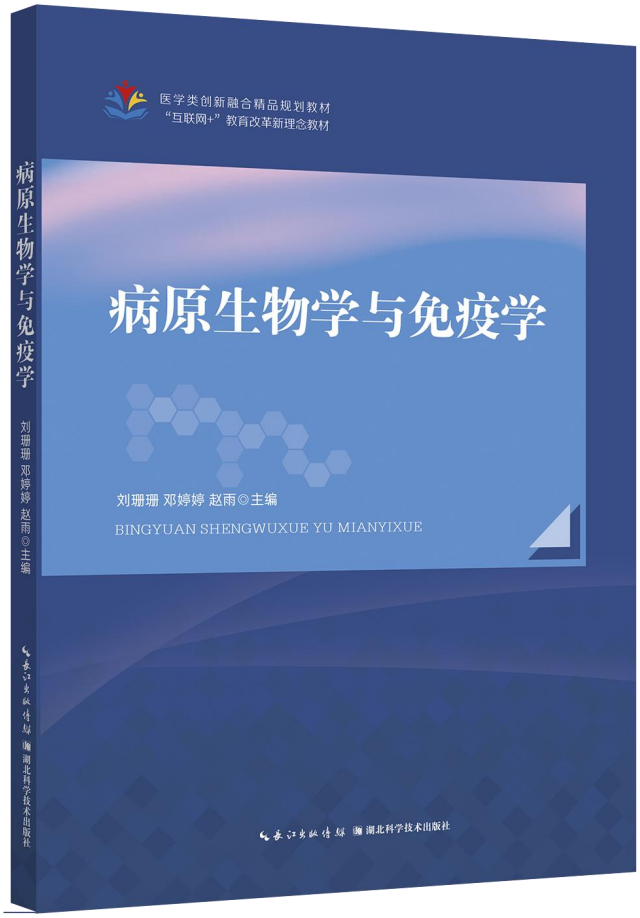
病原生物学与免疫学



类目：医学类
书名：病原生物学与免疫学
主编：刘珊珊　邓婷婷　赵　雨
出版社：湖北科技出版社
开本：大 16 开
书号：978-7-5706-3162-9
使用层次：通用
出版时间：2024 年 4 月
定价：59.80 元
印刷方式：双色
是否有资源：是

医学类创新融合精品规划教材
“互联网+”教育改革新理念教材

病原生物学与免疫学

刘珊珊　邓婷婷　赵　雨◎主编

BINGYUAN SHENGWUXUE YU MIANYIXUE

长江出版传媒　湖北科学技术出版社

病原生物学与免疫学
刘珊珊　邓婷婷　赵　雨◎主编
长江出版传媒　湖北科学技术出版社

ISBN 978-7-5706-3162-9
9 787570 631629
定价：59.80 元

微信扫一扫，更多精彩

医学类创新融合精品规划教材
“互联网 +”教育改革新理念教材

病原生物学与免疫学

主　编◎刘珊珊　邓婷婷　赵　雨
副主编◎杜　娟　李秋华　金　晓

长江出版传媒　湖北科学技术出版社

图书在版编目（CIP）数据

病原生物学与免疫学 / 刘珊珊，邓婷婷，赵雨主编 . —武汉：湖北科学技术出版社，2024.4

ISBN 978-7-5706-3162-9

Ⅰ. ①病… Ⅱ. ①刘… ②邓… ③赵… Ⅲ. ①病原微生物 ②医药学－免疫学 Ⅳ. ① R37 ② R392

中国国家版本馆 CIP 数据核字（2024）第 055425 号

责任编辑：王小芳
责任校对：陈横宇　　封面设计：曾雅明

出版发行：湖北科学技术出版社
地　　址：武汉市雄楚大街 268 号（湖北出版文化城 B 座 13—14 层）
电　　话：027-87679468　　邮　　编：430070

印　　刷：唐山唐文印刷有限公司　　邮　　编：064100

880×1230　　1/16　　17 印张　　490 千字
2024 年 4 月第 1 版　　2024 年 4 月第 1 次印刷
定　　价：59.80 元

（本书如有印装问题，可找本社市场部更换）

前　言

随着我国医疗卫生体制改革和医学教育改革的深入推进，我国高等学历继续教育迎来了前所未有的发展和机遇。为了全面贯彻党的二十大精神中提到的“健康中国战略”“人才强国战略”和中共中央、国务院发布的《“健康中国 2030”规划纲要》等相关文件精神，我们特组织编写了本书。

病原生物学与免疫学是医学领域中的基础和前沿学科，也是连接基础与临床的医学必修课程，其完整的理论体系和实用的技术体系对临床医学学科和生命科学学科起到了极大的推动作用。本书分挖掘和运用医学病原生物学及免疫学学科中蕴含的思政点，把思想价值引领贯穿在教学的各个环节，把思政元素有机融入课程教学中，“知识传授”与“价值引领”并重，以培养德才兼备的高素质医学人才为目的。

本书主要介绍病原生物与宿主免疫系统间相互作用所呈现的生理和病理变化。人类与各种感染性疾病斗争 200 余年历史所积累的经验和知识构成本书的写作基础，同时也兼顾了中医学与现代生命科学间的有机联系，更符合中医学各专业的人才培养目标。本书主要介绍病原生物（微生物和寄生虫）的生物学特性及其与人类的相互关系，感染性疾病的诊断和防治原则，免疫系统的组成、功能和作用机制，免疫异常所致的病理损伤，免疫学在疾病的诊断、治疗和预防中的应用。

限于编者的能力与水平，本书中恐免有不足之处，敬请读者提出宝贵意见，以便再版时进一步修订完善。

编　者

2023 年 8 月

目　录

第一章　病原生物学概述 …… 1
第一节　病原生物与病原生物学 …… 1
第二节　医学微生态 …… 2
第三节　病原生物学发展历程 …… 6
第四节　病原生物控制与生物安全 …… 7
第二章　细菌学总论 …… 16
第一节　细菌的形态结构 …… 16
第二节　细菌的生理 …… 23
第三节　细菌的遗传与变异 …… 29
第四节　细菌感染与免疫 …… 33
第五节　细菌感染的检查方法与防治原则 …… 39
第三章　常见致病细菌 …… 42
第一节　球菌 …… 42
第二节　肠道杆菌 …… 50
第三节　厌氧性细菌 …… 58
第四节　分枝杆菌 …… 61
第五节　其他原核细胞型微生物 …… 66
第四章　病毒学总论 …… 72
第一节　病毒的形态结构 …… 72
第二节　病毒的增殖、遗传与变异 …… 74
第三节　病毒感染与免疫 …… 78
第四节　病毒感染的检测方法与防治原则 …… 83
第五章　常见致病病毒 …… 87
第一节　呼吸道病毒 …… 87
第二节　消化道病毒 …… 93

第三节　肝炎病毒 …… 96
第四节　疱疹病毒 …… 102
第五节　逆转录病毒 …… 106
第六章　真菌学 …… 110
第一节　真菌的形态与结构 …… 110
第二节　真菌的增殖与培养 …… 113
第三节　真菌的感染与免疫 …… 115
第四节　常见致病真菌 …… 116
第五节　非感染性真菌病 …… 122
第七章　医学寄生虫学概述 …… 124
第一节　寄生虫的形态与结构 …… 124
第二节　寄生虫的生活史 …… 129
第三节　寄生虫的感染与免疫 …… 131
第八章　常见致病寄生虫 …… 134
第一节　常见致病线虫 …… 134
第二节　常见致病吸虫 …… 139
第三节　常见致病绦虫 …… 145
第四节　常见致病原虫 …… 150
第九章　免疫学概述 …… 157
第一节　免疫学基本概念 …… 157
第二节　免疫器官与组织 …… 161
第十章　抗原 …… 165
第一节　抗原的概念和属性 …… 165
第二节　影响抗原免疫原性的因素 …… 167
第三节　抗原的分类 …… 169
第四节　非特异性免疫细胞激活物 …… 170
第十一章　免疫分子 …… 173
第一节　免疫球蛋白 …… 173
第二节　补体系统 …… 181
第三节　MHC 及其编码分子 …… 185
第四节　其他免疫分子 …… 191
第十二章　免疫细胞 …… 197
第一节　固有免疫细胞 …… 198
第二节　抗原提呈细胞及其抗原提呈作用 …… 202
第三节　适应性免疫细胞 …… 206
第十三章　免疫应答 …… 214
第一节　固有免疫应答 …… 214

第二节 适应性免疫应答 …… 221
第十四章 免疫病理 …… 235
第一节 超敏反应 …… 235
第二节 自身免疫病 …… 243
第三节 免疫缺陷病 …… 245
第四节 肿瘤免疫 …… 248
第十五章 免疫学应用 …… 252
第一节 免疫诊断 …… 252
第二节 免疫预防 …… 256
第三节 免疫治疗 …… 258
第四节 中药的免疫治疗作用 …… 261
参考文献 …… 263

第一章

病原生物学概述

在人类疾病谱中，由感染病原生物引起的疾病占很大比重。深入认识这些病原生物，有效防控由病原生物导致的疾病是人类医学史上最重要的任务之一。

第一节　病原生物与病原生物学

一、病原生物

病原生物泛指能引起其他生物疾病的生物体。就人类而言，病原生物主要指致病的微生物与寄生虫，是人类疾病致病因素的重要组成部分。在人类疾病史中，由病原生物所造成的疾病曾经给人类造成严重的灾难。至今，人类的健康与生命依然受到多种已知或未知病原生物的威胁。

1969 年 Whittaker 根据生物体的主要生物学特征将地球上所有细胞生物分为原核生物界、原生生物界、(真)菌物界、植物界和动物界，提出了“五界系统”。1990 年 Woese 则根据分子进化的路线将所有细胞生物分为细菌域、古菌域、真核生物域三个主要域，提出“三域学说(three domains proposal)”。目前被国际生物学界主流所接受的各种生物学分类系统都依据上述“五界系统”与“三域学说”。只有病毒因起源特殊，不具备独立完整的生命特征，被单列一类，称为非细胞型生物。

病原生物跨越细菌域、真核生物域，覆盖原核生物界、原生生物界、(真)菌物界、植物界和动物界，同时包含单列一类的非细胞型生物，其分类学地位更具复杂性。在医学病原生物学中，习惯上将人体寄生虫单列一类(包括医学原虫、医学蠕虫和医学节肢动物)；同时，根据生物学特性及致病性，将病原生物中微生物分为非细胞型微生物(医学病毒)、原核细胞型微生物(医学细菌)、真核细胞型微生物(医学真菌)。

(一)非细胞型微生物

非细胞型微生物目前主要指病毒，在本质上病毒可以视作一段被蛋白质包裹的可复制、转移的遗传信息。根据病毒核酸的类型划分为两类，即 DNA 病毒和 RNA 病毒，并进一步分成双链 DNA 病毒(dsDNA)、单链 DNA 病毒(ssDNA)、双链 RNA 病毒(dsRNA)、单正链 RNA 病毒[(+)ssRNA]、单负链 RNA 病毒[(−)ssRNA]等。除此之外，一些具有侵染能力，与通常病毒的典型结构差异较大的感染

因子，如脒脒病毒（mimivirus）、类病毒（viroid）、卫星病毒（satellite virus）、卫星核酸（satellite nucleic acid）、朊粒（prion）等，也被暂时列入此类病原生物。

非细胞型微生物的主要特点是：①无细胞构造，形体微小，主要成分仅为核酸和蛋白质，故有“分子生物”之称；②核酸类型单一，DNA 或 RNA；③无自主代谢，增殖完全依赖宿主细胞；④具有感染性。以其特点而论，几乎所有病毒都属于病原生物，其中致人类疾病的病毒称为医学病毒。

（二）原核细胞型微生物

原核细胞型微生物具有原始核，其特点是：①均为单细胞生物，形体微小，需借助光学显微镜观察。②细胞结构简单，无核膜，细胞核为裸核；细胞器缺乏，无线粒体、内质网、高尔基体；缺少细胞骨架。③增殖方式单一，绝大多数以无性二分裂方式繁殖。引起人类致病的原核细胞型微生物主要包括细菌、放线菌、支原体、衣原体、螺旋体和立克次体。

（三）真核细胞型微生物

真核生物是结构类型最为繁复的生物类群，在微生物中主要包括真菌。其特点是：①生物体形式多样，由单细胞或多细胞构成。②细胞结构复杂，细胞核有核膜，核酸多以染色体形式存在；细胞器发达，有线粒体、内质网、高尔基体。③增殖方式多样，具有无性繁殖与有性繁殖多种繁殖方式。

真菌中与人类疾病关系较密切的包括：子囊菌门的表皮癣菌、毛癣菌、小孢子癣菌、毛结节菌、假丝酵母菌、肺孢子菌、曲霉菌、镰刀菌、青霉菌、组织胞浆菌等；担子菌门的隐球菌、糠秕马拉色癣菌等；接合菌门的毛霉菌等。

二、病原生物学

广义的病原生物学是研究病原生物种类、分布、形态、结构、代谢、生长繁殖、遗传进化及其与人类、动物、植物、自然界等相互关系的一门学科。在实践中可包括病原微生物学、寄生虫学等，其中病原微生物学可分为专门研究致病细菌、致病真菌和致病病毒的学科，寄生虫学可分为专门研究原虫、蠕虫和致病节肢动物的学科。狭义的病原生物学特指研究引起人类致病的病原生物的学科，也可称为医学病原生物学。本教材中的病原生物学主要是指医学病原生物学。

在自然界种类繁多的生物中，引起其他生物感染的生物体主要局限于以营寄生生活为主的微生物和部分低等无脊椎动物。对于这一部分生物群体的生物学行为及致病机制的研究构成了病原生物学的主要研究范畴。危害人类健康的医学病原生物（包括病毒、细菌、真菌、原虫、蠕虫、节肢动物等）则是医学病原生物学的主要研究对象。其研究内容包括医学病原生物的生物学特性、与人类宿主的关系、致病机制及相应的检测方法、防治原则等。

第二节　医学微生态

在地球上生活的所有生物拥有共同的家园，这个家园的共同居住者之间可以发生与形成许多不同类型的相互关系。这些相互关系的总和构成地球的生态系统。处于地球生态系统中的人类，与自然界中的其他生物存在多种相互关系。

一、生物间的生存关系

共生、捕食、拮抗是生物与生物之间生存关系的主要表现形式。共生是指两种生物在一起生活的现象。根据共生生物之间的利害关系，又可进一步分为共栖、互利共生和寄生。共栖指两种生物在一起生活，其中一方受益，另一方不受影响；互利共生指两种生物在一起生活，双方均受益，从而互相依赖，长期共存；寄生指一方从另一方获益，并使对方受损。需要指出的是，在共生过程中三种方式不是永恒的，在一定条件下可以相互转化。捕食是指一方以另一方为食物的现象，使对方作为一个个体被消灭（寄生通常并不马上造成另一方的生命结束）。拮抗是指双方互相抵制、互相排斥的现象，通常表现为对生存所需资源的争夺。人类与病原生物之间的生存关系主要表现为寄生形式。

二、寄生关系

扫一扫
寄生关系

在寄生关系中，受益的一方称为寄生物，受损害的一方称为宿主。就医学病原生物与人类的共生关系而言，受损的人类处于宿主地位，而得益的医学病原生物就是寄生物。

（一）寄生物分类

按寄生生物对宿主依赖程度可以将寄生生物分为专性寄生生物、兼性寄生生物和偶然寄生生物。专性寄生生物指必须营寄生生活方能生存的生物，如病毒、某些原核生物、疟原虫、丝虫、绦虫等；兼性寄生生物指既可营寄生生活，又可营自生生活的生物，如粪类圆线虫；偶然寄生生物指因偶然机会进入非正常宿主体内寄生的生物，如某些蝇蛆。

按寄生生物与宿主接触时间可以将寄生生物分为长期性寄生生物和暂时性寄生生物。前者指发育某一阶段不能离开寄生宿主的寄生生物，如病毒、绦虫等；后者指一些只需短时接触宿主的寄生生物，如蚊、白蛉、蚤、虱、蜱等。

按寄生生物与宿主接触空间关系可以将寄生生物分为体内寄生生物和体外寄生生物。前者指寄生于肠道、组织内或细胞内的寄生生物，如病毒、细菌、线虫等；后者指寄生于宿主体表的寄生生物，如蚤、虱、某些真菌等。

（二）宿主分类

一种寄生生物可以拥有多种不同的宿主（或在不同的发育阶段拥有不同的宿主），按宿主相对于寄生物的作用，宿主也可进行分类。

按宿主在寄生物不同发育阶段的作用，分为终宿主和中间宿主。前者是寄生物成体（如寄生虫成虫）或有性生殖阶段所寄生的宿主；后者是寄生物幼虫或无性生殖阶段所寄生的宿主。

按宿主在寄生物传播过程中的作用，分为储存宿主和转续宿主。前者是指与被致病宿主并存的其他生物宿主，例如日本血吸虫成虫可寄生于人和牛，牛即为血吸虫的储存宿主。后者是指不能完全满足寄生物完整发育过程的非正常宿主，如卫氏并殖吸虫的童虫进入野猪体内不能发育为成虫，若犬吞噬含有此虫的野猪肉，则其可在犬体内发育为成虫，野猪就是该虫的转续宿主。

三、人体微生态系

从群体生物学和生态学的角度观察人体，可以将人体视作人的真核细胞群与微生物的原核细胞

群、真核细胞群及非细胞型生物组成的生物共同体。据测算，人体表与体内的原核生物数量是人体自身细胞数量的10倍，它们参与了人体的代谢过程，参与了人体内环境的稳态调节，参与了人体免疫系统的构建，是正常人体不可或缺的部分，故称之为人体微生态系。组成微生态系的微生物称为正常微生物群。

（一）正常微生物群

人体微生态系中的微生物成员包括原籍微生物群与外籍微生物群。原籍微生物群定植在宿主的上皮细胞表面上，从婴儿的初级群落开始，逐步演替到成年后的终极群落，与机体形成动态协调的统一体，是正常人体生理机制的重要组成部分。正常微生物群在数量及种类比例上维持稳定状态，与宿主和环境之间相互依赖、相互制约，形成一种微生态平衡状态，对限制病原生物，维持人体健康有重要作用。当此平衡被打破时即表现为疾病状态。

正常微生物群的生理作用主要表现在以下几个方面：①生物拮抗，指分布在皮肤黏膜的正常微生物群拮抗外源病原生物的生物屏障作用。包括代谢干扰（专性厌氧菌在代谢过程中产生有机酸，包括挥发性脂肪酸和乳酸，降低局部环境的pH与氧化还原电势，使不耐酸和需氧的外源致病菌生长繁殖受到抑制）；占位性保护（正常微生物群与黏膜上皮细胞紧密接触，形成一层膜菌群，干扰致病菌的定植）；营养竞争（处于主导地位的庞大正常微生物群在营养的争夺中占据优势，不利于外源致病菌的生长与繁殖）等。②营养作用，指位于人体消化道的正常微生物群有的能合成维生素B_2、维生素B_{12}、维生素K、烟酸及叶酸等供人体利用，有的能帮助食物营养的消化和吸收，或参与某些物质的代谢、转化（如胆汁代谢、胆固醇代谢及激素转化）等过程。③免疫作用，指正常微生物群作为免疫诱导物质，可刺激机体免疫系统产生对病原菌有抑制作用的免疫产物。如某些肠道杆菌与肠道致病菌有共同抗原，能刺激肠黏膜下淋巴细胞增殖，诱导sIgA产生，当sIgA与肠道致病菌发生反应时，即可阻断其对肠道黏膜上皮细胞的黏附和穿透作用。④保健作用，正常微生物群与人体有复杂的生态关系，现已明确肠道细菌总编码基因要超过人体编码基因数目的50～100倍，在维持、促进机体健康稳态方面有着重要意义。

（二）微生态失调

人体微生态系因某种原因（如菌群更替、菌群易位、宿主免疫力下降等）失衡时，可使人体陷入疾病状态。此时，人体微生态系由生理组合转变为病理组合，其中部分外籍菌群因失去制衡而大量繁殖，改变了与人类的共生关系，转变为致病菌。如因抗生素滥用引发的菌群失调症；人体免疫缺陷状态可引起白假丝酵母菌、弓形虫、隐孢子虫感染等。这类感染称为机会性感染，其病原体称为机会致病菌。

四、感染

病原生物与宿主免疫系统间相互作用所引起的病理生理变化称为感染（infection）。感染的形式、发生、发展及预后受诸多因素的影响，了解与掌握感染的影响因素、类型及意义，对防治感染性疾病有重要意义。

（一）感染的影响因素

感染的影响因素包括病原体、宿主免疫力及环境。

1.病原体

病原体对感染的影响主要反映在致病性与数量两个方面：①致病性，病原体的致病性通常是指其直接与间接造成宿主病理损害的生物结构与机制。在机制上包括对宿主的侵袭能力、毒性作用；在结

构上可以分为结构性致病物质(非分泌性)与分泌性致病物质。病原体的侵袭能力系其对宿主机体入侵过程中所表现的生物学作用,如吸附、定植以及对宿主免疫系统的逃逸等。病原体的毒性作用则是以宿主受到的损害严重性及后果来反映,通常表现为组织细胞的损伤、代谢过程的紊乱及最终出现的临床特定病型(如天花、麻疹、破伤风、肠热症、疟疾等)。结构性致病物质是由病原体的结构成分作为致病物质,如病毒的吸附蛋白(包括流感病毒的血凝素、人类免疫缺陷病毒的 gpl20 等)、细菌的脂多糖、分泌系统,蠕虫的吸盘,节肢动物的口器等。分泌性致病物质多为病原体的代谢产物,例如细菌的外毒素、侵袭性酶,原虫溶组织酶,蠕虫的抗凝素等。②数量,在大多数感染过程中,病原体的侵入数量决定感染的状态与形式,少量的病原体入侵,可能迅速为机体免疫系统阻挡,不出现临床疾病表现,形成隐性感染。大量的病原体入侵,则可导致严重的病理损伤,出现明显的临床症状,称为显性感染。引起显性感染的病原体数量即使在同一种病原体亦非定值,因为还要取决于病原体所具有的致病力与机体针对这一病原体所产生的合适免疫力。

在实验研究中,病原体感染能力的强弱一般以毒力来衡量。毒力是指病原体进入宿主机体并在体内定植、扩散、繁殖和对宿主细胞形成选择性毒性损害的能力。毒力的量化指标以半数致死量(median lethal dose,LD50)或半数感染量(median infective dose,ID50)表示。

2.宿主免疫力

宿主免疫力是感染发生、发展的重要影响因素。宿主免疫力由固有免疫与适应性免疫两部分组成。前者对病原体构成防御屏障,并在感染早期发挥主要的清除、杀灭病原体作用及限制病原体播散作用。后者可特异性地针对特定病原体形成高效的清除机制,并可形成与维持长期的选择性免疫作用。但宿主免疫力也可能在感染过程中成为导致宿主机体组织损伤的重要原因。

3.环境

环境对于感染的影响主要表现在以下几点:①提供病原生物的生存条件,多数病原体的传播具有地域性,这是因为病原体的生存或传播病原体的媒介生物的生存需要一定的地理、气候条件,如华支睾吸虫只限于亚洲东部分布,而日本血吸虫的分布在我国限于长江流域等。②形成病原生物的适宜传播途径,如消化道传播的病原体与环境中生活污水、食品污染密切关联,而日本脑炎病毒、疟原虫的感染则与由温度、湿度形成的媒介蚊子密度互相平行。③增加人群的易感因素,人口流动、生活条件与习惯的改变,以及医源性因素均可增加与病原体的接触机会,使人群易感性增强。

(二)感染的类型

由于感染过程受许多因素的影响,并导致感染表现的多样化与复杂化,感染可以在不同层面上分成不同的类型。

1.基于病原体属性的感染分类

根据引起感染的病原体类型可分为细菌性感染、病毒性感染、真菌性感染、寄生虫感染。

2.基于流行病学意义的感染分类

从流行病学意义上感染分为显性感染、隐性感染、潜伏感染与携带状态。显性感染与隐性感染以出现或不出现临床疾病表现作为区分。潜伏感染是特指病原体以隐伏状态寄生于宿主细胞内的一种感染,这一感染状态一般发生于显性感染或隐性感染之后,潜伏感染的病原体在一定条件下可被激活,重新引起临床感染。携带状态则是特指临床感染表现消失后,病原体在机体的潴留状态。显性感染、隐性感染与携带状态都是流行病学意义上的传染源。尤其是隐性感染与携带状态因其缺乏明显的临床感染表现,常常可因被忽视而成为最主要的病原体传播来源,因此在流行病学上具有十分重要的意

义。潜伏感染一般不形成病原体的播散。

3.基于病原体来源的感染分类

根据引起感染的病原体来源可将感染分为外源性感染和内源性感染。外源性感染指体外环境入侵的病原生物所造成的感染；内源性感染指体内潜在的病原生物所引起的感染。导致内源性感染的病原体多为机会致病病原体与处于潜伏感染状态的病原体。内源性感染一般具有条件依赖性。

4.基于临床病程的感染分类

显性感染中临床病程短于 6 个月的感染称为急性感染；临床病程长于 6 个月的感染称为慢性感染。值得一提的是，以 6 个月病程作为急慢性感染的分界也不是绝对的。

5.基于发生部位的感染分类

感染发生局限于局部组织、器官的称为局部感染；感染因血行播散而弥散于全身的称为全身感染。

6.基于特定发生环境的感染分类

易于或集中在某个特定环境下发生的感染以该环境定名，如医院内感染、社区感染等。

(三)感染的意义

就生物进化而言，感染对病原生物所造成的选择压力，可促使其产生的遗传突变被选择性地保留，从而影响病原生物的致病性、宿主转换等生物学性状，并对人类的疾病及疾病发生过程产生巨大影响。

感染对于人类具有双重意义。一方面，感染使人类的免疫系统经受选择的压力而不断进化；促使免疫系统建立适应性免疫，以致大多数感染都以隐性感染方式发生。另一方面，严重感染（尤其是烈性传染病）在很多方面给人类带来灾难，如历史上瘟疫曾多次造成人口剧减，给社会发展带来极大影响；感染还可导致机体的免疫系统功能异常，引发免疫缺陷性疾病和免疫损伤性疾病。

第三节　病原生物学发展历程

人类研究病原生物的历程可追溯至公元前。由于病原生物多数体积小，不易观察，因此古代人类未能具体观察记录其形态，但在生产实践中已经对病原生物的传播、预防和治疗做了相关记载。这一阶段由于技术所限，属于病原生物学研究的经验时期，是现代病原生物学研究的萌芽阶段。

真正意义上的近代病原生物学研究是从显微镜的发明开始的。1675 年，Leeuwenhoek 发明了可以观察到细菌的显微镜，并记录了细菌的形态。由此，显微镜的普及使用使微生物从不为人知的陌生概念逐渐演变为一个为人熟悉的生物种群，这为病原生物学的研究提供了重要的工具和良好的认识基础。

19 世纪中叶，Pasteur 在欧洲有关“自然发生论”的科学大论战中，采用的系列科学实验方法及所得出的结论使人们对发酵、腐败、疾病等现象成因的认识发生了根本性的改变。因“细菌致病学说”的兴起，奠定了医学病原生物学诞生的基础。借助显微镜、细菌染色方法、细菌培养方法，大量病原生物及其感染机制被发现，这些成为 20 世纪初主要的诺贝尔奖获奖项目。例如，Pasteur 发现葡萄球菌，Koch 发现炭疽杆菌、结核杆菌、霍乱弧菌，1851 年 Bilharz 发现埃及血吸虫，1880 年 Laveran 发现疟原虫，1897 年 Ross 发现疟疾传播过程等。这些工作不仅发现了各种感染性疾病的病原体和传播过程，更为重要的是，经过这一系列的研究工作，第一代病原生物学家建立起了现代病原生物学研究的基本理论、

基本方法与基本方式，从而开创了以病原生物学研究为先导的生命科学研究的新纪元。

值得一提的是，Koch 在完成大量病原生物分离鉴定工作的基础上，提出了确定病原体的著名法则——Koch 公设（Koch′s postulates）。其基本内容包括：①同一种疾病中应能查见相同的病原菌；②在宿主体内可分离、培养得到纯的病原菌；③以分离、培养所得的病原菌接种易感动物，可引起相同的疾病；④从人工感染动物体内可重新分离、培养获得纯的病原菌。该法则为多种传染病病原生物的发现提供了理论指导。然而，在运用该法则的同时也应注意一些特殊现象，如带菌者并未表现出明显的临床症状、有些病原生物无法用人工方法培养（如麻风杆菌）、有的病原生物尚未发现有易感动物等。因此，传统意义上的 Koch 法则虽依然是人们认识新型病原体的指导，但仍需适当补充完善以适应病原生物学的发展。

有鉴于此，Fredricks 于 1996 年提出了包含核苷酸序列检测的 Koch 公设修正案。其内容为：①病原体的序列应存在于患某种疾病的大多数人群体内；②病原体的序列应存在于患病器官内；③无病者或无病器官应没有或很少有病原体序列的存在；④用原位杂交或电镜可在疾病器官的病变部位中发现病原体的序列；⑤病原体的序列可在首次发现此序列的实验室及其他实验室内被重复检出；⑥病原体引起的疾病被治愈后，患者体内该病原体的序列数量减少或消失；⑦患者发病前应能够检出致病病原体的序列，且该病原体序列的拷贝数与疾病的严重性平行。

进入 20 世纪，生物化学、遗传学、免疫学、分子生物学技术的发展和应用，推动了病原生物学的迅猛发展。新型病原生物不断被发现并得到深入研究。例如，引起获得性免疫缺陷综合征的人类免疫缺陷病毒，引起高致死性出血热的埃博拉病毒，导致输血后肝炎的丙型肝炎病毒，可造成腹泻性疾病的星状病毒，引起严重急性呼吸综合征的 SARS 冠状病毒，导致猫抓热的汉塞巴尔通体，引起军团病的嗜肺军团菌，引起莱姆病的伯氏疏螺旋体，造成腹泻病的小隐孢子虫和引起巴布亚新几内亚新生儿死亡的福勒伯尼类圆线虫等。应用分子生物学技术，对病原生物致病机制的研究已深入到分子水平和基因水平。近 80 种人类病毒和 50 多种人类致病菌的基因组测序完成。基因分型方法被广泛应用于病原生物的分类、新种鉴定、流行病学调查及待检菌遗传学特征分析等，在临床病原生物学检验中，开发了多种类型的快速病原生物学检验技术，提高了感染性疾病的快速诊断率。采用分子生物学技术分离或制备了多种新型疫苗，并创制了新型疫苗——核酸疫苗，用于传染性疾病的预防。新型抗生素和新型抗病毒制剂不断被研发上市。但相对人类面临的感染性疾病的威胁，新现和再现感染性疾病的病原学研究、重要病原生物的致病性研究、新型疫苗的制备研究、临床病原生物学诊断技术开发等依然任重而道远。

第四节　病原生物控制与生物安全

病原生物广泛存在于自然界，与人类的关系极为密切。某些病原生物还可引起严重的疾病，危害人类的生命健康。因此，人们常利用物理或化学因素来抑制或杀死环境中及机体体表的病原生物，从而防止病原生物的污染或传播，这种对病原生物的控制方法通常称为消毒与灭菌。

人们在从事病原生物学研究时，为了保证人类和环境的安全，应严格执行实验室生物安全规则，必要时需采取适当的措施进行个人防护，以防止潜在危险性因子的暴露及播散，达到生物安全的目的。

一、病原生物的控制

在医药学实践中，通常需要有效方法以控制病原生物的生长、繁殖与代谢。同时，许多因素也会影响病原生物控制的效果。下面将介绍与病原生物控制相关的基本概念、主要方法及影响因素。

（一）病原生物控制的基本概念

病原生物控制的基本概念

1.消毒

消毒是指杀灭物体上病原生物，但不一定能杀灭细菌芽孢和非病原生物的方法。用于消毒的化学药品称为消毒剂。消毒剂在常用浓度下通常仅能杀灭细菌的繁殖体或病毒，要杀灭细菌的芽孢则需提高浓度或延长作用时间。

2.灭菌

灭菌是指杀灭物体上包括细菌芽孢在内的所有病原生物和非病原生物的方法。灭菌的结果是无菌，因此比消毒更彻底。在医疗用品中，凡是进入人体血液、组织和体腔的医用器材，如手术器械、注射用具、内窥镜、引流管等，都必须达到灭菌标准。在实验室中，严格要求无菌的实验器材、试剂及用于培养微生物的培养基等也需要灭菌。

3.无菌

无菌是指物体中无任何活的病原生物存在。经过灭菌的物品是无菌的。无菌操作或称无菌技术是指防止病原生物进入人体或其他物品的操作技术。其所用器具材料须先经灭菌处理，如外科手术时防止细菌进入创口。

4.防腐

防腐是指抑制病原生物生长繁殖、防止物品腐败变质的方法。用于防腐的化学制剂称为防腐剂。一般使用同一种化学制剂在高浓度时为消毒剂，在低浓度时为防腐剂。由于在低浓度防腐剂作用下细菌一般并未死亡，因此在选择防腐剂时要注意安全和有效。

（二）病原生物控制的主要方法

用于病原生物控制的方法主要有物理控制方法、化学控制方法和药物控制方法，各种方法对病原生物所达到的控制效果不同。

1.物理控制方法

多种物理因素如热力、辐射、超声波、过滤、干燥、低温及改变渗透压等，均能对病原生物的生长繁殖产生一定的影响，并由此达到控制病原生物生长繁殖的目的。

（1）热力灭菌法。高温对病原生物具有杀灭作用，其机制是由于热力可引起蛋白质变性、核酸降解、细胞膜损伤等，造成病原生物生长受到抑制或死亡，因而常用于对病原生物的控制。各种病原生物对高温的抵抗力不同，病毒对高温最为敏感；大部分无芽孢细菌、真菌的菌丝体和酵母菌加热至 56℃ 数分钟即可死亡；而细菌芽孢和真菌的一些孢子及休眠体，对高温的抵抗力较强，如细菌芽孢在沸水中数分钟甚至数小时仍能存活。目前，高温对病原生物的致死作用，已广泛应用于医药实践中的消毒与灭菌。热力灭菌法可分为干热灭菌法与湿热灭菌法两大类。

第一，干热灭菌法。在无水的状态下，利用高温使病原生物脱水、大分子变性而被杀灭。干热灭菌法主要适用于耐高温的玻璃制品、金属制品及不允许湿热灭菌物品的灭菌。

焚烧是一种彻底的灭菌方法。适用于污染物品及实验材料等废弃物或动物尸体的处理。

烧灼是直接用火焰杀灭病原生物的方法。此方法灭菌迅速、简便，但使用范围有限。适用于病原生物学实验中接种环、试管口、瓶口等的灭菌。

干烤是利用干燥箱的热空气灭菌，其优点是可保持物品干燥。一般加热至160℃作用2小时即可杀灭包括细菌芽孢在内的所有病原生物。升高温度可缩短灭菌时间，若加热至170℃则作用1小时即可。如果被处理物品传热性差、体积较大或堆积过挤时，需适当延长时间。此法适用于高温下不变质、不损坏、不蒸发、不易燃的物品的灭菌，如玻璃器皿、瓷器、玻璃注射器等耐高温物品。

红外线是指波长为0.77～1000μm的电磁波，其中波长为1～10μm时热效应最强。由于红外线照射处能量被直接转换为热能，通过提高环境中的温度和引起水分蒸发而起到干燥作用，影响病原生物的生长。但热效应只能在照射物品的表面产生，因此不能均匀加热物体。此法多用于不适于高温的医疗器械的灭菌，也常用于餐具消毒。

微波是一种波长为1～300mm的高频电磁波。主要通过使介质内极性分子呈现有节律的运动，分子间互相碰撞和摩擦，产生热能而灭菌，但灭菌效果不稳定。微波的频率较高，穿透力较强，可穿透玻璃、塑料薄膜和陶瓷等物品，但不能穿透金属。此法多用于食品、药品、非金属器械及餐具等的消毒。

第二，湿热灭菌法。主要通过加热煮沸或产生水蒸气的热量进行消毒灭菌。在同一温度下，湿热灭菌法比干热灭菌法的效果好。这是因为菌体蛋白在湿热中易于凝固，蛋白质凝固所需的温度与其含水量有关，含水量愈大，发生凝固所需的温度愈低，湿热中菌体蛋白质吸收了水分，因此较同一温度的干热更易凝固；湿热的穿透力比干热大，可使物品深部也达到灭菌温度；湿热的蒸汽有潜热存在，水由气态变为液态所释放的热能，可迅速提高被灭菌物品的温度。

巴氏消毒法利用较低温度杀死液体中的病原菌或特定微生物，而不破坏物品中不耐热的重要成分的消毒方法，由巴斯德(Louis Pasteur)首创而得名。一般是61.1～62.8℃加热30分钟或72℃加热15秒，可杀死液体中的链球菌、沙门菌、布鲁菌、结核分枝杆菌等。此法多用于酒类、牛乳类制品的消毒。

煮沸法将物品置于水中加热至沸点(1个大气压，100℃)，持续5分钟可杀灭细菌的繁殖体，细菌芽孢常需煮沸1小时至数小时才能被杀灭。在水中加入2%碳酸钠，可提高沸点至105℃，既可增强杀菌作用，又能防止金属器械生锈。本法简单方便，经济实用，多用于餐具、玻璃器皿、一般外科器械等的消毒。

流通蒸汽消毒法利用1个大气压下100℃的水蒸气进行消毒。常用的器具是流通蒸汽灭菌器或者蒸笼等，100℃持续15～30分钟可杀灭细菌的繁殖体，但不能杀灭全部细菌芽孢。此种方法设备简单，不要求耐压，成本较低，使用时被消毒物品的包装不宜过大，放置不宜过密，以免阻碍蒸汽穿透。主要用于一般外科器械、注射器、餐具及不耐高热物品的消毒。

间歇蒸汽灭菌法利用反复多次流通蒸汽间歇加热，以达到使不耐高温物品灭菌的目的。方法是将需要灭菌的物品置于流通蒸汽灭菌器或蒸笼中，100℃加热15～30分钟杀灭其中的繁殖体，取出后放入37℃培养箱中过夜，使残存的芽孢发育为繁殖体，次日再用流通蒸汽将复苏的芽孢杀灭。如此连续三次即可将灭菌物品上的病原生物全部杀灭，同时又不会破坏其不耐高温的重要成分。此法适用于不耐高热物品的灭菌，如含糖或牛奶的培养基等。

高压蒸汽灭菌法是在密闭的耐压容器内，利用水蒸气形成超过大气压的压力与超过100℃的高温进行灭菌的方法。高压蒸汽灭菌法是一种最常用、最有效的灭菌方法。通常使用高压蒸汽灭菌器，在103.4kPa(1.05kg/cm^2)的蒸汽压下，温度可达到121.3℃，持续15～20分钟，即可杀灭包括细菌芽孢在内的所有病原生物。此法应用范围较广，适用于普通培养基、生理盐水、玻璃器皿、手术器械、敷料等耐

高温、耐湿物品的灭菌，也可用于污物和排泄物的灭菌。

(2)辐射杀菌法。辐射杀菌法可分为两种，即非电离辐射(如日光、紫外线等)和电离辐射(如X射线、β射线和γ射线等)。

紫外线(ultraviolet ray，UV)。紫外线波长为10～400nm，其中波长为240～280nm的紫外线(包括日光中的紫外线)具有杀菌作用，尤以265～266nm的杀菌作用最强，因为这与DNA的吸收光谱范围一致。紫外线的杀菌机制是作用于DNA，使一条链上相邻的两个胸腺嘧啶共价结合形成二聚体，从而干扰DNA的复制与转录，导致病原生物的变异或死亡。部分病原生物受紫外线照射损伤后置于可见光下，可重新正常生长繁殖，称为光复活作用。其原因是在病原生物细胞内存有光复活酶，它能分解紫外线照射而形成的嘧啶二聚体，使DNA的二聚体解聚。紫外线照射20～30分钟即可杀死空气中的病原生物，对细菌、真菌、病毒(主要是DNA病毒)、立克次体、螺旋体、原虫等多种病原生物有杀灭作用，但不同种类的病原生物对紫外线照射的敏感性不同。紫外线穿透力弱，普通玻璃、纸、有机玻璃、一般塑料薄膜、尘埃和水蒸气等都对其有阻挡作用，因此仅适用于空气、物体表面的消毒灭菌，例如无菌室、手术室、传染病室、医院病室及实验室等的空气消毒，或用于不耐热塑料器皿等物体的表面消毒。杀菌波长的紫外线对人体皮肤、眼睛均有损伤作用，应注意个人防护。

电离辐射。电离辐射具有较高的能量和较强的穿透力，主要包括X射线、β射线、γ射线和高速电子等。其具有较强的杀菌效果，在足够剂量时，对各种病原生物均有致死作用。电离辐射的杀菌机制在于可瞬间产生大量的氧自由基，能损伤细胞膜、破坏DNA复制、引起酶系统紊乱而导致病原生物死亡。电离辐射用于消毒灭菌具有许多独特的优点：能量大，穿透力强，可彻底杀灭物品内部的病原生物，灭菌作用不受物品包装、形态的限制；不需加热，有“冷灭菌”之称，可用于忌热物品的灭菌；方法简便，不污染环境，无残留毒性。常用的辐射源为放射性核素60Co，可用于大量一次性医用塑料制品、生物制品、药品和不耐热物品的灭菌；也可用于食品的消毒，而不破坏其营养成分；亦能用于处理污水污泥等。电离辐射可造成人体损伤，使用时应注意防护。

滤过除菌法。利用物理阻留的方法除去液体或空气中的病原生物，以达到无菌目的。所用的器具是滤菌器，滤菌器含有微细小孔(直径为0.22μ左右)，只允许液体或气体通过，而大于滤菌器孔径的病原生物则不能通过。一般可除去细菌，但不能除去体积微小的病毒、支原体和某些L型细菌。滤过法主要用于一些不耐高温、亦不能用化学方法处理的物品如血清、细胞培养液、毒素、抗生素等的除菌，也可用于空气的除菌。

(3)超声波杀菌法。超声波在20～200kHz的频率范围内，对病原生物具有一定的杀灭作用。在液体中的病原生物细胞可因高频率的超声波作用而裂解死亡，其作用机制主要是通过超声空化效应造成压力的改变，在应力薄弱区可形成许多小空腔，并逐渐增大，最后崩解而产生巨大压力，导致病原生物的结构被破坏而达到杀死病原生物的目的。超声波的杀菌效果及对细胞的影响与多种因素有关，如声波频率、作用时间、病原生物种类、细胞大小、形状及数量等。一般来说，高频率超声波比低频率杀灭病原生物的效果好，体积大的病原生物比体积小的病原生物更易受超声波破坏；杆菌比球菌、丝状菌比非丝状菌更易被杀灭，而病毒较难被破坏。超声波杀灭病原生物并不彻底，但能明显减少病原生物的数量，可用于食具的消毒。目前主要应用超声波裂解细胞，以分离提取细胞组分或制备抗原。

(4)干燥与低温抑菌法。干燥和低温具有很好的抑菌作用，也具有一定的杀菌作用。

干燥。水是病原生物细胞构成与代谢的必要成分，干燥可使病原生物脱水、浓缩、新陈代谢减慢，甚至生命活动停止。不同病原生物对干燥环境的耐受性不同，如脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、苍白密螺

旋体等的繁殖体在空气中干燥时很快死亡；而结核分枝杆菌、溶血性链球菌、炭疽芽孢杆菌及真菌、乙型肝炎病毒等抗干燥力较强；细菌的芽孢对干燥的抵抗力更强，如炭疽芽孢杆菌的芽孢可耐干燥达数十年。虽然干燥不能杀灭这些耐干燥的病原生物，但却能抑制它们的生长繁殖。干燥法主要用于保存食品、药品。此外，也可通过浓盐或糖渍食品的方法，降低其中病原生物的含水量直至干燥，以有效抑制病原生物的繁殖，防止食品、药品变质。

低温。可使病原生物的新陈代谢减慢，生长繁殖受到抑制。低温不但不能杀灭病原生物，还有利于病原生物的长期存活，当温度回升至适宜范围时它们又能恢复生长繁殖，故常利用低温保存菌种。利用低温保存食品、药品不易变质。利用低温反复多次的冻融可明显减少病原生物的数量，具有一定的杀灭病原生物的作用。由于冷冻时病原生物内部的水分可形成结晶，损伤细胞结构，并产生膨胀导致细胞崩解，因此实验室常用此原理制备细菌的可溶性抗原。在保存菌种时，为避免解冻时对细菌造成损伤，可在低温真空状态下抽去水分，此法称为冷冻真空干燥法，是目前保存菌种的最好方法，一般可保存微生物数年至数十年。

2.化学控制方法

许多化学药物或制剂具有抑制病原生物生长繁殖和杀灭病原生物的作用，常被用于病原生物的控制。主要有消毒剂和防腐剂，它们对病原生物和人体组织细胞的作用无选择性，都有毒害作用，故只能外用或用于环境的消毒。消毒防腐剂的作用机制包括以下几种。

(1)促使病原生物蛋白质变性或凝固。大多数重金属盐类(高浓度)、酚类、醇类、醛类、酸碱类和氧化剂等消毒防腐剂均具有此作用。如乙醇可引起菌体蛋白构型改变而扰乱多肽链的折叠方式，造成蛋白变性；二氧化氯能与细菌胞质中酶的巯基结合，致使这些酶失活。

(2)干扰病原生物的酶系统或核酸合成。某些重金属盐类(低浓度)、氧化剂等可干扰病原生物的酶系统。这类消毒剂能与病原生物某些酶分子上的-SH 基结合，而使相关酶失去活性。某些醛类、染料和烷化剂通过影响核酸的生物合成和功能从而发挥杀菌抑菌作用，如甲醛可与病原生物核酸碱基环上的氨基结合，环氧乙烷能使病原生物核酸碱基环发生烷基化，吖啶染料上的吖啶环可连接于病原生物核酸多核苷酸链的两个相邻碱基之间。

(3)损伤病原生物的细胞膜或细胞壁。某些阳离子表面活性剂、酚类(低浓度)、脂溶剂等，能降低病原生物细胞膜的表面张力，增加膜通透性，使胞外液体内渗，导致病原生物裂解。如酚类可导致病原生物细胞膜结构紊乱并干扰其正常功能，使其小分子代谢物质溢出胞外；戊二醛可与细菌胞壁脂蛋白发生交联反应，与胞壁酸中的 D-丙氨酸残基相连形成侧链，导致病原生物胞内外物质交换发生障碍。

3.药物控制方法

某些化学或天然药物对控制病原生物的生长繁殖具有较好的作用。根据药物来源的不同，可分为化学治疗剂与抗病原生物中药；根据药物作用对象的不同，可分成抗病毒药物、抗细菌药物和抗真菌药物。

(1)化学治疗剂。种类较多，与病原生物关系最为密切的是抗生素和抗代谢药物，它们在病原生物的控制中发挥着重要的作用。

抗病毒药物。主要包括核苷类药物、非核苷类反转录酶抑制剂、蛋白酶抑制剂、金刚烷胺类药物等。目前应用于临床的有十余种，如碘苷(IDU、又称疱疹净)、阿糖腺苷等主要用于治疗疱疹病毒感染；对流感病毒感染治疗有效的，如金刚烷胺、甲基金刚烷胺甲胺等；用于治疗艾滋病病毒感染，如齐多夫定、拉米夫定、沙奎那韦等。干扰素具有广谱抗病毒作用，主要用于慢性病毒性肝炎(乙型和丙型)、生殖器疱疹、尖锐湿疣等感染的治疗。云芝多糖、甘草酸、多聚肌苷酸和多聚胞啶酸等干扰素诱生剂可在

体内诱生干扰素。

抗细菌药物。主要包括抗细菌抗生素和化学合成抗细菌药物，这些药物抗细菌作用的机制不同，主要是由于它们对细菌特定靶位的药理作用不同。某些抗细菌药物可阻碍细胞壁的形成，如青霉素类、头孢菌素类、碳青霉烯类、单环 β-内酰胺类；某些抗细菌药物可针对细菌的代谢产生抑制作用，如氨基糖苷类、四环素类、大环内酯类、氯霉素；某些抗细菌药物则影响细菌细胞膜的功能，如多黏菌素。

抗真菌药物。主要包括抗真菌抗生素和化学合成抗真菌药物，按其作用机制可分为 3 类：作用于细胞膜的药物，如各种咪唑类药物、两性霉素及烯丙胺类的特比奈芬；作用于细胞壁的药物，如尼可霉素、刺白霉素、贝那诺霉素；作用于核酸的药物，如 5-氟胞嘧啶。其中两性霉素 B、5-氟胞嘧啶、克霉唑、益康唑等使用后副作用较大，而酮康唑、伊曲康唑等药物的抗真菌谱较广，安全性高，尤其对曲霉疗效好。治疗浅部真菌的感染主要是局部涂抹癣药水（膏）或克霉唑、达克宁霜剂等，而对于深部真菌感染的控制，可应用免疫抑制剂、皮质激素及广谱抗生素等药物。

（2）抗病原生物中药。许多中草药都具有抗病原生物的作用，而且抗病原生物中药的毒性低、过敏反应少，相互之间又具有协同作用。因此，人们在医疗实践中，常应用中草药及其提取物控制多种病原生物的感染。

抗病毒中药。目前从中草药中筛选出具有抗病毒作用的天然药物多达数百种，其中多种中药如黄芪、刺五加、石斛、丹参、龙胆草、瓜蒌皮等能诱导机体产生干扰素。也有研究证明板蓝根、大青叶、金银花、连翘、柴胡、蟛蜞菊、紫草、藿香、贯众、大黄等对某些病毒有一定的抑制作用。

抗细菌中药。具有抗细菌作用的中药如黄连、黄芩、赤芍、丹皮、甘草、黄藤素等。

抗真菌中药。具有抗真菌作用的中药有肉桂醛、桂皮醛、丁香酸、陈皮、全蝎、黄芩、黄精、茵陈蒿、龙胆草、白降丹等。

（三）病原生物控制的影响因素

病原生物的生长繁殖易受环境中各种因素的影响。当环境适宜时，病原生物新陈代谢旺盛，其生长繁殖迅速；若环境条件不适宜或剧烈改变超过一定限度，则可导致病原生物出现代谢障碍，生长受到抑制，甚至死亡。病原生物控制的影响因素有很多种，在应用时需加以考虑。

1.病原生物的种类、生活状态与数量

不同种类病原生物对各种病原生物控制方法的敏感性不同，如细菌繁殖体、真菌在湿热 80℃，5～10 分钟即可被杀死，而乙型肝炎病毒 85℃作用 60 分钟才能被杀灭。芽孢对理化因素的耐受力远大于繁殖体，炭疽芽孢梭菌繁殖体在 80℃只能耐受 2～3 分钟，但其芽孢在湿热环境中 120℃10 分钟才能被杀灭。生长成熟的病原生物抵抗力强于未成熟的病原生物。当物品上病原生物的数量多时，要将其完全杀灭需要作用更长时间或更高的消毒剂浓度。

2.病原生物控制方法、强度及作用时间

不同的控制方法对病原生物的作用也有差异，如干燥痰液中的结核分枝杆菌经 70％乙醇处理 30 秒即可死亡，而在 0.1％新洁尔灭中可长时间存活。即使是同一种病原生物控制方法，不同的强度也可产生不同的效果。例如甲型肝炎病毒在 56℃湿热 30 分钟仍可存活，但在煮沸后 1 分钟即失去传染性。大多数消毒剂在高浓度时起杀菌作用，低浓度时则只有抑菌作用，但醇类例外，70％～75％乙醇消毒效果最好。对于同一种病原生物控制方法，在一定条件下，作用时间越长，则效果越强。

3.消毒物品的性状

在病原生物控制的过程中，被处理物品的性状可影响灭菌效果。如煮沸消毒金属制品，15 分钟即

可达到消毒效果，而处理衣物则需 30 分钟；微波消毒水及含水量高的物品效果良好，但照射金属则不易达到消毒目的。此外，物品的体积过大、包装过严，都会妨碍其内部的消毒。物品的表面状况对消毒灭菌效果也有影响，例如环氧乙烷 880mg/L，30℃时作用 3 小时可完全杀灭布片上的细菌芽孢，但对玻璃上的细菌芽孢，同样条件处理 4 小时也不能达到灭菌目的。

4.消毒环境

病原生物控制的效果与消毒环境也密切相关，如温度、湿度、酸碱度及是否存在有机物等因素都对其有一定的影响。

(1)温度。热力灭菌时，随温度上升，病原生物灭活速度加快；紫外光源在 40℃时辐射的紫外线杀菌力最强；温度的升高也可提高消毒剂的消毒效果，如 2%戊二醛杀灭每毫升含 104 炭疽芽孢杆菌的芽孢，20℃时需 15 分钟，40℃时需 2 分钟，56℃时仅需 1 分钟。

(2)湿度。用紫外线消毒空气时，空气的相对湿度低于 60%效果较好，相对湿度过高，空气中的小水滴增多，可阻挡紫外线。用气体消毒剂处理小件物品时，30%～50%的相对湿度较为适宜；处理大件物品时，则以 60%～80%的相对湿度为宜。

(3)酸碱度。酸碱度对消毒剂的消毒效果影响明显。醛类、季铵盐类表面活性剂在碱性环境中杀灭病原生物效果较好，酚类和次氯酸盐类则在酸性条件下杀灭病原生物的作用较强。例如，1%碱性戊二醛溶液(pH 为 8.5)，作用 2 分钟即可杀灭 99.9%以上的结核分枝杆菌；而 pH 为 3.7 的戊二醛溶液要达到同样效果需作用 4 分钟。

(4)有机物。混在有机物如蛋白质中的病原生物对理化消毒灭菌方法的抵抗力增强，例如杀灭牛血清中的细菌繁殖体所需过氧乙酸浓度比杀灭无牛血清保护的细菌繁殖体高 5～15 倍。因此在消毒皮肤及物品器械前应先清洗干净；消毒排泄物时应选用受有机物影响小的消毒剂，如生石灰、漂白粉等，或提高作用强度，延长作用时间。

二、生物安全

生物安全是指避免危险生物因子造成实验室人员伤害，或避免危险生物因子污染环境、危害公众的综合措施。包括病原生物实验室的生物安全及对突发性危害事件的正确处理。下面主要介绍病原生物实验室的生物安全。

(一)病原生物危害程度分类

根据病原微生物的传染性、对个体或群体的危害程度，将病原微生物分为 4 类：①第一类病原微生物，指能够引起人类或动物非常严重疾病的微生物，以及我国尚未发现或已经宣布消灭的微生物。目前此类病原微生物尚无疫苗可预防。②第二类病原微生物，指能够引起人类或动物严重疾病，比较容易直接或间接在人与人、动物与人、动物与动物间传播的微生物。部分已有疫苗可预防。③第三类病原微生物，指能够引起人类或动物疾病，但一般情况下对人、动物或环境不构成严重危害，传播风险有限，实验室感染后很少引起严重疾病，且具备有效治疗和预防措施的微生物。④第四类病原微生物，指在通常情况下不会引起人类或动物疾病的微生物。其中，第一类和第二类病原微生物统称为高致病性病原微生物。

(二)病原生物实验室的分级

根据病原生物的危害程度及实验室的生物安全防护水平(biosafety level，BSL)，可将病原生物实验

室分为 4 级，以 BSL-1、BSL-2、BSL-3、BSL-4 表示。其中 BSL-1 防护水平最低，BSL-4 防护水平最高。

1.BSL-1 实验室

实验室为普通建筑结构，一般要求室内有洗手池，地面可清洗、消毒。不需特殊的遏制设备和设施。实验人员按照标准的病原生物操作规程，在开放的实验台上开展工作。处理对象是对人体、动植物或环境危害较低，不具有对健康成人、动植物致病的致病因子，如大肠埃希菌。

2.BSL-2 实验室

在 BSL-1 实验室的基础上，应配备高压灭菌设备及生物安全柜等设施。实验人员应接受过病原生物处理的特殊培训。处理对象是对人体、动植物或环境具有中等危害或具有潜在危险，对健康成人、动植物和环境不会造成严重危害的致病因子，如肝炎病毒、疱疹病毒、金黄色葡萄球菌等。

3.BSL-3 实验室

实验室应在建设物内自成隔离区，室内有明确分区（如清洁区、半污染区、污染区），且各区之间应有缓冲间。要求有独立的负压保护通风系统，以保证实验室内负压，且排出空气经滤过后不得循环使用。此外，还需配备双电路应急系统，以确保连续供电。实验人员应接受过致病性或可能致死的病原生物处理的专业训练。所有与病原有关的操作均需在生物安全柜或其他物理遏制装置中进行，或穿戴防护服进行操作。处理对象是对人体、动植物或环境具有高度危险性，主要通过气溶胶使人类染上严重的甚至致命的疾病，或对动植物和环境具有高度危害的致病因子，如高致病性禽流感病毒、人类免疫缺陷病毒、SARS 冠状病毒、结核分枝杆菌、霍乱弧菌等。

4.BSL-4 实验室

实验室选址应远离人口密集区域，设施应在独立的建筑物内，周围有封闭的安全隔离带。BSL-4 实验室设施与 BSL-3 基本相同，但要求有独立的供气和排气系统，排风装置须双重过滤。实验人员应在处理危险病原方面受过特殊和全面的训练。所有与危险病原有关的工作应限制在三级生物安全柜中，或实验人员使用装备生命支持系统的一体正压防护服，在二级生物安全柜中操作。处理对象是对人体、动植物或环境具有高度危险性，通过气溶胶途径传播或传播途径不明或未知的危险的致病因子，如克里米亚-刚果出血热病毒、埃博拉病毒、马尔堡病毒等。

BSL-1、BSL-2 实验室不得从事高致病性病原微生物的实验活动，BSL-3、BSL-4 实验室从事高致病性病原微生物实验活动。但对我国尚未发现或已经宣布消灭的病原微生物，应经有关部门批准后才能从事相关实验活动。

（三）病原生物实验室感染的控制

1.建立实验室安全管理体系

成立生物安全管理委员会，明确实验室生物安全负责人，严格实行责任制和责任追究制。定期检查实验室的生物安全防护，设施设备的运行、维护与更新，病原微生物菌（毒）种的保存与使用，实验室排放的废水、废气及其他废物处理等实验情况。如果发现问题，必须及时、彻底解决。

2.遵守实验室安全管理制度

严格执行国家和有关部门的实验室生物安全规范与标准，严格遵守实验室安全操作规程。在从事高致病性病原微生物的实验时，必须有两名以上的实验人员共同进行。不同种类的高致病性病原微生物实验，不能在实验室的同一安全区域内进行。严格进行操作，防止气溶胶的产生、扩散及吸入，妥善处理废弃物。严格进行菌、毒种的管理，严防高致病性病原微生物被盗、丢失、泄漏，保障实验室的安全，避免造成高致病性病原微生物的播散、流行或其他严重后果。

3.确保实验人员个人安全

生物安全实验室必须配备符合标准的个人防护装备，实验人员根据需要穿戴适合的工作服或防护服、口罩、手套、防护眼镜、面部防护罩、鞋套、专用鞋、呼吸器等，以确保安全。可产生含生物因子气溶胶的操作均应在生物安全柜中进行，不同等级生物安全实验室应配备相应的生物安全柜。实验人员必要时可进行相关疫苗的预防接种。

如果实验室发生高致病性病原微生物泄漏，应该立即采取以下措施：①封闭被病原微生物污染的实验室或者可能造成病原微生物扩散的区域；②向上级主管部门如实上报；③对密切接触者进行医学观察，必要时隔离治疗；④对相关人员进行医学检查；⑤进行现场消毒；⑥对染疫或者疑似染疫的动物采取隔离、捕杀等措施。

第二章

细菌学总论

细菌属于原核细胞型微生物，广泛存在于自然界中，其中部分细菌可引起多种疾病。本章介绍细菌的形态结构及其生物学意义；细菌的生理特性、变异现象与机制，细菌感染与免疫。

第一节　细菌的形态结构

认识细菌的形态及结构，有助于研究细菌的生理特性、致病性和免疫性，对细菌的鉴定、感染性疾病的诊断和防治等具有重要的意义。

一、细菌的大小与形态

细菌体积微小，肉眼不能观察到，必须借助显微镜放大数百至数千倍才能看见，其大小一般以微米（1μm＝1/1000mm）为计量单位。不同种类的细菌大小和形态不一，同一种细菌也因菌龄和环境因素的影响而有差异。根据单个细菌外形不同可将细菌分为球菌、杆菌、螺形菌三种基本形态（图 2-1）。

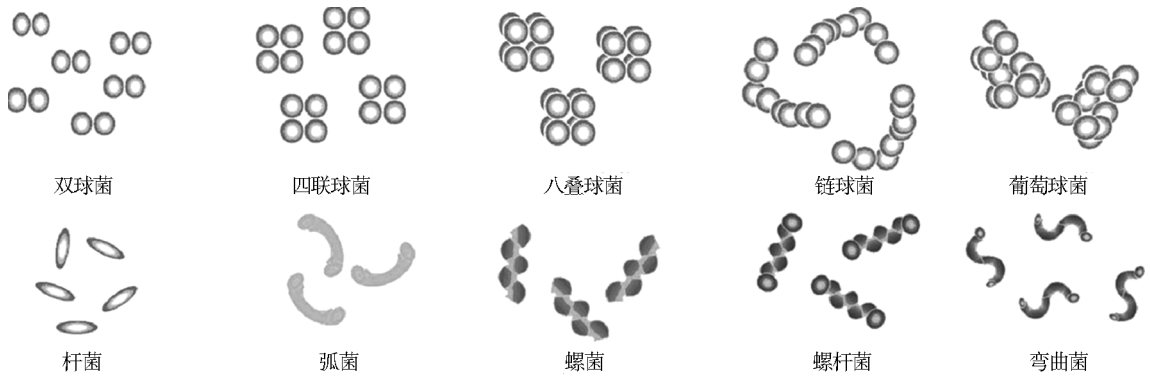


图 2-1　细菌的基本形态

（一）球菌

球菌为单个细菌呈球形或近似球形，直径 0.8～1.2μm，细菌可在不同平面分裂，形成不同的排列形式，根据其排列形式不同可分为以下几种。

1.双球菌

细菌在一个平面分裂，分裂后两个菌体成对排列。如肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌。

2.链球菌

细菌在一个平面分裂，分裂后多个菌体粘连呈链状。如溶血性链球菌。

3.葡萄球菌

细菌在多个不同平面上分裂，形成不规则葡萄状。如金黄色葡萄球菌。

4.四联球菌

细菌在两个互相垂直的平面上分裂，分裂后四个菌体粘连在一起呈正方形。如四联球菌。

5.八叠球菌

细菌在三个互相垂直的平面上分裂，分裂后八个菌体粘连在一起呈立方体。如藤黄八叠球菌。

(二)杆菌

杆菌为单个细菌呈杆状。其大小、长短、粗细差异较大，大的杆菌如炭疽芽孢杆菌长 3～10μm，中等的如大肠埃希菌长 2～3μm，小的如布鲁氏杆菌长仅 0.6～1.5μm。

杆菌形态多数呈直杆状，也有的菌体稍弯曲。多数呈分散存在，也有的呈链状排列称为链杆菌。菌体两端多呈钝圆，少数两端平齐（如炭疽芽孢杆菌）或尖细（如梭杆菌）。有的菌体短小称为球杆菌，有的两端膨大呈棒状称为棒状杆菌，有的呈分枝生长趋势称为分枝杆菌，有的末端常呈分叉状称为双歧杆菌。

(三)螺形菌

螺形菌菌体呈弯曲状，根据菌体弯曲特点分为两类。

1.弧菌

菌体长 2～3μm，只有一个弯曲，体短呈弧形或逗点状，如霍乱弧菌。

2.螺菌

菌体长 3～6μm，有两个以上弯曲，呈螺旋状，如鼠咬热螺菌。有的菌体细长弯曲呈弧形或螺旋形，称为螺杆菌，如幽门螺杆菌。

细菌形态受多种因素影响，当培养条件适宜时，培养出的细菌形态才较典型。如培养时间过短或过长，往往呈多形性；另外，细菌形态还受培养基种类、酸碱度、温度等多种因素的影响，故在鉴别细菌和诊断疾病时应予以注意。

二、细菌的结构

细菌虽然个体微小，但具有一定的结构。所有细菌都具备的结构称为基本结构，包括细胞壁、细胞膜、细胞质及核质。有些细菌除了基本结构外，因遗传和环境因素还具有特殊结构，如荚膜、鞭毛、菌毛、芽孢（图 2-2）。

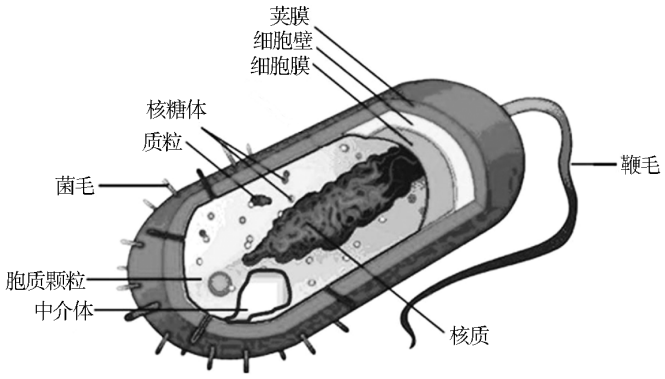


图 2-2　细菌细胞结构模式

(一)细菌的基本结构

1.细胞壁

细胞壁是细菌最外层结构,坚韧有弹性,成分复杂。其厚度随细菌种类不同各异,平均厚度为15～30nm。

细胞壁的主要功能包括:①维持细菌固有外形;②保护细菌抵抗低渗外环境,承受细菌内部强大的渗透压(5～20 个大气压);③与细胞膜共同完成胞内外的物质交换;④细胞壁上有多种抗原决定簇,决定细菌的免疫原性。用革兰染色法可将细菌分为革兰阳性(G+)菌和革兰阴性(G−)菌两大类,二者细胞壁结构与化学组成有很大差异(表 2-1)。

表 2-1　革兰阳性菌与革兰阴性菌细胞壁结构比较

细胞壁	革兰阳性菌	革兰阴性菌
强度	较坚韧	较疏松
厚度	20～80nm	10～15nm
肽聚糖层数	可多达 50 层	1～2 层
肽聚糖含量	占细胞壁干重 50%～80%	占细胞壁干重 5%～20%
糖类含量	约 45%	15%～20%
脂类含量	1%～4%	11%～22%
磷壁酸	+	−
外膜	−	+

(1)革兰阳性菌细胞壁。较厚,20～80nm,主要由肽聚糖和磷壁酸组成。

肽聚糖。是革兰阳性菌细胞壁主要成分,占细胞壁干重的 50%～80%,质地致密。革兰阳性菌的肽聚糖由聚糖骨架、四肽侧链和五肽交联桥三个部分组成(图 2-3)。聚糖骨架是由 N-乙酰葡糖胺和 N-乙酰胞壁酸两种氨基糖间隔排列,经 β-1,4 糖苷键连接而成。在 N-乙酰胞壁酸分子上连接四肽侧链(氨基酸依次为 L-丙氨酸,D-谷氨酸,L-赖氨酸,D-丙氨酸),其第三位的 L-赖氨酸的氨基通过五肽(五个甘氨酸)交联桥连接到相邻肽聚糖四肽侧链第四位的 D-丙氨酸羟基上,构成高强度的三维空间结构,即肽聚糖层。革兰阳性菌细胞壁肽聚糖层可多达 50 层,是抵抗胞内高渗透压维持菌体外形的主要成分。凡能破坏肽聚糖结构或抑制其合成的物质,都具有抑菌或杀菌的作用,如青霉素可抑制肽链交联,使之不能合成完整的细胞壁。溶菌酶能切断 N-乙酰葡糖胺和 N-乙酰胞壁酸之间的 β-1,4 糖苷键,破坏肽聚糖骨架,引起细菌裂解。

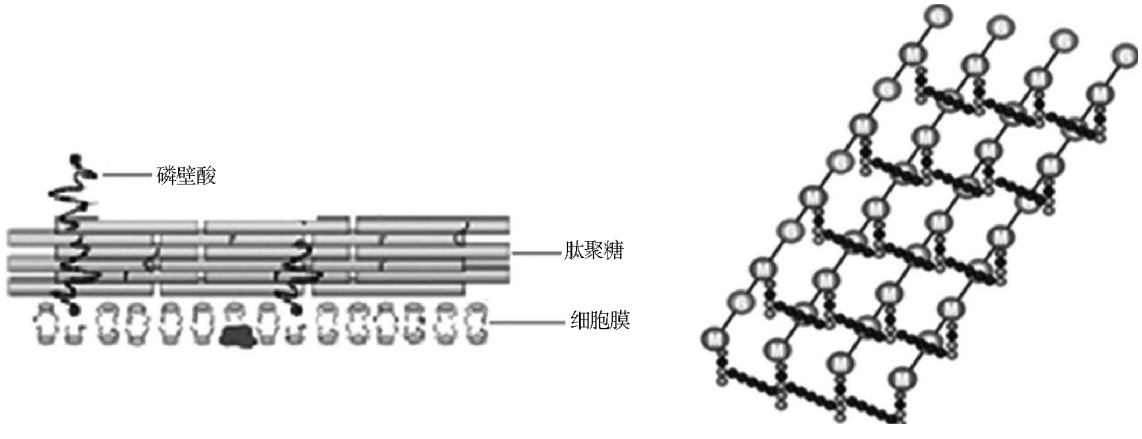


图 2-3　革兰阳性菌细胞壁结构模式

磷壁酸。是革兰阳性菌细胞壁的特有成分，它是由核糖醇或甘油残基经磷酸二酯键互相连接而成的多聚物，分壁磷壁酸和膜磷壁酸两种。壁磷壁酸一端结合于聚糖骨架上的 N-乙酰胞壁酸分子，另一端游离于细胞壁外。膜磷壁酸一端结合于细胞膜，另一端穿过肽聚糖层，延伸至细胞外。磷壁酸具有很强的抗原性，是革兰阳性菌重要的表面抗原，与血清分型有关。

某些革兰阳性菌细胞壁表面还有一些特殊蛋白质，如金黄色葡萄球菌的 A 蛋白、A 群链球菌的 M 蛋白等，多与致病性有关。

(2)革兰阴性菌细胞壁。较薄，10～15nm。其化学组成较复杂，主要由肽聚糖和外膜组成。

肽聚糖。含量少，仅 1～2 层，占细胞壁干重的 5%～20%，其肽聚糖骨架与革兰阳性菌相同，但其他成分和结构有较大差异。在大肠埃希菌的肽聚糖中，四肽侧链的第三位 L-赖氨酸被二氨基庚二酸(diaminopimelic acid，DAP)所代替，并由此直接与相邻聚糖骨架的四肽侧链上第四位 D-丙氨酸直接交联，没有五肽交联桥，故为结构疏松的二维平面结构(图 2-3)。

外膜。为革兰阴性菌胞壁特有的主要结构，在肽聚糖的外层，约占胞壁干重的 80%，由脂蛋白、脂质双层和脂多糖三个部分组成(图 2-4)。脂蛋白由脂质和蛋白质构成，是连接外膜与肽聚糖层的结构。其外端由脂质以非共价键结合于外膜脂质双层，其内端由蛋白质连接在肽聚糖四肽侧链中的 DAP 上，使外膜和肽聚糖层构成一个整体。脂质双层结构类似于细胞膜，在双层中镶嵌着多种蛋白质称外膜蛋白，可调控小分子亲水性物质的出入，而对抗生素等大分子物质则有一定的屏障作用。脂多糖(lipopolysaccharide，LPS)位于细胞壁最外层，通过疏水键附着于脂质双层上，由脂质 A(lipid A)、核心多糖和特异多糖三部分组成。脂质 A 为一种糖磷脂，是内毒素的毒性和生物学活性的主要组分，无种属特异性。由于不同种属细菌的脂质 A 基本相同，故不同细菌内毒素的毒性作用基本一致。核心多糖与脂质 A 共价连接，有种属特异性。特异性多糖位于脂多糖最外层，为革兰阴性菌的菌体抗原(O 抗原)，有种属特异性。LPS 对人和动物具有很强的毒性作用，是革兰阴性菌的主要致病物质，当细菌崩解后可释放出来，引起机体的发热反应，故称为内毒素或致热原。

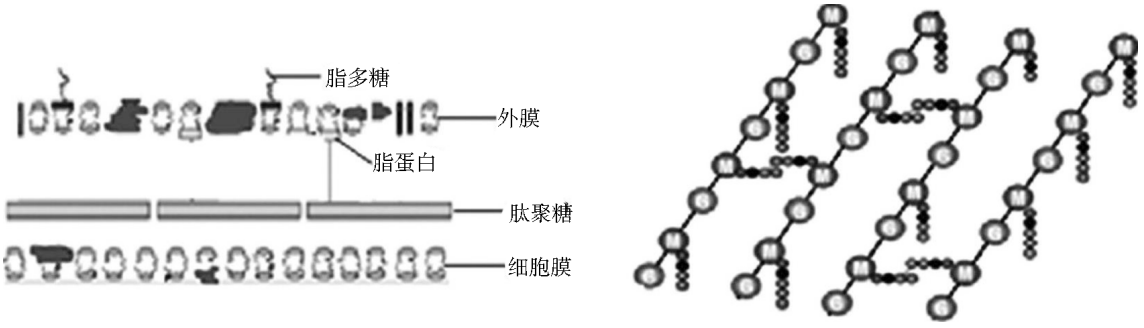


图 2-4　革兰阴性菌细胞壁结构模式

外膜具有细胞内外物质交换的作用，还能阻止大分子物质如抗体、溶菌酶、某些抗生素等进入细胞内。

在某些情况下，细菌的细胞壁合成受到抑制或遭到破坏时，细菌并不一定死亡，只是不能维持固有的形状，呈现多形性，此称为细胞壁缺陷型或 L 型，这往往是细菌产生耐药性的重要原因。某些细菌 L 型仍有一定的致病力，通常引起慢性感染，患者虽有明显的临床症状，但是采集患者标本作常规细菌培养时往往是阴性，此时应考虑有细菌 L 型感染的可能性，并选择有效的抗菌药物。

2.细胞膜

细胞膜又称胞质膜。细胞膜位于细胞壁内侧，紧包着细胞质。厚5～10nm，占细胞干重的10%～30%。细菌细胞膜为半渗透性的生物膜，其结构与真核细胞膜相似，由磷脂和蛋白质组成，但不含固醇类物质。

细胞膜的主要功能：①物质转运作用。细胞膜具有选择性通透作用，有利于营养物质及代谢产物进出细胞。②呼吸和分泌作用。细胞膜上的某些呼吸酶类可参与呼吸和能量的代谢；蛋白分泌系统与细菌的代谢和致病性密切相关。③生物合成作用。细胞膜上含有多种参与物质合成的酶类，细胞壁的许多成分及胞膜磷脂都在细胞膜上合成。此外，细胞膜还参与细菌的分裂。

中介体是细胞膜内陷、折叠、卷曲形成的囊状或管状结构，多见于革兰阳性菌。一个菌体内可有一个或多个中介体，因其扩大了细胞膜的表面积，增加了酶的数量和代谢场所，可为细菌提供大量能量，故又称“拟线粒体”。

3.细胞质

细胞质又称细胞浆，是细胞膜内无色透明的溶胶状物质，主要成分是水、蛋白质、脂类、核酸及少量糖类和无机盐，它是细菌合成蛋白质、核酸的场所，也是许多酶系反应场所。

(1)核糖体。又称核蛋白体，是细菌合成蛋白质的场所。每个细菌体内的核糖体可达数万个，为游离于细胞质中的微小颗粒，由RNA和蛋白质组成。细菌核糖体沉降系数为70S，由50S大亚基和30S小亚基组成。链霉素、庆大霉素可作用于30S小亚基，氯霉素和红霉素则作用于50S大亚基，均能干扰细菌蛋白质的合成，从而杀死细菌。真核细胞核糖体沉降系数为80S，由60S和40S两个亚基组成，故这些抗生素能杀死细菌却不会影响人体细胞。

(2)质粒。是染色体以外的遗传物质，为双股环状闭合的DNA。质粒可在胞浆内独立复制，可传给下一代，也可通过接合、转导等方式传递给其他细菌，因而与细菌的遗传变异密切相关。质粒可自行丢失或经人工处理而消失。医学上重要的质粒有R质粒(耐药性质粒)、F质粒(致育性质粒)、Vi质粒(毒力质粒)等，编码决定细菌的耐药性、性菌毛及毒素的产生等性状。

(3)胞质颗粒。是细菌贮藏能量和营养的场所，包括多糖、脂类、多磷酸盐等。颗粒的大小、数量常随菌种、菌龄及环境而异，营养充足时数量较多，养料缺乏时数量减少或消失。胞质颗粒用亚甲蓝染色时着色较深，称为异染颗粒(metachromatic granule)，如白喉棒状杆菌的异染颗粒常排列在菌体两端，可作为鉴别细菌的依据。

4.核质

核质又称拟核，为裸露的双股DNA，无核膜、核仁，但在细胞质中有固定的区域，是细菌的遗传物质。一个菌体内一般含有1～2个核质。核质的化学组成除DNA外，还有少量的RNA和蛋白质。因其功能与真核细胞的染色体相似，故也称之为细菌的染色体。

(二)细菌的特殊结构

1.荚膜

荚膜是某些细菌细胞壁外形成的光镜下可见(厚度≥0.2μm)的黏液性物质，厚度小于0.2μm者称为微荚膜。若黏液性物质疏松地附着于菌细胞表面，边界不明显且易被洗脱者称为黏液层。大多数细菌的荚膜为多糖，少数为多肽。荚膜多糖分子组成和构型的多样化使其结构极为复杂，具有免疫原性，可作为细菌分型和鉴定的依据。荚膜对一般碱性染料亲和力低，普通染色法不易着色，在光学显微镜下只能观察到菌体周围呈透明圈。如用荚膜染色法或墨汁负染法观察时，荚膜较清晰。荚膜的形成与菌体所处的环境密切相关，一般在人和动物体内或营养丰富的培养基中容易形成荚膜，而在普通培养

基上或连续传代则易消失。在固体培养基上，有荚膜的细菌形成光滑（smooth，S）型或黏液（mucoid，M）型菌落，失去荚膜后菌落则变为粗糙（rough，R）型。

荚膜与微荚膜的功能相同。①抗吞噬抗消化作用。荚膜具有抵抗宿主吞噬细胞的吞噬和消化作用，是病原菌重要的毒力因子。②黏附作用。荚膜多糖可使细菌黏附于组织细胞或无生命物体表面，是引起感染的重要因素。③抗免疫分子及药物的损伤作用。荚膜能保护菌体避免及减少补体、溶菌酶和抗菌药物等有害物质的损伤作用，增强细菌的侵袭力。此外，荚膜还有抗干燥作用。失去荚膜的细菌，致病力也会减弱或消失。

2.鞭毛

鞭毛是由细菌细胞质伸出的细长弯曲的丝状物。鞭毛长 5～20μm，可为菌体的数倍，但直径仅 12～30nm，需用电子显微镜观察。普通染色法不易着色，必须经特殊染色处理才能在光学显微镜下看见。根据鞭毛的数目和部位，可将鞭毛菌分为四类：①单毛菌，菌体一端有一根鞭毛，如霍乱弧菌；②双毛菌，菌体两端各有一根鞭毛，如胎儿弯曲菌；③丛毛菌，菌体一端或两端有一束鞭毛，如铜绿假单胞菌；④周毛菌，菌体四周有多根数量不等的鞭毛，如伤寒沙门菌。

鞭毛的化学组成是蛋白质，具有较强的抗原性，称为鞭毛（H）抗原，不同细菌的鞭毛抗原有别，可用于鉴别细菌和协助诊断疾病。

鞭毛是细菌的运动器官，有鞭毛的细菌运动非常活泼，可使细菌移向有利环境而逃避不利环境。一些细菌的鞭毛与致病性有关，如霍乱弧菌的鞭毛与细菌的黏附性有关，可穿透小肠黏膜表面黏液层，黏附于黏膜上皮细胞表面，产生毒性物质而导致疾病。

3.菌毛

菌毛是大多数革兰阴性菌和少数革兰阳性菌菌体表面短、细而直的丝状物，必须在电子显微镜下才能看得见。菌毛的化学组成是蛋白质（菌毛蛋白），具有抗原性。根据菌毛的形态、结构和功能，可将菌毛分为普通菌毛和性菌毛两类。

（1）普通菌毛。遍布于菌体表面，数目较多，每菌可达数百根。菌毛与细菌的动力无关，但具有黏附作用，可使细菌牢固地黏附在呼吸道、消化道和泌尿生殖道黏膜细胞表面，进而在局部定植造成感染，与细菌的致病性有关。有菌毛菌株一旦丧失菌毛，其致病力亦随之消失。

（2）性菌毛。少数革兰阴性菌有性菌毛。性菌毛比普通菌毛粗而长，为中空管状，每菌仅 1～4 根，由 F 质粒编码。有性菌毛的细菌具有致育能力，称为雄性菌或 F^+ 菌，无性菌毛的细菌称为雌性菌或 F^- 菌。F^+ 菌可通过性菌毛将遗传物质（如 R 质粒）传递给 F^- 菌，从而引起 F^- 菌某些性状的改变。

4.芽孢

是某些细菌在不适合其生长的条件下，细胞质脱水浓缩形成的一个圆形或卵圆形小体。产生芽孢的细菌多是革兰阳性菌。成熟的芽孢具有多层膜结构。核心是芽孢的原生质体，含有细菌原有的核质和核糖体、酶类等主要生命基质。核心的外层依次为内膜、芽孢壁、皮质、外膜、芽孢壳和芽孢外壁，将其层层包裹，成为坚实的球体（图 2-5）。芽孢壁厚，通透性低，普通染色法不易着色，必须用特殊的染色方法才能着色。芽孢的大小、位置、形态因菌种而异，可用于鉴别细菌。

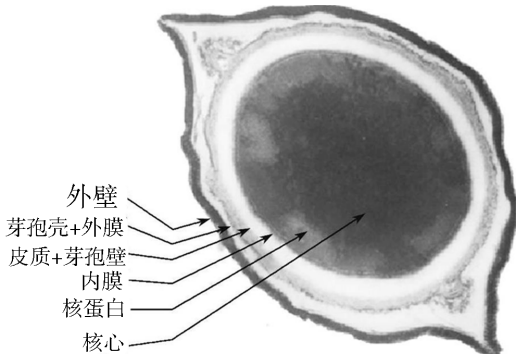


图 2-5　芽孢结构

芽孢成熟后菌体即成空壳崩解，芽孢释出。当遇到适宜环境时，芽孢又能发芽成一个菌体，称之为

繁殖体。一个繁殖体只能形成一个芽孢，而芽孢发芽也只能形成一个繁殖体。芽孢保存着细菌全部生命物质，但失去繁殖能力，是细菌的休眠状态，对营养、能量的需求均很低，能保护细菌度过不良环境。

芽孢的抵抗力很强，在自然界可存活几年至几十年，对热、干燥、辐射及化学消毒剂均有较强的抵抗力。一般细菌繁殖体在 80℃水中迅速死亡，而有的细菌芽孢可耐 100℃沸水数小时。因此，医学上手术器械、敷料及注射器等的灭菌，应以杀死芽孢作为消毒灭菌是否彻底的指标。杀灭芽孢最可靠的方法是高压蒸汽灭菌法。

三、细菌的形态学检查

细菌虽微小，但有一定的形态结构，其特征性形态结构对鉴别细菌有重要意义。观察细菌最常用仪器是光学显微镜，常用放大倍数为 1000 倍或 1600 倍。

(一)非染色标本检查

细菌标本不经染色，采用悬滴法或压滴法在光学显微镜下观察其形态、大小、运动及繁殖方式，主要用于观察细菌的动力。用暗视野显微镜或相差显微镜观察更清晰。

(二)染色标本检查

细菌呈半透明状态，不经染色的细菌在普通光学显微镜下难以清晰地观察其形态和结构，多数情况下需染色才能观察清楚。标本染色前应使标本涂片后干燥，使细菌黏附在玻片上，并固定保持其形状。细菌染色多用碱性染料(如结晶紫、亚甲蓝等)，这是由于细菌的等电点较低(pI2～5)，故在中性环境中带负电荷，易与带正电荷的碱性染料结合而着色。

细菌的染色法可分为：①单染色法。只用一种染料染色，可观察细菌的形态、大小与排列，但各种细菌均被染成同一种颜色，不能鉴别细菌。②复染色法。用两种或两种以上染料染色，可将细菌染成不同颜色，可以鉴别细菌。其中革兰染色法较为常用，可将 G^+ 菌染成紫色，G^- 菌染成红色，从而将细菌分成两大类(图 2-6)。③特殊染色法。采用特殊的染色方法可分辨不同的菌体结构，如荚膜染色法、鞭毛染色法。

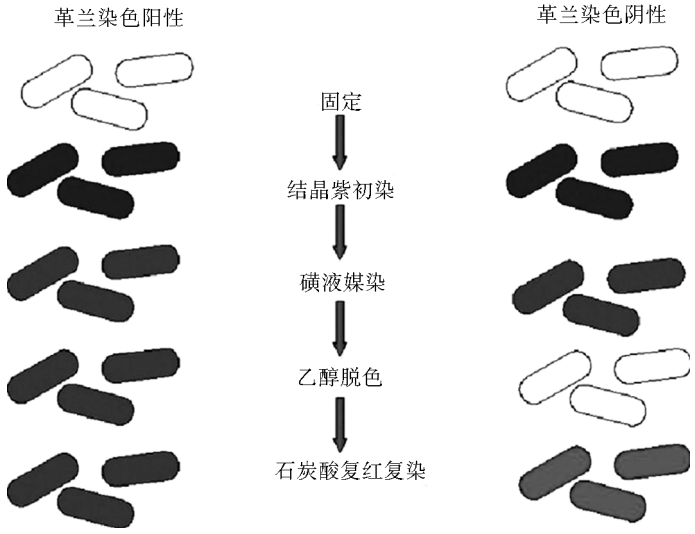


图 2-6　革兰染色法示意图

第二节　细菌的生理

细菌是一类具有独立生命活动的单细胞微生物，必须不断地从周围环境中摄取营养物质，进行新陈代谢，合成菌体成分并获取能量，才能完成生长繁殖的过程。在此过程中细菌可合成一些物质和排泄一些代谢产物，这些物质有些对人有致病作用，有些可根据其特点对细菌进行鉴定、分析，有利于疾病的诊断和防治。研究细菌的生理活动与医学、环境卫生、工农业生产等密切相关。

一、细菌的生长繁殖

(一)细菌生长繁殖的条件

1.营养物质

细菌在生长繁殖过程中需要足够的营养以合成菌体成分及获得能量。人工培养细菌时，必须提供其生长所需的各种成分，一般包括水、碳源、氮源、无机盐和生长因子等。

(1)水。水是细菌生命活动中不可缺少的成分，约占细菌重量的 80%。细菌的呼吸、渗透、分泌及排泄等均需有水才能进行。

(2)碳源。含碳化合物是细菌合成核酸、蛋白质、糖、脂类等必需的物质。细菌所需的碳源主要来源于糖类、有机酸和碳酸盐等。

(3)氮源。含氮化合物是细菌合成菌体蛋白质、核酸的成分。不同的细菌对氮源利用的能力差异较大，一般病原菌需要提供有机氮化合物才能生长，如蛋白胨、氨基酸等。

(4)无机盐类。细菌需要磷、硫、镁、铁、钾、钠、钙、锰、锌、钴、铜、氯等无机盐类。这些成分除构成菌体成分外，还能调节渗透压，促进酶的活性，维持酸碱平衡，参与能量的储存与转运。此外，某些元素(如铁离子)还与细菌在人体内的生长繁殖和致病作用有关，因此具有结合铁能力的细菌其毒力较强。

(5)生长因子。是细菌生长过程中不可缺少的微量有机化合物，主要包括维生素、某些氨基酸、嘌呤、嘧啶等，细菌不能自身合成这些物质，但可从血液或血清等营养中获得。少数细菌还需特殊的生长因子，如流感嗜血杆菌需要 X、V 两种因子，X 因子是高铁血红素，V 因子是辅酶Ⅰ或辅酶Ⅱ。

根据需要的营养物质不同，细菌可分为两种营养类型：①自养菌。这类细菌以简单的无机物为原料，通过无机物的氧化或光合作用获得能量，合成菌体成分。②异养菌。细菌需要利用多种蛋白、糖类等有机物质作为营养和能量来合成菌体成分。异养菌中必须从宿主(人或动物)体内的有机物质中获得营养和能量的细菌称为寄生菌，大部分病原菌均属于寄生菌。以动植物尸体、腐败食物作为营养物质的细菌称为腐生菌。

2.温度

细菌生长繁殖所需温度随细菌的种类而异，根据对温度的不同要求，可将细菌分为嗜热菌(50～60℃)、嗜温菌(10～45℃)、嗜冷菌(10～20℃)。大多数病原菌在 37℃生长最好，人体温度最适合细菌的生长繁殖。但也有例外的情况，如耶尔森菌的最适生长温度为 28℃，弯曲菌属则为 42℃。

3.酸碱度

每种细菌都有一个可生长的 pH 范围和最适生长 pH。大多数嗜中性细菌生长的 pH 范围为 6.0～8.0，嗜酸性细菌最适 pH 低于 5.5，嗜碱性细菌最适 pH 高于 8.5。绝大多数病原菌最适生长 pH

为 7.2～7.6。个别细菌需在偏酸或偏碱的条件下生长，如结核分枝杆菌最适 pH 为 6.5～6.8，而霍乱弧菌则在 pH 为 8.4～9.2 的环境中生长良好。

4.气体

与细菌生长有关的气体是 O_2 和 CO_2。大部分细菌需要 O_2 氧化营养物质以产生能量。但厌氧菌必须在无氧环境中才能生长。根据细菌在生长过程中对氧的需要不同可将细菌分为 3 类。

(1)专性需氧菌。这类细菌具有完善的呼吸酶系统，需要分子氧作为受氢体以完成需氧呼吸，必须在有氧气的条件下才能生长繁殖，如结核分枝杆菌。有些细菌在低氧压(5%～6%)生长最好，氧压大于 10%对其有抑制作用，如空肠弯曲菌、幽门螺杆菌等，称为微需氧菌。

(2)兼性厌氧菌。这类细菌兼有需氧呼吸和发酵两种酶系统，在有氧或无氧的条件下均能生长，但以有氧时生长较好，大多数病原菌属此类。

(3)专性厌氧菌。这类细菌缺乏完善的呼吸酶系统，利用氧以外的其他物质(如硝酸盐、硫酸盐等)作为受氢体，只能在低氧分压或无氧环境中进行发酵才能生长。若有游离氧存在，细菌反而受其毒害甚至死亡，如破伤风梭菌。

CO_2 对细菌的生长也很重要。大部分细菌在新陈代谢过程中产生的 CO_2 已能满足需要。但有些细菌如脑膜炎奈瑟菌，在从标本初次分离培养时，需人工供给 5%～10%的 CO_2 才能生长良好。

5.渗透压

细菌体内含有高浓度的营养物质和无机盐，一般 G^+ 菌渗透压为 20～25 个大气压，G^- 菌为 5～6 个大气压。细菌一般处于低渗环境，但由于有细胞壁的保护不会崩解。少数细菌如嗜盐菌需要在高浓度(3%)的 NaCl 环境中生长良好。

(二)细菌生长繁殖的方式与速度

1.方式

细菌个体一般以简单的二分裂方式进行无性繁殖。

2.速度

在适宜的条件下，大多数细菌繁殖速度非常快，繁殖一代需 20～30 分钟。个别细菌繁殖较慢，如结核分枝杆菌繁殖一代需 18～20 小时。细菌繁殖速度很快，若按 20 分钟分裂一次的速度计算，一个细胞经 10 小时繁殖后可达 10 亿以上。但实际上并非如此，细菌群体的生长繁殖受很多因素影响，由于细菌繁殖过程中营养物质的逐渐耗竭，有害代谢产物的逐渐积累，酸碱度发生改变等原因，细菌不能始终高速度地无限繁殖。经过一段时间后，繁殖速度减慢。

(三)细菌的生长曲线

细菌的生长曲线

将一定数量的细菌接种于合适的培养基中，在适宜的温度培养时，细菌的生长过程具有规律性。以培养时间为横坐标，培养物中活菌数的对数为纵坐标，可将细菌的增殖规律绘出一条曲线，称为生长曲线。(图 2-7)

根据生长曲线，细菌群体生长繁殖可分为 4 期。

1.迟缓期

迟缓期是细菌进入新环境后的短暂适应阶段。此期的细菌体积增大，代谢活跃，胞质内积累了充足的酶、辅酶和中间代谢产物，但分裂缓慢，极少繁殖。迟缓期的长短随接种的菌种、菌龄及菌量而异，一般为最初培养的 1～4 小时。

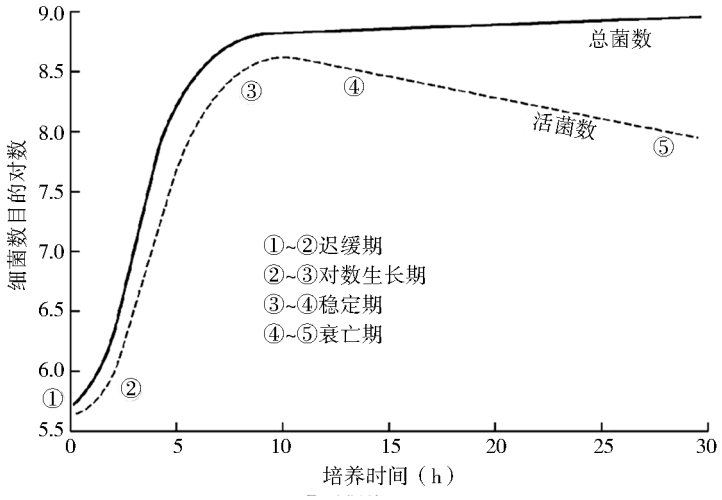


图 2-7　细菌的生长曲线

2.对数生长期

对数生长期又称指数期，是细菌分裂繁殖最快的时期，活菌数以几何级数增长，生长曲线呈直线上升。此期细菌的形态、染色性及生理特性等都比较典型，对外界环境因素的影响也较为敏感。此期是研究细菌、传代的最佳时期，一般在细菌培养后的 8～18 小时。

3.稳定期

由于培养基中营养物质的消耗，有害代谢产物的积聚，此时细菌的繁殖速度减慢，死亡数逐渐增多，活菌数保持相对稳定，活菌总数最多，常作为细菌代谢产物收获期。此期细菌的形态、染色性和生理性状常有改变。

4.衰亡期

由于营养物质逐渐耗竭，有害代谢产物的大量堆积，细菌的繁殖越来越慢，活菌数急剧减少，死菌数超过活菌数。此期细菌形态显著改变，出现衰退型变化或菌体自溶，细菌的代谢也趋于停滞。因此，衰退期的细菌难以进行鉴定。

细菌的生长曲线在科研和生产实践中都具有重要指导意义。但上述典型的生长曲线只有在体外人工培养的条件下才能观察到，是由于细菌在自然界或宿主体内繁殖时，会受多种外界环境及机体免疫因素的影响。

二、细菌的新陈代谢

细菌的新陈代谢是分解代谢与合成代谢的总和，包括物质代谢与相伴随的能量代谢，其特点是代谢旺盛和代谢类型多样。在细菌的代谢过程中，底物分解和转化为能量的过程称为分解代谢；所产生的能量用于细胞组分的合成称为合成代谢；将二者紧密结合在一起称为中间代谢。此过程中，细菌也可产生多种在医学上有重要意义的代谢产物。

(一)细菌的能量代谢

细菌能量代谢活动中主要涉及 ATP 形式的化学能。细菌的有机物分解或无机物氧化过程中释放的能量通过底物磷酸化或氧化磷酸化合成 ATP。

细菌能量代谢的基本生化反应是生物氧化。不同种类细菌的生物氧化过程、代谢产物和产生能量

的多少会有所不同。以有机物为受氢体的称为发酵；以无机物为受氢体的称为呼吸，其中以分子氧为受氢体的是需氧呼吸，以其他无机物为受氢体的是厌氧呼吸。病原菌合成细胞组分和获得能量的基质主要是糖类，通过糖的氧化或酵解释放能量，并以高能磷酸键的形式（ADP、ATP）储存能量。

（二）细菌的代谢产物

细菌有了足够的营养和适宜的生活环境，便可生长繁殖，进行合成代谢和分解代谢。二者均可产生多种中间代谢产物，这些代谢产物在医学上具有重要的意义。

1.分解代谢产物与细菌生化反应

不同种类的细菌具有的酶不完全相同，因而对营养物质的分解能力及其代谢产物也不相同。利用生物化学方法来鉴别不同的细菌称为细菌的生化反应试验。常见的生化反应试验有糖发酵试验、吲哚试验、甲基红试验、V-P 试验、枸橼酸盐利用试验、硫化氢试验、尿素分解试验等。

糖发酵试验是通过观察细菌对葡萄糖、乳糖、麦芽糖等的发酵情况，以鉴别肠道细菌的重要方法。例如，大肠埃希菌可发酵葡萄糖和乳糖；而伤寒沙门菌虽能发酵葡萄糖，却不能发酵乳糖。即使两种细菌均可发酵同一糖类，其结果也不完全相同，如大肠埃希菌、伤寒沙门菌都能发酵葡萄糖，但大肠埃希菌有甲酸脱氢酶，可将中间产物甲酸分解为 CO_2 和 H_2，故产酸并产气；而伤寒沙门菌缺乏该酶，仅产酸不产气。某些细菌（如变形杆菌）有尿素酶，能分解尿素产生氨，使培养基变为碱性，酚红指示剂呈红色，即为尿素酶试验阳性；某些细菌（如沙门菌）能分解培养基中的含硫氨基酸生成硫化氢，硫化氢遇铅或铁离子生成黑色的硫化物，即为硫化氢试验阳性。

某些细菌（如大肠埃希菌）能分解培养基中的色氨酸生成吲哚（靛基质），经与试剂中的对二甲基氨基苯甲醛作用，生成玫瑰吲哚而呈红色，此为吲哚试验阳性；大肠埃希菌分解葡萄糖产生丙酮酸，培养液 pH≤4.5，甲基红指示剂呈红色，即为甲基红试验阳性；产气肠杆菌发酵葡萄糖脱羧后生成的中性乙酰甲基甲醇，能在碱性溶液中被氧化生成二乙酰，二乙酰与培养基中的胍基化合物反应生成红色化合物，即为 VP（voges-proskauer）试验阳性；产气肠杆菌利用枸橼酸盐作为唯一碳源，并利用铵盐作为唯一氮源时，可在枸橼酸盐培养基上生长，分解枸橼酸盐生成碳酸盐，并分解铵盐生成氨，而使培养基变为碱性，指示剂颜色改变，即为枸橼酸盐利用试验阳性。以上吲哚（I）、甲基红（M）、VP（V）、枸橼酸盐利用（C）四种试验，称为 IMViC 试验，如大肠埃希菌四种试验结果为“＋＋－－”；产气肠杆菌为“－－＋＋”。此试验常用于鉴别肠道细菌。

现代临床细菌学采用微量、快速的生化鉴定方法，形成以细菌生化反应为基础的各种数值编码鉴定系统，能够快速确定细菌的种类。

2.合成代谢产物及其医学意义

细菌在代谢过程中除了合成自身成分和所需的酶类外，还能合成一些特殊产物，有些与细菌的致病性有关，有些可用于细菌的鉴别或疾病的治疗。在医学上具有重要意义的产物如下。

（1）热原质。多为革兰阴性菌的菌体成分脂多糖，注入人体或动物体内可引起发热反应，故称为热原质，也称致热原，是引起输液反应的主要因素。热原质耐高温，高压蒸汽灭菌（121℃、20 分钟）亦不被破坏，需加热 180℃、4 小时，250℃、45 分钟或 650℃、1 分钟才能使其失去作用。用特殊吸附剂处理或超滤膜过滤可除去液体中大部分热原质，蒸馏法效果最好。因此，在制备生物制品或使用注射药品时应严格遵守无菌操作，防止细菌污染。

（2）毒素和侵袭性酶。细菌可产生对机体有毒性的物质，称为毒素。根据毒素的特点不同可将其分为两类：①内毒素，是大多数革兰阴性菌细胞壁的脂多糖，当细菌死亡崩解后释放出来；②外毒素，是

多数革兰阳性菌和少数革兰阴性菌在代谢过程中合成并分泌到菌体外的蛋白质，毒性极强。某些细菌可产生具有侵袭性的酶类，促进细菌在体内的扩散和损伤组织，是重要的致病物质。如链球菌产生的透明质酸酶、金黄色葡萄球菌产生的血浆凝固酶、产气荚膜梭菌产生的卵磷脂酶等，都与细菌的致病性有关。

(3)色素。某些细菌能产生不同颜色的色素，对细菌鉴定具有一定的意义。细菌的色素可分两类：一类为水溶性色素，能弥散至培养基及周围组织中，如铜绿假单胞菌的色素溶于水，能使培养基或感染的脓汁呈绿色；另一类为脂溶性色素，不溶于水，仅能使菌落着色，培养基颜色不变，如金黄色葡萄球菌的色素。

(4)抗生素。指某些微生物在代谢过程中产生的能抑制或杀死其他微生物或肿瘤细胞的物质。抗生素大多由放线菌和真菌产生，细菌仅产生少数几种应用于临床，如多黏菌素、杆菌肽等。

(5)细菌素。某些细菌产生的一类具有抗菌作用的蛋白质称为细菌素。其抗菌范围较窄，仅对近缘关系的细菌有杀伤作用，如大肠菌素。目前细菌素在治疗上无应用价值，但因其具有种和型的特异性，因此常用于细菌分型和流行病学调查。

(6)维生素。某些细菌可合成维生素，除供自身需要外，还能分泌至周围环境中。如大肠埃希菌在人体肠道内能合成 B 族维生素和维生素 K，可被人体吸收利用。在医药工业上也可利用细菌生产维生素。

三、细菌的人工培养

根据细菌生长繁殖的需要，为细菌提供必要的条件培养细菌，称为细菌的人工培养。可用于观察、研究细菌的各种特性，有利于疾病的诊断和防治，也可用于细菌代谢产物的生产。

(一)培养基

是用人工方法将适合细菌生长繁殖的各种营养物质合理配制而成的基质。培养基制成后，必须经灭菌处理。培养基一般 pH 为 7.2～7.6，少数细菌需要根据生长条件调整 pH 偏酸或偏碱。从不同角度可将培养基分成不同种类。

1.按营养组成和用途不同分类

按照培养基的营养组成和用途不同可分为基础培养基、营养培养基、选择培养基、鉴别培养基、厌氧培养基等。

基础培养基。含有多数细菌生长繁殖所需的最基本营养物质，是最常用的培养基，如营养琼脂、蛋白胨水等。

营养培养基。是在基础培养基中加入某些特殊的营养物质(葡萄糖、生长因子、微量元素等)，以满足营养要求较高的细菌生长，如血琼脂培养基。

选择培养基。是在培养基中加入某种化学物质，使之抑制某些细菌生长，而有利于另一些细菌生长，从而将后者从混杂的标本中分离出来，如 SS 琼脂培养基。

鉴别培养基。是在培养基中加入某些底物和指示剂，观察细菌在其中生长后对底物的作用结果，用以鉴别细菌的培养基，如糖发酵管。

厌氧培养基。是专供厌氧菌的分离、培养和鉴别用的培养基，在液体培养基表面加入凡士林或液体石蜡以隔绝空气，如庖肉培养基。培养细菌时可根据需要和目的进行选择。

2.按物理状态分类

按培养基的物理状态可分为液体、固体和半固体三大类。在液体培养基中加入 1.5%～2.5%琼脂(凝固剂),即成固体培养基;琼脂含量在 0.3%～0.5%时,则为半固体培养基。培养细菌时可根据需要和目的进行选择,液体培养基主要用于增菌,固体培养基常用于分离和纯化细菌,半固体培养基则用于观察细菌的动力及保存菌种。

(二)细菌在培养基中的生长现象

1.液体培养基中生长现象

大多数细菌在液体培养基中生长后呈均匀混浊状态;链球菌等少数细菌呈沉淀生长;结核分枝杆菌等专性需氧菌多在液体表面生长,常形成菌膜。

2.固体培养基中生长现象

将培养物划线接种于培养基表面,经过一定时间可形成肉眼可见的孤立的细菌集团,称为菌落。每个菌落多由一个细菌分裂繁殖堆积而成。许多菌落融合在一起时,称为菌苔。不同细菌的菌落形状、大小、颜色、透明度、光滑度、黏稠度、湿润性、边缘整齐与否、在血平板上溶血情况及产生的气味等不同,有助于识别和鉴定细菌。通过计数培养基上的菌落数目,可推算标本中的活菌数。

细菌的菌落一般分为 3 种。①光滑型(S 型):菌落表面光滑、湿润,边缘整齐。新分离的细菌多呈 S 型菌落,毒力较强。②粗糙型(R 型):菌落表面粗糙、干燥,有皱纹或颗粒,边缘多不整齐。R 型细菌多由 S 型细菌变异失去菌体表面多糖或蛋白质形成,毒力减弱。③黏液型(M 型):菌落黏稠、有光泽,似水珠样。多见于有厚荚膜或丰富黏液层的细菌。

3.半固体培养基中生长现象

将培养物穿刺于半固体培养基中,培养后有鞭毛的细菌可沿穿刺线向周围生长,穿刺线模糊不清呈羽毛状或云雾状。无鞭毛的细菌只能沿穿刺线生长,不向周围扩散,穿刺线清晰可见呈线状。

(三)人工培养细菌的意义

人工培养细菌的意义

1.鉴定与研究细菌

通过细菌的人工培养可对细菌进行种属的鉴定,还可进行生物学性状、生理、遗传变异、致病性和耐药性等诸多方面的研究。

2.诊断与治疗感染性疾病

临床上感染性疾病最可靠的诊断依据是通过细菌的人工培养,从病检材料中分离出病原菌。经药物敏感试验选择有效抗菌药物对病人进行合理的治疗。

3.制备生物制品

通过细菌的人工培养,分离所得的纯菌可制备诊断菌液、菌苗、类毒素、免疫血清及抗毒素等生物制品。

4.在基因工程中的应用

由于细菌结构简单、易培养、繁殖快等特点,故常将其作为工程菌生产基因工程产品,可以大大降低成本。将带有外源性基因的重组 DNA 转化给受体菌,使其接受目的基因后大量表达制备胰岛素、干扰素、乙型肝炎疫苗等。

第三节　细菌的遗传与变异

遗传与变异是所有生物的共同生命特征，细菌亦不例外。遗传能使细菌的物种保持相对稳定。变异可使细菌产生新变种，变种的新特性靠遗传得以巩固，并使物种得以发展与进化。

一、常见的细菌变异现象

（一）形态和结构变异

细菌的形态、大小及结构受外界环境的影响可发生变异。例如，细菌在β-内酰胺酶类抗生素、抗体、补体和溶菌酶等的影响下，细胞壁合成受阻，失去细胞壁成为L型细菌。有些细菌变异可失去特殊结构，如肺炎链球菌变异后可失去荚膜，有鞭毛的伤寒沙门菌变异后可失去鞭毛。

（二）菌落变异

细菌的菌落主要有光滑（smooth，S）型和粗糙（rough，R）型两种。由S型变为R型称为S-R变异。肠道杆菌的菌落变异较为常见，是由于失去LPS的特异性寡糖重复单位引起的。菌落变异也往往伴有毒力、抗原性、生化反应等方面的改变。

（三）毒力变异

细菌毒力的变异包括毒力的增强和减弱。一些强毒力的病原株长期在人工培养基上传代培养，可使毒力减弱或消失。如预防结核的卡介苗（BCG）就是卡-介（Calmette-Guerin）二氏将有毒力的牛型结核分枝杆菌在含有甘油、胆汁、马铃薯的培养基上经过13年230次传代获得的减毒活疫苗。无毒力的细菌也能变异为有毒力的菌株，如白喉棒状杆菌感染β-棒状杆菌噬菌体后，可获得产生白喉毒素的能力，成为有毒株。许多病原微生物存在不同的毒力变异株。

（四）耐药性变异

病原微生物对某种药物由敏感变成耐药的变异，称为耐药性或抗药性变异。有的细菌可同时对多种抗菌药物耐药，称为多重耐药菌株。自抗生素广泛应用之后，细菌对多种抗生素耐药性的不断增长给临床治疗带来较大难度。

二、细菌遗传与变异的物质基础

细菌遗传与变异的物质基础是DNA。DNA是基因的载体，携带着各种遗传信息。决定细菌所有特性的遗传信息位于细菌的基因组内，包括细菌的染色体和染色体外的遗传物质，如质粒、转位因子等。

（一）细菌染色体

细菌染色体即细菌的核质，是一个裸露的环状双螺旋DNA长链，在细菌内以超螺旋形式缠绕成团，与高等生物不同的是细菌染色体缺乏组蛋白，外无核膜包绕。

基因为DNA片段，是决定细菌遗传性状的功能单位，每个基因含若干个碱基对。细菌的染色体

DNA 包含了细菌生存不可缺少的全部遗传基因。大肠埃希菌的染色体是研究得最清楚的染色体，它的 DNA 含 3.2×10^6 个碱基对(bp)，若以 600bp 构成一个基因，则一个大肠埃希菌约含有 5000 个基因。

(二)质粒

质粒是细菌染色体以外的遗传物质，是存在于细胞质中的环状闭合的双链 DNA。质粒的基本特征：①质粒具有自我复制的能力，一个质粒是一个复制子。②质粒 DNA 所编码的产物能赋予细菌某些特定的性状，如致育性、耐药性、致病性等。③质粒不是细菌生长繁殖必需的物质，可自行丢失或经人工处理(如高温、紫外线、溴化乙啶等)而消除。随着质粒的丢失和消除，质粒所赋予细菌的性状也随之消失。④质粒可从一个细菌转移至另一个细菌，其携带的性状也随之转移。根据质粒能否通过细菌的接合作用进行传递，可将质粒分为接合性和非接合性两大类。⑤质粒有相容性和不相容性。几种不同的质粒同时共存于一个细菌内称相容性，反之称不相容性。

质粒基因可编码细菌很多重要的生物学性状，按此可将质粒分为以下类型：①致育性质粒或称 F 质粒。编码性菌毛，介导细菌之间的接合传递。②耐药性质粒或 R 质粒。编码产物决定细菌的耐药性。③毒力质粒或 Vi 质粒。编码与细菌致病性有关的毒力因子。如致病性大肠埃希菌产生的耐热性肠毒素是由 Vi 质粒编码的。④细菌素质粒。编码各类细菌素。如 Col 质粒编码大肠埃希菌产生大肠菌素。⑤代谢质粒。编码与代谢相关的酶类。

(三)转位因子

转位因子是细菌基因组中能改变自身位置的一段 DNA 序列，这种作用可以发生在同一染色体上，也可以在染色体之间或质粒之间，甚至发生在染色体和质粒之间。由于转位因子的转位行为，DNA 分子发生遗传学上的分子重排，这在促使生物变异及进化上具有重大的意义。

根据其结构和生物学特性的不同可将转位因子分为 3 类：①插入序列(insertion sequence，IS)。是在细菌中首先发现的一类最简单的转位因子，它除了与转位功能有关的基因外不带有任何其他基因。②转座子(transposon Tn)。Tn 的结构比较复杂，除了携带与转位功能有关的基因，还携带编码其他功能的基因(如耐药性基因等)。③Mu 噬菌体。是具有转位功能的大肠埃希菌温和噬菌体，可随机插入宿主 DNA 中。

噬菌体是感染细菌、真菌、放线菌和螺旋体等微生物的病毒。噬菌体与细菌的变异密切相关。噬菌体体积微小，没有完整的细胞结构，只能在活的微生物内增殖，是一类专性细胞内寄生的微生物。噬菌体有 3 种形态，即蝌蚪形、球形和细杆形。大多数噬菌体呈蝌蚪形，由头部和尾部两部分组成(图 2-8)。当噬菌体感染细菌时，通过尾管将其基因组 DNA 注入细菌体内。进入细菌的 DNA 以两种不同的方式复制：①溶菌方式。此类噬菌体亦称毒性噬菌体，其在细菌内复制后很快形成很多子代噬菌体，通过裂解菌体而释放。②溶原方式。此类噬菌体亦称温和噬菌体或溶原性噬菌体，其 DNA 进入细菌后整合入细菌的染色体中，随细菌染色体 DNA 复制传给子代细菌，并赋予子代细菌某些遗传特性。此类整合在细菌染色体的噬菌体基因组称为前噬菌体，含有前噬菌体的细菌则称为溶原菌。前噬菌体可导致溶原菌的性状改变，称之为溶原性转换。

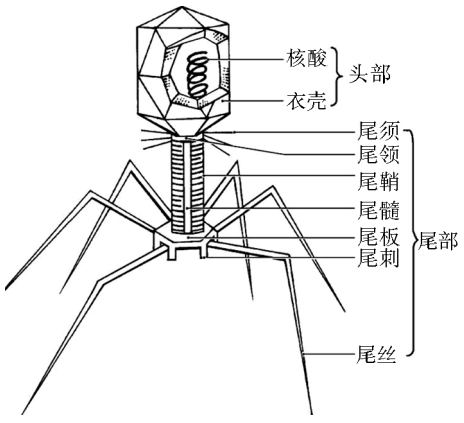


图 2-8　噬菌体结构模式

三、细菌变异的机制

细菌变异分为表型(非遗传性)变异和基因型(遗传性)变异两种类型。表型变异主要是由环境条件发生变化引起的,基因没有改变,是可逆的,多种细菌都能发生这种变异。而基因型变异是细菌的自身遗传物质发生改变,是不可逆的,所获得的新性状比较稳定,能遗传给子代,主要包括基因突变和基因的转移与重组等机制。

基因突变

(一)基因突变

1.基因突变的概念

基因突变是细菌遗传物质的结构发生突然而稳定的改变,导致细菌性状的遗传性变异。突变可以自发产生,也可由理化因素诱导突变。若细菌 DNA 上核苷酸序列的改变仅为一个或几个碱基的置换、插入或缺失,出现的突变只影响到一个或几个基因,引起较少的性状变异,称为小突变或点突变;若涉及大段的 DNA 核苷酸序列发生改变,则称为大突变或染色体畸变。

2.基因突变规律

①突变率:在细菌生长繁殖过程中,突变经常自然发生,即自发突变。但自发突变率极低,一般细菌每分裂 10^6～10^9 次可发生一次突变。人工诱导产生的突变称为诱发突变,如用高温、紫外线、X 射线、烷化剂、亚硝酸盐等理化因素诱导细菌突变,可使突变的发生率提高 10～1000 倍。②突变菌选择:突变是随机和不定向的。发生突变的细菌只是大量菌群中的个别细菌,要从大量细菌中找出该突变菌,必须将菌群放在一种有利于突变菌生长而不利于其他细菌生长的环境中,才能将其选择出来。

3.回复突变

细菌 DNA 突变产生性状的变异,也可经再次突变而恢复原来的性状,称为回复突变。

(二)基因的转移与重组

与内在基因发生突变不同,外源性的遗传物质由供体菌转入某受体菌内的过程称为基因转移。转移的基因与受体菌 DNA 整合在一起称为重组,使受体菌获得供体菌的某些特性。细菌的基因转移和重组可通过转化、接合、转导、溶原性转换和原生质体融合等方式进行。

1.转化

转化是受体菌直接摄取供体菌裂解释放的 DNA 片段,获得新的遗传性状的过程。

1928 年,Griffith 在研究肺炎链球菌时发现,有荚膜有毒力的肺炎链球菌为Ⅲ S 型(光滑型),无荚膜无毒力的肺炎链球菌为Ⅱ R 型(粗糙型),荚膜是其致病物质。分别用Ⅱ R 型菌和Ⅲ S 型菌注射小鼠,前者存活,后者死亡。若将从死鼠体内分离到的Ⅲ S 型菌加热杀死后再给小鼠注射,则小鼠存活。若将杀死的Ⅲ S 型菌与活的Ⅱ R 型菌混合后给小鼠注射,则小鼠死亡,且能从死鼠体内分离出活的有荚膜的Ⅲ S 型菌。本实验表明:活的Ⅱ R 型菌从死的Ⅲ S 型菌中获得了编码荚膜的遗传物质,从而转化为Ⅲ S 型菌。

2.接合

供体菌和受体菌通过性菌毛相互连接,将遗传物质自供体菌转入受体菌,使后者获得供体菌的部分遗传性状,这种基因转移方式称为接合。能通过接合方式转移的质粒称为接合性质粒,细菌的接合作用与供体菌所含的接合性质粒有关,主要包括 F 质粒、R 质粒、Col 质粒和毒力质粒等。

(1)F 质粒的接合。F 质粒又称致育质粒,能编码性菌毛,因此带有 F 质粒的细菌相当于雄性菌(F^+);无 F 质粒的细菌无性菌毛,相当于雌性菌(F^-)。当 F^+ 菌与 F^- 菌杂交时,F^+ 菌性菌毛与 F^- 菌表面的受体接合,性菌毛逐渐缩短,使两菌之间靠近并形成通道,F^+ 菌质粒 DNA 中的一条链断开并通过性菌毛通道进入 F^- 菌内,两细菌内的单股 DNA 链以滚环式进行复制,各自形成完整的 F 质粒。受体菌获得 F 质粒后即长出性菌毛,成为 F^+ 菌。

(2)R 质粒的接合。细菌的耐药性与耐药性基因的突变和 R 质粒的接合转移有关。R 质粒由耐药传递因子和耐药决定因子组成,前者能编码性菌毛,使 R 质粒以接合方式传递;后者携带耐药基因,能赋予宿主菌对链霉素、氯霉素、四环素等药物的耐药性。R 质粒不但能将耐药性传给下一代,还因其有致育性,可使耐药性在相同或不同种属间转移,从而导致耐药菌株大量增加。

3.转导

转导是以噬菌体为载体,将供体菌的一段 DNA 转移到受体菌内,使受体菌获得供体菌的部分遗传性状。

转导分为两类:①普遍性转导。毒性噬菌体和温和噬菌体均可介导。在噬菌体成熟装配过程中,由于装配错误,误将供体菌的 DNA 片段装入噬菌体的头部,成为一个转导噬菌体。转导噬菌体能以正常方式再感染另一宿主菌,并将其所携带的供体菌的 DNA 转入受体菌。因供体菌的任何 DNA 片段都有可能被误装入噬菌体内,故称为普遍性转导。②局限性转导。由温和噬菌体介导。溶原期噬菌体 DNA 整合在细菌染色体上形成了前噬菌体。前噬菌体 DNA 从细菌染色体上分离时发生偏差,噬菌体将自身 DNA 上的一段留在了细菌染色体上,却带走细菌 DNA 上的基因,当感染另一细菌时,可将供体菌基因带入受体菌,使受体菌获得供体菌的某些遗传性状。因其所转导的只是前噬菌体两旁附近的基因,故称为局限性转导。

4.溶原性转换

溶原性转换是指温和噬菌体感染宿主菌时,以前噬菌体的形式整合入宿主菌,使宿主菌获得噬菌体基因所编码的某些遗传性状。如 β-棒状杆菌噬菌体感染白喉棒状杆菌后,由于该噬菌体携带编码毒素的基因,使无毒的白喉棒状杆菌获得了产生白喉外毒素的能力。

5.原生质体融合

原生质体融合是分别将两种细菌经处理失去细胞壁成为原生质体后进行彼此融合的过程,加入聚乙二醇可促使两种原生质体的融合。融合后的双倍体细胞可在短期内生存,在此期间染色体之间可以发生基因交换和重组,从而获得多种不同表型的重组融合体。

四、细菌遗传与变异在医学上的应用

(一)在疾病的诊断、预防和治疗中的应用

细菌在某些环境因素的影响下,可发生形态结构、抗原性和毒力等方面的改变,因此进行细菌学检查时不仅要熟悉细菌的典型性状,还需注意细菌的变异,才能做出全面而正确的诊断。例如,用青霉素等抗生素治疗时,有时会使细菌失去细胞壁成为 L 型,细菌 L 型在普通培养基上不易生长,即常规分离培养的结果为阴性,必须用含血清的高渗培养基进行分离培养;从伤寒患者体内分离到的伤寒沙门菌中约有 10%的菌株由于变异而失去鞭毛,细菌学检查时无动力。另外,细菌在某些理化因素的诱导下,