

厌氧菌讲座

中华医学会儿龙江分会
一九八四年

随着化学疗法和抗生素的广泛应用，以及滥用免疫抑制剂和激素类药物，致使过去认为一些弱毒菌和非致病菌，在感染中起了主要病原作用。尤其是无芽胞厌氧菌占有相当大比例。由于培养鉴定厌氧菌比较麻烦，要求条件特殊，我国大部分医疗卫生单位尚未开展这项工作。为提高广大细菌学工作者和临床医务人员对厌氧菌感染重要性的认识，合理治疗，降低厌氧菌感染的死亡率，开展我国的厌氧菌技术，开创厌氧菌工作新局面，我会特请徐迪诚等同志，将他们出国进修及专业实践的经验体会编写成《厌氧菌讲座》，作为学习资料，供同道者工作参考。

《厌氧菌讲座》以较大篇幅介绍无芽胞厌氧菌。从国外临床细菌学的进展来看，这类菌在厌氧菌感染中起十分明显的作用。本资料所介绍的厌氧菌技术采用的各种方法，都是从我国医疗卫生单位的实际情况出发，经过检验证明是有效方法。

在编写《厌氧菌讲座》过程中，曾蒙中国人民解放军第四军医大学过祥豹，中国科学院微生物研究所蔡妙英、王政芳，上海市卫生防疫站叶自俊，卫生部长春生物制品研究所王华卿等同志大力协助，在此致以谢意。

由于我们水平有限，加之经验不足，错误在所难免，请同道批评指正。

中华医学会黑龙江分会

一九八四年春

目 录

第一讲	厌氧菌在医学细菌检验上的重要地位	1
	哈尔滨市卫生防疫站 徐迪诚	
第二讲	厌氧菌理论概要	9
	哈尔滨市卫生防疫站 徐迪诚	
第三讲	厌氧菌用培养基	1 7
	哈尔滨市卫生防疫站 徐迪诚	
	卫生部长春生物制品研究所 王华卿	
第四讲	厌氧菌的分类	4 1
	哈尔滨市卫生防疫站 徐迪诚	
	杨著伏	
第五讲	临床常见的厌氧菌感染及厌氧菌	7 1
	哈尔滨市卫生防疫站 徐迪诚	
第六讲	厌氧菌的分离培养法	8 6
	中国人民解放军第四军医大学 过祥豹	
第七讲	小型临床实验室的厌氧菌检查方法	1 0 9
	哈尔滨市卫生防疫站 徐迪诚	
第八讲	厌氧菌性状的试验方法	1 3 9
	哈尔滨市卫生防疫站 徐迪诚	
第九讲	厌氧菌的鉴定——快速生化试验	1 5 2
	中国人民解放军第四军医大学 过祥豹	

第十讲 无芽胞厌氧菌感染与无芽胞厌氧菌 159

哈尔滨市卫生防疫站 徐迪诚

第十一讲 难辨梭状芽胞杆菌引起伪膜性肠炎的检验 179

上海市卫生防疫站 叶自儒

第十二讲 一群重要的临床厌氧菌——拟杆菌 193

中国科学院微生物研究所 蔡妙英

第十三讲 厌氧菌的气——液色谱鉴定 213

中国科学院微生物研究所 王政芳

第十四讲 厌氧菌食物中毒的检验 231

卫生部长春生物制品研究所 王华卿

第十五讲 厌氧菌对抗菌药物的敏感度试验 257

哈尔滨医科大学第一附属医院 赵占春

第十六讲 厌氧菌感染的外科治疗 269

哈尔滨市第五医院 张广诚

第十七讲 厌氧菌传染的病原性及流行病学 277

黑龙江省卫生学校 赵乃昕

第一讲 厌氧菌在医学细菌学检验上的重要地位

厌氧菌是伟大细菌学家巴斯德（1861年）发现的。19世纪末，相继发现了致病性梭菌。医学领域中的厌氧菌，根据有无芽胞，共分为两大类：有芽胞厌氧菌和无芽胞厌氧菌。过去的细菌学文献，对于有芽胞厌氧菌（例如：梭菌属等）记述较多。诸如破伤风、气性坏疽及肉毒中毒等一些古老而又典型的厌氧菌感染，是大家比较熟悉的。自从Veillon一派学者（1897年）由坏死并伴有恶臭的组织中检出无芽胞厌氧菌之后，近十多年来，伴随医学厌氧菌研究工作的进展，尤其是厌氧菌技术的进步和普及，陆续发现许多新菌种，其中最多的是无芽胞厌氧菌。在临床标本中，无芽胞厌氧菌占厌氧菌的绝大部分。它是口腔外科、耳鼻喉科、脑肿瘤、呼吸道感染、腹部手术后感染和妇产科感染的主要病原菌。

厌氧菌在医学细菌检验上的地位，应当从以下五个方面去认识：

一、厌氧菌是人体内正常菌群的主要组成部分

人粪中，大约99%是厌氧菌。口腔唾液中的厌氧菌约占

90%。人体许多部位的无芽胞厌氧菌远比需氧菌为多(图1)。近年的大量研究资料表明,许多内源性感染症都是人体正常菌群的厌氧菌从正常寄居场所转移到组织内引起的。这一事实提示我们,在医学细菌检验工作中,想要从临床标本分离细菌必须检查厌氧菌。

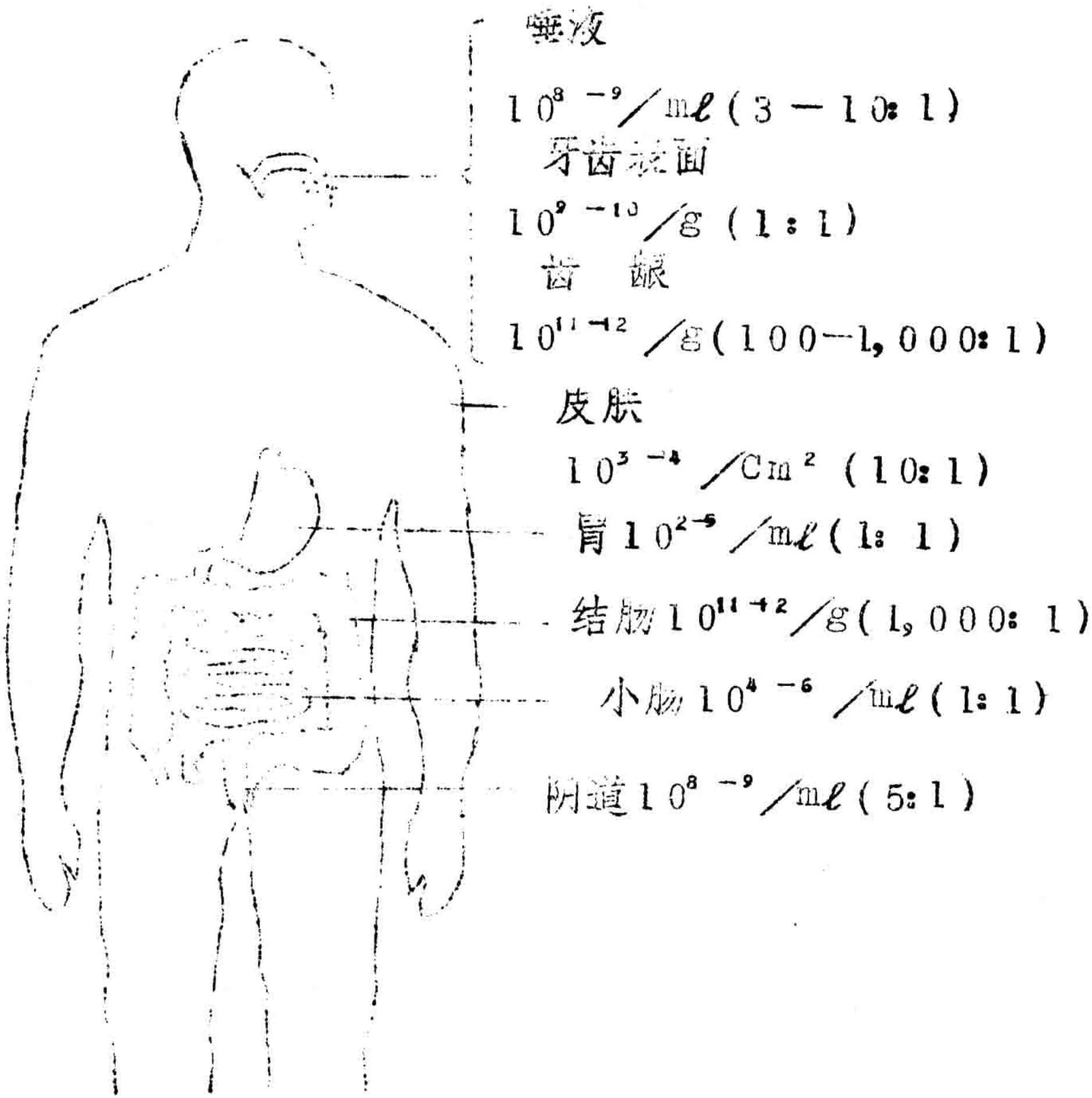


图1 人体各部位的正常菌群和厌氧菌的比例
 ()内为厌氧菌与需氧菌的比例

二、许多临床感染症是由厌氧菌引起的

在临床标本中，厌氧菌检出率约占细菌阳性标本的 $\frac{2}{3}$ 以上。图2表明，人体的许多部位，许多器官和组织均可发生厌氧菌感染。肌肉坏死、腹膜炎及腹壁脓肿、脑肿瘤、肺脓肿及齿龈

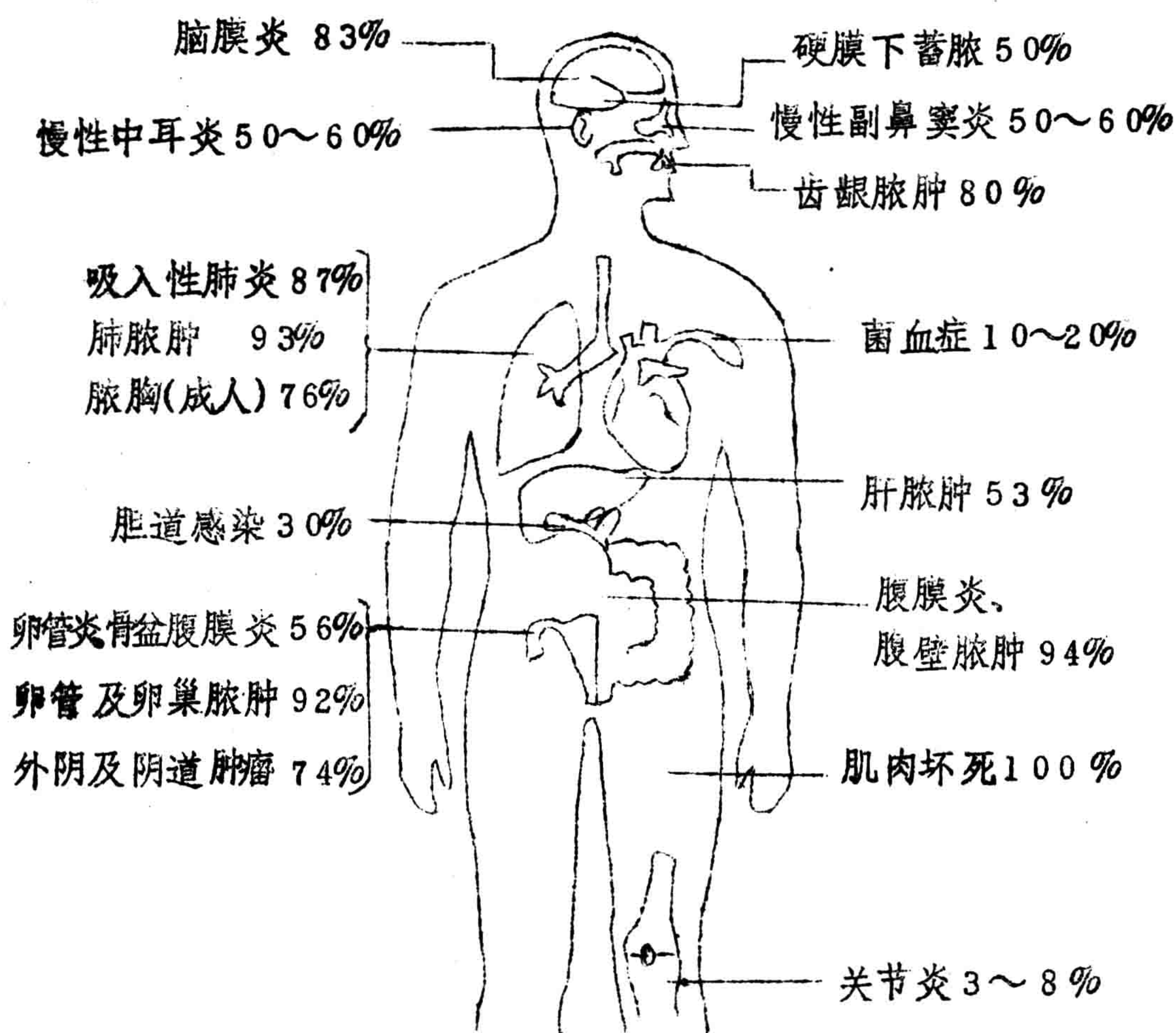


图2 人体各种感染症的厌氧菌检出率

脓肿、输卵管及卵巢脓肿等 80% 以上是厌氧菌引起的。厌氧菌引起的感染症死亡率很高。例如：拟杆菌菌血症死亡率为 29 ~ 31 %。

因此，要对感染症进行病原诊断并提高检出率，应当迅速开展厌氧菌检验工作。

三、在医学领域中，无芽胞厌氧菌的种类 和检出数，近几年已明显增多

国外资料说明，从临床标本检出的厌氧菌，有芽胞厌氧菌只包括 1 个属，检出率占 5 %。其余的大多数为无芽胞厌氧菌（表 1）。

表 1 临床标本检出 1,667 株厌氧菌的种类分析

种	类	检 出 率 (%)
革兰氏阴性无芽胞杆菌		
	类杆菌属 (Bacteroides)	41.8
	梭杆菌属 (Fusobacterium)	4.8
革兰氏阳性无芽胞杆菌		
	丙酸杆菌属 (Propionibacterium)	3.2
	真杆菌属 (Eubacterium)	7.0

厌氧球菌	
革兰氏阳性：消化链球菌属 (<i>Peptostreptococcus</i>)	16.7
消化球菌属 (<i>Peptococcus</i>)	16.7
革兰氏阴性：韦荣氏球菌属 (<i>Veillonella</i>)	4.2
梭状芽胞杆菌属 (<i>Clostridium</i>)	5.0
其 他	0.6

四、厌氧菌对临床常用氨基糖甙类抗生素（链霉素、卡那霉素、庆大霉素和新霉素等）耐药。例如：有的种，脆弱拟杆菌对青霉素和头孢菌素耐药。

这些事实不仅要通过厌氧菌检验去验证，尤其为了降低厌氧菌感染症的死亡率，必须合理实行病原疗法。否则，用药不当，会使治疗无效。为此，必须做病原诊断及耐药试验。这方面的工作需要同厌氧菌检验密切配合。

	缺血、缺氧，使组织中的氧化还原电势降低。 2 大面积外伤伴需氧菌混合感染。 3 拔牙或外科手术，破坏了机体局部屏障结构。
厌氧菌	1 内毒素：拟杆菌产生脂多糖，可抵制中性白细胞吞噬作用。 2 荚膜：注射有荚膜的拟杆菌使动物产生脓肿，并能抵抗健康人血清的杀菌作用。 3 β-内酰胺酶：有的拟杆菌产生此种酶（一种青霉素酶），能降低病灶中的青霉素浓度，保护共生的青霉素敏感菌。
混合感染时细菌之间的协同作用	临床常见多种细菌的混合感染，由于细菌间的协同作用，增加了治疗上的困难。例如：需氧菌消耗环境中的氧，有利于厌氧菌生长。脆弱拟杆菌产生β-内酰胺酶，对青霉素敏感菌起到保护作用。致病性的产黑素拟杆菌与无致病性的类白喉杆菌协同，使粘膜坏死。

由此可见，开展厌氧菌检验是关系到临床感染症的病原学诊断，实行合理化疗，降低感染症死亡率，提高医疗质量的一个亟待解决的重要课题。

徐迪诚

参 考 文 献

〔1〕 上野一恵・渡边邦友：嫌気性菌の病原的意义，最新医学，34(7)，1429 - 1499，1979。

〔2〕 小酒井望・他：临床细菌学の进步，日本武田药品工业株式会社 1981。

〔3〕 S.M.Finegold: Anaerobic bacteria in Human disease, Academic Press, 1977.

〔4〕 Phillips, I& Sussman, M.: "Infection With Non Sporing Anaerobic bacteria", Churchill, Livingstone Edinburgh, P.149, 1974.

第二讲 厌氧菌理论概要

1. 专性厌氧菌

Cowan(1963)认为,专性厌氧菌是空气中不能发育的细菌。Stanier等(1971)认为,是一类受到氧的作用而死亡或者不能发育的细菌。

在医学细菌领域中,专性厌氧菌是指将细菌接种于固体培养基表面,在接触游离氧的空气环境中,绝对不能发育的细菌。除非将这一类细菌培养于密闭容器中,用某种方法将容器中的氧驱除是不能发育的。但是,如果混合培养于半流动培养基中,或者穿刺接种,在空气环境中也能发育。这时,空气中的氧虽然可以逐渐进入培养基,但因培养基内含有琼脂及其他阻碍空气通畅进入的还原剂,使空气在短时间内尚不能到达培养基的深部,因此,细菌仍然可以在培养基表面的下方发育。

2 兼性厌氧菌

不论是否接触游离氧都能发育的细菌,称为兼性厌氧菌。例如:肠道致病菌、葡萄球菌,等等。这一类细菌,如果和半流动琼脂混合培养,细菌从培养基表面到底部都呈现发育。

3. 专性需氧菌

必须和游离氧接触才能发育的细菌，称为专性需氧菌。例如：产硷菌属和不动细菌属。这一类细菌，只能在半流动琼脂培养基的表面发育，但不能在底部发育。

4. 微需氧菌（或称微厌氧菌）

这一类细菌，对于厌氧的要求程度不太严格。例如：弯曲菌，可以在加特殊营养的半流动琼脂培养基表面的直下方发育。

5. 氧化还原电势

因为培养基中的氢分子和氧分子含量不同，即含有氧化和还原能力的物质多少不等，使培养基具有一定的电势，这种电势称为氧化还原电势。

电势的大小，取决于电子得失的难易程度。一种物质的氧化或还原的能力越大，电势越偏向零点的这一边或那一边。物质的氧化能力越高，电势越趋于正；还原的能力越高，电势越趋于负。反应进行的方向决定于其中的自由电子：自由电子的数目增多，产生较多的还原物；自由电子的数目减少，产生较多的氧化物。因此，体系中的电子状态是氧化或者还原能力的指标。

一个体系中的氧化还原电势，用符号 E_h 表示。存在被还原的物质的比例越大， E_h 值越低；存在被氧化的物质的比例越大， E_h 值越高。当氧化物与还原物两者的浓度相等时，值限为零

(E_h)。

测定细菌培养物的氧化还原电势，采用两种方法：(1) 比色法；

(2) 电位法。通常使用电位法，用标准氢电极测知。

E_h 12 以上时，需氧菌能发育。 E_h 10~12 时，微需氧菌能发育。 E_h 7.4 以下时，专性厌氧菌始能发育。

目前采用的各种厌氧菌培养法，没有一种不是从降低 E_h 入手的。

6. 氧阻碍厌氧菌发育的原因

厌氧菌与游离氧接触，为什么不能发育？许多学者提出了一些学说，看法尚未统一。

过氧化物说：

实践表明，梭状芽胞杆菌属中，有的种不能在接触空气 2~3 小时后的血琼脂平板上发育，但韦氏梭菌却能很好地生长。如果将制备的平板，制成后立即保存在厌氧缸中，几天以后也不抑制上述细菌生长。出现这种现象虽然原因不明，但是可以说明，培养基一旦接触空气，可能生成一种有机过氧化物，这种物质对于细菌生长起到抑制作用。

这一学说还主张，将培养基高压灭菌以后就能产生 H_2O_2 。这种物质阻碍了厌氧菌生长。

专性厌氧菌对于外环境的氧和过氧化物十分敏感，但也有些

菌种较为迟钝。所以，在实际工作中，对于外环境的氧敏感的菌种，在采取运送标本和保存分离用培养基时，都应该格外加以注意。

接触酶说：

1923年，由McLeod与Gordon二氏提出。他们主张，细菌一旦与氧接触，在代谢过程中产生 H_2O_2 ，但是，因为需氧菌具有接触酶，可以将 H_2O_2 分解，生成无害的水和氧。然而，厌氧菌缺乏这种酶类，因而受 H_2O_2 的作用而死亡，不能继续进行代谢。可是，有许多种厌氧菌，例如：丙酸杆菌、厌氧性葡萄球菌、拟杆菌和一部分韦荣氏菌等也都具有这种酶类。另外，在需氧菌中，也有些菌种的接触酶是阴性。所以，这个学说不能科学的做出全面解释。

厌氧菌对于氧的感受性谱是比较宽的，也有的菌种，分离时为厌氧，继代后常变为耐氧。Loesche(1969)测定细菌在平板培养基表面发育时需要氧的分压状况，数值见表3。