

一株符合无色杆菌科性状的球杆菌描述*

何晓青

赵宗越

龔天恩

(中国医学科学院江西分院 (江西省卫生防疫站, 南昌) (175 医院, 南昌)
细菌免疫研究室, 南昌)

本文报告了自烧伤病人创面感染分离出编号为“64-320”的、1 株符合无色杆菌科性状的、无动力球状双杆菌的鉴定结果, 并讨论其在分类学中的位置和致病力, 认为这一菌株与粘液无色杆菌和溶血无色杆菌, 或称为硝酸盐阴性杆菌、粘液双球菌和阴道海雷氏菌的一类微生物近似。

试验表明: “64-320” 菌株在含胨的培养基内对糖(醇)类的反应时间显著延迟, 甚或不规则地出现阴性结果, 故以在不含胨的 Board 氏培养基内进行观察较为适宜, 在鉴定类似细菌的工作中应引起注意。

一类符合无色杆菌科性状, 无动力的病原性微生物正在日益引起国内外的重视。由于它们在分类学的研究方面还不够充分, 并具有多形态的特性, 有时酷似奈瑟氏菌, 有时则为典型的杆状或双杆状, 故在文献中有着各种不同的名称, 较常见的名称有: 粘液双球菌 (*Diplococcus mucosus*)^[1], 模仿菌族 (*Mimeae*)^[2] 以及硝酸盐阴性杆菌 (*Bacterium anitratum*)^[3] 等。国际细菌学命名委员会为此设立了一个特别委员会来研究其分类学问题^[4]。

我们自 1 位烧伤病人的创面感染, 分离到 1 株类似的微生物, 兹将其性状描述并讨论如下:

菌株性状描述

菌株来源 菌株编号为“64-320”。自 1 位烧伤病人创面分离, 患者烧伤面积达 90%, 其中三度为 50%。此菌株在烧伤后第 4 日开始出现, 为创面上的优势菌类。初时几乎呈纯培养状态, 此后继续维持优势达 14 日之久, 其后在创面上出现了粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*), 大肠艾希氏菌 (*Escherichia coli*) 和绿脓假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*), 并依次取代了此菌株的优势

地位, 使其成为少数。又经 21 日, 随着创面之愈合, 菌数和菌类显著减少时始未再检出。在整个感染过程中, 我们陆续分离到本菌株的许多培养物, 其中对编号为 井 1, 井 6, 井 46 的培养物作了详细的观察, 未发现重要的差异。

形态和培养特性 在固体培养基上极大多数菌落的菌体形态为球状细胞, 单个或成对, 直径 0.6—1.0 微米, 成对者细胞呈肾形, 接触面扁平 (见图 1)。偶有极少数的菌落全部为杆状细胞, 长约 2 微米, 这种菌落经移种后, 仍变为典型的奈瑟氏菌状。在液体培养基内多数为球杆状至杆状细胞, 大小为 1.0—1.2 × 1.5—2.5 微米, 常排列成对, 少数形成长丝状细胞, 可长达 20—50 微米, 亦有少数为球状细胞 (见图 2)。革兰氏染色为阴

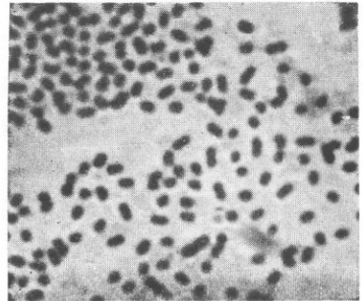


图 1 兔血琼脂培养基上的菌体形态 × 1800

* 蒙韩瑞金大夫协助摄制显微镜照片, 特此致谢。
本文 1964 年 10 月 23 日收到。

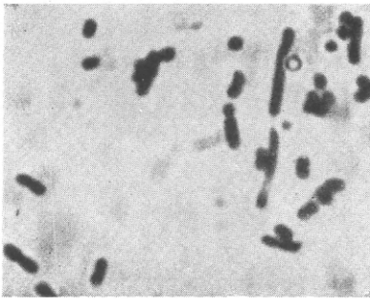


图2 肉汤培养物的菌体形态,有的细胞形成长丝状 × 1800

性。

以 Hiss 氏法染色可见清晰之荚膜。

悬滴法及半固体穿刺培养均无动力。

在兔血琼脂平板上形成大而光滑、湿润、不透明、突起的菌落,无色素,边缘整齐,菌落直径为 2.5—3.0 毫米。周围有一个大而清晰的溶血圈。以铂环触之,具有很强的粘性,可牵丝。在羊血琼脂平板上不溶血,放置 2—3 天后可见微弱而不明显的溶血。

在营养琼脂平板上生长良好,菌落特征与在兔血琼脂上所见者相似,唯菌落略小。在琼脂斜面上连续移种 10 代后,菌落的粘性略见减退。

稀释接种于 S. S. 琼脂上生长良好。

肉汤管内呈均匀混浊,表面形成菌膜,培养 2—3 天后在表面形成环状,其菌膜或表面环具有很强的粘性。

本菌在 pH7.0—9.0 均生长良好,低于 pH7.0

生长情况依次减弱, pH 5.0 以下则完全不能生长。

适宜温度为 37°C,但在 22°C 也能生长,于 45°C 不生长。

生化特性 专性需氧。氧化酶^[5]和细胞色素氧化酶^[6]均为阴性,触酶活性较低,过氧化物酶为阴性。对糖类的代谢类型为氧化型^[7,8]。

在不含蛋白胨的 Board 氏液体培养基^[8]内,分解葡萄糖、半乳糖、甘露糖、阿拉伯糖、木糖及麦芽糖,于 24 小时内产酸;迟缓分解纤维二糖、乳糖、鼠李糖及乙醇(3%);下述几种糖(醇)类可以迟缓产生较弱的酸或不产酸,即:果糖、蕈糖、棉子糖、菊糖及肌醇;30 日内不分解蔗糖、糊精、淀粉、肝糖、甘油、赤藻醇、侧金盏花醇、甘露醇、山梨醇、卫矛醇、水杨苷、七叶苷和根皮苷。在 10% 乳糖斜面上可于 24 小时内产酸。于陈水内分解糖(醇)类产酸的时间一般均较为缓慢,甚或在某些糖类不规则地出现阴性结果。(见表 1)

甲基红试验为阴性,不产生乙酰甲基甲醇。在 Simmon 氏枸橼酸铵琼脂上生长良好。

不产生靛基质(Ehrlich-Boehme 氏法)及硫化氢(三糖铁琼脂)。不水解尿素(液体及固体培养基)。迅速液化明胶(2 日,营养明胶于室温培养),不液化凝固血清。硝酸盐还原试验为阴性(5 日)。

致病力 对小白鼠有致病力,体重为 15 克的小白鼠 5 只,于腹腔内注射 18 小时的肉汤培养物 0.1 毫升后均发病,行动迟缓,食欲减退,全部于

表 1 “64-320”菌株对糖(醇)类的分解能力

糖 (醇) 类	在 Board 氏培养基内			在 陈 水 内		
	# 1	# 6	# 46	# 1	# 6	# 46
葡萄糖、木糖、半乳糖	+ ¹	+ ¹	+ ¹	+ ¹	+ ¹	+ ¹
阿拉伯糖、甘露糖	+ ¹	+ ¹	+ ¹	+ ^{1½}	+ ^{1½}	+ ^{1½}
麦芽糖	+ ¹	+ ¹	+ ¹	- ³⁰	+ ¹⁹	- ³⁰
纤维二糖	+ ²	+ ²	+ ²	+ ⁷	+ ⁷	+ ⁷
乳 糖	+ ⁴	+ ⁴	+ ⁴	+ ¹⁰	+ ¹³	+ ⁷
乙醇 3%	+ ³	+ ⁵	+ ⁵	+ ⁶	+ ⁶	+ ⁸
鼠李糖	+ ¹⁰	+ ¹⁰	+ ¹⁰	+ ²⁸	+ ¹⁷	+ ¹⁷
果糖、蕈糖、棉子糖、菊糖、肌醇	×	×	×	- ³⁰	- ³⁰	- ³⁰
蔗糖、糊精、淀粉、肝糖、甘油、赤藻醇、侧金盏花醇、甘露醇、山梨醇、卫矛醇、水杨苷、七叶苷、根皮苷	- ³⁰	- ³⁰	- ³⁰	- ³⁰	- ³⁰	- ³⁰

“+”产酸, 右上角数字表示出现反应的天数;“-³⁰”30 日内不产酸;“×”迟缓而微弱的产酸或不产酸。

36 小时内死亡,自死亡的小白鼠心血和肝、脾中均分离得到原菌。对豚鼠也有一定的致病力,体重为 150 克的豚鼠 2 只,于腹腔内注射 18 小时的肉汤培养物 0.5 毫升后均发病,主要表现为行动迟缓及食欲减退等症状,2—3 日间症状最严重,但于 4 日后逐渐恢复健康。

抵抗力 加热至 60℃ 10 分钟可杀菌。于紫外灯下距离 1 米处照射 10 分钟可杀菌。污染肉汤培养物的纱布块,经充分干燥后,室温放置 114 天以上仍能存活。

对新霉素(0.5 微克/毫升)、红霉素(0.8 微克/毫升)、多粘菌素 B(6 单位/毫升)及四圈素(6 微克/毫升)均敏感;对青霉素(100 单位/毫升)、链霉素(50 微克/毫升)、氯霉素(100 微克/毫升)和磺胺嘧啶(1000 微克/毫升)均不敏感。

讨 论

按照我们的鉴定结果,“64-320”菌株与文献中所描述的粘液双球菌,硝酸盐阴性杆菌及模仿菌族中的阴道海雷氏菌(*Herellea vaginicola*)^[9]近似。粘液双球菌系 1906 年 von Lingelsheim 所命名^[1],其后的文献中关于这一类细菌的多形态特性尚未被引起注意,均称为粘液双球菌。1942 年,De Bord 报告了一类革兰氏阴性多形性微生物,称为模仿菌族^[2]。1948 年,Schub 及 Hauber 报告了 15 株革兰氏阴性杆菌的生化学与血清学的研究结果,建议命名为硝酸盐阴性杆菌,其中 1 株曾被误认为淋球菌,又有数株于初分离时看到了典型的球状形体^[3]。它们之间的关系,1953 年 Seeliger 第一次提出了粘液双球菌可能和硝酸盐阴性杆菌相同的观点^[10],至 1961 年, Cary 证明了它们在血清学上的关系^[11]; 1963 年, Henriksen^[12]认为模仿菌族中阴道海雷氏菌的原始描述^[2]虽与硝酸盐阴性杆菌不同,但 Deacon 所分离的阴道海雷氏菌^[9]与硝酸盐阴性杆菌相同。至于这类细菌在分类学上的地位, Brisou 及 Prévot 建

议设立一个无动力的菌属: *Acinetobacter*^[13], Lwoff 则将它们置于摩拉氏菌属内^[14],以及还有另外的一些意见,这一问题迄未得到最后的解决。

1962 年 Stenzel 及 Mannheim^[15]研究了 175 株类似的菌株,区分为 5 个菌种,并对它们的特性作了较为详细的描述。我们所分离的“64-320”菌株在菌落为粘液型和对小白鼠的致病力方面接近于其中的粘液无色杆菌,而在 S. S. 琼脂上生长,在 45℃ 不生长和液化明胶方面则接近于溶血无色杆菌。其他的文献对这一类细菌的描述均较为简略。由此看来,还有必要进一步观察大量菌株以明确它们的分类问题。

本文应用了胰水和不含胰的 Board 氏培养基以观察细菌对糖(醇)类的分解能力,从表 1 看出,“64-320”菌株在有胰的情况下对糖(醇)类的反应时间显著延迟,有时且出现阴性结果,且因该菌株可以利用无机铵盐,故其对糖(醇)类的反应以在不含胰的 Board 氏培养基内进行观察较为适宜。同时考虑到过去文献中所报告这一类细菌对糖(醇)类反应的结果变异颇大,特别是乳糖、鼠李糖和麦芽糖的结果很不一致,究系菌株本身的差异,还是所用方法所造成的人为误差,尚难以肯定,应引起注意。

这一类细菌的致病力按文献所载已无容置疑,如对脑膜炎^[16],灼伤的创面感染及败血症^[17-19],以及引起泌尿道、呼吸道、骨髓、关节等的感染^[20]。本文报告的“64-320”菌株是创面感染的病原菌,对小白鼠和豚鼠都有一定的致病力。

参 考 文 献

- [1] Von Lingelsheim, W.: *Klin. Jb.*, 15:373, 1906. 引自 [15].
- [2] De Bord, G. G.: *Iowa State coll. J. Sci.*, 16:471—480, 1942.

- [3] Schaub, I. G. and Hauber, F. D.: *J. Bact.*, **56**:379—385, 1948.
- [4] Report on the organization of an *ad hoc* committee to study the nomenclature and classification of "*Bacterium anitratum*, the *Moraxella*, the *Mimeae*, and allied organisms" (1962), *Intl. Bull. Bact. Nomen. Tax.*, **13**: 125—126, 1963.
- [5] Kovacs, N.: *Nature*, **178**:703, 1956.
- [6] Gaby, W. L. and Hadley, C.: *J. Bact.*, **74**: 356—358, 1957.
- [7] Hugh, R. and Lcifson, E.: *J. Bact.*, **66**: 24—26, 1953.
- [8] Board, R. G. and Holding, A. J.: *J. App. Bact.*, **23**:xi—xii, 1960.
- [9] Deacon, W. E.: *J. Bact.*, **49**:511—512, 1945.
- [10] Seeliger, H.: *Zbl. Bakt.* (I Abt. Orig.), **159**: 173—176, 1953.
- [11] Cary, S. G.: *Intl. Bull. Bact. Nomen. Tax.*, **11**:79—85, 1961.
- [12] Henriksen, S. D.: *Intl. Bull. Bact. Nomen. Tax.*, **13**:51—57, 1963.
- [13] Brisou, J. and Prévot, A. R.: *Ann. Inst. Pasteur*, **86**:722—728, 1954.
- [14] Lwoff, A.: *Ann. Inst. Pasteur*, **106**:483—484, 1964.
- [15] Stenzel, W. and Mannheim, W.: *Intl. Bull. Bact. Nomen. Tax.*, **13**:195—200, 1963.
- [16] 程松高、陈文杰: *微生物学报*, **4**:103—112, 1956.
- [17] 黎希干: *中华医学杂志*, **50**:244—245, 1964.
- [18] 史济湘等: *抗菌素研究 III. 抗菌素在医学上的应用*, 239—247 页, 上海科学技术出版社, 1962.
- [19] Graber, C. D., Rabin, E. R., Mason, A. D. and Vogel, E. H.: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy-1961*, 1—5, American Society for Microbiology, Detroit, 1962.
- [20] Reynolds, R. C. and Cluff, L. E.: *Ann. Intern. Med.*, **58**:759—767, 1963.

DESCRIPTION OF A STRAIN OF COCCOBACILLUS EXHIBITING THE CHARACTERISTICS OF ACHROMOBACTERIACEAE

HO SHIAO-CHING

(Department of Bacteriology and Immunology, Chinese Academy of Medical Sciences, Nanchang)

CHAO TSUNG-YUE

(Kiangsi Provincial Sanitary and Epidemiological Station)

GUNG TIEN-EN

(No. 175 Hospital, Nanchang)

A strain of non-motile Gram-negative pleomorphic coccobacillus, frequently occurring in the form of diplococcus, labelled "64-320", has been isolated in pure culture from an infected case of burn. It exhibits the usual properties of *Achromobacteriaceae* with the following characteristics:

When grown on rabbit blood agar, it is spherical in shape, occurs singly or in pairs with adjacent sides flattened, but when grown in broth, the majority of the cells are either ellipsoidal or short rods, frequently in pairs. It is capsulated.

The colonies on agar are slimy, moist, opaque, smooth and convex, with no pigment formation. In broth, its growth is turbid, with pellicle and ring formation on the surface. On rabbit blood agar, β hemolysis is seen, but none on sheep blood agar plate. It grows well on S. S. agar. The optimal growth temperature is 37°C, and no growth occurs at 45°C. It is strictly aerobic. It does not

form oxidase or cytochrome oxidase, nor peroxidase. It forms only weak activity of catalase. It shows only oxidative action on sugars with the formation of acid from glucose, galactose, mannose, arabinose, xylose and maltose in 24 hours. Later, lactose, rhamnose, cellobiose and ethanol (3%) are also decomposed. It does not attack sucrose, dextrin, starch, glycogen, glycerol, erythritol, adonitol, mannitol, sorbitol, ducitol, salicin, aesculin or phloridzin in 30 days. On 10% lactose agar slant, acid is produced in 24 hours.

Methyl red test is negative, acetoin is not produced. There is growth on Simmon's agar, but indol and hydrogen sulphide are not produced. Urease is negative. Gelatin is liquified promptly. Coagulated serum is not liquified. Nitrates are not reduced to form nitrites.

It is pathogenic for mice and for the guinea pigs.