

一株分解淀粉的摩拉氏菌*

邱明庆 何晓青 赖东耀

(中国医学科学院江西分院 细菌免疫研究室, 南昌)
(江西医学院微生物教研组)

本文报告自脊髓液中检出一株摩拉氏菌形态、培养、生化特性等较详细的鉴定结果。本菌不液化凝固血清,可分解淀粉、糊精、麦芽糖及葡萄糖,与文献所载各种摩拉氏菌不同。对摩拉氏菌的分离技术有关问题作了讨论,指出本属细菌为一类较难生长易于漏检之微生物,其病原意义及分类学问题已引起国内外重视,应在临床及微生物学工作中加以注意。

摩拉氏菌为一类革兰氏阴性双杆菌,首由 Morax (1896)自一传染性眼结膜炎患者之眼分泌物中分出。除眼病外,某些摩拉氏菌尚可引起一系列呼吸道粘膜炎症及脑膜炎等疾患,亦可寄生于健康人体呼吸道及泌尿生殖系粘膜组织^[1-7]。有关摩拉氏菌的致病性及分类学问题,尚待进一步研究,近年来国外连续发表专文论述^[2-4,7-9],并已成为国际性组织研讨有关问题^[10]。国内目前尚未见关于摩拉氏菌的报导。作者

等自一份脊髓液中检出一株淀粉分解摩拉氏菌(新种),兹描述如下。

(一) 形态及染色

本菌为革兰氏阴性球杆菌,形态细小,排列成对,偶见短链,呈多形性,以双杆菌占优势,单个细胞呈球状,见图1。有时可见棒状,哑铃状,念珠状及丝状形体。菌体一般大小为0.4—0.5微米×0.7—0.8微米,肿胀细胞可达1—1.5×2—3微米。液体培养物中菌体较固体培养者为大,多呈杆状,粘性沉淀中且可见长大之分枝状形体,见

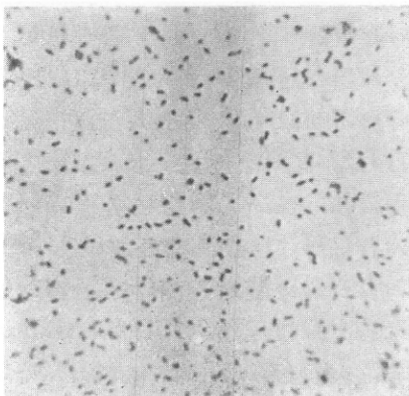


图1 细小双杆菌

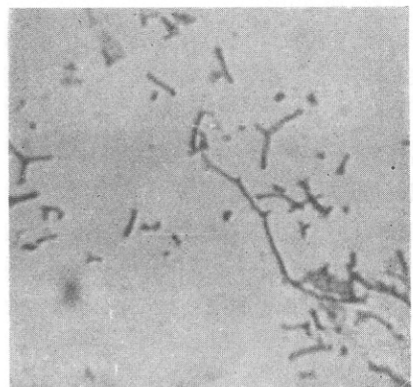


图2 粘性沉淀中之分枝状形体及杆状,球状细胞

淀粉分解摩拉氏菌的各种形态(900×)

* 本文承易焯副教授及潘达鑫副主任审阅指导,部分技术工作承梅魁敏医师协助,摄影承彭国平、林光华老师,蓝祥英、邓永生医师协助,特此一并致谢。

本文1965年8月21日收到。

图2。复红复染不易着色,常须延长至3—5分钟,有时可保留结晶紫而呈紫色。本菌无芽胞, Antony 氏染色可见荚膜。半固体穿刺培养及悬滴检查,未发现动力。

(二) 生长及培养特性

本菌于初分离时不易生长,在兔血琼脂上一周后始于斜面下端生长微细菌苔,但经多次传代,一个月后渐适应于普通营养琼脂,且在加有酵母膏之 Board 氏培养基^[11]及 B. T. B. 琼脂上也能生长。但在 Simmon 氏枸橼酸铵,葡萄糖铵及 S. S. 琼脂上均不生长。

本菌对大气湿度要求严格,于37℃下对干燥十分敏感。相对湿度在70%以下则生长不良或不生长,而在80—90%时生长最好。本菌生长温度范围较宽,于适宜大气湿度下,20℃及37℃均能生长。4℃冰箱中亦有缓慢生长,但在45℃不能生长。最适生长 pH 为7.0—8.1, pH 5.9 以下及9.5以上均不生长。

本菌于各种固体培养基上24小时孵育,仅见针尖状细小菌落,或仅于浓厚涂抹处出现雾状菌苔^[1],甚至完全不见生长,48小时后始出现能分辨之菌落,形态如下:

兔血琼脂 圆形,凸出,光滑湿润之灰白色小菌落,直径约为1毫米,透明,不溶血。3—5天后菌落增大至2—3毫米,渐呈灰黄色,圆润光滑,有珠样光泽,稍具粘性。

普通营养琼脂 菌落形态同上,对光观察透明,3—5天后菌落增大,呈灰黄色,无可溶性色素。

吕氏血清 无色透明圆形菌落,稍扁平,一个月以上无液化现象。

明胶 平碟上为白色隆起小菌落,直径1毫米以下,第3—4天开始液化,可见菌落周围呈陷窝状下陷液化圈,直径2—3毫米,穿刺培养第四天仅见表层液化。

马铃薯切块 黄色粘液状菌苔,浓厚湿润,融合成堆,呈酪样生长。

肉汤 37℃ 24小时均匀混浊,48小时后培养基底部有灰白色粘性丝状沉淀。

0.4% 半固体 沿穿刺线浅端生长,不扩散。

(三) 生化特性

需氧、氧化酶^[12,13]及触酶试验阳性,细胞色素氧化酶试验阴性^[14]。可产生蕈基质,甲基红试验阴性,不产生乙酰甲基甲醇,不利用枸橼酸铵,不产生硫化氢(三糖铁琼脂),不水解尿素,缓慢液化明胶,不液化凝固血清。牛乳培养基上不生长,硝酸盐可还原为亚硝酸盐^[15],淀粉水解试验阳性^[15]。

葡萄糖代谢类型为氧化型^[11,16]。不分解10%乳糖,可分解1%的葡萄糖、麦芽糖(2—4天)、糊精(4—6天)、淀粉(9—12天),产酸无气。14天内不分解1%的阿拉伯胶糖、鼠李糖、木糖、果糖、半乳糖、甘露糖、乳糖、蔗糖、蘘糖、纤维双糖、棉子糖、菊糖、肝糖、甘油、赤丝藻醇、侧金盏花醇、甘露醇、山梨醇、卫茅醇、水杨苷、肌醇。

(四) 抵抗力

加热55℃ 10分钟可杀死,紫外线照射10分钟死亡,干燥情况下肉汤培养物污染滤纸片及纱布块,37℃时两周死亡,室温下45天以上仍存活,半固体保存菌种低温-35℃八个月以上仍存活。

对青霉素敏感,试管法测定每毫升含青霉素0.25单位即可杀菌,0.1单位亦具强抑作用,纸片法对10微克呋喃西林、氯霉素、金霉素、四圈素敏感。对10微克链霉素、合霉素、100微克磺胺嘧啶抵抗。

讨 论

自 Morax 首次发现摩拉氏菌后, L. woff (1939) 将有关菌创立一新属,命名为摩拉氏菌属(*Moraxella*)。以后各作者对此类细菌续有报导,其菌属指征亦稍明确^[2,5-9,17]。第7版 Bergey 鉴定细菌学手册将摩拉氏菌分为陷窝摩拉氏菌(*Moraxella lacunata*),液化摩拉氏菌(*Moraxella liquefaciens*)及牛型摩拉氏菌(*Moraxella bovis*)。此三种菌均能液化凝固血清,且在其他培养特性上与本文菌种亦各有不同(见表1)。Henriksen (1960) 指出目前摩拉氏菌可归纳为五个种,除包括上述三个种外,尚有不液化摩拉

图2。复红复染不易着色,常须延长至3—5分钟,有时可保留结晶紫而呈紫色。本菌无芽胞, Antony 氏染色可见荚膜。半固体穿刺培养及悬滴检查,未发现动力。

(二) 生长及培养特性

本菌于初分离时不易生长,在兔血琼脂上一周后始于斜面下端生长微细菌苔,但经多次传代,一个月后渐适应于普通营养琼脂,且在加有酵母膏之 Board 氏培养基^[11]及 B. T. B. 琼脂上也能生长。但在 Simmon 氏枸橼酸铵,葡萄糖铵及 S. S. 琼脂上均不生长。

本菌对大气湿度要求严格,于37℃下对干燥十分敏感。相对湿度在70%以下则生长不良或不生长,而在80—90%时生长最好。本菌生长温度范围较宽,于适宜大气湿度下,20℃及37℃均能生长。4℃冰箱中亦有缓慢生长,但在45℃不能生长。最适生长pH为7.0—8.1, pH5.9以下及9.5以上均不生长。

本菌于各种固体培养基上24小时孵育,仅见针尖状细小菌落,或仅于浓厚涂抹处出现雾状菌苔^[1],甚至完全不见生长,48小时后始出现能分辨之菌落,形态如下:

兔血琼脂 圆形,凸出,光滑湿润之灰白色小菌落,直径约为1毫米,透明,不溶血。3—5天后菌落增大至2—3毫米,渐呈灰黄色,圆润光滑,有珠样光泽,稍具粘性。

普通营养琼脂 菌落形态同上,对光观察透明,3—5天后菌落增大,呈灰黄色,无可溶性色素。

吕氏血清 无色透明圆形菌落,稍扁平,一个月以上无液化现象。

明胶 平碟上为白色隆起小菌落,直径1毫米以下,第3—4天开始液化,可见菌落周围呈陷窝状下陷液化圈,直径2—3毫米,穿刺培养第四天仅见表层液化。

马铃薯切块 黄色粘液状菌苔,浓厚湿润,融合成堆,呈酪样生长。

肉汤 37℃ 24小时均匀混浊,48小时后培养基底部有灰白色粘性丝状沉淀。

0.4% 半固体 沿穿刺线浅端生长,不扩散。

(三) 生化特性

需氧、氧化酶^[12,13]及触酶试验阳性,细胞色素氧化酶试验阴性^[14]。可产生蕈基质,甲基红试验阴性,不产生乙酰甲基甲醇,不利用枸橼酸铵,不产生硫化氢(三糖铁琼脂),不水解尿素,缓慢液化明胶,不液化凝固血清。牛乳培养基上不生长,硝酸盐可还原为亚硝酸盐^[15],淀粉水解试验阳性^[15]。

葡萄糖代谢类型为氧化型^[11,16]。不分解10%乳糖,可分解1%的葡萄糖、麦芽糖(2—4天)、糊精(4—6天)、淀粉(9—12天),产酸无气。14天内不分解1%的阿拉伯胶糖、鼠李糖、木糖、果糖、半乳糖、甘露糖、乳糖、蔗糖、蕈糖、纤维双糖、棉子糖、菊糖、肝糖、甘油、赤丝藻醇、侧金盏花醇、甘露醇、山梨醇、卫茅醇、水杨苷、肌醇。

(四) 抵抗力

加热55℃ 10分钟可杀死,紫外线照射10分钟死亡,干燥情况下肉汤培养物污染滤纸片及纱布块,37℃时两周死亡,室温下45天以上仍存活,半固体保存菌种低温-35℃八个月以上仍存活。

对青霉素敏感,试管法测定每毫升含青霉素0.25单位即可杀菌,0.1单位亦具强抑作用,纸片法对10微克呋喃西林、氯霉素、金霉素、四环素敏感。对10微克链霉素、合霉素、100微克磺胺嘧啶抵抗。

讨 论

自 Morax 首次发现摩拉氏菌后, L. woff (1939) 将有关菌创立一新属,命名为摩拉氏菌属(*Moraxella*)。以后各作者对此类细菌续有报导,其菌属指征亦稍明确^[2,5-9,17]。第7版 Bergey 鉴定细菌学手册将摩拉氏菌分为陷窝摩拉氏菌(*Moraxella lacunata*),液化摩拉氏菌(*Moraxella liquefaciens*)及牛型摩拉氏菌(*Moraxella bovis*)。此三种菌均能液化凝固血清,且在其他培养特性上与本文菌种亦各有不同(见表1)。Henriksen (1960) 指出目前摩拉氏菌可归纳为五个种,除包括上述三个种外,尚有不液化摩拉

表 1 淀粉分解摩拉氏菌与原有型种的比较

培 养 特 性	菌 名			
	陷窝摩拉氏菌 <i>Moraxella lacunata</i>	液化摩拉氏菌 <i>Moraxella liquefaciens</i>	牛型摩拉氏菌 <i>Moraxella bovis</i>	淀粉分解摩拉氏菌 <i>Moraxella amylolytica</i>
	(Eyre 1899) Lwoff 1939	(McNab 1904) Murray 1948	(Hauduroy 1937) Murray 1948	本 文
肉浸液或蛋白胨水(生长)	(-)	(-)	(+)	+
血液琼脂(生长)	(-)*	+	+	(+)
明胶液化	-	+	(+)	(+)
凝固血清液化	+	+	+	-
牛乳生长	-	-	+	-
马铃薯培养基生长	-	黄白色, 粘液状生长	-	黄色, 粘液状生长
糖类分解	可分解各种碳水化合物及甘露醇, 产酸。	-	-	可分解淀粉, 糊精, 麦芽糖及葡萄糖, 产酸。
适宜生长温度	37°C	20°C—37°C	36°C	20°C—37°C

“+” 生长或液化; “(+)” 缓慢生长或缓慢液化; “-” 不生长, 不液化; 或不分解

“(-)” 初分离不生长或添加腹水, 血清才能生长;

* 此菌在血液琼脂初分离不生长, 须用腹水或血清肉汤。

氏菌 (*Moraxella nonliquefaciens*)^[1,2,5-7] 及蔗糖分解摩拉氏菌 (*Mordxella saccharolytica*)^[7,18,19]。前者近年来经常自实验室检出, 不能液化凝固血清, 亦均不分解糖类。后者系来自一脑膜炎患儿脑脊液之唯一菌株, 可分解蔗糖、麦芽糖、葡萄糖、左旋糖及甘油。而本文菌种不液化血清, 可分解淀粉等碳水化合物, 故与以上菌种亦不相同。根据此类细菌生化特性的改变及菌型变迁的关系, 可认为本文菌种为其中间型之一。

值得提出的是本文菌种初分离时生长缓慢, 且需要血液, 而在数周后又可渐适应于普通琼脂培养基, 此外本菌对大气干燥十分敏感。以上与 Murray (1954) 所重点描述之一株不液化摩拉氏菌——“1297”株相似, 他认为此种生长特性必须于新分离时注意。我们认为本属细菌初分离时应于培养基中添加血液, 血清或腹水, 并宜于孵箱内放置水槽, 以提高箱内大气湿度。又本属细菌生化能力较弱, 某些生化试验应选用适宜培养基并延长孵育时间^[2-4,20]。我们曾用 Board 氏液体培养基作糖分解试验, 观察 14 天, 反应较普通糖管规则。其他重要生

化试验, 亦均在 1 周以上测定, 结果比较满意。

关于摩拉氏菌的多形性, 可表现为同一菌落中细胞个体的不同形态; 亦可表现为传代过程中细菌形体的变化。在陈旧培养物, 特别是液体培养之粘性沉淀中, 易出现各种形态, 与文献描述相符^[2,6]。

有关摩拉氏菌的动物致病性, 文献报导不多, 一般记载无动物致病力^[4,17], 本文菌种所作小白鼠接种, 亦未见明显症状。

由于摩拉氏菌为一类较难生长, 易于漏检之微生物, 有关实验报告较少, 性状描述亦较简略, 其生物学性状、分类学位置与致病性等均亟待进一步研究, 值得在临床及微生物学工作中引起注意。

参 考 文 献

- [1] Hewlett, R. T.: *A System of Bacteriology*, 2:416—419, 1929.
- [2] Kaffka, A.: *Arch. Hyg. Bakt.*, **148**:379—387, 1964.
- [3] Ballard, S., Griffith, M. A. and Controni, G.: *Am. J. Med. Technol.*, **30**:263—269, 1964.
- [4] Controni, G., Ballard, S. and Griffith, M. A.: *Am. J. Med. Technol.*, **30**:257—262, 1964.

- [5] Henriksen, S. D.: *J. Gen. Microbiol.*, **6**: 318—328, 1952.
- [6] Murray, R. G. E. and Truant, J. P.: *J. Bact.*, **67**:13—22, 1954.
- [7] Henriksen, S. D.: *Int'l. Bull. Bact. Nomen. Tax.*, **10**:23—28, 1960.
- [8] Picchaud, M.: *Ann. Inst. Pasteur*, **100**: suppl. No. 6, 74—85, 1961.
- [9] Mitchell, P. D. and Burrell, R. G.: *J. Bact.*, **87**:900—909, 1964.
- [10] 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), *Int'l. Bull. Bact. Nomen. Tax.*, **13**: 125—126, 1963.
- [11] Board, R. G. and Holding, A. J.: *J. App. Bact.*, **23**:xi—xii, 1960.
- [12] Steel, K. J.: *J. Gen. Microbiol.*, **25**:297—306, 1961.
- [13] Kovacs, N.: *Nature*, **178**:703, 1956.
- [14] Gaby, W. L. and Hadley, C.: *J. Bact.*, **74**: 356—358, 1957.
- [15] Conn, H. J., Jennison, M. W. and Weeks, O. B.: *Manual of Microbiological Methods*, 152 and 162, McGraw-Hill, 1957.
- [16] Hugh, R. and Leifson, E.: *J. Bact.*, **66**:24—26, 1953.
- [17] Breed, R. S. et al.: *Bergey's Determinative Bacteriology*, 7th ed., 419—421, 1957.
- [18] Cetin, C. T.: *Ann. Inst. Pasteur*, **102**:756—759, 1962.
- [19] Flamm, H.: *Zbl. Bakt.* (Abt. I. Orig.), **166**: 498, 1956. 引自 [2].
- [20] Brodie, J. and Henderson, A.: *J. Clin. Path.*, **17**:513—516, 1964.

DESCRIPTION OF A STARCH-FERMENTING STRAIN OF *MORAXELLA*

CHIU MING-CHING, HO SHIAO-CHING AND LAI TUNG-YAO

(Department of Bacteriology and Immunology, Chinese Academy of Medical Sciences, Kiangsi; and
Department of Microbiology, Kiangsi Medical College, Nanchang)

A strain of diplobacillus, isolated from a clinical specimen, was reported in the present paper.

This organism, which was isolated from a spinal fluid resembled *Moraxella* morphologically and possessed several common characteristics, such as oxidase positive, penicillin sensitivity and nitrate reduction, etc., but it differed from other *Moraxella* in decomposing starch, dextrin, maltose and glucose with the development of an acid reaction, and in failure to liquefy coagulated Loeffler's serum.

This organism also showed some special properties such as requirement of blood for growth in primary isolation and slow adaptation to ordinary medium only after a few weeks. Besides, the organism also showed a preference for a humid atmosphere for growth as it was very sensitive to drying.

Apart from a description of its morphological, cultural, physiological properties and antibiotic sensitivity, the importance of attention to isolation techniques also has been discussed.