

[文章编号] 1000-2200(2008)02-0127-05

·述 评·

细菌 L 型感染的意义和研究进展(四) ——细菌 L 型的检验和鉴定

林特夫, 黄谷良

[关键词] 细菌 L 型; 检测; 鉴定; 综述

[中国图书资料分类号] R 378

[文献标识码] A

细菌 L 型是细菌等微生物细胞壁缺陷的变异型。细菌 L 型由于缺壁引起许多酶和毒素发生改变, 其致病特点以及在各种感染中的意义已有评述^[1,2]。又由于缺壁程度不同, 表现有形态的多形性, 菌落也多种多样; 生化反应大多减弱或转阴; 抗原性也有明显改变^[3], 难以识别。由于缺壁, 大多 L 型对渗透压敏感, 在常规培养基中不能生长, 因此造成临床上严重的漏诊和误诊。经 L 型高渗培养可明显提高诊治率。本文就 L 型的检测和鉴定作进一步的评述。

1 细菌 L 型生物学特性的改变

1.1 形态及染色特性 细菌细胞壁的肽聚糖坚韧, 起维持细菌外形和保护内部结构的作用, 由于 L 型有细胞壁缺陷, 在分裂时不能像原菌那样按时断裂, 菌体可膨胀成巨形体, 或在其中增殖、破裂成原生小体(如无壁的病毒), 或因不能按时分裂而增殖成长丝。长丝体中有时见有巨形体膨出, 且多为革兰阴性, 这点可与真菌或放线菌区别。L 型革兰染色因有细胞壁缺陷, 乙醇容易透过使结晶紫脱色。因此 G⁺ 常染成 G⁻, 有时 L 型不能及时分裂, 核酸大量堆积, 又可使 G⁻ 菌呈 G⁺。同样, 结核分支杆菌(以下简称结核菌)由于细胞壁中有分支菌酸, 在抗酸染色时不易被乙醇脱色而成红色。L 型因不同程度缺壁在抗酸染色后或呈阴性蓝色, 或弱阳性呈淡红色, 且形态各异^[4]。我室从已经治疗的患者痰中见有呈蓝色的长丝, 或长丝中有大量抗酸颗粒^[5]。已知结核的寒性脓疡中有非抗酸革兰阳性 Much 颗粒, 其实质为细胞壁缺陷的结核菌 L 型。因此 L 型有形态多形、染色多变的特征。

1.2 生长特性与培养

1.2.1 菌落特性 一般细菌型在低倍镜下可见为细致光滑较大的菌落。L 型因生长慢、菌落小, 见有三种类型^[6]: (1) 油煎蛋糕样(L 型), 由于其常呈长丝向琼脂上下生长, 故中央致密, 边缘为颗粒状; (2)

颗粒型(G 型), 全部由大小巨形体构成粗颗粒; (3) 丝状型(F 型), 中心致密, 边缘由长丝组成。临床最为多见的为 G 型, 约占 80%。我室从 El Tor 型霍乱弧菌、痢疾志贺菌、大肠埃希菌、链球菌、新型隐球菌、幽门螺杆菌和金黄色葡萄球菌(简称金葡菌)中均见有 F 型菌落。培养多日后在长丝表面出现白色粉末状似真菌菌落。但能通过 0.45 μm 滤膜, 长丝比真菌细, 对氟霉素等抗生素敏感, 可与真菌相区别。此外, 我室多次从患者血液增菌后移种 L 型平板培养, 虽未见 L 型菌落出现, 但低倍镜下观察平板, 见有丝状透明物, 涂片染色, 见长丝或其中有巨形体, 亦为 L 型, 只因菌量少不能形成可见的菌落。有学者用奇异变形杆菌 L 型倾注于含 TTC 琼脂平板, 在表面也见有红色丝状体。

1.2.2 液体培养基中生长情况 L 型由于缺壁, 表面电荷改变, 凝聚力大于排斥力, 故在液体中常呈颗粒生长, 黏附于管壁或沉于管底, 液体澄清或微混, 与细菌型的混浊不同, 且生长速度比细菌型慢, 故标本增菌观察需增加时日。常规血标本大多接种于 30~50 ml 盛肉膏、酵母浸膏等增菌液的疫苗瓶(或三角烧瓶)中, 但此法不便于镜下观察。有学者提出改用试管法作 L 型增菌, 于高渗营养丰富的牛肉汤 5 ml 试管中加患者血 0.5 ml(培养基用量及抽血量均仅常规的 1/10), 阳性率更高^[7]。

1.3 生化反应的改变 参与生化反应的酶大多嵌于细胞壁上或在细胞壁与细胞膜之间的间隙内, 是细胞代谢的重要场所^[8]。因此不同程度的细胞壁缺陷都会导致代谢活动的改变。实验证明大肠埃希菌经抗生素或胆汁诱导成 L 型后, 其糖发酵、靛基质、甲基红等试验均转阴^[9]。临床分离的金葡菌 L 型和铜绿假单胞菌 L 型均因应用过多种抗生素后变为无色, 金葡菌 L 型甚至血浆凝固酶减弱或转阴, 若将培养物置室温多日, 产色和凝固酶能恢复, 菌形也恢复^[6]。抗生素广泛应用后许多金葡菌可能因此被误诊为表皮葡萄球菌^[3]。马莉等^[8]以伤寒沙门菌用羧苄青霉素诱导成 L 型后, 在营养琼脂上传 140 代获稳定株, 经超声裂解, 10 000 r/min 离

[收稿日期] 2007-05-21

[作者单位] 蚌埠医学院 病原生物学教研室, 安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 林特夫(1930-), 女, 教授, 全国细菌 L 型学组顾问。

心,收集上清裂解液,置全自动生化分析仪上测丙氨酸氨基转移酶,天门冬氨酸氨基转移酶等代谢活性均明显低于原细菌型,说明L型生化反应有所改变,常需返祖鉴定。

1.4 抗原性改变 细菌变为L型,细胞壁的O抗原会减弱或消失,对H抗原是否也有影响,则与细胞壁缺失程度有关。鞭毛根部的基础颗粒嵌在细胞壁与细胞膜之间。细胞壁缺失多则鞭毛也能脱落。有学者从5例血液分离出伤寒沙门菌,其肥达反应O抗体阴性,有学者报道290例患者单独H抗体升高者9.3%,而H、O抗体始终阴性者24.5%^[3]。上述表明由于L型细胞壁缺失程度不同,H、O抗原性都有可能缺失,因此血清学反应仅能作参考。

2 细菌L型的检查与鉴定

2.1 L型检查的重要性 临床常遇到有明显感染迹象而常规培养阴性的病例。蚌埠市5所医院15 901例感染住院患者的血、骨髓细菌检出率<20%^[10]。Kleeman在大量尸检中见到有肾盂肾炎病变的629例中,生前漏诊者高达83%。漏诊的原因很多,国内外大量资料证明与应用作用于细胞壁的抗生素使细菌变为L型以致常规培养失败有关。若加做L型培养检出率可明显提高。有报道731例肾盂肾炎,其急性期患者单检出细菌型者17.48%,L型者1%;慢性期患者单检出细菌型者仅6.44%,而单检出L型者有33.74%^[11]。表明肾髓质高渗,L型长期存在时可回复引起急性发作。有学者从19例风湿热患者的12例中分离出L型,在1 343例风湿热患者中76%检出乙型链球菌L型抗体^[12]。有报道风湿热患者心瓣膜切片经免疫荧光检测中发现有L型圆球体和Aschoff小体同时存在^[13]。结核患者常同时存在细菌型和L型。治疗后细菌型往往消失,而L型持续存在。有报道胸片见有结核病灶,而痰检细菌型阴性者46.6%~74%分离出结核菌L型^[14,15]。我室于1991年统计第一次全国L型会议中36个单位4 858份含血、骨髓、脓、痰、穿刺液、胆汁等标本常规培养阳性率平均为13.27%,L型培养平均为36.28%。表明加作L型检测可明显提高阳性率。

2.2 L型的检测

2.2.1 L型常规培养与鉴定 检查程序:临床标本的L型检查可按图1程序进行。

鉴定要点是,(1)形态特征:形态多形,染色多变;(2)培养特征:液体及固体菌落特征;(3)过滤性与返祖特征;(4)免疫与分子生物学鉴定。

检验报告:(1)血平板不生长,L型平板生长,出现L型特征菌落者报告为细菌L型。(2)血平板、L

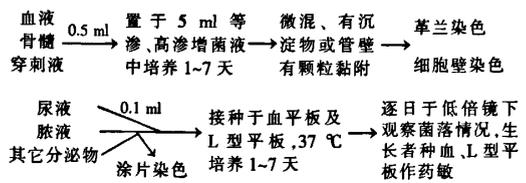


图1 临床标本L型检查程序

型平板同时生长,后者证明为L型者,可报告细菌型与L型同时存在,并应分别报告血平板与L型平板上的药敏试验结果。(3)L型在血平板上有时也能生长,但菌落非常小,涂片染色形态呈明显缺壁多形,若L型平板上同时长出典型L型菌落,仍应报告为L型,并应进一步使其回复以作鉴定。

2.2.2 结核分支杆菌L型检查 结核菌因细胞壁脂质含量高,具有耐酸耐碱的特性。但变为L型后细胞壁有一定缺失,应减少酸碱作用时间。一般痰1份+4%NaOH 4份,置37℃水浴中作用15 min即可,并不时用滴管吹打以助痰消化,随即加1 mol/L HCl中和,3 000 r/min离心30 min。取沉渣作涂片和L型培养。尿检查取过夜尿,滴加5%冰醋酸与5%鞣酸各数滴,使细菌沉淀。静置数小时后以长滴管从瓶底吸取颗粒样沉淀物,同上加碱消化酸中和,离心后作涂片与培养。

结核病90%以上为肺结核。痰涂片抗酸染色仍是重要的检查法。许多单位往往因查不到典型的抗酸杆菌而漏报。1例患者有刺激性咳嗽达50多天,胸片无明显结核迹象,痰涂片见抗酸颗粒满视野,但无典型抗酸杆菌。数日后再次检查,则见大量典型抗酸杆菌。患者经支气管镜检查,诊断为支气管内膜结核,故对“痰阴”的报告应当慎重。

培养:以往经上述浓缩处理后常用罗氏固体培养基培养,但需时长(约需1个月)。马筱玲等^[16]对23例疑诊为结核患者的痰作涂片抗酸染色,B+L阳性率为52.2%,而在罗氏培养基上仅7.7%阳性。考虑到细菌在液体中接触面广,生长迅速,我们研制出92-3TB-B和92-3TB-L培养基^[17]。一般培养1~2周即可见颗粒生长。我室以此培养基对766份标本(痰516份,尿62份,胸腔积液88份,腹腔积液26份,脑脊液29份,支气管灌洗液45份)进行分离培养并与涂片比较。结果涂片抗酸染色细菌型、L型和总阳性率分别为21.27%、23.1%和37.6%。用92-3TB-L培养结果为36.1%、44.1%和51.8%,总阳性率超过罗氏固体培养^[18]。

检验报告^[17]:分支杆菌L型培养阴性(-),在92-3TB-L液体培养基内未见分支杆菌生长,并经涂片染色镜检证实。分支杆菌L型阳性(+):在上述

培养基上分支杆菌生长并经涂片染色镜检证实。若上述培养物虽有多形性但非抗酸,可用免疫荧光、免疫酶染色及基因诊断技术鉴定。若培养物作 PCR 扩增结合探针杂交阳性可确诊^[19]。

2.2.3 钩端螺旋体 L 型检测 取患者血 3~5 滴或脑脊液 (CSF) 0.5 ml 加入到普通 Korthof 培养基和我室研制的半液体培养基中^[20], 28~30 °C 培养 1 周, 取培养物 1 滴置暗视野显微镜下 (100~200 倍) 检查有无钩体 L 型生长。L 型常呈巨形体集聚, 或分散存在。有的巨形体和囊样体两端伸出螺旋状长丝^[21], 用扫描电镜检查亦证实有此形态^[22]。

显微镜凝集试验 (MAT): 患者血清标本从 1:50 开始作倍比稀释, CSF 从 1:2 开始倍比稀释, 各取 1 滴加于多孔试验板中, 加培养 1 周的当地流行株数株各 1 滴于上述含血清或 CSF 的试验板中, 相碰撞混匀, 置 28~30 °C 温箱作用 1 h 后各取 1 滴于玻片中, 在 100~200 倍暗视野下观察是否有凝集现象。血清抗体滴度 $\geq 1:400$, CSF 抗体滴度 $> 1:4$ 者为阳性。

我室为探讨安徽大水后部分患者出现神经后发症原因, 检测 186 例患者 206 份标本 (血 135 份, CSF 71 份), 结果血 L 型培养阳性率 27.4%, 明显高于 MAT 17.0%, CSF L 型培养阳性率 30.9%, 明显高于 MAT 阳性率 12.7%, 钩体 L 型总阳性率 28.6%, 明显高于普通培养阳性率 10.2%。表明患者血 CSF 标本检查 L 型培养法优于 MAT 和普通培养, 提示不作 L 型培养易造成漏诊^[23]。

3 提高 L 型检出率的几种简易方法

3.1 溶血培养法 Domingue 等^[24] 发现 L 型可在红细胞内寄生, 考虑可用低渗盐水裂解后培养。他对 861 例肾病患者作血培养时仅 13 份阳性, 同时应用裂解后稀释 1:100~1:500 以去除血液中可能存在的抑菌物质。结果有 421 份阳性, 其中 86% 可回复为细菌型。我室发现部分血沉快的患者血涂片中有 L 型黏附于红细胞或侵入红细胞内。因此在常规 L 型检查中加做溶血培养。结果, 有 19 例用溶血法培养出 L 型, 而常规细菌培养均阴性, L 型培养则有 11 例阳性^[25]。李春红^[26] 对血沉快的结核病患者 28 例进行溶血培养, 并与 20 例血沉正常的结核病患者比较, 前者 20 例阳性, 后者仅 3 例阳性。

3.2 血、穿刺液集菌滴片法 朱明利等^[27] 取肺病患者血 0.5~1 ml 溶血后立即用甲醇:冰醋酸 (3:1) 固定 5 min, 离心取沉淀物作滴片, 烘干, 抗酸染色。结果 7 例肺癌患者中, 溶血培养法 1 例阳性, 滴片法 2 例阳性。并用牛型结核菌 L 型感染小鼠, 取离心血用此法检查, 5 只小鼠均为阳性, 健康人与对照鼠

阴性。李风云等^[6] 以感染性患者的脑脊液离心, 取其沉淀物滴成厚片, 不涂开染色镜检与常规涂片及培养作比较, 结果亦明显提高阳性率。

3.3 盲刮、盲扩法 盲刮、盲扩是在平板接种后尚未见到有菌落生长之前盲目刮取平板表面作涂片检查。患者血液中有时可有治疗时所用的抗生素或其它抑制物质带到增菌液中, 扩种可使局部的抑菌物质浓度降低, 有利于细菌或 L 型生长。马筱玲^[28] 将肺结核患者的痰按常规处理分离在结核 L 型培养基上, 应用盲刮、盲扩法于 4~7 天即可见到多形性抗酸菌生长, 阳性率 45.5%, 与常规培养比, 既提高检出率, 又可缩短培养时间。普通血培养亦然。

4 L 型的免疫学和分子生物学鉴定

4.1 免疫酶和免疫荧光技术 免疫酶与免疫荧光技术是鉴定细菌与 L 型敏感和简易的方法^[29,30]。抗体可用细菌型抗体或 L 型抗体。细菌在变为 L 型时往往仍有小部分细胞壁的残留, 不论是用细菌型或 L 型抗体均可显示。霍乱弧菌在条件不适的环境下可变为颗粒形或长丝体, 蒋玖^[31] 以免疫酶染色得以鉴定。宋秀宇等^[32] 应用免疫荧光与免疫酶技术鉴定临床钩体病神经后发症患者血液中分离的钩端螺旋体 L 型。夏佩莹等^[33] 以免疫吸收法分别制备了金葡菌细胞壁和细胞膜抗体, 应用免疫酶技术对临床分离的金葡菌 45 株进行检测, 结果显示其中 13 株为细菌型, 5 株为 L 型, 27 株兼有细菌型与 L 型。

回归热螺旋体与引起莱姆病的伯氏螺旋体均可因感染后逃避宿主的免疫机制而变为 L 型, 使抗体的产生时显时灭, 以致应用抗原检测抗体的方法常呈阴性。Mattman 在国际莱姆病/慢性病会议上提出应用免疫荧光法在暗视野下可在血液中检查到发荧光的 L 型圆球体。免疫荧光敏感性高, 即使变为 L 型, 其上的少量抗原仍可测出^[34]。

4.2 斑点免疫结合试验 (dotimmunobinding assay, DIBA) 这一试验是从 ELISA 固相免疫测定法发展而来, 方法简便。宋秀宇等^[35] 将钩体出血黄痘群赖型 (56601) 及其 L 型以及大肠埃希菌、霍乱弧菌、鼠伤寒沙门菌、福氏痢疾杆菌等以 56601 抗体作 DIBA 试验进行检测。将菌落点加于硝酸纤维素膜上, 加明胶封闭后再加 56601 抗血清和酶标 SPA。结果 56601 斑点显示深紫色呈强阳性, L 型斑点呈浅紫色, 为弱阳性, 其它细菌斑点均无色为阴性。

4.3 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) SDS-PAGE 可用以分析细菌原菌与 L 型间的差别, SDS 可使细菌蛋白质分子间的氢键断裂, 让蛋白质各段根据分子的大小在电泳中移动速度不同, 在电场不

同部位出现条带。细菌变为 L 型后与原菌相比,显示 L 型仍保留原菌的主要条带,但有部分条带出现缺失。贾继辉等^[36]以不同株的幽门螺杆菌与其经青霉素诱导的 L 型进行比较,显示三株细菌基本相似,仅 1 株稍有差异。说明在 30 余条带中有 9 条是主要的,与 L 型相比主要条带与原菌相似,部分条带缺失或蛋白量减少或增多。但并未见有新的条带出现。

4.4 免疫印迹试验(Western blot) 免疫印迹是应用免疫抗体检测 SDS-PAGE 所分离的蛋白条带。此法可以从许多条带中检测所需要的条带。贾继辉等^[36]应用细菌型抗体检测幽门螺杆菌细菌型和 L 型,结果显示细菌型与其 L 型条带基本相似,仅个别条带反应减弱。

4.5 限制性片段长度多态(restriction fragment length polymorphism, RFLP) 细菌 DNA 分子以限制性核酸内切酶进行酶切,经琼脂凝胶电泳,所得 DNA 片段可按分子量大小分别进行分析比较。朱景德等^[37]以埃尔托型霍乱弧菌及其不同的 L 型以 *EcoR* I 酶切。结果显示二者在溶血素与神经氨酸酶基因图谱上完全相同,但与对照副溶血弧菌差别很大。以幽门螺杆菌及其 L 型用 *Hind* III 酶做 RFLP 试验,显示二者图谱基本相同。

4.6 PCR-RFLP 是将目的基因片段经 PCR 扩增后用多种限制性内切酶对扩增物进行酶切和电泳分开扩增片段,此法快速、简单,所需样本量少。王豫萍等^[38]以此法检测结核菌及其稳定 L 型 DNA,结果可见二者具有高度相似的酶切条带,但 L 型较结核菌细菌型多出三条酶切片段,提示 L 型仍保留其亲代细菌型相同的主要染色体基因,但也发生了基因突变。

4.7 荧光定量 PCR(FQ-PCR) 此技术主要是在 PCR 反应系统中加入一条荧光标记的基因探针。有报道只要标本中结核菌数达 $10 \sim 10^3$ /ml 时,此技术即可给予确定量。朱明利(2007)报道分枝杆菌 L 型的分离加 FQ-PCR 可提高菌阴肺结核的诊断率。

4.8 基因探针原位杂交(gene probe in situ hybridization) 用已知微生物的核酸制成探针与感染组织切片进行原位杂交,可用于检测组织中是否有微生物的感染。细菌 L 型与肿瘤的关系已引起国内外学者的关注,如对宫颈肿瘤组织同时应用免疫组化与核酸原位杂交检查,可证明宫颈肿瘤组织中有金黄色葡萄球菌 L 型感染的存在^[39]。

5 细菌 L 型药物敏感试验

感染用药后常同时存在细菌型与 L 型,二者的药敏均需检测。目前临床细菌培养与药敏试验有的

采用自动测定仪,但 L 型尚缺乏规范的易于推广的敏感试验测定仪与试剂盒。

5.1 细菌 L 型药敏试验方法 一般细菌 L 型药敏均用 L 型平板加贴药敏纸片测定。Mattman^[5]则推荐用液体试管法:在 2 ml L 型增菌肉汤中加少量琼脂。每试管加 1 张药敏纸片,在摇床上振荡培养可促进生长。我室曾用此法测定结核菌 L 型的药敏,认为是可行的。有时试管上见有混浊或沉淀,转种平板不长。涂片,乙醇固定用丫丁香染色可见 L 型^[5],表明加药物的试管内有 L 型生长,即具耐药。

5.2 细菌 L 型的药敏情况与机制

5.2.1 影响细胞壁合成的抗生素 青霉素与头孢菌素类属于 β -内酰胺类抗生素,其中的 β -内酰胺环与细胞壁肽聚糖中的 D-丙氨酸-D-丙氨酸相似,可与细菌中的青霉素结合蛋白(PBP)结合,使 PBP 失去酶的活性,影响细胞壁的合成。一般认为 L 型已失去细胞壁,对 β -内酰胺类抗生素不敏感。头孢菌素也属于 β -内酰胺类抗生素,L 型有时仍敏感,因它对 β -内酰胺酶的作用比较稳定,不易遭到破坏,且对细胞膜也有作用。因此在临床治疗时多用头孢菌素加作用于细胞质合成的抗生素,如红霉素、氯霉素、大环内脂类抗生素与氨基甙类抗生素有一定疗效。B 族链球菌 BM6101 株及其 L 型的药敏(MIC)^[40](见表 1)。

表 1 B 族链球菌 BM6101 株及其 L 型的药敏 MIC

菌型	青霉素 (u/ml)	四环素 (μ g/ml)	氯霉素 (μ g/ml)	红霉素 (μ g/ml)	林可霉素 (μ g/ml)
原菌	0.8	50	25	>1000	250
稳定 L 型	>1000	0.4	0.4	0.2	0.4

王和等^[41]以结核菌接种在常规浓度的利福平、异烟肼、乙胺丁醇的非高渗培养基内,37 °C 培养 48 h 后可使之变为 L 型,继续培养增殖。将其过滤获得 L 型纯培养,发现这些 L 型对原抗菌药物不再敏感。但对链霉素、红霉素、诺氟沙星、氧氟沙星敏感。

5.2.2 多黏菌素 主要作用于细胞膜上的磷脂。L 型失去细胞壁后多黏菌素更易渗入,故 L 型对之更敏感。

5.2.3 L 型的耐药性与遗传物质的关系 细菌的耐药性与细菌的其它特性一样,也决定于细菌内部的遗传物质,包括染色体与质粒。细菌变为 L 型后细胞壁缺损,耐药质粒可随之丢失。L 型回复后已丢失的耐药性常不能回复。Jacob 等提出不仅质粒,转座子(一段 DNA 可由一条染色体或质粒上转移

到另一染色体或质粒)也可以引起耐药性的转移。

6 亟待解决的问题

细菌 L 型的诊断标准和药敏试验不够统一规范。一般细菌的药敏试验有统一的 MH 培养基与一定要求和标准,而 L 型固体培养基琼脂含量略低,是否其药物纸片更易扩散而影响药敏范围?有的医院细菌培养与药敏采用全自动仪,但不易普及,且需时长,非一般医院所能推广。结核的常规药敏试验比较繁琐,且一些难治性结核病又大多与 L 型耐药有关,因此简便有效的结核药敏试验亟待解决。

[参 考 文 献]

- [1] 林特夫,黄谷良.细菌 L 型感染的意义和研究进展(一)[J].蚌埠医学院学报,2006,31(2):111-115.
- [2] 黄谷良,林特夫.细菌 L 型感染的意义和研究进展(二)[J].蚌埠医学院学报,2006,31(3):221-225.
- [3] 林特夫.微生物 L 型与感染[A].见:段恕诚,刘湘云,朱后镔主编.儿科感染病学[M].上海:上海科学技术出版社,2003:442-457.
- [4] Chandrasekhar S, Ratnam S. Studies on cell-wall deficient non-acid fast variants of Mycobacterium tuberculosis [J]. *Tuber Lung Dis*, 1992, 73(5):273-279.
- [5] Mattman LH. *Cell wall deficient forms, stealth pathogens* [M]. 3rd ed. New York: CRC Press, 2001:269-277.
- [6] 黄谷良主编.细菌 L 型与疾病[M].北京:学苑出版社,1991:92-108,421.
- [7] 林特夫,黄谷良,李明君,等.高、等渗牛肉汤试管增菌可提高细菌检出率[J].临床检验杂志,1987,5(3):126.
- [8] 马莉,江滢,易旭,等.细胞壁缺陷对沙门菌代谢特性的影响[J].上海医学检验杂志,2001,16(增刊):36-39.
- [9] 夏佩莹.毒素原性大肠杆菌 L 型及其生物学性状与致病性的观察[J].中华微生物学和免疫学杂志,1985,5(3):188-190.
- [10] Huang GL, Lin TF. Bacterial L-forms and their significance [A]. *Abstract X IV International Congress of Microbiology* [M]. Manchester, 1986:55.
- [11] 姜秀云,刘忠化.肾盂肾炎细菌 L 型培养的实验研究[J].中国微生物学杂志,1998,10(4A):114.
- [12] Onwuamaegbu ME, Belcher RA, Soare C. Cell wall-deficient bacteria as a cause of infections: a review of the clinical significance [J]. *J Int Med Res*, 2005, 33(1):1-20.
- [13] Mattman LH. *Cell wall deficient forms, stealth pathogens* [M]. 2nd ed. New York: CRC Press, 1993:155, 127, 111.
- [14] 张敦熔.结核菌 L 型的临床与流行病学意义[J].中华结核和呼吸杂志,1993;16(3):181-183.
- [15] Dorozhkova IR, Karachunskii MA, Abdullaeva ET, et al. Isolation of mycobacteria L forms as a prognostic criterion of recurrence and aggravation of tuberculosis in patients with extended residual tuberculous lesions of the lungs [J]. *Probl Tuberk*, 1989, (3):14-18.
- [16] 黄谷良,林特夫,马筱玲,等.我国结核分支杆菌 L 型研究及意义[J].中华综合临床医学杂志,2003,5(4):100-104.
- [17] 中华结核和呼吸杂志编辑委员会.结核分支杆菌 L 型的检测方法(试行)[J].中华结核和呼吸杂志,2003,26(2):67-69.
- [18] 戴云海,李明君,林特夫.临床标本结核分支杆菌及其 L 型的液体培养与检出[J].贵州医药,1995,19(增刊):320-321.
- [19] Vishnevskaya EB, Bobchenok AP, Mel'nikova NN, et al. Identification of L-forms of Mycobacterium tuberculosis complex by polymerase chain reaction (PCR) [J]. *Probl Tuberk*, 2001(4):38-40.
- [20] 汤郡,黄谷良,林特夫.钩端螺旋体 L 型培养基的初步研究[J].中华微生物学和免疫学杂志,1992,12(6):403.
- [21] 汤郡.螺旋体 L 型[A].见:黄谷良主编.细菌 L 型与疾病[M].北京:学苑出版社,1991:370-380.
- [22] 林特夫,宋秀宇,唐素兰,等.钩端螺旋体稳定 L 型的形态与超微结构的研究[J].中华微生物学和免疫学杂志,1997,17(3):192-195.
- [23] 汤郡,唐素兰,林特夫,等.钩端螺旋体病神经系统后遗症患者 L 型检测及其意义[J].中国微生态学杂志,1997,9(1):42-43.
- [24] Domingue GJ. Filterable, cell associated cell wall-deficient bacteria in renal disease [J]. *Cell wall deficient bacteria*, Addison-Wesley, Massachusetts, 1982:121.
- [25] 唐素兰,冯锡才,林特夫.加做红细胞裂解培养能提高细菌 L 型检出率[J].上海医学检验杂志,2001,16(增刊):16.
- [26] 李春红.血沉快慢与 TB-L 检出率的关系[J].中国微生态学杂志,1998,10(4A):104.
- [27] 朱明利,王月华,张元和.淋巴细胞培养法检测血中分枝杆菌及其 L 型的初步研究[J].上海医学检验杂志,2001,16(增刊):45.
- [28] 马筱玲.临床标本结核菌乙型的分离[J].蚌埠医学院学报,1989,14(4):229-231.
- [29] 黄谷良.细菌 L 型的免疫学[A].见:余传霖主编.现代医学免疫学[M].上海:上海医科大学出版社,1998:568-575.
- [30] Gorelov AL, Levina GA, Prozorovskii SV. The possibilities of using variants of immunoenzyme analysis for detecting L-form *Salmonella typhi* bacteria in biological fluids [J]. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*, 1989, (8):60-64.
- [31] 蒋玖.免疫酶技术鉴定 EITor 型霍乱弧菌稳定 L 型[J].蚌埠医学院学报,1991,16(1):15.
- [32] 宋秀宇,林特夫.免疫荧光和免疫酶技术鉴定钩端螺旋体 L 型[J].中华流行病学杂志,1993,14(特刊11):52-54.
- [33] 夏佩莹.金黄色葡萄球菌 L 型特异性抗体的免疫组化试验在妇科感染性疾病诊断上的应用[J].中国微生态学杂志,1992,4(2):43-47.
- [34] Nahmness A. Lyme disease/chronic illness conference summary [OB/OL]. <http://sci.tech-archive.net/Archive/sci.med.diseases.lyme/2005-05/msg01375.html>. 2005-05-25.
- [35] 宋秀宇,林特夫,张树波.应用 SDS-Page 及斑点免疫结合试验测定钩端螺旋体 L 型[J].贵州医药,1995,19(增刊):269-271.
- [36] 贾继辉,沈继龙,娄峥,等.幽门螺杆菌 L 型分子生物学性状的研究[J].中华微生物学和免疫学杂志,1995,15(2):95-98.
- [37] 朱景德,娄峥,林特夫,等.埃尔托型霍乱弧菌流行株及其实验变异株的分子遗传学研究[J].中华流行病学杂志,1989,10(特10):292-295.
- [38] 王豫萍,王和.结核分支杆菌稳定 L 型染色体 DNA 的限制性酶切分析[J].贵州医药,2004,28(7):584-585.
- [39] 何杰,张世薇,姚敏,等.金黄色葡萄球菌 L 型感染与宫颈癌关系的探讨[J].中国肿瘤临床,1995,22(增刊):212-215.
- [40] Schmitt-Slomska J. L-forms activity [A]. In: Madoff S. *Bacterial L-forms* [M]. NY: Marcel Dekker, 1986:229.
- [41] 王和,陈峥宏.抗结核药物诱导结核分支杆菌形成 L 型及其特性的观察[J].中华结核和呼吸杂志,2001,24(1):52-55.