

# B族链球菌研究进展 (综述)

微生物学教研室 顾克洲 罗海波审校

自1970年以来,反复从患败血症和脑膜炎的新生儿血中分离出B族链球菌(Group B Streptococcus, GBS),经研究认为该菌为新生儿急性感染和引起死亡的重要原因之一。GBS尚可致成人多种感染性疾病,因此,该菌已引起各国学者的重视。近年来对其带菌状况、粘附作用、毒性产物、致病作用以及微生物学检查进行了大量研究,为今后防治B族链球菌感染提供了可靠依据,现将有关资料简介如下。

## 一、带菌状态和传播来源<sup>(1~4)</sup>

1981年Cumming等报道,在儿童中GBS主要来自上呼吸道感染,是咽部溃疡的重要病原。此外,医务人员鼻咽部常带有GBS,其带菌率约为11~45%,且以Ⅲ型为主,可通过呼吸道传给婴儿。妇女泌尿生殖道GBS的带菌率亦高,因之生殖道成为新生儿感染该菌的主要来源。1977年Mohamad等对孕妇的直肠和阴道标本进行GBS带菌检查,结果认为胃肠道是GBS原始存在的部位,也是妇女阴道带菌的原发部位。生殖道带GBS的妇女,其丈夫尿道GBS阳性者约占50%,这可能是男性泌尿道感染的来源之一。

1983年Bascom等使用灭菌塑料小肠插管,分别从成人空肠及十二指肠分离到GBS,其血清型及噬菌体型与从直肠分离到的GBS相同。其中妇女直肠分离阳性者,阴道标本分离亦阳性,因此认为健康妇女小肠携带的GBS可成为产期感染的病原体。GBS早发型感染(出生后1~5天内发病)的婴儿,其病原体一般在出生时来自母体,而且分娩时母亲阴道固有菌丛的密度与GBS的传播有

直接关系,密度越高则其传播的机率越高。但Bascom等又发现住院的全部带有GBS婴儿中,1/3是通过住院期间的互相传播,而非母婴传播。

## 二、GBS的表面粘附作用<sup>(5~8)</sup>

1. GBS的粘附作用 表面粘附是自然界的一种普遍现象,微生物对有关粘膜上皮细胞的粘附,在许多感染性疾病中起着重要作用。GBS在感染过程中,首先是细菌对上皮细胞表面的粘附,再由于细胞的代谢产物或细菌本身的特性,结果细菌穿透细胞。1982年Bagg等在研究各种不同细菌对上皮细胞的粘附作用中,广泛利用口腔上皮细胞(BEC)为靶细胞,因大部分BEC无活力,用作体外试验的靶细胞最为合适。1983年Robert等用同位素技术—<sup>3</sup>H标记的细菌与细胞一起孵育,证实了GBS对BEC的粘附能力。按粘附能力的强弱分为三类: <10个菌/细胞为低度粘附; 10~25个菌/细胞为中度粘附; >25个菌/细胞则为高度粘附。不同机体的上皮细胞对粘附GBS的能力不同。细菌的粘附能力与其致病力强弱基本一致。

Robert等进一步证实GBS的粘附作用并非引起发病的唯一条件,其致病作用可能还与它的趋化性、毒素的产生、粘膜表面的屏障、机体组织对病原体的易感性以及宿主免疫力等有关。

2. GBS对上皮细胞粘附作用的介导物质 Robert等证实有荚膜的GBS菌株对新生儿或成人的BEC均无明显粘附作用。Baker等证明了无荚膜的GBS菌株对上皮细胞的粘

附作用。1982年Bagg的研究表明,间位过碘酸钠能使BEC表面糖的羟基间C—C键解开,可经过过碘酸盐处理BEC后,粘附于BEC的GBS明显减少,但经过过碘酸盐处理的GBS,却并不减少其对BEC的粘附,说明起粘附作用的是BEC表面的糖分子。用各种不同的单糖抑制试验表明,N—乙酰—D氨基葡萄糖对粘附有关。但Bagg对Ⅲ型GBS超声波提取物进行热处理试验后,证实了GBS细胞表面与粘附有关的物质不是糖类,而是一种耐热蛋白质。近年De Cueninck等对Ⅲ型GBS的研究中,认为GBS在致病过程中的粘附作用,可能是由于在严重GBS感染中,新生儿的BEC表面的GBS受体增加,或由于某些GBS产生使BEC受体暴露的物质,从而促使了感染的发生。

### 三、几种有关的毒性产物<sup>(9~11)</sup>

1. 神经氨(糖)酸苷酶 GBS Ia Ib、Ic和Ⅱ型的大多数菌株都可产生低水平神经氨(糖)酸苷酶。Ⅲ型菌株有的产生高水平酶,有的不产生。从重症疾病中分离的Ⅲ型GBS中,产生高水平酶的菌株占优势。Milligan等认为该酶可能是一种毒性因子,分子量106,000,有类似霍乱弧菌与白喉杆菌神经氨酸酶样作用,增加宿主细胞表面对细菌的亲合力。

2. 核酸酶 Ferrier等采用脱氧核糖核酸—甲基绿(DNA-MG)琼脂扩散法,测定游离于琼脂平板内的甲基DNA来筛选GBS,发现几乎所有血清型(Ia、Ib、Ic、Ⅱ、Ⅲ型)GBS的86~100%的菌株,均产生细胞外脱氧核糖核酸酶(DNase)经鉴定分别命名为I、Ⅱ和Ⅲ型。可用聚丙烯酰胺凝胶电泳测得其分子量加以区别:DNase I为 $18,600 \pm 2,800$ ,DNase Ⅱ为 $33,000 \pm 8,800$ ,DNase Ⅲ为 $26,500 \pm 6,700$ 。GBS核酸酶与A族链球菌(GAS)核酸酶一样,均易被 $Ca^{++}$ 、 $Mn^{++}$ 激活。Ⅱ和Ⅲ型DNase有相同

抗原性,对人和动物都具有免疫原性,而I型DNase仅对动物有免疫原性。GBS和GAS核酸酶抗原性不同,因此可应用血清学反应的特异性予以鉴别。

3. 溶血物质—CAMP因子 GBS产生的一种溶血物质,首先由Christe、Atkins和Munch-peterse提出,称其为CAMP因子,能溶解羊红细胞,它所引起的溶血反应称为CAMP反应,对鉴定GBS有一定意义。这种溶血作用只有在葡萄球菌 $\beta$ 溶血素存在的情况下方能溶解绵羊和牛的红细胞。Marchlewicy等提出,葡萄球菌 $\beta$ 溶血素是一种(神经)鞘磷脂酶,而CAMP因子是一种耐热蛋白质,通过对脂质体的研究,发现CAMP因子的溶血作用,系由于葡萄球菌鞘磷脂酶处理红细胞所形成的酰基鞘氨醇和CAMP因子相互作用,促使红细胞溶解。

4. 溶血素 GBS的大多数菌株所产生的溶血素,在血平板上呈现 $\beta$ 溶血。若将GBS接种于肉汤培养基,其上清液通常无溶血素或含量甚少。但若接种于含有白蛋白,Tween80或淀粉等作用剂的培养液中可产生大量溶血素。根据这种现象,Marchlewicy等认为两种可能性:①溶血素以菌细胞结合形式存在,并且与其表面有关。如在培养液中增加淀粉或其他作用剂,可从菌细胞内提取溶血素。②GBS连续不断地合成和释放溶血素,但迅速失去活性,当加入作用剂时,可作为载体或稳定剂而保持其溶血素活性。Marchlewicy等也证实GBS持续的新陈代谢活动为溶血素的产生所必需,如果用NaF或碘乙酸处理GBS,以及在反应的混合液中,用乙—脱氧—D—葡萄糖代替葡萄糖,或在含血清培养基内生长,均可使GBS产溶血素能力增强。含淀粉的培养基,可用以观察上清液的溶血作用,其中淀粉可能是作为溶血素的载体。

将不完全纯化的溶血素同各种蛋白水解酶一起孵育并不失去活性,因此,溶血素的本质是否蛋白质,尚未定论。多数人认为

GBS溶血素与GAS产生的溶血素S相似,两种溶血素的产生均受培养基中含过量葡萄糖所抑制,且溶解活性也可被卵磷脂所抑制。

#### 四、致病作用<sup>(12~14)</sup>

GBS为新生儿败血症和脑膜炎的主要病原菌,以Ia和Ⅱ型居多。病死率高,据统计GBS引起严重感染的婴儿中,有60~70%在发病48小时内死亡。患者多为3个月内的婴儿,根据发病年龄、感染菌型和发病时间的长短可分为两种感染类型:

1. 早发型 以败血症为主,故又称败血症型,常见菌型为Ia型,如并发脑膜炎则以Ⅱ型为多见。早期或急性期病死率最高,约50%以上。妇女泌尿生殖道为病原菌的主要来源,感染通过母——婴传递,如分娩时经生殖道;难产时胎儿羊膜早破;分娩过程中胎儿缺O<sub>2</sub>导致咽入污染的羊水等。

2. 迟发型 通常在出生10天以后(10天~4个月),以脑膜炎为主,或伴随败血症,故又称脑膜炎型。病死率约20%左右,感染菌型以Ⅱ型为主,其荚膜多糖为唾液酸,对脑膜有特殊亲和作用。由于本型发病较迟,其传播途径除母——婴传递外,可能是通过其他患者或带菌者的呼吸道传入,以病院内传播机会最多。

GBS对成人侵袭力较弱,常与产后或尿路感染有关,见于慢性病及体弱者,主要引起肾盂肾炎、肺炎、子宫内膜炎和皮肤感染等。最近Morven等(1983)提出糖尿病患者易感染GBS,在成人GBS菌血症患者中,有50%患有糖尿病。Morven等通过动物研究,发现 *Streptomyces achromogenes* var. *streptozoticus* 中分离的抗生素——链脲佐菌素(SZ),有细胞毒素特性。对胰腺β细胞产生不可逆的损害作用,最后导致糖尿病。在此过程中,产生无唾液酸糖蛋白(asialoglycoprotein)。正常情况下,GBS存在于单核吞噬细胞系统,并由脾脏到

肝脏而被清除,由于糖尿病时无唾液酸糖蛋白使肝细胞对GBS表面荚膜唾液酸及半乳糖残基的结合能力减低,而影响肝细胞除菌功能。因此,即使机体内有较高水平的特异性抗体及完整的补体系统,也不能清除糖尿病患者单核吞噬细胞系统内的GBS。

#### 五、分离培养及快速诊断<sup>(2,8,13,15)</sup>

对临产妇女和孕期带菌者取阴道分泌物、血和尿;新生儿感染者或带菌者,常根据其具体情况可分别取咽部分泌物、脐带血、羊水、直肠拭子、血液、脑脊液等。从血液、脑脊液、尿等标本中分离GBS困难并不大,但阴道、咽部分泌物以及直肠拭子等部位,因杂菌多,分离GBS时要注意鉴别。

Baker等倡用一种分离GBS的选择性肉汤培养基,其主要成分为: Todd-Hewitt(TH)肉汤、羧胺酮酸、硫酸庆大霉素以及5%距纤维羊血。在此培养基中,只有GBS和GAS生长良好,其他细菌受抑制。经24小时培养后,GBS菌落通常大于2mm,呈灰色,柔软、较粘稠、周围有小的溶血环。马尿酸溶解试验可作为GBS特异性的鉴定试验。对GBS的快速鉴定,目前采用的方法如下:

1. 快速荧光抗体测定法(FA) 对可疑菌落及受感染的粘膜上皮细胞均可进行染片加以鉴定。此法快速、敏感,20小时内获得结果。

2. 对流免疫电泳(CIE) 可直接采用病人体液标本,包括血液、尿液及脑脊液。此法快速、简便,且有较高的敏感性,可在1~2小时内作出快速诊断。虽对I型中各亚型出现交叉反应,但能区分I、II、III型。

3. 乳胶凝集试验(LA) 分别用GBS的族和型特异性抗体致敏的乳胶颗粒来检测相应的GBS族和型特异性抗原。在数分钟内出现肉眼可见的凝集现象。

4. 协同凝集反应 用GBS特异性抗体

致敏SPA，再将此致敏后的菌液滴加至血平板可疑菌落上，在短时间内即出现相应菌落的溶解和致敏菌液的凝集。在获得GBS纯培养后的数分钟之内即可予以鉴定。

5. 长链反应 GBS一般为3~4个菌体排列成链，当GBS与相应抗血清混合培养时，所形成的链特别长（比对照长18~33倍）。其发生机理是由于抗GBS的双价抗体，通过抗体桥使菌体间发生凝集。此反应为一简便、快速和可重复的鉴定方法。

6. 改良的CAMP反应 在由葡萄球菌β溶血素形成溶血环的血平板上，接种待检的GBS标本，CAMP反应阳性者，出现半月状或完整的溶血环。尤其是GBS的菌落沿着葡萄球菌β溶血素的溶血环而增大。此方法可作为GBS培养物的直接快速诊断。

参 考 文 献

1. Cumming S, et al. J Clin Pathol 1981; 34: 813.

2. 严征辉. 国外医学《医用微生物分册》1979; 1: 8.

3. Bascom F, et al. J Infect Dis 1983; 147: 776.

4. Anthony B F, et al. J Infect Dis 1981; 143: 761.

5. Robert A, et al. Infect Immun 1983; 39: 837.

6. Bagg J, et al. J Med Microbiol 1982; 15: 363.

7. Baker C J, et al. J Clin Invest 1982; 69: 394.

8. De cucinck B J, et al. Immun 1982; 35: 572.

9. Ferrier P, et al. J Exp Med 1980; 151: 56.

10. Marchlewicy B A, et al. Immun 1980; 30: 805.

11. Milligan T W, et al; J Bacteriol 1980; 144: 164.

12. 洪超群. 国外医学《生物制品分册》1980; 6: 245.

13. Waitkins S A. J Clin Pathol 1980; 33: 302.

14. Morven S, et al. Infect Immun 1983; 39: 580.

15. Bromberger R I, et al. J Pa dial 1980; 96: 104.

(上接第94页)株对四环素土霉素轻度敏感，而从痰中检出者则耐药。

讨 论

亲水气单胞菌，以往多被认为是一种低毒力的条件致病菌，近年来大多数学者认为，本菌当宿主防御功能减退时可作为一重要致病菌而引起严重的、甚至致命性的感染。1966年Caselily曾指出，本菌培养滤液中的毒素具有组织毒性、溶血毒性、坏死毒性和致死毒性作用。本文例1过去无胆囊炎史；起病突然，病程进展快，其原因可能与本菌具有强烈的致病毒素有关。例2年老，体质较弱，以上呼吸道感染起病，在机体防御功能降低的情况下，感染本菌。临床应用庆大霉素等治疗后，病情显著好转，但肺部脓疡病灶未被吸收，预后有待进一步观察。

本菌因能对多种糖类发酵，往往误鉴定为其它细菌；在培养基上，本菌的菌落易与大肠杆菌类细菌相混淆，但经细胞素氧化酶

试验可以区别。霍乱弧菌、副溶血性弧菌对赖氨酸、鸟氨酸几乎全能利用，而本菌则否。另据报道，本菌对精氨酸双水解酶的阳性率为75%<sup>(3)</sup>。而霍乱弧菌及副溶血性弧菌则为阴性。本次分离的2菌株接种于精氨酸双水解培养基上，12小时即现阳性；而赖氨酸及鸟氨酸培养基上接种48小时后，仍呈阴性反应。就苯丙氨酸试验来说，本次2菌株虽属阳性，但与三氯化铁的显绿色深度不及变形杆菌属细菌。故4种氨基酸在鉴定上有重要意义。

根据上述结果，作者所分离的2株菌种基本上符合亲水气单胞菌的生物学特性。

参 考 文 献

1. Frankal S, et al. Gradwohl's clinical laboratory Smethods, ed 7, st Louis C V Mosby co. 1970: 1296.

2. Buchanan RE, et al. Bergegs manual of deterrminative bacteriology, ed 7, Baltimore, The Williams & Wilkins co. 1974: 346

3. 孙成浩. 国外医学《微生物分册》1981; 4(3)102.