

乳酸细菌分类鉴定 及实验方法

凌代文 主编

凌代文 东秀珠 编著

RUSUAN XIJUN FENLEI JIANDING JI SHIYAN FANGFA



 中国轻工业出版社

乳酸细菌分类鉴定及实验方法

凌代文 主编
凌代文 东秀珠 编著

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

乳酸细菌分类鉴定及实验方法/凌代文主编;凌代文,东秀珠编著. —北京:中国轻工业出版社,1999.3

ISBN 7-5019-2320-5

I. 乳… II. ①凌… ②凌… ③东… III. ①乳酸细菌-分类②乳酸细菌-鉴定③乳酸细菌-实验方法 IV. Q939.11

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (98) 第 28858 号

责任编辑:彭倍勤

策划编辑:张志敏 责任终审:滕炎福 封面设计:崔云

版式设计:丁夕 责任校对:燕杰 责任监印:崔科

*

出版发行:中国轻工业出版社(北京东长安街6号,邮编:100740)

印刷:中国人民警官大学印刷厂

经销:各地新华书店

版次:1999年3月第1版 1999年3月第1次印刷

开本:787×1092 1/16 印张:11.5

字数:273千字 印数:1—3000

书号:ISBN 7-5019-2320-5/TS·1425 定价:28.00元

·如发现图书残缺请直接与我社发行部联系调换·

前 言

乳酸细菌是一类能利用可发酵的糖产生大量乳酸的细菌的通称。这类细菌在自然界分布广泛，可栖居于人和各种动物的肠道及其他器官内。在土壤、植物根际和许多的人类食品、动物的饲料，还有自然界的湖泊和河水、污泥以及一些临床样品中都发现有乳酸细菌的存在。随着细菌分类学对各类细菌在生物进化中地位研究的不断深入，进一步阐明和确立了乳酸类群细菌有关属种的位置，尚有不少新发现。近年来乳酸类群细菌的属种变动较大，新属新种不断涌现。乳酸细菌在工业、农业和医药等与人类生活密切相关的重要领域应用价值很高。相当多的乳酸细菌对人、畜的健康起着有益的作用，但其中有些菌也能对人、畜致病，甚至是临床上重要的病原菌。在生产实践和应用中要利用它们，人们需要全面地正确认识和了解它们的特性，学习掌握乳酸细菌的分类鉴定方法，有助于“用其利，防其弊”。

当前国内已出版和发表了有关乳酸细菌的一些书籍和文章，但有关乳酸细菌分类鉴定的专著仍缺乏。1996年出版的《乳酸菌——生物学基础及应用》一书是一本较全面介绍有关乳酸细菌分类、生理、生态、遗传和应用的专著，因篇幅有限，加之现代科技发展极迅速，乳酸细菌的研究也在不断深入，应用更为广泛，该书有关分类鉴定的内容已不能满足日益增长的需求。鉴于此，本书进一步充实了近期乳酸细菌分类鉴定研究方面的最新动态和资料，而且对最近建立和发现的5个新属和一些新种也及时进行了报道和描述。实验方法中增补了一些乳酸细菌的分离和培养方法，并编入更多的重要特征测试的方法。东秀珠参加了本书的编著工作，对第二章中乳杆菌属、第四章中的链球菌属、第十一章气相色谱测定法、第十三章的PCR技术、基因探针在乳酸细菌中的应用、16S rRNA全序列分析和数据处理等方面进行了编写和补充。

由于乳酸细菌的研究进展日新月异，虽然我们尽可能较全面系统地反映和介绍当今国内外乳酸细菌分类鉴定研究方面的状况和资料，但限于水平，难免出现遗漏和错误，敬请读者批评指正。

编 者

中国科学院微生物研究所

1998.6 北 京

目 录

第一部分 乳酸细菌的分类和鉴定

第一章 绪论	1
一、乳酸细菌及其有关属	1
二、乳酸细菌有关属的简况	3
三、乳酸细菌的分属检索表	4
参考文献	5
第二章 革兰氏阳性无芽孢杆菌	6
一、乳杆菌属 (<i>Lactobacillus</i>)	6
二、肉食杆菌属 (<i>Carnobacterium</i>)	16
三、利斯特氏菌属 (<i>Listeria</i>)	18
四、环丝菌属 (<i>Brochothrix</i>)	22
五、丹毒丝菌属 (<i>Erysipelothrix</i>)	24
附：微杆菌属 (<i>Microbacterium</i>)	25
参考文献	25
第三章 形成内生芽孢的杆菌	27
一、芽孢乳杆菌属 (<i>Sporolactobacillus</i>)	27
二、芽孢杆菌属 (<i>Bacillus</i>)	29
参考文献	32
第四章 革兰氏阳性兼性厌氧球菌	33
一、链球菌属 (<i>Streptococcus</i>)	33
二、肠球菌属 (<i>Enterococcus</i>)	38
三、乳球菌属 (<i>Lactococcus</i>)	45
四、漫游球菌属 (<i>Vagococcus</i>)	47
五、片球菌属 (<i>Pediococcus</i>)	49
六、四联球菌属 (<i>Tetragenococcus</i>)	51
七、气球菌属 (<i>Aerococcus</i>)	52
八、明串珠菌属 (<i>Leuconostoc</i>)	54
九、酒球菌属 (<i>Oenococcus</i>)	57
十、魏斯氏菌属 (<i>Weissella</i>)	58
十一、乳球形菌属 (<i>Lactosphaera</i>)	60
十二、营养缺陷菌属 (<i>Abiotrophia</i>)	61
十三、孪生球菌属 (<i>Gemella</i>)	63

十四、糖球菌属 (<i>Saccharococcus</i>)	64
附：蜜蜂球菌属 (<i>Melissococcus</i>)	65
参考文献	65
第五章 不规则形的专性厌氧菌	68
一、双歧杆菌属 (<i>Bifidobacterium</i>)	68
二、奇异菌属 (<i>Atopobium</i>)	80
参考文献	82

第二部分 实验方法

第六章 乳酸细菌的分离和培养	84
一、概述	84
二、乳杆菌的分离和培养	85
三、肉食杆菌的分离和培养	89
四、利斯特氏菌的分离和培养	91
五、环丝菌的分离和培养	93
六、产乳酸芽孢杆菌的分离和培养	93
七、芽孢乳杆菌的分离和培养	94
八、链球菌的分离和培养	96
九、肠球菌的分离和培养	98
十、乳球菌的分离和培养	99
十一、明串珠菌的分离和培养	100
十二、酒球菌的分离和培养	102
十三、双歧杆菌的分离和培养	103
参考文献	109
第七章 乳酸细菌的保藏	110
一、概述	110
二、定期移植保藏法	110
三、冷冻干燥法	111
四、液氮超低温保藏法	112
参考文献	113
第八章 用于细菌分类鉴定的特征和技术	115
一、概述	115
二、用于细菌分类鉴定的特征及其类别	115
三、多相分类和多相鉴定及其技术	116
参考文献	116
第九章 生化特性的测定	117
一、概述	117
二、过氧化氢酶测定	118
三、精氨酸产氨试验	118

四、从葡萄糖和葡萄糖酸盐产酸产气·····	119
五、碳水化合物发酵产酸试验·····	119
六、淀粉水解·····	121
七、七叶苷（灵）水解·····	122
八、石蕊牛奶·····	122
九、明胶液化试验·····	122
十、乙酰甲基甲醇试验（V-P 试验）·····	123
十一、硫化氢的产生·····	124
十二、马尿酸盐水解·····	124
十三、精氨酸水解试验·····	125
十四、葡聚糖的产生·····	125
十五、溶血反应试验·····	125
十六、脲酶的测定·····	126
十七、吡咯烷基芳酰胺酶（PYR）的测定·····	127
十八、果糖-6-磷酸盐磷酸酮酶（F6PPK）试验·····	127
附：运动性的检查·····	128
参考文献·····	129
第十章 药物敏感性试验·····	130
一、药敏测定的原理·····	130
二、常用的药敏测定方法·····	130
三、药敏试验的培养基·····	134
四、影响药敏结果的因素·····	136
参考文献·····	137
第十一章 气相色谱测定分析法·····	138
一、气相色谱法原理简介·····	138
二、气相色谱法在乳酸细菌和其他厌氧细菌鉴定中的应用·····	139
三、乳酸及其他短链脂肪酸的测定·····	140
参考文献·····	141
第十二章 化学分类特征的测定分析法·····	142
一、乳酸旋光性的测定·····	142
二、乳酸细菌含有的醌分析法·····	145
三、细菌细胞壁的组成及分析方法·····	148
参考文献·····	152
第十三章 基因型和系统发育型特征的试验方法·····	153
一、DNA 的 G + C 含量测定·····	153
二、DNA - DNA 核酸分子杂交技术·····	159
三、DNA - rRNA 杂交和 16S rRNA 寡核苷酸序列分析·····	163
四、PCR 技术和基因探针在乳酸细菌鉴定中的应用·····	171
参考文献·····	176

第一部分 乳酸细菌的分类和鉴定

第一章 绪 论

一、乳酸细菌及其有关属

(一) 乳酸细菌的定义和范围的划分

乳酸细菌是一类能利用可发酵糖产生大量乳酸的细菌通称，这个名称就细菌分类学而言实属一非正式、非规范的名称。这类细菌在自然界分布广泛，在工业、农业和医药等与人类生活密切相关的重要领域应用价值很高。此外这类菌中有些细菌又是人畜的致病菌，因此受到人们极大的重视。可能乳酸细菌的名称易于为人们所理解和接受，所以通常被人们所引用。可是在乳酸细菌范围界限的划分和包括哪些细菌属种的认识方面却有较大的差异。通常按传统的观念理解，这类细菌的范围较狭窄，包括的细菌属种也较少。如按乳酸细菌名称的由来及其定义，在全面了解细菌分类学研究近年来已报道的细菌属种及其主要特征的基础上，经分析比较整理出符合这类菌定义的细菌，就可列出乳酸细菌的有关属，并划分出乳酸细菌的范围。由此也可看出乳酸细菌分类研究的进程，说明发展至今乳酸细菌涉及的属和种相当多，范围也宽，并不断在扩大。

(二) 乳酸细菌的分类位置及现有的属

乳酸细菌的分类近况，从国际上普遍采用的 Bergey 氏细菌鉴定手册（以下简称手册）来看，自 1923 年至近年已出版有 9 版，以手册 7~8 版及 Bergey 氏系统细菌学手册新版所列来说明（见表 1-1），在手册 7 版中产乳酸的细菌列入真细菌目（*Eubacteriales*）下的乳杆菌科（*Lactobacillaceae*）、棒杆菌科（*Corynebacteriaceae*）和芽孢杆菌科（*Bacillaceae*）的有关属内；在手册 8 版列入不同部分的链球菌科（*Streptococcaceae*）、芽孢杆菌科、乳杆菌科和放线菌目（*Actinomycetales*）下放线菌科（*Actinomycetaceae*）的有关属。手册的新版中在不同部分的乳酸细菌的有关属与第 8 版又增加了环丝菌属（*Brochothrix*），在链球菌属（*Streptococcus*）中对其不同的类型菌分别进行了描述，属的内容也大为丰富，增加了许多新种。

近 10 年来，在革兰氏阳性球菌建立了 8 个新属，肠球菌属（*Enterococcus*）、乳球菌属（*Lactococcus*）、漫游球菌属（*Vagococcus*）、糖球菌属（*Saccharococcus*）、四联球菌属（*Tetragenococcus*）、酒球菌属（*Oenococcus*）、乳球形菌属（*Lactosphaera*）、和营养缺陷菌属（*Abiotrophia*）。在革兰氏阳性杆菌和不规则形杆菌中又建立了 3 个新属：肉食杆菌属（*Carnobacterium*）、奇异菌属（*Atopobium*）和魏斯氏菌属（*Weissella*）。见表 1-1。

表 1-1

乳酸细菌的分类位置简表

Bergey 氏细菌鉴定手册		Bergey 氏系统细菌学手册	近年建立的新属
第 7 版 (1957)	第 8 版 (1974)	新版 (1984~1989)	
裂殖菌纲 真细菌目 科 X. 乳杆菌科 I. 链球菌族 1. 双球菌属 2. 链球菌属 3. 片球菌属 4. 明串珠菌属 II. 乳杆菌族 1. 乳杆菌属 科 XI. 棒杆菌科 2. 利斯特氏菌属 3. 丹毒丝菌属 4. 微杆菌属 科 XII. 芽孢杆菌科 1. 芽孢杆菌属 少数种	原核生物界 细菌部分 第 14 部分 革兰氏阳性球菌 a. 好氧和/或兼性厌氧菌 科 II 链球菌科 1. 链球菌属 2. 明串珠菌属 3. 片球菌属 4. 气球菌属 5. 李生菌属 第 15 部分 形成内生芽孢杆 菌和球菌 科 I. 芽孢杆菌科 1. 芽孢杆菌属少数种 2. 芽孢乳杆菌属 第 16 部分 革兰氏阳性无芽 孢杆菌 科 I. 乳杆菌科 乳杆菌属 位置未定属 利斯特氏菌属 丹毒丝菌属 第 17 部分 放线菌和有关菌 位置未定属微杆菌属 放线菌目 放线菌科 属 III. 双歧杆菌属	第 12 部分 革兰氏阳性球菌 科 II 异常球菌科 其他属 链球菌属 化脓溶血链球菌 口腔链球菌 乳酸链球菌 肠球菌 厌氧链球菌 其他链球菌 明串珠菌属 片球菌属 气球菌属 李生菌属 第 13 部分 形成内生芽孢的 杆菌和球菌 芽孢杆菌属 芽孢乳杆菌属 第 14 部分 规则无芽孢革兰氏 阳性杆菌 乳杆菌属 利斯特氏菌属 丹毒丝菌属 环丝菌属 第 15 部分 不规则无芽孢革兰 氏阳性杆菌 微杆菌属 双歧杆菌属	I. 革兰氏阳性球菌 肠球菌属 (1984) 乳球菌属 (1984) 漫游球菌属 (1989) 糖球菌属 (1984) 四联球菌属 (1990) 酒球菌属 (1995) 乳球形菌属 (1995) 营养缺陷菌属 (1995) II. 革兰氏阳性无芽孢杆菌 和不规则杆菌 肉食杆菌属 (1987) 奇异菌属 (1992) 魏斯氏菌属 (1993)

从 Bergey 氏手册第 7 版的内容编排来看,是试图对细菌在缺乏可利用的化石印记提供证据的情况下,也要像对植物和动物的分类一样趋向于貌似进化系统排列方式,依纲、目、科、属列入乳酸细菌的有关科和属,其实这不尽合理,并未反映自然的实际。有鉴于此,在手册第 8 版以后考虑到一些细菌尚无足够的亲缘关系和进化方面证据资料可利用而改变了编排方式。在原核生物界下将细菌按少数已确定的性状,如革兰氏阳性球菌或杆菌,冠以这样的俗名划分各个部分,乳酸细菌的有关属也分别划入各部分。近 10 年以来,在乳酸细菌类群中建立了较多的新属、种,不仅表现为量的变化,而且表现为质的飞跃。由于应用了一些新技术和现代分子生物学的研究手段,新属种不限于用表型性状,而且以基因型的特征来说明它们与类似属种在系统发育上的亲缘关系。

从上述的乳酸细菌分类简史和表 1-1 所示,随着细菌分类研究的不断深入,也进一步明确了乳酸细菌有关属的分类位置,而且陆续发现了不少新属,乳酸细菌的范围也日益扩大。按本章一节开始提到的定义和划定其范围的方法,目前在自然界已发现的这类菌在细菌分类学上现在划分至少有 23 个属,涉及到的有关属则更多。有的是其中属的少数成员。

这些属包括：乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、肉食杆菌属 (*Carnobacterium*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、链球菌属 (*Streptococcus*)、肠球菌属 (*Enterococcus*)、乳球菌属 (*Lactococcus*)、明串珠菌属 (*Leuconostoc*)、片球菌属 (*Pediococcus*)、气球菌属 (*Aerococcus*)、奇异菌属 (*Atopobium*)、漫游球菌属 (*Vagococcus*)、利斯特氏菌属 (*Listeria*)、芽孢乳杆菌属 (*Sporolactobacillus*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 中的少数种、环丝菌属 (*Brochothrix*)、丹毒丝菌属 (*Erysipelothrix*)、孪生菌属 (*Gemella*)、糖球菌属 (*Saccharococcus*)、四联球菌属 (*Tetragenococcus*)、酒球菌属 (*Oenococcus*)、乳球形菌属 (*Lactosphaera*)、营养缺陷菌属 (*Abiotrophia*) 和魏斯氏菌属 (*Weissella*)。

二、乳酸细菌有关属的简况

乳酸细菌现在主要包括 23 个属，它们的简况见表 1-2。

表 1-2 乳酸细菌的有关属简况表

细菌类别和属名	属的建立者和年代	模式种的种名	来 源
革兰氏阳性无芽孢杆菌			
乳杆菌属 (<i>Lactobacillus</i>)	Beijerinck 1901	德氏乳杆菌 (<i>L. debrueckii</i>)	来源很广泛：人和动物口腔、肠道，人的阴道，发酵植物、乳品、肥料和污物、污水等
肉食杆菌属 (<i>Carnobacterium</i>)	Collins 等，1987	歧异肉食杆菌 (<i>C. divergens</i>)	病鱼、鸡和湖底层水
利斯特氏菌属 (<i>Listeria</i>)	Pirie 1940	单核细胞增生利斯特氏菌 (<i>L. monocytogenes</i>)	污水、腐烂植物、人和动物粪便、临床样品等
环丝菌属 (<i>Brochothrix</i>)	Sneath 等，1976	热死环丝菌 (<i>B. thermosphacta</i>)	腐败肉、土壤和草
丹毒丝菌属 (<i>Erysipelothrix</i>)	Rosenbach 1909	猪丹毒丹毒丝菌 (<i>E. rhusiopathiae</i>)	通常寄生于哺乳动物、鸟类和鱼体
形成内生芽孢的杆菌			
芽孢乳杆菌属 (<i>Sporolactobacillus</i>)	Ritahara 等，1969	菊糖芽孢乳杆菌 (<i>S. inulinus</i>)	鸡饲料、土壤和发酵引子等
芽孢杆菌属内产乳酸的成员 Lactic acid producing species of <i>Bacillus</i>	Cohn 1872	代表性的种： 凝结芽孢杆菌 (<i>B. coagulans</i>)	罐头食品、乳品、土壤和堆肥等
革兰氏阳性兼性厌氧球菌			
链球菌属 (<i>Streptococcus</i>)	Rosenbach, 1884	酿脓链球菌 (<i>S. pyogenes</i>)	人的口腔、呼吸道、人和动物粪便，乳品和临床样品等
肠球菌属 (<i>Enterococcus</i>)	Schleifer 等，1984	粪肠球菌 (<i>E. faecalis</i>)	人和动物肠道、蔬菜和一些植物及临床样品等
乳球菌属 (<i>Lactococcus</i>)	Schleifer 等，1985	乳酸乳球菌 (<i>L. Lactic</i>)	生牛奶、乳品和病鱼等
漫游球菌属 (<i>Vagococcus</i>)	Collins 等，1989	河漫游球菌 (<i>V. fluvialis</i>)	粪便、河水和鲑鱼
片球菌属 (<i>pediococcus</i>)	Balcke 1884	有害片球菌 (<i>P. damnosus</i>)	发酵植物，变质啤酒
四联球菌属 (<i>Tetragenococcus</i>)	Collins 等，1990	嗜盐四联球菌 (<i>T. halophilus</i>)	发酵鱼沙司和鱼肝沙司

续表

细菌类别和属名	属的建立者和年代	模式种的种名	来 源
气球菌属 (<i>Aerococcus</i>)	Williams 等 1953	绿色气球菌 (<i>A. viridans</i>)	空气、灰尘和植物、盐水腌肉和临床样品
明串珠菌属 (<i>Leuconostoc</i>)	van Tieghem 1878	肠膜明串珠菌 (<i>L. mesenteroides</i>)	水果、蔬菜、泡菜、乳品和糖粘液
酒球菌属 (<i>Oenococcus</i>)	Dicks 等, 1995	酒类酒球菌 (<i>O. oeni</i>)	果酒
魏斯氏菌属 (<i>Weissella</i>)	Collins 等 1993	绿色魏斯氏菌 (<i>W. viridescens</i>)	变色腌、熏肉制品和巴氏灭菌牛奶等
乳球形菌属 (<i>Lactosphaera</i>)	Janssen 等, 1995	巴氏乳球形菌 (<i>L. pasteurii</i>)	缺氧的消化污泥
营养缺陷菌属 (<i>Abiotrophia</i>)	Kawamura 等, 1995	欠缺营养缺陷菌 (<i>A. defectivus</i>)	原链球菌属内的营养变异型菌株
孪生球菌属 (<i>Gemella</i>)	Berger 1960	溶血孪生球菌 (<i>G. haemolysans</i>)	寄生于人的口腔、肠道和呼吸道
糖球菌属 (<i>Saccharococcus</i>)	Nystrand 1984	嗜热糖球菌 (<i>S. thermophilus</i>)	精制糖的糖液
不规则形的专性厌氧菌			
双歧杆菌属 (<i>Bifidobacterium</i>)	Orla-Jensen, 1924	两歧双歧杆菌 (<i>B. bifidum</i>)	人和动物粪便、人齿、牛瘤胃、污水和发酵牛奶等
奇异菌属 (<i>Atopobium</i>)	Collins 等, 1992	微小奇异菌 (<i>A. minutum</i>)	会阴脓肿、人的齿龈

三、乳酸细菌的分属检索表

现将乳酸细菌已报道的上述 23 个属, 择其主要鉴别特征编制的检索表列于表 1-3。

表 1-3 乳酸细菌的分属检索表

I. 细胞杆状

A. 细胞不形成内生芽孢

1. 兼性厌氧

a. 接触酶阳性

- (1) 运动, 在 35℃ 生长 利斯特氏菌 (*Listeria*)
 (2) 不运动, 在 35℃ 不生长 环丝菌属 (*Brochothrix*)

b. 接触酶阴性

- (1) 不产生 H₂S, 胞壁肽聚糖主要氨基酸是 L-Lys, m-DAP 或 Orn
 ① 在 pH4.5 生长, 从葡萄糖产 L(+), D(-) 及 DL-乳酸 乳杆菌属 (*Lactobacillus*)
 ② 在 pH4.5 不生长, 从葡萄糖产 L(+) -乳酸, 肽聚糖氨基酸是
 L-Lys 型 肉食杆菌属 (*Carnobacterium*)
 (2) 产生 H₂S, 胞壁肽聚糖主要氨基酸是 L-Lys 丹毒丝菌属 (*Erysipelothrix*)

2. 专性厌氧

- a. 从葡萄糖产乙酸/乳酸, 二者摩尔比大于 1 双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)
 b. 从葡萄糖发酵产物主要是乳酸 乳杆菌属 (*Lactobacillus*)

B. 细胞形成内生芽孢

1. 接触酶阴性, 以典型的同型发酵产 D(-) 乳酸 芽孢乳杆菌属 (*Sporolactobacillus*)
 2. 接触酶阳性, 发酵葡萄糖产 L(+), D(-) 或 DL-乳酸 芽孢杆菌属 (*Bacillus*)

II. 细胞球形

A. 兼性厌氧

1. 厌氧生长良好, 细胞四联, 成对或链状

a. 细胞四联和成对, 从葡萄糖产酸不产气, 产 DL 或 L(+) 乳酸

(1) 不能生长于 18% * NaCl 中 片球菌属 (*Pediococcus*)(2) 能生长于 18% * NaCl 中, 从葡萄糖主要产 L(+) 乳酸 四联球菌属 (*Tetragenococcus*)

b. 细胞成对或链状, 从葡萄糖产酸产气, 产 D(-) 乳酸

(1) 生长于 pH3.5~3.8 葡萄汁和果酒中, 起始 pH4.8 生长良好 酒球菌属 (*Oenococcus*)(2) 不生长于 (1) 的条件下 明串珠菌属 (*Leuconostoc*)(3) 细胞类球或短杆, 端圆或尖细, 15℃ 生长, 45℃ 不生长 魏斯氏菌属 (*Weissella*)

c. 细胞成对或链状, 从葡萄糖产酸不产气

(1) 在 10℃ 或 45℃ 不生长, 或在 10℃ 不生长而在 45℃ 生长 链球菌属 (*Streptococcus*)(2) 在 10℃ 或 45℃ 不生长, 不生长于 6.5% * NaCl, 常呈卫星菌落生长 营养缺陷菌属 (*Abitotrophia*)(3) 在 10℃ 和 45℃ 都生长, 生长于 6.5% * NaCl, pH9.6 和 0.1% 甲烯蓝牛奶 肠球菌属 (*Enterococcus*)

(4) 在 10℃ 生长, 45℃ 不生长, 不生长于 6.5% NaCl、pH9.6, 生长于 0.1% 甲烯蓝牛奶

①细胞运动 漫游球菌属 (*Vagococcus*)②细胞不运动 乳球菌属 (*Lactococcus*)d. 细胞成对或簇, 从葡萄糖产酸产气, 能发酵 L-酒石酸盐 乳球形菌属 (*Lactosphaera*)e. 细胞成簇邻近面扁平或成对细胞大小不均, 从葡萄糖产酸不产气 李生菌属 (*Gemella*)f. 细胞排列成簇, 从葡萄糖产酸不产气, 嗜热, 最适生长温度 68℃ 糖球菌属 (*Saccharococcus*)2. 厌氧生长稀少, 细胞四联和成对, 从葡萄糖产酸不产气, 产 L(+) 乳酸 气球菌属 (*Aerococcus*)B. 专性厌氧, 细胞除球形外也有短杆状者 奇异菌属 (*Atopobium*)

* 注: 在 18% NaCl、6.5% NaCl 中能否生长是鉴别乳酸细菌有关属的重要指征, 其中 NaCl 的百分含量的符号 (% NaCl) 是指 100mL 培养液中含有 NaCl 的 g 数。这种表示 NaCl 浓度的符号是国际和国内本专业人士公认并一直采用的, 故本书仍引用。

参考文献

1. Breed R S, Murray E G D, Smith N R. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 7th ED. London: Bailliere, Tindall & Cox, LTD 1957. 30~33, 505~613
2. Buchanan R E, Gibbons N E. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 8th ED. Baltimore: Williams & Wilkins Co. 1974. 21~23, 478~669
3. Sneath P H A, Mair N S. et al. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Williams & Wilkins. Baltimore 1986. Vol.2. 999~1418
4. Balow A, Trüper H G, et al. *The Prokaryotes*. 2nd ED. 1991. Vol. I .816~833 & Vol. II . 1421~1769
5. Collins M D, Williams A M, Wallbanks S. *FEMS Microbiol Lett*. 1990. 70: 255~262
6. Dicks L M T, Dellaglio F, Collins M D. *Int J Syst Bacteriol*. 1995. 45: 395~397
7. Junssen P H, Evers S, Rainey F A. et al. *Int J Syst Bacteriol* 1995. 45: 565~571
8. Kawamura Y, Hou X G, Sultane F. et al. *Int J Syst Bacteriol*, 1995. 45: 798~803
9. Collins M D, Samelis J, Metaxopoulos J et al. *J Appl Bacteriol*. 1993. 75: 595~603

第二章 革兰氏阳性无芽孢杆菌

一、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)

(一) 乳杆菌属的特征

细胞形态多样,从长的和细长状到弯曲形及短杆,也常有棒形球杆状,一般形成链。通常不运动,运动者则具有周生鞭毛。无芽孢,革兰氏染色阳性。有些菌株当用革兰氏染色或甲烯蓝染色时显示出两极体,内部有颗粒物或有条纹出现。乳杆菌细胞的相差显微照片见图 2-1。微好氧。在固体培养基上培养时,通常厌氧条件或减少氧压和充有体积分数为 5%~10% CO₂ 可增加其表面生长物,有些菌株在分离时就是厌氧的。发酵代谢。专性地分解糖,终产物中至少一半是乳酸盐。通常不发酵乳酸盐。副产物可能是乙酸、乙醇、CO₂、甲酸盐或琥珀酸盐。不产生多于 2 个碳原子的挥发性酸。极少见硝酸盐还原反应,只有 pH 值最终平衡在 6.0 以上时才能还原硝酸盐。不液化明胶,不分解酪素,但大多数菌株能产生少量的可溶性氮,不产吲哚和 H₂S。接触酶阴性,无细胞色素。极少数菌株以假接触酶分解过氧化物。联苯胺反应阴性。产色素者罕见,如有色素则是黄或橙色到锈红或砖红色。营养要求复杂。需要氨基酸、肽、盐类、脂肪酸或脂肪酸脂类和可发酵的碳水化合物。一般说来,每个种都有特殊的营养要求,有些营养往往仅是某些菌株所要求的。生长温度范围 2~53℃,最适温度是 30~40℃。耐酸,最适 pH 通常为 5.5~6.2,一般在 pH5 或更低的情况下可生长。在中性或初始碱性 pH 条件时,通常会降低其生长速率。

DNA 中 G+C 含量摩尔分数为 32%~53% (mol%) (*Bd*, *T_m*)*。

模式种:德氏乳杆菌 [*Lactobacillus delbrueckii* (*Leichmann*) Beijerinck 1901]

(二) 乳杆菌属的分类

目前已有 56 个种的乳杆菌被描述,1986 年 Kandler 和 Weiss 提出以葡萄糖发酵类型将这些种进一步划分为三个类群,即专性同型发酵群、兼性异型发酵群和专性异型发酵群。Kandler 和 Weiss 提出的三个发酵类群和 1943 年 Orla-Jensen 提出的乳杆菌的三个亚属是相对应的,它们的鉴别特征如下:

- I. 从葡萄糖产生 85% 以上的乳酸 专性同型发酵群或兼性异型发酵群
 - I a. 不发酵戊糖或葡萄糖酸盐 专性同型发酵群
 - I b. 发酵戊糖或葡萄糖酸盐 兼性异型发酵群
 - II. 从葡萄糖产生等量摩尔的乳酸、CO₂、乙酸和/或乙醇 专性异型发酵群
- 乳杆菌种的划分主要根据碳水化合物的发酵,当出现矛盾时应增补以下鉴别特征:①

* *Bd* 为浮力密度测定法。*T_m* 为熔链温度测定法 (或称热变性温度法)。

G 为鸟嘌呤, C 为胞嘧啶。

摩尔百分 (mol%) 是摩尔分数 *x_B* 的非标准化单位,不再使用。由于 DNA 的 G+C 含量摩尔百分数 (mol%) 单位符号是本专业一直使用的,为使读者明确现在书写单位所表达的含量原意,故在本书中的必要处用括号注上此单位符号——作者

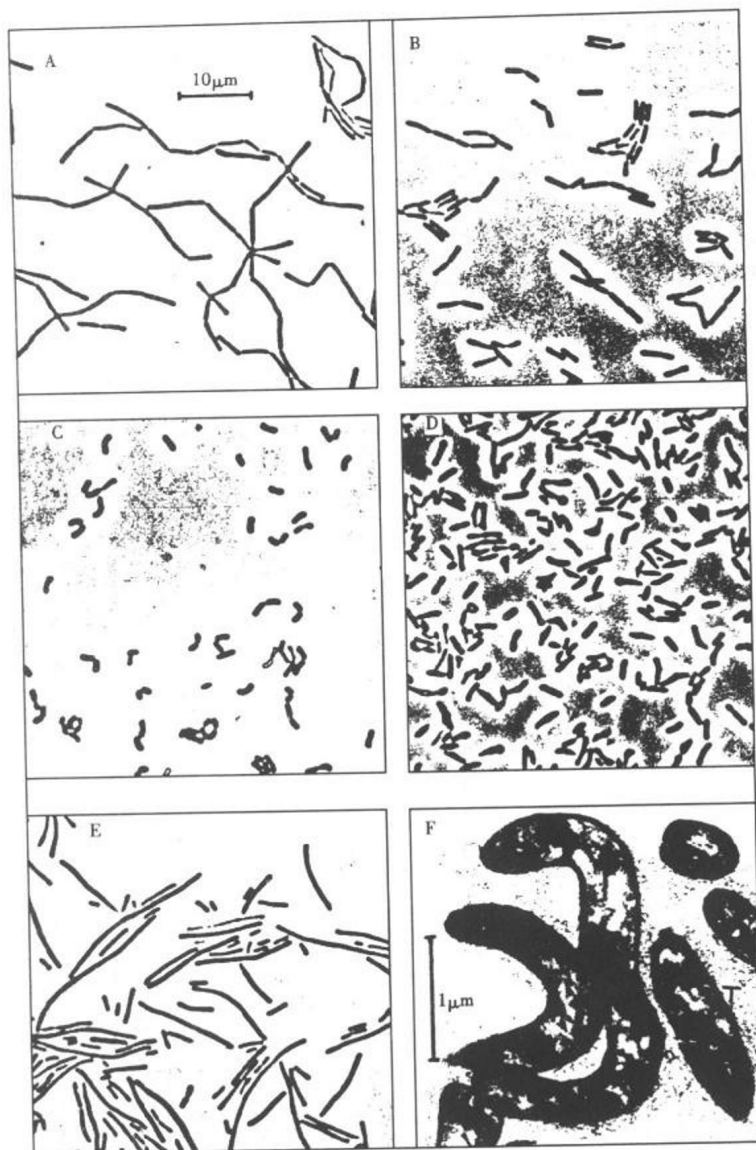


图 2-1 乳杆菌细胞的相差显微照片 (A~E) 和电子显微照片 (F)

A. 格氏乳杆菌 B. 能动乳杆菌 C. 弯曲乳杆菌 D. 微小乳杆菌 E. 发酵乳杆菌 F. 克菲尔粒上呈卷绕形态的乳杆菌的超薄切片 [引自 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol 2. (1986)]

所产乳酸的异构体；②细胞壁中是否存在 *meso*-二氨基庚二酸；③肽聚糖的类型（用于异型发酵群）；④全蛋白电泳图谱；⑤乳酸脱氢酶电泳图谱。乳杆菌三个发酵群的种的生理生化特征列于表 2-1，表 2-2，表 2-3，表 2-4。

尽管 Kandler 和 Weiss 的划分系统很为实用，但 Collins 等在 16S rRNA 序列同源性基础上得出的系统发育树却表明乳杆菌属是个十分异源的菌群，它与片球菌、明串珠菌相互

表 2-1

乳杆菌属内专性同型发酵的种

种 名	苦杏仁苷 ^a	阿拉伯糖	纤维二糖	七叶灵	果糖	半乳糖	葡萄糖	葡萄糖酸盐	乳糖	麦芽糖	甘露醇	甘露糖
德氏乳杆菌德氏亚种 (<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>)	-	-	d	-	+	-	-	-	-	d	-	+
德氏乳杆菌保加利亚亚种 (<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>)	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
德氏乳杆菌乳亚种 (<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>)	+	-	d	+	+	d	+	-	+	+	-	+
嗜酸乳杆菌 (<i>L. acidophilus</i>)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
嗜淀粉乳杆菌 (<i>L. amylophilus</i>)	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+
食淀粉乳杆菌 (<i>L. amylovorus</i>)	+ _w	-	+	+ _w	+	+	+	-	-	+	-	+
鸟乳杆菌鸟亚种 (<i>L. aviarius</i> subsp. <i>aviarius</i>)	d	-	+	ND	ND	d	+	-	d	+	-	+
鸟乳杆菌不解棉籽糖亚种 (<i>L. aviarius</i> subsp. <i>araffinosus</i>)	d	-	d	ND	ND	-	+	-	-	+	-	+
卷曲乳杆菌 (<i>L. crispatus</i>)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
香肠乳杆菌 (<i>L. farciminis</i>)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
鸡乳杆菌 (<i>L. gallinarum</i>)	+	-	+	+	+	+	+	ND	d	+	-	-
格氏乳杆菌 (<i>L. gasseri</i>)	+	-	+	+	+	+	+	-	d	d	-	+
瑞士乳杆菌 (<i>L. helveticus</i>)	-	-	-	-	d	+	+	-	+	d	-	d
詹氏乳杆菌 (<i>L. jensenii</i>)	+	-	+	+	+	+	+	-	-	d	d	+
约氏乳杆菌 (<i>L. johnsonii</i>)	+	-	+	+	+	+	+	ND	d	+	-	-
马乳酒样乳杆菌 (<i>L. kefiranofaciens</i>)	-	-	-	ND	ND	+	+	-	+	+	-	ND
高加索奶粒乳杆菌 (<i>L. kefirgranum</i>)	d	-	d	+	+	+	+	-	+	+	-	+
马里乳杆菌 (<i>L. mali</i>)	+	-	d	+	+	d	+	-	-	-	-	+
面包乳杆菌 (<i>L. panis</i>)	d	+	-	-	+	+	+	d	+	+	-	+
瘤胃乳杆菌 (<i>L. ruminis</i>)	+	-	+	+	+	+	+	-	d	+	-	+
唾液乳杆菌唾液亚种 (<i>L. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>)	-	-	-	d	+	+	+	-	+	+	+	-
唾液乳杆菌水杨素亚种 (<i>L. salivarius</i> subsp. <i>salicinius</i>)	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
夏普乳杆菌 (<i>L. sharpeae</i>)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+

注：a. +, 90%以上的菌株阳性；-, 90%以上的菌株阴性。d. 11%~89%。菌株阳性；+, 阳性及弱阳性反应；
酸的 15%~20%的乳酸构型。c. Lys, 赖氨酸, Asp, 天门冬氨酸, mDAP, 内消旋二氨基庚二酸。

的生理生化特征

松 三 糖	蜜 二 糖	棉 籽 糖	鼠 李 糖	核 糖	水 杨 甘	山 梨 醇	蔗 糖	海 藻 糖	木 糖	从精 氨酸 产 NH ₃	乳 ^b 酸旋 光性	15℃ 生 长	肽聚糖 ^c 类型	G + C / % (摩尔分数)
-	-	-	-	-	-	-	+	d	-	d	D	-	Lys-DAsp	49~51
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-	Lys-DAsp	49~51
-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	d	D	-	Lys-DAsp	49~51
-	d	d	-	-	+	-	+	d	-	-	DL	-	Lys-DAsp	84~37
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ND	L	+	Lys-DAsp	44~46
-	-	-	-	-	+ _w	-	+	+	-	ND	DL	-	Lys-DAsp	40~41
ND	d	+	-	-	+	-	+	+	-	ND	DL	-	Lys-DAsp	34~43
ND	-	-	-	-	d	-	+	+	-	ND	L (D)	-	Lys-DAsp	39-43
-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	DL	-	Lys-DAsp	35~38
-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	L (D)	+	Lys-DAsp	34~36
-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	ND	DL	+	ND	35.9~37.2
-	d	d	-	-	+	-	+	d	-	-	DL	-	Lys-DAsp	33~35
-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	DL	-	Lys-DAsp	38~40
-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	D	-	Lys-DAsp	35~37
-	d	d	-	-	+	-	+	d	-	ND	DL	+	ND	32.7~34.8
-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	ND	D (L)	-	ND	34~35
-	+	d	-	-	d	-	d	d	-	-	DL	W	ND	34.3~38.6
-	-	-	d	-	+	-	+	+	-	-	L	+	mDAP-Direct	32~34
-	+	+	-	+	+	ND	+	-	+	-	DL	-	ND	48.0~48.3
-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	L	-	mDAP-Direct	44~47
-	+	+	d	-	-	-	+	+	-	-	L	-	Lys-DAsp	34~36
-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	L	-	Lys-DAsp	34~36
-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	L	+	mDAP-Direct	53

ND, 未测定。b.D 或 L, 90% 乳酸的旋光型; DL, 总乳酸的 25%~75% 是 L 型; D (L) 或 L (D), 括号内表示总乳

表 2-2

乳杆菌属内兼性异型发酵

种 名	苦杏仁苷	阿拉伯糖	纤维二糖	七叶灵	果糖	半乳糖	葡萄糖	葡糖酸盐	乳糖	麦芽糖	甘露醇	甘露糖
耐酸乳杆菌 (<i>L. acetotolerans</i>)	-	-	d	+	+	+	+	-	ND	ND	+	ND
能动乳杆菌 (<i>L. agilis</i>)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
食品乳杆菌 (<i>L. alimentarius</i>)	ND	d	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
干酪乳杆菌 (<i>L. casei</i>)	+	-	+	+	+	+	+	+	d	+	+	+
棒状乳杆菌棒状亚种 (<i>L. coryniformis</i> subsp. <i>coryniformis</i>)	-	-	-	d	+	+	+	+	d	+	+	+
棒状乳杆菌扭曲亚种 (<i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i>)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
弯曲乳杆菌 (<i>L. curvatus</i>)	-	-	+	+	+	+	+	+	d	+	-	+
草乳杆菌 (<i>L. graminis</i>)	+	-	+	+	+	+	+	-	d	d	-	ND
哈氏乳杆菌 (<i>L. hamsteri</i>)	+		+	ND	ND	+	+	ND	+	+	-	+
同型腐酒乳杆菌 (<i>L. homohiochii</i>)	-	-	d	ND	+	-	+	-	-	+	-	+
肠乳杆菌 (<i>L. intestinalis</i>)	-	-	d	-	+	+	+	ND	d	+	+	+
小鼠乳杆菌 (<i>L. murinus</i>)	d	+	+	+	+	+	+	-	+	+	d	+
戊糖乳杆菌 (<i>L. pentosus</i>)	+	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	+	+
植物乳杆菌 (<i>L. plantarum</i>)	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
鼠李糖乳杆菌 (<i>L. rhamnosus</i>)	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
米酒乳杆菌 (<i>L. sake</i>)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
玉米乳杆菌 (<i>L. zeae</i>)	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

* 符号同表 2-1。