

# 葡萄球菌濾過形態及其再生株 之性質的實驗研究

杜 平 謝正場 葉天星

(上海第二軍醫大學微生物學教研室)

關於細菌濾過形態的一般性問題，在不久以前我們已作過一篇綜合性文獻報導<sup>[1]</sup>，我們感覺到研究葡萄球菌濾過形態的材料是比較少的。雖早在 1907 年 ДЖИНОЭЛИ 氏就作了該菌能產生濾過形態的報導<sup>[2]</sup>，但此後，就沒有對於此一問題作更進一步研究的材料。為瞭解葡萄球菌產生濾過形態的條件以及濾過形態和它的再生株之一般的生物學性質、致病力、免疫性及抵抗力等，我們在這方面作了一些實驗研究。

## 實驗的方法和結果

1. 濾過形態之產生條件的實驗：將金黃色葡萄球菌按通常方法<sup>[3]</sup>予以增殖和鑑定後，分別接種在：(1)普通肉湯中，(2)血清肉湯中，(3)普通瓊脂上，(4)血瓊脂平皿上，及(5)含 0.1、0.01 和 0.001% 三種不同濃度的石炭酸肉湯中，都放在 37°C 孵箱中，培養 24 小時。

至時將上述各份培養物取出，以無菌手續用 Berkfeld 氏中號(N)濾燭濾過(使用的壓力小於 100 mm Hg)，並將濾過所得到的各份濾液分別接種在：(1)普通肉湯中(接種量為 0.1 毫升 1 份，0.5 毫升 1 份和 1 毫升 1 份)；(2)血清肉湯中(接種份量同上)；(3)普通瓊脂平皿上(接種份量同上)；(4)血瓊脂平皿上(接種份量同上)及(5)雞胚卵黃囊、羊水和尿囊液中(接種份量各為 0.1 毫升 1 份，0.3 毫升 1 份)，一併置於 37°C 孵箱中培養。對上述培養物每隔 24 小時觀察結果一次，一共觀察 14 天。

按上述方法試驗所得到的結果是：凡未經石炭酸處理過的培養物濾液在所有的培養中都未發現有任何的生長跡象。而惟有經過 0.01% 和 0.001% 石炭酸處理過的培養物濾液在營養豐富的培养基上(血清肉湯、血瓊脂、雞胚卵黃囊、尿囊液和羊水)經過 14 天培養後，才發現有生長，而在普通培养基上則未發現生長。

2. 各代再生株之一般生物學性質的實驗：為進一步瞭解葡萄球菌濾過形態之各代再生株(見圖 1、圖 2)的一般生物學特性，我們先就再生株的恢復過程中，於每移種一代時，進行一次試驗。然後再將各代再生株(低溫真空乾燥保存)集中在一回以同樣的方法

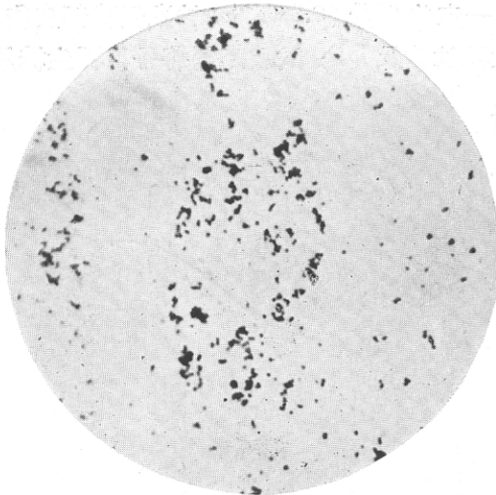


圖1 葡萄球菌濾過形態之再生株的形態(3代)  
1500×

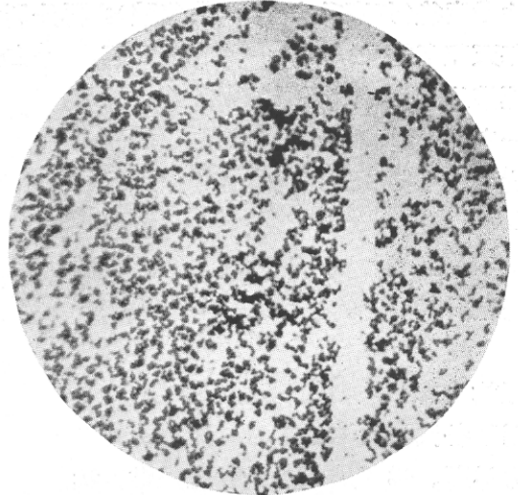


圖2 葡萄球菌濾過形態之再生株的形態(5代)  
1500×

在同一條件下進行一次試驗(一般生物學性質按通常方法<sup>[3]</sup>測定,生長速度用光電比色法<sup>[4]</sup>測定),以比較其前後的試驗結果。現將試驗所獲之結果歸納於表1及圖3中。

表1 葡萄球菌濾過形態之再生株的一般生物學性質

菌株	形 態	培 養		生 化 反 應						血漿凝 固試驗	噬 菌 體 裂解試驗
		在固體培基上的 生長狀況	在液體培基上的 生長狀況	葡 萄 糖	乳 糖	麥 芽 糖	甘 露 醇	蔗 糖	明 膠		
原 株	呈葡萄狀排列	典型金黃色集落	均等混濁生長	+	+	+	+	+	+	++++	++++
再2代	分散顆粒狀	金色小集落,性堅硬,不易壓碎	粒狀沉澱生長,上層不混濁	-	-	-	-	-	-	-	-
再3代	分散顆粒狀	金色小集落,性堅硬,不易壓碎	粒狀沉澱生長,上層不混濁	-	-	-	-	-	-	-	-
再4代	分散顆粒狀	金色小集落,性堅硬,不易壓碎	粒狀沉澱生長,上層不混濁	-	-	-	-	-	-	-	±
再9代	呈葡萄狀排列	金色小集落(較上稍大一些,性堅硬)	粒狀沉澱生長,上層輕度混濁	-	-	-	-	-	-	+	+
再20代	呈葡萄狀排列	金色小集落(較上稍大一些,性堅硬)	粒狀沉澱生長,上層輕度混濁	-	-	-	-	-	-	++	++
再30代	呈葡萄狀排列	金色小集落(較上稍大一些,性堅硬)	粒狀沉澱生長,上層輕度混濁	-	-	-	-	-	-	++	++
再40代	呈葡萄狀排列	典型金黃色集落	沉 澱 + 混 濁	-	-	-	-	-	-	+++	+++
再60代	呈葡萄狀排列	典型金黃色集落	均等混濁生長	-	-	-	-	-	-	+++	+++
再70代	呈葡萄狀排列	典型金黃色集落	均等混濁生長	-	-	-	-	-	-	+++	+++

註：- = 陰性(不醱酵、不凝固、不溶解)，+ = 陽性(+、++、+++、++++表示程度)。

從表1中可看出,各代再生株的一般生物學性質是與原株的一般生物學性質是顯然不同的。雖然各代再生株經過長期的移種後(2~70代),漸漸地恢復了若干性質,但是分解碳水化合物及液化明膠的能力一直未能恢復(至70代)。同樣,從圖3中亦可看出,各代再生株的生長速度,雖隨着移種的代數增多而加快,但都比原株的生長速度緩慢。

3. 各代再生株的毒力實驗：用皮膚壞死試驗及小白鼠致死試驗<sup>[5]</sup>和LD<sub>50</sub>試驗<sup>[6-7]</sup>的方法測定各代再生株的毒力。皮膚壞死試驗系將各代再生株用標準比濁法分別製成一定

從圖 4 可看出,各代再生株的抗體滴度均遠較原株的抗體滴度為低;同時在機體內持續的時間亦較原株為短。至於各代再生株的死菌苗和活菌苗的免疫效果,是一點也沒有顯示任何良好作用(與對照的一樣,——動物全部發生死亡)。

5. 各代再生株的抵抗力實驗<sup>[8-9]</sup>: 先將各種藥物(青霉素、磺胺嘧啶及石炭酸)在液體培养基中分別製成不同的濃度後,再分別取一定量的(0.05 毫升)、預先稀釋( $10^{-4}$ ) 過的各代再生株的培養物加入上述含有不同藥物的肉湯管內,  $37^{\circ}\text{C}$  培養 24 小時後觀察結果。其結果的判定,係按凡最高稀釋的藥品濃度尚能抑制細菌生長者,謂之其“敏感度”。現將試驗所獲之結果整理於表 4。

表 4 結果指出,各代再生株對青霉素的抵抗力均較原株為高(即較原株的敏感性低);而對磺胺嘧啶和石炭酸的抵抗力則均較原株為低(即較原株的敏感性高)。

## 討 論

首先,在第一項試驗中,我們都看到:葡萄球菌在通常的培養條件下都未發現有濾過形態的產生,而祇是在經過 0.01~0.001% 石炭酸處理後,將濾液接種在營養豐富的培养基上,才發現有濾過形態的生長,並且兩次重復試驗的結果亦是如此。因此,這就不得不使我們懷疑到 Г. П. Калина 氏等所提出的認為濾過形態是細菌的一個正常發育階段的說法。因為按照我們的想法,如果濾過形態是細菌的一個正常的發育階段,那麼細菌在通常的培養條件下何以不產生濾過形態呢?

此外,在本文中的其他各項試驗結果亦很清楚地表明出:葡萄球菌濾過形態再生株的生物學活動性是遠較原株的生物學活動性為弱。因此,這就更增加了我們懷疑濾過形態是細菌的一個正常發育階段的看法。而就濾過形態再生株的各種性質(如生長、生化和致病力等)看來,它是和我們通常所稱謂的 L 型的性質是極相似的<sup>[10-11]</sup>。

其次,我們在免疫試驗中亦曾看到:各代再生株免疫動物後所產生的抗體及菌苗(包括活菌苗及死菌苗)的免疫效果,都是非常微弱和沒有作用的(與原株比較)。因此,有人希望從濾過形態中獲取具有高度免疫性的弱毒活菌苗的企圖,對於葡萄球菌說來,是非常不成功的。

最後,還應當提到再生株的抵抗力問題。不少著者都認為濾過形態的抵抗力在其最初的幾代裏是特別強大的。這一點,如果是按一般性所指,那麼,在我們的試驗中則未得到完全證實。例如,在我們的試驗中曾指出,再生株對青霉素的抵抗力較原株的抵抗力為大,這祇是事實的一方面。而另一方面,各代再生株對磺胺嘧啶和石炭酸的抵抗力却比原株為低。

總之,我們認為僅依據一些個別的事,而就作出一般的結論是不正確的。因此,欲想作出一般性的結論,就必須分別對各個細菌進行研究。

## 結 論

1. 金黃色葡萄球菌經 0.01~0.001% 石炭酸處理後,將其濾液接種在營養豐富的培养基中獲得濾過形態之再生株的生長(接種在普通培养基上未生長)。未經石炭酸處理的培養物濾液及  $> 0.01$  或  $< 0.001\%$  石炭酸處理的培養物濾液都未發現有濾過形態再生株的

生長。

2. 金黃色葡萄球菌濾過形態再生株的形態染色、培養特性、生長速度、生化反應、血漿凝固試驗及噬菌體試驗等所獲得的結果，除與一般文獻上所記載的情形相似外，該再生株經過 70 代的移種（在各種培养基上）都未恢復醱酵碳水化合物的能力。

3. 各代再生株的毒力和免疫效果都遠較原株低弱。

4. 各代再生株對青霉素的抵抗力比原株對青霉素的抵抗力為高，而對磺胺嘧啶和石炭酸的抵抗力都比原株對該兩種藥物的抵抗力為低。

（本文曾承謝少文教授審閱）

### 參 考 文 獻

- [ 1 ] 杜 平：微生物學譯報，2 (4)：225~232, 1955。  
[ 2 ] 胡祥璧：中國微生物學會通訊，2 (2)：28~32, 1954。  
[ 3 ] Штибен, В. Д.: Определитель бактерий, патогенных для человека, стр. 30~43, 1955。  
[ 4 ] Willand, Merritt Dean: Instrumental methods of analysis, p. 11—23。  
[ 5 ] Мороз, А. Ф.: Ж.М.Э.И., (1)：22—26, 1956。  
[ 6 ] Reed, L. J., and Muench, H.: Am. J. Hyg., 27: 493, 1935。  
[ 7 ] Тимаков, В. Д.: Ж.М.Э.И., (11)：5—11, 1953。  
[ 8 ] MacLeod, C. M.: J. Bact., 44: 277—287, 1952。  
[ 9 ] MacLeod, C. M.: J. Exptl. Med., 72: 217—232。  
[ 10 ] 杜 平：微生物的種與變異的學說，61—71, 1955。  
[ 11 ] Пешков, М. А.: Цитология бактерий, 151—176, 1956。

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ФИЛЬТРУЮЩИХСЯ ФОРМ И ИХ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ШТАММОВ СТАФИЛОКОККОВ

Ду-пин Се Чжен-ян Ие Тин-син

(Кафедра Микробиологии, Военно-Медицинский Институт, Шанхай)

Золотистые стафилококки образуют фильтрующиеся формы, которые образуются только под действием слабой концентрации фенола, а при обычном условии культуры (т. е. не добавление К среде фенола) фильтрующихся форм не обнаруживались.

Регенеративные штаммы, полученных из фильтрующихся форм золотистых стафилококков не растут на простом агаре и бульоне, а хорошо растут только на обогащенных питательных средах (на средах с добавлением крови, сыворотки и др.).

Они растут очень медленно, в 2—3 суток. На гдердых средах растут в виде сухих зернистых на летово золотитом цвете. На жидких средах дают осадки или зернистые пристеночные росты, причем бульон остается прозрачным.

Регенеративные штаммы фильтрующихся форм золотистых стафилококков патогенных не обладают гемолитической способности, не вызывают свертывания плазмы крови, не разлагают многих углеводов (на пример; лактоза глюкоза, мальтоз, манит, сахароза и д.), не разжижают желатины.

Вирулентность регенеративных штаммов более ослабелая, чем исходные штаммы. Применение вакцин из живых регенеративных штаммов оказалось неэффективным.

Устойчивость регенеративных штаммов к Penicillin выше, чем устойчивость исходных штаммов (Устойчивость исходных штаммов к Penicillin  $< 0.04$  ед./мл; устойчивость регенеративных штаммов к Penicillin  $< 0.625—0.08$  ед./мл). Однако, устойчивость регенеративных штаммов к Sulfadiazine и phenal меньше, чем устойчивость исходных штаммов (Sulfidiazine: исходные штаммы  $< 12.5$  мг/мл.; регенеративные штаммы  $< 1.5$  мг./мл. Phenal: исходные штаммы =  $2.5$  gm%; регенеративные штаммы =  $0.625—1.25$  gm%).