

人血标本中分离的一株摩拉氏菌

邱 明 庆

(江西省医学科学研究所, 南昌)

本文报道自一例败血症患者血液标本中分离的一株摩拉氏菌的形态、培养、生理、生化等特性的鉴定结果。本菌具有摩拉氏菌属(*Moraxella*)的一系列主要特征,但本菌可迟缓分解某些糖、醇类,具有较弱的氧化酶和触酶活性,与现有型种均不相同,考虑为摩拉氏菌的一个新种,暂定名为南昌摩拉氏菌(*M. nanchang* n. sp.)。有意义的是本菌与我国首次分离的一株分解淀粉摩拉氏菌(*M. amylolytica*)的生物学特性有很多共同之处,可能提示我国的菌型有一定的特征,与国外型种不完全相同。

本文对摩拉氏菌的菌型变迁和致病性,以及分类鉴定有关问题进行了讨论。

摩拉氏菌为一类革兰氏阴性双杆菌,其病原学意义及分类学位置日益引起医学及微生物学界重视,国际间已成立专门委员会 ICSB—Subcommittee on the Taxonomy of *Moraxella* and Allied Bacteria 进行研究协作。摩拉氏菌除可引起人体及温血动物各种器官粘膜炎症外^[1—12],在人类,尚可导致脑膜炎及败血症等全身感染,特别在婴幼儿,病死率甚高^[13—19]。国外近些年来对此类细菌的临床及分类学研究报道日多,并对其流行病学及动物实验感染和菌苗预防,治疗等方面都进行了大量的工作^[20—24]。我国 1966 年曾首次报道一株自神经麻痹患者脑脊液中分离的分解淀粉摩拉氏菌^[25],引起国内外较大注意^[1,2,26],但迄今十余年来,国内对此类细菌尚未引起足够的重视,亦未见再有报道。本文报告近年自一败血症患者血液中分离的另一株摩拉氏菌的鉴定结果,并对有关问题进行讨论。

材料和方法

(一) 菌种

由江西医学院第二附属医院检验科提供,现

存中国医学细菌中心摩拉氏菌专业实验室——江西省医学科学研究所,南昌。Moraxella and Allied Bacteria laboratory of CMCC (B)—Jiangxi Medical Institute, Nanchang.

(二) 试验方法:

按 ICSB 摩拉氏菌及类似菌分会新种鉴定标准方法结合常规进行。糖分解试验并用 Board 培养基测定。

结 果

(一) 形态及染色

本菌为革兰氏阴性双杆菌,菌体较小(0.4—0.5×0.7—0.9 微米),排列成对,偶呈短链状,有时可见 V 字形(图版 I-1);具有多形性,新分离及幼龄培养物为较细杆菌形态,培育时间稍长则呈球杆状,在青霉素影响下可呈长杆菌状。多次传代及陈旧培养物多形性明显,可见杆状、球杆状、棒状及链形,并可出现肿大细胞(图版 I-2)。

本文于 1980 年 5 月 12 日收到。

本文菌种由江西医学院第二附属医院 郭冠龄 同志提供;部分技术工作承本所孟福珍医师及南昌市卫生防疫站徐俊华、肖华元、熊元甫等同志协助;摄片承省寄研所丁贞英、李军同志及市东湖医院梁朝同志帮助,一并致谢。

革兰氏染色呈明显的可变性 (Gram's variable), 初分离及幼龄培养物呈革兰氏阴性, 多次传代后及陈旧培养物则保留结晶紫而呈紫色, 有如革兰氏阳性。

(二) 培养及生化特性

生长要求较高, 初分离需要血液, 经多次传代后可适应于新鲜牛肉汤或加有酵母浸膏或葡萄糖的综合培养基, 一般肉膏琼脂不易生长。对大气干燥敏感, 斜面培养较平皿培养生长好, 平皿培养如不注意提高恒温箱内大气湿度, 则不生长或生长不良, 且易死去。不能在中国蓝及 S. S. 琼脂平皿上生长, 巧克力琼脂上生长不良。

适宜生长 pH 中性偏碱, 可在 pH 8.4 的液体培养基中生长, 适宜温度 37℃, 20—30℃ 亦可生长, 多次传代后在 45℃ 亦可轻微生长。4% NaCl 肉汤中可生长, 6.5% NaCl 肉汤及胆盐肉汤不生长, 葡萄糖肉汤中均匀混浊, 培养多日, 可见轻微薄膜。

本菌生长缓慢, 兔血琼脂 24 小时仅见针尖样细小菌落, 48 小时始见 0.5—1.0 毫米左右微凸、透明、圆润菌落, 略呈珠样光泽。2—3 天后菌落增大, 稍扁平, 微白色。新培养物不见明显溶血, 培育多日, 可出现草绿色环 (兔、羊、人血琼脂), 肉汤琼脂上多次传代后, 出现大小两种菌落, 前者具有粘性, 无色素。

本菌半固体穿刺呈直线生长, 悬滴镜检可见菌体摇摆颤动, 有时自两端曲折弯曲, 此时涂片上可见 V 字形。在 1% 琼脂平皿上培养多日, 可见菌落周围呈轻微扩散生长 (图版 I-3)

本菌需氧生长, 氧化酶、触酶试验阳性, 硝酸盐可还原为亚硝酸盐, 但以上反应均较迟缓稍弱, 其他生化能力亦不活泼, 不液化凝固血清及明胶, 不产生鞣基质及硫化氢, 苯丙氨酸脱氨酶及尿素酶试验阴性。

不利用枸橼酸铵、葡萄糖铵、醋酸钠及丙二酸钠, MR-V. P. 试验阴性, 氰化钾试验及淀粉水解, Tween 水解试验阴性。

葡萄糖代谢为氧化型, 普通糖管 48 小时内不分解各种糖类, 但在 Board 氏培养基及加有血清的糖管、延长培养时间, 可迟缓分解葡萄糖、蔗糖 (3 天以上), 甘露糖、果糖 (4 天)、麦芽糖 (5 天)、甘露醇 (7—9 天)、产酸无气。不分解乳糖 (1%, 5% 及 10%)、阿拉伯胶糖、木糖、鼠李糖, 肌醇, 侧金盏花醇、水杨甙等 (观察 30 天)。

(三) 抗菌素敏感性

青霉素高度敏感 (试管法最低抑菌浓度为 1 单位/毫升); 合霉素、氯霉素、庆大霉素、红霉素高度敏感; 四环素、链霉素、金霉素、土霉素、新霉素低度敏感; 多粘菌素、卡那霉素及呋喃唑酮抵抗 (纸片法)。

多次传代培养物接种小白鼠 (腹腔、静脉) 及鸡胚, 未见明显变化, 但初分离培养物未作动物试验。

讨 论

1. 根据以上试验结果, 本菌符合摩拉氏菌属的一系列主要特征, 属于摩拉氏菌, 但在某些特性上与现有型种又不完全相同 (见表 1)。

从表 1 可见本菌与 *M. nonliquefaciens* 比较相近, 但后者不分解糖类; *M. Kingae* 可分解糖类, 但触酶阴性, 且糖代谢为发酵型; 此外本菌与 Thornley (Phenon 3) 的一株 A. 351 有某些相似之处, 但后者具有尿素酶及苯丙氨酸脱氨酶为本菌所缺乏。本菌与我国第一株分解淀粉摩拉氏菌在主要特征和生长特性上极为相似, 只是后者可分解淀粉及液化明胶。

国外对摩拉氏菌及类似菌的分类鉴定进行了深入研究, 发现有些不典型菌株的分类学位置较难确定^[27-28], 并认为菌株的

表 1 本菌与典型菌种及近似菌株的比较*

结果 项目 \ 菌种	<i>M. lacunata</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. nonliquefaciens</i>	<i>M. phenylpyrovica</i>	<i>M. osloensis</i>	<i>M. Kingae</i>	<i>M. urethralis</i>	<i>M. atlantae</i>	<i>M. amylytica</i>	本文菌种	A. 351 Thorley (phenon 3)
矿盐培养基	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
液化血清	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
溶 血	-	+	-	-	-	d	-	-	-	(+)	×
硝酸盐还原	+	-	+	+	d	d	-	-	+	(+)	+
枸橼酸铵	×	×	×	×	-	×	d	-	-	-	-
尿 素	-	-	d	+	-	-	-	-	-	-	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-
凝 基 质	-	-	-	-	-	d	-	-	+	-	-
葡 萄 糖	-	-	-	-	-	+	-	-	(+)	(+)	+
麦 芽 糖	-	-	-	-	-	+	-	-	(+)	(+)	+
O/F	-	-	-	-	-	F	-	-	0	0	0
触 酶	+	+	+	+	+	-	+	+	+	(+)	+
苯丙氨酸脱氨酶	-	-	-	+	-	-	-	-	×	-	d

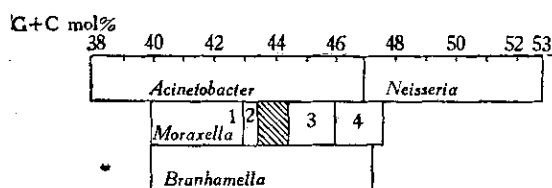
* + 阳性反应, - 阴性反应, d 不定, × 缺, (+) 迟缓或微弱阳性, O 氧化型, F 发酵型。

变异性很大, 存在很多过渡型^[29]。Bergey 手册 (8 版) 指出, 某些类摩拉氏菌 (*Moraxella*-like) 生物学特性不一, 介于 *Moraxella* 与 *Acinetobacter* 之间, 可能需要另成新属^[2], 其中 *M. Kingae* 已列为金氏菌属 (*Kingella*)^[30]。本菌在属内看来, 介于 *M. nonliquefaciens* 与 *M. Kingae* 之间, 可能为一新种, 但另一方面也可能为 *Moraxella* 与 *Acinetobacter* 之间的中间型种。Henrikson (1976) 指出, 目前奈瑟氏菌科中, *Acinetobacter* 很多特性与其他三属不同, 或许要分出另成一个科或族 (*Acinetobacteriaceae*)。除非有一种中间型的微生物将它们密切连系在一起^[3]。有关 *Moraxella* 与 *Acinetobacter* 之间的过渡, 尚是一个有争论的问题。鉴于遗传学及血清学上 *Acinetobacter* 与 *Moraxella* 呈现一定的亲缘关系,

DNA 碱基组份上也很相近, 加之近年来一些不典型菌株的相继出现, 说明上述连系存在的可能性。

2. 按照 DNA 碱基含量, 可看出在奈瑟氏菌科中, 除各菌属间含量不同外, 在摩拉氏菌各型种之间尚有一明显的分界线 [图 1], 其中早期的菌种 *M. lacunata*, *M. bovis*, *M. nonliquefaciens* 在最低限内, 为 40—43%, *M. osloensis* 及 *M. phenylpyrovica* 稍高, 后期的 *M. Kingae* 及 *M. urethralis* 较高, 而近期的 *M. atlantae* 最高, 可达 47.5 mol%^[31]。看来摩拉氏菌 DNA 碱基含量, 似随年代及菌型的变迁而有所上升。

另一方面, 在培养和生物学表型特征上, 也可看出早期的菌种生长要求较高, 生化能力较弱, 三者血清和遗传学关系均很



Moraxella

1. *M. lacunata* *M. bovis* *M. nonliquefaciens*
2. *M. phenylpyrovica* *M. osloensis*
3. *M. kingae* *M. urethralis*
4. *M. atlantae* (按文献 2, 3, 26 数值绘制)

图 1 摩拉氏菌与有关菌属的 DNA 碱基含量

密切^[3], 而后期的菌种如 *M. osloensis*, *M. phenylpyrovica*, *M. urethralis* 及 *M. atlantae* 等有的可生长在矿盐培养基, 有的具有多种酶类活性, 而 *M. kingae* 及我国的两个菌株尚可分解某些糖类^[2,25,26], 看来为一种生物进化过程。值得注意的是近几年来, 原始的 *M. lacunata* 逐渐少见, 多为眼结膜炎的病原物, 而后期的菌种临床报道日多, 这些菌种除引起人体各种粘膜炎症外, 尚可导致全身感染。由 *M. osloensis* 和 *M. phenylpyrovica* 等引起的脑膜炎及败血症日益增多, 且可造成严重后果。此种致病力的增强, 是否与菌型变迁有关, 值得临床及实验室工作者重视。我们报道的两株菌种, 一株来自患者脑脊液, 一株来自患者血液, 均有较严格的寄生性, 故亦应引起注意。

3. 多形性及革兰氏可变性 (Gram's variable): 多形性为摩拉氏菌特征之一, 且常易发生在具有病原性时^[5,32,33] 由于摩拉氏菌的培养特性和生化能力常易改变, Murray 及 Piechaud 特别强调形态学的重要性。本菌初分离时曾认为是流感杆菌, 传代以后方出现典型的双杆菌形态及多形性。本菌在青霉素影响下可呈现长杆菌形体, 与文献描述相符^[5], 为摩拉氏菌与奈瑟氏菌形态学鉴别的简易方法。

革兰氏可变性为摩拉氏菌的另一重要

特征^[32], 此种染色性的改变易发生在多次传代之后。早年记载的一株约瑟夫摩拉氏菌 (*M. josephi*) 为唯一的革兰氏阳性菌株^[2], 看来即为此种变性反应, 本菌后期也有保留结晶紫的趋向, 需要在鉴定时注意。

4. 关于动力问题: 一般记载无鞭毛, 无动力, 但有的作者认为摩拉氏菌有一种 gliding motility (滑行运动) Piechaud 观察到一种特殊的运动, 即单个细胞固定于一极的旋转式摆动, 并可见到菌体在分裂平面的屈曲^[34], 此点与本菌所见相似。Lautrop 认为由于摩拉氏菌的这种特殊运动, 其分类位置应属于 Cytophaga 噬纤维菌属, 摩拉氏菌的动力问题, 值得进一步研究。

5. 青霉素敏感性: 对青霉素高度敏感, 早年为摩拉氏菌鉴别指征之一^[5], 由于此类细菌生长的苛求及试验方法不当常致失败, 有的作者指出不宜用滤纸片法作此试验^[27], 本文用试管法测得高度敏感(重复 3 次一致)。至于用青霉素敏感作为鉴定指征, 由于近年来抗性株的出现^[35,36], 今后其实际意义尚值得考虑。

6. 关于糖类的分解: Audureau 指出摩拉氏菌无蔗糖水解酶, 目前文献认为摩拉氏菌一般均不发酵糖类, 但早期记载的 *M. lacunata* 可分解多种碳水化合物, *M. Kingae* 可发酵葡萄糖及麦芽糖, 一株 NCMB 200 (Shewan) 可分解蔗糖^[28]。有的作者指出由于此类细菌生化能力较弱, 分解糖类所生的酸易被碱性代谢产物所中和而影响结果的观察。本文菌种在普通糖管 48 小时不出现反应, 但在 Board 氏培养基及加有血清的糖管、延长培养时间后, 则可迟缓分解某些糖类。故某些试验需在培养物生长丰盛及条件适宜下, 方能获得正确结果。摩拉氏菌及类似菌分会提供的标准试验方法^[37], 可供一般实验室采用。

参 考 文 献

- [1] Henriksen, S. D.: *Bacteriological Reviews*, 37(4): 522, 1973.
- [2] Lantrop, H.: *Bergey's Determinative Bacteriology* 8th ed., 433, 1974.
- [3] Henriksen, S. D.: *Annul Review of Microbiology*, 30: 63, 1976.
- [4] 吉沢一太等: 日本临床病理杂志, 25(3):196, 1977.
- [5] Kaffka, A.: *Archiv für Hygiene und Bakteriologie*, 148: 379, 1964.
- [6] 邱明庆: 微生物学报, 12(1): 123, 1966.
- [7] Rosett, W. et al.: *Chest*, 70(5): 664, 1976.
- [8] Bøvre, K. et al.: *Acta Pathol. Microbiol. Scand. B*, 85/1: 27, 1977.
- [9] Wong, A. S. et al.: *J. Pediatr.*, 92(1): 86, 1978.
- [10] Berger, V. et al.: *Med. Microbiol. Immunol.*, 1623/4: 239, 1976.
- [11] Hing, K. H. et al.: *Zentrabl. Veterinaemed B.*, 23(4): 341, 1976.
- [12] Bailie, W. E. et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 7/2: 223, 1978.
- [13] Butzler, T. P. et al.: *J. Pediatr.*, 84: 721, 1974.
- [14] Spahr, R. C.: *J. Pediatr.*, 86(2): 310, 1975.
- [15] Sharmer, D. L. et al.: *Arch. Dis. Child*, 49(12): 966, 1974.
- [16] Fritsche, D. et al.: *Infection*, 4(2): 53, 1976.
- [17] Lasser, A. E. et al.: *USA-Cutis*, 21(5): 657, 1978.
- [18] Burger, V. et al.: *Infection*, 2(3): 166, 1974.
- [19] Diopmar, Sow. A. et al.: *Bull. Soc. Afr. Noir Lang Franc.*, 21/4: 407, 1976.
- [20] Arore, A. K. et al.: *Am. J. Vet. Res.*, 37(7): 803, 1976.
- [21] Pugh, G. W. et al.: *Am. J. Vet. Res.*, 37(5): 493, 1976.
- [22] Pugh, G. W. et al.: *Am. J. Vet. Res.*, 37(1): 57, 1976.
- [23] Pugh, G. W. et al.: *Am. J. Vet. Res.*, 39(1): 55, 1978.
- [24] Storey, R. C. et al.: *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 72(6): 1050, 1977.
- [25] 邱明庆等: 微生物学报, 12(1): 11, 1966.
- [26] Snell, J. J. S. et al.: *I. J. S. B.*, 26(4): 451, 1976.
- [27] Bovrt, K. et al.: *I. J. S. B.*, 24(4): 438, 1974.
- [28] Samuels, et al.: *I. J. S. B.*, 22(1): 19, 1972.
- [29] Шендеров, Б. А.: *Ж. М. Э. Н.*, 2: 18, 1979.
- [30] Henriksen, S. D. et al.: *I. J. S. B.*, 26(4): 447, 1976.
- [31] Bøvt, K. et al.: *I. J. S. B.*, 26(4): 511, 1976.
- [32] Murray, R. G. E. et al.: *J. B.*, 67(1): 13, 1954.
- [33] Piechaud, M.: *Annals de L'institut*, 6: 101: 77, 1961.
- [34] Piechaud, M.: *Ann. Znst Past. T.*, 104: 2, 293, 1963.
- [35] Hanson, W. et al.: *Acta Path. Microbiol.*, (B)82: 318, 1974.
- [36] Шендеров, и др.: *Ж. М. Э. Н.*, 3: 14, 1979.
- [37] Bøvt, K. et al.: *I. J. S. B.*, 26(4): 92, 1976.

A STRAIN OF *MORAXELLA* ISOLATED FROM HUMAN BLOOD

Qiu Mingqing (Chiu Ming-ching)

(Jiangxi Institute of Medical Sciences, Nanchang)

A strain of Gram negative diplobacillus identified as a *Moraxella* was isolated from blood specimen of a patient suffering septicaemia in Nanchang, China. This organism is different from other described species of the *Moraxella*, it may later show an oxidative action on some sugars with the formation of acid, and forms a weak activity of oxidase and catalase. Thus it is considered to be a new species, and named *Moraxella nanchang* n. sp.

tentatively.

Besides, it is interesting to note, that the strain also has a great resemblance to the *M. amyolytica*, which was first reported in China (1966). Therefore it is suggested, that the species isolated in this country should be possesses of several special properties in their characteristics and it was differed from any other type cultures.