

肠杆菌科的分 类

何 晓 青

(江西省卫生防疫站,南昌)

肠杆菌科是细菌中的一大类群。它包括动物肠道寄生的致病菌和非致病菌,一些植物的致病菌和腐生型的细菌。这类细菌与人类生活关系密切。例如沙门氏菌属和志贺氏菌属等污染食品后引起人的感染和食物中毒,其他的多数菌属也都有一定的致病力,有的还引起肠道外的感染。此外,还可以利用能发酵乳糖的四个菌属,即所谓“大肠菌群”,作为检查粪便污染的卫生学指标。

自1880年 Eberth 发现伤寒杆菌以来的最初十五年左右,先后发现了肠杆菌科中的大多数属。但由于技术条件限制,当时肠杆菌科的分类学发展缓慢。直到1950年以后,肠杆菌科的分类学才发展起来。生化遗传学和免疫化学的发展,电子显微镜和电子计算机的应用,特别是分子生物学技术的发展,对于阐明这一

类群细菌的亲缘关系,起了非常重要的作用。

肠杆菌科与有关细菌的鉴别

国际肠杆菌科小组委员会1962年提出肠杆菌科的定义是^[1]:“本科细菌由具有周生鞭毛能运动或不能运动、无芽胞的革兰氏阴性杆菌组成。能在普通培养基上生长,还原硝酸盐为亚硝酸盐,氧化酶试验为阴性,分解糖类系由于发酵反应,从而可与其他系由于氧化反应的科相区别”。

根据以上定义,肠杆菌科细菌与其他需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性细菌的区别^[1]可整理如表1。此外,肠杆菌科细菌具有黄酶系统的两种终末呼吸酶——过氧化氢酶和过氧化物酶,同时还具有细胞色素系统的硝酸盐还原酶,但没有细胞色素氧化酶,这也是肠杆菌

表1 革兰氏阴性菌各科的主要特征

	假单胞菌科	黄色杆菌-产碱杆菌类	不动杆菌-摩氏杆菌类	奈瑟氏菌属	嗜血杆菌-巴斯德氏菌类	弧菌科	肠杆菌科*
形态	杆菌	杆菌	杆菌或双球菌	双球菌	杆菌	杆菌或弧菌	杆菌
鞭毛	端毛	周毛	无	无	无	端毛	周毛
动力	运动	运动	不运动	不运动	不运动	运动	运动
糖代谢类型	氧化型、产碱型			发 酵 型			
氧化酶	阳性	阳性或阴性	阳性或阴性	阳性	阳性或阴性	阳性	阴性
在普通培养基上生长情况	生长	生长	生长或不生长	生长或不生长	不生长	生长	生长

* 有的无鞭毛,不运动。

科与其他科细菌相区别的重要标志。

肠杆菌科细菌的生物化学分类

一、糖类的发酵

肠杆菌科中的多数细菌能够分解大多数双糖、单糖和糖醇类;但还有一些细菌只能分解少数几种糖类。这样,在肠杆菌科内便分成了两个不同的类群(见表2)。

早年用于肠杆菌科中各属细菌分类的糖类是不多的。人们在实践中发现用乳糖发酵的特性,可以分离和鉴别大肠杆菌和肠道致病菌——沙门氏菌属和志贺氏菌属。

曾经把那些不发酵或迟缓发酵乳糖,但又不属于沙门氏菌属和志贺氏菌属的细菌称为“副大肠菌”。并

按照它们的不同特性,分别称之为“大肠型副大肠菌”、“产气型副大肠菌”和“中间型副大肠菌”等^[3,4]。后来发现,“副大肠菌”这一名称是不合理的。因为如果从一株称为“大肠型副大肠菌”的细菌中分离出能迅速发酵乳糖的培养物,则要将它归属为“大肠埃希氏菌”。因此,原来归在“副大肠菌属”中的各个种,已分别归并到有关的属中去,这个不合理的分类学名称也就废除了。

二、糖代谢的终末产物

肠杆菌科细菌糖代谢所生成的终末产物有所不同。例如产气杆菌可由两个分子丙酮酸产生一个分子的乙酰甲基甲醇(V-P反应阳性),而且产生的有机酸较少(甲基红反应阴性);大肠杆菌糖代谢产生的甲酸、乙酸和乳酸等有机酸使培养基的pH值下降到4.5以下(甲基红反应阳性)。

表 2 肠杆菌科各属的生物化学特性(一)*

菌 属	葡萄糖	阿拉伯糖	鼠李糖	木糖	麦芽糖	乳糖	蔗糖	棉子糖	甘露醇	山梨醇	卫矛醇	侧金盏花醇	肌醇	水杨苷
艾希氏菌属	+	+	d	+	+	+	d	d	+	+	d	-	-	d
志贺氏菌属	+	d	d	d	d	-	-	d	d	d	d	-	-	-
沙门氏菌属	+	+	+	+	+	d	-	-	+	+	d	-	d	-
枸橼酸杆菌属	+	+	+	+	+	+	d	d	+	+	d	-	-	d
克雷伯氏菌属	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	+	+	+
肠杆菌属	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	-	d	d	d
哈夫尼亚菌属	+	+	+	+	+	-/(+)	-/(+)	-	+	-	-	-	-	d
沙雷氏菌属	+	+	-	+	+	-/(+)	+	d	+	+	-	d	d	+
爱德华氏菌属	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
变形杆菌属	+	-	-	+	d	-	+/(+)	-	-	-	-	-	-	d
摩根氏菌属	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
雷极氏菌属	+	-	d	-	-	-	-/(+)	-	+	-	-	+	+	d
普罗菲登斯菌属	+	-	-	-	-	-	-/(+)	-	-	-	-	d	d	-

* “+”表示 90% 以上阳性;“-”表示 90% 以上阴性;“d”表示 10—90% 阳性;“+/(+)”表示多数阳性,少数迟缓阳性;“-/(+)”表示多数阴性,少数迟缓阳性。

根据 V-P 反应和甲基红反应,可以区分肠杆菌科的属。

三、氨基酸和蛋白质的分解

肠杆菌科细菌分解氨基酸和蛋白质的产物多种多样。例如艾希氏菌属和变形杆菌类中的各属细菌(奇异变形杆菌除外)能分解色氨酸产生靛基质;沙门氏菌属等能产生硫化氢(还原硫代硫酸盐、硫酸盐或亚硫酸盐);沙雷氏菌属和变形杆菌属能液化明胶;变形杆菌属和克雷伯氏菌属能分解尿素等等。这些特性早已用作肠杆菌科细菌分类的指征。后来发现氨基酸脱羧酶试验在分类学中很有价值^[5]。在经过大量试验后还发现,在肠杆菌科中,苯丙氨酸脱氨酶是变形杆菌类所特有的,其他细菌都没有这种酶^[6]。

综上所述,肠杆菌科的实用分类方法是先根据苯丙氨酸脱氨酶试验和 V-P 试验,将本科细菌分为三大类群(族),然后再按生化特性鉴定到属。表 3 是肠杆菌科各属细菌的生化特性,黑框中的几项是鉴定该属所必须的试验。

分子生物学技术的应用

一、DNA 的碱基组成

每种生物 DNA 的碱基组成是固定的。如果以四种碱基的总含量为 100,鸟嘌呤(G)和胞嘧啶(C)含量

所占比例也是一定的。不同种间 G + C 的含量百分比的相似程度,表示种间亲缘关系的远近。

表 4 列出了肠杆菌科各属细菌 DNA 中的 G + C 含量百分比。由表 4 可见,艾希氏菌族各属、克雷伯氏菌族各属和变形杆菌族各属的 G + C 含量百分比分别为 50—54%, 52—59% 和 38—42%,这对三个菌族的划分提供了有力的佐证。但摩根氏菌属的 G + C 含量百分比是 50—53%,与变形杆菌族的其他各属不同。

二、DNA 相关度

亲缘关系相近的各属细菌,其 G + C 含量百分比相同或相近,但 G + C 含量百分比相同或相近的细菌,其亲缘关系不一定相近。这是因为碱基对的排列顺序还不能由 G + C 含量百分比来反映。要比较两种 DNA 中碱基对的排列顺序是否相同和相同的程度,就要测定 DNA 相关度。

在高温下(如 106℃)DNA 双链会自动解离成单链,冷至 60—75℃ 时解离的单链又会重新结合形成双链。来自两株细菌的 DNA 单链在一定条件下也会结合成双链,但随两株细菌亲缘关系的远近,结合程度有多有少。以同种菌的 DNA 结合程度(Binding%)为 100,测定不同细菌 DNA 的结合程度,即称为它们的 DNA 相关度。

表 3 肠杆菌科各属的生化特性*(二)

菌 属	苯丙氨酸脱氨酶	V P	脲基质	硫化氢	枸橼酸铵	明胶	pH7.0 尿素	氰化钾	动力	补 充 试 验					
										葡萄糖铵	醋酸钠	赖氨酸	鸟氨酸	山梨醇	棉子糖
艾希氏菌属	-	-	+	-	-	-	-	-	+/-	+	+	+			
志贺氏菌属	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
沙门氏菌属	-	-	-	+	+	-/+	-	-	+			+			
枸橼酸杆菌属	-	-	-	+	+	-	+	+	+			-			
爱德华氏菌属	-	-	+	+	-	-	-	-	+						
克雷伯氏菌属	-	+	-	-	+	-	+	+	-					+	+
肠杆菌属	-	+	-	-	+	(+)	+	+	+					+	+
哈夫尼亚菌属	-	+	-	-	-	-	-	+	+					-	-
沙雷氏菌属	-	+	-	-	+	+	+	+	+						
变形杆菌属	+	-/+	+/-	+	-/+	+	+	+	+						
摩根氏菌属	+	-	+	-	-	-	+	+	+				+		
雷极氏菌属	+	-	+	-	+	-	+	+	+				-		
普罗菲登斯菌属	+	-	+	-	+	-	-	+	+				-		

*“+”表示阳性；“-”表示阴性；“(+)”表示迟缓阳性；“+/-”表示阳性或阴性；“-/+”表示阴性或阳性。

表 4 肠杆菌科各属 DNA 中的 G+C 含量百分比

菌 属	G+C 含量百分比	引 用 的 文 献		
		[2]	[7]	[8]
变形杆菌属(普通和奇异)	38—41	39.3±1.4	36.5—40.5	38—40
雷极氏菌属	38—41	39.0±1.5		38—40
普罗菲登斯菌属	40—42	41.5±0.6		40—42
耶尔辛氏菌属	46—48	45.8—46.8		46—48
摩根氏菌属	50—53	50.0±0.7	53.0	50—52
艾希氏菌属	50—54	50—51	49.8—53.6	50—52
志贺氏菌属	50—54		49.2—53.4	50—52
沙门氏菌属	50—54	50—53	49.9—51.1	50—52
亚利桑那菌属	50—52			50—52
枸橼酸杆菌属	50—52			50—52
克雷伯氏菌属	52—59	52—56	55.2—58.9	52—56
肠杆菌属	52—59	52—59		52—56
哈夫尼亚菌属	52—57	52—57		
沙雷氏菌属	50—59	53—59	58—59.2	50—52
欧文氏菌属	50—58	50—58	54.0	50—54

图 1 归纳了肠杆菌科各属 DNA 相关度的测定结果,可以看出各属细菌在系统发育中的地位,也为肠杆菌科的自然分类提供了科学依据。

三、酶的免疫学试验

利用免疫学方法,测定细菌所含的酶与系统发育的关系,是分类学中又一新的途径。Cocks 等^[13]曾提

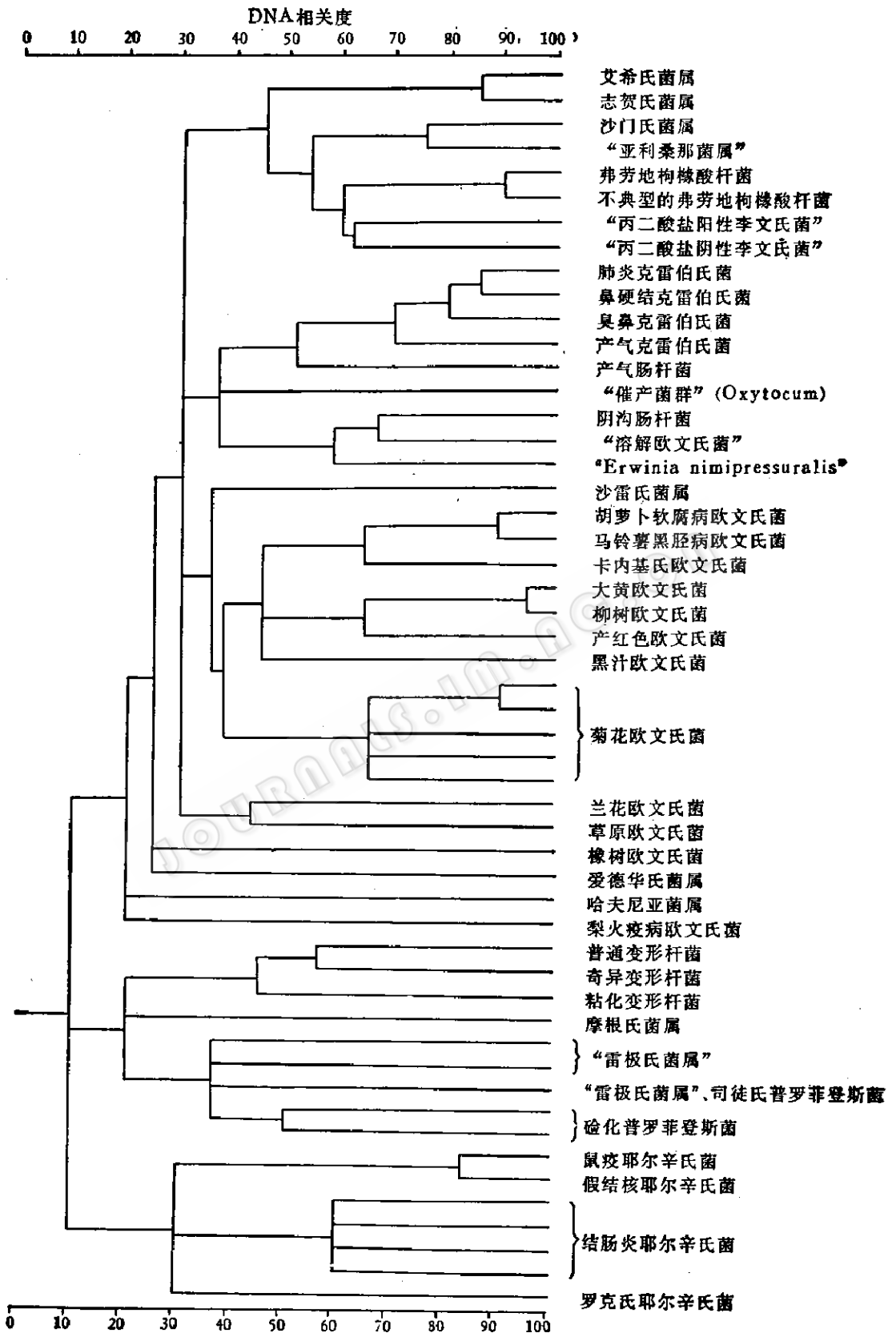


图1 肠杆菌种各菌属或菌株间的 DNA 相关度

取了一些细菌的碱性磷酸酶,用它们制得免疫血清,然后用双相免疫扩散和微量补体结合试验测定它们在免疫学方面的关系,结果发现艾希氏菌属、克雷伯氏菌属与枸橼酸杆菌属的关系密切,而沙雷氏菌属、变形杆菌属与欧文氏菌属的关系较疏远,液化肠杆菌与克雷伯氏菌属的关系疏远,却与沙雷氏菌属相近。Steffen等^[24]认为碱性磷酸酶可以作为细菌染色体相关度的一个粗略指标,它的免疫学特性应该是一个分种的指征。

在分类学上还利用了一些其他酶类的免疫学特性。如艾希氏菌属的β-半乳糖苷酶与宋内氏志贺氏菌及克雷伯氏菌的关系密切,而与肠杆菌科以外的细菌无关或关系很小。其他如精氨酸脱羧酶、蛋白质合成过程中的G酶和T酶、色氨酸合成酶的α亚基、尿素酶等的免疫学特征也可作为分类学的指征,表示各种细菌在系统发育中的亲缘关系。

四、核糖体蛋白质的组成

近年来有人通过菌体内核糖体蛋白质的组成分析来探讨肠杆菌科中某些属的亲缘关系。如Hori^[25]的结果(图2)表明,产气肠杆菌与克雷伯氏菌的关系较密切,而与阴沟肠杆菌较疏远。这个结果与DNA相关度及碱性磷酸酶的免疫学试验基本相符,同时也指出

按照动力来区分克雷伯氏菌属和肠杆菌属是不合理的。

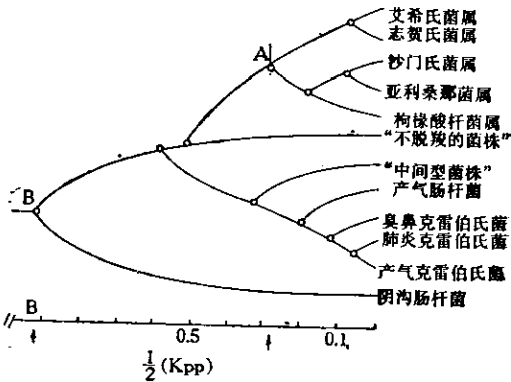


图2 肠杆菌科核糖体蛋白质的进化

- A. 大肠艾希氏菌与鼠伤寒沙门氏菌的分化时间 $\geq (3.7 \pm 2.6) \times 10^7$ 年;
- B. 大肠艾希氏菌与阴沟肠杆菌的分化时间 $\geq (5.4 \pm 3.2) \times 10^7$ 年。

肠杆菌科的分类法

关于肠杆菌科的分类,目前主要有三种不同的方案,见表5。在1962年国际肠杆菌科小组委员会会议

表5 肠杆菌科 的 分 类

Kauffmann 1966 ^[26]	Edwards 和 Ewing 1972 ^[27]	Bergeys 氏鉴定细菌学手册 (第八版) 1974 ^[28]
艾希氏菌族 (Eschericheae) 艾希氏菌属 (<i>Escherichia</i>) 志贺氏菌属 (<i>Shigella</i>) 沙门氏菌属 (<i>Salmonella</i>) 枸橼酸杆菌属(<i>Citrobacter</i>) 克雷伯氏菌族 (Klebsielleae) 克雷伯氏菌属 <i>Klebsiella</i> 肠杆菌属 (<i>Enterobacter</i>) 哈夫尼亚菌属 (<i>Hafnia</i>) 沙雷铁氏菌属 (<i>Serratia</i>) 变形杆菌族 (Proteae) 变形杆菌属 (<i>Proteus</i>) 摩根氏菌属 (<i>Morganella</i>) 雷极氏菌属 (<i>Retziella</i>) 普罗菲登斯菌属 (<i>Providencia</i>)	艾希氏菌族 艾希氏菌属 志贺氏菌属 沙门氏菌族 (<i>Salmonelleae</i>) 沙门氏菌属 亚利桑那菌属 (<i>Arizona</i>) 枸橼酸杆菌属 爱德华氏菌族 (<i>Edwardsielleae</i>) 爱德华氏菌属 (<i>Edwardsiella</i>) 克雷伯氏菌族 克雷伯氏菌属 肠杆菌属 沙雷铁氏菌属 果胶杆菌属 (<i>Pectinobacterium</i>) 变形杆菌族 变形杆菌属 普罗菲登斯菌属	艾希氏菌族 艾希氏菌属 志贺氏菌属 沙门氏菌属 枸橼酸杆菌属 爱德华氏菌属 克雷伯氏菌族 克雷伯氏菌属 肠杆菌属 哈夫尼亚菌属 沙雷铁氏菌属 欧文氏菌族 (<i>Erwinieae</i>) 欧文氏菌属 (<i>Erwinia</i>) 耶尔辛氏菌族 (<i>Yersinieae</i>) 耶尔辛氏菌属 (<i>Yersinia</i>) 变形杆菌族 变形杆菌属

上, Kauffmann 和 Edwards、Ewing 分别提出了肠杆菌科的分类方案^[1]。会上 Kauffmann 提出了将亚利桑那菌属与沙门氏菌属合并的观点,在以后的著述中,他反复强调了这个观点。这一观点得到国际沙门氏菌中心(巴黎)的支持,而且现在已经被 Bergeys 鉴定细菌学手册(第八版)所接受。Ewing 于 1972 年提出了把哈夫尼亚菌属合并于肠杆菌属的观点^[17],但是从 DNA 相关度测定和数值分类^[28,29]的数据来看,都是不适宜的。关于变形杆菌的分类, Kauffmann 与 Ewing 的观点也有分歧。从 DNA 碱基组成和其他有关资料看来,摩根氏菌不宜置于变形杆菌属内;而雷极氏菌如果放在变形杆菌属内,不如放在普罗非登斯菌属内更为合理。现在有一些资料^[29-31]说明雷极氏菌与普罗非登斯菌属之间的关系密切,甚至常在同一份临床标本中同时分离出这两种细菌,故有可能视作一个单一的属——普罗非登斯菌属,而把碱化、司徒氏菌和雷极氏菌作为本属的三个种(或亚属)。最近, Brenner 等从 DNA 相关度试验所得的数据^[22],有力地支持这种分析,并就雷极氏菌并入普罗非登斯菌属作出了正式的建议。

综上所述,我们认为 Kauffmann 提议的三个族的划分迄今仍是较为令人满意的。此外,根据 DNA 同源性试验结果和有关生化资料,还可以在这个基础上,将爱德华氏菌族和伯吉氏鉴定细菌学手册(第八版)中的欧文氏菌族和耶尔辛氏菌族作为三个独立的菌族而加入到肠杆菌科的分类中去,并把雷极氏菌属并入普罗非登斯菌属。这样,肠杆菌科应有 6 个族,14 个属。

人类的认识永远不会停止在一个水平上,必将要继续深化。肠杆菌科的分类也必将逐步地完善。

参 考 文 献

- [1] Report of the Subcommittee on Taxonomy of the Enterobacteriaceae (1962), *Int. Bull. Bacteriol. Nomen. Taxon.*, 13: 69—93, 1963.
- [2] Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons (ed.): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., pp. 217—449, 1974.
- [3] Breed, R. S., E. G. D. Murray and A. P. Hitchens (ed.): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 6th ed., pp. 443—544, 1948.
- [4] Breed, R. S., E. G. D. Murray and M. R. Smith (ed.): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th ed., pp. 332—393, 1957.
- [5] Ewing, W. H., B. Davis and P. R. Edwards: *Pub. Health Lab.*, 18: 77, 1960.
- [6] Henriksen, S. D.: *J. Bacteriol.*, 60: 225—231, 1950.
- [7] Chandra, P. and W. Appel: *Methoden der Molekularbiologie*, 1973.
- 李申德译,分子生物学方法,科学出版社,1977,300—301页。
- [8] Marmur, J., S. Falkow and M. Mandel: *Annual Review of Microbiology*, 17: 329, 1963.
- [9] Brenner, D. J., G. R. Fanning, F. J. Skerman and S. Falkows: *J. Bacteriol.*, 109: 953—965, 1972.
- [10] Brenner, D. J., G. R. Fanning, G. V. Miklos and A. G. Steigerwalt: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 23: 1—7, 1973.
- [11] Brenner, D. J., A. G. Steigerwalt, G. V. Miklos and G. R. Fanning: *ibid.*, 23: 205—216, 1973.
- [12] Brenner, D. J.: *ibid.*, 23: 298—307, 1973.
- [13] Brenner, D. J., G. R. Fanning and A. G. Steigerwalt: *ibid.*, 24: 186—190, 1974.
- [14] Brenner, D. J., G. R. Fanning and A. G. Steigerwalt: *ibid.*, 24: 197—204, 1974.
- [15] Jain, K., K. Radsak and W. Mannheim: *ibid.*, 24: 402—407, 1974.
- [16] Colwell, R. R., R. Johnson, L. Wan, T. E. Lovelace and D. J. Brenner: *ibid.*, 24: 422—433, 1974.
- [17] Moore, R. L. and R. R. Brubaker: *ibid.*, 25: 336—339, 1975.
- [18] Sakazaki, R., K. Tamura, R. Johnson and R. R. Colwell: *ibid.*, 26: 158—179, 1976.
- [19] Brenner, D. J., A. G. Steigerwalt, D. P. Falcao, R. E. Weaver and G. R. Fanning: *ibid.*, 26: 180—194, 1976.
- [20] Brenner, D. J., G. R. Fanning and A. G. Steigerwalt: *ibid.*, 27: 211—221, 1977.
- [21] Ewing, W. H., A. J. Ross, D. J. Brenner and G. R. Fanning: *ibid.*, 28: 37—44, 1978.
- [22] Brenner, D. J., J. J. Farmer, G. R. Fanning, A. G. Steigerwalt, P. Klyken, H. G. Wathen, F. W. Hickman and W. H. Ewing: *ibid.*, 28: 269—282, 1978.
- [23] Cocks, G. T. and A. C. Wilson: *J. Bacteriol.*, 110: 793—802, 1972.
- [24] Steffen, D. L., G. T. Cocks and A. C. Wilson: *ibid.*, 110: 803—808, 1972.
- [25] Hori, H. and S. Osawa: *ibid.*, 133: 1089—1095, 1978.
- [26] Kauffmann, F.: *Bacteriology of Enterobacteriaceae*, 1966.
- [27] Edwards, P. R. and W. H. Ewing: *Identification of Enterobacteriaceae*, 3rd ed., 1972.
- [28] Sakazaki, R., T. Tamura, R. Johnson and R. R. Colwell: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 26: 158—179, 1976.
- [29] Johnson, R., R. R. Colwell, R. Sakazaki and T. Tamura: *ibid.*, 25: 12—37, 1975.
- [30] Ursing, J.: *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 82B: 527—532, 1974.
- [31] Penner, J. L., N. A. Hinton, G. R. Whiteley and J. N. Hennessy: *J. Infect. Dis.*, 134: 370—376, 1976.