

与腹泻有关的弯曲杆菌新种和弯曲杆菌样细菌

程 知 义

(军事医学科学院,北京)

近年来随着滤膜技术的使用和一些新培养基的出现,自腹泻病人分离出的弯曲杆菌新种和弯曲杆菌样细菌(CLO)的报道,正在日益增多。本文就与腹泻有关的几个弯曲杆菌新种和 CLO 的研究近况,简介如后。

(一) 猪肠弯曲杆菌 (*Campylobacter hyointestinalis*)

本菌系 Gebhart 等^[1]自患增生性回肠炎和肠道感染的猪肠中分离而得名,且被定为本属的一个新种^[1]。1986年,Edmonds 等^[2]曾简要报道了从人粪便中分离的3株菌属于此种;而第一篇正式报告则是 Fennell 等^[3]从一名患直肠炎的同性恋男子粪便中获得的。不久,又从胃肠感染病人的粪便中分离到此菌^[4],前后共得7株猪肠弯曲杆菌。

1. 临床表现: 7例病人包括5男(含3名同性恋患者)和2女,年龄由8个月至79岁。临床症状,除一名老年男病人有血便外,多为水样便。一同性恋病人日排便达20次,体温37.9—40℃。一名女婴体温较高,另2名同性恋患者体温正常。其它症状有:腹部

痉挛、呕吐、恶心或厌食或脐周疼痛等。于服用强力霉素、红霉素或复方新诺明等抗菌药物后,均告痊愈。病程一般为5—14日。

2. 表型特性: 本菌为微需氧性、革兰氏阴性、弯曲或螺旋状杆菌,氧化酶阳性。其它主要表型特性见表1。此菌在表型上与胎儿弯曲杆菌胎儿亚种最为近似。二菌菌 0.1% TMAO(N-氧化三甲胺)中厌氧生长和 TSI 上产生 H₂S 而相互鉴别。

3. DNA 杂交试验: 将此菌临床分离物 D1898 号株的标记 DNA 与其它各临床株进行杂交,结果表明,它们相互之间具有94%以上的相关度,而与猪肠弯曲杆菌代表株 ATCC 35217(自猪分离)的相关度为86%;与表型近似的胎儿弯曲杆菌胎儿亚种代表株 ATCC 27374 之间则只有43%;而与本属其它诸种代表株之间的相关度均在18%以下。为了进一步确证,将此菌代表株 ATCC 35217 的标记 DNA 与上述各临床株进行杂交,结果证明,它们之间的相关度均达91—100%。从而确证了上述各临床株与猪肠弯曲杆菌实属同种。

表1 对人致病或可能致病的弯曲杆菌主要鉴别特征^[1,2,3]

菌 名	生 长					H ₂ S (TSI)	过 氧 化氢酶	硝酸盐 还原	尿素	马尿酸 盐	药敏 试验**	
	25℃	42℃	N-氧化三甲胺 (0.1%)	甘氨酸 (1%)	NaCl (2.5%)						NA	Ceph
空肠弯曲杆菌 (<i>Campylobacter jejuni</i>)	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	S	R
大肠弯曲杆菌 (<i>C. coli</i>)	-	+	-	+	-	d	+	+	-	-	S	R
海鸥弯曲杆菌 (<i>C. lariidis</i>)	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	R	R
胎儿弯曲杆菌胎儿亚种 (<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>)	+	d	-	+	-	-	+	+	-	-	R	S
同性恋弯曲杆菌 (<i>C. cinaedi</i>)	-	d	-	+	-	-	+	+	-	-	S	S
芬内尔弯曲杆菌 (<i>C. jennelliae</i>)	-	d	-	+	-	-	+	-	-	-	S	S
猪肠弯曲杆菌 (<i>C. hyointestinalis</i>)	d	+	+	+	-	+	+	+	-	-	R	S
上突弯曲杆菌 (<i>C. upsaliensis</i>)	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	S	S
嗜低温弯曲杆菌 (<i>C. cryaerophila</i>)	+	-	-	-	+/-	-	+	+	ND	-	S	R
幽门弯曲杆菌 (<i>C. pylori</i>)	-	-	ND	+	ND	-	+	-	+	-	R	S

注:“+”阳性,“-”阴性,“d”11—89%的菌株为阴性,“S”敏感,“R”耐药;“ND”,未试;“*”建议中的菌名。“**”NA: 萘啶酸(30μg); Ceph: 头孢金素(30μg)

4. 细胞脂脂肪酸组成: 采用气相色谱法(GC)对4株猪肠弯曲杆菌的测定结果表明,它们具有近似的细胞脂脂肪酸图象;然而在它们与代表株 ATCC 35217

之间却呈现显上的差异,即临床株以十六烷酸(16:0)为主,而代表株则以十八碳烯酸(18:1 7c)占优势。其它次要的差异表现在临床株具有低浓度的十五烷酸

表2 致病性弯曲杆菌的细胞脂肪酸鉴别^[14]

弯曲杆菌	细胞脂肪酸含量(%)								
	十二烷酸	3-羟基十二烷酸	十四烷酸	3-羟基十四烷酸	十六碳烯酸	十六烷酸	3-羟基十六烷酸	十八碳烯酸	环丙烷酸
空肠 (NCTC 11351)	—	—	7	5	3	38	—	12	31
大肠 (NCTC 11366)	—	—	4	4	2	51	—	19	14
海鸥 (NCTC 11352)	—	—	4	5	6	34	—	47	—
胎儿, 胎儿亚种 (ATCC 27374)	—	—	6	4	11	37	4	35	—
“同性恋” (ATCC 35683)	2	3	15	—	—	35	6	27	—
“芬内尔” (ATCC 35684)	1	—	7	3	—	32	4	37	—
猪肠 (ATCC 35217)	—	—	10	6	16	20	—	31	—
嗜低温 (NCTC 11885)	1	—	1	4	29	20	—	21	—
“上突” (NCTC 11541)	—	—	6	6	5	36	—	43	—
幽门	—	—	31	—	—	4	3	11	23

注: “—”未测或 $< 0.5\%$; 表中数字为总脂肪酸的百分数, 因某些脂肪酸含量较小和其它一些成分未列入表内, 故数值总和可能不足 100%

(15:0)、十六碳烯酸(16:1 7c)和十七碳烯酸(17:1)以及较高浓度的十八碳二烯酸(18:2)和油酸(18:1 9c)^[14]。产生这一差异的原因, 尚不清楚。GC测定结果表明, 猪肠弯曲杆菌与海鸥弯曲杆菌和胎儿弯曲杆菌胎儿亚种的细胞脂肪酸成分颇为近似, 均不含有环丙烷酸(C19:0cyc)。猪肠弯曲杆菌可借助于未含3-OHC16:0而与胎儿弯曲杆菌胎儿亚种相鉴别, 但不能与海鸥弯曲杆菌区分(表2)。

(二) 嗜低温弯曲杆菌 (*C. cryaerophila*)

本菌原是自流产猪和牛的胚胎及其胎盘组织中分离的一群耐氧性 CLO 中的一个新种^[6,7]。为革兰氏阴性、弯曲形、S 或螺旋状杆菌, $0.4 \times 1.8 \mu\text{m}$, 很少呈长形 ($> 20 \mu\text{m}$), 无芽孢, 极生单毛呈穿梭运动。最适生长温度为 30°C 。有些株可于 $5-40^\circ\text{C}$ 生长, 所有菌株也都能在 15°C 生长^[1]。降低 O_2 压, 48—72小时培养后菌落小(直径 1mm)、光滑、隆起, 边缘整齐, 延长培养时间, 菌落趋于扁平、大小不一、不规则状。移种后, 可在空气中或 $10\% \text{CO}_2$ 的空气或厌氧条件下生长。

分离出此菌的同性恋患者呈现间歇性腹泻达4—6个月之久。经血清学和病毒学检查均未发现有 AIDS 病毒感染^[4]。

此菌系将粪便标本接种于 Skirrow 氏琼脂平板上, 于 37°C 微需氧条件下培养分离的。此菌呈现典型弯曲杆菌形态。其主要表型特性见表1。

1. DNA 杂交试验: 嗜低温弯曲杆菌的临床株和代表株 (NCTC 11885) 和本属其它各菌的代表株的 DNA 同源性试验结果表明, 临床株的 DNA 探针与代表株全细胞 DNA 有强烈的杂交反应, 而与空肠、大肠、海鸥、胎儿、“同性恋”、“芬内尔”、猪肠和“上突”等

其它弯曲杆菌代表株的全细胞 DNA 则只有微弱的反应或无反应。反之, 采用 NCTC 11885 株作探针与临床株进行试验, 也可获得同样结果, 从而表明该临床株即嗜低温弯曲杆菌。

2. 细胞脂肪酸组成: GC 法证明, 本菌临床株的细胞脂肪酸组成在定性上与代表株极为相似, 均显示有高含量的十六碳烯酸(C16:1)并含有两个不同的 C16:1 异构体, C16:1 7c 和 C16:1 5c 的甲酯。但在临床株中, 还存在有低浓度的十五烷酸(C15:0)^[6]。

此菌的临床意义目前尚不清楚。然而, 根据病人主诉的腹泻并伴有腹痛症状, 以及未分离到其它常见的肠道病原菌来看, 此菌可能与腹泻病有关。

(三) “上突弯曲杆菌” (*C. upsaliensis*)

Sandstedt 等^[9]于 1983 年从腹泻的和健康的狗粪中, 分离到一群过氧化氢酶阴性或弱阳性的弯曲杆菌(简称 CNW 菌群)以后, Steele 等^[10]又在澳大利亚、法国^[11]和比利时^[12]多名患有胃肠感染的儿童和成人粪便中分离到此菌。1986 年, Sandstedt 等正式建议采用“上突弯曲杆菌”(*Campylobacter upsaliensis*)作为 CNW 菌群的正式菌名, 并以 NCTC 11541 株为该菌的代表菌株^[13]。

1. 表型特性: 本菌的主要特性见表 1, 在弯曲杆菌选择性培养基上一般不生长。可借过氧化氢酶反应和萘啶酸与头孢素敏感性试验将它与其它弯曲杆菌相区别。

2. 临床和流行病学特征: 试验的 11 株“上突弯曲杆菌”系 1983—1986 年间自临床病人分离, 3 株自粪便和 8 株自血液。有腹泻症状的 5 人中, 粪便阳性者 3 人和血培养阳性 2 人。前 3 人中, 2 人呈急性、水样腹泻并有痉挛性腹痛和发烧 ($> 37.8^\circ\text{C}$) 症状, 用红霉

素治疗后迅速痊愈；另一菌株系由患中性白细胞减少和血小板减少病人的血便中分离。病人虽经红霉素等抗生素治疗，发烧和腹泻持续不愈。病人最后发展为扩散性肺浸润而死亡。8名血培养阳性病人中，除成人和婴儿各一名外，均有潜在性疾病或免疫损伤。虽有3株系自有胃肠症状的病人血液中分离，但未有一名病人同时为血液和粪便培养阳性者。

3. 细胞脂肪酸组成：该菌临床株与代表株之间的细胞脂肪酸组成均相似。其主要脂肪酸是十八碳烯酸(C18:1 7c)和十六烷酸(C16:0)。此菌的脂肪酸图象还与大肠(如果没有C19:0环丙烷脂肪酸)及海鸥和猪肠弯曲杆菌的图象相似。

4. DNA 杂交试验：实验结果表明，“上突弯曲杆菌”各临床株之间的相关度于50℃时有75—94%，与代表株则有86%；而在65℃试验时可达75—90%。本菌与空肠、大肠和海鸥等嗜热性弯曲杆菌之间的相关度(50℃)分别为34、29和18%。虽然它们之间的相关度较之同型菌之间的要低得多，但仍然表明了一定程度的遗传学关系。

5. 药敏试验：此菌对头孢菌素类和氨基糖苷类抗生素最为敏感。对大多数“上突弯曲杆菌”而言，噻吩甲氧头孢菌素和头孢噻唑比头孢菌素和头孢羟唑有更强的抑菌作用。氨基糖苷类对本菌所致疾病有极佳疗效。

(四) 胎儿弯曲杆菌胎儿亚种

胎儿弯曲杆菌胎儿亚种通常被认为是引起人脑膜炎、脓肿或其它感染的病因；从败血症患者血液中分离，偶而也可自胃肠炎病人粪便中分离。此菌虽早于1947年即已发现，但作为腹泻病原菌而言，却长期以来为人们所忽略。根据CDC1982—1986年弯曲杆菌的调查报告表明^[15]，在美国五年内分离的41343株弯曲杆菌中，此菌有147株，而自粪便标本分离的只有43株。此菌分离株数虽不多，但确实可以引起腹泻或食物中毒的发生。近来，Klein等^[16]在一起因饮用生牛奶引起的急性胃肠炎流行时，从9例粪便标本中分离出3株胎儿弯曲杆菌胎儿亚种，并经质粒分析和DNA杂交试验所证实。作者认为，这一“意外”收获应归功于未采用头孢菌素的培养基所致。

(五) 弯曲杆菌样细菌

自弯曲杆菌被发现以来，有关弯曲杆菌样细菌的报告不断出现，值得重视。今将有待于研究的CLO菌株的特性简介如下：

1. CLO 902^[17]：该菌株系自同性恋男子粪便中分离。于25和37℃生长，43℃不生长；厌氧(37℃)条件下能生长。氧化酶和过氧化氢酶阳性，马尿酸盐阴性，对头孢菌素和萘啶酸抗药，NO₃⁻和NO₂⁻还原阳性，半胱氨酸培养基中不产生H₂S，1%甘氨酸、0.04% TTC(三苯四唑氯化物)和2.5% NaCl均为阴性反应。

2. CLO MB^[13]：共2株，系通过过滤技术结合非选择性培养基，自腹泻幼儿的粪便中分离。37℃生长，25和42℃不生长；于Skirrow培养基上不能生长。过氧化氢酶阳性，NO₃⁻还原阳性，马尿酸盐阴性，对头孢菌素和萘啶酸敏感。两菌株的SDS-PAGE图象不同。

参 考 文 献

- 1 Gebhart C J et al.: *Am. J. Vet. Res.*, 44(3): 361—367, 1983.
- 2 Gebhart C J et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 21(5): 715—720, 1985.
- 3 Edmonds P et al.: *Abstr. Ann. Meet. ASM*, C89, 342, 1986.
- 4 Fennell C Y et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 24(1): 146—148, 1986.
- 5 Edmonds P et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 25(4): 685—691, 1987.
- 6 Ellis W A et al.: *Vet. Rec.*, 100: 451—452, 1977; 102: 106, 1978.
- 7 Neil S D et al.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 35(3): 242—256, 1985.
- 8 Tee W et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 26(12): 2469—2473, 1988.
- 9 Sandstedt K et al.: *Curr. Microbiol.*, 8: 209—213, 1983.
- 10 Steele T W et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 22(1): 71—74, 1985.
- 11 Megraud F et al.: *J. Infect.*, 12(3): 275—276, 1986.
- 12 Goossens H et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 24(5): 840—843, 1986.
- 13 Sandstedt K et al.: *Abstr. XIV Int. Congr. Microbiol.* P. B8—17, p61, 1986. 引自[14].
- 14 Patton C M. et al.: *J. Clin. Microbiol.* 27(1): 66—73, 1989.
- 15 Tauxe R V. et al.: *CDC MMWR*, 37(ss-2): 1—13, 1988.
- 16 Klein B S. et al.: *JAMA*, 255(3): 361—364, 1986.
- 17 Tee W et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 25(7): 1248—1250, 1987.