

120株绿脓杆菌的质粒图谱分析

吴桐 史俊华

摘要 本文应用Kado-Liu方法对1990至1991年南京地区8家医院分离的120株绿脓杆菌进行了质粒检测, 结果发现质粒得率为24.2%, 可分为13个质粒图谱型别, 质粒分子量的变化范围由1.91至45.14 MDa。并将质粒图谱与血清型进行了比较: 具有相同质粒图谱的菌株, 其血清型可相同亦可不同。文中对质粒图谱是否能用于绿脓杆菌的分子流行病学监测进行了讨论。

关键词 绿脓杆菌 质粒 血清分型

质粒图谱是近几年来用作质粒分析的间接分子生物学技术。据报道, 该技术可用于医院内某些革兰氏染色阴性菌和葡萄球菌感染的流行病学调查, 且它的特异性与噬菌体分型相当, 远优于血清学、生物学分型^[1]。绿脓杆菌临床分型方法主要有: ①血清学分型; ②噬菌体分型; ③细菌素分型; ④药敏试验。国内有关绿脓杆菌质粒分型的报道较少。笔者试图通过对绿脓杆菌质粒图谱分析为绿脓杆菌流行病学监测提供一种更为可靠的手段。

材料与方法

一、实验菌株: 所检测的120株绿脓杆菌为1990至1991年南京地区8家医院分离的标本, 来自病人的呼吸道、泌尿道、创面、血液、脑脊液、脓液和胆汁等。绿脓杆菌按参考文献^[2]进行了进一步鉴定。菌种保存: 除1990年分离的20个菌株于基础半固体培养基4℃保存外, 其余菌株均于20%甘油LB中、-70℃保存。质粒分子量参考株: E.coli V₅₁₇。

二、质粒检测: 参照Kado-Liu法进行^[3], 每次抽提质粒均有E.coli V₅₁₇作阳性对照, 一起抽提, 每株待测绿脓杆菌重复提取质粒至少3次。

三、质粒DNA的琼脂糖凝胶电泳: 以E液溶解沉淀质粒DNA^[3], 以E液配制0.7%琼脂糖胶。

四、标准质粒回归线的绘制及质粒大小计算: 参照文献^[4,5]方法进行。

五、血清学分型: 应用卫生部成都生物制品研究所研制的IATS-20型(国际抗原分型系统)分型血清, 分型采用玻片凝集法, 结果按参考文献^[2]判定。

结果

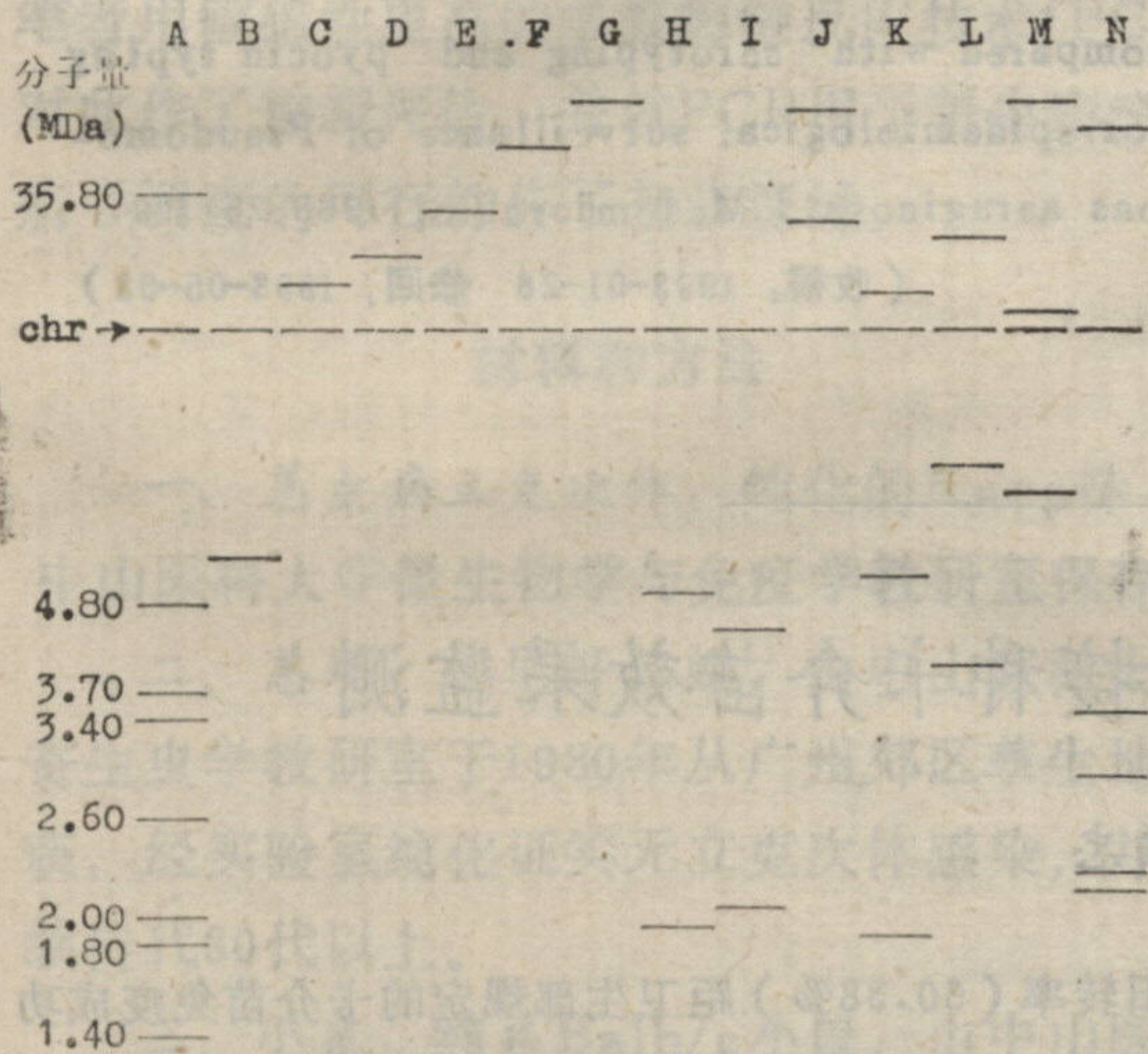
一、绿脓杆菌质粒检测: 120株绿脓杆菌有29株检出质粒, 质粒检出率为24.2%, 可分为13个谱型, 见附表、附图, 菌株60、61、63、66、71、72、73株属于同一质粒谱型Ⅺ, 来自同一家医院, 另外6株(11、18、19、31、34、35)具有相同质粒谱却来自不同医院。1990年分离的保存于4℃的20株绿脓杆菌, 虽经反复抽提质粒3次以上, 仍未有质粒检出。

二、血清学分型: 被检的120株菌中除6株外, 所有菌株均能明确分型, 分型率为95%, 且11、6型为主要流行型。

三、质粒图谱与血清型的比较: 菌株40、2、8具有相同血清型, 但具有不同的质粒图谱, 只有质粒图谱将此3株绿脓杆菌区分开; 菌株60、61、63、66、71、72、73来自同一医院, 具有相同血清型和质粒图谱; 具有相同质粒图谱的菌株11、18、19、31、34、35却具有

附表 含有质粒的29株绿脓杆菌的分子量及谱型

菌株编号	菌株数	分子量(MDa)	质粒谱型
40	1	5.42	I
2	1	19.90	II
8	1	27.00	III
76,99	2	35.64	IV
29	1	41.55	V
10,24	2	45.14	VI
81	1	1.93,4.95	VII
69,93	2	2.16,4.21	VIII
21,27,33	3	31.78,44.36	IX
11,18,19	6	1.91,5.16,18.20	X
31,34,35			
86	1	3.97,10.22,29.49	XI
60,61,63,66,	7	8.25,16.52,45.14	XII
71,72,73			
89	1	2.24,2.37,2.99 3.37,42.36	XIII



附图 绿脓杆菌的电泳图谱示意图

A: E. coli V817 B-N: 绿脓杆菌的13个谱型

不同血清型，质粒图谱与血清型之间未观察到规律性：具有相同质粒图谱的菌株，其血清型不同，反之亦然。

讨 论

目前，质粒提取方法较多，本实验应用的

方法有以下特点：1.快速，质粒的提取在一个半小时之内即可完成；2.经济简便，无需特殊试剂和仪器；3.重复性好，稳定性强，绿脓杆菌每株至少抽提3次，含质粒株的质粒谱型结果一致，提取的质粒贮于4℃，1个月后电泳，谱型无变化。

本实验绿脓杆菌质粒得率为24.2%，与国外一些学者报道的结果相似^[6,7]。我们认为质粒得率低限制了它在临床流行监测中的应用，质粒分型方法与对目前临床指导意义较大，有应用价值的、分型率较高的血清学分型相比，意义较小。质粒得率及谱型受一些因素的影响，Plesiant^[6]认为，菌株一旦分离后应立即进行质粒监测，或贮于-80℃，否则质粒易丢失，我们在实验中对1990年分离的贮存于4℃的20株绿脓杆菌进行了质粒监测，未发现有质粒带，可能与菌株在保存过程中质粒丢失有关。

质粒图谱用于细菌流行菌株的监测，可以从分子水平上为流行病学研究提供信息，对同一群型、不同来源的菌株，如果它们的质粒图谱模式种类越多，差异越大，说明它们在遗传学上的同源相关性越远，即区别不同来源菌株的特异性越好，当不同来源的菌株携带有几个特征性质粒时，其特异性更好。本实验中有7株来自同一医院、同一病区的绿脓杆菌属同一质粒谱型，具有相同血清学分型，说明此病区的绿脓杆菌感染是由遗传特性相似的绿脓杆菌引起，另外具有相同质粒谱型的6株绿脓杆菌来自不同医院，具有不同血清型，因此，虽然绿脓杆菌质粒得率低，并受一些因素影响，但是从实验中看出，绿脓杆菌质粒图谱可为绿脓杆菌的流行监测提供某些信息。我们认为，质粒图谱分型不能单独作为绿脓杆菌流行监测工具，需与其它方法相结合用于绿脓杆菌分型，这样可提高分型敏感性，提供更多流行病学信息。

Plasmid Profiles of 120 Strains of *Pseudomonas Aeruginosa* Wu Tong, et al., Nanjing Railway Medical College, Nanjing 210009

The plasmid profiles of 120 clinical isolates of *Pseudomonas Aeruginosa* (PA) from Nanjing City were determined by the Kado and Liu method and the technique was compared with other epidemiological typing schemes based on serotype. Only 24.2% of these strains harbored plasmids. A total of 13 different plasmid profiles were observed. Plasmids varied in size from 1.91 to 45.14 MDa. The serotypability was 95.00%. A comparison between the plasmid profiles and the serotypes might be of value in the epidemiologic fingerprinting of clinical isolates of PA.

Key words *Pseudomonas aeruginosa* Plasmid Serotyping

参 考 文 献

1 Brunner F, Margadant A, Peuduzzi R, et al. The plasmid pattern as an epidemiologic tool for salmonella typhimurium epidemics: comparison

with the lysotype. J Infect Dis, 1983, 148(1): 7.
2 王世鹏, 徐时敏, 刘教员, 等. 健康人群和住院患者绿脓杆菌分离调查分析. 中国微生态学杂志, 1991, 3: 34.
3 Kado CI, Liu ST. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J Bacteriol, 1981, 145(3): 1365.
4 Hansen JB, Ronald, HO. Isolation of large bacterial plasmids and characterization of the P2 incompatibility group plasmids PMG1 and PMG15. J Bacteriol, 1978, 135: 227.
5 Meyers JA, Sanchez D, Elwell LP, et al. Simple agarose gel electrophoretic method for the identification and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid. J Bacteriol, 1976, 127: 1529.
6 Plesiat P, Alkhalaf, B, Briand YM. Prevalence and profiles of plasmids in *Pseudomonas aeruginosa*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1988, 7: 261.
7 Poh CL, Yap EH, Bergan T. Plasmid profiles compared with serotyping and pyocin typing for epidemiological surveillance of *Pseudomonas aeruginosa*. J Med microbiol, 1988, 25: 109.

(收稿: 1993-01-28 修回: 1993-05-03)

包头市石拐地区1~7岁儿童接种卡介苗效果监测

李少青 幸福忠

我们于1992年9月在全区范围内随机选取了五个调查点, 随机测定了318名儿童。结果显示: 我区1~7岁儿童接种卡介苗, 阳转率60.38%, 反应均径6.2mm。有卡痕者76.10%, 卡痕均径2.5mm, 卡痕率以3岁、6岁组最高(92.31%), 7岁组最低(46.15%), 1~7岁儿童接种卡介苗卡痕率有显著性差异($\chi^2=43.8, P<0.05$)。本次调查男性和女性阳转率分别为59.76%和61.07%; 男女间无显著性差异($\chi^2=7.71, P>0.05$)。结核菌素阳转率从2岁组以后呈下降趋势, 1~7岁年龄组之间结核菌素阳转率有显著性差异($\chi^2=233.73, P<0.01$)。

本次调查结果表明: 我区1~7岁儿童结核菌素试

验阳转率(60.38%)距卫生部规定的卡介苗免疫成功率达到85%的指标有一定差距。本次调查318名儿童, 结核菌素有卡痕的阳转率与卡痕率基本接近, 说明用卡痕大小来评价卡介苗接种效果, 是一种简便易行、快速有效的方法。本次调查发现1~7岁儿童结核菌素试验阳转率, 随着年龄增大, 总体上呈下降趋势, 但5~7岁之间有一余波, 可能与儿童接触外环境机会增多, 重复感染机率增大有关, 这一点尚需进一步研究。

(收稿: 1992-10-20 修回: 1992-11-20)

本文作者单位: 内蒙古包头市石拐矿厂卫生防疫站 014070