

细菌寄生菌——噬菌蛭弧菌

秦 生 巨

(江苏省卫生防疫站中国医学细菌菌种中心弧菌噬菌体专业实验室,南京)

摘要 细菌的寄生菌——噬菌蛭弧菌的研究,国外是60年代中期开始的。我国1982年首次报道这类菌的发现。本文介绍了噬菌蛭弧菌的培养特性、形态特征、生物学特性、生态学及在自然水体中对某些肠道致病菌的净化作用以及对宿主细胞的侵入、感染和宿主范围等方面的研究情况。研究认为,噬菌蛭弧菌是环境水体中某些致病菌的自然净化的重要生物因子之一。并为利用噬菌蛭弧菌改善水源,减少或控制疾病的发生,保护人群的健康提供了极为可靠的依据和途径。

关键词 噬菌蛭弧菌 (*Bdellovibrio bacteriovorus*); 噬斑; 噬菌体

细菌寄生菌——噬菌蛭弧菌 (*Bdellovibrio bacteriovorus*, 简称蛭弧菌)通常比细菌小,有似噬菌体的作用,能够通过细菌过滤器,但不是病毒,而确实是一类能“吃掉”细菌的细菌。

蛭弧菌有显著的“寄生”和“裂解”寄主细菌的独特性。宿主范围宽广,可同时裂解不同科属的细菌^[1-3]。在自然水域、污水、土壤中以及动物体内都可分离到^[4]。蛭弧菌对水体中的大肠杆菌、福氏志贺氏菌和霍乱弧菌等肠道致病菌有显著的清除作用,被认为可能是致病菌自然净化的重要生物因子之一^[5-7]。

蛭弧菌是严格的寄生性细菌,偶尔也能分离到不依赖寄主的菌株。但寄生特性是它最基本的性能,这种功能有着重要的经济价值:这类菌能借助其特有的作用,清除工农医方面的

病原菌,改善环境水源,通过它的作用,有可能免除病原菌对人体及环境的危害。

(一) 蛭弧菌的培养特性^[4]

蛭弧菌在灭菌自来水、灭菌矿泉水、灭菌海水、灭菌蒸馏水、YP(酵母膏-胨)、1/10胨-肉膏等数10种琼脂上均可形成噬斑。而在自来水、矿泉水琼脂上很少细菌生长,形成的噬斑最为清晰。用胨-肉膏琼脂绝大多数蛭弧菌不能检出噬斑。双层琼脂平板上噬斑发育良好,分布均匀,操作也简便。蛭弧菌在含有特定宿主的平板上,于20—30℃培育48—72小时后形成肉眼可见的透明噬斑(图1),无菌落形成。蛭弧菌的可同菌株,噬斑的形态大小也不相同,大的直径可超过15mm,小的直径约0.5mm,而且可随培养时间的延长而扩展。这一点与噬

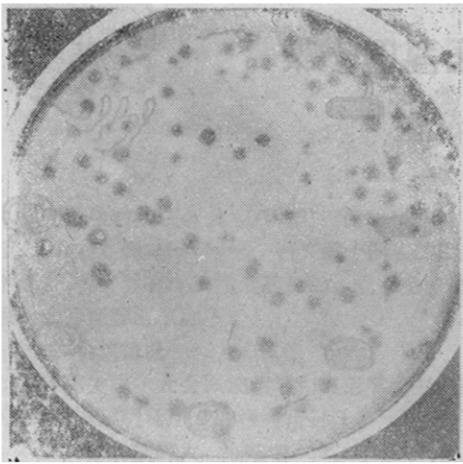


图1 蛭弧菌噬斑形态 (Bd59)

菌体不同, 噬菌体噬斑当宿主菌停止生长后即不再扩展。蛭弧菌噬斑和噬菌体噬斑极为相似, 若以检查蛭弧菌的技术和培养液检查噬菌体, 不能检出噬斑。相反, 以检查噬菌体的方法和培养基检查蛭弧菌, 也不能检出噬斑。

(二) 蛭弧菌的形态特征^[4,6-8]

蛭弧菌一般为单个、小、弯曲、运动的弧形、杆状, 有时呈螺旋状, 革兰氏染色呈阴性。相差显微镜观察, 运动非常活泼, 可见呈跳跃式积极寻捕宿主的运动。电子显微镜观察, 蛭弧菌菌体非常狭小, 宽约 $0.25-0.40 \mu\text{m}$ (或 $0.6 \mu\text{m}$), 长约 $0.8-1.2 \mu\text{m}$, 单极生鞭毛, 鞭毛特别长, 其长度约为菌体的 $10-50$ 倍, 鞭毛带鞘 (图2)。

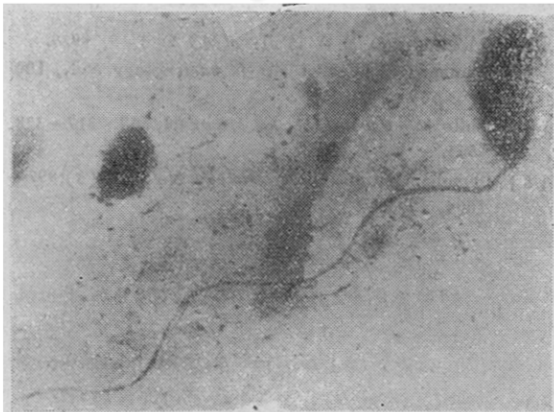


图2 蛭弧菌形态 (Bd31, $\times 23261$)

(三) 蛭弧菌的生物学特性^[3,7]

蛭弧菌生长要求的 pH 为 $6.0-8.5$, 最适

值为 $7.2-7.6$ 。温度为 $4-37^\circ\text{C}$, 最适温度为 $25-30^\circ\text{C}$, 极少数菌株的最适温度为 37°C 。 40°C 时则不生长, 50°C 30 分钟均失活。蛭弧菌可在热死的宿主菌中生长繁殖, Bd 81 和 Bd 98 在加热 (100°C 、 80°C 15 分钟) 致死的宿主菌琼脂平板上检查噬斑, 可比在活菌上更快的出现噬斑, 数目更多, 约为活菌上形成的噬斑数的 $67-151$ 倍。用氯仿处理失活的宿主菌上得到同样的结果。在 100°C 15 分钟致死的宿主菌自来水培养液中也可更迅速的生长繁殖, 使增殖高峰提前, 生长繁殖的数目增加, 约为活菌上增殖的 $35-260$ 倍。在死宿主菌上生长增殖的蛭弧菌, 如果再回到活的宿主菌上增殖, 仍可回复在活菌上生长增殖的特性。

蛭弧菌能使明胶液化, 在人工培养基上产生黄色色素、细胞色素 a、b、c, 还能产生各种酶类: 如 Bd6-5-S 能产生胞外酶, 诱导损伤的寄主细胞的溶解和消化, 它和 Bd100、Bd109、BdA3.12 等在蛇螺菌 VHL 细胞悬液中也能产生蛋白酶。Bd6-5-S 还可产生一种脂酶, 促使细胞壁降解, 并可利用寄主细胞质中的内含物。蛭弧菌不能积聚碳水化合物, 能利用宿主细胞内的氨基酸进行生长繁殖。蛭弧菌的蛋白质含量丰富, 达干重的 $60-65\%$ 。DNA 含量为 5% 。据报道有 80% 的寄主 DNA 并到寄生菌 DNA 中去。

(四) 蛭弧菌的生态学及在自然水体中的作用^[1-4]

蛭弧菌在自然界分布非常广泛, 土壤、河水、湖水、井水、近岸海水及下水道的污水中都有分布。可是洁净的自来水、泉水中很难找到它们的存在。食品中也尚未检出它们的存在。动物体内如牛、马、猪和鸭的肠道中都可检出蛭弧菌, 并证实它们还经常随粪便排出体外到外环境。但在人体、白鼠体内粪便中没有检出蛭弧菌。蛭弧菌在一般污水中含量为 $10^5/\text{ml}$, 土壤中含菌数为 $10^3-10^5/\text{g}$, 淡水、海水中含菌量少些, 仅为几十个到数千个/ml, 动物粪便中含菌量也少, 仅为几十个/g。蛭弧菌在自然界中的作用: (1) 由于蛭弧菌具有寄生和溶菌能力,

所以有可能利用这种拮抗体作为控制或减少致病微生物对外环境水源污染的有力武器。有实验指出, 蛭弧菌在灭菌湖水中对福氏志贺氏菌作用 7 天后, 福氏志贺氏菌被清除 92.8—97.4%。在河水中对 El Tor 霍乱弧菌也有显著的除菌效果, 13 天后, 可使河水中的 El Tor 霍乱弧菌由 $2.5 \times 10^7/\text{ml}$ 减少到 50/ml, 或由 $5.8 \times 10^7/\text{ml}$ 减少到 0。因此, 它在水源净化方面无疑起着十分重要的作用; (2) 蛭弧菌对农业致病菌, 如水稻白叶枯病原菌、大豆疫病假单胞菌也均有较强的侵染力。有人报道将水生细菌和水稻白叶枯病菌加入灌溉水中, 便成为蛭弧菌的“食料”, 实验结果表明, 致病菌大大减少了。此外, 蛭弧菌接种到大豆叶子枯萎病菌上, 可有效的控制枯萎病的发展。

(五) 蛭弧菌对宿主细胞的侵入及其宿主范围^[3,4,8]

蛭弧菌的生活史是独特的, 开始与寄主细胞激烈碰撞, 速度很大(每秒高达 100 个细胞长度), 能冲击移动比它体积大许多倍的寄主细胞。并以没有鞭毛的一端吸附到宿主细胞壁, 在此之后, 寄生菌袭击的细胞壁处出现一个细孔, 接着寄生菌进到细胞壁与细胞膜之间的周质中, 侵入过程是非常快的, 只有几秒钟就可以完成这个过程。在侵入过程中, 蛭弧菌失去鞭毛, 在细胞内生长繁殖, 复制成 6—30 个子细胞, 完成这一繁殖的全过程需要 4 小时, 这时随着细胞增殖和产生某种酶而使细胞壁遭受进一步分解, 细胞壁裂解, 释放子代细胞。这样就完成它整个生活周期(如图 3)。子代细胞遇上合适宿主又可再侵入。

蛭弧菌的宿主范围很广, 能侵染多种细菌,

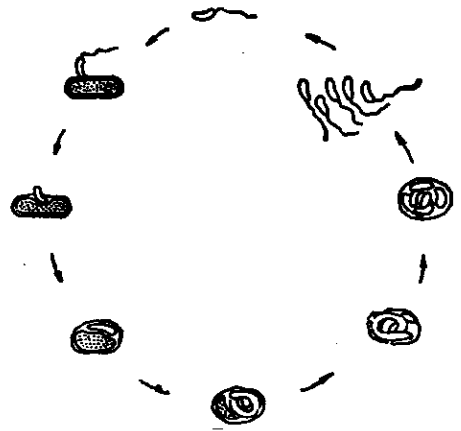


图 3 蛭弧菌生长周期模式图

病毒, 钩端螺旋体及某些藻类。如埃希氏菌属, 沙门氏菌属, 欧文氏菌属, 变形杆菌属, 弧菌属, 志贺氏菌属等。Shilo 等分离的菌株可裂解鼠疫耶氏菌和假结核耶氏菌。Burger 等分离的菌株寄生在植物乳酸杆菌。Москвитина 等分离的菌株能裂解钩端螺旋体和某些肠道病毒。司稗东和秦生巨分离的部分蛭弧菌株既可裂解革兰氏阴性菌, 又能裂解革兰氏阳性细菌。

参 考 文 献

- [1] Stolp H. et al.: *Phytopathol. z.* 45: 364—390, 1962.
- [2] Stolp H. et al.: *Antonie van Leeuwenhoek.* 29: 217—248, 1963.
- [3] Starr M P et al: *Adv in microbiol Physiol.* 8: 215—261, 1972.
- [4] 司稗东、秦生巨: 中华微生物学和免疫学杂志, 2(1): 12—16, 1982.
- [5] Москвитина Э А И Л: *ЖМЭ* 5: 3—9, 1979.
- [6] Raman J. Seidler et al.: *J. bacteriology Nol.*, 100: (2): 769—785, 1969.
- [7] Shilo M et al.: *J. Gen. Microbiol.*, 40: 317—328, 1965.
- [8] Burnham et al.: *J. bacteriology Nol.*, 101(3): 997—1004, 1970.