

药用微生物技术

张俊鹏 著



郑州大学出版社



图书在版编目(CIP)数据

药用微生物技术/张俊鹏主编. —郑州:郑州大学出版社,2016.8
ISBN 978-7-5645-2516-3

I. ①药… II. ①张… III. ①药理学-微生物学-高等学校-教材 IV. ①R915

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 211246 号

郑州大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

出版人:张功员

全国新华书店经销

郑州市金汇彩印有限公司印制

开本:787 mm×1 092 mm 1/16

印张:9

字数:207 千字

版次:2016 年 8 月第 1 版

邮政编码:450052

发行部电话:0371-66966070

印次:2016 年 8 月第 1 次印刷

书号:ISBN 978-7-5645-2516-3

定价:25.00 元

本书如有印装质量问题,由本社负责调换



作者名单

主 编 张俊鹏

副主编 张 健

编 委 (以姓氏笔画为序)

王 颖 李嘉文 张 健 张俊鹏

陈 旭 管 宁

主 审 安继红



前言

本书是针对中等职业教育和中等职业学校学生的特点,体现医药职业教育的特色,以强化技能训练和素质教育为主编写的,可作为中等职业学校药学、药物制剂技术、中药制药技术、药品质量检测技术、生物制药技术和中药学等专业的教材。

在编写过程中,遵照以实践为主的课程体系,探索项目导向、课堂和实训一体化的教学模式,突出了实用性、技术性的特点,使学生重点掌握药学微生物操作的基本知识和基本技能。全书采用了以项目、模块代替篇、章、节的模式,每一个项目都有明确的学习目标和工作任务,突出了职业学校一体化教学的特色。

本书由河南医药技师学院张俊鹏负责对全书进行统稿和修改;河南医药技师学院陈旭负责编写模块一、模块二;开封市药检所质量管理科主任、副主任药师张健负责编写模块三;河南医药技师学院李嘉文负责编写模块四;河南医药技师学院管宁负责编写模块六;河南医药技师学院王颖负责编写模块五、模块七。河南大学附属淮河医院临床药理学室副主任药师安继红负责本书的审定。本书由校企合作的一线工作人员参与编写,保证了人才培养和专业岗位需求的接轨,真正使教材内容达到工学结合,更好地体现现代职业教育的特点。

本书涉及的培养基、试剂的名称,均以《中国药典》2015年版为依据。在本书的编写过程中,主要参考了近年来沈萍、李榆梅、周德庆等主编的有关《微生物学》及《微生物学实验》等教材,特此感谢。

由于时间仓促、编者水平有限,书中错误和不妥之处在所难免,恳请广大师生在使用过程中批评指正。

编者

2015年6月



目录

模块一 认识微生物	1
项目一 微生物与人类之间的关系	1
任务一 微生物与人类	1
任务二 微生物学发展历程	2
任务三 微生物的特点	3
任务四 微生物的种类	4
项目二 微生物的形态及特征	6
任务一 原核微生物	6
任务二 真核微生物	11
实训 固体培养基中菌落的辨别	15
任务三 无细胞微生物	16
项目三 显微镜的结构与使用方法	18
任务一 了解显微镜的构造	18
任务二 显微镜的使用	19
实训 显微镜的使用	20
模块二 染色技术	22
项目一 微生物的染色与形态结构的观察	22
任务一 细菌的简单染色法	22
任务二 革兰氏染色法	23
任务三 细菌的芽胞染色法	24
任务四 荚膜染色法	24
项目二 微生物的形态观察	26
任务一 放线菌形态的观察	26

任务二 霉菌形态的观察	27
任务三 酵母菌形态的观察及死活细胞的鉴别	28
模块三 微生物的营养	29
项目一 微生物的营养	29
任务一 微生物的 6 种营养要素	29
任务二 微生物的营养类型	35
任务三 营养物质进入细胞的方式	37
项目二 培养基	40
项目三 有害微生物的控制	49
模块四 无菌操作技术	59
项目一 微生物的遗传和变异	59
项目二 无菌操作技术	78
项目三 接种技术	82
模块五 微生物的生长及其控制	87
项目一 微生物培养法	87
项目二 微生物数目直接计数技术	100
项目三 微生物细胞大小的测定	103
项目四 微生物的生长规律	105
项目五 细菌生长曲线的测定	110
模块六 微生物的代谢和发酵	112
项目一 代谢、发酵、抗生素效价	112
项目二 发酵技术要点	118
项目三 抗生素效价的测定技术	120
模块七 微生物分布测定技术	122
项目一 微生物的分布	122
项目二 空气中微生物的检测技术	130
项目三 水中微生物的检测技术	132
项目四 皮肤、口腔中微生物测定技术	135

模块一 认识微生物

微生物的定义:绝大多数凭肉眼看不见或看不清,必须借助显微镜才能看见或看清,以及少数能直接通过肉眼看见的单细胞、多细胞和无细胞结构的微小生物的总称。

项目一 微生物与人类之间的关系



知识目标

1. 掌握微生物的定义。
2. 了解微生物学的发展史。
3. 掌握微生物的基本特点。
4. 掌握微生物的分类。



技能目标

1. 区别微生物与普通生物。
2. 微生物种类的简单区分。

任务一 微生物与人类

微生物由于个体微小,杂居混生,在很长的一段时间内,人类对这种生物处于“视而不见、嗅而不闻、触而不觉、食而不察、得其益而不感其好、受其害而不知其恶”的愚昧状态。历史上,微生物曾经造成多次瘟疫的大暴发,如鼠疫(黑死病)、天花、麻风、梅毒和肺结核(白疫)的大流行等,直至今天,也还有艾滋病等新的严重的传染病在出现和流行。其中的鼠疫更是猖獗。当公元6世纪鼠疫在地球上第一次大流行时,曾危及埃及、土耳其、意大利和阿富汗等国家和地区,死亡人数约1亿人;第二次(14世纪)流行时,欧洲约死亡2500万人,亚洲约死亡4000万人(其中中国约死亡1300万人);20世纪末至21世纪初的第三次流行,发生在香港和印度北部地区,死亡人数约100万。这三次全球性杀人不见血的流行病共殃及近2亿人,比死亡最惨重的第二次世界大战(约死亡1.1亿人)还多!植物病原微生物对农作物的危害也有类似的情况。例如,19世纪中叶,由于第

一次“绿色革命”的结果,在欧洲普遍只种植单一的高产粮食作物马铃薯。在 1843—1847 年间由于气候异常,致使欧洲发生马铃薯晚疫病的大流行,毁灭了 5/6 的马铃薯,个别地方甚至颗粒无收。当时爱尔兰的 800 万人中,有近 100 万人直接饿死或间接病死,并有 164 万人逃往北美谋生。

任务二 微生物学发展历程

微生物学的发展历史可分为五个时期,现简述如下。

1. 史前期

史前期是指人类还未见到微生物个体尤其是细菌细胞前的一段漫长的历史时期,大约在距今 8 000 年前一直至公元 1676 年间。当时的人类虽未见到微生物的个体,却自发地与微生物频繁地打交道,并凭自己的经验在实践中开展利用有益微生物和防治有害微生物的活动。但由于在思想方法上长期停留在“实践—实践—实践”的基础上,因此只能长期处于低水平的应用阶段。

在史前期,世界各国人民在自己的生产实践中都累积了许多利用有益微生物和防治有害微生物的经验,例如发面,天然果酒和啤酒的酿造,牛乳和乳制品的发酵以及利用霉菌来治疗一些疾病等。但是,在当时应用水平最高并独树一帜的应首推我国人民在制曲、酿酒方面的伟大创造(图 1-1)。



图 1-1 中国人酿酒示意

我国人民在距今 8 000 年至 4 500 年间,已发明了制曲、酿酒工艺;在 2 500 年前的春秋战国时期,已知制酱和醋。此外,在宋代还创造过“以毒攻毒”的免疫方法,发明用种人痘来预防天花,这要比英国人 E. Kenner 在 1796 年发明种牛痘预防天花早半个多世纪。

2. 初创期

从 1676 年列文虎克用自制的单式显微镜观察到细菌的个体起,直至 1861 年近 200 年的时间。在这一时期中,人们对微生物的研究仅停留在形态描述的低级水平上,而对它们的生理活动及其与人类实践活动的关系却未加研究,因此,微生物学作为一门学科在当时还未形成。

这一时期的代表人物是荷兰的业余科学家——微生物学先驱者列文虎克。

3. 奠基期

巴斯德(微生物学奠基人)和柯赫(细菌学的奠基人)根据曲颈瓶实验,彻底推翻了“生命自生说”,建立了研究微生物的独特方法和技术,分离出了许多重要病原菌,微生物学的研究进入生理学研究水平,微生物学科开始形成。

4. 发展期

E. Buchner 对无细胞酵母菌“酒化酶”的研究,开创了生化研究的新时代,出现了寻找各种有益微生物代谢产物的热潮(“酶猎人”“抗生素猎人”“维生素猎人”),普通微生物学开始形成,应用微生物分支学科扩大(如抗生素学等)。

5. 成熟期

从 1953 年 4 月 25 日 J. D. Watson 和 H. F. C. Crick 在英国的《自然》杂志上发表关于 DNA 结构的双螺旋模型起,整个生命科学就进入了分子生物学研究的新阶段,同样也是微生物学发展史上成熟期到来的标志。

任务三 微生物的特点

微生物的个体由于极其微小,故微生物具有以下五个共性。

1. 体积小,面积大

微生物个体体积十分微小,但是由于微生物各为互相独立的个体,故而相对表面积之和反而较大。

体积小、面积大是微生物五大共性的基础,由它可发展出一系列其他共性,因为一个小体积大面积系统必然有一个巨大的营养物吸收面、代谢废物的排泄面和环境信息的接受面。

2. 吸收多,转化快

有资料表明,发酵乳糖的细菌在 1 h 内可分解其自重 1 000 ~ 10 000 倍的乳糖;产朊假丝酵母合成蛋白质的能力比大豆强 100 倍,比食用公牛强 10 万倍;一些微生物在呼吸速率方面比高等动植物组织也强得多。

微生物的这个特性为它们的高速生长繁殖和产生大量代谢产物提供了充分的物质基础,从而使微生物有可能更好地发挥“活的化工厂”的作用。人类对微生物的利用主要体现在它们的生物化学转化能力。

3. 生长旺,繁殖快

微生物具有极高的生长和繁殖速度。一种至今被人们研究得最透彻的生物——大肠杆菌,其细胞在合适的生长条件下,每分裂 1 次的时间是 12.5 ~ 20.0 min。如按 20 min 分裂 1 次计,则每小时可分裂 3 次,每昼夜可分裂 72 次,后代数为 4 722 366 500 万亿个(重约 4 722 t),48 h 为 2.2×10^{43} 个(约等于 4 000 个地球之重)。事实上,由于种种客观条件的限制,细菌的指数分裂速度只能维持数小时。

微生物的这一特性在发酵工业上具有重要的实践意义,主要体现在它的生产效率高、发酵周期短上。例如,500 kg 重的食用公牛,每昼夜只能从食物中“浓缩”0.5 kg 重的蛋白质,而同样重的酵母菌,只要以质量较次的糖液(如糖蜜)和氨水为主要养料,在 24 h

内即可真正合成 50 000 kg 的优良蛋白质。另外,生长旺、繁殖快的特性对生物学基本理论的研究也带来极大的优越性——它使科研周期大大缩短,经费减少,效率提高。当然,对于危害人、畜和植物等的病原微生物或使物品发生霉腐的霉腐微生物来说,它们的这个特性就会给人类带来极大的麻烦甚至严重的祸害,因而需要认真对待。

4. 适应强,易变异

微生物对环境条件尤其是恶劣的“极端环境”所具有的惊人适应力,堪称生物界之最。例如,在海洋深处的某些硫细菌可在 250 ℃ 甚至在 300 ℃ 的高温条件下正常生长;大多数细菌能耐 0 ~ -196 ℃ (液氮)的任何低温,甚至在 -253 ℃ (液态氢)下仍能保持生命;一些嗜盐菌甚至能在约 32% 的饱和盐水中正常生活;许多微生物尤其是产芽胞的细菌可在干燥条件下保藏几十年、几百年甚至上千年。地球上大洋最深处为关岛附近的马里亚纳海沟,那里的水深达 11 034 m,压力约为 111.8 MPa,可是,仍有细菌生存着。此外,耐缺氧、耐毒物等特性在微生物中也是极为常见的。

微生物的个体一般都是单细胞、简单多细胞或非细胞的,它们通常都是单倍体,加之它们繁殖快、数量多和与外界环境直接接触等原因,即使其变异的频率十分低(一般为 $10^{-5} \sim 10^{-10}$),也可在短时间内产生大量变异的后代。最常见的变异形式是基因突变,它可以涉及任何性状,诸如形态构造、代谢途径、生理类型、各种抗性、抗原性以及代谢产物的质或量的变异等。

5. 分布广,种类多

高等生物的分布区域常有明显的地理限制,它们分布范围的扩大常靠人类或其他大型生物的散播。而微生物则因其体积小、质量轻,因此可以到处传播以致达到“无孔不入”的地步,只要生活条件合适,它们就可大大繁殖起来。微生物只怕明火,地球上除了火山的中心区域外,从土壤圈、水圈、大气圈直至岩石圈,到处都有微生物家族的踪迹。可以认为,微生物将永远是生物圈上下限的开拓者和各种记录的保持者。在动物体内外,植物体表面,土壤、河流、空气,平原、高山、深海,冰川、海底淤泥,盐湖、沙漠、油井、地层下以及酸性矿水中,都有大量与其相适应的微生物在活动着。

由于微生物的发现和研究的比动、植物迟得多,加上鉴定种的工作以及划分种的标准等较为困难,所以着重研究的首先是与人类关系最密切的那些种。目前比较肯定的微生物种数大约为 10 万种,随着分离、培养方法的改进和研究工作的深入,微生物的新种、新属、新科甚至新目、新纲屡见不鲜。有人估计目前人类至多仅开发利用了已发现微生物种数的 1%。因此,在生产实践和生物学基本理论问题的研究中,利用微生物的前景是十分广阔的。

任务四 微生物的种类

微生物的具体分类如图 1-2 所示。

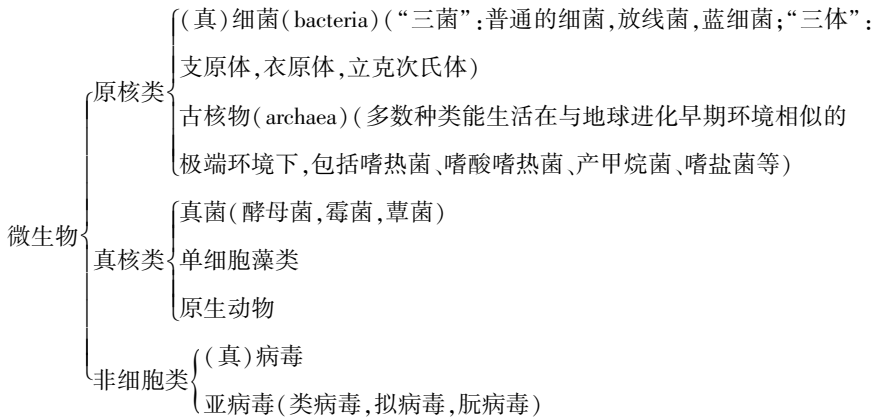


图 1-2 微生物的种类

本课程所要重点介绍的微生物有细菌、放线菌、酵母菌、霉菌、病毒(噬菌体为主)。

项目二 微生物的形态及特征



知识目标

1. 掌握微生物的微观及宏观形态构造。
2. 掌握各类微生物的基本特征。



技能目标

1. 正确用显微镜区分各类微生物。
2. 正确利用菌落区分微生物。

任务一 原核微生物

原核微生物是一类没有核膜结构的细胞核,只有一段环状 DNA 形成的拟核,是进化地位较低,结构较为简单的单细胞生物。原核微生物包括细菌、放线菌、支原体、衣原体、立克次氏体、蓝细菌。

一、细菌

细菌是一类细胞细而短(细胞直径约 $0.5\text{ }\mu\text{m}$,长度 $0.5\sim 5\text{ }\mu\text{m}$)、结构简单、细胞壁坚韧、以二等分裂方式繁殖和水生性较强的原核微生物。

在我们周围,到处都有大量细菌存在着。凡在温暖、潮湿和富含有机物质的地方,都有大量的细菌在活动着。在它们大量集居处,常会散发出特殊的臭味或酸败味。如用手去抚摸长有细菌的物体表面,就有黏、滑的感觉。在固体食物表面长出水珠状、鼻涕状、糨糊状、颜色多样的细菌菌落或菌苔时,用小棒去试挑一下,常会拉出丝状物来。长有大量细菌的液体,会呈现混浊、沉淀或漂浮一片片小“白花”,并伴有大量气泡冒出。

当人类还未研究和认识细菌时,细菌中的少数病原菌曾猖獗一时,夺走无数生命;不少腐败菌也常常引起食物和工农业产品腐烂变质。因此,细菌给人的最初印象常常是有害的,甚至是可怕的。实际上,随着微生物学的发展,当人们对它们的生命活动规律认识越来越清楚后,情况就有了根本的改变。目前,由细菌引起的传染病基本上都得到了控制。与此同时,还发掘和利用了大量的有益细菌到工、农、医、环保等生产实践中,给人类带来极其巨大的经济效益和社会效益。例如,在工业上各种氨基酸、核苷酸、酶制剂、乙醇、丙酮、丁醇、有机酸、抗生素等的发酵生产,农业上杀虫菌剂、细菌肥料的生产和在沼气发酵、饲料青贮等方面的应用,医药上各种菌苗、类毒素、代血浆和许多医用酶类的生产等,以及细菌在环保和国防上的应用等,都是利用有益细菌活动的例子。

(一) 细菌的形态和大小

1. 基本形态

(1) 球菌: 球形或近球形, 根据空间排列方式不同又分为单、双、链、四联、八叠、葡萄球菌。不同的排列方式是由于细胞分裂方向及分裂后情况不同造成的。

(2) 杆菌: 杆状或圆柱形, 径长比不同, 短粗或细长。是细菌中种类最多的。

(3) 螺旋菌: 是细胞呈弯曲杆状细菌的统称, 一般分散存在。根据其长度、螺旋数目和螺距等差别, 分为弧菌(菌体只有一个弯曲, 形似 C 字) 和螺旋菌(螺旋状, 超过 1 圈)。与螺旋体区别: 无鞭毛。

细菌形态不是一成不变的, 受环境条件影响(如温度、培养基浓度及组成、菌龄等)。

(4) 异常形态。幼龄, 生长条件适宜, 形状正常、整齐。老龄, 不正常, 异常形态。

畸形: 由于理化因素刺激, 阻碍细胞发育引起。

衰颓形: 由于培养时间长, 细胞衰老, 营养缺乏或排泄物积累过多引起。

2. 细菌大小

如何测量: 显微测微尺。

球菌直径 $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$ 。

杆菌直径 $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$, 长为直径的数倍。

螺旋菌直径 $0.3 \sim 1 \mu\text{m}$, 长 $1 \sim 50 \mu\text{m}$ 。

细菌大小也不是一成不变的。

细胞质量 $10^{-13} \sim 10^{-12} \text{ g}$, 每克含 1 万亿 $\sim$ 10 万亿个细菌。

(二) 细菌的结构

细菌是由单个原核细胞形成的单细胞生物。如图 2-1 所示, 细菌的主要结构分为细胞壁、细胞膜、细胞质、拟核、核糖体、荚膜、鞭毛。

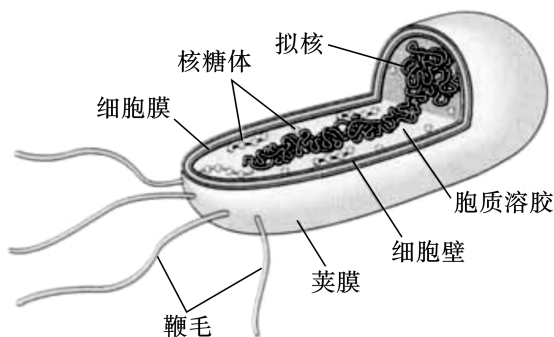


图 2-1 细菌的结构

(1) 细胞壁: 主要成分为肽聚糖, 位于细胞表面, 较坚硬, 略具弹性结构。

功能: ①维持细胞外形; ②保护细胞免受机械损伤和渗透压危害; ③鞭毛运动支点; ④正常细胞分裂必需; ⑤一定的屏障作用; ⑥噬菌体受体位点所在。另外与细菌的抗原性、致病性有关。

(2)细胞膜:在细胞壁与细胞质之间的一层柔软而富有弹性的半透性膜。

功能:①高度选择透性膜,物质运输;②渗透屏障,维持正常渗透压;③重要代谢活动中心;④与壁、荚膜合成有关;⑤鞭毛着生点,供运动能量。

(3)细胞质:细胞膜以内,核区以外的一切物质统称为细胞质。

功能:①拟线粒体,呼吸酶系发达;②与壁合成、核分裂、芽胞形成有关。

(4)细胞核:主要成分为双链环状 DNA,无核膜、核仁。主要储存细菌的遗传物质。

(5)核糖体:合成蛋白质的主要细胞器。

(6)荚膜:荚膜是某些细菌在细胞壁外包围的一层黏液性物质,一般由糖和多肽组成。

功能:①抵抗干燥;②加强致病力,免受吞噬;③堆积某些代谢废物;④储存物。

(7)鞭毛:某些细菌表面一种纤细呈波状的丝状物,是细菌运动器官。

(8)芽胞:某些细菌(芽胞杆菌,梭状芽胞杆菌,少数球菌等)在其生长发育后期,在细胞内形成的一个圆形或椭圆形、厚壁、含水量低、抗逆性强的休眠体构造,称为芽胞。芽胞有极强的抗热、抗辐射、抗化学药物和抗静水压的能力,休眠力惊人。

(三)细菌的菌落

菌落是由单个细菌(或其他微生物)细胞或一堆同种细胞在适宜固体培养基表面或内部生长繁殖到一定程度,形成肉眼可见的子细胞群落,如图 2-2 所示。不同种类的微生物形成的菌落形态也不尽相同,利用这种现象,使得菌落在微生物学工作中有很多应用,主要用于微生物的分离、纯化、鉴定、计数等研究和选种、育种等实际工作中。

细菌的菌落特征为湿润、较光滑、较透明、较黏稠、易挑取、质地均匀以及菌落正反面或边缘与中央部位的颜色一致等。

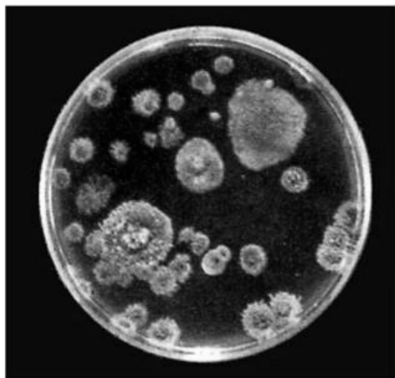


图 2-2 菌落

二、放线菌

放线菌(actinomycetes) 是一类呈菌丝状生长、主要以孢子繁殖和陆生性强的原核生物。

放线菌一般分布在含水量较低、有机物丰富和呈微碱性的土壤环境中。为泥土所特有的“泥腥味”，主要是由放线菌产生的。据研究，在每克土壤中，放线菌的孢子数一般在 10^7 左右。

放线菌与人类的关系极为密切。根据 1978 年的统计，在当时已发现的 5 128 种抗生素中，有 3 165 种为各种放线菌所产生（占总数的 61.7%），链霉菌属又占放线菌中的首位（占放线菌产生的抗生素的 87.5%）。常用的抗生素除青霉素和头孢霉素类外，绝大多数都是放线菌的产物。此外，放线菌还是酶类（葡萄糖异构酶、蛋白酶等）和维生素 B_{12} 的产生菌。在有固氮能力的非豆科植物根瘤中，内中共生的固氮菌就是属于放线菌。由于放线菌有很强的分解纤维素、石蜡、琼脂、角蛋白和橡胶等复杂有机物的能力，故它们在自然界物质循环和提高土壤肥力等方面有着重要的作用。只有极少数的放线菌才对人类构成危害，例如，某些 *Actinomyces*（放线菌属）菌种所引起的动物放线菌病（皮肤、脑、肺和脚部感染）和某些 *Nocardia*（诺卡菌属）菌种引起的人和动物的诺卡菌病（皮肤、肺和足部感染等），还有少数放线菌能引起植物病害（马铃薯和甜菜的疮痂病）。

（一）放线菌的结构

放线菌的种类很多，这里以分布最广、种类最多、形态特征最典型和与人类关系最密切的链霉菌属为例来阐述其一般的形态和构造（图 2-3）。

放线菌的主要构造可分为基内菌丝、气生菌丝、孢子丝和分生孢子。

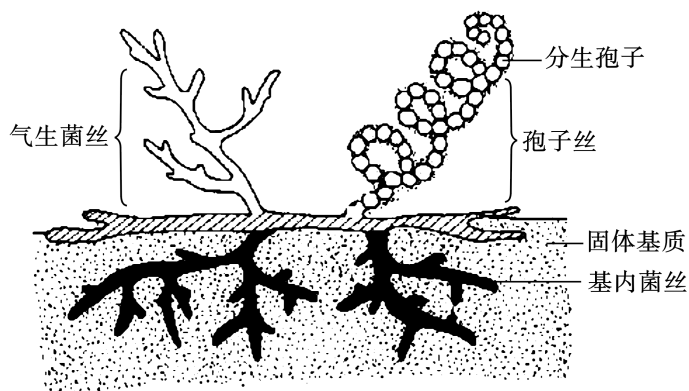


图 2-3 链霉菌的一般形态和构造（模式图）

（1）基内菌丝：又称一级菌丝或营养菌丝，指生长在培养基内部的菌丝，具有吸收营养成分和水分的功能。

（2）气生菌丝：又称二级菌丝，指由一级菌丝长出，延伸到培养基外部空气中的菌丝。

（3）孢子丝：大多数放线菌的气生菌丝发育成熟后，在其顶端形成的可分化成孢子的菌丝，又被称为孢菌丝或繁殖菌丝，主要功能是产生孢子进行繁殖。

（4）分生孢子：由孢子丝分裂形成的无性繁殖体。

（二）放线菌的菌落

在固体培养基表面，放线菌的细胞有基内菌丝和气生菌丝的分化，气生菌丝到成熟

时又会分化成孢子丝并产生成串的干粉状孢子,这些气生菌丝或孢子丝伸展在空气中,菌丝间一般都不存在毛细管水。这就使放线菌获得其特有的与细菌不同的菌落特征:干燥、不透明,表面呈紧密的丝绒状,上有一层色彩鲜艳的干粉;菌落和培养基的连接紧密,难以挑取;菌落的正反面颜色常常不一致;菌落边缘培养基的平面有变形现象;等等。

三、其他原核微生物

(1) 支原体:支原体是一类无细胞壁的原核生物,也是整个生物界中尚能找到的能独立营养的最小型生物。

一般地说,支原体与人类的关系是害明显地大于利。许多支原体引起动物(牛、绵羊、山羊、猪、禽)和人类的病害;类支原体则可引起桑、稻、竹和玉米等的矮缩病、黄化病或丛枝病;一些腐生的支原体常常分布在污水、土壤或堆肥中;在受污染的组织培养液中,也常常能找到支原体的踪迹。

(2) 衣原体:1907年,两个捷克学者在患沙眼的人结膜细胞内发现了包涵体,当时他们误认为它由“衣原虫”引起。后来,许多学者认为在沙眼包涵体内不存在“衣原虫”,而是“大型病毒”的集落。1956年,我国著名微生物学家汤飞凡及其助手张晓楼等人在国际上首次分离到沙眼的病原体。直至20世纪60年代,由于它们具有滤过性、专性细胞内寄生和能形成包涵体,因此,这类沙眼病原体仍被称作“大型病毒”或“巴德松体”(Bedsonia)。1970年,在美国波士顿召开的沙眼及有关疾病的国际会议上,才正式把这类病原微生物称作衣原体。

衣原体是一类在真核细胞内营专性能量寄生的小型革兰氏阴性原核生物。

衣原体有以下数个与病毒截然不同的特点:①有细胞构造;②细胞内同时含有DNA和RNA两种核酸;③有革兰氏阴性细菌特征的含肽聚糖的细胞壁;④细胞内有核糖体;⑤有不完整的酶系统,尤其缺乏产能代谢的酶系统,因此须进行严格的细胞内寄生;⑥以二等分裂方式进行繁殖;⑦一般对抑制细菌的一些抗生素和药物例如青霉素和磺胺等都很敏感(但鹦鹉热衣原体对磺胺具有抗性);⑧在实验室中,衣原体可培养在鸡胚卵黄囊膜、小白鼠腹腔、组织培养细胞或海拉(HeLa)细胞上。

(3) 立克次氏体:立克次氏体是一类只能寄生在真核细胞内的革兰氏阴性原核微生物。它与支原体的主要不同处是有细胞壁以及不能进行独立生活;而与衣原体的不同处在于其细胞较大,无滤过性,合成能力较强,且不形成包涵体。

立克次氏体一向被认为只是动物的寄生物,可是,1972年I. M. Windsor在患棒叶病的三叶草和长春花的韧皮部中发现了寄生于植物细胞中的立克次氏体,被称作类立克次氏体(RLO, Rickettsia-like organism)或类立克次氏体细菌(RLB, Rickettsia-like bacteria)。至1985年,已报道过的类立克次氏体已有30多种。

立克次氏体一般具有以下特点:①细胞大小一般为 $(0.3 \sim 0.6) \mu\text{m} \times (0.8 \sim 2) \mu\text{m}$,因此在光学显微镜下清晰可见;②细胞形态多变,自杆状至球状、双球状或丝状等;③有细胞壁,呈革兰氏阴性反应;④在真核细胞内营专性寄生(个别例外),其宿主一般为虱、蚤、蜱、螨等节肢动物,并可传至人或脊椎动物(如啮齿动物);⑤以二等分裂方式进行繁殖;⑥对四环素、青霉素等抗生素敏感;⑦有不够完整的产能代谢途径,大多只能利用谷

氨酸产能而不能利用葡萄糖产能;⑧一般可用鸡胚、敏感动物或合适的组织培养物(如 HeLa 细胞株等)来培养立克次氏体;⑨对热敏感,一般在 56 ℃ 以上经 30 min 即可杀死。

任务二 真核微生物

凡是细胞核具有核膜、能进行有丝分裂、细胞质中存在线粒体或同时存在叶绿体等细胞器的微小生物,就称为真核微生物。真核微生物主要分为:真菌(包括酵母菌、霉菌、蕈菌),单细胞藻类,原生动物。本课程主要介绍真菌。

一、酵母菌

酵母菌(yeast)是一个通俗名称,由于例外情况较多,因此很难对它下一个确切的定义。可以认为,酵母菌一般具有以下五个特点:①个体一般以单细胞状态存在;②多数营出芽繁殖,也有的裂殖;③能发酵糖类产能;④细胞壁常含甘露聚糖;⑤喜在含糖量较高、酸度较大的水生环境中生长。

酵母菌在自然界分布很广,主要生长在偏酸性的含糖环境中,例如,在水果、蔬菜、蜜饯的表面和在果园土壤中最为常见。此外,在油田和炼油厂附近土层中也很易分离到能利用烃类的酵母菌。

酵母菌的种类很多。据 Kreger-van Rij(1982 年)的资料,当时已知的酵母有 56 属,500 多种。酵母菌与人类的关系极其密切。可以认为,酵母菌是人类的第一种“家养微生物”。千百年来,酵母菌及其发酵产品大大改善和丰富了人类的生活,例如乙醇和有关饮料的生产,面包的制造,甘油的发酵,石油及油品的脱蜡,饲用、药用或食用单细胞蛋白(SCP, single cell protein)的生产,从酵母菌体中提取核酸、麦角甾醇、辅酶 A、细胞色素 C、凝血质和维生素等生化药物,以及近年来将酵母菌尤其是“酿酒酵母”作为遗传工程中具有良好发展前途的受体菌等。上述的单细胞蛋白一般是指来自各类微生物体的蛋白,它是继动物蛋白和植物蛋白后的另一类重要的可供动物作营养的蛋白质来源。良好的单细胞蛋白必须具备无毒、易消化吸收、必需氨基酸的含量丰富、核酸含量较低、口味好、制造容易和价格低廉等条件,而酵母菌基本上具备以上条件。此外,酵母菌一般还能利用无机氮源或尿素来合成蛋白质,生长速度快,再加上细胞体积大等优点,因此,自然成了目前最重要的单细胞蛋白来源。

只有少数(约 25 种)酵母菌能引起人或其他动物的疾病,其中最常见的是白假丝酵母,即“白色念珠菌”和新型隐球菌。它们一般属于条件性致病菌,常可引起人体一些表层(皮肤、黏膜)或深层(各内脏、器官)的疾病,例如鹅口疮、阴道炎、轻度肺炎或慢性脑膜炎等。

(一) 酵母菌的形态构造

酵母菌是典型的真核微生物,其细胞直径一般比细菌粗 10 倍,酵母菌细胞的形态通常有球状、卵圆状、椭圆状、柱状或香肠状等多种,当它们进行一连串的芽殖后,如果长大的子细胞与母细胞并不立即分离,其间仅以极狭小的面积相连,这种藕节状的细胞串就称假菌丝;相反,如果细胞相连,且其间的横隔面积与细胞直径一致,则这种竹节状的细