

17 株可疑非典型抗酸菌的細菌学鉴定

張志一

王鳳連

(天津市立第二結核病院, 天津) (中国医学科学院阜外医院, 北京)

近些年来, 国际上关于非典型抗酸菌的报告逐見增加, 来自“肺結核”及其他一些肺部疾患的抗酸菌阳性培养物中非典型抗酸菌的比例也愈来愈大。这些非典型抗酸菌临床上可以引起与結核病难以鉴别的肺部及其他器官的严重損害^[1-3]。根据最近資料統計, 这些抗酸菌阳性培养物中非典型抗酸菌所占的比率在美国可达 28.3%^[2], 羅馬尼亚 20.5%^[4], 日本 9%^[10], 苏^[5]、英^[6]、法^[7]、瑞^[8]、意^[9] 等則較少。M. Nasta 氏报告, 羅馬尼亚 1955 年为 5.7%, 1956 年为 9.4%, 1957 年为 14.2%, 1958 年为 20.5%, 并有逐年上升之势^[4]。在我国目前尚无此种报告。

最近我們有机会从病人的各种病理材料中以及个别实验室保存菌种中得到 17 株着色菌落, 对其作了初步分析, 摘要报告于下。

一、实验材料及方法

一、菌种来源

实验菌株取自各项临床病理材料培养物者 14 株 (見表 1), 取自实验室保存菌种者 3 株, 其中 1 株系取自人型結核菌 $H_{37}Rv$ 卵黃囊接种物、2 株取自两株牛型結核菌在实验室保存过程中所出現之黃色菌落。对照株則有人型結核菌 $H_{37}Rv$ 、 $H_{37}Ra$, 牛型、鳥型、鼠型結核菌, 草分枝、包皮垢杆菌各 1 株及临床上分离之异烟肼敏感与耐药菌各 3 株。

表 1 实 驗 菌 株 来 源

| 編号 | 1 | 2 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 13 | 14 | 16 | 18 |
|------|----|----|---------|-----|----|-----|----|-------|-------|-------|------|-------|-----|--------|
| 来源 | 大便 | 痰 | 痰 | 痰 | 痰 | 尿 | 脛血 | 脛血 | 淋巴 | 肤水 | 尿 | 尿 | 脛血 | 痰 |
| 临床印象 | 未定 | 未定 | 肺及骨关节結核 | 肺結核 | 未定 | 膀胱炎 | 未定 | 肺及腸結核 | 腹股沟肿物 | 胸及肤膜炎 | 慢性腎炎 | 泌尿系感染 | 肺結核 | 肺部慢性炎症 |

二、实验方法

1. 菌落形态的观察 使用改良罗氏培养基, 37°C 培养观察。

2. 菌体形态的观察 将改良罗氏培养基上之新旧培养物及苏通氏含 Tween 80 均匀培养基中之培养物分別涂片观察。

本实验承蒙銓海同志技术协助, 陈国芬、李雄同志协助实验动物之病理检查一并致謝。

本文 1962 年 12 月 27 日收到

3. 其他培养特性之观察 将菌株接种于改良罗氏及普通琼脂培养基各 2 株分为两组, 一组置室温 (20—24℃) 中照明观察, 一组置 37℃ 孵箱, 并于菌落生长早期时二组交换培养处所条件, 观察其培养基营养条件、温度对于菌落生长及光线对于色素改变之影响。

4. 細胞化学反应 对于全部菌株作了試管法中性紅試驗^[11]、触酶定性試驗^[12]及抗煮試驗^[13]。中性紅試驗中由于实验菌株于浸入甲醇时菌落即行分散, 以致于下一步实验前无法更換試剂及观察反应, 故于更換試剂前先行高速离心, 可使細菌重行聚合。

5. 烟草酸試驗 依 Feinstein 氏溴化氰苯胺法^[14,15]。因实验菌株均为产色菌株, 本身带有黃色, 故实验中采取了两个試管对照的方法, 一管于最后加入溴化氰时另一管代以蒸餾水对照观察結果, 可无困难。

6. 盐水分散試驗 用白金环刮取菌落置盐水中輕輕振蕩, 观察菌落是否分散, 本实验使用苏通氏含 Tween 80 均匀培养基代替了盐水。

7. 索帶形成試驗 使用 1 毫克/毫升浓度之菌液作玻片培养。

8. 葯物敏感試驗 用 Kirchner 氏琼脂血清含葯培养基各接种 1 毫克/毫升之苏通氏含 Tween 80 均匀培养基菌液 0.1 毫升, 观察对于鏈霉素、异烟肼及对氨柳酸三种抗結核葯之敏感性。

9. 动物实验 使用小白鼠及豚鼠二者作了接种。小白鼠系經尾靜脉注射 5 毫克/毫升菌液 0.2 毫升, 每株接种 3 只。接种后 12 周解剖作肉眼观察及內脏定量培养。豚鼠(結核菌素試驗阴性)則系于鼠蹊部皮下注射 5 毫克/毫升菌液 0.2 毫升, 每株接种 1 只。接种后 4 及 8 周各作結核菌素試驗 1 次 (1:20 稀释), 12 周后解剖作肉眼观察及組織学检查。

10. 皮肤交叉变态反应 对感染豚鼠使用細結核菌素及各株实验菌菌素作皮肤交叉反应。

二、实验結果

以上 17 株实验菌株通过各項实验最后鉴定为非典型抗酸菌者共 14 株, 鉴定为非致病菌者 3 株。茲将 14 株非典型抗酸菌之各項实验結果分述于下, 对照株部分从略。

1. 菌落形态 (見表 2)

表 2 菌落形态

| 外觀 | 外 型 | | | 色 素 | | |
|-----|-----|----|----|-----|----|----|
| | 光滑 | 粗糙 | 小計 | 淡黃 | 橙黃 | 小計 |
| 合 計 | 14 | 0 | 14 | 13 | 1 | 14 |

2. 菌体形态

在鏡檢中發現大多數菌株有多形性, 同一菌株在不同時間不同培养条件下形态亦不相同。使用为时 8—12 周之改良罗氏培养物涂片检查, 可見大約有 3 組不同形态。第 1 組形态比較典型接近人型結核菌, 但多正直不弯曲, 占 2 株。第 2 組呈球杆菌形, 耐酸性差, 占 8 株。第 3 組显示菌体长短不齐, 占 4 株。

来自液体培养物之标本, 菌体中有明显念珠形态可見。

3. 其他培养特性的观察 (見表 3)

由表 3 看出, 14 株非典型抗酸菌于罗氏培养基上不論 24℃ 或 37℃ 均可生长。普通琼脂上多数不能生长。照光后色素改变加深者占 13 株, 1 株未見改变。

与此同时, 对生长速度作了詳細观察, 于 24℃ 时平均为 10 天, 37℃ 时平均为 7.7 天,

表 3 培 养 特 性

| 項 目 | 生 长 情 况 | | | | | | | | 色 素 改 变 | |
|-----|---------|---|-----|----|-----|---|-----|----|---------|-----|
| 結 果 | 24℃ | | | | 37℃ | | | | 改 变 | 不 变 |
| | 罗 氏 | | 普 琼 | | 罗 氏 | | 普 琼 | | | |
| | + | - | + | - | + | - | + | - | | |
| 合 計 | 14 | 0 | 1 | 13 | 14 | 0 | 1 | 13 | 13 | 1 |

故人型結核菌生长稍快。

4. 細胞化学反应 (見表 4)

表 4 細 胞 化 学 反 应

| 項 目 | 中 性 紅 試 驗 | | | | 触 酶 試 驗 | | | | 抗 煮 試 驗 (分) | | | | | |
|-----|-----------|---|---|----|---------|----|-----|----|-------------|---|----|----|-----|----|
| 結 果 | - | ⊥ | + | 小計 | + | ++ | +++ | 小計 | 1 | 5 | 10 | 15 | 15+ | 小計 |
| 合 計 | 14 | 0 | 0 | 14 | 0 | 2 | 12 | 14 | 6 | 5 | 0 | 1 | 2 | 14 |

中性紅試驗各株均为阴性反应。触酶試驗为強阳性，抗煮試驗一般只能經受 5 分钟以内的煮沸。

5. 烟草酸試驗

只对实验菌株及人型結核菌 H₃₇Rv 作了試驗，結果人型結核菌为阳性，各株非典型抗酸菌为阴性。

6. 盐水分散及索带形成試驗

以苏通氏含 Tween 80 均匀培养基代替盐水作了試驗，各株菌落均于置入試管后稍加振蕩即行分散，成为溷悬菌液。

索带形成試驗中第 9 号菌株有疏松的假索带形成，有 3 株未見生长，其他各株为阴性。

7. 葯物敏感試驗 (見表 5)

表 5 葯 物 敏 感 試 驗

| 葯 別 | 鏈 霉 素 | | | 对 氮 柳 酸 | | | 异 烟 肼 | | | |
|-------|-------|----|----|---------|----|----|-------|----|-----|--|
| 微克/毫升 | 100 | 10 | 1 | 100 | 10 | 1 | 10 | 1 | 0.1 | |
| 生长株数 | 10 | 13 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | |

除 1 株对鏈霉素敏感外，其他各株对三种常用抗結核葯物均有自然耐葯。

8. 动物試驗 小白鼠及豚鼠发病情况 (見表 6 及表 7)。

由表 6 看出，来自临床标本中分离出的 14 株，对小白鼠均有不同程度的致病性，肉眼所見以侵犯肺脏为主。內脏培养中则以脾与肺菌落生长較多，肝为其次，腎則未見一例生长。其中 9 号菌株肺部大体所見呈血源样改变，脏器培养菌落布满整个試管，为对小白鼠致病力最强之一株。2 号菌株肺部大体所見亦有明显結节样改变，但肺組織研浆培养为阴性，組織学检查証实为支气管肺炎，但因脾脏培养有 1 个肯定菌落生长，抗酸染色并有

表 6 小白鼠試驗

| 結果 項目 編号 | 大 体 所 見 | 定 量 培 养 | | | | 致病程度 |
|----------------|-----------------------|----------------|----------------|----------------|---|------|
| | | 脾 | 肝 | 肺 | 腎 | |
| 1 | 肝脾各有灰白色結节 1 个 | — | — | + ^Δ | — | + |
| 2 | 两肺多数結节 | + ^Δ | — | — | — | + |
| 4 | 脾有白色結节 3—4 个 | + | + | + | — | +++ |
| 5 | 两肺有淤血区 | + ^Δ | — | — | — | + |
| 6 | 未見肉眼病变 | + ^Δ | — | ++ | — | ++ |
| 7 | 肺有淤血区 | ++++ | + | — | — | ++ |
| 8 | 肝呈橘黄色 | + ^Δ | — | — | — | + |
| 9 | 两肺满布灰白色結节 | ++++ | + | ++++ | — | ++++ |
| 10 | 肺有灰白色結节 3—4 个 | + | + | ++++ | — | ++ |
| 11 | 肺有灰白色結节 10 数个 | ++++ | — | ++ | — | ++ |
| 13 | 未見肉眼病变 | ++++ | ++ | ++++ | — | +++ |
| 14 | 肺有白色斑 | + | + ^Δ | ++ | — | ++ |
| 16 | 肺有白色斑及淤血区 | ++ | +++ | ++++ | — | ++ |
| 18 | 肺有白色斑 | — | — | + ^Δ | — | + |
| 20 | 左肺上中部米粒大白色斑，下部并有豌豆大硬結 | — | — | — | — | — |
| 21 | 两肺淤血区 | — | — | — | — | — |
| 22 | 肺有白点及淤血区 | — | — | — | — | — |

Δ 示只有少数 (1—5 个) 菌落生长, 但均經涂片染色, 証实有抗酸杆菌

表 7 豚鼠試驗

| 結果 項目 編号 | 大 体 所 見 | 組 織 学 检 查 | | 致病程度 |
|----------------|-----------------|---------------|------|------|
| | | H. E. 染 色 | 抗酸染色 | |
| 1 | 未見肉眼病变 | 未見异常 | — | — |
| 4 | 脾有大小結节 11 个 | 呈軟結核样改变 | + | ++ |
| 5 | 右肺下部块状淤血 | 未見异常 | — | — |
| 7 | 未見肉眼病变 | 未見异常 | — | — |
| 8 | 左腎空洞 | 腎小管囊状扩张无結核性改变 | — | — |
| 9 | 右肺上叶白色区 | 未見异常 | (未检) | — |
| 10 | 脾有結节 1 个 肝有 3 个 | 肝有結节样改变 | + | +++ |
| 11 | 肝有黄色区 | 多数空泡变性 | — | — |
| 13 | 左肺下叶 2 个結节 | 有非典型結节 | — | + |
| 14 | 右肺下叶 1 个結节 | 脾有上皮样結节及巨細胞 | + | + |
| 16 | 脾有大小結节 6 个 | 有坏死灶 | — | ++ |
| 18 | 左肺下叶右肺上叶白色区 | 肺有非典型上皮样結节巨細胞 | — | + |
| 20 | 未見肉眼病变 | 未見异常 | — | — |

杆菌发现, 故仍为致病性菌。20 号原見左肺有明显病变, 下叶部分并有結核瘤样巨大病灶, 但內脏培养及印片检查均为阴性, 組織学检查証实为腺瘤, 未見結核性改变, 証明为非致病性菌。21 及 22 号菌株亦鉴定为非致病性。以上所述內脏病变分布情况, 与郑氏所报結核病院地下水道中非典型抗酸菌之鉴定結果略有不同^[10]。

由表 7 看出 13 只感染豚鼠中有 6 株致病,致病率及致病程度均較小白鼠为低。脾为
其好发脏器,肝次之,腎无 1 份发现。組織学检查中无典型結核結节,抗酸染色只有 3 个

表 8 皮 膚 交 叉 变 态 反 应

| 豚鼠編號 | 結素試驗 | | 自家菌素 | 皮 肤 交 叉 試 驗 結 果 (12 周) | | | | | | | | | | | | 小計 |
|------|------|-----|------|------------------------|-----|-----|------|-----|-------|------|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| | | | | 非 典 型 抗 酸 菌 菌 素 編 号 | | | | | | | | | | | | |
| | 4 周 | 8 周 | | 10周 | 1 | 2 | 4 | 5 | 7 | 9 | 10 | 11 | 13 | 14 | 16 | |
| 1 | — | — | + | (+) | +++ | + | ++ | — | ++ | + | — | ↓ | + | — | — | 6 |
| 4 | — | — | ++ | — | + | (+) | ++ | — | ++ | ++ | — | — | + | — | — | 5 |
| 5 | + | + | +++ | ++ | +++ | + | (++) | — | ++ | +++ | — | — | ++ | — | — | 6 |
| 7 | — | — | + | — | +++ | — | ++ | (—) | — | ++ | — | — | — | — | — | 3 |
| 8 | — | — | — | + | + | — | ++ | — | + | ++ | — | + | + | — | — | 7 |
| 9 | — | + | +++ | + | +++ | — | +++ | — | (+++) | + | + | + | ++ | — | — | 7 |
| 10 | — | — | +++ | + | + | + | ++ | — | ++ | (++) | — | — | — | — | — | 5 |
| 11 | — | — | ↓ | + | +++ | — | +++ | — | + | — | (—) | — | ++ | — | — | 5 |
| 13 | ↓ | — | — | ++ | +++ | — | +++ | — | +++ | ++ | — | (—) | +++ | — | — | 6 |
| 14 | ↓ | — | + | — | ++ | — | ++ | — | + | + | — | — | (+) | — | — | 4 |
| 16 | — | — | — | — | ++ | + | + | — | + | ++ | — | — | — | (—) | — | 5 |
| 18 | — | — | — | + | — | ++ | — | — | + | +++ | — | — | ++ | — | (—) | 5 |
| 合計 | 1 | 2 | 7 | 7 | 11 | 5 | 10 | 0 | 10 | 10 | 1 | 2 | 8 | 0 | 0 | |

表中有括号者为豚鼠感染菌之自家菌素試驗結果,計算交叉反应时不計在內。

表 9 实 驗 小 結

| 編号 | 菌株来源 | 菌落形态 | | 細 胞 化 学 | | | 烟草酸試驗 | 索带形成 | 耐 药 程 度 (微克/毫升) | | | 动物試驗 | | 最后鉴定意見 |
|----|------|------|-----|---------|------|------|-------|------|-----------------|-----|----|------|-----|--------|
| | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 外 型 | 色 素 | 中性紅 | 触酶試驗 | 抗煮試驗 | | | 鏈 | 柳 | 异 | 小白鼠 | 豚鼠 | |
| 1 | 大便 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | 5 | — | — | 100 | 100 | 10 | + | — | 非典型抗酸菌 |
| 2 | 痰 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | 5 | — | — | 100 | 100 | 10 | + | — | 非典型抗酸菌 |
| 4 | 痰 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | 5 | — | — | 10 | 100 | 10 | ++ | ++ | 非典型抗酸菌 |
| 5 | 痰 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | 15 | — | — | 100 | 100 | 10 | + | — | 非典型抗酸菌 |
| 6 | 痰 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | 1 | — | — | 1 | 100 | 10 | ++ | — | 非典型抗酸菌 |
| 7 | 小便 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | — | — | — | 100 | 100 | 10 | ++ | — | 非典型抗酸菌 |
| 8 | 脛血 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | 5 | — | — | 100 | 100 | 10 | + | — | 非典型抗酸菌 |
| 9 | 脛血 | 光滑 | 淡黄 | — | ++ | 1 | — | + | 100 | 100 | 10 | ++++ | — | 非典型抗酸菌 |
| 10 | 淋巴結 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | 1 | — | — | 10 | 100 | 10 | + | +++ | 非典型抗酸菌 |
| 11 | 肤水 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | 1 | — | — | 100 | 100 | 10 | ++ | — | 非典型抗酸菌 |
| 13 | 小便 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | 1 | — | — | 100 | 100 | 10 | + | + | 非典型抗酸菌 |
| 14 | 小便 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | 5 | — | — | 100 | 100 | 10 | ++ | + | 非典型抗酸菌 |
| 16 | 脛血 | 光滑 | 淡黄 | — | +++ | 1 | — | — | 10 | 100 | 10 | ++ | ++ | 非典型抗酸菌 |
| 18 | 痰 | 光滑 | 橙黄 | — | +++ | — | — | — | 10 | 100 | 10 | + | + | 非典型抗酸菌 |
| 20 | 保存菌种 | 粗糙 | 褐黄 | — | +++ | — | — | — | — | 10 | 10 | — | — | 非致病菌 |
| 21 | 保存菌种 | 光滑 | 橙黄 | — | +++ | 5 | — | — | 100 | 100 | 10 | — | — | 非致病菌 |
| 22 | 保存菌种 | 光滑 | 橙黄 | — | +++ | 1 | — | — | 100 | 100 | 10 | — | — | 非致病菌 |

空白处为未見生长或未接种。

标本有抗酸杆菌发现。

9. 皮肤交叉变态反应 对 12 只豚鼠使用旧結核菌素及 12 株非典型抗酸菌素作了皮肤交叉变态反应 (見表 8)。

由表 8 看出,使用自家菌素測定变态反应性,其阳性率高于旧結核菌素 5 倍,反应强度亦較大。非典型菌株之間并有不同比率之交叉反应性。

10. 各株实验菌实验小結 茲将各株实验菌各項主要实验結果小結如下 (見表 9)。

討 論

1. 我国是否存在非典型抗酸菌感染?

国外文献报导非典型抗酸菌感染的发现屢有增加,已如前述,其中尤以美国报导较多^[2]。日本为亚洲国家,发现数字似亦不小^[10]。而我国目前尚无此項报导。

我国究竟有无非典型抗酸菌的感染呢? 本文資料无疑可以肯定其存在,而且可以推测为数尚不太少。我們有意收集的 19 株可疑标本中,除有 5 株于实验中污染未能得到最后鉴定外,所余 14 株均証明为本菌,即可見一斑。郑氏报导^[16],由結核病院地下污水中所分离之 58 株抗酸菌株中亦有 17 株之多,均可說明这一問題。因此,我国非典型抗酸菌感染問題,应该受到足够的重視。至于其确切的感染率以及其他有关研究工作,則有待今后进一步开展。

2. 非典型抗酸菌的本質問題。

关于非典型抗酸菌的本質,即来源問題,文献討論很多,究竟它是一簇特殊分枝杆菌呢^[1,21]? 还是典型抗酸菌^[5,9,23] 乃至腐生菌^[25] 的变异呢? 目前似仍不能下出結論。最近国内吳紹青氏依据 Xalabarder^[23] 氏的意見,认为愈来愈多的資料証明系由典型結核菌变异而来,但是若干細菌学流行病学以及临床病理情况还不能得到解释。因此,在得不出公認的結論以前,本文认为还不如作为一个独立系統进行研究,庶将更有俾益。

3. 非典型抗酸菌的致病性。

非典型抗酸菌对人及动物均有一定致病性,目前約已公認。文献认为其对小白鼠有相当之致病力,对于豚鼠則通常不引起进行性病变^[1,3,4,6,8,17],已如前述。Runyon 氏指出豚鼠皮下注射 5 毫克干菌不能引起进行性病变,但于小白鼠靜脉注射 1/100 毫克,腹腔注射 3 毫克时可以致病,脾、肝、腎、肺均可出現病灶有时并致死亡^[1]。于 Ann Pollak 与 B. Buhler 二氏的报告中除談到大剂量注射不致引起豚鼠、鸡及家兔发病,但可使小白鼠、棕鼠及沟鼠引起不同程度之病变外,并提到地鼠 (Syrian golden hamster) 对非典型抗酸菌更为敏感。

本实验証明小白鼠发病率較大,敏感度較高,好发脏器为肺与脾,肝次之,腎无 1 例发病。豚鼠实验中亦有 6 只占全接种数之一半,发生肯定肉眼病变,好发脏器为脾与肝,腎无 1 例发现,肺只見 1 例。由于 14 株均系来自各种临床病理标本,故亦可认为均有临床致病意义。

4. 非典型抗酸菌的分离与鉴定

文献报导強酸強碱对于非典型抗酸菌的生长均有损害^[6],有的資料証明部分此菌当用 2% 之 HCl, H₂SO₄ 或高于 1% 浓度的 NaOH 处理 30 分钟时,即不能生长^[9]。因此,为

了分离非典型抗酸菌應該重新研究制定标本处理方法,不宜刻板使用結核菌处理常规。否則必将减少此菌之发现而导致錯誤。

如何鉴定此菌,目前亦无具有决定性意义之方案。文献介绍之各种細菌学生化学方法很多,但亦似均有其局限性,于若干情况下最后鉴定仍需依靠动物实验及綜合分析才能决定。

最近 Tarshis 氏^[26](1961)曾对鉴别結核菌、非典型抗酸菌与腐生菌的几种方法作了綜述。在用巯基醋酸盐培养基,并作过氧化酶測定、中性紅試驗、烟草酸試驗及索带形成等对于 109 株各种分枝杆菌(其中包括非典型抗酸菌及人型結核菌各 50 株)作了研究,結果认为所有結核杆菌除鳥型 Sheard 株外,均不能在巯基醋酸盐培养基中生长,而 78% 之非典型抗酸菌及 100% 之腐生菌均能生长。非典型抗酸菌生长緩慢,发育不良,其中感光产色菌約需 6—28 天,不感光产色菌 4—39 天, Battey 型株 2—4 天,而腐生菌生长快速旺盛,1 日之内可以形成典型菌膜。

过氧化酶、烟草酸、中性紅試驗与索带形成試驗等,則除无毒 $H_{37}Ra$ 株外,所有人型、牛型菌均为阳性,但个别牛型菌之烟草酸試驗为阴性。鳥型菌上述四种試驗均为阴性。非典型抗酸菌絕大多数亦为阴性。腐生菌除草分枝杆菌出現部分索带形成外,其余亦均阴性。因此,认为使用以上四种生化反应可将人、牛型結核菌与鳥型結核菌、非典型抗酸菌以及腐生菌作出鉴别。(虽然 50% 的 Battey 株之中性紅試驗为阳性,但其强度較人、牛型結核菌为弱,保留中性紅之時間亦不长。如将試驗放置 24 小时,則可見結核菌保持不变, Battey 株非典型抗酸菌則均有不同程度之消退乃至完全消失。异烟肼敏感之人、牛型結核菌对过氧化酶为強阳性,耐异烟肼株則有不同程度之減弱或变为阴性。而耐鏈霉素、对氨柳酸及氨硫脲者則不然。)

在本实验里未曾使用巯基醋酸盐培养基,而是以罗氏改良培养基为基础,进行了培养特性的观察,以及其他几种生化及动物試驗。初步亦认为非典型抗酸菌与典型結核菌鉴别比較容易,鉴定步驟(参考了 J. F. Coster 及 A. Manten 二氏与日本小川氏^[20]意見)并可簡化如下:

(1) 將可疑菌株接种罗氏培养基 2 支与 10 微克异烟肼含药培养基 1 支,將前者之一与后者置 37°C 孵箱中培养,將另 1 支罗氏培养基置 24°C 室温中,观察生长情况。

(2) 使用含药培养基作触酶試驗。

(3) 使用罗氏培养基作烟草酸試驗。

(4) 結果解释如下表。

至于非典型抗酸菌如何与腐生菌作鉴别,似有一定困难。本文引証郑氏报告^[16]与 Tarshis 氏^[26]意見亦均如此。論其原因主要是二者之間在若干生化反应上多有雷同之处,現有有关实验不能达到鉴别诊断目的。但本实验証明二者于培养特性上仍有明显不同。即于罗氏培养基中非典型抗酸菌生长時間, 24°C 时平均为 10 天, 37°C 时平均为 7.7 天,只較結核菌略短或相一致。而腐生菌則可于 1—3 日內生长旺盛并可有典型菌膜。其次普通琼脂培养基中非典型抗酸菌未見生长而腐生菌則生长,可見二者在营养要求上亦有不同。虽然有的报告中談到非典型抗酸菌可以在普通琼脂培养基中生长,但生长情况不好。此外,非典型抗酸菌中的感光产色菌可借其感光产色現象 (photochromogenicity) 加以識

別,而此种菌乃为非典型抗酸菌中的主要一組。至于最后鉴定,則需依靠动物实验。

表 10 非典型抗酸菌,非致病菌与結核菌之鉴别

| | 結 核 菌 | | 非典型抗酸菌或非致病抗酸菌 |
|----------|-------|-----|---------------|
| | 异 敏 | 异 耐 | |
| 罗 氏 24℃ | — | — | + |
| 罗 氏 37℃ | + | + | + |
| 含 药 培 基 | — | + | + |
| 触 酶 試 驗 | + | 弱 | 强 |
| 烟 酸 試 驗* | + | + | — |

* 其中人型結核菌均为阳性,牛型結核菌为弱阳性或阴性。

总 結

1. 本文系 17 株可疑非典型抗酸菌的細菌学鉴定資料小結。
2. 鉴定結果认为 14 株来自各項临床病理資料中的产色菌株为非典型抗酸菌,具有非典型抗酸菌之各种生物学特性及动物致病力。3 株来自實驗室之保存菌种,为非致病菌。
3. 此 14 株非典型抗酸菌对于小白鼠有不同程度的致病力,其中 6 株并使豚鼠引起肯定病变。对于小白鼠的致病力与致病率均較豚鼠为高,但对豚鼠引起肯定病变一点,应为本实验堪为注目之点。
4. 对于 12 只豚鼠并使用旧結核菌素及非典型抗酸菌菌素作了皮肤交叉变态反应性的測定,結果认为非典型抗酸菌素較旧結核菌素引起更明显的皮肤反应,阳性率高于后者五倍。各菌株之間有交叉反应。
5. 結合实验重点,就非典型抗酸菌的致病性及如何分离与鉴定非典型抗酸菌两点,作了粗略討論。

参 考 文 献

- [1] E. H. Runyon: *The medical clinics of North America*, 43(1):273, 1959.
- [2] D. E. Jenkins: 15th International the conf. vol. of Reports, part I, page 259, 1959.
- [3] A. G. Lewes: *Amer. Rev. Resp. Dis*, 80(2):188, 1959.
- [4] M. Nasta: 15th International the conf. vol. of Reports, part I, page 367, 1959.
- [5] A. L. Kagramanor: 15th International Tbc. Conf. vol. of Reports, part I, page 354, 1959.
- [6] D. A. Mitchison: 15th International Tbc. Conf. vol. of Reports, part I, page 358, 1959.
- [7] A. Facquet: 15th International Tuberc. Conf. vol. of Reports, part I, page 330, 1959.
- [8] E. Hedvall: 15th International Tbc. Conf. vol. of Reports, part I, page 343, 1959.
- [9] B. Besta: 15th International Tbc. Conf. vol. of Reports, part I, page 308, 1959.
- [10] 河合恭次: 結核, 33(4):288, 1958。
- [11] D. E. Hagner: *Am. J. Clin. Path*, 24(2):1954.
- [12] Middle Brook: *Amer. Rev. Tuberc.* 69(3) 471, 1954.
- [13] 孟昭赫: 結核病細菌学診斷法, 第 2 章, 17 頁, 1951。
- [14] Kiyoski Konno: *Amer. Rev. Tuberc.*, 77(4):669, 1958.
- [15] 今野淳: 結核研究の进步, 第 26 号, 73, 1959。
- [16] 郑翼宗: 中国防痨, 6:21, 1959。
- [17] E. H. Runyon 氏: 15th International Tbc. Conf. Vol. of Reports. Part I, Page 396, 1959.
- [18] Ann. Pollak, B. Buhler: *Amer. Rev. Tuberc.*, 71(1):24, 1955.
- [19] J. F. Coster: *Amer. Rev. Tuberc.*, 74(6):958, 1956.

- [20] 小川辰次: 日本临床结核, **16**(7):512, 1957。
[21] Mavrie, S. Tarshis: *Tubercle* **42**(1):101, 1961.
[22] Timple & Runyon: *J. Lab. & Clin. Med.*, **44**:202, 1954.
[23] Xalabarder, C.: *Amer Rev. Resp. Dis.*, **83**:1, 1961.
[24] H. E. Crow: *Amer. Rev. Tuberc.*, **75**(2):199, 1957.
[25] Wolinsky: *Amer. Rev. Tuberc.*, **76**(2):180, 1957.
[26] Tarshis, M. S.: *J. Lab. Clin. Med.* **57**(3):480, 1961.

THE BACTERIOLOGICAL IDENTIFICATION OF 17 STRAINS OF SUSPECTED ATYPICAL ACID-FAST BACILLI

CHANG TSI-YI

(Second Tuberculosis Institute Tientsin, Tientsin)

WANG FENG-LIEN

(Fu-Wai Hospital, Chinese Academy of
Medicine Peking)

In this paper, the results of bacteriological identification of 17 strains suspected to be atypical acid-fast bacilli were reported. The following tests were included: the appearance of the colony morphology, cultural characteristics, neutral red test, niacin test, cord formation, sensitivity to various antituberculous drugs, inoculation to guinea pigs and mice, and skin allergic tests. Fourteen of these 17 strains were obtained from clinical specimens, and all these possessed the same biological characteristics and animal pathogenicity just as the atypical acid-fast bacilli described in the literature. The remaining 3 strains were obtained from the stock cultures kept in this laboratory, and were proven to be unlike the above and were found to be saprophytes.

The 14 strains obtained from clinical cases were pathogenic for white mice, but only 6 induced definite pathologic lesions in the guinea pigs which were proven by microscopical examination. Tuberculin test with OT was carried out on 12 guinea pigs inoculated with 12 of the 14 atypical acid-fast bacilli, and at the same time, they received injections from concentrated culture filtrates prepared from 12 of the atypical acid-fast organisms locally isolated. It was found that these animals reacted to both OT and to the filtrates of acid-fast bacilli, but the latter gave stronger reaction than the OT. Cross reactions among the different strains of atypical acid-fast bacilli locally isolated were also demonstrated. These results were briefly discussed.

发碱—殊異菌的一个新的血清型“2C-2:6(L)”

舒 濬

(卫生部生物制品研究所, 北京)

前曾报导^[1], 由痢疾病人分离得发碱——殊異菌多株。其中 54 株经过詳細鉴定, 在血清学方面, 与大腸杆菌 025、07 及 04 有共通抗原, 根据 Frantzen 氏^[2], Ewing 等氏^[3]的分类, 属于发碱——殊異菌 02 羣。但其生物学性状, 特别是溶血性与环死性与一般 02 羣菌种有显著的不同, 暂命名为“潍坊变种”。近来, 我們得到国际标准菌种, 經对比鉴定得知不是变种而是一个新的血清型。其生物学性状如前报, 血清学特点如下:

附表是各标准菌株的“OK”血清与分离菌“O”菌株与“OK”菌株之間的玻片凝集試驗結果。“O”菌株仅与第 2 羣血清凝集, 与其他羣无交叉。交叉吸收試驗証明, 分离菌与第 2 羣标准株能相互完全吸淨“O”抗体。可見其“O”抗原完全相同。“OK”菌种与任何标准株之“K”抗体都不凝集, 仅与本菌“K”血清有反应。可見分离菌的“K”抗原与已知的发碱——殊異菌“K”抗原完全不同, 是新的“K”抗原。由于已知的发碱——殊異菌“K”抗原共有 5 种, 分离菌的“K”抗原应称为 K6。

“K”抗原分三类, 即 A、B、L 抗原。其中 L 抗原經 100℃ 加热 2½ 小时后, 凝集素产生力(免疫原性), 凝集素結合力(吸取作用)与凝集性均遭破坏。分离菌經加热后, 再用以免疫家兔不产生“K”抗体, 吸收“OK”血清时只能吸去“O”抗体, 剩余“K”抗体, 与純“K”血清亦不呈現凝集反应, 故分离菌之 K 抗原为 L 抗原。这个新的血清型的抗原式为 2:6(L)。由于国际分类^[3]已有 2a(2:1a)与 2b(2:1a, 1b)两个血清型, 应称之为 2c。

附表 分离菌与發碱——殊異菌*的抗原关系

| 血 清 | 5329 | 5330 | 5331 | 5332 | 5339 | 5333 | 5334 | 5335 | 5337 | 5336 | 5340 | 5328 | 5338 | 分 离 菌 |
|----------|-------------------|---------------|---------------|------|--------------|------|--------------|------|------|------|------|------|------|----------------------|
| 所含 OK 抗体 | 1a, 1b: 1a, 1b | 1a, 1b: 1a | 1a: 1a, 1b | 2:1a | 2: 1a, 1b | 3a:2 | 3a, 3b: 2 | 4:3 | 5:4 | 5:3 | 6:5 | 7:1a | 8:— | 2:? |
| 相应标准菌株 | O | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | 5332 +++ 5339 +++ |
| | K | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | — | — |
| 分 离 菌 株 | O | — | — | — | +++ | +++ | — | — | — | — | — | — | — | +++ |
| | K | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | +++ |

* 菌种原始来源: 法国巴黎巴斯德研究院。

参 考 文 献

[1] 舒濬: 人民保健, 1959 年第 7 号, 599—604 頁。
[2] Frantzen, E: Biochemical and Serological Studies On the Alkalescens-Dispar Group. Munksgaard Copenhagen.
© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

- [3] Ewing, W. H. Taylor, M. W. & Hucks, M. C Public Health Rpt., **65**: 1474, 1950.
[4] Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae. 1954, 2nd. ed., Munksgaard Copenhagen.

A NEW SEROTYPE OF *B. ALKALESCENS*-DISPAR "2C-2:6(L)"

SHU CHÜN

(*National Vaccine and Serum Institute, Peking*)

54 strains isolated from clinical dysentery patients have been identified as *B. alkalescens*-dispar belonging to 0—2 group. A new K antigen differing from all the known ones was found in this organism and was designated as "6(L)". The strains were this designated as *B. alkalescens*-dispar "2C-2:6(L)".