

其溶藻机制及在自然环境中,影响藻—菌关系的生态因子。

### 参 考 文 献

- [1] 李勤生、黎尚豪: 溶解固氮蓝藻的细菌, 水生生物学集刊, 7(3): 377—384, 1981年, 科学出版社, 北京。  
[2] 中国科学院微生物研究所细菌分类组: 一般细菌常用鉴定方法, 科学出版社, 1978年, 北京。  
[3] Skerman, V. B. D.: A Guide to the Identifica-

tion of the Genera of Bacteria. 2nd ed. 1967. 蔡妙英、凌代文、战立克等译: 《细菌属的鉴定指导》, 科学出版社, 1978, 北京。

- [4] Stewart, J. R. & R. M. Brown: *Science* 164: 1523—1524. 1969.  
[5] Shilo, M.: *J. Bacteriol.* 104: 453—461. 1970.  
[6] Daft, M. J. & W. D. P. Stewart: *New Phytol.* 70: 819—829. 1971.  
[7] Christensen, P. & F. D. Cook: *Int. J. Syst. Bacteriol.* 28: 367—393. 1978.

## 我国首见新型隐球菌上海变种(S<sub>8012</sub>)的初步研究

廖万清 邵经政 李淑琴

(第二军医大学第二附属医院, 上海)

吴绍熙

(中国医学科学院皮肤病研究所, 江苏、泰州)

张纪忠

(上海复旦大学微生物教研室)

新型隐球菌是引起脑膜炎的重要病原菌之一。一般新型隐球菌在墨汁制片检查时, 可见圆形有荚膜的菌体, 而无长棒状的。我们于1980年12月首次从一例脑膜炎患者的脑脊液中分离出一种真菌菌株, 其主要特征是在寄生状态时菌体表现为针形、棒形、瓢形、梭形、圆球形、椭圆形等形状, 并同时存在, 能出芽, 而且带有宽阔荚膜。经真菌学鉴定, 确定该菌株为我国首见新型隐球菌变异菌种, 取名为新型隐球菌上海变种(简称S<sub>8012</sub>)。现将初步研究情况报告如下。

### 真菌学检查鉴定

患者孙××, 男, 42岁, 因持续性头痛13天伴发热呕吐7天, 于1980年12月13日入院。12月17日作腰穿, 取脑脊液做墨汁涂片检查时发现带有宽阔荚膜的棒形、针形、梭形及瓢形等奇异菌体形态。经真菌学鉴定, 确诊为新型隐球菌上海变种(S<sub>8012</sub>)引起的脑膜炎。用二性霉素B1583mg, 大蒜素2770mg治愈, 于1981年5月16日出院。

### (一) 直接镜检

脑脊液墨汁制片, 可见带有宽厚荚膜的七种菌体形态即长棒形、针形(图版I-1, 2)、梭形(图版I-3)、瓢形(图版I-4)、圆球形(图版I-5)、椭圆形(图版I-6)及菌体出芽(图版I-7)。菌体横径3.33—8.33 $\mu$ m, 长7.33—13.32 $\mu$ m, 菌体边缘至荚膜边缘宽为6.66—8.33 $\mu$ m, 整个荚膜宽为19.98—23.31 $\mu$ m, 长23.31—24.98 $\mu$ m, 菌体为单壁或双壁, 菌体内可见1—7个反光颗粒, 此种棒形及针形菌体容易发生自溶现象。

### (二) 培养

1. 初代培养: 取脑脊液接种于2管沙博氏培养基斜面中, 置30 $^{\circ}$ C培养, 次日开始生长。菌落初为乳白色颗粒状, 逐渐增宽增厚, 7天后直径达1cm, 椭圆形, 表面光滑微湿润, 边缘整齐, 中央微高, 由乳白色转为桔黄色。菌落直接涂片, 菌体呈圆形或椭圆形, 无针形或棒形。

2. 继代培养: 初代培养的菌落再接种沙博氏斜面中置30 $^{\circ}$ C培养时, 于第2—10天菌落直径达1.2cm, 置37 $^{\circ}$ C培养时, 第20小时开始生长, 至第10天菌落直径1.3cm, 其余特征同初代培养, 麦芽汁液体培养28 $^{\circ}$ C, 细胞呈球形, 以多

边芽殖方式(图版I-8)进行无性繁殖,管底有沉淀,麦芽汁固体平板生长2周,菌落直径达1.2cm,光滑湿润,中间隆起,边缘整齐,呈米黄色。

3. 血平板培养: 置30℃及37℃培养时,均在第2天开始生长。呈酵母菌样菌落。

4. 马铃薯琼脂及米粉吐温80琼脂培养: 置30℃培养,无子囊孢子,无真菌丝,无假菌丝。

5. 高氏(Gorodkova)培养基及马铃薯块培养: 无子囊孢子产生。

### (三) 生理生化试验

1. 糖发酵不产生CO<sub>2</sub>。2. 同化试验: 葡萄糖+,半乳糖+,蔗糖+,乳糖-,棉子糖+,D-阿拉伯糖+,L-阿拉伯糖+,纤维二糖+,木糖+,淀粉-,赤藓醇+,肌醇+,(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>+,KNO<sub>3</sub>-,山梨糖+,卫茅醇+,山梨醇+。3. 尿素试验+。4. 杨梅苷试验+。5. 分解脂肪-。

### (四) 动物试验

用15只小白鼠传3代结果相同,于4—56天死亡。取鼠脑组织做墨汁涂片;直接镜检,可见大量带有荚膜的棒形、针形等菌体,与人脑脊液标本相同。取心、肝、脾、肺、肾、脑作组织切片,HE及PAS染色可见各组织中均存在大量各种形态菌体(图版I-9)。同时用新型隐球菌标准菌株作3代对照试验,各组织内无针形、棒形等各形态出现。

### (五) 荧光显微镜观察

取少许纯培养菌落,用1:1000吡啶橙液染色,见菌体呈红色。

### (六) 电子显微镜观察

纯培养标本可见圆形、椭圆形及芽生菌体,胞壁较厚呈洋葱皮状,胞浆内含有丰富的脂质颗粒(图版I-10),纯培养10天后扫描圆细胞呈球形。

## 讨 论

新型隐球菌上海变种(S<sub>8012</sub>)的主要特点是

在寄生状态阶段,即在病人脑脊液和实验动物脑组织内的菌体,在新鲜标本墨汁制片中及实验动物内脏切片的HE和PAS染色中,均见针形、梭形等各种形态的隐球菌菌体。但经人工培养到继代培养,直接涂片标本中,菌体就呈圆形或椭圆形的正常隐球菌菌形,而无针形、棒形等形态。

1970年由Gatti和Vanbreuseghem等<sup>[1-3]</sup>曾描述了一种菌体以长棒形和圆形同时存在为特征,并带有荚膜的新型隐球菌变种取名gattii变种[*Cryptococcus neoformans* (Sanfelice)vuillemin var. gattii Vanbreuseghem et Takashio var. nov. 1970]。而S<sub>8012</sub>与gattii变种不同的是在人脑脊液中还有针形、瓢形等形态菌体,且菌体较小,最大直径仅为24.98μm,而gattii变种可达44μm,S<sub>8012</sub>在组织内的菌体出芽仅1—2个,偶见3个,而gattii变种一般菌体出芽为3—4个,最多有7个。S<sub>8012</sub>较gattii变种致病性为强,且在人脑脊液中的针形、棒形菌体用墨汁制片后容易发生自溶现象,S<sub>8012</sub>的特征曾进行10次培养、4次生理测定及3代动物传种试验,均证实其特征稳定。因此,我们结合文献复习和初步研究结果,把S<sub>8012</sub>定名为新型隐球菌上海变种[*Cryptococcus neoformans* (Sanfelice) Vuillemin var. Shanghaiensis Liao et Shao et Wu et Zhang var. nov. 1980]。该菌株保存在第二军医大学附属二院皮肤科真菌室、中国医科院医学真菌研究中心及国家菌种保藏管理委员会。

### 参 考 文 献

- [1] Gatti, F. et al.: Ann. Soc. belge Med. trop. 50: 689—694, 1970.
- [2] Vanbreuseghem, R. et al.: Ann. Soc. Belge. Med. Trop. 50: 695—702, 1970.
- [3] Vanbreuseghem R et al.: Guide Pratique de Mycologie Médicale et Vétérinaire 2e ed P169. Masson ed, paris, 1978.

更正: 本刊10卷1期P.,左正数第5行: 僵虫体长5cm应为3—5cm。第20行8—240应为80—240。右正数第15行“子座露出地面”应为“僵虫被腐生菌丝充满而腐烂”。

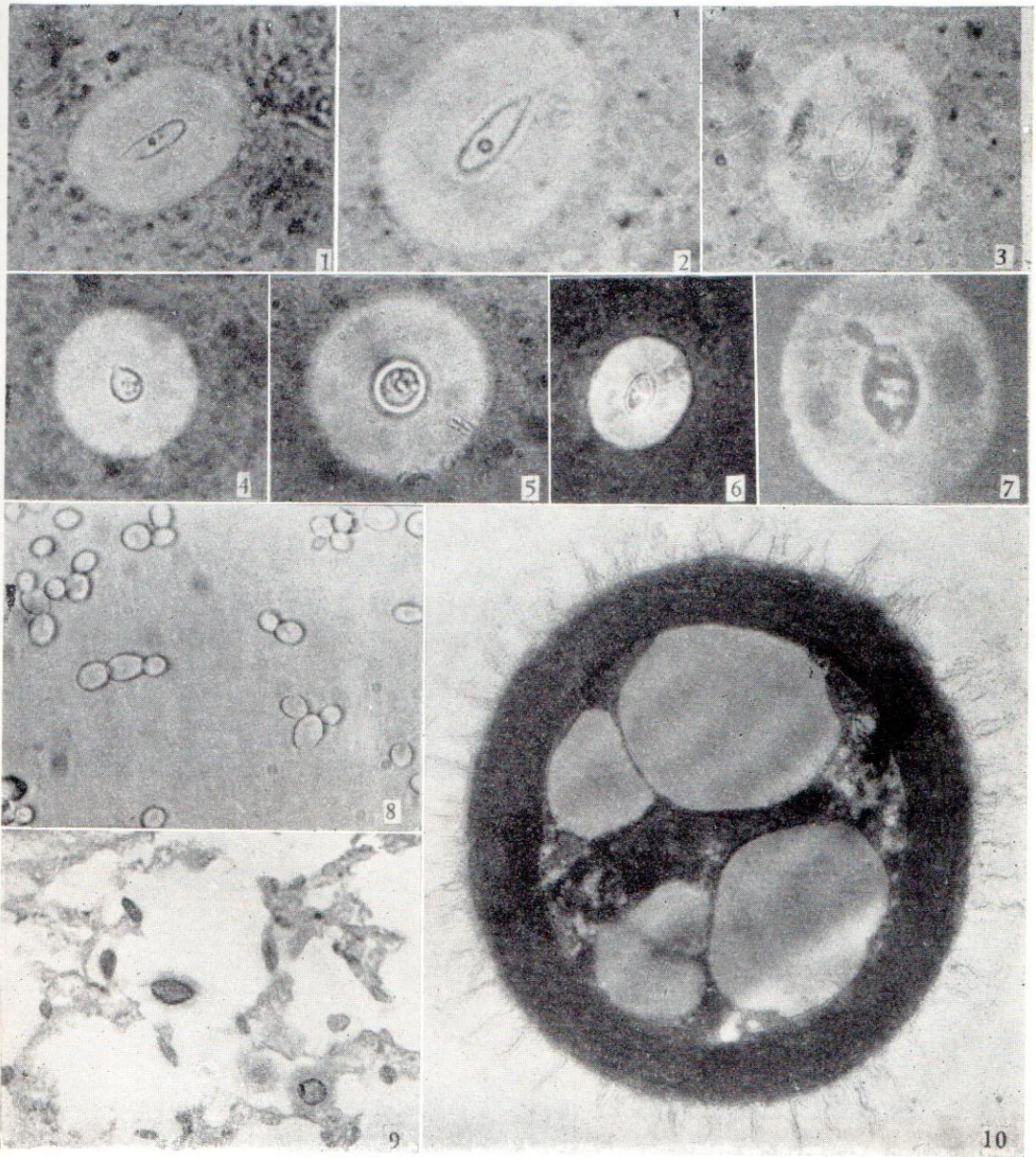


图 1. 菌体棒形, 荚膜卵形;  
图 3. 菌体梭形, 荚膜椭圆形;  
图 5. 菌体圆球形, 荚膜圆球形;  
图 7. 梭形菌体生芽;  
图 9. 鼠肺内各种形菌体 (PAS 染色);

图 2. 菌体针形, 荚膜卵形;  
图 4. 菌体瓢形, 荚膜圆球形;  
图 6. 菌体椭圆形双壁, 荚膜椭圆形;  
图 8. 麦芽汁液基内呈多边芽殖方式;  
图 10. 荚膜绒毛状, 胞壁厚, 胞浆内含 5 个脂质颗粒(26400 $\times$ ).