

# 血平板针尖样及云雾状菌落分离与鉴定

邓 维 秀

(郧阳医学院微生物学教研室 十堰 442000)

**摘要** 采集 98 份临床标本接种血平板培养, 40 份生长出针尖样及云雾状菌落。经分离鉴定 38 株为细菌 L 型, 其中金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 居首位, 占 52.1% (20/38)。其返视性与 L 型平板分离相比较差。但对抗生素的敏感性则无差别。表明血平板可用于分离细菌 L 型, 并保持了传统 L 型的特性。

**关键词** 血平板, 针尖样, ‘云雾状’, 菌落, 鉴定

**分类号** Q93-31

1935 年自 Klieneberger 首次报道念珠状链杆菌的 L 型, 迄今国内外学者对 L 型进行了多方面的深入研究, 取得了很大进展<sup>[1~3]</sup>。并已证实 L 型仍可保留一定的毒力, 尤易形成一些慢性疾病。然而, L 型的临床诊断和防治问题, 也随之受到学术界的广泛重视。L 型的分离培养, 国外常用商品 Kagan 培养基; 国内多用改良的

Kagan 培养基或 85-7 培养基<sup>[4]</sup>。近年来也有学者用非高渗培养分离细菌 L 型。这些培养基的特点: 制作繁琐, 价格昂贵, 不便临床使用。

血平板常用于一般细菌的分离与鉴定。临床标本除血液、脑脊液、骨髓外均可直接接种于

---

1997-06-28 收稿

该平板, 37℃培养 18~24h 生长出肉眼可见的菌落。基于此, 在临床检验工作中, 人们往往只注意可见菌落, 而忽视了其它生长状态。如针尖样和云雾状, 故易造成假阴性结果。有报道<sup>[5]</sup>从血平板针尖样菌落鉴定出一株金黄色葡萄球菌 L 型。但其菌种分布情况, 却未见报道。为此, 作者采集了 98 份临床标本经血平板培养, 对 40 份针尖样或云雾状菌落进行分离与鉴定, 以了解其菌种及生物学特性。现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本来源

临床泌尿生殖道炎新鲜拭子 41 份: 男 20 人, 女 21 人, 年龄 20~50 岁, 前者取前列腺液或尿道口 1~2cm 处分泌物, 后者取宫颈口 1cm 处分泌物; 急慢性扁桃体炎及咽炎拭子 30 份: 男 15 人, 女 15 人, 年龄 6~60 岁; 慢性鼻窦炎拭子 9 份: 男 5 人, 女 4 人, 年龄 20~45 岁; 慢性化脓性中耳炎分泌物 10 份: 男 4 人, 女 6 人, 年龄 2 月~31 岁; 发热及风湿热病人血液 6 份: 女 4 人, 男 2 人, 年龄 15~45 岁; 烧伤感染分泌物 5 份: 男, 年龄 20~35 岁。

### 1.2 培养基

血琼脂平板、液体培养基(按常规操作)。

### 1.3 分离培养

血液标本接种于液体培养基 37℃, 增菌后取 0.1ml 转种于血平板; 前列腺液 0.1ml (或尿道口拭子), 宫颈口、鼻、咽拭子及烧伤分泌物拭子分别直接涂种于血平板, 置 37℃培养 24~48h, 观察菌落生长情况。48h 后未见生长, 采用盲刮、盲扩法<sup>[6]</sup>。

### 1.4 针尖样及云雾状菌落鉴定

经革兰氏染色、细胞壁染色后于光学显微镜下观察其形态, 或电镜超薄切片观察细胞形态及缺壁情况; 传代培养及返祖试验; 取菌落用干片固定法, 置低倍镜下观察菌落特征。

### 1.5 药物敏感性试验

抗生素纸片: 购于上海生化试剂所; K-B 纸片法。

### 1.6 返祖试验

自行与传代返祖相结合<sup>[7]</sup>: 将传代培养的血平板用胶布封固放 4~5d 再转种血平板, 37℃培养视菌落及其溶血、色素产生情况与否决定再封固及移种。

### 1.7 细菌型和返祖菌鉴定

培养 24h 内生长菌视为标本中细菌型。按文献 [8] 鉴定。

## 2 结果

### 2.1 血平板针尖样及云雾状菌落特征

2.1.1 生长情况及菌落特征: 标本接种于血平板培养 24~48h 后, 长出一层云雾状、模糊不清或极少针尖样菌落。采用盲刮及盲扩培养 24h 后可见针尖大小的圆形、凸起、湿润整齐、白色或露滴状菌落, 偶见溶血现象。低倍镜下直接观察为极小密集菌落, 未见典型的“油煎蛋”样菌落。

2.1.2 形态及染色性: 盲刮云雾状培养物或针尖样菌落涂片染色, 光学显微镜下可见革兰氏阳性或阴性圆球、卵圆、杆状等不规则形态。也见长丝体及巨形体。

2.1.3 电镜观察, 细胞壁完全缺乏, 呈多形性(图 1), 以二分裂及不等分裂方式繁殖(图 2、图 3)。

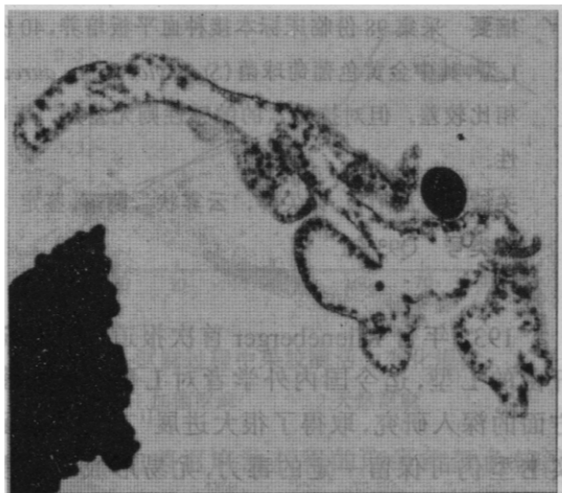


图1 淋球菌L型细胞壁完全缺乏, 呈多形性(×25000)

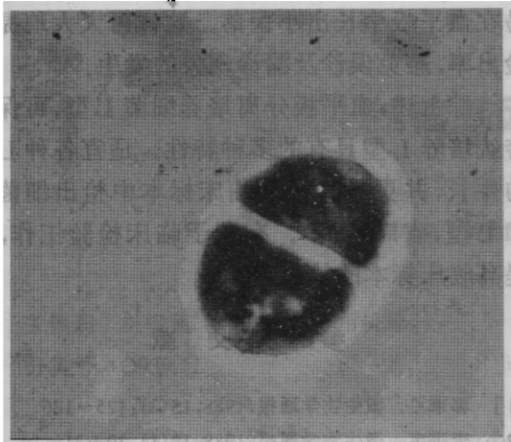


图2 淋球菌L型以二分裂方式繁殖  
(×40000)



图3 金黄色葡萄球菌L型以不等分裂  
方式繁殖(×30000)

2.2 菌种分布情况

98 份标本 40 份血平板长出针尖样云雾状菌落,分离出 38 株细菌 L 型(见表 1)。

表1 不同标本中检出细菌L型的种类

标本	例数	菌名(株数)								合计
		金黄色葡萄球菌 ( <i>Staph. aureus</i> )	A群链球菌 ( <i>Pyogenic streptococcus</i> )	甲型链球菌 ( <i>a-hemolytic streptococcus</i> )	淋球菌 ( <i>N.gonorrhoea</i> )	白色念珠菌 ( <i>Candida albicans</i> )	铜绿假单胞菌 ( <i>P.aeruginosa</i> )	埃希氏大肠杆菌 ( <i>E.coli</i> )	表皮葡萄球菌 ( <i>Staph. epidermidis</i> )	
泌尿生殖拭子	41	14		1	3	2				20
咽拭子	30	3	3	4						10
鼻拭子	6	2								2
中耳炎分泌物	10	1						1		2
血液	6		1	1						2
烧伤感染分泌物	5						1		1	2
合 计	98	20	4	6	3	2	1	1	1	38

表2 针尖样及云雾状菌落药物敏感性试验结果

抗生素	例数	抑菌圈均值(mm)
庆大霉素	19	13.53±6.53
青霉素G	16	20.21±8.71
氯霉素	19	22.82±8.28
丁氨卡那霉素	19	10.53±6.48
先锋霉素V	19	26.59
氨苄青霉素	15	21.71±8.23

2.3 返祖性

38 株细菌 L 型: 12 株传 1~2 代返祖为细菌

型(31.5%); 24 株传 5~10 代未返祖, 经自行和传代相结合法传 1~2 代, 10 株返祖为细菌型, 余 14 株传 2~5 代均返祖(63.1%); 2 株传 15~20 代未返祖为细菌型。

2.4 取针尖样及云雾状菌落药物敏感试验  
结果见表 2。

3 讨论

从分离的 38 株细菌 L 型菌种分布情况来看, 金黄色葡萄球菌 L 型 20 株(52.6%), 占比例较大, 与文献报道该菌在临床引起的各类感染

较常见相一致。同时表明血平板也较适宜各种细菌L型分离培养,并保持了传统培养L型具有的多种特性。但未见典型L型菌落。可能因L型菌落是L型在一定条件下的特征,以及血平板较硬(琼脂为2.5%),不易形成之故。文献报道<sup>[9]</sup>,细菌L型根据是否能返祖分为稳定、相对稳定和不稳定型。前二者通常完全丧失细胞壁结构和不能自行返祖;后者部分缺壁,易返祖,多见于L型平板分离的细菌L型<sup>[10]</sup>。本结果进一步证实血平板分离L型大多可能为相对稳定型,不易返祖。但采用自行和传代相结合法可提高其返祖率。是否为稳定L型,以及与其细胞膜厚度增加,水分相对难于透过,和可能与基因型的改变有关,尚待深入研究。

细菌L型由于细胞壁有不同程度缺陷,对作用细菌细胞壁的药物如青霉素G、氨苄青霉素等耐药。而对抑制或干扰细菌蛋白质、核酸、细胞膜通透性药物如氯霉素、红霉素等较敏感。本组药敏结果基本相符。说明血平板可直接用于所分离的细菌L型的药敏试验。

血平板针尖样及云雾状生长慢而小,不易被发现,尤其是后者。作者采用盲刮培养物涂片革兰氏染色,可提前查到肉眼看不见的生长现象;盲扩一般减少细菌浓度和生长密度,因此

易在血平板生长出小菌落。这样可大大地提高检出率,避免误诊及漏诊现象的发生。

综上所述,血平板分离培养细菌L型,可保持传统培养L型具有的多种特性。适宜各种L型的生长,并更易直接从临床标本中检出细菌型和L型,省时、省事。有利于临床检验工作,以提高临床标本的检出率。

### 参 考 文 献

- [1] 郭秉兰. 微生物学通报, 1988, 15(3): 125~126.
- [2] 李进宝. 微生物学通报, 1988, 15(1): 30~31.
- [3] 庄玉辉, 李国利, 韩元华. 微生物学通报, 1986, 13(2): 94~95.
- [4] 林特夫, 黄谷良. 微生物学通报, 1985, 12(1): 32~35.
- [5] 林特夫, 汤秀兰, 夏佩兰等. 中华医学检验杂志, 1985, 8(1): 16.
- [6] 马筱玲, 黄谷良, 林特夫. 蚌埠医学院学报, 1989, 14(4): 229~230.
- [7] 徐志学. 临床检验杂志, 1987, 5(3): 135~140.
- [8] 李仲兴, 郑家齐, 李家宏主编. 临床细菌学. 北京: 人民卫生出版社, 1986, 68~75, 96, 182.
- [9] Domingue G T. Cell wall-deficient bacteria, London: Addison-wesley publishing Company, 1982, 1~3, 43, 106~109.
- [10] 邓维秀, 戴熙善. 中国微生态学杂志, 1996, 8(3): 48~50.

## ISOLATION AND DETERMINATION OF PINPOINT-SHAPED AND CLOUDY COLONIES WITH BLOOD PLATE

Deng Weixiu

(Department of Microbiology Yanyang Medical college, Shiyang 442000)

**Abstract** 98 clinical specimens were inoculated on blood plate, 40 of them were pinpoint-shaped and cloudy colonies. The result was that 38 strains of bacterial L-forms were isolated and identified, *S. aureus* L-forms ranked first, accounting for 52.6% of the total (20/38). The blood plate showed inferior recovery properties to the isolation of L-form plate, but their sensitivity to antibiotics showed no difference. This indicates that blood plate can be used to isolate bacterial L-forms and the traditional L-forms characteristics are maintained.

**Key words** Blood plate, Pinpoint-shaped, Cloudy colonies, Determination