糖、麦芽糖、木糖、果糖、半乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖、蜜二糖、卫矛醇产酸, 能产淀粉酶、邻-硝基苯-对-半乳糖苷酶。水解七叶灵。葡萄糖酸盐氧化。利用柠檬酸盐。

阴性特性: 吡啶、M.R.、V-P、H₂S。对蔗糖、甘露糖、棉子糖、葡萄糖、甘露醇、山梨醇、肌醇、苦杏仁苷产酸。脲酶、苯丙氨酸脱氨酶、精氨酸双水解酶、鸟氨酸脱羧酶、赖氨酸脱羧酶和 DNase。硝酸盐还原和反硝化。明胶液化。6.5% NaCl 生长。

2.4 药敏试验

本菌株对泰能、多粘菌素、利福平、链霉素、氯霉素、卡那霉素、丁胺卡那霉素敏感; 对先锋必素、妥布霉素、菌必治、西力欣、环丙沙星中度敏感; 对万古霉素、复达欣、羧苄青霉素、先锋霉素 V、氨苄青霉素、呋喃妥因、庆大霉素耐药。

2.5 DNA 的 G + C 含量测定

该菌株的 DNA 的 G + C mol% 为 64.29 (Tm 值法)。

3 讨论

Palleroni 等^[11]根据 rDNA 同源性将假单胞菌分成 5 个 rDNA 同源群, 泡囊假单胞菌与缺陷假单胞菌同归于 rDNA IV 群, 该分类系统被公认, 而纳入《伯杰氏系统细菌学手册》中^[3]。最近, Segers 等^[13]不仅根据 DNA-rRNA 杂交的结果, 同时还全面比较了全细胞蛋白、脂肪酸组成、表型特征、DNA 碱基和 DNA 的相关性等性状, 得出 IV 群应列一个新属——短波单胞菌属 (*Brevundimonas*), 包括两个种泡囊短波单胞菌 (*Brevundimonas vesicularis*) 和缺陷假单胞菌 (*Brevundimonas diminuta*)。由于泡囊假单胞菌在 O-F 培养基中可氧化糖类而产酸, 但酸性反应很弱, 可疑或不出现, 因而易和缺陷假单胞菌及其它类似假单胞菌相混淆。也有容易同产碱杆菌相混淆的报告^[3]。本菌与前者鉴别可用七叶苷水解试验, 与后者的鉴别主要靠鞭毛染色。但本分离菌可氧化利用大部分糖类, 因而很易同它们相区别, 但又易同驼动假单胞菌 (*Pseudomonas pauamobilis*) 相混淆, 只不过本菌可在麦康凯平板上生长, 而后者则不长。因此, 当实验室分离到氧化利用糖类、七叶苷阳性的单毛菌都应考虑到本菌, 并详细鉴定。在分离及鉴定驼动假单胞菌等类似细菌时应予以区别, 若有困难, 可送有关部门鉴定。

虽然根据上述生物学特性鉴定为泡囊假单胞菌, 但由于本菌少见, 有关其生物学性状的报道也较少, 而且本菌的某些生化特性(如某些糖类及醋酸盐)与文献^[6, 8, 14]不同, 因而为了保证检出结果的准确, 特请中国科学院微生物研究所对本菌的形态、生化及DNA的G+C含量特性等又进行了系统的鉴定和Biolog自动鉴定仪复核, 最终鉴定为泡囊假单胞菌。

目前, 对于泡囊假单胞菌致病性的认识, 鉴于文献报道较少, 还需要临床资料的进一步积累。本分离菌感染的患者曾长期应用化疗药物, 机体的抵抗力低下, 从而发生了该菌的机会性感染, 但其致病机理尚需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Busing K H, Doll W, Fretay Arch K. *Mikrobiol*, 1953, 19: 52~86, 1953.
- [2] Galameaut T P, Leifson E. *Int Bull Bacteriol Nomenol and Taxon*, 14: 165~168; 165~168, 1964.
- [3] Kring NR, Holt J G, Murray G E. *Bergey's of Systemtic Bacteriology Vol 1*, Baltimore/London: Williams Wilkins, 1984. 184.
- [4] Otto L A, Deboo B S, Caper E L *et al*. *J Clin Microbiol*, 1978, 7: 341~345.
- [5] Planes M, Ramine A, Fernandey F *et al*. *Infection*, 1992, 20: 367~368.
- [6] 叶应妩. 临床实验诊断学(下册). 北京: 人民卫生出版社, 1989. 2086.
- [7] 马子行. 中华医学检验杂志, 1983, 6(3): 173~175.
- [8] 李仲兴主编. 诊断细菌学. 香港: 黄河文化出版社, 1992. 398.
- [9] 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社, 1978.
- [10] Marmur J J. *Mol Biol*, 1991, 3: 208~218.
- [11] 林万明, 刘聿太. 微生物学通报, 1981, 8(5): 245~248.
- [12] Pallerni N J, Kunisawa R, Confopoulon R *et al*. *IJSB*, 1973, 23(4): 333~339.
- [13] Sengers P, Vancanneyt M, Pot B *et al*. *IJSB*, 1994, 44(3): 499~510.
- [14] 姜永新主编. 实用临床细菌学检验与进展. 天津: 天津科技译出版公司, 1993. 162.

THE IDENTIFICATION AND ISOLATION FOR *PSEUDOMONAS VESICULARIS*

Wang Jiansheng Zhang Lizhi Liu Zhumei

(Hebei People's Hospital, Shijiazhuang 050051)

Abstract A Gram-negative rod bacteria isolated from the hydrocardia of a hydropericarditis patient was reported. Main characteristics of the strain are respiratory metabolism, oxidise positive and motility by one polar flagella. Through systematic morphological, physiological and biochemical identification; calculation of G+C mol%, and examination with Biolog Automated Systems, the species of *Pseudomonas vesicularis* are identified. We pointed out that the strain can infect an immunosuppressed individual. The change of taxonomic position of the species was discussed.

Key words *Pseudomonas vesicularis*, Identification, Isolation