DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.01.028

是其产生的点突变发生率较低或突变终点不在与λ噬菌体生命周期有关的基因上的缘故。

FA是嘌呤合成代谢的重要底物之一,而NA则是辅酶Ⅰ(DNA)和辅酶Ⅱ(NADP)的底物,直接参与传递氢的作用[11]。这两种受试药物对λDNA无直接损伤或诱变性的报道,在λDNA重包装法中也检测为阴性结果。

总之,我们的实验结果证实了目前临床常用的抗肿瘤药物MTX和6-MP具有潜在的遗传毒性,在尚无更安全的替代药物情况下,应引起临床医生的高度重视。在选配联合化疗方案时,应既考虑到这些药物的短期毒副作用,也应考虑到这些药物的远期遗传毒性效应。

关键词 λDNA;致变物/分析;遗传毒性

中图法分类号 R730.231

参考文献

1 曹 佳,曹 阳,许丽萍,等.λDNA体外重包装法进行化学诱变的初步研究.癌变·畸变·突变,1991,3(4):40~45

2 曹 阳,曹 佳,许丽萍,等.一种致突变物检测新方法——λDNA体外重包装法的构建.Ⅰ:新方法检测10种化学受试物致突变的分子机理初探.癌变·畸变·突变,1991,3(2):29~30

3 J.萨姆布克,E.F.弗里奇,T.曼尼阿蒂斯,著.金冬雁,黎孟枫,译.分子克隆实验指南.第二版,北京:科学出版社,1992:75~153

4 Kier LE. The salmonella typhimurium/mammalian microsomal assay, A Report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat Res,1986,168(2):60~240

5 Nesnow S. Chemical carcinogens. A review and analysis of the literature of selected chemicals and the establishment of the Gene-Tox Carcinogen Data Base. A Report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat Res,1987,185(1/2):1~195

6 Mavaurnin KH, Blakey OH, Cimino MC, et al. The in vivo micronucleus assay in mammlian bone marrow and peripheral blood. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat Res,1990,239(1):29~80

7 曹 阳,曹 佳,许丽萍.硫酸铜和亚硫酸氢钠对λDNA的遗传毒性研究.中国环境科学,1993,13(5):386~389

8 曹 阳,张 林,刘雁雨,等.22种化学物和紫外线对λDNA的遗传毒性分析.中国环境科学,1994,14(2):139~142

9 李正化,主编.药物化学.北京:人民卫生出版社,1990:274~311

10 Weller EM, Dietrich I, Viaggis S, et al. Flow cytometric analysis of bromodeoxyuridine induced micronuclei. Mutagensis,1993,8(5):437~441

11 J.玛克斯,著.郑昌学,陈濂生,曾耀辉,译.维生素手册.北京:科学普及出版社,1981:97~111

(收稿:1994-06-01;修回:1994-11-30)

细菌拉丝试验的应用探讨

A study of adaption of the "String" test for bacteria

解晓珍 田洪明 舒亦平 (第三军医大学新桥医院检验科) 630037
潘绍武 (第三军医大学检验系临床微生物学教研室) 630038

1970年Smith[1]首先报道拉丝试验用于霍乱弧菌,1981年Shushan等[2]和1983年Agbonlahor等[3]相继将拉丝试验应用于革兰氏阳性菌和阴性菌的鉴别。近年来国内也有一些初步应用的报道[4~6],但尚未普及。我们用1267株菌进行拉丝试验,以求进一步了解此项试验的准确性、可靠性,同时对其影响因素进行探讨。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试剂:在比较试验的基础上选用25 g/L (CP)KOH水溶液,作为本试验的基本试剂。菌株:革兰氏阴性菌32种664株,革兰氏阳性菌16种603株,共1267株,其中82株系实验室保存菌株(含成都生物制品所提供的质控标准菌株),其余均为本实验室自临床标本中分得。

1.2 实验方法

用接种环取25 g/L KOH水溶液两环于洁净玻片上,从培养基中刮取菌落1至数个,与试剂充分混合,并不断地将环从悬液中轻轻提起,在黑色背景下观察。60 s内出现细丝者为阳性,60 s内不出现细丝者为阴性。以革兰氏染色结果与其对比。

1.3 影响因素的观察

取部分革兰氏阴性菌株观察比较不同试剂,不同菌量和不同类型菌落(S型、R型)的细菌对拉丝试验结果的影响。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 结果

1267株菌的试验结果表明，所试的603株革兰氏阳性菌拉丝试验都呈阴性，而所试的664株革兰氏阴性菌均呈阳性。符合率达100%。其中有5株富含脂质的结核分枝杆菌拉丝试验结果与其它革兰氏阳性菌一样均为阴性。有13株金黄色葡萄球菌、8株甲型链球菌，经室温放置4～17 d的陈旧培养物，虽革兰氏染色已有30%～50%的细菌转为阴性，但拉丝试验结果却稳定不变。另有6株枯草杆菌和1株破伤风杆菌，其培养物芽胞已普遍形成，革兰氏染色菌体有明显阴转倾向，但拉丝试验仍呈阴性。

在上述结果的基础上，取拉丝阳性的革兰氏阴性菌KOH混悬液和拉丝阴性的革兰氏阳性菌KOH混合液，分别再行革兰氏染色，镜检发现染色性仍无改变，但拉丝阳性的革兰氏阴性菌出现不同程度的胞壁损伤或溶解现象。此外拉丝试验进行后，分别取上述混悬液接种于血平板上进行培养，共试验97株菌，63株革兰氏阴性菌均不能生长，表明菌细胞已遭破坏；而34株阳性菌均能生长。

实验表明，试剂、菌量和不同类型的细菌对拉丝试验结果均有一定影响。64株革兰氏阴性菌试验证明，浓度不同(50 g/L、30 g/L、25 g/L、12.5 g/L)的3种试剂中，KOH和NaOH水溶液比较理想，尤以25 g/L KOH水溶液最佳，拉丝试验的阳性率为100%，而各种浓度的去氧胆酸钠效果均不及前者。以相对不同菌量(1个、½个、¼个、⅛个菌落)的8株革兰氏阴性菌进行拉丝试验证明，随着菌量的减少拉丝出现的时间明显延迟，甚至在60 s内不出现拉丝现象。用宋氏痢疾杆菌、肺炎克雷伯氏菌和卡他布兰汉氏菌的光滑(S)型与粗糙(R)型菌落进行试验，结果证明，各R型菌落的细菌出现拉丝的时间均显著地迟于各相应的S型菌落，甚至当挑取的菌量减到一定程度时，呈阴性反应。

3 讨论

本文共做48种1267株菌的拉丝试验，结果所有革兰氏阴性菌均呈阳性反应，革兰氏阳性菌均呈阴性反应。Shushan等[2]曾经指出，梭状芽胞杆菌和某些厌氧性无芽胞革兰氏阳性菌(如双歧杆菌等)染色反应不定，但拉丝试验却能正确地作出鉴定，在我们的实验中也证实了这一点。同时我们还观察到，富含脂质不易进行革兰氏染色的结核分枝杆菌，拉丝试验也呈阴性反应。此外还证明需氧性芽胞杆菌以及葡萄球菌与链球菌的陈旧培养物，虽革兰氏染色性有明显阴转倾向，但拉丝试验特性却稳定不变。因此拉丝试验有助于复核革兰氏染色结果的正确性，也是此种染色质控的有力措施。加之本试验方法简便、快速、容易掌握，所以适合在各医院微生物实验室推广应用。

研究表明，浓度不同的3种试剂，以25 g/L KOH水溶液效果最佳，革兰氏阴性菌拉丝试验的阳性率为100%；去氧胆酸钠效果最差，不宜采用。其次实验时挑取菌量的多少也很重要。菌量过少可能导致拉丝出现迟缓，甚至呈阴性反应。实验证明，当菌落直径>4 mm时，适取½～¼个菌落，菌落直径为1.5～3 mm时，适取1～½个菌落，菌落直径<1 mm时，适取2～3个菌落。此外R型菌落的革兰氏阴性菌，虽亦能出现拉丝现象，但明显迟于S型菌落。菌量过少时也呈阴性反应，因此试验中R型菌落的菌量宜相应多取。由此可见，注意掌握这些影响因素并使试验方法规范化，方能确保拉丝试验的准确性。

关于拉丝试验的机理，有人[6]推论可能与细胞壁的化学结构有关，革兰氏阴性菌细胞壁含脂多糖、脂蛋白及脂质，在KOH作用下被皂化形成粘稠物，致拉丝试验阳性；而革兰氏阳性菌细胞壁主要成分是粘肽，KOH不能使其形成粘稠物，故拉丝试验为阴性。我们在试验中还观察到，拉丝出现后的革兰氏阴性菌，胞壁有不同程度损伤，接种于培养基上也不能生长繁殖，而革兰氏阳性菌则无此现象。因此支持上述推论。但要彻底阐明其机理，尚待进一步探讨。

关键词 细菌；拉丝试验；革兰氏染色

中图法分类号 Q93－33

参考文献

1 Smith HL Jr. A Presumptive test for vibrios: The "String" Test. Bull WHO,1970,42:817

2 Shushan H. 快速区分革兰氏阳性与阴性厌氧菌的辅助方法. 国外医学:微生物学分册,1982,1:47

3 Agbonlahor DE, Odugbemi Phd To, Udofia PO. Differentiation of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria and Yeasts Using a Modification of the "String" Test. Amer J Med Techn,1983,49:177

4 何世川. 快速区别革兰氏阳性和阴性细菌的简易方法. 微生物学通报,1985,12(1):40

5 朱 均，朱季穆. 用拉丝试验区别革兰氏阴性菌和阳性菌. 临床检验杂志,1986,4(2):81

6 曲万云. 鉴别细菌革兰氏反应的一种非染色法. 中华微生物学和免疫学杂志,1988,8(5):327

(收稿:1994-03-01;修回:1994-09-24)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net