

# 细菌L型与疾病

XIUNLXINGYUJIBING

黄谷良 林特夫 郭秉兰 等编著

学苑出版社

1  
R51  
H52

# 细菌 L 型与疾病

黄谷良 林特夫 郭秉兰 等 编 著

刘秉阳 刘汉明 审 校

学苑出版社

(京) 新登记 151 号

### 细菌 L 型与疾病

---

编著者：黄谷良 林特夫 郭秉兰 等

责任编辑：陈 辉

封面设计：李 戎

出版发行：学苑出版社 邮政编码：100032

社 址：北京市西城区成方街 33 号

印 刷：北京市朝阳区北苑印刷厂

经 销：新华书店北京发行所

开 本：787×1092 1/32

印 张：14 字数：31 0000

印 数：0001-3000

版 次：1991 年 6 月北京第 1 版第 1 次

ISBN7-80060-824-7/R·43

定 价：6.00

---

学苑版图书印、装错误可随时退换。

## 编著人员

(以姓氏笔画为序)

- |     |                                  |
|-----|----------------------------------|
| 马筱玲 | 安徽省临床检验中心 (230001)               |
| 王文凤 | 上海医科大学 (200032)                  |
| 李柏青 | 蚌埠医学院 (233003)                   |
| 李风云 | 蚌埠医学院 (233003)                   |
| 李宁丽 | 安徽医科大学 (230032)                  |
| 李国利 | 北京 309 医院 (100091)               |
| 汤 郡 | 蚌埠医学院 (233003)                   |
| 宋秀宇 | 蚌埠医学院 (233003)                   |
| 庄玉辉 | 北京 309 医院 (100091)               |
| 林特夫 | 蚌埠医学院 (233003)                   |
| 张元和 | 蚌埠医学院 (233003)                   |
| 张世馥 | 蚌埠医学院 (233003)                   |
| 张 宏 | 安徽中医学院 (230038)                  |
| 娄 峥 | 蚌埠医学院 (233003)                   |
| 居 弘 | 蚌埠医学院 (233003)                   |
| 郭秉兰 | 中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所<br>(102206) |
| 倪语星 | 上海第二医学院附属瑞金医院 (200025)           |
| 夏佩莹 | 蚌埠医学院 (233003)                   |

|     |                 |
|-----|-----------------|
| 黄谷良 | 蚌埠医学院 (233003)  |
| 蒋 玫 | 蚌埠医学院 (233003)  |
| 潘立民 | 蚌埠铁路医院 (233000) |

## 序

细菌 L 型是细菌的细胞壁缺陷型。自 1935 年 Klieneberger 首次报道念珠状链杆菌的 L 型后，迄今在几乎所有的细菌以及多种螺旋体和真菌中都发现有 L 型的存在。L 型如此的普遍存在，对人类有否危害性就成为医学界极为关注的问题。经过近几年国内外学者的深入研究，已经证实病原微生物的 L 型仍可保留有一定的毒力，尤易形成一些慢性疾患。这样，随之而来的 L 型的临床诊断和防治问题，也都提上了议事日程。因此，当前 L 型的研究正处于方兴未艾，不断向纵深发展之中。蚌埠医学院的黄谷良和林特夫教授与中国预防医学科学院郭秉兰副教授有鉴于此，及时地领导和组织全国同道编著了这本《细菌 L 型与疾病》专著。

在我国，六十年代时，L 型的研究仅有零星报道。到了八十年代，蚌埠医学院微生物学教研室埋头钻研，在短短的十年期间，赶上了国际先进水平，填补了国内空白。同时，在上述期间，他们先后举办了 9 期全国 L 型进修班，这些学员现都已成为各单位的 L 型研究的骨干力量。去年 10 月在黄山举行的全国 L 型会议中，211 篇学术论文中有 80% 以上是蚌医和进修过单位的成果。L 型无血清培养基的研制成功；El Tor 型霍乱弧菌 L 型的越冬问题；L 型感染的主要病理特征是间质性炎症；L 型垂直感染的可能性；L 型败血症的临床特点；治疗 L 型感染宜将作

用于细胞壁和细胞质的抗生素联合应用；等等都是他们辛勤劳动的结晶，而这些成就都同国际上的新进展一并编写在该专著的三大部分 29 章中。因而，这本专著既全面系统，内容丰富新颖；又理论与实践兼备。这对欲参加 L 型工作的同志，将起到解决燃眉之急、雪中送炭的作用；而对已投身于此工作者来说，更具有锦上添花的催化作用。相信，随着该专著的出版，不久我国的 L 型研究将有一个更大的飞跃！

陆德源

1991 年 3 月 10 日

# 目 录

|          |                                              |
|----------|----------------------------------------------|
| 绪言 ..... | 黄谷良 林特夫 郭秉兰 (1)                              |
| 总论       |                                              |
| 第 一 章    | 细胞壁的结构与功能 ..... 黄谷良 (13)                     |
| 第 二 章    | 细菌 L 型的形态与超微结构<br>..... 黄谷良 (33)             |
| 第 三 章    | 细菌 L 型的诱导 ..... 林特夫 (49)                     |
| 第 四 章    | 细菌 L 型的生物学性状与致病性<br>..... 林特夫 (66)           |
| 第 五 章    | 细菌 L 型对抗生素的敏感性<br>..... 黄谷良 (92)             |
| 第 六 章    | 细菌 L 型的遗传学 ..... 娄 峥 (111)                   |
| 第 七 章    | 细菌 L 型的病理学 ..... 张世馥 (122)                   |
| 第 八 章    | 细菌 L 型与宿主防御机制的相互<br>作用..... 李柏青 (144)        |
| 第 九 章    | 细菌 L 型的免疫学 ..... 倪语星 (157)                   |
| 第 十 章    | 细菌 L 型与支原体 ..... 李宁丽 (169)                   |
| 第 十 一 章  | 细菌 L 型与肿瘤 ... 娄 峥 张世馥 (180)                  |
| 流行病学     |                                              |
| 第 十 二 章  | 三种致病耶尔森氏菌 L 型及其在流行病学上<br>的意义 ..... 郭秉兰 (186) |
| 第 十 三 章  | 霍乱弧菌 L 型 ..... 蒋 玖 (203)                     |
| 第 十 四 章  | 布鲁氏菌 L 型 ..... 郭秉兰 (222)                     |

## 临床感染

|            |                                |         |       |
|------------|--------------------------------|---------|-------|
| 第十五章       | 链球菌 L 型与风湿热 .....              | 居 弘     | (229) |
| 第十六章       | 细菌 L 型的血行感染 .....              | 林特夫     | (240) |
| 第十七章       | 细菌 L 型与泌尿系统感染<br>.....         | 夏佩莹     | (258) |
| 第十八章       | 奈瑟氏菌 L 型 .....                 | 李凤云     | (269) |
| 第十九章       | 伤寒杆菌 L 型 .....                 | 宋秀宇     | (279) |
| 第二十章       | 绿脓杆菌 L 型 .....                 | 蒋 玖     | (293) |
| 第二十一章      | 变形杆菌 L 型 .....                 | 宋秀宇     | (304) |
| 第二十二章      | 厌氧菌 L 型 .....                  | 王文风     | (319) |
| 第二十三章      | 分枝杆菌 L 型 .....                 |         | (331) |
|            | 一、国内研究进展 .....                 | 庄玉辉 李国利 | (331) |
|            | 二、国外研究概况 .....                 | 马筱玲 黄谷良 | (340) |
| 第二十四章      | 诺卡氏菌 L 型 .....                 | 黄谷良 张元和 | (350) |
| 第二十五章      | 真菌 L 型 .....                   | 张元和 张 宏 | (358) |
| 第二十六章      | 螺旋体 L 型 .....                  | 汤 郡     | (370) |
| 第二十七章      | 衣原体、立克次氏体和巴尔通<br>氏体 L 型 .....  | 夏佩莹     | (383) |
| 第二十八章      | 细菌 L 型败血症的临床特点、<br>诊断和治疗 ..... | 潘立民     | (388) |
| 第二十九章      | 细菌 L 型的检查 .....                | 林特夫     | (412) |
| 读书浅淡 (代后记) | .....                          |         | (434) |

# 绪 言

## ——细菌 L 型研究的历史现状与展望

### 一、L 型的发现史

传统认为各种细菌均有其一定的形态，呈球状、杆状或螺旋状。即使形态有所改变，差别也不会太大，但 Almquist 很早注意到细菌的形态是可以改变的，并对此进行研究。Almquist 与 Kock 是同时代的人，他于 1988 年第一次伤寒流行中发现传播的病原菌不是典型的伤寒杆菌，而是一些细小的颗粒。当时提出细菌在食物或水中可以呈无定形，进入机体后又回复成典型杆菌<sup>(1)</sup>。以后有不少人对各种细菌形态的改变进行了研究。

细菌 L 型的名称最早是由 Klieneberger 所提出<sup>(2)</sup>，她于 1935 年从念珠状链杆菌 (*Streptobacillus moniliformis*) 的培养物中发现有一种微小的菌落，当时认为是一种与链杆菌共生的类胸膜肺炎微生物 (Pleuropneumonia-like organism, PPLO)，即目前的所谓支原体，并命名为 L<sub>1</sub> (以她工作的 Lister 研究所第一个字母而定)。后经 Van Rooyen (1936)<sup>(3)</sup>与 Dienes (1939)<sup>(4)</sup>等系统研究后证明 L<sub>1</sub> 是由念珠状链杆菌而来，并可回复成链杆菌，二者不

是共生关系。Dienes<sup>(5)</sup>进一步从其他细菌也分离出 L 型。并证明 L 型在无细胞壁的情况下仍能生长繁殖。这一发现对细菌的形态与生理变异有了新的认识。

1942 年 Pierce<sup>(6)</sup>进一步发现青霉素可诱导念珠状链杆菌变为 L 型。1954 年 SharpPierce<sup>(7)</sup>发现通过增加培养基中的盐分的浓度来提高环境中的渗透压对链球菌 L 型有保护作用,使其能继续繁殖。此外,并发现在培养基中加入动物血清也是细菌 L 型生长的必要条件,以及除青霉素外,溶菌酶、噬菌体、氨基酸与免疫血清等也有诱导细菌 L 型的作用。这为以后细菌 L 型的研究打下了基础。

在我国最早由魏曦、康白 (1962)<sup>(8)</sup>从一例经青霉素治疗后的鼠咬热患者血液中分离出念珠状链杆菌 L 型。李辉 (1963)<sup>(9)</sup>在体外用青霉素诱导并观察了变形杆菌 L 型的形成过程,且用 Feulgen 染色法和吖啶橙荧光染色法研究了 L 型的细胞化学。陆德源、余赟 (1963) 对细菌 L 型工作做了全面综述,并对支原体进行了比较<sup>(10)</sup>。

## 二、L 型的命名<sup>(11)</sup>

L 型的发现至今虽然时间不久,但各学者所提名称不一,容易混淆。Klieneberger 最早将念珠状链杆菌中所得的小菌落称为 L<sub>1</sub>。Dienes 证明此小菌落由链杆菌演变而来,故称为是细菌 L 型 (L-forms)。由于 L 型是细菌细胞壁有不同程度缺陷引起,故 Mattman 等认为称细胞壁缺陷菌 (cell wall-deficient bacteria, CWDB) 比较确切。Madoff 等又称为细胞壁缺陷型 (cell wall-deficient forms, CWDF)。

细菌 L 型在脱离诱导因素，移种到一个新环境中继续培养时，有的 L 型可以回复为原菌。此回复后的细菌称为回复菌 (revertant)。有的 L 型容易回复，有的则不容易或不能回复。所以 L 型根据是否容易回复可分为稳定 L 型 (stable L-form) 与不稳定 L 型 (unstable L-form)。又有人将稳定的称为 L 型而不稳定的称为 L 相 (L-phase)、L 相变种 (L-phase variant) 或过渡型 (transitional form)。L 相另有过一个涵义是认为它是细菌生活史中的一个时相，是自发产生的。Tulasne (1960) 曾称稳定的为 A 型；不稳定的为 B 型。Dienes 与 Weinberger 在研究变形杆菌 L 型时又将稳定的称为 3A 型，不稳定的为 3B 型<sup>(12)</sup>。此后也有一些学者沿用这二个名称。为了便于与 L 型进行对比，将原来未变为 L 型的细菌称为原菌 (original form)、营养型 (vegetative form)、或野生株 (wild strain)。

L 型根据细胞壁缺失的程度不同又有原生质体 (protoplast) 与原生质球 (spheroplast) 之分。原生质球在国内以往亦有人称圆球体。一般认为原生质体完全不能测出有细胞壁，而原生质球则仍保留有某些细胞壁成分。革兰氏阳性菌细胞壁的主要成分为肽聚糖，失去肽聚糖即等于失去全部细胞壁，成为原生质体。革兰氏阴性菌肽聚糖层很薄。失去肽聚糖后，外面还可留有较厚的脂多糖、脂质外膜与脂蛋白，成为原生质球。

原生质体与原生质球二个术语是生物学上原有的，不是专为 L 型而设，所以在应用上有许多看法不完全统一，应当注意。原生质体原是植物细胞学的术语，至 1952 年 Salton 开始用于微生物<sup>(13)</sup>以来，细菌 L 型工作者常将原生质体与完全失去细胞壁的 L 型统一应用，而这一观点却不能为生物学家所接受，因为生物学家认为原生质体是失去细胞壁后已不能在固体培养基上

繁殖也不能回复为原来的细菌,而 L 型却仍具继续繁殖的能力,因此二者并不相同。

Lederberg 等 1958 年曾提出有必要对上述名称进行统一<sup>(14)</sup>。目前知道除细菌外,真菌与螺旋体也可以失去细胞壁变为 L 型,所以 L 型应广义地包括所有有细胞壁微生物的细胞壁缺陷型。本书根据 L 型是否容易回复,分为稳定与不稳定 L 型。根据细胞壁缺失的程度,完全缺失的,不论是革兰氏阳性或是阴性,不论能否生长均称之为原生质体,而细胞壁尚未完全缺失的称之为原生质球。

### 三、L 型研究的进展与意义

L 型的生物学特性与原菌不同。由于 L 型细胞壁有不同程度的缺陷,一般认为革兰氏阳性菌会转阴。但许多研究者还发现 L 型于生长一定时期由于不能及时分裂而核酸大量复制累积,革兰氏阴性菌有时也有可能变为阳性。因此 L 型有形态多形性,染色多变性的特征。菌落的研究发现,除典型的油煎蛋样 L 型菌落外,尚见有颗粒型 (G 型) 和丝状 (F 型) 菌落<sup>(15)</sup>。临床以 G 型为多见。G 型较不稳定,常在转种时逐渐回复,表现为生化反应减弱或发酵迟缓;F 型较为稳定,与油煎蛋样菌落相似,不易从琼脂上刮取。生化改变比较明显。抗原性减弱可见 O 抗原消失,影响鉴定,需要通过免疫荧光或免疫酶标染色或通过热代谢图谱鉴定。L 型在液体中贴管壁生长或呈颗粒状沉于管底。吸取颗粒或将试管横置于镜下观察,均证明有上述三种类型的菌落。临床标本检查时对 L 型生物学性状的认识有助于提高诊断率。细菌进入机体后,受免疫因素的影响,抗菌

药物以及细菌间的相互作用,可使细菌变为 L 型。若不开展 L 型检验,将造成很多病例的漏诊。据 WHO 资料,风湿热患者链球菌检出率仅为 0.3~3%。而 Клодничкая 从 83% 患者中分出链球菌 L 型。感染漏诊的严重性已引起国内外学者的注意。据统计国内 5 所医院 15901 例疑为感染住院患者血、骨髓细菌培养阳性率 < 20%<sup>(16)</sup>。国外报道 13630 份血培养阳性率亦仅 6.9%<sup>(17)</sup>。大量尸检有肾盂肾炎病变的病例中生前漏诊率高达 83.4%<sup>(18)</sup>。漏诊的原因很多。在细菌方面除厌氧菌外,国内大量资料证明与 L 型关系甚大。1990 年第一次全国 L 型学术会议统计的 36 个单位共检查 4858 份各种可对比标本表明,开展 L 型培养,可提高检出率 2~3 倍<sup>(19)</sup>。

药敏试验表明, L 型对作用于细胞壁合成的青霉素类耐药,而对作用于核酸与蛋白质合成的药物较为敏感。由于临床分出的 L 型有不同程度的细胞壁缺陷,且常不稳定,故从许多病例分出的 L 型对作用于细胞壁的先锋霉素仍显敏感。先锋霉素虽也属  $\beta$ -内酰胺抗生素,但它对  $\beta$ -内酰胺酶的作用较青霉素稳定。另有人报道,它也能作用于细胞膜,故临床用先锋霉素大多有效。临床感染时大多主张作用于细胞壁和细胞质的抗生素联合应用,以达到杀菌,并阻止其变为 L 型。国内有的单位采用此法治疗,并加用支持疗法,对婴幼儿 L 型败血症治愈率达 98%<sup>(20)</sup>。

L 型在流行病学上的意义,日益受到重视。El Tor 型霍乱弧菌在体内外存活时间短。了解其如何越冬形成次一年的地方性流行,从而切断传播途径,是当前急待解决的问题。国内目前已证明 El Tor 型霍乱弧菌在人胆汁、鱼胆汁以及肉汤、模拟水等因素的作用下可以变为 L 型,并能以此形式长期存活。在实

验条件下证明它可能以细菌型、抗噬菌体型和不凝集菌型之间发生互变。在流行区监测中已证明水中有 L 型的存在。有的已证明抗噬菌体型可以回复成对噬菌体敏感性。在我们实验室中经人胆汁长期诱导形成的 L 型，通过 8 次家兔肠段结扎试验先后经不凝集型回复成凝集型霍乱弧菌。从鱼胆汁分出 L 型通过动物亦回复成原菌。通过原位杂交证明 L 型仍有 CT 基因。提取 DNA 作酶谱及神经氨酸酶，溶血素基因探针杂交阳性。证明 El Tor 型霍乱弧菌不但可以 L 型形式过冬，且转变为 L 型后，并未失去产毒基因。这对通过回复，造成来年的再次流行有重要意义，L 型与原菌细胞表面的微区图谱检测证明 El Tor 型霍乱弧菌变为 L 型后，细胞膜明显增厚，从理论上证明 El Tor 型霍乱弧菌可以通过 L 型形式耐受恶劣环境而越冬。也提示了细菌变为 L 型可能与产生芽胞一样，为细菌保存种族的一种方式（详见第 13 章）。

鼠疫疫源地长期存在，在动物间的流行可以有或长或短的“间断期”。在此期间，虽经大量细菌学方法调查也常不能发现鼠间有鼠疫，甚至有的国家宣布某地区鼠疫疫源地根除后，又出现有鼠疫的流行。表明鼠疫菌也可以某种形式隐藏下来。国外有些作者在鼠疫疫源地分别从沙土鼠，山地黄鼠，蚤以及野兔的肝、脾、肾等组织分离出鼠疫杆菌的 L 型，并经免疫荧光证实。通过实验诱导与动物分离研究，Дунаев 认为 L 型是鼠疫疫源地长期保存的可能原因<sup>(21)(22)</sup>。对此国内也开始重视。李敬海等用噬菌体、抗体加补体、胆汁等体内外可能存在的因素诱导鼠疫菌形成 L 型<sup>(23)</sup>。郭秉兰于 1987 年将鼠疫强毒株感染豚鼠，48 小时后从鼠内脏出现 L 型，也可回复为原菌。鼠疫菌变为 L 型后毒力可减弱，特异性的 FI 抗原滴度降低。这也可能与

动物慢性感染以及能逃脱机体免疫功能的作用而得以长期存留的一个因素。这种 L 型菌在一定条件下可以回复，丧失的毒性因子可以再现。这在流行病学上也有重要意义。

关于 L 型的致病性，过去有一定争议。但近年来国内外学者均已证明 L 型仍能产生毒性物质，并在各种感染中证实了其作用。如梭状芽胞菌属的 L 型仍能产生外毒素，白喉杆菌 L 型虽因失去所带的前噬菌体而产毒能力消失，但在组织培养中仍可引起细胞病变。内毒素主要为细胞壁的脂多糖成分。细菌变为 L 型后内毒素量减少，但有些这类 L 型菌可在组织中迅速裂解放出内毒素而引起更加明显的 Shwartzman 反应。链球菌 L 型仍能产生 M 蛋白，并能引起实验性风湿性心肌病变。结核菌 L 型仍具有索状因子表现的成束生长现象，这可能与它仍能产生索状因子有关。El Tor 型霍乱弧菌的 L 型仍具有 CT 基因等毒性物质。

关于 L 型的致病特征，我们实验室先后以金黄色葡萄球菌、链球菌、伤寒杆菌、结核杆菌、隐球菌、钩端螺旋体等 L 型菌感染动物均证明感染的主要病理特征为引起心、肝、肾、肺等多种组织间质性炎症，与病毒、支原体等无细胞壁微生物引起的病变相似。这与缺乏肽聚糖不能吸引中性粒细胞和 L 型菌细胞膜具有致分裂原的作用可能有关。结核菌 L 型因缺乏细胞壁中含的大量磷脂，不能刺激巨噬细胞转变为朗罕氏巨细胞从而形成结核结节，但仍能引起干酪样坏死病变，这为病理学诊断提供了新的线索，解释了“无反应性结核”的可能病理原因。此外从临床观察也提出了 L 型败血症的特征，为发热起伏不定；白细胞升高不明显，中性粒细胞有中毒性变化；胸片间质性肺炎可达 87%<sup>(24)</sup>。实验感染证明，钩端螺旋体 L 型可引起豚鼠肝、肺

血管腔狭窄，脊髓前角神经细胞变性，脑、眼葡萄膜、肝、心肌等多脏器均见有膨大的螺旋体与巨大的囊样体。初步证明钩端螺旋体 L 型与眼及神经后发症可能有关。近年来，我院通过组织切片进行 HE、革兰氏及免疫酶染色并配合细菌培养，证明子宫异常出血、慢性子宫内膜炎、原发与继发不孕症等与 L 型感染有关。提出 L 型粘附性强，可能成为胆石核心。在病理学上对某些疾病发病机制的研究开辟了新的途径。

关于 L 型能否通过胎盘垂直感染给胎儿的问题，国外已证明，母羊接种结核杆菌滤液后，从胎羊淋巴系统中可检出典型结核菌。以变形杆菌感染母鼠，并注射抗生素治疗，母鼠可持续有 L 型存在，并能传给小鼠。国内已有单位从母血、脐血、剖腹产时用无菌取出的羊水中，同时检出 L 型。且三者为同一种细菌者达 90%，表明确有垂直感染的存在。L 型的原生小体大小仅  $0.05\sim0.2\mu\text{m}$  与中等大小病毒颗粒相似。病毒通过胎盘影响胎儿的健康屡见不鲜。对孕妇常规进行血液中 L 型的检查并给予及时治疗，将对优生优育可能有一定作用。

#### 四、L 型研究的展望

L 型研究影响到对微生物的传统看法。对微生物的结构与功能、遗传机制、一些疾病的发病机理、诊治及流行病学方面有一定贡献，但尚有许多问题有待深入研究。

1. L 型研究在提高病原的检出率方面已做了不少工作，但国内外临床观察与治疗报道不多，流行病学方面仅限于 El Tor 型霍乱弧菌及鼠疫菌的实验研究，需进一步对现场的疫源追踪与防治进行研究。其它一些人兽感染性疾病与 L 型的关系尚有