

从北京地区临床分离的人放线菌病菌株的化学分类研究

刘志恒 张亚美 阮继生

(中国科学院微生物研究所,北京)

杨雪梅 李家宏

张寅

(中日友好医院,北京)

(中国人民解放军三〇九医院,北京)

近年来,因临床上皮质激素和免疫抑制药物的长期使用,由放线菌引起的人放线菌病(Human Actinomycosis)越来越多。这类疾病包括放线菌病(Actinomycosis),诺卡氏菌病(Nocardiosis),农民肺病(Farmer's Lung)和放线菌性足菌肿(Actinomycetama)等^[1,2]。当治疗不当或不及时,会危及人们的健康甚至生命。由于临床和医学微生物工作者目前尚缺乏对放线菌感染的足够认识,常将放线菌病误诊为结核、真菌或L型菌感染,或将污染的非致病性链霉菌误认作致病菌。因此,正确及时地对病原性放线菌进行检验和鉴定是一重要课题。

国内曾对农民肺病的病原菌有过分类鉴定研究报告^[3],也有诺卡氏菌病的临床报道^[4,5]。

1984年以来我们对从中日友好医院分离的7株放线菌进行了化学分类鉴定与分析。

材料与方 法

(一) 菌株来源

7株菌分别分离自病人的痰、脓、血、尿和腹水等标本(见表1)。编号分别为: Y-0823, Y-001, Y-042, Y-1071, Y-0394, Y-3872, Y-0177。

(二) 研究方法

1. 形态观察: 采用常规埋片法^[6], 显微观察并拍摄菌体形态。使用的培养基为伊姆松

本文由国家自然科学基金资助;曾在第七届国际放线菌生物学会议上展出。

表 1 试验菌株来源及临床诊断

菌株号	标本来源	感染范围	基础疾患	临床诊断	转归
Y-0823	男性,痰,脓胸	肺、胸膜、皮下脓肿	无	原发诺卡氏菌病	痊愈
Y-001	女性,胸脓	胸膜,肺,菌血(?)	风湿性心脏病	原发,内源感染	死亡
Y-042	女性,尿液	泌尿系统	无	急性肾盂肾炎	好转
Y-1071	女性,尿液	尿路	慢性肾盂炎	机会、原发感染	缓解
Y-0394	女性,血液	菌血症	先天性心脏病	术后感染	痊愈
Y-3872	男性,腹水	尿路	慢性肾盂肾炎	继发、内源感染	好转
Y-0177	男性,血液	菌血症	白血病	机会感染	死亡

(Emerson)^[6], 28℃ 培养 2、4、7、14 天。

2. 细胞壁组分测定: 参照 Becker, Lechevalier 和 Hasegawa 等人的方法^[7-10]。

3. 类脂成分分析: 枝菌酸分析我们参照 Minnikin 等人(1980)的全细胞甲基脂薄板层析法^[11,14]; 磷酸类脂分析我们参照 Lechevalier 和 Minnikin 等人的方法^[18,12-14]。

结果和讨论

(一) 形态

除菌株 Y-0394 和 Y-0177 有类似链霉菌丰富的气丝和分生孢子链,基丝不断裂(图1)

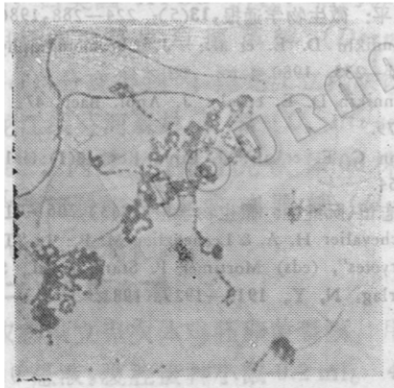


图 1 菌株 Y-0394 的菌体形态
(×900)

外,其余菌株 Y-0823, Y-001, Y-042, Y-1071, Y-3872 均具有典型的诺卡氏菌形态,形成分隔的初菌丝和菌体断裂为杆状小体(Fragmenting elements)(图 2),无或有微薄的气丝。

(二) 细胞壁化学分析

供试菌株的细胞壁组分、枝菌酸和磷酸类脂的分析结果见表 2。

(三) 讨论

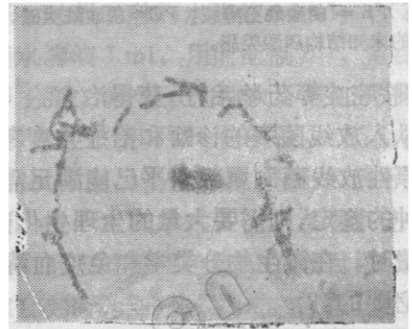


图 2 菌株 Y-042 的菌体形态
(×900)

1. 根据研究的 7 株放线菌的形态学和化学分析结果, Y-0177 和 Y-0394 菌株具有良好的气生菌丝,形成大量分生孢子链,基丝无分隔,无断裂,细胞壁 I/C 型(含 LL-DAP 无特征性糖),无枝菌酸,磷酸类脂 II 型(含 PE)。这些特征表明他们属于链霉菌(*Streptomyces*)^[15]。其余 5 株菌,由于都有典型的诺卡氏菌形态(基丝分隔并断裂),细胞壁 IV/A 型(含 meso-DAP, 阿拉伯糖和半乳糖),含枝菌酸,磷酸类脂 II 型,属于诺卡氏菌属(*Nocardia*)^[15]中的某些种。

研究结果说明,使用形态和化学分类指标相结合的方法,可以准确地属级水平上做出病原性放线菌的鉴定。这为放线菌病的及时诊断和治疗提供病原学依据。如 Y-0823 菌株分离自一例患原发性周身诺卡氏菌病的畜牧收购员的痰,胸脓标本,原先因病原学不清曾误诊为结核性胸膜炎,经异菸肼、青霉素、链霉素等药物治疗无效。当 Y-0823 菌株被鉴定为诺卡氏菌后,即确诊为诺卡氏菌病,改用红霉素,施胸腔闭式引流术,及使用复方新诺明、丁胺卡

表2 供试菌株化学分析结果

菌株号	细胞壁型	杆菌酸	磷酸类脂型	特征性磷脂				
				PE	PC	DPG	PIM	GluNU's
Y-0823	IV/A	+	II	+	-	+	+	-
Y-001	IV/A	+	II	+	-	+	+	-
Y-042	IV/A	+	II	+	-	-	-	+
Y-1071	IV/A	+	II	+	-	-	+	-
Y-0394	I/C	-	II	+	-	-	-	-
Y-3872	IV/A	+	II	+	-	+	+	+
Y-0177	I/C	-	II	+	±	-	-	+

注: PE = 磷酸酰乙醇胺; PC = 磷酸酰胆碱; DPG = 二磷酸葡萄糖胺; PIM = 磷酸酰肌醇甘露糖苷; GluNU's = 含葡萄糖的未知结构磷酸类脂。

那、磺胺嘧啶等药物治疗,获得治愈。

从人放线菌病的诊断和治疗角度考虑,鉴定病原性放线菌到属级水平已能满足需要。如欲做种的鉴定,则需要大量的生理生化试验,费功且费时,在微生物分类学和免疫血清学研究上是必要的。

2. 诺卡氏菌病过去报导多为原发感染,且被认为是少见病。中日友好医院开院三年来已发现8例(其中2例为链霉菌)。其中不仅有原发病例,尚有继发及机会感染。上述病例的病理表现基本为化脓性炎症,临床上无特异性,因此病原诊断必须由细菌检验室做出。本文提供的鉴定方法有推广价值。

参 考 文 献

- [1] Schaal K. P.: In "The Biology of the Actinomycetes", Academic Press, London, 425—454, 1983
 [2] Lapwood, D. H.: In "Actinomycetales: Characteristics and Practical Importance", (eds) Syles G. &

Skinner, F. A., London, 253—259, 1973.

- [3] 卢运玉等: 微生物学报, 25(4): 351—355, 1985。
 [4] 张护颖: 中华医学检验杂志, 3: 234, 1980。
 [5] 李家宏: 中华结核和呼吸系统疾病杂志, 5(1): 6—8, 1982。
 [6] 阮继生: 放线菌分类学基础, 科学出版社, 北京, 1977。
 [7] Becker, B. et al.: Appl. Microbiol., 13: 236—243, 1965。
 [8] Lechevalier, M. P.: Chemical Methods as Criteria for the Separation of *Nocardiae* from other *Actinomycetes*, Inst. of Waksman Microbiology, USA, 1971。
 [9] Toru Haegawa et al.: J. Gen. Appl. Microbiol., 29: 319, 1983。
 [10] 王平: 微生物学通报, 13(5): 224—288, 1986。
 [11] Minnikin D. E. et al.: J. Chromatography, 188: 221—233, 1980。
 [12] Minnikin D. E. et al.: J. Appl. Bact. 47: 81—85, 1979。
 [13] John C. E. et al.: J. Lipid Res., 5(1): 126—149, 1964。
 [14] 刘志恒、阮继生: 微生物学报, 28(3), 206—210, 1988。
 [15] Lechevalier H. A. & Lechevalier M. P.: In "The Prokaryotes", (eds) Mortimer P. Starr, et al., Springer-Verlag, N. Y., 1919—1929, 1981。