维普资讯 http://www.cqvip.com

4.Jack E. M.,et al.Cytogenet Cell Genet .1987; 44:49
5.Wong A.J. , et al.Science 1986; 223 : 461
6.李桂信.等.中华医学遗传学杂志 1997;14(1): 57
7.Konhl N.E.,et al.Science 1984;226:1335
8.Schawb M.,et al.Nature 1984; 308 : 288
9.郭文斌,等.中华医学遗传学杂志 1996 ;13(6): 344
10. Trask, B. J. ,et al.Genes Dev.1989; 1913
11. Schimke R. T.,Cancer Res.1984;44:1735
12. Roninson I. B. ,et al.Nature 1984 , 309 :626
13. Smith K. A .,et al. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1992; 89:5427

(收稿日期 1998－11－12)

Molecular cytogenetic studies on double munite(DM) of peripheral blood lymphocyte

Duan Changzhu , et al
Department of biology, college of basic medical sciences

Peripheral lymphocyte double munite (DM) expresses of samples from 150 patients have been studied by the method of PHA stimulated cell culture. The results showed that 32 cases (21.4%) had DM expresses.The number of DM per cell ranged from one to 130 with an average of 10.4.DM was always accompanied by chromosome aberrations, e.g. dicentmere chromosomes, endoreplicate, polyploid,hypodiploid.The coincidence between DM and pathology was 93.7%.We suggested that DM could be an early molecular cytogenetic signal for tumor.We also discussed the mechanisme of DM expresses and its relationship to multi－drug resistance.

KEY WORDS lymphocyte; Double munite(DM); Cell culture

227-229

临床分离的马红球菌质粒提取及药物敏感性分析

R378.1
R978.1

微生物学教研室 杨晓燕* 杨致邦

提 要 从我市某职工医院院内感染的病人体内分离到非细胞免疫缺陷者罕见的19株马红球菌。对这些细菌进行抗生素敏感性试验和质粒图谱分析。结果显示这些细菌对多种抗生素有明显的耐药性。未发现毒力质粒,但所有细菌均带有未见报道的9.4kb质粒,其生物学意义有待进一步探讨。

关键词 马红球菌; 抗生素敏感性; 质粒
中图分类号 R965.1

马红球菌是引起马驹支气管肺炎、淋巴结炎和肠炎等疾病的重要病原体[1],其致病与此菌所携带的毒力质粒编码产生毒性蛋白密切相关[2] [6]。近年来发现它还可以引起其他动物包括人的机会性感染,在人类主要发生于严重的细胞免疫功能低下的患者,以AIDS患者和HIV感染者多见[3]·[4]。1996年1～7月,从我市某职工医院因注射感染而引起的局部脓肿和肿大的淋巴结中分离到马红球菌。我们对其做了抗生素敏感性试验和质粒图谱分析,现将结果报告如下:

1 材料与方法

1.1 标本来源

* 女,1963－01出生,讲师

维普资讯 http://www.cqvip.com

19株细菌均从我市某职工医院院内感染病人局部脓肿深部刮取组织和肿大的淋巴结组织中分离。经形态染色,培养特性和API Coryne系统鉴定为马红球菌.

1.2 抗生素敏感性试验

采用纸片法,测定细菌对青霉素.苯唑青霉素、氨苄青霉素、羧苄青霉素、氧哌嗪青霉素,复方新诺明、先锋II、先锋V、链霉素,氯霉素,林可霉素、氟哌酸,奈定酸.痢特灵,麦迪霉素、新霉素.四环素.杆菌肽、复达欣.甲硝唑、替硝唑.异烟肼、吡嗪酰胺、对氨水杨酸、利福平.红霉素、庆大霉素.卡那霉素、丁胺卡那霉素、万古霉素、妥布霉素,乙胺丁醇的敏感性.抗生素纸片购自浙江军区后勤部卫生防疫检验所.

1.3 质粒DNA的提取和鉴定[2]

将分离到的马红球菌接种于血琼脂平板,置37℃ ,72 h。用无菌生理盐水刮洗菌落,收集于无菌的离心管.加入350μl溶液I(0.05M Tris, 0.01M EDTA, 0.05M NaCl,20% 蔗糖)和新鲜配制的溶菌酶100μl(10mg/ml)置37℃孵育2h;随后加入200μl溶液II(3%SDS,0.5M TrisHCl pH12.8)置55℃水浴2小时;再加入100μl溶液III(3 M KNC pH4.8);10000r/min离心15min,取上清用无水乙醇沉淀DNA,干燥后回溶pH7.4的TE.将提取的质粒DNA与λDNA—HindIII同做琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭染色.紫外核酸检测仪上观察并记录结果。

1.4 质粒DNA的消除试验[1]

选用次MIC浓度的氟哌酸与马红球菌共同培养,置37℃.72小时。用上述方法再次提取质粒DNA.

2 结果

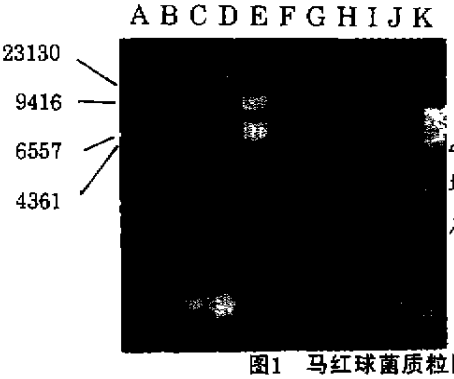
2.1 抗生素敏感性试验

19株马红球菌对32种抗生素敏感性试验结果如表所示

抗生素敏感性试验结果表明,19株马红球菌有明显的多重耐药性.特别是对青霉素类、喹诺酮类和多数抗结核类抗生素。

2.2 质粒DNA提取

所有菌株均只含有一个9.4Kb左右大小的质粒,结果如图1所示



A.B.C.D.E.F.G.H.I.K均为临床分离株。E为λDNA—HindIII.

图1 马红球菌质粒图谱

2.3 质粒DNA消除试验结果

所有菌株所含有的9.4kb的质粒均被消除。将这些菌株再用同样方法做抗生素敏感性试验,其结果无变化.

3 讨论

表1: 19株马红球菌抗生素敏感性试验结果

药物敏感性	抗生素	菌株数	百分率
敏 感	卡那霉素、丁胺卡那霉素、万古霉素、妥布霉素、乙胺丁醇	19	100%
	庆大霉素	17	90%
中度敏感	红霉素	1	5%
	庆大霉素	2	10%
耐 药	青霉素、苯唑青霉素、氨苄青霉素、羧苄青霉素、氧哌嗪青霉素、复方新诺明、先锋II、先锋V、链霉素、氯霉素、林可霉素氟哌酸、奈定酸、痢特灵、麦迪霉素、新霉素、四环素、杆菌肽.复达欣、甲硝唑、替硝唑、异烟肼、吡嗪酰胺、对氨水杨酸、利福平、	19	100%
	红霉素	18	95%

维普资讯 http://www.cqvip.com

马红球菌的质粒据文献报道其种类和大小不一[2],目前公认的和该菌致病关系密切的是80kb左右大小的毒力质粒,它可编码生产17.5kDa的毒性蛋白,在动物实验中证实可致小鼠死亡[2],[6]。我们从患者体内分离到的马红球菌经检测未发现相应的毒力质粒,而发现的9.4kb质粒尚未见报道。细菌的耐药性的形成与耐药性质粒存在以及耐药性质粒在细菌间传递关系密切,考虑到我们分离的马红球菌有明显的多重耐药现象,为确认试验中发现的9.4kb质粒与细菌耐药性的相关性,我们做了质粒消除试验,结果证明此质粒和细菌的耐药性无关,其生物学意义尚有待于进一步探讨。

马红球菌最初发现主要引起马驹的疾病[1]。近年来相继有文献报道此菌还可致严重细胞免疫抑制患者的机会性感染,例如AIDS患者的肺炎、淋巴结炎等[3],[4],[6]。而我市某职工医院发生的医院内马红球菌感染的病例均为一般门诊病人,其细胞免疫功能无明显衰退;且国外文献报道通常分离到的马红球菌对大多数抗生素如青霉素、氨苄青霉素、庆大霉素、万古霉素、新霉素、利福平等均敏感或中度敏感[6]。而这19株马红球菌经药敏试验证实对上述药物均耐受,由此推测引起这次院内感染的菌株其某些生物学性状可能发生变异而不同于对动物致病的马红球菌。

参 考 文 献

1.Shinji T,et al.Journal of Clinical Microbiology.1993;31:1726
2.Olga TS, et al. Journal of Clinical Microbiology .1991;29:2696
3.Emmons W, et al. Rev. Infect . Dis; 1991 13:91
4.Harvey, R. L., et al. Rev. Infect. Dis. 1991;13:139.
5.Shinji T,et al. Infection and Immunity 1991;59:4056
6.John F.P.Clinical Microbiology Reviews 1991;4:20
7.李力津,等.中华传染病杂志 1994;12:4

(收稿日期 1999－01－12)

Plasmids and Antibiotic Susceptibillity of the Rhodococcus equi

Yang Xiaoyan, et al
Department of microbiology, college of basic medical sciences

Nineteen strains of Rhodococcus equi is olated from clinical cases were analyzed for antibiotic susceptibility and the presence of plasmids. All the strains were multiple drug resistant and contained a 9.4Kb plasmid. Virulent plasmids were not found. Further study is needed to determine the biological significance of 9.4Kb plasmid.

KEY WORDS Rhodococcus equi ;Antibiotic susceptibility;Plasmid