

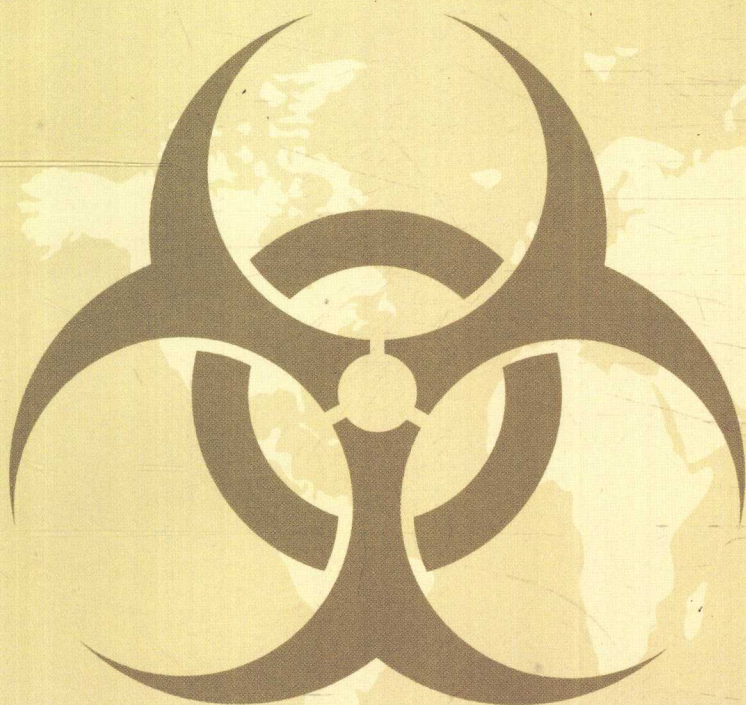
生物安全

——原理与准则

Biological Safety:
Principles and Practices

(第四版)
(4th Edition)

Diane O. Fleming 和 Debra L. Hunt 主编
中国动物疫病预防控制中心 译



中国轻工业出版社

生物安全

——原理与案例

B

Biosafety
Principles and Practices

第三版
2018年12月

中国疾病预防控制中心
生物安全国家标准委员会 编



中国疾病预防控制中心
生物安全国家标准委员会 编

4TH EDITION

Biological Safety

Principles and Practices

生物安全 ——原理与准则（第四版）



[美] Diane O. Fleming 主编
[美] Debra L. Hunt

中国动物疫病预防控制中心 译

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物安全：原理与准则：第4版/(美)弗莱明 (Fleming, D. O.), (美)亨特 (Hunt, D. L.) 主编；中国动物疫病预防控制中心译. —北京：中国轻工业出版社，2010.1

书名原文：Biological Safety: Principles and Practices (4th Edition)

ISBN 978-7-5019-7351-4

I. ①生… II. 弗…②亨…③中… III. ①生物技术-安全管理 IV. ①Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 186556 号

Copyright © ASM Press, 2006. All rights reserved. Translated and published by arrangement with ASM Press, Washington, DC; USA.

责任编辑：江 娟

策划编辑：江 娟 责任终审：滕炎福 封面设计：锋尚设计

版式设计：王超男 责任校对：李 靖 责任监印：马金路

出版发行：中国轻工业出版社（北京东长安街6号，邮编：100740）

印 刷：中国农业出版社印刷厂

经 销：各地新华书店

版 次：2010年1月第1版第1次印刷

开 本：787×1092 1/16 印张：40.5

字 数：1036千字

书 号：ISBN 978-7-5019-7351-4 定价：120.00元

著作权合同登记 图字：01-2007-4905

邮购电话：010-65241695 传真：65128352

发行电话：010-85119835 85119793 传真：85113293

网 址：<http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

70834K1X101ZYW

《生物安全——原理与准则（第四版）》译者名单

主 译：张仲秋

副主译：李 明 王宏伟

主 审：吴东来

参译人员：李文京 关云涛 刘 伟 刘霓红

译者单位：中国动物疫病预防控制中心

译者的话

生物安全关系到重大动物疫病防控和公共卫生安全，得到国际社会和各国政府的高度重视。国务院于 2004 年颁布了《病原微生物实验室生物安全管理条例》（第 424 号令），就我国境内的实验室及其从事实验活动的生物安全管理工作做出了全面规定。农业部和卫生部也颁布了相应的配套规章，标志着我国生物安全管理工作步入了法制化、规范化的轨道。

由于高级别生物安全实验室建设在我国起步较晚，有关生物安全理论和实践与国外相比尚显不足，为对国内相关单位正在建设的各个级别生物安全实验室有所帮助和借鉴，中国动物疫病预防控制中心于 2007 年翻译出版了《兽医生物安全设施——设计与建造手册》一书。随后，我们又从美国引进和翻译了国际生物安全领域的另一部重要著作《生物安全——原理与准则》（第四版）。该书共分 5 部分 33 章，包括风险识别、危险评估、风险控制、管理控制、生物安全的特殊考虑等章节，内容丰富，知识面广，对于从事生物安全工作的人员来讲不失为一本非常有价值的参考书籍。该书可作为动物疫病预防控制系统、人类疾病预防控制系统、高等院校、科研院所、出入境检验检疫系统和生物制品生产企业等行业从事病原微生物的研究、生产、教学、检测、检疫、管理等工作人员的参考用书。

由于译者水平和实践经验所限，书中难免有错漏之处，恳请广大业内同仁和读者批评指正。

张仲秋

中国动物疫病预防控制中心 主任

前言

《生物安全——原理与准则》(第四版)共包括 33 章,由 50 余位在生物安全领域有多年经验的作者编写完成。在这里,我们要特别感谢这些作者中的 7 位,他们为本书中各部分的编辑做出了极大的努力。还有这次加入的 15 名新作者,他们为我们带来了生物毒素、生物危险物品的包装与运输、生物安全规程管理、生物医学研究环境中的职业医疗、生物安全 4 级最高防护等级实验室的安全考虑以及农业病原体的特殊考虑等领域的新知识。其他章节都经过了适当的补充和更新。例如,关于朊病毒的章节最主要的改变是增加了对变种克-雅病通过血液传播的论述,这种情况是自本书的上一版出版后开始出现的。改动最多的是“第四章实验室相关感染的流行病学”和“第七章原虫和蠕虫”。这两章中加入了以前未报道的事件以及对以前一些调查的回顾。

在本书第三版出版以来,发生了一些不幸事情,如 2002 年的炭疽事件。这些事件对生物安全领域和工作中涉及微生物因子的人员造成一定影响。一些条例已经进行了扩展,以防止恐怖分子获得那些可以用作生物武器的微生物。由疾病预防控制中心(CDC)和美国农业部制定的选择因子条例包括一些严格的要求,要求限制可以获取、保存或使用这些因子的人员。这些人员必须接受包括指纹在内的安全检查,并持有公证部签发的证明。生物安全人员现在又有了新的责任——实施这些条例中主要的生物安保部分。本书在第 33 章中就这些条例对生物安全和生物安保的影响进行了论述。

本书以前各版的特点是将职业安全与卫生管理局(OSHA)、国家卫生研究院(NIH)和 CDC/NIH 指南《微生物学和生物医学实验室生物安全手册》(BMBL)中的一些条例纳入其中。但是非常遗憾的是,第五版 BMBL 还在编纂中,何时出版尚不明了。由于所有文件都可以在互联网上找到,因此我们建议读者参考这些资料。

本书旨在为生物安全专家、教授生物安全知识的人员以及在研究、生产和教学环境中操作病原微生物的人员提供一种应用资源。本书中涵盖目前已知的重要内容。但是,生物技术的突破性进展,比如纳米技术和基因组合技术,预期在未来会对我们进行正确的风险评估的能力构成极大的挑战。在本书前一版出版后的 6 年中,人们根据基因组图谱合成了脊髓灰质炎病毒,并发表在文献中,根据基因组图谱合成任何病毒已成为现实。那么,我们在识别和评估潜在未知风险(这种风险可以由多种合成病毒的嵌合体造成)方面的努力是否能够使得我们不断找到有效的防护方法呢?这种挑战要求我们不断努力,分享从广阔的生物学研究领域收集的信息。我们希望本书能对这种努力有所帮助。

Diane O. Fleming

Debra L. Hunt

目录

第一部分 风险识别	1
1 人类微生物群和微生物的毒力因素	2
2 实验动物的固有病原体及致病因子	18
3 实验室、培养箱和温室的微生物安全：对人类健康有重要影响的植物病原体以及植物相关微生物	38
4 实验室相关感染的流行病学	59
第二部分 危害评估	89
5 生物学危害的风险评估	90
6 细菌病原体	104
7 原虫和蠕虫	128
8 人类真菌性疾病	180
9 人类疾病的病毒因子：关注生物安全	198
10 空气传播病原体的生物安全	232
11 细胞系：应用和生物安全	245
12 动物和生物学系统的过敏原	268
13 生物毒素：安全和科学	280
第三部分 风险控制	299
14 生物实验室的设计	300
15 初级屏障和设备相关危险	323
16 初级屏障：生物安全柜、通风橱、手套箱	331
17 个人呼吸防护装置	354
18 处理人类样品的标准（通用）预防措施	372
19 严谨的生物安全准则	394
20 消毒与灭菌	406
21 生物材料的包装和运输	416
第四部分 管理控制	435
22 生物安全规程管理	436
23 生物安全公约：一个全球性的展望	448
24 生物医学研究环境下的职业医疗	469
25 生物安全规程有效性检测	477

第五部分 生物安全的特殊考虑	491
26 朊病毒病的生物安全	492
27 生物安全 4 级实验室——最高防护级别实验室的安全考虑	520
28 生物安全和病毒基因转移载体	543
29 教学实验室的生物安全	567
30 制药业的生物安全	587
31 微生物的大规模生产	598
32 农业病原生物安全的特殊考虑	618
33 生物安全与生物恐怖：法律作用	627

第一部分 风险识别

1 人类微生物群和微生物的毒力因素

PAUL A. GRANATO

2 实验动物的固有病原体及致病因子

DIANE O. FLEMING

3 实验室、培养箱和温室的微生物安全： 对人类健康有重要影响的植物病原体以及植物相关微生物

ANNE K. VIDAVER, SUE A. TOLIN和PATRICIA LAMBRECHT

4 实验室相关感染的流行病学

A. LYNN HARDING 和 KAREN BRANDT BYERS

1 人类微生物群和微生物的毒力因素

PAUL A. GRANATO

“20 世纪 90 年代已经有了一种重新的认识，也就是我们人类仍然禁锢在达尔文的与微生物和病毒危害者斗争的进化论中。”这个未参考的引文是由诺贝尔生理学和医学奖得主乔舒亚·莱德伯格（Joshua Lederberg）在讨论 20 世纪 90 年代初出现的艾滋病和抵抗多种药物的结核分枝杆菌的流行时所提出的，但他的评论也适用于 19 世纪 80 年代后期细菌引起疾病的理论之后的大多数传染病的发生过程。随着我们进入 21 世纪，尽管现代医学、新的疫苗和抗感染治疗药物的不断发展，但人类仍继续和达尔文进化论中的微生物危害者在为生存而斗争。

宿主与寄生虫之间为了生存的竞争关系是处于一种持续变化的状态。在健康状态下，宿主和微生物之间存在着相互生存和共处的平衡。保持这种平衡的最好方法是人类启动宿主防御机制，不接触传染性特别强的微生物介质。维持这一平衡和人类宿主健康的三个主要的必要防御机制是：①完整的皮肤和黏膜；②主要由吞噬细胞的官能团组成的网状内皮系统；③产生体液免疫反应。其中任何一个或所有的防御机制缺陷都将这一平衡改变为有利于微生物，并且使得宿主易感染流行的传染病。举例来说，皮肤或黏膜由于意外、外伤、手术或热损伤作为微生物侵入的门户，从而产生感染。另外，网状内皮系统由于淋巴瘤或白血病不能有效地吞噬微生物，并且由于吞噬细胞缺陷或接触免疫抑制剂（如药物，辐射等）导致不能产生正常的体液免疫，也有可能促使感染的发生。这种有利于微生物的平衡通过用于治疗 and 预防疾病的抗菌剂和/或疫苗的给予可能会转回到宿主。不幸的是，由于这些抗菌剂或选择性压力可能会相反地影响微生物的生存，因此往往会伴随着平衡又转变回曾经适应的微生物，也许会获得产生人类疾病或抵抗一种抗菌剂的新机制。

微生物界由细菌、真菌、病毒和代表几十万种已知物种的原生动物所构成。不过，这些物种中的绝大部分由于无法在人体内生存或不能引起人类疾病而未被包括到任何与人类宿主有关的动态关系中。相比之下，这些与人类宿主有动态关系的微生物在数量上是有限的，由不足 1 000 种已知的微生物物种构成。这一章讨论的焦点是有限的微生物群。

人类宿主和微生物界之间的关系是多样且复杂的。当一种微生物能引起疾病，并能在体内生长繁殖，就是所谓的感染，感染在人身上产生的症状被称为疾病。相反，微生物持续地存在于身体某一特定位置（如正常菌群，在这一章的随后一节中讨论），往往被称为定植，而非感染，重要的是，感染或定植不一定引起疾病。如果宿主的防御足够，一个人在没有任何疾病症状时可能被一种病原微生物感染，这种人被称为无症状携带者或隐性感染。这些无症状携带者是传染给微生物易感宿主并导致发病的重要贮存宿主。

特定病原微生物感染或引起疾病的能力，依赖于宿主的易感性，很多感染对于易感宿主有明显的物种差异。举例来说，狗不感染麻疹和人类不得犬瘟热。因此，所谓的致病性，它是指一种微生物引起疾病的能力，必须是在宿主范围内才能引起疾病。不能在健康的宿主身上引起疾病的微生物通常被称为腐生菌、共生物或非病原体。

近年来,越来越多的传染病由以前认为是非病原体微生物引起。这些传染病往往发生在病人的表面/屏障、细胞或免疫防御因创伤、遗传缺陷、潜在疾病或免疫抑制治疗受到损伤时。只有在免疫缺陷的宿主或当皮肤、黏膜表面或屏障被突破时引起疾病的微生物被称为条件致病菌。条件致病菌大多数是腐生菌,很少能使防御功能正常的宿主引起疾病。

致病性是指一种微生物引起疾病的能力,毒力为这种特性提供了一个定量的标准。毒力因素是指一种微生物在宿主表面或内部定植并能提高其致病力的属性。一般来说,毒力不是归因于一个单一的因素,而是取决于微生物、宿主及它们之间的关系。毒力包括病原微生物的两个一般特征:①侵袭力,即粘附、繁殖和向组织蔓延的能力;②毒性,即产生损害人类细胞的物质的能力。在一种微生物中可能存在高毒力、中毒力及弱毒力的菌株。

引起人类传染病的微生物的主要来源或贮存宿主:一类来源于体外的被称为外源性病原体库,另一类由栖息在体内特定部位的微生物引起的传染病被称为内源性病原体库。大多数外源性感染是来源于其他个体,通过直接接触、有传染性的呼吸道分泌物的气溶胶传播、摄入污染的食物、饮料或间接接触受污染的非生命的物体(通常称为污染物)而获得的。一些外源性感染可能由于被昆虫或动物咬伤,也可能由于日常生活中被尖刀划伤而造成。内源性感染比外源性感染发生普遍,通常是居于体内正常位置的微生物(所谓正常的共生菌群)由于改变体位侵入健康人体无菌状态的解剖部位而造成的。

正常菌群

正常菌群、正常的共生菌群和自然菌群是同义的,用来描述在健康个体的特定解剖部位经常发现的微生物。这种菌群与每个人出生后不久,直到死亡期间的皮肤和黏膜有关,代表了大量且多样的微生物。健康成人约由 10 万亿个细胞和通常至少 100 万亿个微生物组成(Davis, 1996)。菌群的组成和数量在不同部位和不同年龄是不同的,如表现在微生物的形态、生理和遗传特性,遗传特性包括它们在身体特定部位定植和繁殖,与其他微生物共存,并竞争性抑制入侵者。因此,每个解剖部位都有一个正常的菌群,它们作为一种适应该环境的代表菌群而形成特异的微生物生态系统。

身体各部位的生理和环境条件决定存在此的正常菌群的性质和组成。这些条件有时是十分复杂的,各部位不同,有时随着年龄改变,这些条件中的一些包括可供微生物利用的营养的数量和类型、pH、氧化还原电位和该部位的抗菌物质,如胆汁、溶菌酶或短链不饱和脂肪酸。此外,许多细菌对特定类型的上皮细胞有着明显的亲和力,它们可以附着于这类上皮细胞生长繁殖。这种附着是由细菌纤毛/菌毛或其他微生物表面成分的出现而介导的,允许微生物附着到某些上皮细胞表面具体的受体部位。通过这种附着机制,微生物可以生长和繁殖,同时避免由表面液体和肠蠕动而被冲洗掉。各种微生物的相互作用也决定了它们在菌群中的相对流行率。这些相互作用包括竞争营养和抑制生态系统中其他微生物产生的代谢产物(例如,产生过氧化氢、抗生素和/或细菌素)。

正常菌群在卫生保健和疾病中起着重要作用。例如,在卫生保健中,肠道的正常菌群参与人类营养和代谢。某些肠道细菌合成和分泌维生素 K,这些物质在人类可被肠道吸收利用。此外,几种重要化合物的代谢包括从肝脏排泄进入肠和从肠返回肝脏。肠肝循环回路是特别重要的类固醇和胆盐代谢途径。这些物质通过胆汁以共轭形式如葡萄糖醛酸苷或硫酸盐排出体外,但不能以这种形式重吸收。某些肠道菌群的成员可产生葡萄糖基酸苷酶和硫酸酯

酶能降解结合这些化合物，从而使它们重吸收并被人类宿主利用（Bokkenheuser 和 Winter, 1983; Wilson, 1999）。正常菌群的另一种有益作用是抗原刺激宿主的免疫系统，尽管接触抗原产生的各类免疫球蛋白通常浓度很低，但它们在宿主的防御中起着重要的作用。特别是对抗原刺激反应产生的各类免疫球蛋白 A（IgA）通过黏膜分泌。而这些免疫球蛋白的作用并不完全清楚，它们也可能有助于干涉某些正常菌群在更深的组织定植而干扰宿主防御系统。

也许正常菌群最重要作用之一是为了在接触潜在病原微生物后阻止传染病的发生。正常共生菌群具有先占据皮肤和黏膜的自然优势。许多正常共生菌群附着上皮细胞结合位点后，防止潜在病原微生物附着该受体部位。像这一章中稍后讨论的，某些导致人类疾病的病原体能够附着在具体的上皮细胞受体部位。此外，一些共生微生物能产生抗生素、细菌素或其他可能抑制或致死病原微生物的产物。正常菌群附着在上皮细胞的受体部位和产生的抗菌物质的共同作用，对保持宿主接触潜在致病菌后的健康起着重要作用。

正常菌群尽管对维护人类健康重要，但同时也是人类传染病的一个关键因素。因为人体是由多种大量的人体正常菌群所掌控，三大宿主防御机制（完整的物理表面、网状内皮系统和免疫系统）在宿主和寄生虫的动态关系中为维护人类健康必须有效和实用。有时，正常菌群可进入通常人体无菌部位或一个或多个宿主防御系统缺损部位，可能会导致一种或多种微生物的显性感染。

人类的内源性感染比外源性感染更易于发生。一般来说，医生接触到的由正常菌群致病的患者比感染外源微生物的患者多（Eisenstein 和 Schaechter, 1993）。因此，临床医师及临床微生物学家必须了解在不同解剖部位的正常菌群。

在医学上，这就是所谓的“普通的事情常常发生”。知道某一特定部位的正常菌群后，对预测引起周边组织内源性感染的可能病原体往往是有用的。因此，在接下来的部分将讨论各解剖部位的正常菌群。由于正常菌群的定植可能随着宿主年龄的改变而改变，本节还介绍了通常在健康新生儿和成人体内发现的正常菌群，在微生物生态系统中也可能存在差异。

皮肤

健康胎儿在子宫内是无菌的，这种状态一直保持到出生时胎膜破裂。出生时和出生后，婴儿的皮肤接触到母亲的生殖道菌群及母亲或其他摸过孩子的人的皮肤菌群，婴儿通过和环境的直接接触获得大量微生物。婴儿出生几天后，他的皮肤会自然而然地接触微生物，这些微生物能够在没有微生物竞争者存在的特定部位生长。随后，由于婴儿接触到大量的人类环境中的微生物，那些最适合在皮肤特定部位生存且占优势的微生物会成为部分固有的皮肤菌群。此后，婴儿的正常菌群与成人的就有些相似。

皮肤 pH 通常是 5.6，该 pH 可能抑制许多种微生物。尽管这样，皮肤也提供了良好的微环境。举例来说，菌群数量的差异把皮肤分成三个主要区域：①腋窝、会阴、脚趾间；②双手、脸部和躯干；③胳膊和腿（Noble, 1990）。这些数量的差异可能与皮肤表面温度和水分含量的不同有关，也有可能皮肤表面会使各种微生物抑制或致死油脂浓度的不同有关（McGinley 等, 1980）。

大多数皮肤菌群是正常菌群，尽管它们的数量可能会受微环境的影响而变化，包括各种属的细菌和马拉色菌属的亲脂性酵母。非亲脂性酵母（如假丝酵母属）也可在皮肤定植。其他种类细菌在皮肤上发现得比较少一些，其中包括溶血性链球菌（尤其是儿童）、非典型分枝杆菌、芽孢杆菌。

在皮肤定植的主要细菌是凝固酶阴性葡萄球菌、微球菌、腐物寄生的棒状杆菌类（类白喉）和丙酸菌属类。这些细菌中，由于短小棒状杆菌可和普通的粉刺联系起来，所以是研究最透彻的。它主要发现于新生儿皮肤上，但真正开始定植是在性成熟前的1~3年，数量从不到10 CFU/cm²上升到约10⁶ CFU/cm²，主要在脸部和上胸廓处（Mevissen-Verhage 等，1987）。各种凝固酶阴性葡萄球菌生长在完好的皮肤上，还包括一些表皮葡萄球菌、头葡萄球菌、沃氏葡萄球菌、人葡萄球菌、血葡萄球菌、里昂葡萄球菌和耳葡萄球菌（Kloos, 1986; Kloos, 1997; Kloos, 1998; Kloos 等, 1991）。在某个解剖部位，一些葡萄球菌会表现出偏爱某些小生态环境。例如，头葡萄球菌和耳葡萄球菌会各自表现出偏爱解剖学上的头部和外耳道，而人葡萄球菌和血葡萄球菌主要存在于有大量顶质分泌腺的区域，如腋窝和耻骨区（Kloos, 1986）。金黄色葡萄球菌有规律地分布在约30%健康个体的外鼻孔，健康个体的会阴部、腋窝和脚趾间分别约占15%、5%和2%（Noble, 1990）。它们都是对健康人而言的（Noble, 1990）。微球菌，特别是藤黄微球菌也发现于皮肤上，尤其可能大量存在于妇女和儿童上。大约25%的人在腋下、脚趾间、腹股沟和肘窝都会发现有不同的杆菌。其他革兰阴性杆菌在皮肤上是很难被发现的，这其中就包括变形杆菌、脚趾间的假单胞菌、肠道细菌和手上的克雷伯菌。在皮肤的外耳道、外阴部及腋窝区域有时可能还会发现腐生分枝杆菌，而溶血性链球菌往往倾向于定植在儿童的皮肤上，而不是成人（Noble, 1990）。

主要的真菌菌群是马拉色菌属酵母。皮肤寄生的真菌当皮肤没有疾病时可以恢复，但是目前还不清楚它们是代表正常菌群还是短暂的居住者。成年人可能百分之百携带马拉色菌，但由于某些亲水酵母在实验室里很难生长，所以其本身的携带率是不清楚的（Noble, 1990）。

皮肤菌群的成员在皮肤表面（图1-1和图1-2）及毛囊和皮脂腺的管道内均以小菌落形式生活（Noble, 1990）。Wolff和Plewig（1976）提出，马拉色菌属定居在管道的开口附近，金黄色葡萄球菌更远一些，以及丙酸杆菌居住在皮脂腺附近。然而，最近研究表明这三种微生物群体都均匀地分布在整个囊泡（Leeming 等, 1984）。在任何情况下，囊泡中的微生物随皮脂分泌到皮肤表面，但金黄色葡萄球菌，在皮肤表面至少也存在着小菌落。这些微菌落大小可能不同，脸上的菌落（每个微菌落10³~10⁴个细胞）比胳膊上的菌落（每个微菌落10~10²个细胞）大（Noble, 1990）。



图1-1 人体皮肤的球菌小菌落
(转载自 Noble, 1990, 经出版商许可)

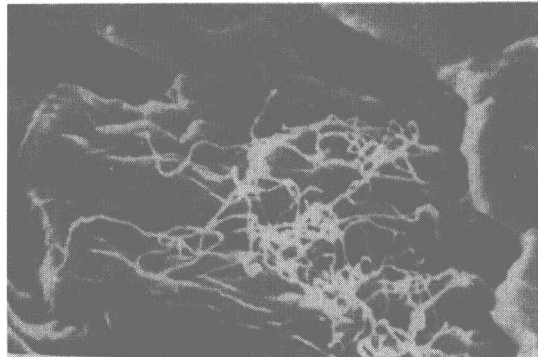


图1-2 人体皮肤上棒状杆菌的小菌落，注意丝状外观（转载自 Noble, 1990, 经出版商许可）

冲洗可减少皮肤 90% 的微生物，但减少的微生物又会在 8h 内重新生长起来 (Evans, 1976)。不冲洗不会导致皮肤细菌的数量增加。一般情况下，每平方厘米存在 $10^3 \sim 10^4$ 个微生物。不过，在湿润地区（如腹股沟和腋下），数目可能增加至 10^6 个/cm²，少量的细菌会从皮肤分散到环境中，但某些个人在 30min 的运动中可能会下脱掉 10^6 个微生物。皮肤上发现的很多不饱和脂肪酸可能是细菌的产物，可抑制其他种微生物定植。头发的菌群与皮肤菌群类似 (Gallis, 1988)。

眼

眼睛的正常菌群包含许多在皮肤上发现的细菌。然而，眼睑的机械运动和眼分泌物包括溶菌酶的洗涤作用限制了眼中正常微生物的数量。眼睛主要的正常菌群由凝固酶阴性葡萄球菌、类白喉和较不常见的腐生的奈瑟菌、绿色链球菌组成。

耳

外耳的微生物群与皮肤相似，主要包括凝固酶阴性葡萄球菌和棒状杆菌。不常见的有芽孢杆菌、微球菌、腐生奈瑟菌和分枝杆菌。正常真菌群包括曲霉、交链孢霉、青霉和假丝酵母。

呼吸道

鼻孔

在正常呼吸过程中，通过鼻孔会吸入许多种微生物并到达上呼吸道，这其中既有一些土壤中正常定居的微生物，还有致病的和潜在的致病菌、真菌和病毒。这些微生物中的部分被鼻毛过滤出去，而其他的则可能在鼻腔通道的潮湿表面，随后它们可能由于打喷嚏被吹出鼻子。一般来说，对于健康个体，这些空降的微生物是鼻子的短暂定居者，并不能成为正常定居共生群的一部分。

外鼻孔的外部 1cm 排列着扁平上皮，并存在着和皮肤相似的菌群，除金黄色葡萄球菌被一些个体当作主要的正常菌群。25%~30% 健康成人在任何特定时间，在其前鼻孔隐匿的这种微生物，15% 是长久的，15% 是短暂的 (Sherris, 1984)。

鼻咽

那些与婴儿密切接触的个体（如母亲及其他家庭成员等）呼吸道微生物，随着婴儿接触气溶胶，微生物在其出生后很快就定植在鼻咽部。婴儿正常菌群在几个月内就会建立起来，一般在整个生命过程中保持不变。鼻咽部菌群与嘴的相似，并且承载着潜在致病菌如脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌 (Sherris, 1984)。

喉部以下的呼吸道受到会厌运动和柱状上皮纤毛蠕动的保护，处于健康状态。因此，在气管和较大支气管中只有短暂吸入的微生物。副鼻窦通常是无菌的，像中耳一样，受到欧氏管上皮组织的保护。

消化道

口腔

当婴儿刚出生时，接触环境中微生物时口腔就有微生物定植，并且在出生后 6~10h 数量迅速增加 (Socransky 和 Manganiello, 1971)。在前几天，几个物种作为过渡零星地出

现, 它们中有许多不适合口腔环境。在此期间, 口腔黏膜定植了其第一批永久性居民; 这些主要来自母亲和其他接触婴儿的人的口腔 (Tannock 等, 1990)。儿童不断接触家庭成员, 直接和间接接触口腔微生物 (后者, 例如通过汤匙和奶瓶), 以及由空气传播的细菌。各种居住菌群在出生后的第一年内逐步适应生活生长条件。这种微生物的演变由与宿主相关的环境变化引起, 如长出牙齿或饮食的变化, 以及最初居住者减少了组织氧化还原电势或提供的增长因子而引起微生物的相互关系改变。

婴儿出生后一个月内, 口腔微生物主要栖息在舌头, 主要是链球菌, 与少量的其他菌属, 如奈瑟菌、韦荣球菌、乳酸菌和白色假丝酵母菌。唾液链球菌一般在婴儿出生后的第一天就可分离到, 并且细菌素的类型与母亲的一致 (Tagg 等, 1983)。血链球菌在长出牙齿后很快就会定植 (Carlsson 等, 1975), 而变异链球菌则要晚几年才开始在凹处和裂隙处定植, 并蔓延到长出牙齿的基部和其他表面 (Ikeda 和 Sandham, 1971)。变异链球菌和乳酸杆菌的定植与龋齿有关系 (Carlsson 等, 1975; Ikeda 等, 1973), 事实上, 它们的定植可以抑制或延迟婴儿母亲龋齿的预防措施 (Kohler 等, 1984)。

当牙齿长出牙菌斑时, 口腔菌群变得更复杂, 并以厌氧菌为主。4~7 岁儿童的研究结果显示, 牙龈斑块的微生物与成年人是类似的, 直接使用显微镜可观察到能动的杆菌和螺旋菌, 以及放线菌、拟杆菌、二氧化碳嗜纤维菌、艾肯菌等 (Delaney 等, 1986; Frisken 等, 1987; Moore 等, 1987; Wojcicki 等, 1987)。然而 7~19 岁年轻人的研究结果显示, 一些微生物的流行和菌群成分的比例, 随年龄和激素水平的不同而有差异。因此, 普里沃菌和螺旋菌在青春期会增加, 而内氏放线菌和二氧化碳嗜纤维菌往往随着儿童年龄的增加日益减少。

健康成人, 口腔微生物菌群由 200 多种革兰阳性和革兰阴性细菌, 以及几种不同的支原体、酵母菌和原生动物组成。根据生化和生理特性, 只有约 100 种口腔细菌有已知的属种名称 (Theilade, 1990)。随着牙齿的长出和牙龈形成, 厌氧菌出现并成为口腔主要菌群。细菌浓度在不同部位有很大变化, 唾液中约 10^8 CFU/mL, 牙齿周围的牙龈缝约 10^{12} CFU/mL, 厌氧菌与需氧菌的比例至少为 100 : 1。

微生物能够生长在口腔几个不同的部位。每个居住地有其独特的环境, 各自居住着由不同数目和品种的微生物组成的群落, 从而形成一个有特点的生态系统。每个物种作为微生物菌群的一部分, 执行某些功能。一些主要的生态系统在腭的黏膜表面、牙龈、嘴唇、脸颊、口底、乳头表面的舌头和牙齿表面, 及与它们相关的牙菌斑、牙龈袋等。为了继续留在口中, 微生物必须附着在口腔表面, 避免被吞咽时的唾液清除, 它们在不同条件下遍布各处生长。这些位置可以隐蔽很多且复杂的微生物群落。为得到详细和全面的信息, 读者可参考 Theilade (1990) 的综述。

一般而言, 链球菌组成口腔表面 30%~60% 的菌群。在牙齿和牙菌斑上主要是链球菌: 唾液链球菌、变异链球菌、血链球菌和缓症链球菌。已证明这些微生物特异性结合黏膜细胞或牙釉质。牙齿上形成的细菌斑块除了放线菌和韦荣球菌和类杆菌外, 可能多达每克 10^{11} 个链球菌。厌氧微生物如产黑色素普里沃菌、密螺旋体、梭形杆菌、梭菌、丙酸杆菌、消化链球菌存在于氧浓度小于 0.5% 的牙龈缝。这些微生物中许多是专性厌氧菌, 在较高氧浓度下无法生存。致病性衣氏放线菌的自然居住地是牙龈缝。其中真菌假丝酵母菌和地丝菌占已发现微生物的 10%~15% (Theilade, 1990)。

食道

人们很少注意食道正常菌群的特征。本质上，食道是食物从口腔到胃的传递路径，伴随着每天约 1.5L 的唾液吞下（Bartholomew 和 Hill, 1984; Parsons, 1971）。虽然许多唾液是随着食物吞下的，但有一个稳定的唾液分泌率，唾液作为流体吞下速度约 20mL/h（Bartholomew 和 Hill, 1984）。此外，鼻子分泌物中含有可能被吞下的微生物群，如金黄色葡萄球菌是由后鼻孔引入的耐盐微生物。因此，口腔和鼻腔的正常菌群将从食道恢复，但不确定这些微生物是代表暂时定植者还是一个既定的菌群。

胃

对于食道、口腔和鼻腔的正常微生物群吞咽到胃部，如同摄入食品和饮料中的微生物。然而，其中绝大多数接触胃酸（pH 1.8~2.5）后被摧毁（Drasar 等, 1969）。健康人胃中细菌浓度普遍偏低，低于 10^3 CFU/mL，主要由相对耐酸的物种组成，如胃缠绕杆菌、链球菌、金黄色葡萄球菌、乳杆菌、真菌，甚至是数目更少的消化链球菌、梭形杆菌和类杆菌（Donaldson, 1964; Gorbach, 1971; Gorbach 等, 1967b）。

由于食物的缓冲作用或内在致病过程或外科手术导致的胃酸过少（Drasar 等, 1969），及质子泵抑制剂类药物（如奥美拉唑）的使用，都可改变胃的 pH，此时胃中菌群变得更加复杂。新生儿胃分泌物中胃酸很少，直到出生后 15~20d 才能达到最佳胃酸分泌率（Gorbach, 1971）。因此，在新生儿出生后最初几天里，胃并不能构成微生物在肠道定植的屏障。

肠

婴儿出生后很快就有粪便菌群（Roberts, 1988）。早期菌群的组成取决于多种因素，包括分娩方式、新生儿胎龄和婴儿是母乳喂养还是乳粉喂养。

阴道分娩后，新生儿肠道是来自于母亲阴道的兼性微生物群定植的场所，主要是大肠杆菌和链球菌（Roberts, 1988）。剖腹产婴儿的肠道通常居住着肠杆菌科，而不是类似于产房环境中的大肠杆菌（Neut 等, 1987）。厌氧菌出现在出生后的一或两周内，乳粉喂养比母乳喂养获得的菌群更均匀和更迅速。完全乳粉喂养且阴道分娩的婴儿在出生后一周内有厌氧菌群，以脆弱拟杆菌为主，但同样的分娩方式，母乳喂养的婴儿在同一时期内只有 59% 的有厌氧菌，不及 10% 的脆弱拟杆菌（Keusch 和 Gorbach, 1995）。母乳喂养的婴儿有一个明显的优势，在其结肠中双歧杆菌的数目超过肠杆菌 100~1000 倍（Benno 等, 1984）。

肠道菌群的性质可能受乳汁或牛乳营养成分含量影响，比较两者组分发现，铁可加强营养。铁的存在似乎可促进一个由肠杆菌、梭菌和类杆菌组成的复杂菌群的活动。低铁乳汁或牛乳精选一个主要由双歧杆菌和乳酸杆菌组成的简单菌群（Hall 等, 1990; Smith 和 Crabb, 1961）。母乳喂养的婴儿，在出生后几周双歧杆菌的数量增加达到稳定，并成为粪便菌群的主要组成成分，直至断乳（Mata 和 Urrutia, 1971; Mitsuoka 和 Kaneuchi, 1977）。人们无法确定母乳增进粪便中革兰阳性杆菌这一特性，但毫无疑问它是有营养和免疫效果的。

断乳导致肠道菌群组成发生重大改变，伴随着大肠杆菌、链球菌、梭菌、类杆菌和消化链球菌的增加。断乳后，一个更稳定的成人菌群将建立，在这个菌群中类杆菌数量等于或超过双歧杆菌，并且大肠杆菌和梭菌数量减少（Mevissen-Verhage 等, 1987）。

成年人粪便菌群的组成变化似乎大于过去特定学科的研究（Donaldson, 1964; Gorbach, 1971; Gorbach 等, 1967b）。小肠中发现的细菌数目和类型取决于肠内容物的流速。停滞的发生可能是由于小肠包含广泛、复杂的微生物群。一般情况下，小肠内容物流速很