

青少年牙周炎的致病菌——二氧化碳噬纤维菌

熊德鑫

(江西省科学院微生物研究所)

肖晓蓉

(华西医科大学口腔医学研究所)

青少年牙周炎的致病菌之一,是近 10 年来发现的一个新菌属——二氧化碳噬纤维菌属 (*Capnocytophaga*), 从牙龈的病变处常被分离到^[1,2]。1976 年以前将其归入不能分类的拟杆菌属 (*Bacteroides*) 中^[3]。近年根据 DNA 中 G+C 的百分比和 DNA 同源型测定,以及生理生化等性状的研究,已将其列为二氧化碳噬纤维菌属^[4]。本文对该菌的形态特征和培养特性、致病性、血清学等进行论述。

(一) 菌的培养特性和形态特征^[5,6]

二氧化碳噬纤维菌是厌氧菌(或微需氧菌),在含 80% N₂、10% H₂ 和 10% CO₂ 环境中生长良好,能形成典型的滑动性菌落。培养温度为 30—35℃,而在 25 和 45℃ 中不能生长。

此菌在 TSA 血琼脂*平板上形成薄而扁平的、具滑动性的菌落,呈灰白、白色或粉红和黄色,边缘不整齐。菌落由接种点或细胞附着点向四周扩散生长,其影响因素有血琼脂类型、浓度配制和培养条件等。如琼脂浓度为 3% 可加速扩散生长,达最大的扩散度(为几厘米)。也有些种的菌株不扩散生长,而是牢固地粘附在琼脂上。一般不见典型溶血,或延长时间轻微溶血。

该菌革兰氏染色阴性,多为长杆菌,也有短杆菌、球杆菌形态,并因培养条件而改变。在暗视野下,可见细胞具滑动性。在相差显微镜下可见细胞一端为梭形,另一端钝圆。细胞大的为 4.8—5.8 × 0.42—0.6 μm,小的为 2.4—4.2 × 3.8—0.5 μm。细胞外膜的外周有一电密度高区,可能与菌毛存在有关。超薄切片观察证明,

它与其它革兰氏阴性细菌的胞壁结构基本相似,也有三层结构。内外层间的双痕迹膜,宽约 6.6—7.4 μm,围绕肽聚糖层宽约 3.3 μm。

(二) 菌的致病性

目前对二氧化碳噬纤维菌使青少年牙龈致病有几种说法。有人认为,它是青少年牙周炎的主要致病菌之一。该菌可促使多核白细胞释放溶菌酶,其超声波提取物或培养物的上清液可抑制白细胞的游走性,造成白细胞形态和功能异常^[7]。如生痰二氧化碳噬纤维菌 (*C. Spu-tigena*) 可导致白细胞损害,使其形态和功能发生异常,抑制此菌则异常情况消失。该菌的内毒素可抑制人纤维母细胞增殖。该菌的胞壁脂多糖 (LPS) 具有免疫原性,牙周炎患者对其有细胞免疫反应^[8]。该菌与齿垢密螺旋体 (*Treponema denticola*) 有转送非解糖拟杆菌 (*Bacteroides asaccharolyticus*) 及其它拟杆菌、具核梭杆菌 (*Fusobacterium nucleatum*)、小韦荣氏球菌 (*Veillonella parvula*) 和缓症链球菌 (*Streptococcus mitis*) 等的作用,把这些菌转送到病灶区。还有报告指出:使用二氧化碳噬纤维菌进行无菌鼠的牙龈感染,可造成牙龈破坏,且病灶区白细胞浸润少。该菌在青少年牙周炎的标本中检出率相当高,故认为是青少年牙周炎重要的致病菌之一^[9]。也有报告说该菌从健康龈沟处分离率相当高,故认为二氧化碳噬纤维菌可能是口腔菌群之一^[10]。

(三) 分类和鉴别

* TSA 血琼脂即 Trypticase soy agar

表 1 二氧化碳噬纤维菌三个菌种的大小、致病性等差异

项 目	黄褐二氧化碳噬纤维菌 (<i>C. ochracea</i>)	牙龈二氧化碳噬纤维菌 (<i>C. gingivalis</i>)	生痰二氧化碳噬纤维菌 (<i>C. spulligena</i>)
菌体大小 (μm)	0.38—0.45× 2.5—4.2	0.38—0.45× 2.5—4.2	0.4—0.5× 3.2—4.2
DNA 中 G+C (mol.%)	35—40	35—41	33—38
动物齿槽骨吸收	中等	无	强
感染后白细胞游走性低下	无或不详	无或不详	有
附着细胞能力	无	无	有
型特异性抗原	无	无	有
损害纤维母细胞能力	无	无	有
致白细胞形态和功能损害	合并糖尿病者有	无或不详	有

根据 DNA 同源型测定^[11],该菌属包括三个种即黄褐二氧化碳噬纤维菌、生痰二氧化碳噬纤维菌和牙龈二氧化碳噬纤维菌。它们在菌体大小和致病性上有差别(见表 1)^[4,7,11]。

二氧化碳噬纤维菌三个菌种的生化特性有鉴别意义^[4](见表 2)。

该菌代谢产物的气相色谱分析结果主要是琥珀酸和乙酸,此结果在菌属的鉴别中有参考价值。

(四) 血清学研究

Steven 等^[8]报告,被研究的 26 株二氧化碳噬纤维菌株全部具有群特异性抗原,其中 3 株还检出型特异性抗原。用亲和层析柱分纯的群特异性抗原对胰蛋白酶、十二烷基磺酸盐敏感,不耐热,主要成份是蛋白质(55%)。型特异性抗原由免疫电泳法制备,能耐热、抵抗胰蛋白酶和十二烷基磺酸盐,基本上由碳水化合物构成(47% 阳性苯磺酸物质、8% 氨基糖)。凝集抗体和荧光抗体资料表明,群和型特异性抗原属于细胞表面抗原。奥田氏等^[7]报告:青少年牙周炎患者对二氧化碳噬纤维菌和中间型拟杆菌(*B. intermedius*) 体液性免疫应答反应时,未见抗体上升,也未发现二氧化碳噬纤维菌的共同

表 2 二氧化碳噬纤维菌三个菌种主要的生化性状

生化性状	黄褐二氧化碳噬纤维菌	生痰二氧化碳噬纤维菌	牙龈二氧化碳噬纤维菌
产酸: 葡萄糖	100*	100	100
果糖	89	50	12
半乳糖	83	0**	0
苦杏仁苷	90	25	0
水杨苷	11	0	0
纤维二糖	45	0	0
海藻糖	9	0	0
阿拉伯糖	4	0	0
鼠李糖	15	0	0
七叶苷	67	0	0
松三糖	0	0	0
棉子糖	70	17	24
葡聚糖	92	60	8
糖原	71	0	0
淀粉	96	60	9
乳糖	92	10	8
水解: 淀粉	70	0	0
七叶苷	96	83	75
葡聚糖	96	17	4
明胶液化	14	60	17
石蕊牛奶产酸	90	60	10
石蕊牛奶还原	100	60	10
产氨	38	20	73
硝酸盐还原	8	83	4
亚硝酸盐还原	57	40	60
脲酶	14	0	12
赖氨酸脱羧酶	5	0	9
异缬氨酸盐形成	4	33	0
受试菌株数	27***	6	25

注: * 为阳性反应的菌株的百分率
** 为全部阴性反应
*** 用于试验的菌株数

抗原。Muracyama 等^[12]使用十二烷基磺酸钠(SDS)从二氧化碳噬纤维菌的菌体中抽提出的肽聚糖和丁醇,以及用苯酚抽提出的胞壁多糖,也就是内毒素等菌体表面物质,具有提高细胞免疫和体液免疫的佐剂活性,和使豚鼠腹腔吞噬细胞的机能亢进,以及显示出有活化血清中各种补体等调节免疫机能的作用。还有报告指出^[3],局限性牙周炎患者对二氧化碳噬纤维菌的细胞免疫反应增强。

由此可见目前对二氧化碳噬纤维菌的血清学研究仍很不充分,有待深入。

(五) 属的鉴别

表 3 二氧化碳噬纤维菌属与一些革兰氏阴性菌属的鉴别

特 征	二氧化碳噬纤维菌属	噬纤维菌属和屈挠杆菌属	梭杆菌属	纤杆菌属	拟杆菌属 ^b
扁平、边缘不整齐扩散生长菌落	+	+	-	-	-
空气中生长	-	+	-	-	-
在含 CO ₂ 空气中生长	+(发酵)	+(呼吸)	-	-	-
厌氧生长	+	a	+	+	+
含铁血红素(联苯胺+)	+	+	-	-	-
过氧化氢酶	-	+	-	-	-
氧化酶	-	+	-	-	-
终末代谢产物琥珀酸(S)	+	+	-	-	+
乙酸(A)	+	+	+	-	+
乳酸(L)	-	+	-	+	+
丙酸(P)	-	+	+	-	+
丁酸(B)	-	+	+	-	-
对放线菌素D敏感性	大多数+	大多数+	-	-	-

注: a. 大多数典型菌株是严格需氧, 少数菌株为兼性厌氧。b. 除黄褐拟杆菌和产琥珀酸拟杆菌外。+: 表示阳性, -: 表示阴性。

二氧化碳噬纤维菌属与梭杆菌属(*Fusobacterium*) 虽然都是革兰氏阴性无芽胞厌氧杆菌, 但是从生物学特点、生化性状、代谢产物的色谱分析, 以及 DNA 中 G+C 百分比和 DNA 同源性测定可以鉴别。如二氧化碳噬纤维菌在血平板上菌落扁平而薄, 可扩散性生长。菌的形态一端多钝圆。而梭杆菌属的细菌在血平板

上菌落圆形、凸起、中间有面包屑样。菌体末端多呈梭形, 菌体中常有浓染的核。二氧化碳噬纤维菌绝大多数菌株对放线菌素 D 敏感, 在含 10% 空气中或含 5% O₂、7.5% CO₂、7.5% H₂ 中能生长。吲哚产生阴性, 不产生 H₂S。主要代谢产物是乙酸(A)和琥珀酸(S)。DNA 中 G+C 百分比为 33—41mol%。而梭杆菌属中绝大多数菌株对放线菌素 D 不敏感, 绝对厌氧, 产生吲哚和 H₂S, 主要代谢产物有丁酸(B)、丙酸(P)、乙酸(A)等。DNA 中 G+C 百分比为 27—30mol%。根据以上特征这两属菌是能够鉴别的。

此外, 二氧化碳噬纤维菌属细菌还应与噬纤维菌属(*Cytophaga*)、屈挠杆菌属(*Flexibacter*)、纤毛菌属(*Leptotrichia*)、拟杆菌属(*Bacteroides*) 等革兰氏阴性杆菌相鉴别(表 3)^[4,5]。

参 考 文 献

- [1] Win, H. et al.: *J. Clin. Periodont.*, 8: 261—280, 1981.
- [2] Williams, B. L.: *Microflora Associated with periodontal Disease*, p95—104, 1982.
- [3] Davies, R. M. et al.: *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, B80: 397—403, 1972.
- [4] Socransky, S. S. et al.: *Arch. Microbiol.*, 122: 29—33, 1979.
- [5] Leadbetter, E. R. et al.: *Arch. Microbiol.*, 122: 9—16, 1979.
- [6] Holt, S. C. et al.: *Arch. Microbiol.*, 122: 17—27, 1979.
- [7] 奥田克尔: 日本齿科评论 488: 149—156, 1983.
- [8] Steven, R. H.: *Infect. Immun.*, 22: 27, 1981.
- [9] Savitt, E. D. et al.: *J. Periodon Resea*, 19: 111—123, 1984.
- [10] Holdeman, L. V. et al.: *J. Periodon Resea*, 20: 475—483, 1985.
- [11] Williams, B. L. et al.: *Arch Microbiol.*, 122: 35—39, 1979.
- [12] Murayama, Y. et al.: *Immun.* 38: 876—884, 1982.