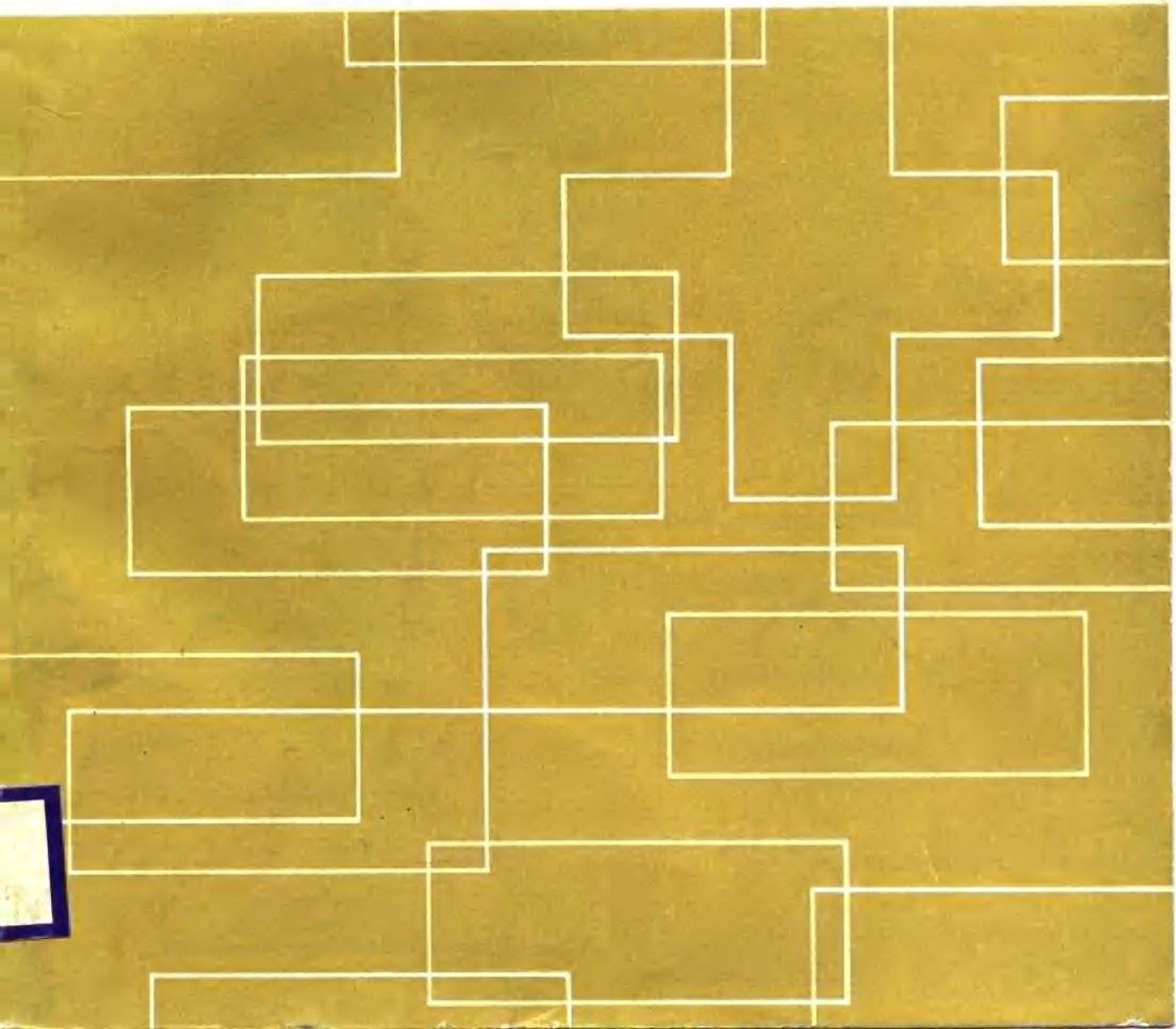


高等医药院校教材（供医学检验专业用）

微生物学和 微生物学检验

刘莘甫 李业

人民卫生出版社



高等医药院校教材

(供临床医学类医学检验专业用)

微生物学和微生物学检验

刘恭植 主编

余传霖 张颖悟 张儒珍 郑家齐
蓝鸿泰 编写

人民卫生出版社

前 言

《微生物学和微生物学检验》一书是供高等医药院校医学检验专业使用的教材。医学检验专业是近年来新设置的专业，主要培养医院高级检验人员。专业课程有微生物学检验、免疫学检验、寄生虫学检验、生物化学检验和其他临床检验等。为了避免基础微生物学和微生物学检验内容上的脱节或重复，因而合并编成此书。本书编写中有下列几点说明：

1. 本课程的学时数各校不一致，参考大多数院校的教学计划，认为不应超过 200 学时，其中理论课为 100 学时。内容分为五篇，细菌检验三篇即细菌学总论、细菌检验的基本方法和各类细菌的检验。另两篇为病毒检验和其他微生物检验。

2. 本书以检验为重点，尽可能突出各类微生物检验方法和检验程序，但应有别于检验手册，因此有关操作方法细节，不能详细介绍，各校应根据具体条件编写实验讲义。

3. 微生物种类繁多，不断有新种发现，为了使學生掌握基本理论、基本知识和基本技能，着重编写了微生物检验的基本原则和最常见的微生物。但照顾本书的系统性和学有余力的学生参考，按 Bergy 氏微生物分类学较系统地描述了医学中重要微生物及其鉴定程序。使用本教材时，根据地区不同可以筛选。

4. 医学检验专业设有《免疫学和免疫学检验》教材，因此有关免疫学的内容本教材不再重复。但微生物学检验和免疫学检验不可能完全分割，为此本书仅简述免疫学中最基本的概念如抗原、抗体及抗原抗体反应，抗感染免疫等。

在编写本教材的过程中，由于编者的教学经验不足，加之水平有限，编写时间仓促，难免有不少缺点和错误，恳切希望同志们提出批评和修改意见。

刘恭植

一九八七年十二月

目 录

绪论	1
微生物、微生物学和医学微生物学	1
医学微生物学发展简史	3
微生物学检验在医学上的重要地位	5

第一篇 细菌学总论

第一章 细菌的形态和结构	6
第二章 细菌的生理	15
第一节 细菌的化学组成和物理性状	15
第二节 细菌的营养	18
第三节 细菌的能量代谢	19
第四节 细菌的生长繁殖	22
第五节 细菌的人工培养	24
第三章 外界因素对细菌的影响	26
第一节 物理因素对细菌的影响	26
第二节 化学因素对细菌的影响	28
第三节 生物因素对细菌的影响	32
第四章 细菌的遗传变异	36
第一节 细菌遗传的物质基础	36
第二节 细菌的变异	37
第三节 细菌变异的实际意义	40
第五章 细菌的致病性	41
第一节 细菌的侵袭力	41
第二节 细菌的毒素	42
第六章 抗细菌感染免疫	46
第一节 非特异性防御机制	46
第二节 特异性免疫机制	48

第二篇 细菌检验基本技术

第七章 细菌形态学检查	51
第一节 显微镜检查	51
第二节 不染色标本检查法	53
第三节 染色标本检查法	53
第八章 细菌培养与分离技术	58
第一节 无菌技术	58
第二节 接种和分离技术	61
第三节 培养条件	64
第九章 细菌的生物化学试验	66

第一节	碳水化合物代谢试验	66
第二节	蛋白质和氨基酸的代谢试验	70
第三节	有机酸盐和铵盐的利用试验	73
第四节	呼吸酶类试验	74
第五节	其他酶类试验	76
第六节	抑菌或敏感试验	79
第十章	血清学试验	80
第一节	血清学反应的基本概念	80
第二节	血清学反应的主要类型	83
第十一章	动物实验	92
第一节	实验动物的分类和选择	92
第二节	接种途径和方法	94
第三节	接种后的观察与解剖	95
第四节	动物实验在细菌性疾病鉴别诊断的应用	96
第五节	动物采血法	97
第十二章	抗菌药物敏感试验及其他抗菌活性试验	99
第一节	细菌对抗菌药物的敏感试验	100
第二节	体液内抗菌药物浓度测定	111
第三节	血清杀菌水平的测定	114
第十三章	细菌检验的质量控制	117
第一节	室内质量控制	117
第二节	室间质量控制	125
第十四章	细菌检验的自动化和微型化设备	127
第一节	细菌检验的自动化设备	127
第二节	细菌检验的微型化设备	132

第三篇 细菌检验各论

第十五章	细菌的分类	137
第一节	细菌分类单位和命名法	137
第二节	细菌的分类方法	138
第三节	细菌分类系统	141
第十六章	肠杆菌科	143
第一节	埃希氏菌属	147
第二节	志贺氏菌属	156
第三节	沙门氏菌属	162
第四节	枸橼酸杆菌属	172
第五节	克雷伯氏菌属	174
第六节	肠杆菌属	178
第七节	欧文氏菌属	180
第八节	沙雷氏菌属	180
第九节	哈夫尼菌属	182
第十节	爱德华氏菌属	184

第十一节	变形菌属、普罗威登斯菌属及摩根氏菌属	185
第十二节	耶尔森氏菌属	188
第十三节	肠杆菌科其它属	196
第十七章	弧菌科	197
第一节	弧菌属	197
第二节	发光杆菌属	207
第三节	气单胞菌属	208
第四节	邻单胞菌属	211
第十八章	其它发酵和微需氧革兰氏阴性杆菌	212
第一节	嗜血杆菌属	212
第二节	巴斯德氏菌属	216
第三节	放线杆菌属	218
第四节	弯曲菌属	220
第五节	色杆菌属	224
第六节	心杆菌属	226
第七节	加德纳尔氏菌属	228
第八节	链杆菌属	230
第九节	小螺菌	231
第十九章	不发酵和需氧革兰氏阴性杆菌	232
第一节	假单胞菌属	233
第二节	不动杆菌属	238
第三节	土壤杆菌属	241
第四节	产硷杆菌属	241
第五节	莫拉氏莫拉氏菌亚属	243
第六节	鲍特氏菌属	245
第七节	艾肯氏菌属	248
第八节	金氏菌属	249
第九节	黄杆菌属	250
第十节	军团菌属	251
第十一节	布鲁氏菌属	254
第十二节	弗朗西斯氏菌属	258
第二十章	革兰氏阳性球菌	261
第一节	葡萄球菌属	261
第二节	微球菌属	268
第三节	链球菌属	268
第四节	肺炎链球菌	277
第二十一章	革兰氏阴性球菌	281
第一节	脑膜炎奈瑟氏球菌	281
第二节	淋病奈瑟氏球菌	284
第三节	卡他布兰汉氏球菌	286
第二十二章	需氧革兰氏阳性杆菌	287
第一节	棒状杆菌属	287

第二节	产单核细胞李斯特菌	292
第三节	红斑丹毒丝菌	295
第四节	炭疽杆菌	296
第五节	蜡样芽胞杆菌	301
第六节	乳酸杆菌	302
第二十三章	厌氧细菌	304
第一节	概述	304
第二节	梭状芽胞杆菌属	313
第三节	革兰氏阴性无芽胞厌氧杆菌	323
第四节	革兰氏阳性无芽胞厌氧杆菌	328
第五节	放线菌属	330
第六节	厌氧性球菌	333
第二十四章	分枝杆菌属	336
第一节	结核分枝杆菌	337
第二节	非典型分枝杆菌	345
第三节	麻风杆菌	348
第四节	奴卡氏菌	349
第四篇 病毒检验		
第二十五章	病毒的基本特性与分类	352
第一节	病毒的形态、结构和化学组成	352
第二节	病毒的增殖	355
第三节	病毒的遗传和变异	359
第四节	病毒的分类	361
第二十六章	病毒的致病性	362
第一节	病毒对细胞的致病作用	362
第二节	病毒感染的发病机理	364
第二十七章	抗病毒感染免疫	367
第一节	非特异性免疫	367
第二节	特异性免疫	369
第三节	各种免疫因素在病毒感染中的作用	370
第二十八章	病毒感染的实验诊断	372
第一节	标本的采集和送验	372
第二节	检验方法	373
第三节	检验结果的判断	377
第二十九章	RNA病毒的检验	379
第一节	小RNA病毒	379
第二节	正粘病毒和副粘病毒	382
第三节	虫媒病毒	385
第四节	轮状病毒	387
第三十章	DNA病毒的检验	389
第一节	疱疹病毒	389

第二节	腺病毒	392
第三十一章	肝炎病毒的检验	394
第一节	甲型肝炎病毒	394
第二节	乙型肝炎病毒	396
第三节	丙型肝炎病毒	400

第五篇 其他微生物检验

第三十二章	真菌检验	401
第一节	概述	401
第二节	皮肤癣菌	405
第三节	深部真菌	409
第四节	条件致病性真菌与实验室常见污染霉菌	416
第三十三章	螺旋体检验	425
第一节	钩端螺旋体	425
第二节	回归热螺旋体	432
第三节	梅毒螺旋体	433
第三十四章	立克次体检验	438
第一节	概述	439
第二节	立克次体的检验方法	441
第三节	引起人类感染的主要立克次体	444
第三十五章	衣原体检验	446
第一节	概述	446
第二节	引起人类感染的衣原体	448
第三节	衣原体的检验	450
第三十六章	支原体与细菌L型的检验	453
第一节	支原体及其检验方法	453
第二节	肺炎支原体	455
第三节	细菌L型及其检验方法	456

绪 论

微生物、微生物学和医学微生物学

微生物 微生物 (microorganism) 是存在于自然界中的一大群体形微小、构造简单、肉眼不能直接见到的微小生物。必须借助于光学显微镜或由电子显微镜放大几百倍、几千倍甚至几万倍,才能观察到。微生物在自然界分布广泛,几乎地球上到处都有,数量极大,不能以千万计。种类繁多,包括有细菌、病毒、螺旋体、立克次体、衣原体、支原体、真菌、放线菌和原虫等。其中以细菌研究较早、较深入,亦是首先肯定与疾病有关的一类微生物,因此在 50 年代以前,几乎研究微生物的著作统称为细菌学 (bacteriology)。后来发现除细菌外的其他微生物如病毒、立克次体等等越来越显示在医学上的重要地位,若以细菌学来概括所有微生物很不恰当,所以称为微生物学 (microbiology)。

微生物学 微生物学是生物学中的一个分支,是研究微生物在一定条件下的形态、结构、生命活动的规律、进化、分类以及与人类和其他生物相互关系及在自然界的作用等问题的一门学科。微生物学随着研究范围的日益扩大和深入,又逐渐形成了许多分支,例如普通微生物学、工业微生物学、农业微生物学、医学微生物学、兽医微生物学等等。

医学微生物学 医学微生物学 (medical microbiology) 是一门医学的基础学科,主要研究与医学有关的各类病原微生物生物学性状、致病机理、机体抗感染的防御机能 (即机体的天然抵抗力和特异性的免疫功能) 和诊断技术以及特异性防治措施等,以达到控制和消灭传染性疾病和微生物有关的疾病,保障人类的健康。在整个学科中以免疫学的发展极快,其范围已远远超过抗感染的内容。目前已将免疫学作为一门独立学科,因此这一部分将另书叙述。

微生物在生物界的地位 这个问题是长期研究的课题。由于微生物种类繁多,有些微生物如病毒在生物界的地位仍然没有定论。从细胞学的水平将微生物分成三大类型,即原核细胞型 (procaryotes)、真核细胞型 (eucaryotes) 和非细胞型 (病毒)。

在 60 年代以前,细菌在分类学上为原始的植物细胞,或称为原生生物 (protists)。所谓原生生物是 1866 年 Haeckel 将一些未分化的单细胞生物,即尚未形成特殊的象高等动、植物一样的组织及器官系统,归属于此类。随着科学的不断发展,特殊染色方法的建立,超微结构的研究,发现细菌细胞不同于其他生物细胞,这类细胞仅有原始核,无核仁和核膜,缺乏完整的细胞器,称为原核细胞。在 1968 年 Stanier, van Niel 和 Murray 等把具有原核细胞的生物定为一个新的生物界——原核生物界 (kingdom procaryotae)。将细菌、衣原体、立克次体、支原体、螺旋体和放线菌等均列入在这个生物界中,其他生物细胞称为真核细胞,属于真核细胞的微生物有真菌。

微生物的命名和种类 除病毒之外,根据伯杰氏分类学基本上还是按界、门、纲、目、科、属、种分类,采用林奈氏双命名法 (属名在前,种名在后),例如伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*), 普氏立克次体 (*Rickettsia prowazeki*), 金黄色葡萄球菌 (*Sta-*

phylcococcus aureus) 等。微生物的命名中又分为种、型、株, 其确切的含义如下:

1. 种 (species) 是细菌的基本分类单位。同一种细菌的形态、生理特性和组成成分都基本相同。具有密切相关的种组成属 (genera), 例如痢疾志贺氏菌、福氏志贺氏菌、鲍氏志贺氏菌和宋氏志贺氏菌等组成志贺氏菌属 (Shigella)。有共同亲缘关系的志贺氏菌属、沙门氏菌属等组成肠道杆菌科。在实验室内要确切地鉴定一个细菌种是十分困难的, 必须进行一系列的试验, 包括①形态结构试验, 如形态、大小、运动、芽胞、革兰氏染色性和生长的菌落等; ②生物化学和营养试验, 如对各种物质 (碳水化合物, 蛋白质) 的分解代谢作用; ③生理性试验, 如呼吸类型, 对温度和 pH 的要求以及对抗菌物质的反应。④生态试验; ⑤遗传试验; ⑥确定其生物型。在进行这些试验中一定要有标准菌株或参考菌株 (reference strain) 作为对照。在临床细菌学检验时, 鉴定细菌不可能进行全套试验, 一般只根据某些种的几个主要特点即可报告, 但要确定一个新种或一个种的新生物型, 应尽可能做系统试验。

2. 生物型 (species biotype) 同一菌种之间在某一点上的差异。根据这个差异可以分型, 例如抗原结构上的不同, 可分为血清型 (serotypes); 对噬菌体或细菌素敏感性不同, 可分为噬菌体型 (phage type) 或细菌素型 (bacteriocin types), 此外还有毒素型 (toxin types) 等, 这些统称为生物型 (biotype), 有时亦称为变种 (varieties)。

3. 株 (strains) 不是分类学上的单位, 是指不同来源的相同种 (或型)。具有典型特征的菌株称为标准株 (standard strains) 或称为参考菌株 (reference strains)。在细菌检验的质控中, 制备菌苗的菌株或制备抗原等均需要标准株, 例如结核分枝杆菌的强毒标准株为 H₃₇R_v, 伤寒沙门氏菌标准株有 H901、O901 等。每个国家均有保存各种菌种的中心机构, 保证了菌株的正确性, 我国由中国药品生物制品检定所保存并供应。

微生物种类之多、分布之广已如前述, 其中绝大多数微生物对人类和动、植物是有益的, 而且是必需的, 例如自然界中许多物质循环如氮、碳等均可靠微生物来完成, 若无微生物的存在, 人类和其他生物也将无法生存。其中少数微生物可以引起人类或动、植物的病害, 这些微生物称之为病原微生物 (pathogenic microorganism)。对人类致病的称为人类病原微生物, 对一些动物致病的称为动物病原微生物。但人类病原微生物与动物病原微生物有时有交叉的作用, 即动物病原微生物也能致人类疾病。

寄居在人体的微生物可分为三类: ①正常微生物丛 (或正常菌群); ②条件致病微生物 (条件致病菌); ③病原微生物 (病原菌)。正常菌群 (normal flora) 是指定居在人类皮肤或粘膜上各类微生物, 对人体无害, 且有些尚具有拮抗某些病原微生物, 有些还能合成营养物质如硫胺素、核黄素、烟酸、维生素 B₁₂、维生素 K 和多种氨基酸。病原菌为能引起机体某些疾病或损害的一类微生物。条件致病菌是指一大群毒力很低, 在正常人体的体表或粘膜寄居的微生物, 一般不会引起疾患, 但若机体状态有所改变, 如抵抗力下降、免疫功能失调、该菌寄居的部位发生改变或寄居微生物丛 (菌群) 平衡失调, 此时该菌也可以致病。近年由于大量广谱抗生素和免疫抑制剂的使用, 这些条件致病菌越来越显示其致病作用。一种微生物的致病性或毒力是与机体密切相关, 离开了机体很

难评价致病性的强弱。

本书着重叙述病原微生物的特点和其检验。

医学微生物学发展简史

一门科学的发展必然要经过漫长的历史和科学家们共同努力积累经验才能形成。了解这个历史过程，对展望今后的发展有重要的参考意义。

医学微生物学的发展是在发现微生物的基础上和肯定这些微生物与传染性疾病的关 系上发展起来的。在古代人们与传染病作斗争中早已提出了一些不可见的因子可以传播疾病，例如 11 世纪我国北宋末年刘真人提出了痲虫引起痲病之说；13 世纪 Roger Bacon 也推测一种不可见的活的生物引起疾病；在 1546 年意大利人 Fracastorius 更具体地记载了梅毒是一种传染病，通过活的生物——疾病种子(*seminaria morbi*) 直接或间接传播，并明确地提出是被感染的人传给另一个人。疾病种子学说 (*germ theory*) 虽早已提出，但一直在三个世纪后才被证实。科学的发展总离不开技术的发展，只有技术的发展才能推动科学。微生物学的发展也是如此，如显微镜的发明，分离培养技术的建立，电子显微镜的发明和分子生物学技术的进展才推动了它的发展。兹将微生物学发展历史中几个重要发明叙述如下：

1. 细菌的发现 首先看到和描述细菌的是荷兰人吕文虎克 (*Antoni van Leeuwenhock*)。在 1673~1676 年间他利用自磨镜片，创造了一架能放大约 270 倍的原始显微镜，观察了自然界污水和机体排泄物等材料，发现了各种微小生物，正确地描述了活的原虫和细菌的形态有球状、杆状、螺旋状等，为自然界或机体内存在着微生物提供了有力证据，有人称他为细菌学和寄生虫学之父。

细菌受到人们真正的重视是在 19 世纪。法国化学家、微生物学家巴斯德 (*Louis Pasteur*, 1822~1895) 不仅是细菌学的创建者，而且是医学革命的先驱。他的功绩很多，主要有：①肯定了酒精发酵过程是由生命的酵母所致；②不同形态和培养特性的酵母引起不同类型的发酵，这个概念奠定了细菌作用的特异性；③酒类的变质是由污染的细菌所致，蚕病是寄生性细菌所致，提出人类疾病与细菌的关系；④发现了厌氧生长的细菌；⑤创造了 63℃ 加温处理酒类和牛乳等食品，防止其变质，就是至今延用的巴氏消毒法，在工作中应用高压蒸汽灭菌和 170℃ 干烤消毒玻璃器皿等；⑥在鸡霍乱实验中，证实减毒活疫苗的接种可以预防鸡霍乱的发病，建立了炭疽杆菌的减毒疫苗。因此巴斯德也是免疫学的创始人。

英国外科医生李斯特 (*Joseph Lister*, 1827~1912) 受了巴斯德提出的感染与细菌的关系和空气中充满着细菌的原理的启发，创用石碳酸溶液喷洒手术室和煮沸手术工具，以防止外科手术的继发感染，为无菌手术打下了基础。

细菌学的另一个奠基人是德国人郭霍 (*Robert Koch* 1843~1910)，他发现了动物疾病中炭疽杆菌，并证明这种疾病可以由小鼠传代，而且症状完全相同。他将炭疽杆菌用数滴无菌血清或体液在玻片上进行培养，观察了这些丝状物生长情况，并最早发现了芽胞的形成。他提出了某种细菌是某种疾病的病原一定要附合下列的条件：①这种细菌在同样的疾病中发现；②这种细菌能被分离并获得纯培养；③将这种细菌接种易感动物能引起相同的疾病，并从动物材料中再次分离培养。这就是有名的郭霍法则 (*Koch*

postulates)。这个法则虽并不完全合理，但至今在确定一个新的病原菌时仍有一定的指导意义。

郭霍另一伟大的创造是发明用固体培养基从病人标本中分离培养细菌，容易获得纯培养，便于各种细菌的深入研究，后又创造了染色方法和实验性动物感染，为发现各种传染病的病原提供有利条件。由于他在方法上的创造，不仅他本人首先分离了炭疽杆菌、结核杆菌和霍乱弧菌，并使世界各地细菌学家在很短的时间相继发现了许多人类和畜禽的病原性细菌，如白喉杆菌 (Klebs, 1883; Loeffler, 1884)、肺炎球菌 (Frankel, 1886)、脑膜炎球菌 (Weichselbaum, 1887)、破伤风杆菌 (Kitasato, 1889)、鼠疫杆菌 (Kitasato 与 Yersin 1894) 等。

近来培养技术进一步改进和厌氧培养技术的发展，不断发现一些新的致病性细菌，例如军团菌和空肠弯曲菌在腹泻上的作用；肯定了一大群革兰氏阴性厌氧杆菌与疾病的关系等。

2. 病毒的发现 1871~1884 年间 Chamberland 和 Pasteur 首先成功地制备了细菌滤器，为发现病毒创造了条件。1892 年俄国学者伊凡诺夫斯基 (Ивановский, Д. И.) 发现患烟草花叶病的叶汁通过细菌滤器后仍保留其感染性，尔后证明该病是由另一类不同于细菌的病原体所引起，由于其非常微小，因此能通过细菌滤器，这是认识病毒的开端。1897 年 Loeffler 和 Frosch 用同样的实验方法证实了牛的口蹄疫病毒。1898 年 Beijerinck 考虑到这些传染因子在无细菌的滤液中，认为是一种非颗粒性的活因子，称之为病毒 (virus) (拉丁字，中毒的意思)。但很快就证明其为颗粒性，能在细胞内增殖。1911 年 Rous 发现病毒在鸡身上引起恶性肿瘤，是最早证明病毒与肿瘤的关系。1915 年 Twort 和 d'Herelle 各自发现了噬菌体，即细菌的病毒。

通过大量的实验研究，明确地将病毒分为三个领域，即植物病毒、噬菌体和动物病毒。植物病毒容易大量获得，就可能深入地进行理化性质的研究，1935 年 Stanley 首先获得了烟草花叶病病毒的结晶，并证实只含有核酸和蛋白质，且能与其他生物一样具有繁殖能力、传染性和遗传变异性。噬菌体的研究首先着重在治疗细菌性疾病，没有获得成功，但通过噬菌体与细菌作用的模型，深入研究了病毒的增殖与细胞的作用机制。

病毒学能迅猛地发展与几个关键技术的发展不能分割，首先是电子显微镜的发明，才可能观察到病毒的形态和结构，作为病毒分类上的重要依据；病毒纯化技术的发展，推动了研究病毒的理化性质，Rivers 对牛痘病毒化学性质的研究做出了贡献；Hirst 发现流感病毒能凝集鸡红细胞，这血凝现象很快发展为正确滴定粘液病毒的方法。过去的 30 年中，分子生物学主要的进展是通过噬菌体的研究所获得。分子生物学的技术也推动了病毒的发展。新的致病性病毒亦不断发现，例如近年来严重危害人类的一种性病艾滋病，又称获得性免疫缺陷综合征 (AIDS)，是病毒引起，已经分离到的病毒为 HTLV-III/LAV 病毒，现称为人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV)。

3. 免疫学的兴起 18 世纪末琴纳 (Edward Jenner, 1749~1823) 创制牛痘苗预防天花。19 世纪随着各种病原菌的发现和获得了纯培养，加之巴斯德研制炭疽、鸡霍乱和狂犬病疫苗的成功为预防医学、抗感染免疫开辟了广阔的途径，免疫学亦随之兴起，提出了自动免疫和被动免疫的方法来预防或治疗传染性疾病或传染病，取得了惊人的成

绩，例如地球上的天花病已绝迹。

4. 化学疗剂和抗生素的发明 1910年免疫化学家欧立希 (Paul Ehrlich) 合成了治疗梅毒的化学药物，砷凡纳明 (606) 和新砷凡纳明 (914)，开创了细菌性疾病化学治疗时期。1935年 Domagk 报告了百浪多息 (prontosil) 对链球菌感染的疗效，很快证明这是由于百浪多息在体内转化为磺胺 (sulfanilamide) 的作用，磺胺至今仍是重要的抗菌药物。在第二次世界大战时期 Florey 和 Chain 等重新研究和制备了 Fleming 发现的青霉素，在临床上惊人的特异抗菌效果鼓舞人心，开创了探索新抗生素的热潮，目前几乎每年均有新的抗生素问世。

过去抗生素研究均采用筛选的方法，花费大量的人力物力。当前从分子水平来识别病原菌和人体细胞代谢和结构的区别点，根据这些区别点较合理地来研究新的化学疗剂和抗生素，相信更特异更有效的抗菌药物将不断发明。但是化学疗剂和抗生素的大量使用也带来了一些新问题如耐药菌株的产生；机体正常菌群的失调；临床症状发生改变和偶而亦出现了对药物的变态反应等。

我国在解放前虽从事微生物学工作的人员为数不多，但也有一些成就，例如发现旱獭为鼠疫的宿主；首先应用鸡胚培养立克次体等。新中国成立后的几十年中进展较快，不仅对烈性传染病和常见传染病的防治做出了卓越的成绩，在微生物学的研究也有不少成就，例如 50 年代汤飞凡等首先成功地分离培养出沙眼衣原体；较早发现亚洲流感病毒；1959 年分离出麻疹病毒，成功地制成减毒活疫苗，现已推广使用；70 年代对流行性出血热的病原和中间宿主进行了大量研究；1972~1973 年分离出流行性出血性角膜炎的病原体，并证明是一种微小 RNA 病毒，原属肠道病毒 70 型。80 年代也已进入分子水平的研究并取得了不少可喜的成绩。但我国人口众多，经济还不够发达，相应微生物方面尚有很多工作，等待着我们的勤奋和努力地去建立。

微生物学检验在医学上的重要地位

微生物学检验即诊断微生物学 (diagnostic microbiology)，是微生物学中的一个分支。主要研究各种微生物学实验室方法，即如何快速、正确地检出病原体来帮助诊断传染病或传染性疾病。在疾病的诊断方面，尤其是传染病的诊断，检出病原体是最可靠的根据，这不仅在治疗上起了决定性作用，在预防这些疾病上也是不可缺少的工作，因此诊断微生物学在医学上的地位十分重要。

诊断微生物学研究的范围很广，包括细菌检验、病毒检验、真菌检验、螺旋体检验和其他微生物检验。在细菌检验和其他微生物检验方面突出的问题是根据临床的需要如何快速、正确的检出病原微生物，要解决这个问题，在每个微生物学检验的环节均有不少的课题，如标本的采集和输送，涂片染色显微镜检查，分离培养方法的改进，快速的鉴定方法等等，为了达到上述目的，很多实验室已采用自动化的微生物分析仪，这是发展的趋势。

我国各医院微生物学检验发展较慢，尤其是病毒学检验发展更慢，几乎很多医院尚未开展，但病毒性感染占当前传染性疾病中的大多数，不应忽视，要加强这方面的工作来推进微生物学检验的开展，为医学事业做出贡献。

(刘恭植)

第一篇 细菌学总论

第一章 细菌的形态和结构

细菌是一类原核细胞型的微生物。所有细菌细胞均有一层外膜 (envelop), 即包括细胞浆膜 (cytoplasmic membrane)、细胞壁 (cell wall) 和有关的蛋白质及多糖。某些细菌在细胞壁外包围有一层粘液物质称为荚膜 (capsule) 或粘液层 (slime)。鞭毛和菌毛是许多细菌的丝状表层附属物。细胞壁为最外层结构, 能保护细菌原生质免受物理和低的渗透压的损伤, 总的来说, 细胞壁使细菌能耐受各种外环境。原生质体 (protoplast) 是由细胞浆膜和内含的各种物质组成。细菌内部结构较简单, 细胞浆的主要组成包括一个中心丝状盘绕的染色质或称为拟核 (nucleoid), 周围是溶胶状的细胞浆, 内有核蛋白体 (ribosome)、内含物或各种营养储藏颗粒, 随细菌种类不同和生长阶段有很大差异。少数细菌在细胞浆内还有芽胞等结构。细菌的遗传物质除染色质外, 还有一种染色质外的重要遗传物质, 称之为质粒 (plasmid), 是环状闭合的双股 DNA (图 1-1)。

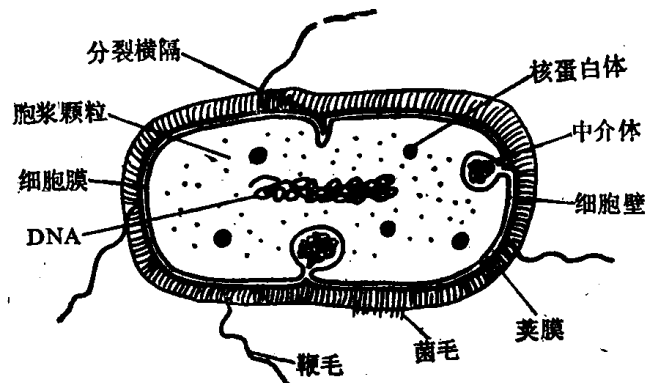


图 1-1 细菌细胞结构模式图

一、细菌的大小和形态

细菌个体很小, 须用显微镜放大数百倍才能看见。普通光学显微镜分辨率约为 $0.2 \mu\text{m}$ (微米), 通常用放大 90 倍的物镜和 10 倍的目镜, 这样就可以将标本放大 900 倍, 此能将直径为 $0.2 \mu\text{m}$ 大小的物体放大至 2.0mm (毫米), 就清晰可见。若进一步放大, 并不能提高分辨细微结构的能力, 只是缩小视野, 因此实用上并不需要。测量细菌大小的单位一般为 μm , 不同种类的细菌大小不一, 同一种细菌也可因菌龄和环境因素的影响, 其大小有所差异。大多数球菌直径约为 $1.0 \mu\text{m}$, 杆菌长约 $2 \sim 3 \mu\text{m}$ 、宽约 $0.3 \sim 0.5 \mu\text{m}$ 。

致病性细菌在普通光学显微镜或电子显微镜下一般可见到三种形态, 即球状 (球菌)、杆状 (杆菌) 和螺旋状 (弧菌和螺菌)。球菌 (Coccus) 有单个分散或成对排列, 成对者称为双球菌 (Diplococcus), 成链排列为链球菌 (Streptococcus), 四个菌体排列在一起为四联球菌 (Gaffkya tetragena), 八个菌体排列呈立方形为八叠球菌

(Sarcina) 或不规则排列呈一串葡萄状, 称为葡萄球菌 (Staphylococcus)。这是由于细菌在不同平面分裂繁殖后菌体之间相互粘附的原因。各种杆菌的长度有很大差别, 短的杆菌称为球杆菌 (Coccobacilli), 长的杆菌可以比宽度大 2~10 倍。杆菌的两端可呈纯圆形 (如肠道杆菌), 有的为平截 (如炭疽杆菌), 还有的呈梭形。弯曲的细菌有弧形或逗点形 (如霍乱弧菌); 有几个弯曲的菌体较为坚硬的称为螺菌 (spirillum, 如鼠咬热螺菌) (图 1-2)。

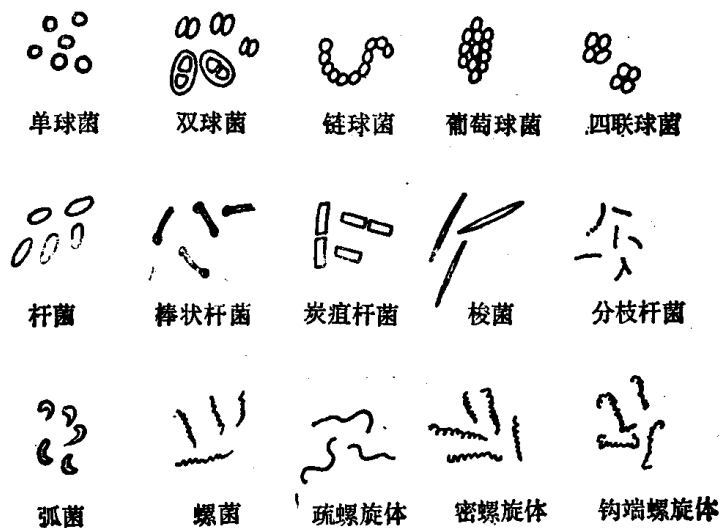


图 1-2 细菌的基本形态

细菌的形态受环境因素影响很大, 不适宜的环境, 菌体可出现膨胀, 呈梨形、丝状等不规的形态, 称衰退形 (involution form), 或表现为多形性 (pleomorphism), 不易识别。故观察细菌的大小与形态最好在适宜的培养基中培养 18~24 小时。在细菌检验中直接从病体材料涂片检查细菌形态仍为重要。

二、细菌的结构

细菌是单细胞的微生物, 形态虽小, 仍具有一定的细胞结构, 近来应用电子显微镜技术和组织化学的方法, 对细菌的结构及其超微结构等已有比较清楚的了解。

(一) 拟核

原核细胞与真核细胞主要区别在于原核细胞不具有典型的核, 其遗传物质称为核质 (nuclear material) 或拟核 (nucleoid), 多数集中在菌体中部, 无核膜。在普通光学显微镜下, 通过一般碱性染料染色不能见到, 因为细胞浆内具有高浓度的 RNA, 只有用核糖核酸酶预处理去除了 RNA, 即只有借助 Feulgen 氏染色法可以证明核质的存在。将细菌缓和地溶解后可以分离到拟核。它是由双股 DNA 组成的单一的一根环状反复盘绕的染色体, 若将此染色体伸展可长达 1mm。分子量大约为 3×10^9 道尔顿。

细菌染色体内不存在组胺 (histone), 但近来发现存在与组胺相似的蛋白质和低分子多胺, 其作用相似真核细胞中染色体中的组胺, 详细的尚不清楚, 可能具有抗细菌突变的作用和增加原生质体抵抗渗透压的作用。

(二) 表面附属物

细菌具有表面附属物, 包括鞭毛 (flagella)、菌毛 (pilli)。这些结构由于不是

每种细菌普遍存在的结构，因此亦称之为特殊结构。

1. 鞭毛 鞭毛是螺旋状的蛋白质丝状物，是细菌的运动器官，具有一定的长度和宽度。其长度常超过菌体若干倍，但很细，直径仅10~20nm。每根鞭毛有3部分组成，即丝状体、钩状体和基础小体。伸出菌体外的丝状体与细菌细胞表面的钩状体连接。钩状体是与基础小体接合（图1-3）。

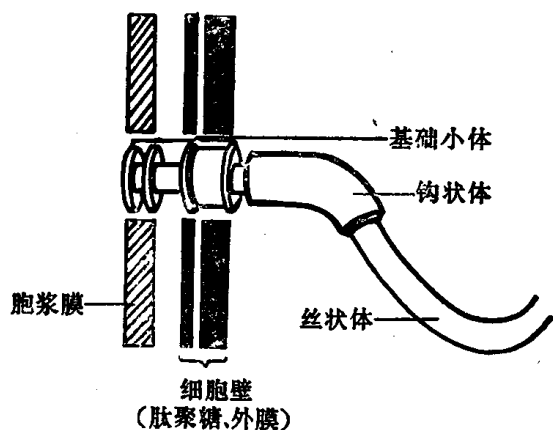


图 1-3 革兰氏阴性杆菌鞭毛结构模式图

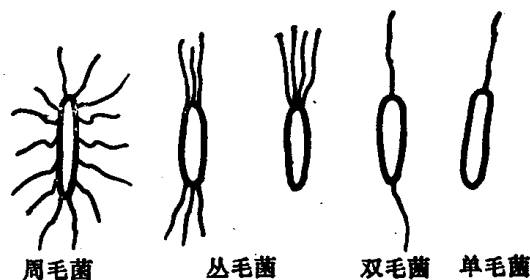


图 1-4 细菌鞭毛的数目与排列

鞭毛的化学成分主要是蛋白质，也含有少量糖类和脂类。构成鞭毛丝状体的蛋白质亚单位称为鞭毛素 (flagellin)。钩状体与环状结构是含有不同的蛋白质，其在鞭毛转动时各有特殊的作用。影响任何鞭毛蛋白质部分均可使鞭毛损伤或失去运动。

鞭毛蛋白具有很强免疫原性，称为H抗原。种、株或变种的H抗原各不相同，可用血清学方法检查，在鉴定细菌中十分重要。菌体的一端具有一根鞭毛称单毛菌 (monotrichous)，例如霍乱弧菌。若一端或二端有一丛鞭毛称丛毛菌 (lophotrichous)，如绿脓杆菌。若两端各有一根鞭毛称双毛菌 (amphitrichous)，如胎儿弯曲菌。菌体周身遍布许多鞭毛称周毛菌 (peritrichous)，如变形杆菌（图1-4）。

细菌鞭毛脱去后，并不影响其生命，虽失去了运动能力，但能重新合成再生鞭毛，恢复运动。蛋白质合成抑制剂如氯霉素可以抑制鞭毛的再生。

鞭毛须经特殊染色法染色后才能在普通光学显微镜下直接观察，一般可用悬滴法观察细菌动力或用半固体培养基穿刺接种，观察细菌生长扩散的情况，间接判断该菌有无鞭毛。

2. 菌毛 许多革兰氏阴性细菌具有比鞭毛更细、短而直硬、毛发状的表面附属物，称为菌毛。每个细菌多至200根，遍布菌体表面，普通光学显微镜下不能看见，需用电子显微镜观察。在大肠杆菌可以识别有二种类型的菌毛，一种是短而多的普通菌毛 (common pilli)，另一是少量稍长的菌毛称为性菌毛 (sex pilli)。具有性菌毛的细菌有致育性 (fertility)，称为F⁺菌或雄性菌。

普通菌毛能与特异性噬菌体结合，作为噬菌体特异性受体，是细菌结合 (conjugation) 中必不可少的组成部分。许多肠道细菌的普通菌毛具有粘附作用，即使这些细菌能粘附在上皮细胞上；粘附在红细胞上，发生血凝现象 (haemagglutination)，也可粘附在酵母和真菌细胞表面。这些粘附性质使细菌在上皮细胞表面移生 (colonization)，因此又称为移生因子 (colonization factor)。大肠杆菌的普通菌毛具有

糖的特异性，类似植物血凝素 (phytohaemagglutinin)，其粘附和血凝能力能被甘露糖特异性抑制，因此被称为甘露糖敏感株。另一些具有菌毛的细菌如淋球菌，其粘附和血凝作用对甘露糖的抑制作用不敏感。

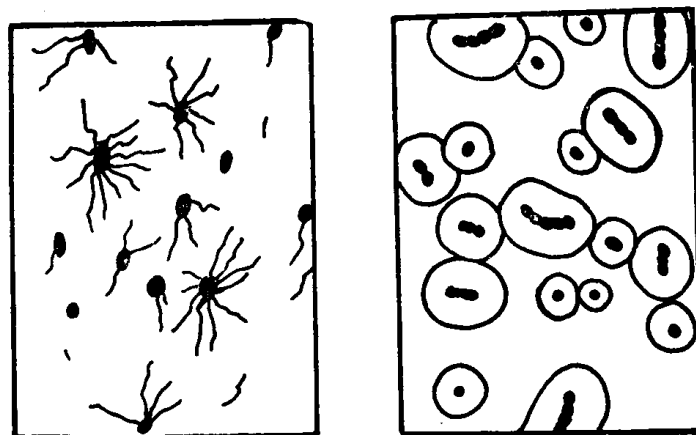
菌毛能从细胞表面脱落和纯分离。大肠杆菌和淋球菌的菌毛内蛋白质组成，称为菌毛素 (pillins)，其亚单位的分子量为 19,000。不同细菌菌毛的抗原性是不相同，有的细菌细胞的菌毛可能具有二种以上的抗原类型。

纤毛 (fimbrial) 主要描述 A 群链球菌表面很短的 M 蛋白毛发状细丝。这种丝状物与菌毛不同，比革兰氏阴性菌表面的菌毛更细更短。

(三) 表面层

细菌细胞的表面层有荚膜和粘液层，细胞壁，细胞浆膜及其内陷折叠呈囊状结构的中介体 (mesosome)。

1. 荚膜和粘液层 某些细菌在细胞壁外包绕一层粘液性物质，其厚度可达 $10\mu\text{m}$ ，在普通光学显微镜下可见。与四周有分明的界限称为荚膜 (capsule) (图 1-5)。其界限不如荚膜清楚而易被洗脱者，称为粘液层 (slime layer) 或疏松粘液层。



变形杆菌的鞭毛

肺炎链球菌荚膜

图 1-5 细菌荚膜和鞭毛的标本图

不是所有细菌均有荚膜，但致病菌形成的荚膜往往就是毒力 (virulent) 因子。革兰氏阳性菌和阴性菌均可有荚膜。大多数的荚膜是由高分子粘多糖组成。炭疽杆菌的荚膜是由 γ -谷氨酸多肽组成，各种细菌荚膜的成分见表 1-1。

细胞浆膜是参与生物合成荚膜的物质，这些物质被分泌后穿过细胞壁，存在于细胞最外层。有荚膜的细菌在固体培养基上形成光滑型菌落 (S 型) 或粘液型菌落 (M 型)，失去荚膜后变为粗糙型 (R 型)。

荚膜结构也是非细菌生命所必需，用酶去除细菌荚膜，并不失去活性。荚膜的确切功能仍然不十分清楚，但可使细菌耐受吞噬作用，保护细菌细胞在宿主内入侵。

2. 细胞壁 细胞壁 (cell wall) 是细菌细胞外层的结构。细胞壁的厚度因菌种而有不同，平均约为 $15\sim 50\text{nm}$ ($1/1000\mu\text{m}$)。细胞壁坚韧而有弹性，其主要功能是维持菌体固有的外形，并保护细菌抵抗低渗环境。细胞壁被机械破坏或溶菌酶的消化，可造成胞浆分离 (plasmolysis)。细胞壁的主要化学成分是肽聚糖 (peptidoglycan)，