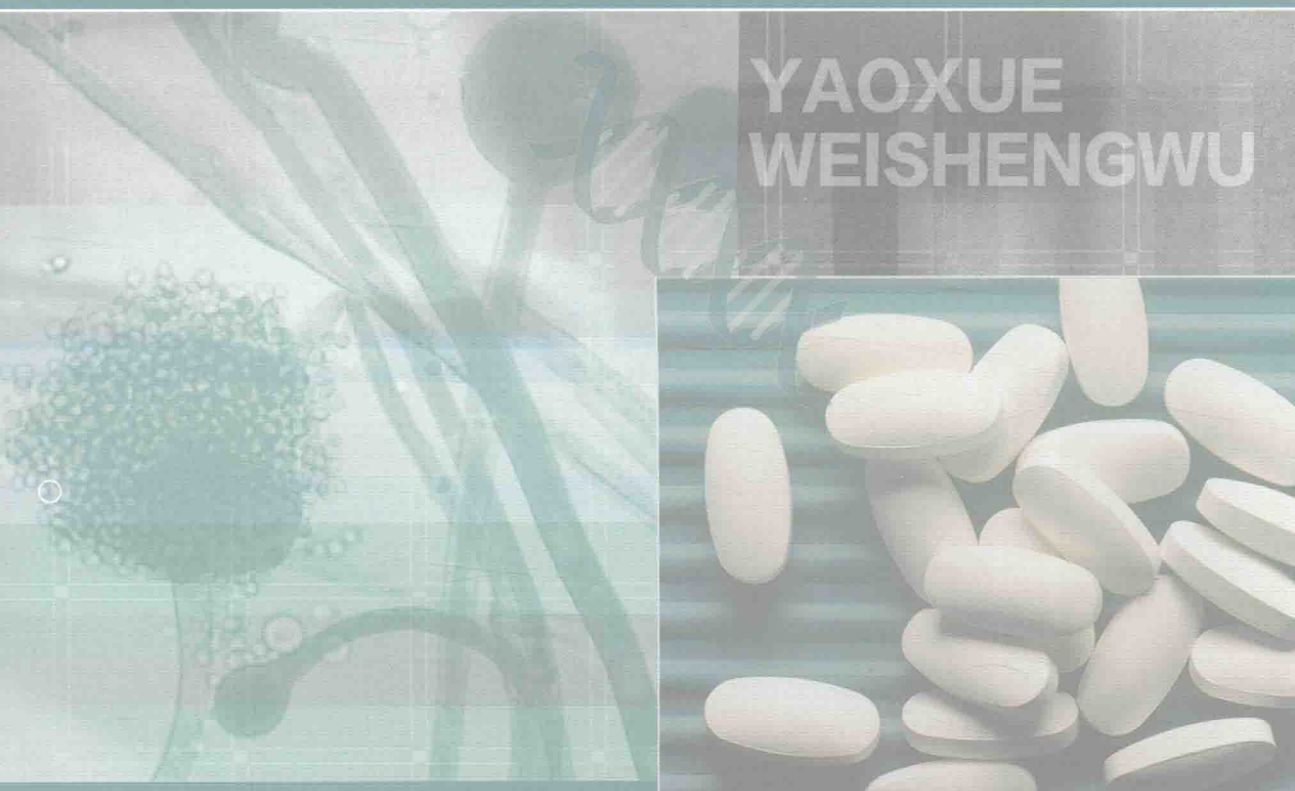


高职高专“十二五”规划教材

药学微生物

刘春兰 盛贻林 主编

赵小军 主审



化学工业出版社

高职高专“十二五”规划教材

药 学 微 生 物

刘春兰 盛贻林 主编

张祥云 支明玉 副主编

赵小军 主审



化学工业出版社

· 北 京 ·

本教材针对高职学生的认知水平进行编写,重点培养高职学生职业能力及技术应用能力,教材中针对药品企业所需的微生物知识融入了药品生产最新版 GMP 中的微生物控制、污染防控知识,以及中国药典最新版要求的主要微生物检验等内容,学习内容即工作所需。教材适用的主要专业为制药技术类专业、生物技术专业等。该教材采用与企业人才知识需求结合相对紧密的工学结合方式,在每一模块理论知识后直接设置实训内容,边讲边练,针对性强,使学生能够更好地理论联系实践应用,从而达到学以致用。内容分成四大模块,模块一:微生物的认识;模块二:微生物基础控制技术;模块三:制药企业微生物控制技术(涉及 GMP 的微生物学检测技术、制药过程中的微生物污染及防治、药物质量微生物控制等内容);模块四:技术应用项目。书中实训内容结合企业需求,以强化技能培养。

本教材除作为高职院校相关专业的教材,还可作为药品生产、科研或其他医药人员等有关的参考资料。

图书在版编目(CIP)数据

药学微生物/刘春兰,盛贻林主编. —北京:化学工业出版社,2011.7
高职高专“十二五”规划教材
ISBN 978-7-122-11599-7

I. 药… II. ①刘…②盛… III. 药理学:微生物学-高等职业教育-教材 IV. R915

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 122915 号

责任编辑:窦臻

文字编辑:张春娥

责任校对:周梦华

装帧设计:王晓宇

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印装:三河市延风印装厂

787mm×1092mm 1/16 印张 14 $\frac{3}{4}$ 字数 377 千字 2011 年 8 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定价:28.00 元

版权所有 违者必究

前 言

本教材是高职高专教材,适用的主要专业为生物制药技术、药物制剂技术、药品质量检测技术、药品经营与管理等与药学相关的制药技术类专业,以及生物技术专业等。在重点培养高职学生职业能力及技术应用能力等的前提下,本教材针对目前市场上缺乏与培养目标结合较好的教材的现状,重在撰写与企业本类人才知识需求结合相对紧密的内容,使学生能够更好地理论联系实践应用,从而达到学以致用。

本教材针对高职学生的认知水平进行编写,学习内容即工作所需。内容与国内外先进教材接轨,在介绍基础知识的同时,尽量做到理论与实践的有机融合。教材每一模块在各项目理论知识后直接设置实训内容(目录及正文中标题后标注“*”的为实训项目),边讲边练,学习及技术应用训练针对性强,有利于学生职业能力的培养。

本书涵盖了与药学相关的微生物学内容,包括制药所需要的微生物资源及培养、制药过程中所要避免的微生物污染问题及其防治措施、药物生产过程中的微生物监测及其药物产品的常用微生物检测技术等。内容分成四大模块:模块一 微生物的认识,介绍各类微生物的生物学特性及其与人类和药学的关系;模块二 微生物基础控制技术,阐述微生物的营养、生长测定、育种及菌种保藏技术等,介绍了微生物的代谢与药物生产;模块三 制药企业微生物控制技术,阐述 GMP 中的微生物学监测技术、制药过程中的微生物污染及防治、药物质量微生物控制等内容;模块四 技术应用项目,针对各种微生物知识进行综合应用实训设计,通过综合训练强化知识的运用。本书密切联系药学专业特点,重点突出、实用性强,实训内容结合企业需求,以强化技能培养。各院校教学中可根据各专业的课程体系特点及专业培养目标有侧重地选学不同内容。教材还配套提供了教学所需的精美实用 PPT 课件及综合测试答案,更加方便教师的教学。使用本教材的学校可以与化学工业出版社联系(cipedu@163.com),免费索取。

本教材由黑龙江农业经济职业学院刘春兰、金华职业技术学院盛贻林担任主编,黑龙江农业经济职业学院张祥云、杭州职业技术学院支明玉担任副主编,大连民康科伦集团总经理赵小军担任主审。具体编写分工为:黑龙江农业经济职业学院于玲玲负责编写模块一中的项目一、模块二中的项目五,张祥云负责编写模块一中的项目二,黑龙江农业经济职业学院魏明斌负责编写模块一中的项目三、模块二中的项目三,金华职业技术学院陈旭峰负责编写模块二中的项目一,支明玉负责编写模块一及模块二中部分内容,盛贻林负责编写模块二中的项目二、四,黑龙江农业经济职业学院魏欣负责编写模块三中的项目一、附录,刘春兰负责编写模块三中的项目二、三、四和五、模块四中的项目一、二和三。在本书编写过程中,得到了化学工业出版社、部分高职院校以及药品生产企业领导及有关人员的无私帮助和大力支持,在此表示感谢!

由于我们水平有限,疏漏和不妥之处在所难免,恳请读者提出宝贵意见与建议。

编者

2011年5月

目 录

模块一 微生物的认识	1
项目一 原核微生物	1
一、细菌	1
二、放线菌	12
三、显微镜的使用及细菌形态的观察* ^①	15
四、细菌染色技术*	18
五、链霉菌的鉴定技术*	20
拓展知识 生命源于海洋?	22
项目二 真核微生物	23
一、酵母菌	23
二、霉菌	25
三、真菌的人工培养与代谢产物	29
四、几类常见真菌	30
五、酵母菌、霉菌的形态观察及大小的测定*	31
六、血球计数板显微计数法*	34
七、人民币等物品表面微生物检查*	36
拓展知识 菌制剂药品能否与抗生素同服?	36
项目三 非细胞型微生物	37
一、病毒	37
二、病毒的干扰现象与干扰素	44
三、病毒的致病性	45
四、噬菌体	48
五、病毒与实践	50
六、病毒的鸡胚培养技术*	51
七、噬菌体的分离与纯化*	53
模块一 目标综合测试	54
模块二 微生物基本操作技术	57
项目一 微生物的营养及消毒、灭菌	57
一、微生物的营养要素	57
二、培养基的配制	64
三、消毒与灭菌	69
四、防腐剂及消毒剂效力测定	72

① 目录及正文中标题后标注“*”的为实训项目。

五、常用培养基的配制及灭菌技术*	78
六、紫外线杀菌试验*	83
拓展知识 微生物培养基的故事	85
项目二 微生物的生长测定技术	86
一、微生物的培养	86
二、微生物生长规律	88
三、微生物生长的测定	89
四、影响微生物生长的主要因素	90
五、微生物的接种与纯培养技术*	93
六、平板菌落计数法*	99
拓展知识 流感病毒	101
项目三 微生物育种及菌种保藏技术	102
一、微生物的遗传与变异	102
二、微生物菌种选育技术	109
三、菌种的衰退与复壮技术	111
四、菌种的保藏技术	112
五、微生物的诱发突变操作技术*	114
六、菌种保藏试验*	118
拓展知识 人体各部位常见的正常菌群	122
项目四 传染与免疫	123
一、病原微生物的致病机制	123
二、免疫系统	125
三、非特异性免疫	126
四、特异性免疫	128
拓展知识 牛痘接种的发现	132
项目五 微生物的代谢与药物生产	133
一、微生物的产能代谢	133
二、微生物的耗能代谢	140
三、微生物药物	143
模块二 目标综合测试	143
模块三 制药企业微生物控制技术	145
项目一 GMP 的微生物学检测技术	145
一、GMP 的概述	145
二、空气洁净度标准	146
三、药品生产企业空气洁净度监测技术	148
四、药品生产企业环境消毒方法及效果的微生物验证	159
五、洁净室中微生物数测定技术*	164
六、洁净室中尘埃粒子数测定技术*	165
拓展知识 菌群失调在临床上的表现	166

项目二 制药过程中的微生物控制	167
一、制药工业微生物生态学及调控	167
二、微生物污染与预防控制	174
三、制药用水中微生物的检测技术*	185
拓展知识 中国创新微生物药物研发获进展	186
项目三 药物质量的微生物控制技术	188
一、实验室设置及设施消毒	188
二、无菌检查	190
三、微生物总数检查	194
四、控制菌及螨类检查	196
五、培养基灵敏度测定技术*	199
六、中药制剂含糖浆药品中霉菌总数的测定*	200
拓展知识 传染病的克星——青霉素发现记	200
项目四 药物抗菌性的测定技术	202
一、药物抗菌作用机制	202
二、药物抗菌作用试验方法	203
三、体外抗菌测定技术*	206
拓展知识 我国微生物采油调控技术获重大突破	208
项目五 微生物在制药科学中的应用	210
一、主要生物制药产品	210
二、中国生物制药发展	213
模块三 目标综合测试	213
模块四 技术应用项目	216
项目一 抗生素效价的微生物学测定技术*	216
项目二 口服药物微生物总数测定技术*	219
项目三 注射剂的无菌测定技术*	222
拓展知识 澳洲奇湖泛幽蓝荧光	225
附录一 染色液的配制	226
附录二 常用培养基的配制	227
参考文献	230

模块一 微生物的认识

项目一 原核微生物

微生物种类繁多，形态各异，生物学特性差异很大，代谢途径繁多，其次是代谢产物的化学结构以及生物活性的多样性更是难以预计，其中不少已被用作重要的临床使用药物。

在微生物分类系统中，按微生物的进化水平和各种性状上的显著差别，可将微生物分为原核微生物、真核微生物和非细胞微生物三大类群。从本项目起，将分别介绍它们的形态与结构、繁殖方式以及培养等内容。

原核微生物是指一大类细胞核无核膜包裹，无核仁，只存在称作核区的裸露的 DNA，且缺乏完整细胞器的原始单细胞生物。原核微生物主要包括 6 种类型：细菌、放线菌、蓝细菌、支原体、立克次体和衣原体。

一、细菌

细菌是一类个体微小、结构简单的单细胞原核微生物，具有细胞壁，多以二分裂方式繁殖。

1. 细菌的形态与大小

细菌的个体很小，常以微米 (μm) 作为测量单位，在显微镜下才能观察到。细菌的大小测定受不同的生长阶段、环境条件以及染色方法等因素的影响，如培养温度，培养时间，培养基的成分、浓度和酸碱度，以及气体等都能引起细菌形态的变化。一般情况下，经干燥固定的菌体比活菌要小一些；幼龄细菌比成熟的或老龄的细菌大得多，这可能与代谢废物积累有关。细菌的形态也是多种多样的，特别是在生活条件发生改变时，常常引起细菌形态的改变，但在一定的环境条件下，细菌有其相对稳定的基本形态，常见的有球状、杆状和螺旋状，分别称为球菌、杆菌和螺旋菌，如图 1-1-1 所示。

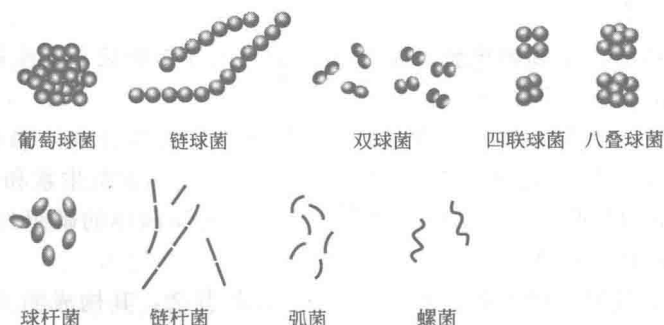


图 1-1-1 细菌的基本形态

(1) 球菌 球菌呈球形或近似球形，球菌的大小以直径表示，大多数球菌的直径为 $0.5 \sim 2.0 \mu\text{m}$ 。球菌分裂后产生的新细胞保持一定的排列方式，根据分裂方向和分裂后的排

列方式不同,又可分为单球菌、双球菌、四联球菌、八叠球菌、链球菌、葡萄球菌等。

① 单球菌。细胞分裂沿一个平面进行,分裂后的子细胞分散而单独存在,如尿素微球菌。

② 双球菌。细胞沿一个平面进行分裂,新细胞成对排列,如脑膜炎球菌。

③ 四联球菌。细胞沿两个互相垂直的平面进行分裂,分裂后的四个细胞呈田字形排列,如四联微球菌。

④ 八叠球菌。细胞的3次分裂是在三个互相垂直的平面上进行,分裂后形成的8个子细胞叠在一起呈立方体排列,如藤黄八叠球菌。

⑤ 链球菌。细胞沿一个平面进行分裂,分裂后的许多子细胞连接在一起成链状,如溶血性链球菌。

⑥ 葡萄球菌。细胞分裂没有一定的方向,分裂后的许多细胞堆积在一起成葡萄状,如金黄色葡萄球菌。

(2) 杆菌 杆菌呈杆状或棒状、梭状,大小以其长度 $\times$ 宽度表示,多数杆菌的大小为 $(2.0\sim3.0)\mu\text{m}\times(0.5\sim1.0)\mu\text{m}$ 。杆菌是种类最多、在现代生物技术工业生产中应用最广的一类微生物。杆菌的形态多样,在长短和粗细上变化较大,长而细呈圆柱形或丝状的称长杆菌,如乳杆菌;短而粗近似球形的称短杆菌(球杆菌),如布氏杆菌;末端膨大呈棒状,称为棒状杆菌,如白喉杆菌;有的两端平截,如炭疽芽孢杆菌;有的两端钝圆,如蜡状芽孢杆菌;有的两端略尖呈梭形,如鼠疫杆菌;有的一端分支呈叉状,称分枝杆菌,如双歧杆菌。杆菌一般分散存在,也有成链状排列的,称为链杆菌,如枯草杆菌;也有的呈“八”字状、栅状和成对排列。

(3) 螺旋菌 菌体弯曲呈螺旋状,又可分为弧菌和螺菌两类。弧菌一般长 $1\sim5\mu\text{m}$,宽 $0.3\sim0.5\mu\text{m}$;螺菌一般长 $1\sim50\mu\text{m}$,宽 $0.3\sim1\mu\text{m}$ 。

① 弧菌。菌体只有一个弯曲呈弧状或逗点状,螺旋不满一圈,如霍乱弧菌(逗号弧菌)。

② 螺菌。菌体有较坚硬的细胞壁,有数个弯曲,呈螺旋形,螺旋一般为2~6圈,如鼠咬热螺菌。

2. 细菌的结构

细菌的结构可分为基本结构和特殊结构。基本结构是一般细菌所共有的结构,包括细胞壁、细胞膜、细胞质、核物质等,特殊结构是某些细菌在一定条件下所特有的结构,包括荚膜、鞭毛、菌毛、芽孢等(图1-1-2)。

(1) 细菌的基本结构

① 细胞壁。细胞壁位于细菌细胞的最外层,是紧贴在细胞膜外的坚韧而厚实的复杂无色透明结构,占菌体干重的10%~25%。

a. 细胞壁的功能。细胞壁的主要功能为:④保护细胞及维持菌体固有形态,提高机械强度使其免受渗透压等外力的损伤;⑤阻碍大分子有害物质(如抗生素和溶菌酶等)进入细胞;③赋予细菌特定的抗原性、致病性、染色效果以及对噬菌体的敏感性;①是细胞生长、分裂所必需,并协助鞭毛运动。

b. 细胞壁的化学组成。细菌细胞壁的化学组成比较复杂,其构成的主要成分是肽聚糖,又称黏肽,是原核细胞所特有的成分。肽聚糖是由N-乙酰葡萄糖胺(以G表示)、N-乙酰胞壁酸(以M表示)以及短肽聚合而成的多层网状结构的大分子化合物。通过革兰染色法可将细菌分为革兰阳性菌(G^+)和革兰阴性菌(G^-)两大类,革兰染色法是由丹麦医生革兰姆(C. Gram)于1884年发明的,至今已有100多年的历史,是细菌学研究中最常用的

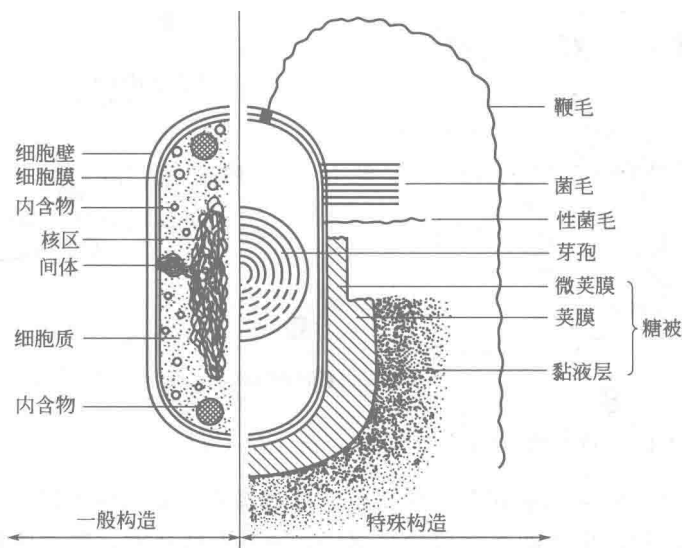


图 1-1-2 细菌细胞的模式构造

(周德庆. 微生物学教程. 高等教育出版社, 2002)

染色方法。

其染色过程为：涂片→干燥→固定→草酸铵结晶紫初染→碘液媒染→95%乙醇脱色→石炭酸复红复染→水洗、干燥。

通过染色可将细菌分成两大类：一类不被乙醇脱色而保持紫色者为革兰阳性细菌 (G^+)，如葡萄球菌、链球菌等；另一类被乙醇脱去紫色后复染成红色者，为革兰阴性细菌 (G^-)，如大肠杆菌、伤寒杆菌等。革兰染色法的原理可从以下几个方面解释：① G^+ 菌等电点 ($pH2\sim3$) 比 G^- 菌等电点 ($pH4\sim5$) 低，在同一 pH 条件下 G^+ 菌比 G^- 菌所带负电荷多，因此与带正电荷的碱性染料结合力强，不易脱色。② G^+ 菌体内含有大量核糖核酸镁盐，可与进入体内的结晶紫、碘液等牢固结合成大分子复合物。 G^- 菌含核糖核酸镁盐很少，故易被脱色。③ G^+ 菌细胞壁结构致密，肽聚糖层厚，含脂质少，乙醇不易渗入脱色； G^- 菌细胞壁结构疏松，肽聚糖层薄，含脂质多，乙醇容易溶解脂类而渗入使之脱色。这种细胞结构和组成上的差异是染色反应不同的主要原因。

④ G^+ 细菌细胞壁的化学组成： G^+ 细菌的细胞壁较厚，约 $20\sim80nm$ ，含有 90% 的肽聚糖以及 10% 的磷壁酸穿插于其中。肽聚糖是 G^+ 菌细胞壁的主要成分，肽聚糖层很厚，可达 50 层，质地致密，呈三维空间结构。如上所述，肽聚糖是由 N -乙酰葡萄糖胺 (G) 和 N -乙酰胞壁酸 (M) 以及短肽侧链（多数为四肽链）三部分组成。 N -乙酰葡萄糖胺 (G) 和 N -乙酰胞壁酸 (M) 交替排列，以 β -1,4-糖苷键连接成聚糖骨架；在聚糖骨架的 N -乙酰胞壁酸 (M) 上形成四肽侧链，如金黄色葡萄球菌的四肽链依次由 L -丙氨酸、 D -谷氨酸、 L -赖氨酸、 D -丙氨酸组成；再通过肽桥将两个相邻聚糖骨架上的四肽侧链连接在一起，从而形成三维空间的网状结构，有很大的机械强度，在金黄色葡萄球菌中肽桥为由 5 个甘氨酸组成的五肽，交联时五肽桥端与侧链第三位上 L -赖氨酸连接，另一端与侧链第四位 D -丙氨酸连接，形成机械强度很大的三维立方体空间。各种细菌细胞壁的肽聚糖支架均相同，但不同种类的细菌其四肽侧链的氨基酸组成、肽桥组成以及二者的交联方式都有所不同，由此形成了“肽聚糖的多样性” (图 1-1-3)。

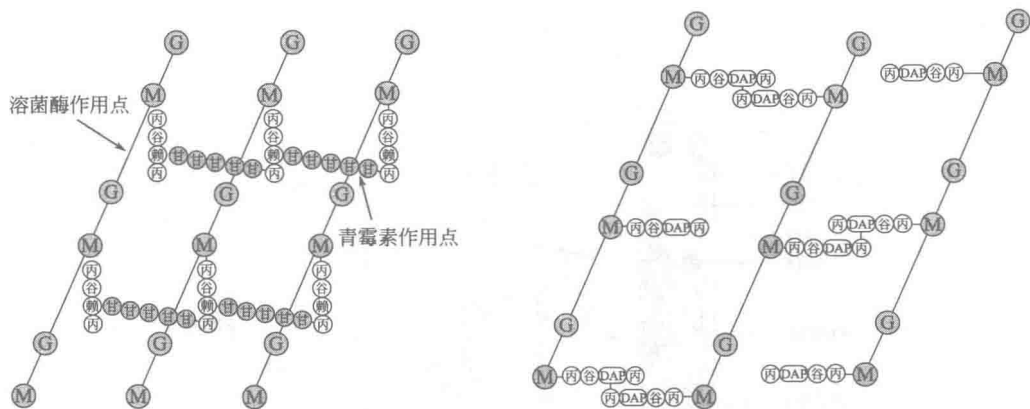


图 1-1-3 典型的 G^+ 菌（左）和 G^- 菌（右）细胞壁肽聚糖结构示意

凡能破坏肽聚糖结构或抑制其合成的物质，都能损伤细胞壁使细菌破裂或变形，因而具有抑菌或杀菌作用。如溶菌酶能水解聚糖骨架中的 β -1,4-糖苷键，导致菌体崩解。又如环丝氨酸、磷霉素可抑制聚糖骨架的合成，万古霉素、杆菌肽可抑制四肽侧链的形成，青霉素、头孢霉素可抑制五肽桥的形成。由于人和动物细胞无细胞壁结构和肽聚糖，故这类抗菌药物对人和动物细胞均无毒性。

磷壁酸是 G^+ 菌细胞壁的特有成分，又称垣酸或菌壁酸，含量在有些细菌中可占细胞壁干重的 50%。磷壁酸是由多元醇和磷酸的聚合物组成的长链结构，穿插于肽聚糖中。按其结合部位不同，分壁磷壁酸和膜磷壁酸两种。壁磷壁酸结合在细胞壁肽聚糖的 N -乙酰胞壁酸上，膜磷壁酸结合在细胞膜的磷脂上，另一端均伸出到细胞壁的表面（图 1-1-4）。磷壁酸与细菌的表面抗原和致病性有关。

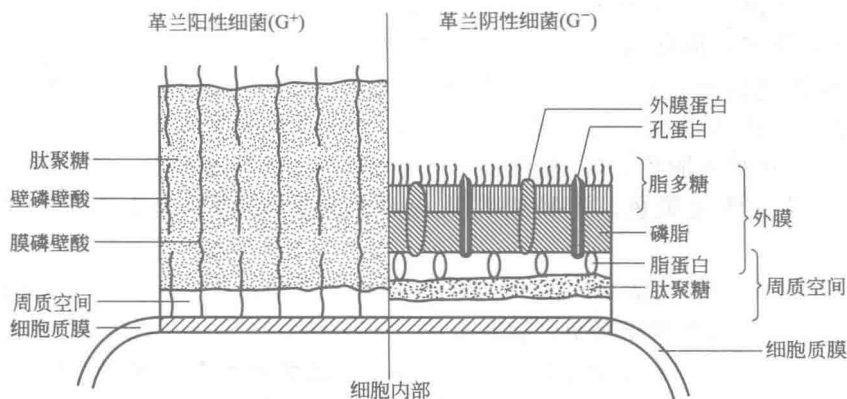


图 1-1-4 G^+ 菌和 G^- 菌细胞壁的构造比较

（李榆梅，药学微生物实用技术，中国医药科技出版社，2008）

⑤ G^- 细菌细胞壁的化学组成。 G^- 细菌细胞壁是由肽聚糖和位于其外侧的外膜所组成，外膜层很厚，约占细胞壁干重的 80%。

肽聚糖在 G^- 细菌细胞壁中含量较少，仅 1~3 层，为 10~15nm，占细胞壁干重的 5%~10%。 G^- 菌的聚糖骨架与 G^+ 菌相似，但在其四肽侧链第三位的 L -赖氨酸被二氨基庚二酸（DAP）所取代，并且在四肽侧链之间没有五肽桥，由于没有肽桥，两个四肽侧链单体连接仅通过前位的第四位氨基酸羧基与后位四肽链的第三个氨基酸的氨基直接相连，因而

仅形成单层平面的二维结构，故结构薄弱疏松（图 1-1-3）。

外膜又称外壁，是 G^- 细菌细胞壁所特有的结构，位于细胞壁外层。外膜由内向外依次由脂蛋白、脂质双层、脂多糖等成分组成。

脂蛋白是由脂质和蛋白质所组成，其脂质部分连接在脂质双层的磷脂上，蛋白部分连接在肽聚糖的侧链上，使外膜和肽聚糖构成一个整体。

脂质双层位于脂蛋白外侧，与细胞膜的脂质双层相似，具有阻止大分子扩散的屏障作用。其内镶嵌一些跨膜的孔蛋白质，其功能是控制细胞内外物质的交换与运输。脂质双层通透屏障的作用，能阻止多种大分子物质和青霉素、溶菌酶等进入细胞体内，因而 G^- 细菌对许多抗生素比 G^+ 细菌有较大抵抗力。

由于 G^+ 细菌和 G^- 细菌细胞壁的结构和组成有着明显不同，从而导致两类细菌在染色性、毒性和对某些药物的敏感性等方面存在较大差异。 G^+ 菌和 G^- 菌细胞壁的差异见表 1-1-1。

表 1-1-1 G^+ 菌和 G^- 菌细胞壁的差异

结构	G^+ 菌	G^- 菌
坚韧度	较坚韧	较疏松
肽聚糖	较厚，可达 50 层，占细胞壁干重的 50% 以上，三维结构，具四肽链和五肽桥	较薄，1~3 层，占细胞壁干重的 5%~10%，二维结构，无五肽桥，四肽链的成分与 G^+ 菌不同
磷壁酸	有	无
外膜(脂蛋白、脂质双层、脂多糖)	无	有

② 细胞膜。又称质膜、细胞质膜，位于细胞壁内侧，是紧包在细胞质外面的一层柔软而富有弹性的具有半渗透性的生物膜。厚约 7~8nm。由磷脂（占 20%~30%）和蛋白质（占 50%~70%）以及少量多糖（约 2%）组成。

a. 细胞膜的结构。细胞膜的化学成分主要包括磷脂、蛋白质和少量多糖，其结构是脂质双层结构，蛋白质镶嵌于其中。磷脂分子亲水性极性基团头部朝向两侧表面，非极性的疏水尾部向内而排列成双分子层。蛋白质则可以结合在脂质双层的表面，也可以是穿透脂质双层，还可以是一端伸入其中，另一端暴露。不同的内嵌蛋白和外周蛋白可在磷脂双分子层中做侧向运动。蛋白质多数是具有特殊功能的酶和载体，与膜的透性和酶的活性有关。

b. 细胞膜的功能。①能够选择性控制菌体内外的物质交换，使细菌能吸取营养物质而排出代谢废物；②膜上有多种与能量代谢有关的屏障，参与细胞的呼吸过程，产生和储存能量；③细胞膜上还含有多种合成酶，参与肽聚糖、磷壁酸、脂多糖等的生物合成；④细胞膜是鞭毛的着生部位；⑤形成中介体（间体），中介体是细菌的细胞膜向内凹陷、折叠而成的层状、管状或囊状结构，中介体与细菌的呼吸、分裂、细胞壁的合成及芽孢的形成等功能有关。

③ 细胞质。细胞质是包绕在细胞膜以内，除细胞核物质以外的无色透明而又黏稠的胶状细胞物质。其主要成分为水、蛋白质、脂类、核酸及少量的糖和无机盐。细胞质是细菌的内环境，含丰富的酶系统，细菌吸收营养物质后的合成和分解代谢是在细胞质内完成的，因此细胞质是细菌合成蛋白质、核酸的重要场所。细胞质中还含有核蛋白体、胞质颗粒和质粒等超微结构。

a. 核蛋白体。也叫核糖体，是游离于细胞质中的微小颗粒，其直径约为 20nm，数量可达数万个，由 RNA 和蛋白质组成。多个核糖体串联在一起称为聚核糖体，聚核糖体为合成蛋白质的场所。核糖体的沉降系数为 70S，由大小不同的两个亚基（50S 和 30S）构成。细

菌的核蛋白体是许多抗菌药物选择的靶位,如链霉素可与 30S 亚基结合、红霉素可与 50S 亚基结合,从而干扰细菌蛋白质的合成而导致死亡,但对人体细胞无影响。

b. 胞质颗粒。在细胞质中含有各种较大的颗粒状构造,又称内含物,多数为细胞储存的营养物质,包括多糖、脂类、多聚偏磷酸盐等。胞质颗粒的多少随菌龄及培养条件的不同有很大差异,较常见的有:④异染颗粒。异染颗粒的化学组成是磷酸通过酯键而聚合成的多聚物,可为细菌提供代谢所需的能源(ATP)和磷源。⑤脂肪颗粒。脂肪颗粒是由聚 β -羟丁酸所组成,是细菌碳源和能源性储藏物。⑥肝糖颗粒和淀粉粒。细菌碳源和能源性储藏物。

c. 质粒。质粒是细菌染色体外的遗传物质,为环状 DNA 分子。每个细菌可含有 1 个或多个质粒,每个质粒可以有几个甚至 100 个基因。质粒携带某些特殊基因,控制细菌的某些特殊生物学性状,如致育性(F 因子)、抗药性(R 因子)和产大肠菌素(Col 因子)等。

④核质。细菌是原核生物,其细胞核无核膜和核仁,没有固定的形态,结构简单,故称核质、核区或拟核。核区的化学成分是一个大型的环状双链 DNA 分子,反复折叠而成超螺旋结构,一般不含蛋白质,多呈球状、杆状或哑铃状。核质功能是储存和传递遗传信息,控制着细菌的生命活动,是细菌遗传变异的物质基础。

(2) 细菌的特殊结构

①荚膜。某些细菌在一定条件下向细胞壁表面分泌一层松散透明的黏液性多糖类物质即糖被,称为荚膜。可分为以下 3 种情况。

a. 荚膜。黏液性物质厚度超过 $0.2\mu\text{m}$,且具有一定的形态,相对稳定地附着于细胞壁外,与细胞壁结合比较紧密,有明显的边界者称荚膜。

b. 微荚膜。黏液性物质很薄,厚度小于 $0.2\mu\text{m}$ 的为微荚膜。

c. 黏液层。黏液性物质没有明显的边缘,可以扩散到周围环境中的称为黏液层。

有的菌种会产生有一定形状的大型黏胶物,使菌体连为一体称为菌胶团。

荚膜不易着色,在光学显微镜下呈发亮的透明圈,只有用墨汁作负染色或作特殊的荚膜染色时,才能观察到荚膜。

荚膜含有大量的水,约为 90% 以上,其化学成分大多数为多糖,如肺炎链球菌,少数为多肽或蛋白质,如炭疽杆菌荚膜为多肽,鼠疫耶尔森菌则为蛋白质。

荚膜的主要功能为:④具有保护细菌的作用,它能抵抗体内吞噬细胞的吞噬作用,还能保护细菌免受体内溶菌酶、补体以及其他化学杀菌物质的杀伤作用。⑤荚膜与致病力有关,其构成了某些病原菌的毒力因子,如具荚膜的 S 型肺炎链球菌毒力强,失去荚膜后,致病力明显降低或消失。⑥荚膜还能储留水分,具有抗干燥作用。⑦荚膜还能储藏养料,当营养缺乏时,可被细菌作为碳源与能源利用。⑧荚膜可以堆积某些代谢废物。⑨荚膜还是某些病原菌必需的黏附因子,如引起龋齿的唾液链球菌和变异链球菌等,是借助荚膜黏附于牙齿表面而引起龋齿。

②鞭毛。某些细菌从细胞膜长出的细长而呈波浪形弯曲的丝状物,称为鞭毛。鞭毛很细,直径为 $10\sim 20\text{nm}$,但其长度可达菌体数倍,电镜下可直接观察到,经特殊染色法,使染料在鞭毛上沉积,加大其直径,也可在光学显微镜下进行观察。具有鞭毛的细菌大多是螺旋菌和弧菌,部分杆菌生鞭毛,大多数球菌不生鞭毛。

根据鞭毛数目和着生位置,可将有鞭毛的细菌分为以下四种类型(图 1-1-5)。

a. 偏端单生鞭毛菌。在菌体一端着生一根鞭毛,如霍乱弧菌。

b. 两端单生鞭毛菌。菌体的两端各着生一根鞭毛,如鼠咬热螺旋菌。

c. 丛生鞭毛菌。在菌体的一端或两端各着生一束鞭毛，如铜绿假单胞菌、红色螺菌等。

d. 周生鞭毛菌。菌体周身生有许多鞭毛，如伤寒杆菌、普通变形杆菌等。

鞭毛的主要化学成分为蛋白质，有少量的多糖和脂类。

鞭毛的主要功能是推动细菌的运动，是细菌的运动器官。鞭毛的运动具有方向性，可以使菌体向目标物移动，也可以使菌体逃离有害物质。鞭毛还具有较强的抗原性，鞭毛抗原称为“H”抗原。鞭毛的着生位置和数目以及抗原性是细菌分类鉴定的重要指标。

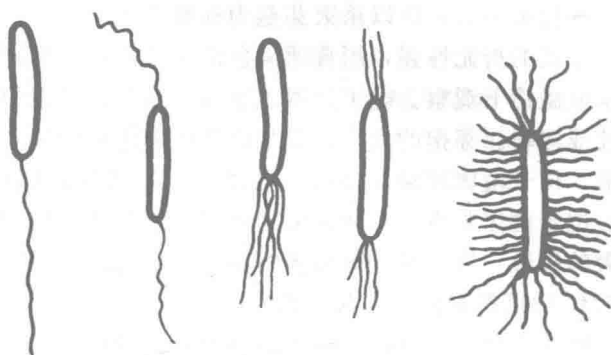


图 1-1-5 细菌的鞭毛

③ 菌毛。某些细菌表面具有比鞭毛更纤细、短而直硬的丝状物，称为菌毛，也称纤毛。菌毛遍布菌体表面，数目很多，菌毛在电镜下可见到，其主要成分是蛋白质。菌毛不具有运动功能，可分为普通菌毛和性菌毛两种。

a. 普通菌毛。普通菌毛短而直，且数量多，每个细胞有 50~400 根，周身分布。大肠杆菌、霍乱弧菌、铜绿假单胞菌、淋球菌等菌体表面有这类菌毛。普通菌毛具有黏附能力，通过普通菌毛细菌可以牢固地黏附于多种细胞上或呼吸道、消化道、泌尿生殖道等腔道黏膜的表面，由此获得立足点而侵入细胞内引起感染。因此普通菌毛与细菌致病力有关，失去菌毛后，其致病力随之消失。

b. 性菌毛。性菌毛比普通菌毛稍长且粗，中空呈管状，数量少，一个细菌仅有 1~4 根。具有性菌毛的细菌称为雄性菌 (F^+ 菌)，无性菌毛的细菌称为雌性菌 (F^- 菌)。性菌毛能将 F^+ 菌的某些遗传物质转移给 F^- 菌，如细菌的抗药性和某些细菌的毒力因子都可通过性菌毛转移。

④ 芽孢。某些细菌发育到某一阶段，在一定环境条件下，在菌体内形成一个圆形或椭圆形的休眠构造，称为芽孢，其壁厚，含水量低，抗逆性强。能形成芽孢的细菌多为 G^+ 杆菌，如破伤风杆菌。芽孢成熟后菌体即成空壳而崩解，芽孢脱落游离。芽孢具有菌体的各种成分，故能保持细菌的生命活性，但其新陈代谢处于相对静止状态，不能分裂繁殖，是细菌的休眠体，是细菌维持生命活动的特殊形式。当环境条件适宜时，芽孢又可发育成新的菌体。一个产芽孢细菌可形成一个芽孢，一个芽孢也只能生成一个菌体，因此，芽孢不是细菌的繁殖方式。与芽孢相比，细菌的菌体具有繁殖能力而称为繁殖体。

芽孢含水量少，具有多层厚而致密的膜结构，结构坚实，故而通透性低，芽孢由外向内分别是由孢外壁、芽孢衣、皮层和核心 4 个部分组成 (图 1-1-6)。由于芽孢的特殊结构，而使芽孢具有很强的抵抗不良环境条件的能力，化学消毒剂很难渗入，对高温、干燥、辐射等有很强的抗性。芽孢在自然界中可存活几年甚至几十年，如破伤风杆菌的芽孢在土壤中可存活数十年不死，能耐煮沸 1h，在 5% 石炭酸液中可存活 10~15h，一般芽孢在 121℃ 时 15~30min 才能杀死。因此，临床上要严防芽孢污染伤口和医疗器具，在制药过程中要防止芽孢进入药物制剂、用具

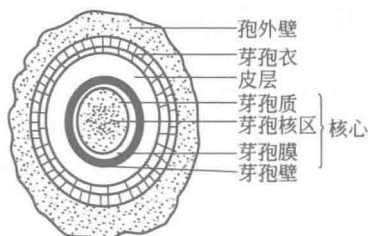


图 1-1-6 细菌芽孢的构造图

等，进行灭菌时，应以杀灭芽孢为标准。

芽孢的折光性强，用普通染色法很难着色，必须采用特殊的芽孢染色法着色后，才可在光学显微镜下观察。电子显微镜下可见到各种芽孢的不同形态，有的表面光滑，有的表面有脉纹或沟嵴。芽孢的大小、形状以及在菌体内的位置因菌种而异，如破伤风杆菌的芽孢为正圆形，位于菌体顶端，芽孢比菌体宽，形状呈鼓槌状；枯草杆菌的芽孢比菌体窄，呈椭圆形，位于菌体中央；丁酸梭菌的芽孢位于菌体中央，椭圆形，直径比菌体大，故呈两头小中间大的梭形。这些对产芽孢菌的鉴别有一定意义。

3. 细菌的营养、生长与繁殖

所有生物为了生存都必须不断地从外界环境吸收所需的各种物质，从而获取原料和能量以便合成新的细胞物质，生物所需要的这些物质称为营养物质。营养是指生物体从外界环境中摄取其生命活动所必需的能量和物质，满足其生长和繁殖需要的一种基本的生理功能。

(1) 细菌细胞的化学组成 构成菌体细胞的各种成分和结构的物质基础是各种化学元素。细菌的元素组成与其他生物细胞的元素组成相似。根据细菌需要量的大小分为主要元素和微量元素。

主要元素有碳、氢、氧、氮、磷、硫、钾、钙、镁、铁等，其中碳、氢、氧、氮、磷和硫可占细菌细胞干重的 97%；微量元素是指含量极低且在不同微生物细胞中差异较大的一些元素，包括锌、锰、钠、氯、钼、硒、钴、铜、钨、镍、硼等。各种化学元素主要以化合物的形式存在于细菌细胞中。

细菌的化学组成主要是水和固形成分。水是细菌体内不可缺少的主要成分，约占生活细胞总量的 75%~85%。其存在形式有结合水和游离水两种。结合水是构成细菌的成分，游离水是菌体内重要的溶剂，参与一系列的生化反应。细菌细胞除含水外，其余物质统称为固形成分，包括有机物如蛋白质、核酸、糖类、脂类、维生素和无机物等。

(2) 细菌营养物质 不同种类的细菌所需要的营养物质有较大差别，但细菌所必需的营养物质有水、碳源、氮源、无机盐和生长因子。这些营养物质起到供给细菌合成细胞物质的原料，提供生命活动中所需能量以及调节新陈代谢等重要作用。该内容在模块二（项目一）中进行了具体阐述。

(3) 细菌的生长繁殖

① 细菌生长繁殖的条件。生长是微生物与外界环境因子共同作用的结果。不同种类的细菌，其生长繁殖所需要的条件不完全一样，但其生长繁殖的基本条件可归纳为营养物质、水、温度、pH 值、氧等。

a. 营养物质。细菌需要丰富的营养物质以满足其生长繁殖，营养物质是细菌生产繁殖的首要条件。包括水、碳源、氮源、无机盐、生长因子等。

b. 温度。温度是微生物生长的重要环境条件之一。温度对微生物生长的影响具体表现在：①影响酶的活性；②影响细胞质膜的流动性；③影响物质的溶解度。依据细菌对温度的需求不同，可将其分为嗜冷菌、嗜温菌、嗜热菌三大类。三类菌的最适生长温度如表 1-1-2 所示。

表 1-1-2 细菌生长的温度范围

细菌类型	生长温度/℃		
	最低	最适	最高
嗜冷菌	0 以下	10~20	25~30
嗜温菌	10~20	20~40	40~50
嗜热菌	25~45	50~60	70~80

c. pH。环境的酸碱度对微生物生长也有重要影响。与温度相似，细菌也有其最适 pH 和一定的 pH 范围。但不同种类微生物的适应能力各异。大多数细菌的最适 pH 为 6.8~7.4，细菌在最适 pH 条件下，酶活力最高，细菌生长速率最快。有些细菌在碱性条件下生长良好，如霍乱弧菌的最适 pH 8.0~9.2，有些细菌在酸性条件下生长良好，如乳酸杆菌最适 pH 5.8~6.6。多数病原性细菌在中性或微碱性（相似人体环境）中生长良好。

许多细菌在代谢过程中分解糖产酸，使 pH 下降，不利于细菌生长。所以，在生产实践中，要把经常测定培养基的 pH 变化作为一种生产指标，并采用加缓冲剂或调节酸、碱等方法控制 pH。缓冲剂有很多种，不同的缓冲剂适用于不同的 pH 范围，在培养基中广泛使用的有磷酸盐，如 K_2HPO_4 和 KH_2PO_4 适用于实验室 pH 6~8；也可通过选用不同的培养基组成成分如蛋白质、氨基酸等来调节环境 pH。

d. 氧。氧对细菌影响很大。细菌的种类不同对氧的需求也不同。根据微生物与氧气的关系，可把它们粗分为以下五种类型，它们的生长状态如图 1-1-7 所示。



图 1-1-7 氧与细菌生长关系示意图

① 专性好氧菌。这类微生物必须在较高浓度分子氧的条件下才能生长，它们有完整的呼吸链，以分子氧作为最终氢受体，具有超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶。如结核分枝杆菌、白喉棒状杆菌。

② 兼性厌氧菌。在有氧和无氧条件下均能生长，但在有氧的条件下生长更好。兼性厌氧菌有两套酶系统，有氧时以进行呼吸产能为主，无氧时通过发酵或无氧呼吸产能。细胞中含有超氧化物歧化酶和过氧化氢酶。

③ 微好氧菌。这类菌只有在氧浓度很低（氧分压 $1 \times 10^3 \sim 3 \times 10^3$ Pa）的条件下生长最好，在氧气充足和绝对厌氧条件下均不能生长，其产能方式也是通过呼吸链并以氧为最终氢受体。如霍乱弧菌及氢单胞菌属。

④ 耐氧菌。即耐氧性厌氧菌的简称。一类可以在分子氧存在下进行厌氧生活的厌氧菌，只能以发酵产能，但分子氧对其无毒害。细胞内存在 SOD 和过氧化物酶，（缺乏过氧化氢酶）。一般的乳酸菌多数为耐氧菌，如乳链球菌、乳酸乳杆菌等。

⑤ 厌氧菌。只能在无氧条件下进行生长繁殖。分子氧对其有毒，即使短期接触空气，也会抑制其生长甚至死亡。在空气或含 10% O_2 的空气中，它们在固体或半固体培养基表面不能生长，只有在其深层无氧处或在低氧化还原势的环境下才能生长；通过发酵、无氧呼吸、甲烷发酵或光合磷酸化等获得能量。细胞内缺乏 SOD 和细胞色素氧化酶，大多数还缺乏过氧化氢酶。如双歧杆菌、光合细菌及产甲烷菌等。

⑥ 细菌的繁殖方式。细菌的繁殖方式比较简单，一般以无性繁殖、二分裂方式为主。分裂过程大致分为三个阶段：核分裂、形成横膈、子细胞分离。

核分裂是在细菌 DNA 复制后，核的物质随着细胞的生长而移向细胞的两极，形成两个核区，细胞赤道附近的细胞质膜从外向内环形推进，在两个核区之间形成一个垂直于长轴的

细胞质隔膜,将细胞质和两个核区分开;形成横膈,随着细胞膜的内陷,母细胞的细胞壁由四周向中心逐渐生长延伸,把细胞质隔膜分为两层,每层分别成为子细胞的细胞膜,随着细胞壁的向内收缩,每个子细胞便各自具备了完整的细胞壁;子细胞分离,有的细菌形成横膈膜后不久就相互分离,呈单个的游离菌体,有的则不分开,根据菌种的不同,形成不同的空间排列方式,如双球菌、双杆菌、链球菌等。

一般细菌在营养充足、环境条件适宜的情况下,繁殖速度极快,如大肠杆菌繁殖一代仅需15~20min。除无性生殖外,细菌亦存在有性结合,但频率很低。

(4) 细菌的菌落特征

① 在固体培养基上的生长现象。单个细菌在固体培养基上生长繁殖时,长出的以母细胞为中心,并由单个细菌繁殖而成的肉眼可见并具有一定形态结构的细胞集团,称为菌落(colony)。理论上一个菌落是由一个细菌繁殖而来,故可用于纯种分离,由单个菌落取菌,再移种到新鲜培养基中而获得该细菌的纯培养物。当一个固体培养基表面由许多菌落连成一片时,称为菌苔。常用于菌种的保藏。

细菌菌落具有湿润、黏稠、易挑起、质地均匀、颜色一致等共性,但不同的细菌种类具有各自独特的特点,即菌落的大小、形状、表面(光滑或粗糙)、边缘形状、黏稠度、色泽等都不相同,是鉴别细菌的重要依据之一。无鞭毛、不能运动的细菌尤其是球菌的菌落通常为较小、较厚、边缘圆整的半球状菌落;具有鞭毛能运动的细菌一般形成大而平坦、边缘不齐整、不规则的菌落。有糖被的细菌菌落则呈大型、透明、蛋清状;无糖被的细菌菌落表面粗糙。具芽孢的细菌菌落表面褶皱且不透明。

② 半固体培养基中的培养特征。细菌穿刺接种在半固体培养基中进行深层培养,培养后,有鞭毛能运动的菌株,细菌从穿刺线向四周培养基运动弥散,可见沿穿刺线呈羽毛状或云雾状浑浊生长;而无鞭毛不能运动的细菌,则可见到细菌仅沿穿刺线呈清晰的线形生长,周围培养基透明澄清。该法是鉴定细菌的运动特征,进而断定有无鞭毛存在的常用方法之一。该法也常应用于菌种保藏。

③ 液体培养基中的培养特征。在液体培养基中,经过一定的培养时间,培养基会由澄清变得浑浊,或在培养基表面形成菌环、菌膜或菌醭,或产生絮状沉淀。液体培养可分为静止培养、摇瓶培养和发酵培养。常用于观察微生物的生长状况,检测生化反应和积累代谢产物等。

(5) 细菌群体的生长规律——典型生长曲线 将少量的纯培养细菌接种到有限的液体培养基中,并在培养过程中定时取样测定,以时间为横坐标、菌数的对数为纵坐标,可绘制一

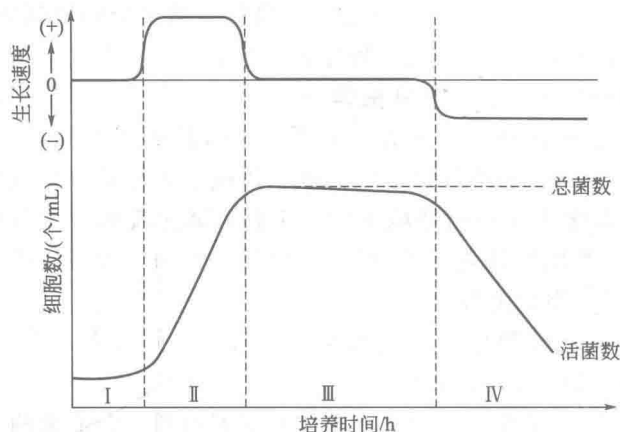


图 1-1-8 细菌的典型生长曲线图

条有规律的曲线,这就是细菌的典型生长曲线(图1-1-8)。典型的生长曲线可分为延滞期、对数期、稳定期和衰亡期四个时期,正确认识和掌握生长曲线各期的特点对指导发酵生产和科学研究是十分必要的。

① 延滞期。又称停滞期、适应期、迟缓期或调整期。当少量纯种细菌接种到适宜培养基后,往往需要一些时间来进行调整以适应新环境,因此细胞不进行分裂,菌体数目也不增加,一般会持续1~3h。该时期的特