

임상 검사물에서 분리된 비발효성 그람음성 간균의 균종과 항생제 감수성

연세대학교 의과대학 임상병리과

정윤섭 · 안용모 · 유영해 · 이삼열

= Abstract =

Species and Antimicrobial Susceptibility of Nonfermentative Gram-Negative Bacilli Isolated from Clinical Materials

Yunsop Chong, Yong Mo Ahn, Younghat Ryu, and Samuel Y. Lee

Department of Clinical Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Species and antimicrobial susceptibility of nonfermenting gram-negative bacilli (NFB) isolated from clinical materials at Yonsei Medical Center during the period of September 1980 to August 1981 were analyzed and the following results were obtained.

1. NFB were isolated from 17.1% of sputum, 14.8% of pus, 5.0% of urine, 3.3% of throat and 1.4% of blood specimens.
2. Among the isolates 57.6% were *Pseudomonas aeruginosa* and 32.7% were *Acinetobacter calcoaceticus*. *P. maltophilia* and *P. cepacia* were 3.2% and 2.8% respectively. Other bacteria were rarely isolated.
3. The monthly isolation rates were high during the June to November period (8.8-12.0%), and low during the December to May period (4.2-8.4%).
4. Many of the isolates showed resistance to various antimicrobials. Although there were variations depending on the bacterial species, amikacin, colistin, gentamicin, tobramycin and co-trimoxazole showed more antibacterial activities than other antimicrobials.

서 론

포도당 비발효 그람음성 간균 (nonfermentative gram-negative bacillus, NFB)은 분류학상으로는 다양한 여러 균속을 포함하며, *Pseudomonas*, *Comamonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Kingella*, *Flavobacterium*, *Eikenella*가 이에 속한다¹⁾. 이들 세균은 자연환경에 분포되어 있으므로 과거에는 대부분이 비병원성인 것으로 생각하여 왔으나, 세균감염에 대한 방어기능에 결함이 있는 환자에게는 감염을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다²⁾.

이들 세균은 그 분류에 많은 변화가 있었고, 그 생화학적 반응이 활발하지 않고 서로 유사한 점이 많으므로 그 동정이 대단히 어렵다³⁾. 따라서 이들 세균의 분리나 감염에 관한 보고는 우리나라에 많지 않다.

이 세균들이 환자 검체에서 분리되는 일이 늘어가고 있고, 감염을 일으키는 일이 있음이 분명하며, 항생제에 내성인 균주가 대단히 많은 점 등은 임상 검사물에서의 이들의 분리, 동정 및 항생제 감수성 검사를 필요하게 되었다. 저자들은 환자 검체에서 분리되는 NFB의 균종과 항생제 감수성의 현황을 파악하기 위하여 1980년 9월부터 1981년 8월 사이의 임상검체의 통상 배양 성적을 분석하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

재료 및 방법

세균배양에 사용된 검체는 1980년 9월 부터 1981년 8월 사이에 통상의 배양이 의뢰된 것으로 대부분이 연세의료원 입원 환자의 것이었다.

세균 배양은 통상의 방법에 의하였다. 즉 혈액배양에는 Tryptic soy broth와 thioglycollate medium을 사용하였고, 그 밖의 검체는 blood agar와 MacConkey agar에, 농성 검체는 thioglycollate medium에도 접종하였다. 농성 검체에서 분리된 세균은 그 집락수가 적더라도 동정하였으나, 인두, 객담 및 기관지 세액(broncheal washing)에서 분리된 NFB는 증등도 이상의 수를 보인 경우에만, 뇨에서의 경우는 *P. aeruginosa*는 1,000/ml 이상, 그밖의 NFB는 5,000/ml 이상인 경우에만 동정하였다.

그람음성 간균중 TSI에 산성 고층을 안 보이는것을 NFB로 생각하고 그 동정을 진행시켰다⁴⁾. 그 집락이 불투명하고 oxidase와 운동성 음성이며 citrate 양성이고 형태가 특징적인 coccobacillus인것은 *Acinetobacter calcoaceticus*로 동정하였다. 혈액한천에 녹색인 크고 편평한 집락을 형성하며, TSI에 산성 고층을 안 보이며, 운동성, oxidase 및 citrate 양성인 세균은 *P. aeruginosa*로 동정하였다⁴⁾. 그 밖의 NFB, 동정은 Oxi/Ferm(Roche Diagnostics, Nutley, N.J.)의 code를 이용하되 시험은 재래식으로 하였고 2일간 배양후에 그 결과를 판독하였다. 필요에 따라 지시된 추가시험을 하였고, 이로써도 동정이 불확실한 경우에는 API 20E(Analytab Products Inc, Plainview, N.Y.)를 사용하였다.

항생제 감수성 검사는 BBL와 Difco의 disc를 써서 Kirby-Bauer disc diffusion 법으로 시험하였고, 그결

과의 정확성을 높이기 위하여 표준균주인 *E. coli* ATCC 25922와 *P. aeruginosa* ATCC 27853를 써서 매일 정도판리를 시행하였다⁵⁾. 동일 환자에서 단기 간에 반복분리되는 같은 균종의 감수성은 가능한한 최초의 성적만 포함시키도록 하였다.

성 적

1년간에 배양된, 변을 제외한 검체 34,258개중 1,499 검체(4.4%)에서 1,555 주의 NFB가 분리되었다. 객담에서의 분리율은 17.1%로 가장 높았고, 뇨에서의 분리율이 다음으로 높아서 14.8%이었다. 뇨에서는 5.0%, 혈액에서는 1.4%,의 분리율을 보였다(Table 1).

이 밖에 6건의 척수액에서 6주의, 그리고 36건의 눈 검체에서 37주의 NFB가 분리되었다(Table 2).

분리된 균종은 *P. aeruginosa*가 53. %로 가장 많았고, *A. calcoaceticus*가 32.7%로 제 2위이었다(Table 2), *P. cepacia*, *P. fluorescens*, *P. maltophilia*, *P. stutzeri*는 1.3~3.2%를 차지하였고, 그 밖의 균종은 대단히 드물어서 1~9주가 분리되었을 뿐이었다. 가장 분리수가 많았던 *P. aeruginosa*와 *A. calcoaceticus*의 검체별 분리수는 혈액, 뇨 및 인두에서는 비슷하였고, 농과 담에서는 *P. aeruginosa*가 월등히 많았다.

NFB의 월별 분리율은 6~11월이 높아서 8.8~12.0%이었고, 12~5월은 낮아서 4.2~8.4%이었다(Table 3).

항생제 감수성은(Table 4) *P. aeruginosa*는 대부분이 colistin에 감수성이었으나 amikacin과 tobramycin에는 약 2/3가, carbenicillin과 gentamicin에는 약 1/2이 감수성이었다. *A. calcoaceticus*는 대부분이 colistin에, 약 1/2이 amikacin, gentamicin, kanamycin, tobramycin, co-trimoxazole에 감수성이었다. *P. cepacia*는 amikacin에 60%가 감수성이었으나, 다

Table 1. Rate of isolation of glucose nonfermenting gram-negative bacilli from clinical specimens

Specimen	Number cultured	Isolation	
		No. of isolate	No. (%) of specimen
Blood	11,471	165	161(1.4)
Pus	3,645	565	541(14.8)
Urine	5,128	267	255(5.0)
Sputum	5,102	373	360(17.1)
Throat	3,625	122	120(3.3)
Other*	5,492	63	59(1.1)
Total	34,285	1,555	1,496(4.4)

*Stool specimens are not included.

Table 2. Number of isolates of glucose nonfermenting gram-negative bacilli by clinical specimens

Species	No. of isolates								Total(%)
	Blood	CSF	Pus	Eye	Urine	Sputum*	Throat	Other ^b	
Achromobacter					1				1(0.06)
A. calcoaceticus	59	3	179	13	96	83	65	11	509(32.7)
Alcaligenes	2				1				3(0.2)
Flavobacterium	4		3	1	1				9(0.6)
Moraxella	1								1(0.06)
P. aeruginosa	53	1	318	20	111	269	53	8	833(53.6)
P. cepacia	15		14	1	8	5			43(2.8)
P. fluorescens	3		10	1	10	1	1		26(1.7)
P. maltophilia	10		11	1	19	9			50(3.2)
P. putrefaciens	3		1						4(0.3)
P. stutzeri	6	1	7		3	2			20(1.3)
Not identified	9	1	22		17	4	3		56(3.6)
Total no.	165	6	565	37	267	373	122	20	1555(100)
%	10.6	0.4	36.3	2.4	17.2	24.0	7.8	1.3	100

*Includes 33 broncheal washing specimens. ^b9 bile and 11 dialysis fluid specimens.

Table 3. Isolation of glucose nonfermenting gram-negative bacilli by month

	1980				1981								Total
	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	
Achromobacter									1				1
A. calcoaceticus	42	48	40	39	29	25	30	45	39	66	59	47	509
Alcaligenes				2				1					3
Flavobacterium	1		1	2		1	1	1			1	1	9
Moraxella						1							1
P. aeruginosa	86	83	104	60	33	29	51	56	61	69	88	113	833
P. cepacia	1	3	3	3	5	2		6	3	7	2	8	43
P. fluorexcens	1		1	2	3	1	4	1	2	4	4	3	26
P. maltophilia	3	4	5	4	2	2	4	4	8	5	5	4	50
P. putrefaciens		2	1		1								4
P. stutzeri		3	1		4	2	1	2	1		3	3	20
Not identified*	3	1	3	1	1	2	7	1	16	4	9	8	56
Total No.	137	144	159	113	78	65	98	117	131	155	171	187	1555
%	8.8	9.3	10.2	7.3	5.0	4.2	6.3	7.5	8.4	9.9	11.0	12.0	

*Includes other Pseudomonas species which were not identifiable.

른 항생제에는 28% 이하의 균주 만이 감수성이었다. *P. fluorescens*는 amikacin과 colistin에는 모든 균주가 감수성이었고, gentamicin과 tobramycin에는 약 2/3가 감수성이었다. *P. maltophilia*는 85.7%가 colistin에 감수성이나, amikacin과 co-trimoxazole에는 약 1/2이 감수성이었다. *P. stutzeri*는 60%가 colistin

에 42.9% 이하가 다른 항생제에 감수성이었다. *P. putrefaciens*는 시험수가 적어서 불확실하나 여러 항생제에 감수성이 결과를 보였다.

고 안

NFB중 임상검사 물에서 분리되는 것으로 잘 알려

Table 4. Antimicrobial susceptibility of glucose nonfermenting gram-negative bacilli isolated in 1980-81

Bacteria (no. of isolates tested)	Susceptibility ^a	Antimicrobials ^b										
		AMK	AMP	CAB	CEP	CHL	COL	GEN	KAN	TET	TOB	COT
<i>A. calcoaceticus</i> (462) ^c	S	51.1 ^e	6.8	NT ^d	2.4	8.3	95.3	53.6	46.5	25.2	53.9	47.9
	I	5.2	3.7		4.3	8.5	0.7	2.6	2.0	15.4	7.1	1.6
	R	43.7	89.5		93.3	83.2	4.0	43.8	51.5	59.4	39.0	50.5
<i>P. aeruginosa</i> (687)	S	77.7	NT	50.5	NT	NT	97.2	50.8	NT	NT	64.3	NT
	I	12.0		11.0			0.4	11.2			2.5	
	R	10.3		38.5			2.3	38.0			33.2	
<i>P. cepacia</i> (42)	S	60.0	26.8	NT	4.8	28.6	25.0	19.0	22.0	10.0	10.0	26.7
	I	3.3	0		4.8	14.3	0	4.8	4.9	2.5	3.3	0
	R	36.7	73.2		90.4	57.1	75.0	76.2	73.1	87.5	86.7	73.3
<i>P. fluorescens</i> (24)	S	100	4.2	NT	0	12.5	100	70.8	54.2	29.2	75.0	20.0
	I	0	0		0	8.3	0	0	8.3	25.0	0	5.0
	R	0	95.8		100	79.2	0	29.2	37.5	45.8	25.0	75.0
<i>P. maltophilia</i> (46)	S	53.1	11.1	NT	8.7	43.5	85.7	30.4	21.7	19.6	25.0	50.0
	I	9.4	2.2		2.2	15.2	0	4.4	0	10.8	3.1	3.1
	R	37.5	86.7		89.1	41.3	14.3	65.2	78.3	69.6	71.9	46.9
<i>P. putrefaciens</i> (3)	S	66.7	66.7	NT	0	50.0	100	100	100	50.0	NT	NT
	I	33.3	0		0	0	0	0	0	50.0		
	R	0	33.3		100	50.0	0	0	0	0		
<i>P. stutzeri</i> (19)	S	35.7	36.8	NT	5.3	31.6	60.0	42.1	36.8	26.3	21.4	42.9
	I	0	0		0	26.3	0	5.3	10.5	15.8	14.3	0
	R	64.3	63.2		94.7	42.1	40.0	62.6	52.6	57.9	64.3	57.1

^a S, susceptible; I, intermediate; R, resistant.

^b AMK, amikacin; AMP, ampicillin; CAB, carbenicillin; CEP, cephalothin; CHL, chloramphenicol; COL, colistin; GEN, gentamicin; KAN, kanamycin; TET, tetracycline; TOB, tobramycin; COT, co-trimoxazole.

^c % of isolates tested.

^d NT, not tested.

^e Exceptions of the no. of isolates tested; for AMK, TOB and COT, *A. calcoaceticus* 310, *P. cepacia* 30, *P. fluorescens* 20, *P. maltophilia* 32, *P. stutzeri* 14, and for COL *A. calcoaceticus* 149, *P. cepacia* 12, *P. fluorescens* 4, *P. maltophilia* 14, *P. stutzeri* 5.

진 균종은 *P. aeruginosa*와 *A. calcoaceticus* 정도이었다. NFB의 분류는 근년에 재정비되었으며, 그간의 혼란은 acinetobacter가 갖고 있는 수많은 동의어만 보아도 짐작할 수 있다^{3,6)}. 이들 균종은 대부분이 자연 환경에 존재하며 비병원성으로 생각하여 왔다. 그러나 이들은 병원환경에도 많고⁷⁻¹⁰⁾, 항생제에 내성인 균주가 많으므로 환자에 colonize 될 기회가 많으며, 환자가 수술이나 면역억제제 투여로 세균감염에 대한 방어 기능이 저하되면 감염의 기회를 갖게된다.

NFB는 영양 요구도는 크지 않으므로 배양은 어렵지 않다. 그러나 이 세균들은 생화학적 반응이 활발하지 않기 때문에 동정을 위하여는 여러날이 걸릴 뿐만 아니라 부정확한 동정이 되기 쉽다. 외국에서 널리 쓰이기 시작한 동정용 kit들은 감별에 있어서의 기술적인 어려움을 어느정도 해결하였다고 하겠다. API 20E

N/F system (Flow Laboratory, Roslyn, N.Y.), Oxi/Ferm 등이 흔히 이용되는 kit인데¹⁴⁻¹⁶⁾ 이들의 사용은 경제적인 부담이 크다. George와 Davis은 상품화된 kit를 쓰지 않고 다른 방법으로 시험한 성장 profile data에 맞추어 봄으로서 Enterobacteriaceae의 동정은 정확히 하면서도 경비를 줄일 수 있었다¹⁷⁾.

Oxi/Ferm의 평가는 연구자에 따라 다르다^{14,16)}. 그 특징은 술식이 간편하고 비교적 소수인 10가지 성장으로 동정을 하는 점이다. 이 10가지 성장 중에서 anaerobic dextrose, H₂S, indole, citrate 반응은 모든 그람음성 간균에 기본적으로 시험하는 TSI MIO 및 citrate 배지로 알아내게 되므로 arginine dehydrolase, N₂ gas, xylose와 glucose oxidation, urease의 5종만 시험하고 oxidase 시험을 하면 Oxi/Ferm의 code를 이용할 수 있으므로 이것을 통상검사에 사용하고 있다.

물론 많은 예에 있어서 추가시험으로서 항생제 감수성, 운동성, 편도염색, pyocyanin과 fluorescein 생성 시험, 혹은 42°C에서의 증식능이 필요하다.

NFB의 균종 동정은 이들의 감염을 파악할 수 있기 위해 가장 먼저 하여야 할 일이라고 하겠다. 외국의 결과에서 보면 *P. aeruginosa*가 가장 많이 분리되고¹⁸⁾, 제 2위는 *A. calcoaceticus*의 8~9%이며, *P. maltophilia*가 3~6%, *P. fluorescens-putida* group이 2~3%, *P. stutzeri*와 *P. cepacia*가 각 1% 정도이며 그 밖의 세균은 극히 소수가 분리되는 것으로 보고되어 있다.^{20,21)} 저자들의 결과에 있어서도 *P. aeruginosa*가 제일 많았으나 그 비율은 53.6%로, 다소 낮았고, 제 2위가 *A. calcoaceticus* 임은 같았으나 그 비율은 32.7%로 더 높았는바 그 원인은 알 수 없다. 그 밖의 균종의 분리율은 비슷하였다.

검체별 분리율은 농에서의 분리가 가장 많아서 36.3%이었고 그중 1/2 이상이 *P. aeruginosa*이었다. NFB가 많이 분리된 그밖의 검체로는 담, 뇨, 인후의 검체이었음은 이 세균들이 호흡기나 노로에 쉽게 colonize하거나 감염을 일으킬을 보인 것이라고 하겠다. 혈액에서의 분리율이 10.6%이었는데 이중에는 오염균도 있을 것이지만, 반복분리되어 감염을 생각케 하는 예도 많았다. 1환자에서는 *A. calcoaceticus*가 척수액에서 장기간에 걸쳐 반복 분리되었다. NFB가 분리된 눈의 검체는 대부분이 신생아에서 채취된 것이었다.

분리율은 여름철에 높았는데, 그온다습한 계절이므로 자연계에 있는 세균의 수가 증가되고, 따라서 환자에 colonize 내지 감염을 일으키게 되는 일이 많을 것으로 생각된다.

NFB는 여러 항생제에 내성인 것이 특징이라고 하겠다. 특히 cephalothin은 모든 균종에 무효이었다. Von Graevenitz 및 Grehn의 자료와 비교할때²²⁾ 저자들의 균주는 내성인 경우가 더 많았다. 특히 *P. aeruginosa*에 있어서 carbenicillin과 gentamicin, *P. cepacia*에 있어서 chloramphenicol과 co-trimoxazole, *P. fluorescens*에 있어서 kanamycin과 tetracycline, *P. maltophilia*에 있어서 chloramphenicol과 co-trimoxazole, *P. stutzeri*에 있어서 gentamicin, kanamycin, tetracycline, amikacin, tobramycin, ampicillin, 및 co-trimoxazole에서 감수성 균주의 감소가 현저하였다. *A. calcoaceticus*는 1970년의 Pedersen의 결과와 비교할 때¹⁹⁾ colistin에 대해 대부분의 균주가 감수성 임에는 차이가 없었으나 ampicillin, kanamycin, tetracycline에 감수성인 균주는 현저히 적은 결과를 보였다.

결 론

1980년 9월부터 1981년 8월 사이에 연세의료원의 임상 검체에서 분리한 비발효성 그람음성 간균의 균종과 항생제 감수성에 관하여 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 검체별 NFB 분리율은 담 17.1%, 농 14.8%, 뇨 5.0%, 인두 3.3%, 혈액 1.4%이었다.

2. 균종별로는 *P. aeruginosa*가 53.6%로 제일 많았고, *A. calcoaceticus*가 32.7%, *P. maltophilia*가 3.2%, *P. cepacia*가 2.8%이었다. 그밖의 균종은 소수가 분리되었다.

3. 월별 분리율은 여름철에 높아서 6월부터 11월에 8.8~12.0%이었고 12월부터 5월에는 4.2~8.4%이었다.

4. 이 세균들은 항생제에 내성인 균주가 많았다. 균종에 따라 차이가 있으나 amikacin, colistin, gentamicin, tobramycin, co-trimoxazole이 비교적 다른 항생제 보다 더 많은 균주에 억제력을 보였다.

REFERENCES

- 1) Finegold, S.M., Martin, W.J. and Scott, E.G.: *Diagnostic Microbiology. 5th ed.*, C.V. Mosby, St. Louis, 1978. p 184.
- 2) Von Graevenitz, A.: *The role of opportunistic bacteria in human disease. Ann. Rev. Microbiol.* 31: 447, 1977.
- 3) Pickett, M.J., and Manclark, C.R.: *Nonfermentative bacilli associated with man: I. Nomenclature. Amer. J. Clin. Path.* 54: 155, 1970.
- 4) Pickett, M.J., and Pedersen, M.M.: *Nonfermentative bacilli associated with man: II. Detection and identification. Amer. J. Clin. Path.* 54: 164, 1970.
- 5) NCCLS: *Performance standards for antimicrobial susceptibility test. 2nd ed.*, NCCLS, Villanova.
- 6) Henriksen, S.D.: *Moraxella, Acinetobacter, and the Mimeae. Bacteriol. Reviews.* 37: 522, 1973.
- 7) Carson, L.A., Favero, M.S., Bond, W.W., and Petersen, N.J.: *Factors affecting comparative resistance of naturally occurring and subcul-*

- tered *Pseudomonas aeruginosa* to disinfectants. *Appl. Microbiol.*, 23 : 863, 1972.
- 8) Edmonds, P., Suskind, R.R., MacMillan, B.G., and Holder, I.A.: *Epidemiology of Pseudomonas aeruginosa in a burn hospital: Evaluation of serological, bacteriophage, and pyocin typing methods.* *Appl. Microbiol.*, 24 : 213, 1972.
 - 9) Rosenthal, S.L.: *Sources of Pseudomonas and Acinetobacter species found in human culture materials.* *Amer. J. Clin. Path.* 62 : 807, 1974.
 - 10) Bruun, J.N., McGarrity, G.J., Blakemore, W. S., and Coriell, L.L.: *Epidemiology of Pseudomonas aeruginosa infections: Determination by pyocin typing.* *J. Clin. Microbiol.* 3 : 264, 1976.
 - 11) Gilardi, G.L.: *Pseudomonas maltophilia infections in man.* *Amer. J. Clin. Path.* 51 : 58, 1969.
 - 12) Gardner, P., Griffin, W.B., Swartz, M.N., and Kunz, L.J.: *Nonfermentative gram-negative bacilli of nosocomial interest.* *Am. J. Med.* 48 : 735, 1970.
 - 13) Gilardi, G.L.: *Infrequently encountered Pseudomonas species causing infection in humans.* *Ann. Intern. Med.* 77 : 211, 1972.
 - 14) Oberhofer, T.: *Comparison of the API 20E and Oxi/Ferm systems in identification of nonfermentative and oxidase-positive fermenting bacteria.* *J. Clin. Microbiol.* 9 : 220, 1979.
 - 15) Barnishen, J., and Ayers, L.W.: *Rapid identification of nonfermentative gram-negative rods by the Corning N/F system.* *J. Clin. Microbiol.* 9 : 239, 1979.
 - 16) Appelbaum, P.C., Stavitz, J., Bentz, M.S., and Von Kuster L.C.: *Four methods for identification of gram-negative non-fermenting rods: Organisms more commonly encountered in clinical specimens.* *J. Clin. Microbiol.* 12 : 271, 1980.
 - 17) George, S., and Davis, G.H.G.: *Rapid identification of Enterobacteriaceae by using non-commercial micro-tests in conjunction with API 20E profile data.* *J. Clin. Microbiol.* 10 : 399, 1979.
 - 18) Pedersen, M.M., Marso, E., and Pickett, M.J.: *Nonfermentative bacilli associated with man: I. Pathogenicity and antibiotic susceptibility.* *Amer. J. Clin. Path.* 54 : 178, 1978.
 - 19) Blazevic, D.J., Koepcke, M.H., and Matsen J. M.: *Incidence and identification of Pseudomonas fluorescens and Pseudomonas putida in the clinical laboratory.* *Appl. Microbiol.* 25 : 107, 1973.
 - 20) Otto, L.A., and Blachman, U.: *Nonfermentative bacilli: Evaluation of three systems for identification.* *J. Clin. Microbiol.* 10 : 147, 1979.
 - 21) Pickett, M. J.: *Pseudomonas.* in *Med. Microbiol. and Infect. Disease.* editors, Braude A. I., Davis, C.E., and Fierer, J., Saunders, Philadelphia. 1981, p 365.
 - 22) Von Graevenitz, A., and Grehn, M.: *Clinical Microbiology of unusual Pseudomonas species. in Unusual organisms of clinical significance.* *Amer. Soc. Microbiology, Washington,* 1977.