

厌氧菌

李滌生 姚 升 编

3.8

安徽科学技术出版社

厌 氧 菌

李涤生 姚 升 编

安徽科学技术出版社

责任编辑：任弘毅
封面设计：陈乐生

厌氧菌

李涤生 姚 升 编

*

安徽科学技术出版社出版

(合肥市跃进路1号)

安徽省新华书店发行 安徽新华印刷厂印刷

*

开本：787×1092 1/32 印张：6.5 字数：140,000

1983年12月第1版 1983年12月第1次印刷

印数：1—3,800

统一书号：14200·56 定价：0.76元

序

近十年来,对厌氧菌的研究有了很大的发展。在临床方面,厌氧菌感染日趋增多,几乎涉及临床各科。似乎可以说在细菌感染病例中,最常忽略或误诊的是厌氧菌引起的感染,尤其是无芽胞厌氧菌大量存在于人体的腔道,如肠道、口腔、泌尿生殖道等处,与需氧菌共同构成机体的正常菌群,而前者的数量远超过需氧菌。这些原来毒性较弱或不致病的正常菌群,在一定条件下,是导致内源性厌氧菌感染的重要来源。因此,厌氧菌感染的细菌学诊断有非常重要的价值。在应用方面,厌氧细菌学技术也在不断地更新,厌氧罐、气袋系统、厌氧手套箱、转管技术等培养技术已被广泛使用;一些现代常用的鉴定法,微量生化鉴定系统、细菌编码鉴定、抗生素敏感试验、气液相色谱分析等新技术、新方法,已成为当代细菌学鉴定的重要手段,基本上突破了原来的常规培养鉴定法,使厌氧菌检验工作达到一个崭新的阶段。

为了推进临床细菌检验工作的开展,安徽省医学检验学会于1982年、1983年初先后举办了两期临床细菌学讲习班。蚌埠医学院医学检验教研室李涤生主任和安徽省中等卫校微生物校际教研组负责人姚升同志,将他们在讲习班的有关讲稿加以整理,并参考有关专业书籍和文献资料,编写成本书。

这本专著系统阐述了厌氧细菌学的基本理论,重点介绍了厌氧菌检查和鉴定的新技术、新方法,内容新颖,文字简

要，不失为临床细菌工作者的实用参考书。读后，谨向读者推荐。

洪抡元
于蚌埠医学院

目 录

第一章 厌氧菌概论	1
第一节 厌氧菌的定义	2
第二节 厌氧菌的分布和正常菌群	3
第三节 厌氧菌的分类	5
一、生物学分类地位	5
(一)有芽胞厌氧菌	5
(二)无芽胞厌氧菌	8
二、根据细菌耐氧情况的不同分类	13
第四节 氧和氧化作用对厌氧菌的影响	14
一、厌氧菌缺乏细胞色素和细胞色素氧化酶	14
二、厌氧菌缺乏过氧化氢酶和过氧化物酶	15
三、超氧化物歧化酶	15
四、分子氧干扰厌氧菌的繁殖	16
五、氧化还原电势的作用	17
第五节 厌氧菌感染	17
一、厌氧菌感染的原因	17
二、厌氧菌致病的机理	18
三、厌氧菌感染的类型	20
第二章 厌氧菌的培养方法	26
第一节 厌氧罐	26
一、厌氧罐的构造	27
二、抽空换气技术	28
三、氢气的来源	29

四、二氧化碳的供应	30
五、催化剂	32
六、指示剂	33
七、培养基的放置	34
八、厌氧罐培养操作的程序	35
第二节 简易的厌氧罐的应用	36
第三节 气袋厌氧系统	37
一、氢气-二氧化碳发生器	38
二、操作程序	38
第四节 厌氧气袋法	39
第五节 厌氧室和厌氧手套箱	40
第六节 转管技术	41
一、无氧气体的制备	41
二、培养基的制备	41
三、转管划线培养法	42
四、转管稀释培养物的方法	42
第七节 摇和培养	43
一、Veillon氏管法	43
二、普通试管法	44
三、塑料薄膜袋法	44
第八节 液体培养	45
第九节 其他简易厌氧培养法	45
一、平皿焦性没食子酸法	45
二、试管焦性没食子酸法	47
三、铬硫酸法	47
四、Brewer氏平皿法	47
五、需氧菌吸收氧法	47
第十节 培养物的接种	48

一、平板培养基	48
二、半-抗毒素平板	48
三、液体培养基	49
第十一节 还原剂	50
一、硫乙醇酸	50
二、葡萄糖	50
三、抗坏血酸	50
四、半胱氨酸	51
五、金属铁	52
六、肉渣	52
第三章 厌氧菌的分离和鉴定	53
第一节 标本的收集、处理和检查程序	53
一、厌氧菌感染的临床指征	53
二、厌氧菌感染的细菌学指征	54
三、标本的收集	54
四、标本的传送	55
五、厌氧菌的检查程序	57
第二节 形态和染色	59
一、革兰氏染色性	60
二、芽胞	61
三、荚膜	61
四、动力	63
第三节 培养特性	64
一、菌落外观	64
二、在各种培养基上的生长特点	65
第四节 卵磷脂酶和脂酶	72
一、卵磷脂酶的活性	72
二、脂酶的活性	74
第五节 生化特性	75

一、糖发酵试验	75
二、靛基质试验	76
三、硝酸盐还原试验	76
四、硫化氢产生	76
五、在庖肉培养基的生长特点	77
第六节 生化试验培养基和试验方法	77
一、常规发酵试验方法	77
二、血液琼脂平板法	78
三、纸片试验技术	79
四、微量试验技术	79
五、快速发酵试验	79
六、胆汁肉汤生长试验	81
七、检查硫化氢的方法	81
八、靛基质的检查	82
九、硝酸盐还原试验	83
十、触酶试验	83
十一、尿素分解试验	84
十二、明胶液化试验	85
第七节 微量试验系统	85
一、API厌氧系统	85
二、其他微量试验系统	87
第八节 气液相色谱	87
一、原理	88
二、细菌代谢产物酸和乙醇的分析	89
第九节 芽胞试验	94
第十节 抗生素纸片敏感性鉴定试验	94
第十一节 生长抑制剂和刺激剂	96
一、胆汁	96

二、氯化血红素和吐温80	96
三、染料	97
四、萘啶酸	97
五、多茴香脑磺酸钠	97
第十二节 动物接种和保护试验	98
一、毒力试验	99
二、保护性试验	100
第十三节 抗菌素药物敏感试验	100
一、稀释法	101
二、纸片法	103
三、用MIC与抑菌圈大小的相关关系 划分敏感性判定标准	104
四、厌氧菌对抗菌素的敏感性	105
第四章 培养基	107
第一节 培养基附加剂的应用	107
一、葡萄糖	107
二、pH指示剂溶液	107
三、碳酸氢钠	107
四、胆汁	108
五、维生素K和氯化血红素	108
第二节 培养基的制备	109
一、庖肉培养基	109
二、肉膏汤培养基(VL肉汤)	109
三、牛心、牛脑浸液培养基	110
四、硫乙醇酸钠液体培养基	111
五、芽胞梭菌增菌培养基	111
六、牛心、牛脑浸液血液琼脂平板	112
七、肖氏芽胞梭菌血液琼脂培养基	113

八、Moore氏NP血液琼脂培养基	113
九、巧克力琼脂培养基	115
十、联苯胺加热血液琼脂培养基	115
十一、人血清琼脂培养基	116
十二、卵黄琼脂培养基	116
十三、乳糖卵黄牛乳琼脂培养基	116
十四、选择性卵黄培养基	117
十五、牛乳琼脂培养基	117
十六、酪蛋白琼脂培养基	118
十七、明胶琼脂培养基	118
十八、DNA酶琼脂培养基	118
十九、甘油三丁酸脂琼脂培养基	118
二十、浓缩琼脂	118
二十一、Ellner培养基	119
二十二、Duncan和Strong氏培养基	119
二十三、苯乙醇血液琼脂培养基	120
二十四、叠氮钠胆汁血液琼脂培养基	120
二十五、叠氮钠煌绿血液琼脂培养基	121
二十六、新霉素血液琼脂培养基	121
二十七、卡那霉素血液琼脂培养基	122
二十八、卡那霉素和万古霉素血液琼脂培养基	122
二十九、新霉素和万古霉素血液琼脂培养基	122
三十、厌氧血培养瓶的制备	122
 第三节 培养基的选择剂	 123
一、龙胆紫	123
二、叠氮钠	124
三、山梨酸	124
四、苯乙醇	124
五、对甲酚	125

六、抗生素	125
第五章 芽胞梭菌	126
第一节 破伤风芽胞梭菌	126
第二节 肉毒芽胞梭菌	129
第三节 突破芽胞梭菌	134
第四节 诺维氏芽胞梭菌	137
第五节 败血芽胞梭菌	139
第六节 溶组织芽胞梭菌	141
第七节 第三芽胞梭菌	143
第八节 产芽胞芽胞梭菌	143
第九节 双酶芽胞梭菌	145
第十节 索氏芽胞梭菌	146
第十一节 赭诈芽胞梭菌	147
第十二节 其他芽胞梭菌	148
一、匙形芽胞梭菌	148
二、副腐败芽胞梭菌	148
三、缓腐芽胞梭菌	148
四、尸体芽胞梭菌	149
五、楔形芽胞梭菌	150
六、肉芽胞梭菌	150
七、难办芽胞梭菌	151
八、次端极芽胞梭菌	151
第六章 无芽胞厌氧菌	152
第一节 类杆菌属	152
一、脆弱类杆菌	154
二、产黑色素类杆菌	156
三、侵袭类杆菌	160

四、口腔类杆菌	161
五、毛细类杆菌	162
六、甚尖类杆菌	163
第二节 梭杆菌属	163
一、坏死梭杆菌	164
二、核梭杆菌	166
三、变异梭杆菌	167
四、致死梭杆菌	168
第三节 放线菌属和蛛网菌属	169
一、衣氏放线菌	170
二、爱氏放线菌	171
三、龋齿放线菌	172
四、牛型放线菌	173
五、奈氏放线菌	174
第四节 真杆菌属	174
一、迟钝真杆菌	175
二、粘真杆菌	176
第五节 丙酸杆菌属	177
一、痤疮丙酸杆菌	178
二、贪婪丙酸杆菌	179
第六节 双歧杆菌属	180
第七节 厌氧性球菌	181
一、韦荣氏球菌属	182
二、消化球菌属	184
三、消化链球菌属	186
(一) 厌氧消化链球菌	187
(二) 产生消化链球菌	188
(三) 中间消化链球菌	188

参考文献

第一章 厌氧菌概论

早在古希腊时代（公元前460年）破伤风病就引起了人们的注意，这是因为它有极其痛苦的症状和很高的死亡率。不过当时并不知道发病的原因，1861年巴斯德氏(Pasteur)发现了一种杆状的细菌能在没有氧气的环境下生长，并且在有氧的环境下很快死亡，在无氧的环境下能发酵丁酸(butyric acid)，巴氏称这些细菌为厌氧菌(anaerobies)。

1880年以后最早发现了引起感染的厌氧菌是梭状芽胞菌属的破伤风杆菌引起的破伤风；产气荚膜杆菌引起的气性坏疽；肉毒杆菌引起的肉毒中毒。因此，在过去一个相当长的时期，主要是研究芽胞梭菌及其引起的特殊感染，特别是对感染有着重要影响的毒素方面。

近十多年来，由于厌氧菌的分离和培养技术的发展，厌氧菌的检出率逐渐提高(表1-1)，并且培养出许多无芽胞厌氧菌的新种，对于无芽胞厌氧菌的分类、基础研究以及它引起感染的重要性也有新的认识。

表1-1 临床标本用不同厌氧培养法厌氧菌检出率

厌氧培养方法	标本数	检出率%	作者及年份
硫乙醇酸盐培养基	6253	3	Bornstein等 1964
厌氧罐	5294	9	Stokes 1958
改良厌氧瓶	7500	15	Davis等 1973
气袋法	1223	26	Zabransky 1970
用预还原培养基不断用无氧气体充气	10191	35	Martin 1971
用无氧送样管，预还原培养基和厌氧手套箱	700	38	Spaulding等 1974
床边接种，用选择培养基	689	58.5	Holland等 1977

无芽胞厌氧菌分布广，种类繁多，在数量上也都超过芽胞梭菌；厌氧菌是体内正常菌群的组成部分，在有些部位它的数量远远超过需氧菌。厌氧菌所致的感染可遍及临床的各个学科，人体的各个部位、组织和器官都可有厌氧菌感染(表1-2)。腹腔、盆腔、肺、脑等厌氧菌感染率均很高，甚至高达90~100%。据报道，临床各类送检标本中，厌氧菌阳性率占细菌培养阳性标本的60%。但在许多疑似感染的病人中，用常规细菌培养常为阴性，而这些病例可能大多数是厌氧菌感染，结果得不到有效的治疗。因此，为了提高临床感染的诊断和治疗水平，开展厌氧菌的临床细菌检验很有必要。为推动厌氧菌临床细菌检验的开展，我们收集了国内外有关厌氧菌的一些资料，汇编成册，供医学细菌检验工作者参考。

表1-2 厌氧菌感染的百分率

感 染 类 型	%
腹腔内或盆腔脓毒症	60~100
胸膜和肺的感染	30~90
脑 脓 肿	60~89
牙齿感染和慢性鼻炎	50
菌 血 症	10~20
尿 路 感 染	1

第一节 厌氧菌的定义

合理地确定一类细菌的定义，往往需要对该类菌有比较全面和深入的了解。从历史上看，关于厌氧菌的定义曾有过多次不同的提法，这是因为人们对厌氧菌的认识水平不同所致。随着对厌氧菌认识的不断深化，厌氧菌的定义则逐渐完善和

科学，它的概念也比较准确和合理。

巴氏(Pasteur, 1863)最早提出厌氧菌的定义，他发现有些微生物能生存在无氧环境下，称它们为厌氧菌，其特征为：

1. 形态为杆菌。
2. 在缺少氧气情况下发酵丁酸(butyric acid)。
3. 暴露在空气中可被杀死。

斯氏(Smith, 1967)厌氧菌定义：

1. 细菌生长在无氧环境中比在有氧环境中好。
2. 初分离厌氧菌时，培养基的氧化还原电势(Eh)要低。
3. 厌氧菌接触氧气即可死亡。

罗氏(Rosenblatt, 1976)厌氧菌定义：

1. 厌氧菌在缺氧的环境下才能生长繁殖。
2. 在含10% CO₂空气的环境下不能在琼脂平板上生长。

第二节 厌氧菌的分布和正常菌群

厌氧菌分布广泛，土壤、沼泽、湖泊、海洋、河流的沉渣、污水、食物以及人和动物体都有它的存在。正常人的腔道包括肠道、口腔、阴道等处均有大量的厌氧菌寄居，它们与需氧菌一起共同组成人体的正常菌群。此外，人体皮肤、呼吸道、泌尿道也有厌氧菌分布。口腔内的厌氧菌主要包括类杆菌属(产黑色素类杆菌和口腔类杆菌)、梭杆菌属(主要是核梭杆菌)、消化链球菌属以及少数真杆菌属。这些细菌大多存在于口腔内的牙周围。阴道内的厌氧菌比需氧菌多10~100倍，主要有类杆菌属、消化球菌属和消化链球菌属。在胃肠道尤其寄居大肠的厌氧菌比大肠杆菌要多1000~10,000

倍，主要有类杆菌属，其中最常见的是脆弱类杆菌，消化球菌属，消化链球菌属和芽胞梭菌属等。皮肤上占优势的厌氧菌是痤疮丙酸杆菌，在厌氧培养中较常见，通常认为是污染菌。

表1-3 人体正常菌群中的厌氧菌及其与需氧菌的比例

部 位	主 要 厌 氧 菌	厌氧菌：需氧菌
皮 肤	痤疮丙酸杆菌	1~10：1
口 腔	类杆菌、消化链球菌、放线菌、韦荣氏球菌等(但无脆弱类杆菌和芽胞梭菌)	10：1
阴 道	厌氧菌的种类同口腔	10~100：1
大 肠	脆弱类杆菌也有其他所有厌氧菌	1000~10,000：1

在正常情况下，寄居于人体的正常菌群对人无损害，与人体保持平衡状态，而且正常菌群之间也相互制约，维持相对的平衡。但人体与正常菌群之间的平衡状态也是可变的，有条件的。当机体的防御功能减弱时，如皮肤粘膜受伤，受凉，过劳，以及免疫抑制剂的长期使用，改变了宿主和正常菌群之间的平衡状态，那么寄居的正常菌群也可引起疾病。由于寄居部位的改变，厌氧菌从正常寄居部位转移至组织或体腔，从而可导致内源性感染。此外，还由于某种原因破坏了正常菌群内各种微生物种之间的相互制约关系，即所谓菌群失调，也可引起内源性感染。例如，长期使用广谱抗生素，使敏感的菌株被抑制，不敏感的细菌包括厌氧菌则大量繁殖，由此引起病变。

鉴于厌氧菌的分布广，种类和数量多，加上造成机体防御功能减弱的各种因素，造成厌氧菌引起临床各科感染日趋增多，因此临床工作者和细菌检验工作面临的一个重要问题便是厌氧菌感染的病原学诊断，首要解决的是做好厌氧菌的分离和鉴定工作，这对于临床采取合理的治疗措施以及在流