

# 青霉素對致病性葡萄球菌形態及 生理性質影響的初步報告

錢 玉 崑

(北京醫學院微生物學教研組)

由於青霉素愈來愈廣泛地被用於治療各種葡萄球菌病，因而葡萄球菌的抗藥性似正逐年增加<sup>[1,2]</sup>。青霉素在開始應用時，很少對它有耐藥的菌株出現，近來則逐漸加多。例如對青霉素有耐藥性的葡萄球菌菌株百分數，在 1946 年為 14%，1947 年為 38%，1948 年為 59%，1949 年為 68.4%。最近我們曾統計過北京醫學院附屬醫院的 100 例患者，發現耐藥菌竟高達 80% 以上，其中有高度的耐藥菌過半數。這種情況是否不利於鑑定診斷呢？這方面的系統資料尚不多見，因此值得進一步加以探討，以明究竟。

## 材 料

1. 藥品：青霉素 G 鈉鹽，Hoechst 公司出品。
2. 培養基：普通肉湯（每管 1 毫升）
3. 菌種：金黃色溶血性葡萄球菌第 74、32、28、23、21、17、16、10 號，這些都是來自本院病人的標本。

## 方 法

### (一)耐藥性菌株獲得的方法

- (1) 用肉湯將青霉素稀釋成每毫升含 10000、4000、2000、1000、400、200、100、40、20、10、5、2.5、1.25、0.62、0.31、0.15、0.075、0.031 等單位。
- (2) 將上述葡萄球菌 24 小時肉湯培養液行百倍稀釋，分取 0.1 毫升依次分別放入以上含青霉素肉湯中及不含青霉素的對照管中。
- (3) 置 37°C 暖箱中孵育 20 小時，取出觀察結果。將生長在最高稀釋度仍有菌出現的一管（名第 1 代），分取 0.1 毫升，接種於濃度相等、加倍等一系列青霉素肉湯中。
- (4) 以後逐日提高青霉素含量，是為第 2、3、4... 代；同時對照管亦逐日移種作對比。
- (5) 每隔一星期左右鑑定 1 次，檢查其形態、菌落、色素、溶血性、甘露醇發酵、血漿凝固（玻片法）及毒力等（8 克小白鼠腹腔注射 0.2—0.3 毫升 24 小時培養物）改變情況。

### (二)敏感性恢復試驗

- (1) 將已變異的耐藥性菌株移種於不含青霉素肉湯中，每隔 1、2 星期移種 1 次（每次作為一代），共 4 次，最後相隔一個月再接再種一次。種好後置暖箱中孵育 2 天，即移放於

室溫。

(2) 在每次移種的同時,進行以上所述生物學的鑑定及敏感試驗,以便觀察其恢復能力、時間、速度、關係等問題。

## 結 果

### (一)耐藥性的產生及細菌的變異情況

從圖 1 可以看出,葡萄球菌的敏感性,能自同一水平(0.15 單位/毫升)提高 2,000—100,000 倍。一般都獲得了在每毫升含 100—4,000 單位青霉素的肉湯中生長的能力。相對的,它們的繁殖能力也日趨薄弱。抵抗力的發展都不是平均的,常常是逐步的,有時還有下降的現象,特別在後期常常是較遲緩的,並且也是不够穩定的。

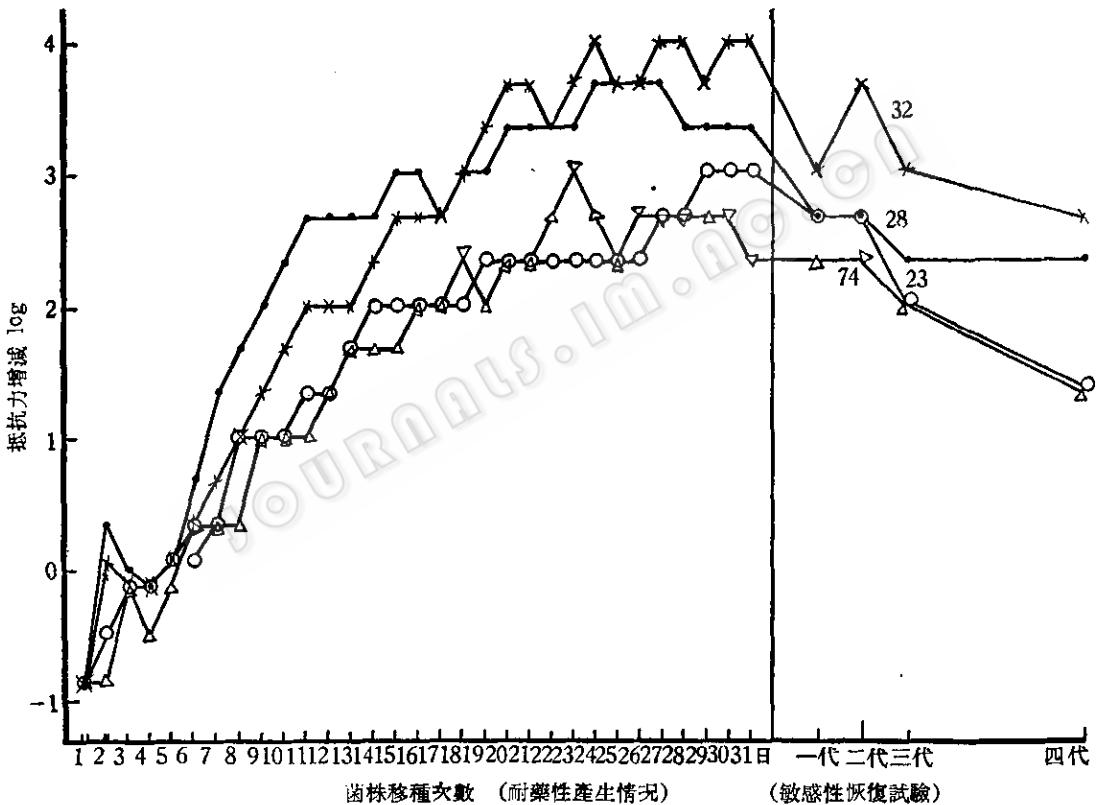


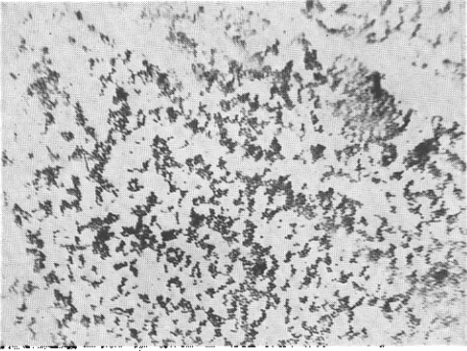
圖 1 耐藥性產生及敏感性恢復試驗

### (二)耐藥性葡萄球菌生物學變異的情況

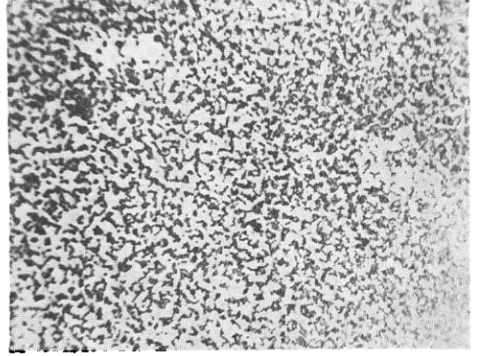
自表 1 極易看到,細菌變異的特點,亦如其耐藥性的產生,是不平衡的、非等速的、逐步的自量變到質變。茲分述如後:

(1) 形態學的變化:從表 1,特別是圖 2(耐藥菌形態學的變異)很明顯的標出,在第一次的鑑定中,看不出它們與對照的典型形態有什麼區別(見圖 2 對照 1 及表 1 第 1 次)。但當繼續用青霉素處理 1—4 星期,亦即第二、三……次鑑定後多變為散在排列,細胞逐漸變得較正常大 2—4 倍以上,好像酵母菌似的,形成大小極不平均的狀態。(見圖 2、②、

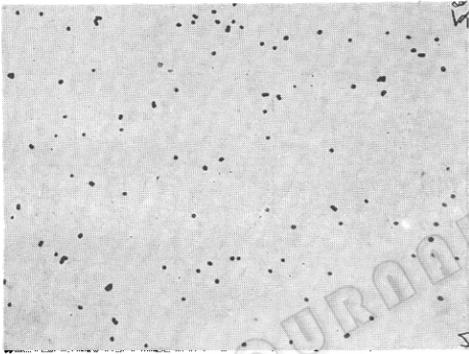
圖 2 耐 藥 菌 形 態 學 的 變 異



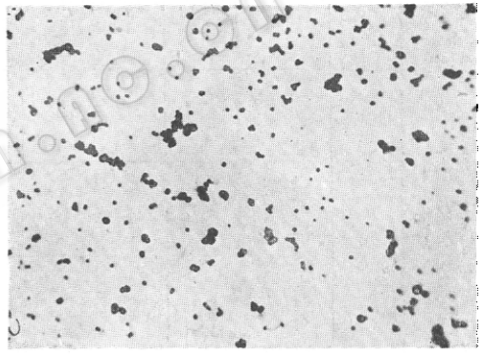
對 照



1. 12/12 日, 形態(第 1 次)

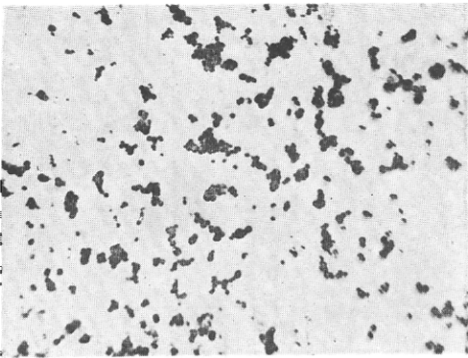


2. 12/25 日, 形態(第 2 次)

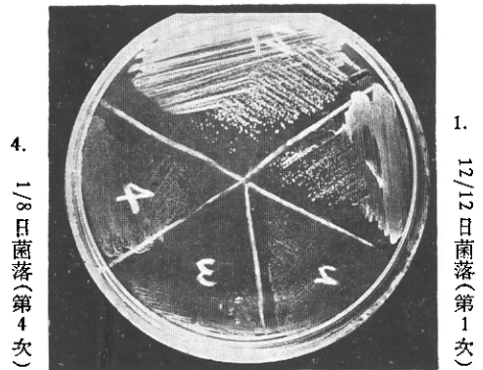


3. 1/2 日, 形態(第 3 次)

圖 3 耐 藥 菌 菌 落 的 變 異  
對 照



4. 1/8 日, 形態(第 4 次)



1. 12/12 日菌落(第 1 次)  
2. 12/25 日菌落(第 2 次)  
3. 1/2 日菌落(第 3 次)  
4. 1/8 日菌落(第 4 次)

表 1 抗 藥 菌 變 異 情 况

實 驗		對 照	
形 態	落 菌	溶 血	血凝試驗
典 型	黃, 1 毫米, 光滑	+++	+++
典型, 但散在	黃, 0.5 毫米, 光滑	++	++
較正常大 4 倍細胞出現, 大小不等, 散在	檸檬, 0.3 毫米, 光滑	+	+
較正常大 4 倍細胞出現, 大小不等, 散在	白, 極小, 粗糙(個別)	+	+
典 型	黃, 1 毫米, 光滑	+++	+++
典 型	黃, 1 毫米	+++	+++
較正常大 4 倍細胞出現, 大小不等, 散在	黃, 0.3 毫米, 光滑	+	+
較正常大 4 倍細胞出現, 大小不等, 散在	檸檬, 0.1—0.3, 光滑	+	+
典 型	黃, 1 毫米, 光滑	+++	+++
典 型	檸檬, 0.5, 光滑	+++	+++
典 型	白, 0.1, 光滑	+++	+++
典 型	0.1	+++	+++
典 型	黃, 1 毫米, 光滑	+++	+++
較正常大 4 倍細胞出現, 散在	黃, 1 毫米, 光滑	+++	+++

23	1/2	較正常大4倍細胞出現，散在	黃，1—0.3，光滑	+	+	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)
	1/8	較正常大4倍細胞出現，散在	黃，1—0.1，光滑	+	++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)
	12/12	典 型	黃，1毫米，光滑	+	+++	+	+(1天)	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)
	12/25	典 型	黃，0.1，光滑	微溶	++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)
21	1/2	較正常大4倍細胞出現，散在	檸檬，0.1—1，光滑	+	++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)
	1/8	較正常大4倍細胞出現，散在	檸檬，0.1，光滑	微溶	++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)
	12/12	典 型	黃，1毫米，光滑	+	+++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	—
	12/25	典 型	檸檬，0.1—0.3，光滑	微溶	+	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+
17	1/2	較正常大4倍細胞出現，散在	檸檬，0.1—0.3，光滑	—	+	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+
	1/8	較正常大4倍細胞出現，散在	檸檬，0.1—0.3，粗糙 (個別)	—	++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+
	12/12	典 型	黃，1毫米，光滑	+	+++	+	+(1天)	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)
	12/25	典 型	檸檬，0.3，光滑	微溶	++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)
16	1/2	較正常大4倍細胞出現，散在	檸檬，0.3	+	++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)
	1/8	較正常大4倍細胞出現，散在	檸檬，0.1—0.3，粗糙 (個別)	微溶	++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)
	12/12	典 型	黃，1.0毫米，光滑	+	+++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	—
	12/25	典 型	黃，0.5—1，光滑	—	++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	—
10	1/2	較正常大4倍細胞出現，散在	黃 0.5—1	微溶	+	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)
	1/8	較正常大4倍細胞出現，散在	檸檬，0.1—0.3，粗糙 (個別)	—	++	+	—	典 型	典型，黃	+	++ (24小時)	+++	+	+ (1天)

③、④，及表 1 第 2、3、4 次)。但有個別菌株(第 28 號)在 31 天的移種中始終未見其形態學的改變。

(2) 關於菌落及色素的改變:從表 1 特別是圖 3 (耐藥菌菌落的變異)可以看出,在經青霉素處理後的第 1 次鑑定中,也看不出它們與對照的典型菌落有多大不同(見圖 3 對照、①,及表 1 第 1 次)。同時也多是在繼續用藥後 1—2 星期開始,即在第 2、3……次鑑定後,菌落可自典型的逐漸變小,其形狀有如針尖,此時色素也隨之消退(見圖 3 ②、③、④,及表 1 第 2、3、4 次)。個別的。菌株在第 4 星期後,可產生少量粗糙型菌落,夾雜在光滑型菌落中間。至於色素形成的變異也很明顯,有些自金黃色變為檸檬色;有些又繼續變為白色;有些始終未變。

溶血狀況:大多自全溶,漸變為微溶,最後不溶。但也有始終變化不大的菌種。

甘露醇的分解:全部自第二星期開始變為延遲發酵,一般多遲至第 7 天才完全分解。有的在第 4 星期變為不再發酵甘露醇。

血漿凝固試驗:都是自強變弱。

毒力試驗:凡是原來可使動物致死的菌種,逐漸消失毒力。

以上這些形態學及生理性質等變異,即非同時發生,也非每種菌同時全面改變。

### (三)敏感性恢復及變異菌復原情況

如果比較一下抗藥性產生後細菌的變異(表 1)及其恢復程度(表 2),不難看清,這些已變異的抗藥菌,當不斷移種於不含青霉素的肉湯時,其生物學特性是可以較迅速復原的。茲分述如下:

全部菌株的形態都在第 1 代即恢復正常。它們的菌落及色素的恢復時間,一般都在第一代形成檸檬色色素,特別是其中第 74 號菌株更進一步由白色飛躍為金黃色光滑型菌落。其他菌株則多在第 3 代恢復其原來的大小。它們的溶血特點却正和以前相反,即逐漸自不溶恢復為微溶,有的最後全溶。至於甘露醇也由遲緩發酵到逐步正常化。而凝固血漿的能力,大部在第三代即完全復原。

毒力試驗結果證明全部逐步恢復毒力。

關於敏感性的恢復特點,從圖 1 可以看出是比較緩慢的。經兩個月左右期間,最低的尚保持每毫升 25 單位的敏感性。最高的為每毫升 4000 單位的敏感性。就是說,在這較長的階段中無一復回原狀。

就以上各點可知,耐藥性的產生及其生物學的變異以至其恢復能力,不但具有不平衡性,彼此間的改變狀態也是不一致的。例如第 16 號菌種,雖然是耐藥力最高的,但生理、形態學的改變却不是最多的,恢復能力也不是最强的。另一方面,從三者的關係中能够看出,細菌生物學的變異雖然隨着耐藥性的增強而加多,但恢復起來,則比後者快得多。

## 討 論

近年來很多外國學者對於抗生素對葡萄球菌的作用、機制等問題曾進行廣泛的研究<sup>[3,4]</sup>。其中有的學者認為抗生素作用於葡萄球菌的結果,可以引起細菌生理上的改變,但未見形態學上的變異。看來仍與本實驗有些矛盾,實則影響變異的因素極多,當所用的方法、菌種、材料、以及觀察時間等條件不同時,可以導致不同結果。譬如在一定環境條件

表 2 敏 感 性 恢 復 試 驗

標 本	生物學特性 日 期	形 態	菌 落	溶 血 情 況	甘 露 醇	血凝試驗	毒力試驗
74	1/23 (第一代)	典 型	黃, 1 毫米, 光滑	—	+(4 天)	++	—
	2/6 (第二代)	典 型	黃, 1 毫米, 光滑	—	+(4 天)	++	+(3 天)
	2/15 (第三代)	典 型	黃, 1 毫米, 光滑	微溶(48 時)		++	
32	1/23	典 型	檸檬, 0.1—0.3 毫米, 光滑	—	+(4 天)	+++	—
	2/6	典 型	檸檬, 0.1—0.3 毫米, 光滑	—	+(4 天)	+++	—
	2/15	典 型	檸檬, 1 毫米, 光滑	微 溶	+(1 天)	++	—
28	1/23	典 型	檸檬, 0.3 毫米, 光滑	—	+(6 天)	+++	—
	2/6	典 型	檸檬, 1 毫米, 光滑	微溶(48 時)	+(4 天)	+++	+(4 天)
	2/15	典 型	檸檬, 1 毫米, 光滑	微溶(24 時)		+++	+(1 天)
23	1/23	典 型	檸檬, 0.5 毫米, 光滑	—	+(4 天)	+++	—
	2/6	典 型	檸檬, 0.5 毫米, 光滑	微溶(48 時)	+(5 天)	+++	+(6 天)
	2/15	典 型	檸檬, 1 毫米, 光滑	微溶(24 時)		+++	+(1 天)
21	1/23	典 型	檸檬, 0.1—0.8 毫米, 光滑	+	+(2 天)	++	—
	2/6	典 型	檸檬, 0.1—0.8 毫米, 光滑	+	+(2 天)	++	+(6 天)
	2/15	典 型	檸檬, 1 毫米, 光滑	+	+(2 天)	+++	+(1 天)
17	1/23	典 型	檸檬, 0.1—0.3, 光滑	—	+(6 天)	++	—
	2/6	典 型	檸檬, 0.1—0.3, 光滑	微 溶	+(5 天)	++	+(6 天)
	2/15	典 型	檸檬, 1 毫米, 光滑	+	+(2 天)	+++	+(1 天)
16	1/23	典 型	檸檬, 0.1 毫米, 光滑	微 溶	+(4 天)	++	—
	2/6	典 型	檸檬, 0.1—0.3, 光滑	微 溶	+(5 天)	++	+(4 天)
	2/15	典 型	檸檬, 1 毫米, 光滑	+	+(2 天)	+++	+(1 天)
10	1/23	典 型	檸檬, 0.1 毫米, 光滑	—	+(6 天)	++	—
	2/6	典 型	檸檬, 0.1 毫米, 光滑	—	+(5 天)	++	+(4 天)
	2/15	典 型	檸檬, 1 毫米, 光滑	+	+(1 天)	+++	+(1 天)

下, 某些菌種在較長時間內可不出現形態學的改變, 而其他菌種則能在經 1—2 星期訓練後, 有所改變, 這種形態又極易在經處理後, 短期內復原。所以在變異期前, 恢復期後都將得到陰性結果, 似無不可。

有些學者<sup>[5]</sup> 早已提出, 認為甘露醇的發酵試驗, 凝固酶與溶血素的存在是測定致病性

葡萄球菌的標準,這樣的看法雖然也是公認的,但在今天的抗生素時代裏,隨着這些藥物大量的使用,耐藥性不斷的產生,此項標準必然或多或少地受些影響,因而可能給鑑別診斷上帶來相當困難,這是需要注意的,似乎不能因為不太符合上述特點,而否定診斷。問題是當我們給以一定的恢復期時,可能更有利於鑑定。

## 結 論

1. 耐藥性的產生和發展是逐步的、極不平衡的,也是不够穩定的,而敏感性的恢復,除具以上各點外,尚有異常遲緩的特點。

2. 隨着耐藥性的增強,細菌的生物學特徵也逐漸發生或多或少的改變。一般呈現生理機能減弱的現象(也有部分例外)。如在形態學方面,可能由於分裂繁殖受影響,在後期可見巨大細胞的出現。菌落逐步變小,色素漸漸消失,並且變得愈來愈不易溶血。分解甘露醇能力日趨遲緩,以至不發酵。凝固血漿的能力也愈來愈弱。毒力最後也喪失等現象。

3. 通過敏感性恢復試驗,證明上述的形態及生理性質的復原,雖然也是逐步的、不平衡的,但比敏感性的恢復快得多,這無疑將有利於鑑別診斷。

本文經方亮教授指正,特此致謝。

## 參 考 文 獻

- [1] 向近敏、葉宗岳: 中華醫學雜誌, 43: 276, 1957.
- [2] Garrod, L. P.: *Bull. Hyg.* 25: 539, 1950.
- [3] Bondi, A., and Kornblum, J. L.: *J. Bact.* 68: 617, 1954.
- [4] Boniece, W. S., Holmes, D. H., and Wick, W. E.: *Antibiotics and Chemotherapy*, 6: 550, 1956.
- [5] Chapman, G. H., et al.: *J. Bact.* 28: 343, 1934.

# THE INFLUENCE OF PENICILLIN ON THE MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY OF PATHOGENIC STAPHYLOCOCCI

CHIEN YÜ-KUN

*Department of Bacteriology, Peking Medical College*

The resistance of the pathogenic staphylococci to penicillin could be gradually increased by growing them in gradually increasing concentrations of the antibiotic. When the penicillin was withdrawn from the medium, the resistance was also gradually reduced.

During the development of the resistance, change in bacterial morphology has been observed, while the biochemical activities and pathogenicity of the bacteria were also decreased or lost entirely. These morphological and physiological characteristics could be resumed when the resistant strains were subcultured repeatedly in the media without the antibiotic.

The significance of the relationship between drug-fastness and bacterial morphology and physiology in clinical bacteriological diagnosis was also briefly discussed.