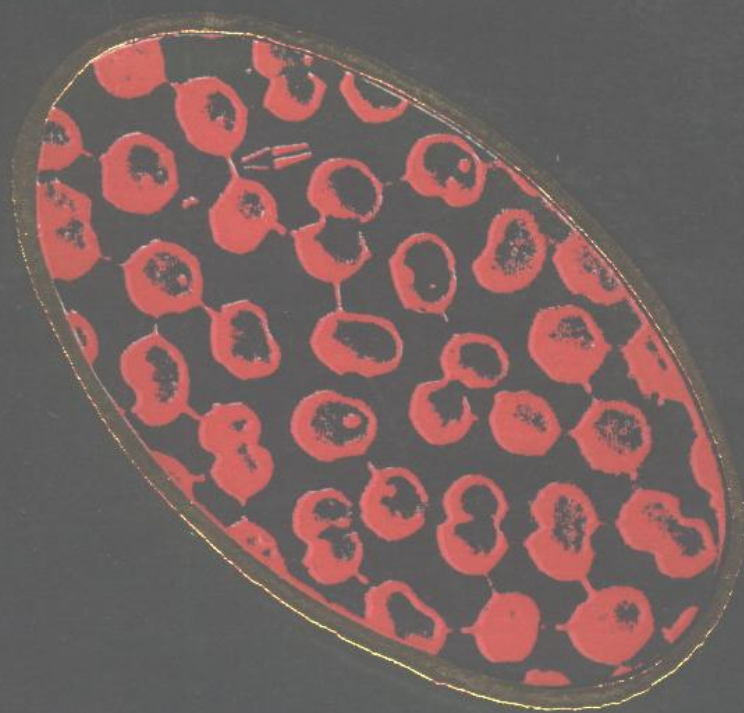


医学细菌 电镜图谱

谢念铭 主编



人民卫生出版社



医学细菌电镜图谱

主 编 谢 念 铭

副主编 丁绍卿 袁曾麟

编 者

周惠民 王鲁平 王济中

张国来 郎淑慧

审 校

翟中和

人 民 卫 生 出 版 社

(京)新登字 081 号

图书在版编目(CIP)数据

医学细菌电镜图谱/谢念铭主编.-北京:人民卫生出版社,1994

ISBN 7-117-02076-8

I. 医… II. 谢… III. ①病原细菌-医学真菌学-图谱②

医学真菌学-病原细菌-图谱 IV. R378-64

中国版本图书馆 CIP 数据核字(94)第 01246 号

医学细菌电镜图谱

谢念铭 主编

人民卫生出版社出版

(北京市崇文区天坛西里10号)

人民卫生出版社胶印厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米16开本 10 $\frac{1}{2}$ 印张 4插页 82千字

1994年8月第1版 1994年8月第1版第1次印刷

印数:00 001—3 500

ISBN 7-117-02076-8/R·2077 定价:26.00 元

〔科技新书目 324—412〕

对《医学细菌电镜图谱》的评价

《医学细菌电镜图谱》由谢念铭主编、丁绍卿和袁曾麟副主编共八位同志集体编著的。共有图片 255 幅,相应的文字说明约 26000 字。

本图谱的特点:

1. 是国内第一本自行研制拍摄的较系统、较完整的医学细菌形态及超微结构的图谱,国外类似图谱也不多见。

2. 从大量照片中选用的 255 幅均甚清晰,具有代表性,能说明问题,更配有相应的文字,具有图文并茂的特色。

因而,个人觉得该图谱值得出版,这不仅代表我国电镜技术在微生物学中应用的水平,亦对微生物工作者是一本学习和参考很有价值的工具书。

陆 德 源

上海第二医科大学微生物学教研室主任、教授

中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员主任委员

中华医学微生物和免疫学会细菌 L 型和支原体学组组长

上海免疫学杂志主编

国外医学微生物学分册副主编

1992. 3. 20

前 言

多年来我国医学、生物、微生物学及电子显微学界的科研、教学和临床工作者很需要一本从超微结构水平阐明常见细菌的超微形态与功能的参考书或作为教材的补充。特别是近年来分子生物学获得了巨大进展,很多基因水平的工作是通过细菌来完成的,这更增加了对细菌微细及分子水平的结构与功能知识的渴求。

谢念铭、丁绍卿和袁曾麟等同志所著《医学细菌电镜图谱》经过近七年的努力终于应大家的急需同读者见面了。作者参考全国高等医药院校试用教材《医用微生物学》并利用他们在中国药品生物制品检定所、中国医学细菌保藏管理中心的有利工作条件和他们与国内外同行的广泛联系而引进的新菌种,收集到百余株细菌。为了获得正常状态下的细菌结构与形态,均根据各菌不同特性,分别以最适培养基在最适生长条件中培育并于最佳时间采样。为了获得质量高的电镜图片,他们在两万余张图片中精选出 255 张,附以中英文对照的说明。本书对材料和方法、细菌的形态、细菌的超微结构在作者多年研究工作与查阅大量文献的基础上,作了详细的论述,文后还附有 207 篇文献。这些都有利于科研与教学工作,说明本书已不止是一册图谱而是一本图文并茂、质量很高的细菌学参考书。收集到如此多医学常见细菌菌株并加以详细的电子显微学描述,这在国内同类电镜图谱中还属首次,在国际同类图谱中也是很少见的。它反映了细菌学超微结构领域的新进展和新水平。图片的分辨力高而精美,反映了作者严谨的治学作风和认真负责的工作态度。更有利的是为便于教学,作者还配套出版了 270 张幻灯片,已由人民卫生出版社出版发行。本书的出版,一定会有助于我国微生物学及电子显微学界的科研、教学工作的深入和发展。作为第一批读者,我们致以热忱的祝贺。

李 昆

中国医学科学院、中国协和医科大学、
基础医学研究所(学部)研究员、教授
中国电子显微学学会副理事长

翟 中 和

中国科学院学部委员
北京大学生物系教授、细胞生物学
教研室主任
中国细胞学会副理事长
中国电子显微学学会生命科学
专业组组长

1992 年春节

[1]

序 言

随着基础科学研究的深入,推动了新科技革命。分子生物学这一重要科学领域,近几年来取得了飞跃发展,作为生命科学前沿的微生物学,在国际上已进入了先进行列。为了推进我国现代化经济建设和社会主义社会发展,加强微生物学深入研究,有其战略意义。在这一领域中我国已取得了一些较大科技成果。在改革开放的洪流中,它促进高新技术产业的发展,推动着农、工、卫生、环保等方面的科技发展和国际合作与交流,初步体现了科学技术是第一生产力这一正确论断。在微生物学的前沿领域中,各类微生物(病毒、细菌等)超微结构及功能等基础研究在分子生物学的发展领域中有较大的关键意义。我国的科学工作者在病毒分子的研究方面近年来已取得了突破性进展,而在细菌包括正常菌群和致病菌方面虽作了不少工作,并有新的发现,但工作仍有待扩展和深入。针对这一需要,以中国药品生物制品检定所的专家教授为主导,联合青岛医学院的有关同志,经过多年来的经验积累和资料收集,精选了其中二百五十余幅具有一定代表性的细菌电镜照片,配以简明扼要的文字叙述,编辑成书,名为《医学细菌电镜图谱》。全书内容有:材料与方法、细菌的形态和细菌的超微结构三个部分。主编谢念铭同志将这一图谱让我在出版前获得阅读的机会,十分可贵。我欣然看过全文后,认为它的内容丰富、新颖,思路明析,结构严谨,取材广泛,编辑合理,所选电镜照片图象真实清晰,说明作者在应用电镜先进技术操作上具有较高造诣,从而使图谱达到了国际上书刊内发表的细菌照片的质量的要求,具有较高水平。本图谱有下列的一些特点:

1. 它充分利用了中国菌种保藏中心医学细菌方面保存菌种很丰富的有利优势,选出其中 30 多个属中 100 多株菌种以及新从临床标本中采取的新分离菌株,通过最适培养条件下生长的最佳时间取样或从新鲜的病理组织切片,分别做成负染、超薄切片、冰冻蚀刻复型和临界点干燥等标本,用当代国际上分辨力高的透射电镜和扫描电镜观察,从而获得各类细菌微细结构的一系列照片,它们比较全面地反映了现代的细菌细胞和各种结构、附件和其特征。此外,本图谱还记载了已发现的和新见到的或相当罕见的各种特殊表现,诸如不同种细菌在生长繁殖、分裂、结合的过程中,以及菌落表面的细胞规整排列和其与其它邻近细胞间的粘连物现象。点阵颗粒位于细菌细胞的表面——细胞壁上,形成六面或四面对称的晶形有序结构层。这些记录是难得和可贵的,这些细微结构的存在,仅在野生菌株细胞群中发现,而在实验室中长期培养后会丧失晶体层,说明深入研究生长于自然环境中的细菌微生物生态学是十分必要和有发展前途的。

2. 本书作者取材广泛,研究比较深入,它的内容充实,制作精湛,图片优美引人入胜,它的出版发行我认为将切合我国当前防治传染性细菌病的实际需要,而且它的科学价值看来已正超出上述范围,因为它除了内含各种危害人群健康的常见和少见的致病性细菌、螺旋体、支原体以外,还包括一些值得人们重视的人体正常菌群在内,由于某些正常细菌对于我们人类的健康有益,而且它们及其代谢作用和产物对人体也是必需的。我高兴地看

到这本书中包含了上述的代表性菌群——两歧双歧杆菌、干酪乳杆菌、多形拟杆菌以及丙酸杆菌属细菌等。

3. 本图谱内不仅包含了各种细菌的多样性结构和形态,如各型菌毛、鞭毛、荚膜、外膜泡、螺管结构、纤维素、芽胞、间体、质粒、各种包含物(颗粒)、管状结构等,而且还将作者多年来自己研究,近年才发表的新成果——革兰阴性细菌质周体的超微结构,包括圈状结构、环层小体、致密颗粒等较详细地列入,这是很有意义的。由于质周体在不同致病性细菌中具有多种结构(如鼠疫耶氏菌的表现单层膜泡,大肠埃希菌的呈环层结构,霍乱弧菌、空肠弯曲菌、破伤风梭菌等都显致密颗粒,它们或有界膜,或不明显),它们的性质和功能尚未作测试,它们是酶或是毒素还不知道。有关质周酶的质周空间的关系,在国际上虽已被生物化学家所证实,但资料是通过生物化学方法获得,缺乏形态学方面的描述。作者通过电镜观察澄清了有关质周体存在的问题,并报告了质周体的各种结构表现。预期今后这项基础研究,通过生物化学和形态学家的共同努力,将能取得新的发展,对于细菌分泌包括酶在内的各种蛋白质的机理和噬菌蛭弧菌在宿主细菌内的质周空隙中寄生、繁殖的机制都有可能获得了解或阐明。关于间体具有多形态的膜质结构在细菌的细胞质和核质内形成独立的封闭系统,仅与质周空间相通。它在与外环境交流中相当于质周隙,而不是细胞质部分。这一结构。在本图谱 79、80 的图片中于白喉棒杆菌和小肠结肠炎耶氏菌中有清晰反映。至于细胞质内含有的环层体和稠密体,则在 73 图中拟态弧菌细胞中表现出来。此外,从我国食物中毒患者用过的酵米面分离出的一种椰毒假单胞菌中都看到了类核 DNA 细丝(图 76、77),这在电镜图谱中首次记载,具有我国特色。另外,有关近年国内研究热点之一的细菌外膜结构与在宿主中粘附作用这一生理病理功能在近十年来新发现的幽门螺杆菌于胃溃疡患者的胃粘膜层上的表现相联系,在本图谱中也得到证实,这在国内报道具有一定说服力,它可与国际文献相媲美。

本书是作者们多年辛勤劳动的成果,它的编辑出版既密切结合我国国民经济建设和社会发展的实际需要,又适应当前改革开放的新浪潮中生物科学技术日新月异地向高方面纵深发展的趋势。由于本图谱是一部质量相当优良的学术资料,我相信它的出版将对医学教学、结合临床进修培训、卫生防疫、兽医部门以及从事预防医学、分子生物学和微生物生态学的科研工作者提供参考,具有一定的价值。本图谱还可作国际交流之用。

刘 乘 阳

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所
医学微生物学研究员

1992 年 4 月于北京

医学细菌电镜图谱

编者的话

《医学细菌电镜图谱》是为配合高、中等医药院校和科研机构的细菌学教研工作而编制。本书参考了全国高等医药院校试用教材《医学微生物学》中有关细菌学篇章的编排内容,启用了三十多属百余株菌种。此外,还收入了一些其它原核细胞如螺旋体和支原体的电镜照片,但从广义细菌学来看,图谱所含细菌的种类尚不齐全。为能更好地展示细菌的某一形态或结构,也优选了个别与医学关系不大的细菌图片。

电镜观察用的菌种,多数取自中国医学细菌保藏管理中心,少数由各专业实验室提供,个别系国内首次分离或从国外新近引进。为获得正常的形态和结构,各种细菌都被接种到最适培养基上,在最适环境中培育,并于最佳时间采样。样品被分别制作成镀膜、负染和超薄切片三种常规标本,个别菌种增做了冰冻蚀刻复型标本,以求从多方面反映细菌的形态和结构。

本图谱由中国药品生物制品检定所病理电镜室、中国医学细菌保藏管理中心和青岛医学院电镜室合作编制。中国医学细菌中心钩端螺旋体专业实验室、霍乱弧菌专业实验室、脑膜炎球菌专业实验室、沙门菌专业实验室、大肠埃希菌专业实验室、布氏菌专业实验室以及检定所血清室(白喉棒状杆菌和破伤风杆菌实验室),均给予了我们大力协作。赵乃晰教授和赵立权博士提供了珍贵的电镜照片。新疆石河子市医学院给我们提供了大力资助。对此,我们一并致以衷心的感谢!

朱既明教授给予本图谱写了“内容介绍”,李昆、翟中和教授写了“前言”,刘秉阳教授写了“序言”,陆德源教授写了“评价”并作了详细审改,在此,我们表示真诚的谢意!

编者

1992年4月29日

目 录(contents)

一、材料和方法(materials and methods)	1
1. 材料(materials)	1
2. 方法(methods)	1
二、细菌的形态(morphology of bacteria)	3
1. 细菌的基本形态(basic morphology of bacteria)(图 1~13)	3
2. 细菌的特别形态(unusual morphology of bacteria)(图 14~32)	10
3. 菌落表面的细胞排列和细胞间粘连物(arrangements of cells on colony surfaces and adherent belts among cells)(图 33~49)	19
三、细菌的超微结构(ultrastructures of bacteria)	29
1. 细菌的基本结构(essential structures of bacteria)	29
1) 细胞壁(cell wall)(图 50~62)	29
2) 细胞膜(cell membrane)(图 63~66)	38
3) 细胞质(cytoplasm)(图 67~73)	40
4) 类核(nucleoid)(图 74~81)	44
5) 核糖体(ribosome)(图 82~84)	49
2. 细菌的外部结构及附属物(outer structures and appendages of bacteria)	51
1) 点阵颗粒(lattice granule)(图 85~88)	51
2) 荚膜(capsule)(图 89~94)	54
3) 外膜泡(outer membrane vesicle)(图 95~118)	58
4) 菌毛(pilus)(图 119~123)	70
5) 鞭毛(flagellum)(图 124~145)	74
6) 螺管结构(coil structure)(图 146~153)	86
7) 纤维素(cellulose)(图 154~157)	91
3. 细菌的内部结构及包含物(inner structures and inclusions of bacteria)	93
1) 质周体(periplasmic body)(图 158~173)	93
2) 间体(mesosome)(图 174~181)	102
3) 芽胞(spore)(图 182~195)	106
4) 聚 β -羟丁酸颗粒(PHB granule)(图 196~197)	114
5) 糖原颗粒(glycogen granule)(图 198)	116
6) 质粒(plasmid)(图 199)	117
7) 环层体(concentric lamina)(图 200~207)	117
8) 稠密体(dense body)(图 208~210)	122
9) 管形结构(tubular structure)(图 211~217)	123
10) 空泡(vesicle)(图 218~220)	127

4. 细菌的特别结构(unusual structures of bacteria)	129
1)横壁(cross-wall)(图 221~226)	129
2)中隔(septum)(图 227~233)	132
3)微细胞(minicell)(图 234~235)	136
4)侧分裂细胞(lateral dividing cell)(图 236~238)	137
5)三维分裂细胞(three dimensional dividing cell)(图 239)	139
6)细胞内的细胞(intracellular cell)(图 240~245)	139
7)革兰阳性菌的多层细胞壁(multilayered cell wall of a gram-positive bacterium)(图 246~247)	142
8)球状体(spheroidal body)(图 248~250)	144
9)其它的特别结构(other unusual structures)(图 251~253)	146
10)杯状细胞内的螺杆菌(the helicobacter in a goblet cell)(图 254~255)	148
参考文献	149

一、材料和方法(materials and methods)

1. 材料(materials)

1) **菌种** 主要来源于中国医学细菌保藏管理中心,部分来自各种医学细菌专业实验室或医学院、防疫站和有关研究所。多数菌种是国际株,少数是国内株。一般为真空冷冻干燥保藏,个别为培养基斜面保藏。

2) **培养基** 普通细菌培养均用营养琼脂斜面(pH7.2),嗜碱性细菌用碱性琼脂(pH7.8),嗜血和产荚膜细菌用血琼脂,厌氧菌用斯氏血琼脂,乳杆菌用牛乳琼脂,白喉棒状杆菌用吕氏血清斜面,诱导有鞭毛细菌用“U”形管肉汤半流体(含琼脂0.2%),培养细菌的鞭毛和菌毛用软琼脂平板(含琼脂0.75%),培养芽胞用生孢培养基。

2. 方法 (methods)

1) **细菌培养** 制备一般标本用液体培养基或斜面培养基,制备临界点干燥标本用平板培养基。普通细菌均在37℃孵箱培养18小时左右。生长缓慢的细菌培养36~48小时。培养细菌鞭毛在25~38℃培养1~3天。培养细菌芽胞在30~35℃培养2~3天以上。厌氧菌放厌氧装置中培养1~2天。

2) **标本制备** 临界点干燥标本:用小块盖玻片轻轻印取菌落表层细胞,用2.5%戊二醛固定2小时,磷酸缓冲液(pH7.2)冲洗三次,再用1%四氧化锇固定1小时,用同样的缓冲液洗三次。以30%、50%、75%和95%乙醇,顺序脱水各1次,每次10分钟。然后以无水乙醇重复脱水2次,每次20分钟左右。最后将50%、70%、90%和100%乙酸异戊酯逐级取代乙醇,每级置换1~3分钟。将样品放入HCP-2临界点干燥器内,加液态二氧化碳作介质进行干燥。干燥后的标本放入高真空蒸发器中,喷金镀膜。

负染标本:从琼脂斜面培养基上刮取新鲜菌苔,避免带入琼脂。加生理盐水作成混悬菌液,并洗涤2~3次。如为致病菌,则用2.5%戊二醛固定5~10分钟。菌液浓度以每毫升含5亿个菌体为宜。用有载膜的铜网(400目)蘸取菌液,放在小片滤纸上,加磷钨酸(pH6.6~6.8)滴染。磷钨酸浓度因菌而异,球菌用1%,杆菌用2%,螺旋体用3%。

超薄切片标本:取新鲜菌苔,加2.5%~3%戊二醛固定2小时以上,按3000rpm离心30分钟,弃去上清液,用磷酸缓冲液冲洗菌体3次,然后以1%四氧化锇固定1小时,如为芽胞则需固定24小时。用同样的磷酸缓冲液冲洗3次。再用系列乙醇脱水,Epon812包埋,60℃聚合48小时。在LKB超薄切片机上用钻石刀切片,厚度约50nm。切片放在400

目无载膜铜网上,用醋酸双氧铀染 30 分钟,再用柠檬酸铅复染 30 分钟左右。蒸馏水冲洗,37℃烘干供观察。

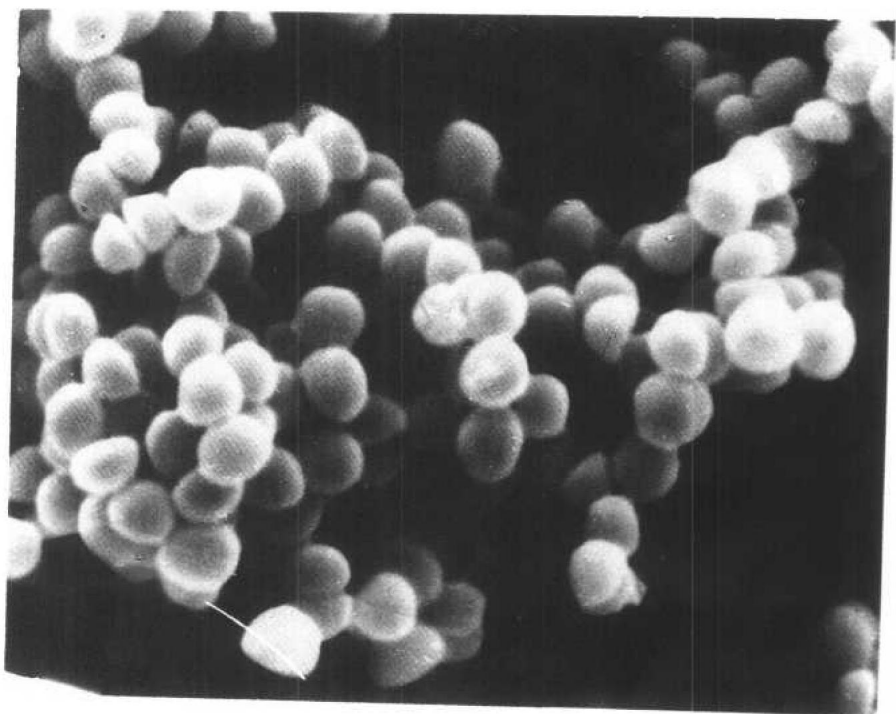
冰冻蚀刻标本:取新鲜菌苔,用戊二醛固定和缓冲液冲洗后,放入 30%甘油盐水中浸渍 12 小时,转入样品杯中,迅速投入液氮内冷冻至-196℃左右,再置 Balzers 冷冻蚀刻仪中, 5×10^{-6} Torr 高真空和-130℃低温下将样品切断,暴露出细胞内部结构,再在 30~60 秒内使温度上升至-110℃进行蚀刻。然后以 45°向断面上喷铂 5nm,并垂直喷碳 20nm 制成复型膜。最后在 10%次氯酸钠液中洗去菌体,留下复型膜,用 30%丙酮洗 1 次,双蒸溜水洗 2~3 次后,置于 400 目无载膜铜网上。

3)电镜观察 临界点干燥标本用 JSE-840 扫描电镜,在加速电压 10 或 15kV 下观察摄影。负染、超薄切片和冰冻蚀刻标本用 H-600IV 型透射电镜,在加速电压 75kV 下观察摄影。

二、细菌的形态(morphology of bacteria)

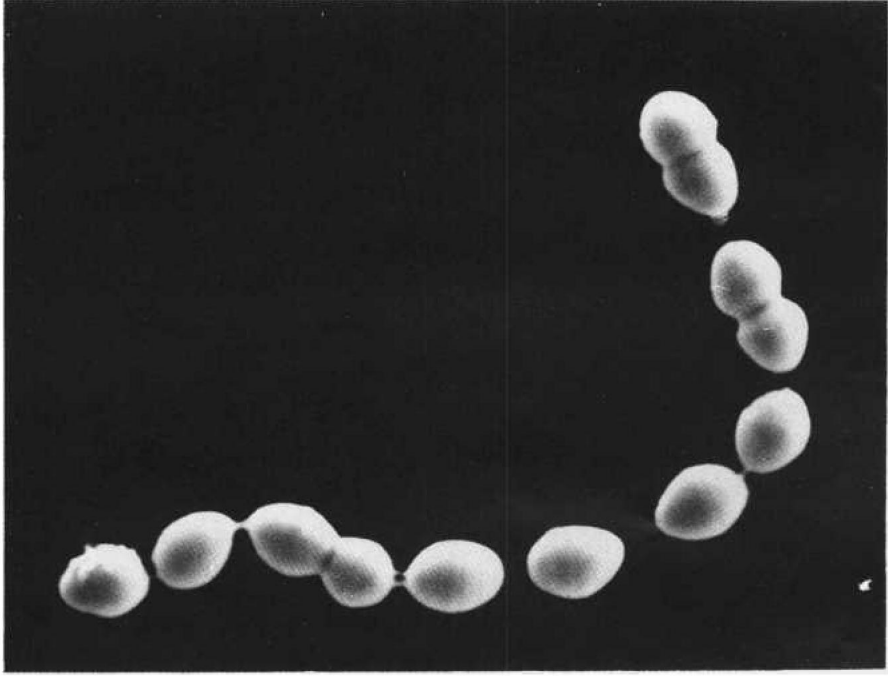
1. 细菌的基本形态(basic morphology of bacteria)(图 1~13)

细菌的基本形态有三种：球形、杆形和螺旋形。球菌因细胞分裂部位的分离程度不同，又可形成不同类型的群体，例如链球菌、双球菌、四联球菌、八叠球菌和葡萄球菌等。杆菌除炭疽芽孢杆菌经常形成链状外，其它杆菌均无特殊群体类型，但在菌体形态上则差异明显，有挺直的、弧形的、棒状的、梭状的、粗短的、丝状的和分支的等。螺旋形细菌有 2~3 个弯的弯曲菌(campylobacter)，不足半圈或至多 5~6 圈的螺菌(spirillum)以及多达 10~40 个以上螺旋和末端弯曲成钩状的钩端螺旋体(leptospira)等。细菌的细胞表面有的平坦，有的皱折，有的具有较小颗粒或较大的球状体。



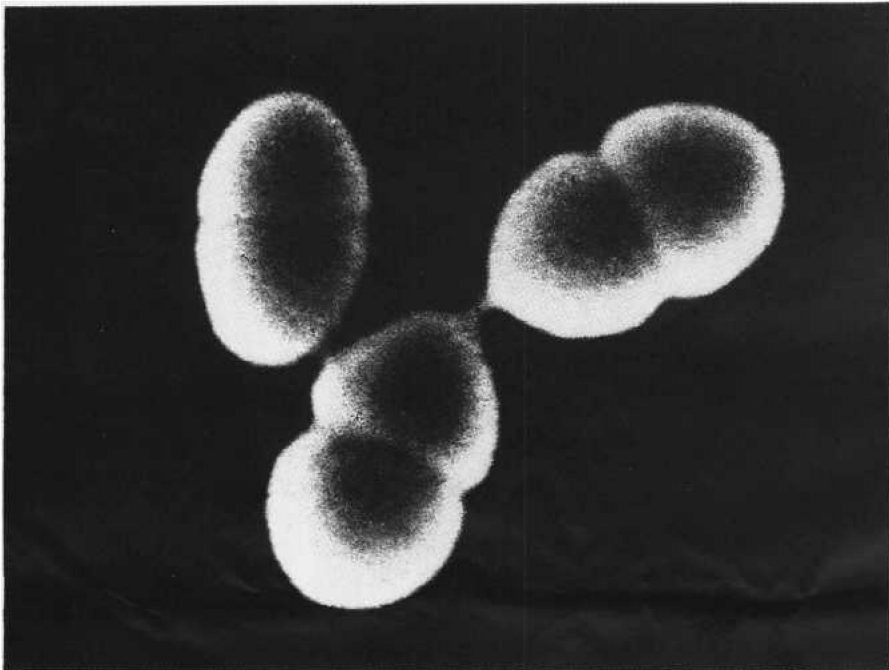
1. 表皮葡萄球菌的形态 金属镀膜, $\times 13\ 500$

Fig. 1. The appearance of *Staphylococcus epidermidis*, metal coating.



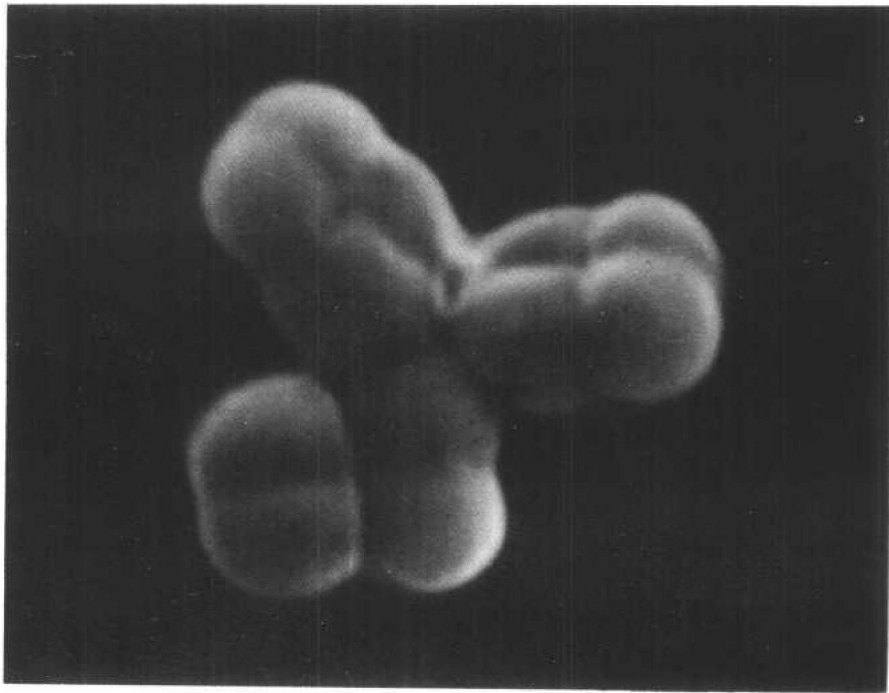
2. 酿脓链球菌的形态 金属镀膜, $\times 12\ 000$

Fig. 2, The appearance of *Streptococcus pyogenes*, metal coating.



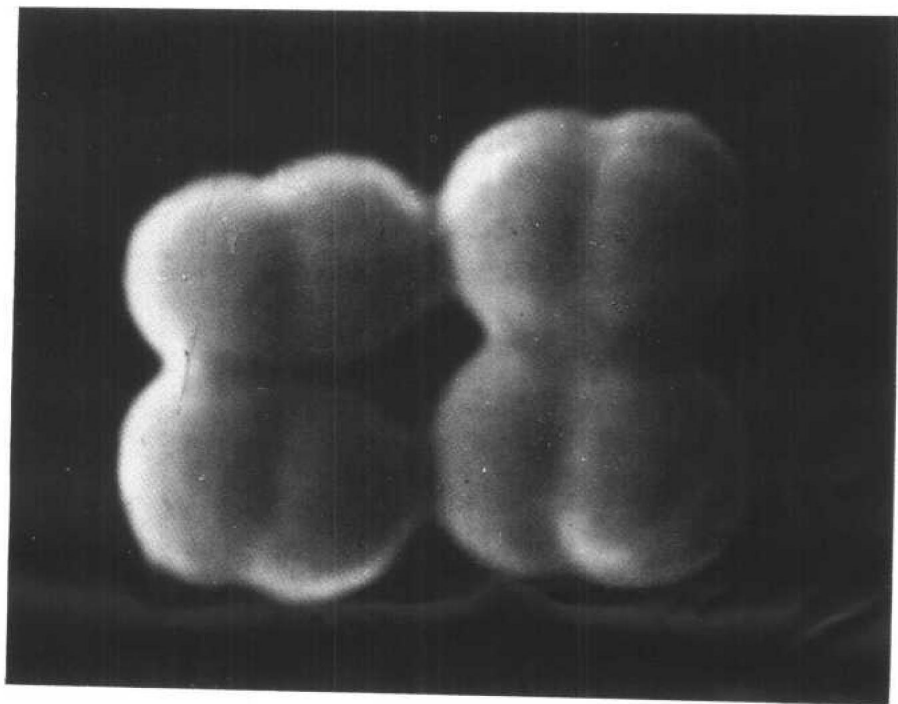
3. 高倍放大的酿脓链球菌形态 金属镀膜, $\times 34\ 000$

Fig. 3, The appearance of *Streptococcus pyogenes* of high magnification, metal coating.



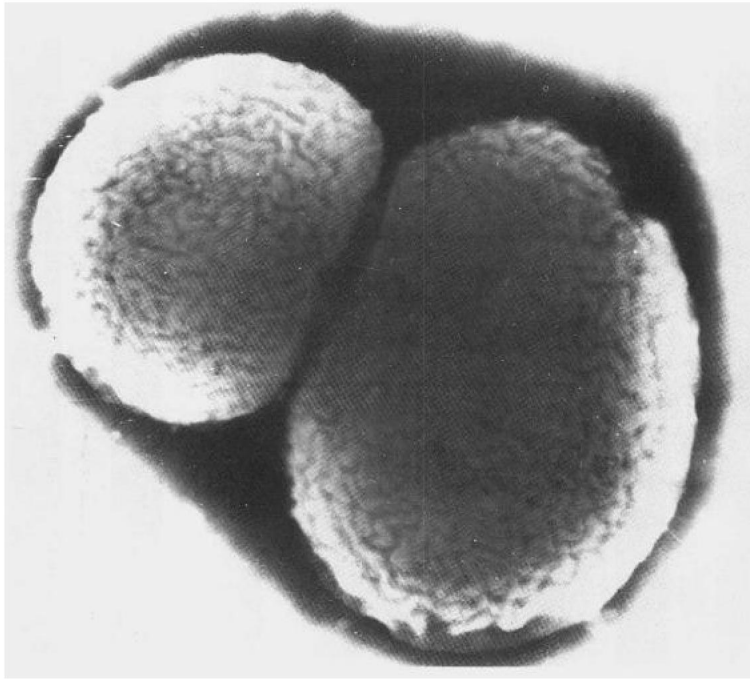
4. 四联微球菌的形态 金属镀膜, $\times 40\ 000$

Fig. 4, The appearance of *Micrococcus tetragenus*, metal coating.

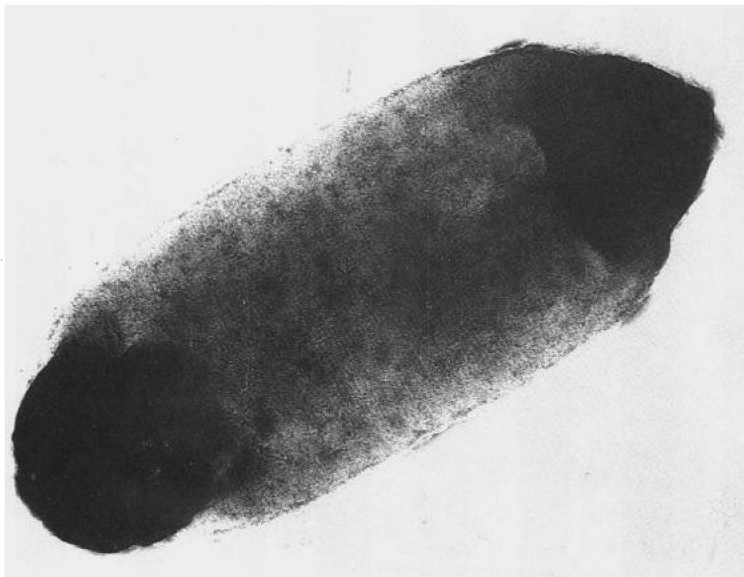


5. 藤黄微球菌(原称藤黄八叠球菌)的形态 金属镀膜, $\times 50\ 000$

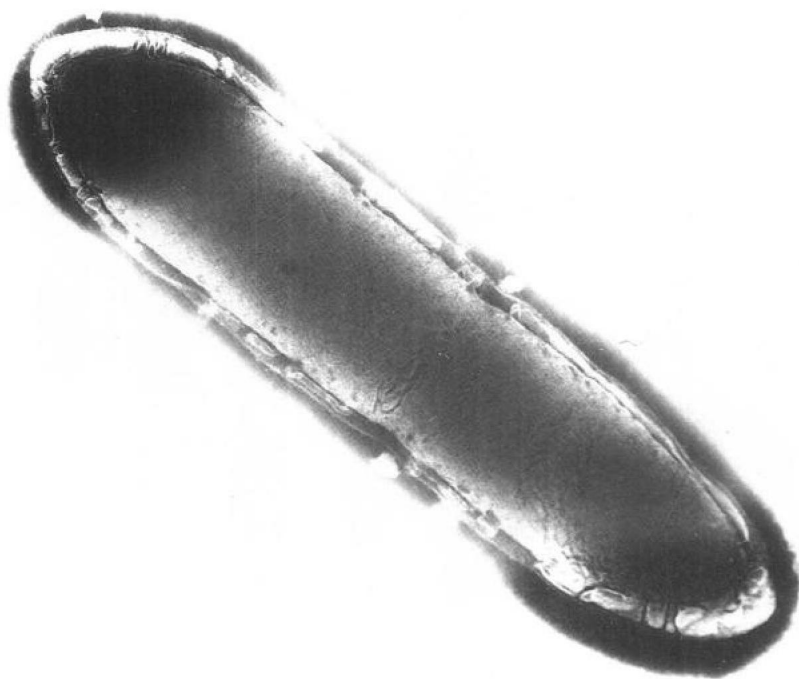
Fig. 5, The appearance of *Micrococcus luteus*, metal coating.



6. 牛布鲁菌的形态, 整个细胞表面布满回旋状花纹 $\times 70\ 000$
Fig. 6, The appearance of *Brucella abortus*, convoluted surface pattern over whole cell, metal coating.

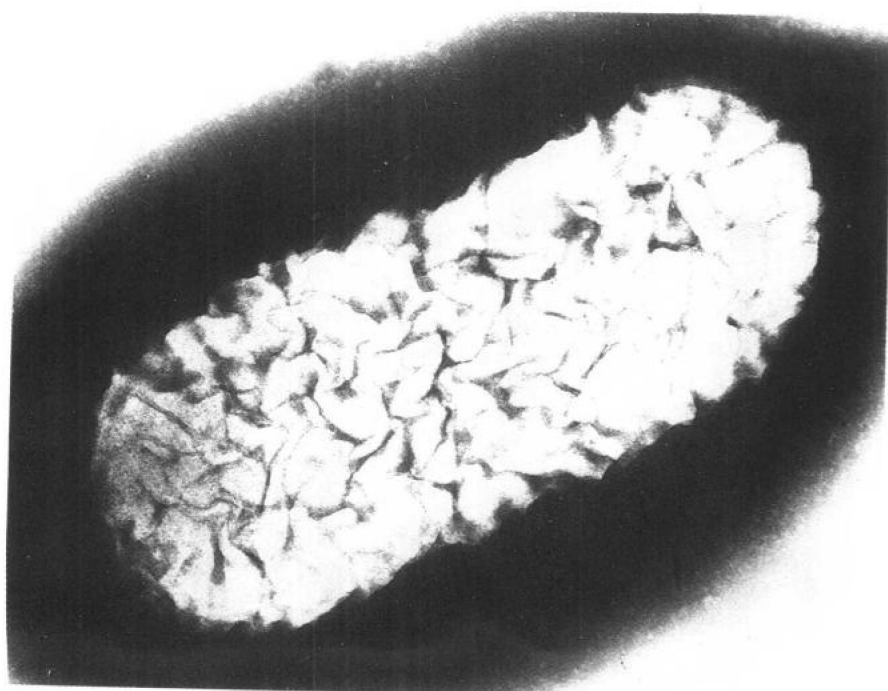


7. 小肠结肠炎耶菌的形态, 两端浓染 负染, $\times 60\ 000$
Fig. 7, The appearance of *Yersinia enterocolitica*, being stained densely in both ends, negative staining.



8. 艰难梭菌的形态 负染, $\times 44\ 000$

Fig. 8, The appearance of *Clostridium difficile*, negative staining.



9. 肺炎克雷伯菌的形态, 细胞表面具有宽阔的皱褶 负染, $\times 85\ 000$

Fig. 9, The appearance of *Klebsiella pneumoniae*, possessing wide folds over the cell-surface, negative staining.