

# 荚膜組織孢漿菌分離一例報告

鍾之英 郭輝玉 周炯勳

(中山醫學院微生物學教研組)

組織孢漿菌病 (Histoplasmosis) 的病原, 是荚膜組織孢漿菌 (*Histoplasma capsulatum*)。多侵犯網狀內皮系統, 使肝、脾及淋巴結腫大, 常形成鼻咽腔及舌部潰瘍。本菌係 Darling 氏 (1906) [1] 首先在巴拿馬運河區患類似內臟黑熱病而死亡病人的肝及脾切片中發現, 外觀與利什曼小體相似。Da Rocha-Lima (1912) 曾發現本菌能發芽而繁殖, 認為是一種真菌, 而和隱球菌 (Cryptococci) 相近。隨後 Hansmann 及 Schenken 二氏 (1933) 以及 DeMonbreun 氏 (1934) 才確實證明本症是一種真菌病, 後者並首次將本菌培養成功。此病曾在美洲中部、南部、美國、英國、菲律賓、爪哇、南非等地發現 [2]。我國過去文獻上則未有報告。我院耳鼻喉科於 1955 年 2 月 17 日, 收入了一名患上腭及舌潰瘍的病人。經病理科活體組織切片檢查結果, 發現在巨噬細胞內含有類似荚膜組織孢漿菌體。遂引起我們注意, 進行病原分離。終於從骨髓及局部潰瘍材料中分離出本菌。特報告於後。

**病歷摘要:** 病者男性, 52 歲。廣東澄海人。新加坡歸僑。於 1955 年 2 月 17 日入中山醫學院耳鼻喉科住院。主訴為舌及上顎潰爛腫痛已 6 個月 (約在 1954 年 8 月發覺)。隨潰爛擴延而痛疼加劇。入院前一週急劇消瘦, 惡化。

生長於潮州, 曾在南洋新加坡經商, 1954 年始回國。20 年前有冶遊史。愛人有肺病史。

**口腔檢查:** 粘膜充血, 腐臭性分泌增多。上顎後有表淺不平帶黃色潰瘍, 大小約 3 × 3 厘米。舌頭前部 2/3 處潰爛, 界限明顯, 表面不平滑。喉部右側披裂會厭縫後端亦有一 0.5—1.0 厘米大小的潰瘍。頷下淋巴腺腫大。入院後肝、脾漸腫大, 隨後出現腹瀉。於潰瘍局部未發現癌組織及結核桿菌。瓦氏及康氏血清反應均陰性。血液紅血球 3,820,000/立方毫米, 白血球 3,800/立方毫米。

經試用鏈黴素、青黴素、氯黴素、Cortisone、阿的平、大蒜浸液及黃精治療均無效。延至 3 月 30 日心力衰竭死亡。

**真菌分離經過:** 我們曾 4 次從病人取材作真菌培養。結果從兩次骨髓取材中分離出荚膜組織孢漿菌; 局部潰瘍分泌物 1 次分離陽性, 1 次陰性。經過如下:

2 次骨髓穿刺物, 接種沙保弱氏斜面培養基及血瓊脂斜面培養基, 分別放室溫及

37°C 溫箱中孵育。6 天後在沙保弱斜面上發現有絲狀菌落生長，呈白色棉絮狀，直徑約 1—2 毫米大小。經移種 4 天後長出同樣菌落。繼續培養 2 週，菌落直徑達 5—6 毫米，仍保持棉絮樣白色，空中菌絲頗長，菌落底部呈黃褐色。低倍鏡下，可見培養管內有稠密交織的菌絲叢，菌絲上附有無數深褐色孢子。挑取少許放在蓋玻片下做成壓片，高倍鏡下可見有隔菌絲，末端及側枝有許多光滑圓形的孢子。多數孢壁並不厚，有些孢子壁上覆有子芽狀突起。孢子內可見顆粒樣物質。從絲狀菌落培養物移種至血瓊脂斜面，37°C 培養 5 天後，長出乳白色，光滑的酵母樣菌落，大小約 0.5—1 毫米，逐漸增大至 1—2 毫米。隨後菌落互相融合，堆成奶油狀，呈淺黃色。塗片鏡檢見許多卵圓形菌體，並見有單一的子芽。

一次局部潰瘍分泌物培養結果，在沙保弱氏培养基室溫 2 週後，長出同樣白色棉絮狀菌落，分離移種後獲得純種，與上述培養物相同。

我們把分離出的疑似莢膜組織孢漿菌進行下列檢查：

(一) 微量培養觀察：分別從絲狀菌落及酵母樣菌落取材依郭可大氏微量培養法<sup>[3]</sup>進行觀察，8—10 天後發現從厚膜孢子生長出菌絲；酵母樣菌體細胞亦由子芽伸長，變成短菌絲。菌絲繼續延長，分枝，有分隔，末端及側枝可見棒狀菌絲。1、2 日後，逐漸變成圓形孢子，孢壁增厚。繼續培養，可見典型棘狀突起從厚膜孢子生出。小分生孢子數目不多。用顯微鏡測微計量度結果，棘形厚膜孢子直徑約 13 微米，(最小 8.3 微米，最大 15 微米)。圓形厚膜孢子直徑為 6—7 微米，小分生孢子 1.7 微米，菌絲直徑 2—2.5 微米。

(二) 動物接種試驗：取酵母樣菌落材料接種至血瓊脂斜面上，37°C 培養 7 天，長成酵母樣菌苔，每管用 1.5 毫升生理鹽水洗出，做成濃懸液，分別注射家兔、豚鼠及小白鼠。家兔及豚鼠均作腹腔注射，每隻分別為 1.0 及 0.5 毫升。小白鼠一部分作腹腔注射，每隻 0.3 毫升，一部分作顱內注射。每隻 0.03 毫升。

2 隻家兔接種後未顯症狀，其中 1 隻於 24 天後殺死，另 1 隻在 100 天後死亡。剖驗結果，腹膜、肝、脾、肺、腦均未有肉眼可見的變化，直接塗片用 Giemsa 染色亦未發現菌體。分離培養因污染未獲結果。用病理組織切片，兩兔的脾臟均發現大量巨噬細胞吞噬莢膜組織孢漿菌現象。

2 隻豚鼠接種後不顯症狀。24 天後殺死解剖，腹膜、脾、肝、腦肉眼均沒有見到病變，直接塗片鏡檢未發現菌體。培養結果其中一隻的腹膜、脾、肝、腦、骨髓材料等，在血瓊脂斜面上均長出典型酵母樣菌落。1 隻的培養因雜菌污染未獲結果。

小白鼠 12 隻，分 2 組，分別作腹腔及顱內注射。接種後 24 日均無特殊症狀。腹腔注射分別於第 2、3、4、7、9、24 日剖驗，肝、脾無特殊變化，半數有少量粘稠性腹水。全數小白鼠腹膜塗片均見大單核細胞吞噬菌體現象。大多數小白鼠脾臟，少數小白鼠肝

臟塗片，亦見同樣吞噬現象。病理切片檢查結果，大多數小白鼠肝脾均有吞噬菌體現象，其中 1 隻的腎上腺內可見大量細胞漿內吞噬的菌體。

顱內注射組小白鼠於第 4 及 7 日殺死解剖，腦組織切片有巨噬細胞吞噬菌體現象，其他臟器塗片未見菌體。其中有 1 隻的肝臟及腎臟的病理切片，發現有被吞噬的菌體。

(三) 生化反應試驗：取血斜面的酵母樣菌落培養物，做生化反應試驗，發現本菌不發酵葡萄糖、乳糖、麥芽糖、甘露醇及蔗糖。不產生硫化氫；在 5% 葡萄糖或麥芽糖牛肉湯管內呈沉澱生長，搖盪之有絮狀顆粒懸浮物。

結論：關於莢膜組織孢漿菌的培養特性及生活史，DeMonbreum 氏 (1934) 及 Conant 氏 (1941)<sup>[2]</sup> 曾作詳細描述。該菌具有兩相的培養性質。在血液瓊脂培养基 (37°C) 生長成乳白色酵母樣菌落，菌體細胞呈橢圓形，直徑 1—5 微米，由發芽而繁殖。在沙保弱氏葡萄糖培养基室溫培養，酵母樣菌落可生成絲狀菌落；先呈白色棉絮狀，後變為暗褐色。幼稚的培養中，在分枝及有隔菌絲上長有無數光滑，圓形或梨形的孢子 (2.5—3 微米)。在老培養內，每生成許多厚膜孢子 (7.5—15 微米)，上覆以棘狀突起。這種棘形厚膜孢子對鑑定本菌有特殊意義。在實驗動物中，本菌可使小白鼠及豚鼠感染致病。感染後動物的肝、脾、淋巴腺、骨髓的網狀內皮細胞及單核細胞的胞漿內，可見吞噬本菌現象。用 Giemsa 或 Wilson 染色法，菌體呈紫紅色，周圍繞以透明不着色的莢膜，大小約 1—5 微米。這次分離的真菌，培養特性和動物致病性與上述情況相符合，因此確定為莢膜組織孢漿菌。

本病例，患者是新加坡歸僑，究竟在何時何地開始感染（大約在南洋感染），現雖未能確斷，但考慮到華南地區，氣候炎熱潮濕，屬亞熱帶性質；國外歸僑不少，很可能有各種前所未發現的內臟真菌病存在。本文的報告希望引起臨床醫師及微生物學工作者的注意，繼續研究我國華南地區有無此菌存在的可能，避免診斷上的遺漏及延誤，逐步來闡明真菌病在我國的流行情況。

### 參 考 文 獻

- [1] Smith and Conant: Zinsser's Textbook of Bacteriology, 10<sup>th</sup> ed. pp. 897—901.
- [2] Conant N. F. 等: Manual of Clinical Mycology, 1948.
- [3] 郭可大: 中華醫學雜誌, 37: 741, 1951.
- [4] Salvin, S. B.: J. Bacter., 54: 655, 1947.

## ISOLATION OF *HISTOPLASMA CAPSULATUM* IN CANTON

CHUNG, C. Y., KOU, F. Y. and CHOW, K. F.

*Department of Microbiology, Chungshan Medical College, Canton*

In March 1955, a strain of *Histoplasma capsulatum* was isolated from a patient suffering from a malignant ulcer of tongue. Its morphology, cultural characteristics (especially the findings of the formation of typical tuberculate chlamydospores in microculture, and the yeast-like colonies occurred on blood agar slant at 37°C., while a filamentous growth developed on Sabouraud's media at room temperature.) and animal experiments all agreed with the feature of *Histoplasma capsulatum*.

The patient, the first case reported in China was an oversea Chinese returned from Singapore 6 months ago. It could not be ascertained when and where he got the infection. Considering the geographic location of south China being close to the tropical region, and its frequent communications with foreign countries, clinicians and bacteriologists should keep watch the occurrence and try to determine the origin of this disease rare in China.

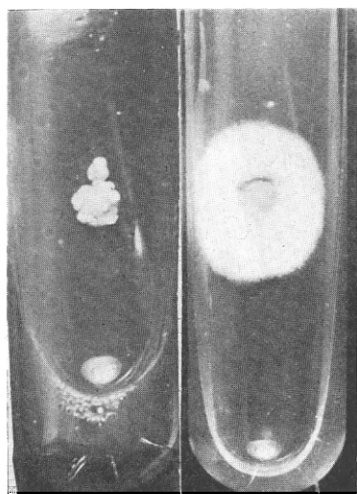


圖1 在血液瓊脂斜面(左) 37°C 培養10 天的酵母樣菌落及在沙保弱氏斜面(右) 室溫培養3 週的絲狀菌落

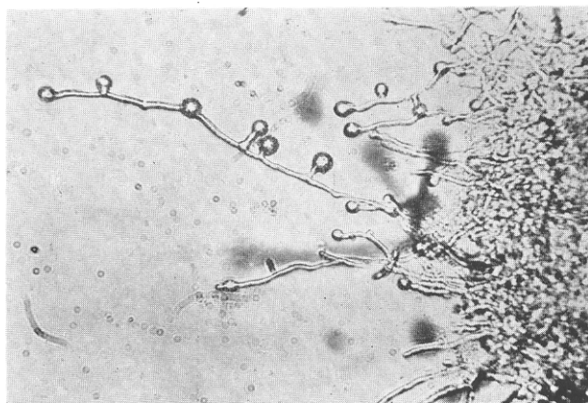


圖2 在微量培養圈內沙保弱氏培养基, 室溫培養18 天的生長情況



圖3 感染小白鼠腹水塗片, 示巨噬細胞吞噬酵母樣菌體

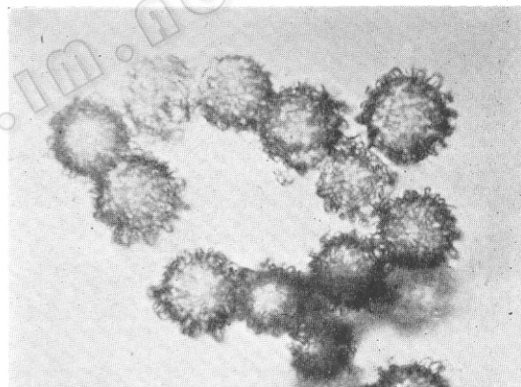


圖4 在微量培養圈內沙保弱氏培养基, 長出的棘形厚膜孢子

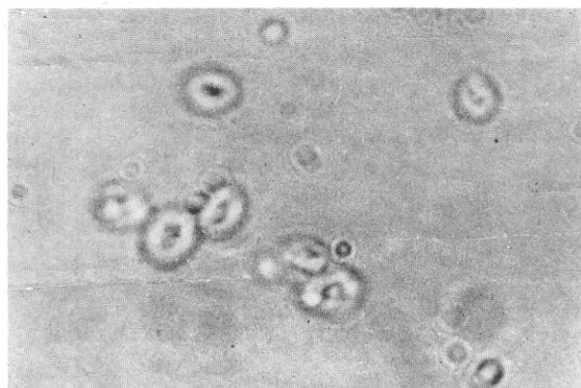


圖5 血液瓊脂斜面 37°C 培養酵母樣菌落塗片, 示酵母樣菌體