

微生物学反检验技术

上 册

四川省卫生干部进修学院

前　　言

近年来，医学微生物学在理论和实验技术方面都有较快的发展，新的成果不断出现。根据我们学院的性质和教学需要，我们编写了这本《医学微生物学及微生物检验技术》试用教材。全书分八篇共56章，分上、下册。上册包括细菌总论、免疫学基础理论及免疫实验技术和细菌各论共三篇；下册包括病毒及病毒检验技术、其他微生物、细菌检验基本技术、卫生细菌学检验、微生物食物中毒检验共五篇。在内容上，参考了有关资料，并结合我们教学实践。可作为临床检验专业和卫生防疫检验专业在职人员培训教材，亦可供临床医师和卫生防疫人员参考。

由于我们的水平有限和缺乏经验，书中错误，定所难免，请予指正。

本书在编、印过程中，教研室同志参加定稿讨论并为抄写和校对做了大量工作，书中制板图及封面设计承王遇康同志绘制，在此一并致谢。

微　生　物　学　教　研　室

《医学微生物学及微生物检验技术》编写组

1982年6月于成都

目 录

第一篇 细 菌 总 论

| | | |
|--------------------------|---------|----|
| 第一章 细菌的形态与结构..... | 廖洪泽 | 1 |
| 第一节 细菌的大小与形态..... | | 1 |
| 第二节 细菌的结构..... | | 2 |
| 第三节 细菌的形态和结构的检查..... | | 9 |
| 第二章 细菌的生理..... | 廖洪泽 | 12 |
| 第一节 细菌的化学组成..... | | 12 |
| 第二节 细菌的物理性状..... | | 14 |
| 第三节 细菌的生长繁殖..... | | 15 |
| 第四节 细菌的新陈代谢..... | | 20 |
| 第三章 微生物在自然界和正常人体的分布..... | 魏勋尧 | 28 |
| 第一节 微生物在自然界的分布..... | | 29 |
| 第二节 微生物在正常人体的分布..... | | 30 |
| 第四章 外界因素对微生物的影响..... | 魏勋尧 | 32 |
| 第一节 物理因素对微生物的影响..... | | 32 |
| 第二节 化学因素对微生物的影响..... | | 38 |
| 第三节 生物因素对微生物的影响..... | | 45 |
| 第四节 痘菌体..... | | 49 |
| 第五章 细菌的遗传与变异..... | 黃俊明 魏勋尧 | 51 |
| 第一节 细菌的变异现象..... | | 52 |
| 第二节 细菌变异的机理..... | | 53 |
| 第三节 人工变异方法..... | | 56 |
| 第四节 细菌变异的实际意义..... | | 58 |

第二篇 免疫学基础理论及免疫学技术

| | | |
|------------------|-----|----|
| 第六章 免疫系统..... | 黃俊明 | 59 |
| 第一节 免疫器官..... | | 59 |
| 第二节 免疫活性细胞..... | | 63 |
| 第三节 免疫系统的功能..... | | 68 |
| 第七章 抗原与抗体..... | 黃俊明 | 68 |

| | | |
|-----------------|--|---------|
| 第一节 | 抗原..... | 68 |
| 第二节 | 抗体..... | 75 |
| 第三节 | 抗原抗体反应..... | 84 |
| 第八章 | 非特异性免疫..... | 黃俊明 86 |
| 第一节 | 机体的自然屏障作用..... | 86 |
| 第二节 | 非特异性细胞防护作用..... | 88 |
| 第三节 | 炎症反应..... | 92 |
| 第四节 | 正常体液的非特异性防护作用..... | 93 |
| 第九章 | 特异性免疫..... | 黃俊明 98 |
| 第一节 | 体液免疫..... | 98 |
| 第二节 | 细胞免疫..... | 99 |
| 第三节 | 各类免疫反应之间的关系..... | 104 |
| 第十章 | 传染与抗传染免疫..... | 黃俊明 105 |
| 第一节 | 传染..... | 105 |
| 第二节 | 抗传染免疫..... | 108 |
| 第十一章 | 变态反应..... | 黃俊明 111 |
| 第一节 | 概述..... | 111 |
| 第二节 | 各型变态反应..... | 112 |
| 第三节 | 变态反应的防治原则..... | 123 |
| 第十二章 | 免疫学应用..... | 黃俊明 126 |
| 第一节 | 免疫学防治..... | 126 |
| 第二节 | 免疫学诊断..... | 129 |
| 一 体液免疫功能测定..... | | 129 |
| (一) | 凝集反应 (130) 肥达氏试验 (130) 、寒冷血凝素测定 (131) 、 嗜异性凝集反应 (132) 、间接凝集试验 (133) 、梅毒胶乳凝集试 验 (135) 、类风湿胶乳凝集试验 (135) 、间接凝集抑制试验 (136) 、 抗球蛋白试验 (136) 、交叉凝集及凝集素吸收试验 (139) 、葡萄 球菌 A 蛋白及其在免疫学中的应用 (139) | |
| (二) | 沉淀反应 (140) 、环状沉淀反应 (140) 、C 一反应性蛋白试验 (140) 、血清康氏反应 (140) | |
| (三) | 免疫扩散技术 (142) 、单向琼脂免疫扩散试验 (142) 、双向琼脂 免疫扩散试验 (144) | |
| (四) | 电泳技术 (145) 、免疫电泳 (146) 、单向免疫电泳 (148) 、双 向免疫电泳 (149) 、对流免疫电泳 (149) 、醋酸纤维膜免疫电泳 (150) | |
| (五) | 免疫复合物测定..... | 150 |
| (六) | 补体的测定 (151) 、总补体活性测定 (153) 、单一补体成分的测 | |

| | |
|---|-----|
| 定(154) | |
| (七)免疫粘附试验..... | 157 |
| (八)抗链球菌溶血素O试验..... | 160 |
| (九)补体结合试验..... | 160 |
| (十)毒素中和试验..... | 165 |
| (十一)免疫标记技术(166)、免疫荧光技术(166)、免疫酶技术(168)、饱和分析法(172)、免疫电镜技术(174) | |
| 二 细胞免疫功能测定..... | 175 |
| (一)皮肤试验..... | 175 |
| (二)吞噬功能试验..... | 175 |
| (三)玫瑰花环形成试验..... | 176 |
| (四)淋巴细胞转化试验..... | 183 |
| (五)白细胞移动抑制试验..... | 185 |
| (六)细胞毒性试验..... | 187 |
| (七)嗜硷性粒细胞及肥大细胞脱颗粒试验..... | 189 |
| 三 免疫球蛋白的分离、纯化技术..... | 190 |
| (一)盐析法..... | 190 |
| (二)凝胶过滤法..... | 192 |
| (三)离子交换层析法..... | 198 |
| (四)亲和层析法..... | 203 |

第三篇 细 菌 各 论

| | |
|---------------------|---------|
| 第十三章 球菌..... | 廖洪泽 207 |
| 第一节 葡萄球菌属..... | 207 |
| 第二节 链球菌属..... | 213 |
| 第三节 肺炎球菌..... | 224 |
| 第四节 奈瑟氏菌属..... | 229 |
| 第五节 卡它布兰汉氏菌..... | 235 |
| 第十四章 肠杆菌科..... | 魏勋尧 235 |
| 第一节 概述..... | 235 |
| 第二节 艾希氏菌属..... | 237 |
| 第三节 沙门氏菌属..... | 249 |
| 附：肠道杆菌非典型菌株的鉴定..... | 281 |
| 第四节 志贺氏菌属..... | 284 |
| 第五节 枸橼酸杆菌属..... | 297 |
| 第六节 爱德华氏菌属..... | 299 |

| | | |
|-------|-------------------|---------|
| 第七节 | 亚利桑那菌属 | 299 |
| 第八节 | 克雷伯氏菌属 | 299 |
| 第九节 | 肠杆菌属 | 301 |
| 第十节 | 哈夫尼亞菌属 | 302 |
| 第十一节 | 沙雷氏菌属 | 302 |
| 第十二节 | 变形杆菌属 | 302 |
| 第十三节 | 欧文氏菌属 | 305 |
| 第十四节 | 耶尔森氏菌属 | 305 |
| 第十五章 | 弧菌属 | 魏勋尧 316 |
| 第一节 | 霍乱弧菌 | 317 |
| 第二节 | 海水、水生物及食品等分离弧菌的方法 | 324 |
| 第三节 | 付溶血性弧菌 | 324 |
| 第十六章 | 嗜血杆菌属 | 魏勋尧 328 |
| 第一节 | 概述 | 328 |
| 第二节 | 流行性感冒嗜血杆菌 | 329 |
| 第十七章 | 包特氏杆菌属 | 魏勋尧 333 |
| 第一节 | 百日咳杆菌 | 333 |
| 第二节 | 付百日咳杆菌 | 335 |
| 第十八章 | 布鲁氏菌属 | 魏勋尧 336 |
| 第十九章 | 不动杆菌属 | 廖洪泽 344 |
| 第二十章 | 其他革兰氏阴性杆菌 | 廖洪泽 345 |
| 第一节 | 绿脓杆菌 | 345 |
| 第二节 | 粪产碱杆菌 | 347 |
| 第三节 | 莫拉氏菌属 | 348 |
| 第四节 | 军团病菌简介 | 348 |
| 第二十一章 | 无芽胞厌氧杆菌类 | 廖洪泽 350 |
| 第一节 | 革兰氏阴性无芽胞厌氧杆菌 | 350 |
| 第二节 | 革兰氏阳性无芽胞厌氧杆菌 | 352 |
| 第三节 | 胎儿弯曲杆菌 | 354 |
| 第二十二章 | 需氧芽胞杆菌属 | 魏勋尧 355 |
| 第一节 | 炭疽芽胞杆菌 | 356 |
| 第二节 | 蜡样芽胞杆菌 | 363 |
| 第三节 | 枯草芽孢杆菌 | 367 |
| 第二十三章 | 厌氧芽胞杆菌属 | 魏勋尧 368 |
| 第一节 | 概述 | 368 |
| 第二节 | 破伤风杆菌 | 369 |
| 第三节 | 气性坏疽菌群 | 372 |

| | |
|------------------|---------|
| 第四节 肉毒杆菌..... | 377 |
| 第二十四章 棒状杆菌属..... | 魏勋尧 381 |
| 第一节 概述..... | 381 |
| 第二节 白喉杆菌..... | 382 |
| 第三节 类白喉杆菌群..... | 389 |
| 第二十五章 分枝杆菌属..... | 廖洪泽 389 |
| 第一节 结核杆菌..... | 390 |
| 第二节 非典型分枝杆菌..... | 397 |
| 第三节 麻风杆菌..... | 398 |

第一篇 细菌总论

第一章 细菌的形态与结构

细菌 (Bacterium) 是自然界中分布最广，数量最大，与人类关系很密切的一类具有细胞壁的单细胞生物，属于原生生物中的原核细胞 (Prokaryotic cell)，是微生物学研究的主要对象。各种细菌在一定环境条件下，有相对恒定的形态与结构。掌握细菌的形态及形态学检查法对病原性细菌的检验工作很有帮助。除有助于诊断疾病外，并对了解细菌的抵抗力、致病性等方面，都有一定意义。

第一节 细菌的大小与形态

一、细菌的大小

细菌个体非常微小，必须用显微镜放大几百倍以上才能看到。其大小测量单位，通常以微米 (Micrometer, μm) 作为测量单位。 $1\mu\text{m}$ 等于千分之一 mm 。球菌以其直径表示大小，杆菌以长 \times 宽表示大小。球菌的平均直径在 $1.0\mu\text{m}$ 左右；杆菌大小差别较大，如炭疽杆菌长达 $4-8\mu\text{m}$ ，宽 $1-1.5\mu\text{m}$ ；而流行性感冒杆菌长仅 $1-1.5\mu\text{m}$ ，宽 $0.3-0.4\mu\text{m}$ 。不仅不同种类的细菌大小不同，即使同种细菌大小也可不同。

二、细菌的形态与排列

细菌的基本形态有三种；即球菌、杆菌、螺旋菌。

(一) 球菌 (Coccus) 球菌单独存在时为圆球形，按其分裂方式和分裂后的排列形式不同又可分为：

1、双球菌 (Diplococcus) 呈一个平面分裂，分裂后菌体成对排列，如脑膜炎双球菌等。

2、链球菌 (Streptococcus) 呈一个平面分裂，分裂后菌体成链状排列，如溶血性链球菌等。

3、四联球菌 (Micrococcus tetragenus) 在两个互相垂直的平面上分裂，分裂后每四个菌体呈田字形排列在一起。

4、八叠球菌 (Sarcina) 依次由三个互相垂直的平面分裂，分裂后八个菌体重迭在一起。

5、葡萄球菌 (Staphylococcus) 呈多个平面作不规则分裂，分裂后菌体无秩序的聚集在一起，似葡萄状，如金色葡萄球菌等。

(二) 杆菌 (Bacillus) 菌体呈杆状或近似杆状。大部分是直的，有的稍弯曲，菌体两端多为钝圆，也有少数呈方形。若菌体短，近似球菌，称球杆菌，如百日咳杆菌；纯大多数杆菌是分散独立存在，但也有成对排列者，称双杆菌，如肺炎杆菌；有的呈链

状排列，称链杆菌，如炭疽杆菌；有的杆菌末端膨大呈棒状，称棒状杆菌，如白喉杆菌；有些杆菌形成侧枝或分枝称分枝杆菌，如结核杆菌。

(三) 螺形菌 (Spirillar bacterium) 菌体弯曲，可分为两类：

1、弧菌 (Vibrio) 菌体只有一个弯曲，呈逗点状，如霍乱弧菌。

2、螺菌 (Spirillum) 菌体有数个弯曲，较为坚硬，具有致病性者如鼠咬热螺菌。

第二节 细菌的结构

一、细菌的基本结构

细菌的基本结构是指各种细菌都具有的细胞结构（图 1—1）。

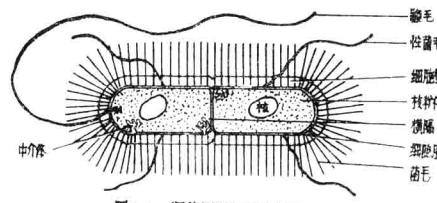


图 1—1 细菌细胞构造模式图

(一) 细胞壁 (Cellwall) 细胞壁是包在细菌细胞最外面的一层较为坚韧略具弹性的膜。由于析光性弱，需要用质壁分离，特殊染色法与电子显微镜等检查。细胞壁是一层较薄的膜状结构，其厚度因菌种而不同，革兰氏阴性细菌细胞壁厚约 10 纳米 (Nanometer, nm)。1 nm 为 $1/1000 \mu\text{m}$ ，革兰氏阳性细菌细胞壁厚约 20—80 nm。用机械方法使细菌破裂后，细胞内含物逸出，籍差异离心术，可以分离得到纯的细胞壁。这样得到的细胞壁仍保留其特有的形

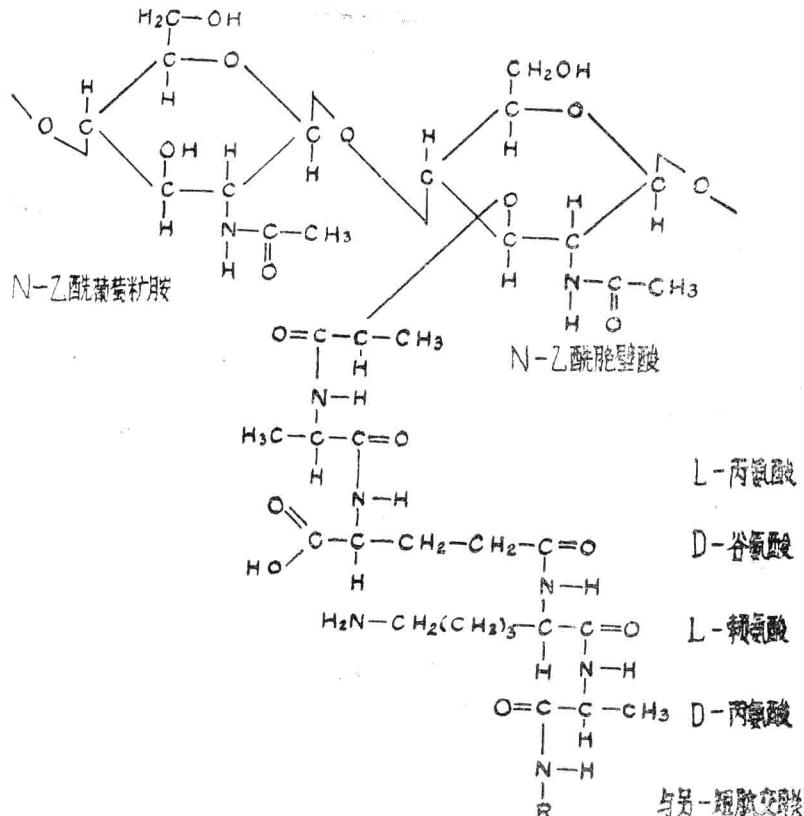


图 1—2 细菌细胞壁肽聚糖的基本结构

状。细菌细胞壁约占菌体干重的10—25%。其化学组成比较复杂，又因细菌的种类而有差异，主要成份为肽聚糖(Peptidoglycan)。肽聚糖是由N—乙酰葡萄糖胺(N—acetylglucosamine)与N—乙酰胞壁酸(N—acetylmuramic acid)以及短肽聚合而成的多层网状结构大分子化合物。

图1—2 细菌细胞壁肽聚糖的基本结构其中的短肽一般由四—五个氨基酸组成，如L—丙氨酸—D—谷氨酸—L—赖氨酸—D—丙氨酸。不同种类细菌细胞壁中肽聚糖的结构与组成不完全相同。由N—乙酰葡萄糖胺与N—乙酰胞壁酸重复交替联接构成骨架，短肽接在胞壁酸上，相邻的短肽又交叉相联形成机械强度相当大的三度空间网状结构。相邻的短肽联接方式随细菌种类而有差别。例如大肠杆菌是由相邻的短肽直接相联，在金黄色葡萄球菌中则是通过另一条短肽(由甘氨酸组成的五肽)使相邻的短肽相联(图1—3)。

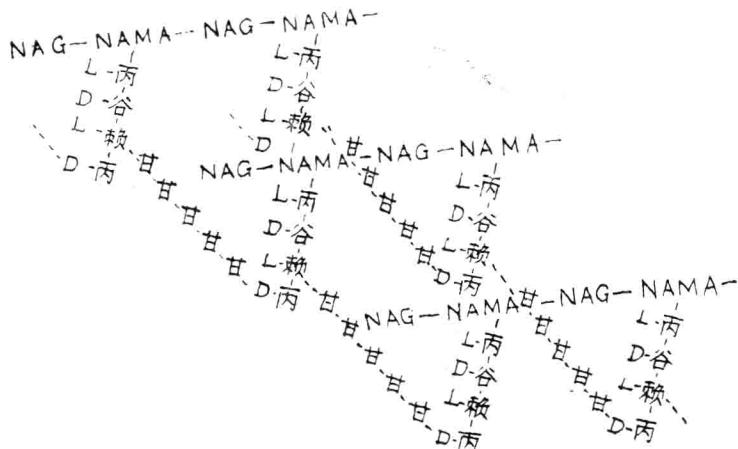


图1—3 金黄色葡萄球菌细胞壁肽聚糖结构

NAG: N—乙酰葡萄糖胺

NAGA: N—乙酰胞壁酸

从细胞壁化学组成与结构来看，革兰氏阴性细菌比革兰氏阳性细菌的要复杂些。细菌细胞超薄切片在电镜下观察，可见革兰氏阳性菌细胞壁的电子致密层是为肽聚糖层，而革兰氏阴性细菌，可见紧靠细胞膜外有一电子致密2—3nm厚的肽聚糖层，最外面还有一较厚(8—10nm)的外壁层(Outer Wall Layer)图1—4。外壁层表面不规则，呈波浪形。外壁层主要由脂蛋白，脂多糖组成，这些成分常与细菌的抗原性、毒性、对噬菌体的敏感性有关。革兰氏阴性细菌细胞壁中肽聚糖层比革兰氏阳性细菌相应部份薄得多，而且内贴细胞膜，不易与细胞膜分离。

革兰氏阴性细胞壁中不含磷壁酸(teichoic acid)亦称恒酸。且肽聚糖含量低约含10%，但脂类含量比革兰氏阳性细菌的高11—22%。

革兰氏阳性细菌含大量的磷壁酸，约等于细胞壁干重的50%，肽聚糖40—90%，脂类含量约1—4%。



图1—4 草兰氏阳性细菌（A）及草兰氏阴性细菌（B）电镜照像及细胞壁比较

表1—1 草兰氏阳性细菌与草兰氏阴性细菌的比较

| 特征 | 草兰氏阳性细菌 | 草兰氏阴性细菌 |
|-----------|---------|-----------|
| 细胞壁中的磷壁酸 | 高(约50%) | 无 |
| 细胞壁中脂的含量 | 低(1—4%) | 高(11—22%) |
| 细胞壁中肽聚糖含量 | 高 | 低 |
| 对青霉素的敏感性 | 高 | 低 |
| 碱性染料的抑制 | 高 | 低 |

细胞壁的主要功能是维持细菌的外形。由于细胞壁的保护作用，使细胞膜不易受渗透压的破坏，因菌体内渗透压很高（5—25个大气压）能在比菌体内渗透压低的一般培养基中生长，细胞壁上有很多微小的小孔，具有相对的通透性，直径1nm大小的可溶性分子可自由通过。因而细胞壁与细胞膜共同完成细胞内外物质的交换。在细菌分裂时，菌细胞的中央部位的细胞壁不断向内凹陷，形成横隔（Cross wall）。横隔形成后，细菌分裂为两个子细胞。

(二) 细胞膜 (Cell membrane) 或称细胞质膜 (Cytoplasmic membrane)，紧靠在细胞壁内侧，围绕在细胞浆外面，是柔软而富有弹性的薄膜。可与细胞浆分开，厚约5—10nm。

研究细胞膜的性质多用革兰氏阳性细菌，因为革兰氏阳性菌的细胞壁较易用酶处理而移去，剩下的原生质体籍渗透裂解很容易得到纯的细胞膜。细菌细胞膜约占细胞干重的10%，含60—70%的蛋白质，20—30%的脂类，少量的多糖（2%）。细胞膜中的蛋白质与膜的透性及酶活性有关。所含脂类均为磷脂。磷脂由磷酸、甘油、脂肪酸和含氮

碱组成。磷脂既具有疏水性的非极性基团，又具有带正负电荷的亲水的极性基团。膜的单位结构是由双层脂类分子为基础，每一脂类分子都是具有极性部分和非极性部分的两性分子，其极性部分指向双层的外表面，非极性部分向着里面。在双层脂类分子中嵌着许多球形蛋白质。膜上有许多小的微孔。蛋白质嵌入的形式是多种多样的。有的嵌得很浅，结合于细胞膜的内外表面，叫表在蛋白质；有的嵌得很深，甚至穿透整个膜，叫固有蛋白。固有蛋白在膜内能移动，组成一定的分子构型。膜上蛋白分子的种类是极多的，由它们组成了许多种酶并有规律的依次排列在膜上，并处于一种不断运动的状态。这些酶与膜的高度选择性渗透作用，控制营养物质及代谢产物进出细胞，使细菌得以在各种化学环境中吸取它们所需要的营养物质，而排出过多的或废弃物质，以及与细胞壁的合成，细菌的呼吸和菌体蛋白合成，核质的分裂等许多重要生理功能有着密切关系。

细胞膜有许多内褶深入或包埋于细胞浆中，呈管状、层状和囊状物叫做中介体（Mesosome）。中介体本身是细菌细胞的很好的支架，同时也增加了膜活性的反应面。细胞膜对染料的亲和力比细胞壁及细胞浆都强。细胞膜成份中的核糖核酸镁盐与革兰氏染色有关。

（三）细胞浆（Cytoplasm）是细菌的基础物质，为无色透明粘稠的胶状物，外有细胞膜环绕。细胞浆的化学组成随菌种、菌龄、培养基的成分而不同。基本成分是水、蛋白质、核酸和脂类，也含有少量的糖和盐类。核酸主要是核糖核酸，含量较高，可达菌体固体成分的15—20%。生长旺盛的幼龄菌含量更高，因而菌体有较强的嗜碱性，易被碱性染料着色。革兰氏阳性菌的细胞浆比革兰氏阴性菌细胞浆的嗜碱性更强。衰老菌体内的核糖核酸被作为氮源与磷源被利用，含量就减少，细菌的着色力也减弱。细胞浆中存在着各种内含物和空泡。

（1）核糖体（Ribosome）电镜下所见细菌的核糖体游离于胞浆中，沉降系数为70S的亚微颗粒，是细胞合成蛋白质的部位。核糖体由RNA与蛋白质组成，其中RNA占60%，蛋白质占40%。在电镜下可见细菌细胞中的核糖体直径约20nm，由大小不同的两部分（50S与30S）构成。在生长旺盛的细胞中，核糖体串联在一起，称为多聚核糖体（Polysome）。

（2）质粒（Plasmid）是一种微小的染色体外的遗传物质，在细胞浆中能自行复制。是一个环状的双股DNA小块，具有染色体的很多特性，并含有类似的控制复制的遗传信息，以保证在细胞分裂时将遗传信息转移到每一个子代细胞。质粒比染色体小，仅有50—100个基因。目前所知质粒与细菌的遗传变异有关。

（3）颗粒状内含物 许多细菌的细胞浆中含有各种颗粒，大多系细胞贮藏物。颗粒的多少随菌龄及培养条件不同有很大变化。

①异染颗粒（Metachromatic granules） 存在于许多细菌、真菌和原虫中。其主要成份是核糖核酸，析光性比细胞浆强，在暗视野显微镜下即可看到。这类颗粒的嗜碱性和嗜中性较强，用碱性染料（如甲苯胺蓝，甲烯蓝）可染成紫色，因与细胞其它部分的染色不同，故称为异染颗粒。用异染颗粒染色法可看得更清晰。异染颗粒含有大量多磷酸盐，为核酸合成过程中磷和能量的来源。因此异染颗粒是一种富有能量的复合

物，在新陈代谢过程中，可以作为能量及磷的贮存物。根据异染颗粒的形状及位置，可以鉴别细菌，如白喉杆菌。

②聚β—羟丁酸 (Poly—β—hydroxybutyric acid) 颗粒 易被脂溶性染料，如苏丹黑 (Sudan black) 着色，可在显微镜下查见。是碳源与能源性贮藏物。如芽胞杆菌只含聚β—羟丁酸。

③肝糖 (glycogen) 粒与淀粉粒 肝糖粒较小，只能在电镜下观察到。用稀碘液染成红褐色，可在光学显微镜下看见。有的细菌积累淀粉粒，用碘液可染成深兰色。如大肠杆菌、产气杆菌只贮存有肝糖。肝糖粒与淀粉粒可作为细菌能量的来源。

(四) 细胞核 (Cell nucleus) 细菌有无核的问题已争论很久。近年来由于用电子显微镜超薄切片、同位素放射自显影术和重金属投影等新技术的应用，已在许多细菌中(如大肠杆菌、枯草杆菌、结核杆菌、葡萄球菌等)发现确实有核的存在。细菌细胞的核在结构与形态上都比高等生物的核简单得多。细菌的核比较原始，称为原始形态的核 (Primitive form of nucleus)，或称拟核(nucleoid)，它实际上是DNA性质的，与高等生物细胞核功能相似的核物质。它们具有细胞核的功能，是细胞新陈代谢、生长繁殖必需的物质，在遗传性状的传递中起重要作用。用1N HCl或核糖核酸酶选择性地水解细菌细胞中所含的大量RNA，再用对DNA有特异性的富尔根 (Fulgen) 染色法，可使细菌细胞中的核物质显示出来，在光学显微镜下可见。细菌的核一般呈球状，棒状或哑铃状。用高分辨力电镜可观察到细菌的核为丝状结构，这是DNA分子折叠缠绕的表现。细菌的核实际上是一巨大的、连续的、环状双链DNA分子，其长度可达1mm，比细菌本身长1000倍。

二、细菌的特殊结构

某些菌除具有上述基本结构外，还具有一种或两种以上的特殊结构，如鞭毛、菌毛、荚膜、芽孢等。这些结构叫细菌的特殊结构。各种特殊结构都有它的生理功能，同时也可用来帮助鉴别细菌。

(一) 荚膜 (Capsule) 有些细菌在其细胞壁表面复盖有一层松散的粘液性物质。如这些粘液性物质具有一定外形，相对稳定地附于细胞壁外叫做荚膜；没有明显的边缘，而可扩散到周围环境中的，称粘液层。有的细菌荚膜很薄 (200nm 或更薄) 称为微荚膜 (Microcapsule)。

荚膜含大量水分，占90%以上。细菌荚膜的化学成份因菌种与菌型的不同而异。炭疽杆菌的荚膜为D—谷氨酸组成的多肽；肺炎双球菌的荚膜由多糖组成，不同型别的肺炎双球菌其荚膜多糖成分和结构也不同，且具有型特异性。利用荚膜多糖抗原特性的不同，可将肺炎双球菌分成80多型，其中第Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型对人毒性较强，因此这三型在临幊上最重要。荚膜分型工作在流行病学方面有一定意义。

观察荚膜的有无是鉴别细菌的方法之一。荚膜不易着色，但很容易用负染色法使暗色背景与折光性很强(或染上色)的菌体之间形成一透明区而查见。如用荚膜特殊染色法时，荚膜可被染上与菌体不同的颜色。

荚膜一般围绕在每个细菌细胞外层，但亦有些细菌的荚膜连在一起，其中包含着许

多细菌，称为菌胶团。

荚膜的形成与细菌所处的环境有关，一般在机体内和营养丰富的培养基中容易形成，在人工培养基中则多消失。

细菌的荚膜与细菌的毒力有关。因荚膜能保护菌体对抗吞噬细胞的吞噬和消化。并且荚膜能保护细胞壁免受各种杀菌物质的损伤，如补体、溶菌酶等。肺炎双球菌的荚膜多糖，尚可抑制体液中溶菌酶的作用，从而增加细菌对机体的侵袭力，并可在机体内大量生长繁殖以引起病理损害。炭疽杆菌荚膜主要成份是多聚D—谷氨酸，不但有抗中性粒细胞的吞噬，还能对抗机体组织中硷性多肽的杀菌作用。某些致病菌，当其荚膜失去后，其致病性亦消失。

(二) 鞭毛 (Flagella) 有些细菌的菌体上附有细长、呈波浪形弯曲的丝状物，称为鞭毛，是细菌的运动“器官”。鞭毛的长度常超过细菌菌体若干倍，但直径很细，约10—20nm，因此只有用电镜才能真正观察到细菌的鞭毛。采用鞭毛染色法，使染料沉积在鞭毛上，加大其直径，可在光学显微镜下看到。此外用悬滴法及暗视野映光法观察细菌的运动，或用半固体穿刺培养以观察其扩散生长情况，均可初步判断细菌是否具有鞭毛。

绝大多数球菌不生鞭毛，杆菌中有的生鞭毛，有的不生鞭毛，弧菌与螺菌都生鞭毛。鞭毛着生的位置、数目与排列是细菌种的特征，有鉴别意义。可将有鞭毛的细菌分成三群：

(1) 单毛菌 (Monotrichate) 只有一根鞭毛，位于菌体的顶端，如霍乱弧菌。

(2) 丛毛菌 (Lophotrichate) 有一束鞭毛，位于菌体的顶端，如产硷杆菌。也有两端各有一束鞭毛的，如绿脓杆菌。

(3) 周毛菌 (Peritrichate) 菌体的周围有数量不等的鞭毛，如伤寒杆菌等。

鞭毛的化学组成主要为蛋白质，只含有少量的糖类和脂类。将鞭毛用适当物理化学方法处理时，降解成蛋白质亚单位，即鞭毛蛋白 (Flagellins)，其分子量为15,000—40,000，X—射线衍射研究指出鞭毛蛋白具中空螺旋结构，直径12—20nm，长2—3μm，有的可达50μm。

鞭毛起源于细胞膜内侧的基粒 (basal body)。细菌细胞壁经消化而移去后剩下的原生质体还可保留有鞭毛。经电镜研究大肠杆菌、枯草杆菌等分离提纯的鞭毛细微结构，知鞭毛丝状体系通过一短的钩形鞘伸出。在大肠菌中，该鞘的末端还有4个很薄的片状同心环体与细胞壁、细胞膜相连见图1—5。



图1—5 大肠杆菌鞭毛基部结构(A)及(B)示意图

具有鞭毛的细菌，一般能运动，借此可鉴别某些细菌。如伤寒杆菌与痢疾杆菌在形态上无法区别，但伤寒杆菌具有鞭毛可以运动，痢疾杆菌不具鞭毛，无动力。检查细菌有无鞭毛及鞭毛的数量与位置，是鉴定细菌的常用方法之一。鞭毛成分的分析研究对细菌尤其是在沙门氏菌属的鉴定上有着重要意义。

(三) 菌毛 (Fimbria pilus) 或称缴毛 (Pili) 很多革兰氏阴性菌及少数革兰氏阳性菌，在电镜下可以见到一些比鞭毛更细、较短、直硬、数量也较多的细丝，称为菌毛。菌毛也是由蛋白质组成，而且起源于细胞膜内侧基粒上。菌毛不是细菌的运动器官，也见于非运动的细菌中(痢疾杆菌等)。

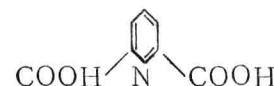
不同类型菌毛有不同功能。有的作为细菌接合时遗传物质的通道，称为性菌毛 (Sex fimbria)。一个细菌仅生有1—4条性菌毛，生有性菌毛的细菌称雄性菌(F⁺)。无性菌毛的细菌称为雌性菌(F⁻)。雄性菌可借性菌毛将细胞浆中游离的遗传物质传递到雌性菌体中去，使后者获得前者的某些性状。有的是细菌病毒吸附的位点，有的菌毛有附着到哺乳动物细胞或其他物体的能力，菌毛的附着性可能对细菌在自然环境中生活有某种意义。有人认为菌毛可能与致病性有关。例如痢疾杆菌在体外多次传代后容易失去致病力，同时也失去菌毛。

(四) 芽胞 (Spore) 某些细菌在一定的环境条件下，当个体发育到一定的阶段。由于细胞浆脱水浓缩，在菌体内形成一个折光性强的圆形或椭圆形的小体，称为芽胞。当芽胞在菌体内成熟后，菌体其余部分逐渐衰亡，芽胞成为独立的生命个体。一个细菌只能形成一个芽胞，一个芽胞发芽后也只能生成一个菌体，所以芽胞和繁殖没有关系。一般认为芽胞是细菌的休眠状态，其代谢处于相对静止状态。为区别起见，具有繁殖力的细菌体可称为繁殖体。能否形成芽胞，是细菌种的特征。在杆菌中只有两属细菌是产生芽胞的，一为需氧芽胞杆菌属(Bacillus)，一为厌氧性梭状芽胞杆菌 (Clostridium)。球菌中除了生孢人叠球菌属 (Sporosarcina) 外，均不产生芽胞。

芽胞的形成需要一定条件，并随菌种不同而异。例如炭疽杆菌需要在有氧条件下才形成，并且与温度有关，在30—32°C时易于产生芽胞，若长期培养在42°C环境下，则可失去产生芽胞的能力。而破伤风杆菌，要在完全厌氧的环境中方能产生芽胞。此外芽胞的生成与PH、碳源、氮源、以及某些离子如钾、镁的存在均有关。

芽胞最明显的化学特性是含水量低，另一独特之处是含有2,6—吡啶二羧酸(Dipicolinic acid, DPA)。吡啶二羧酸在芽胞中以钙盐形式存在，占细菌芽胞干重的5—15%。在菌体中未发现有吡啶二羧酸的存在。芽胞形成过程中，吡啶二羧酸很快合成，而且在吡啶二羧酸形成后，芽胞就具抗热性。芽胞萌芽时吡啶二羧酸又释放至培养基中，同时也丧失其耐热性。吡啶二羧酸显然与芽胞的抗热性有关。此外，芽胞的抗热性也由于芽胞内具有抗热性的酶，以及具有厚而致密的壁，因此芽胞对外界环境有很强的抵抗力。

根据芽胞的形状，大小和在菌体中的位置不同，可帮助鉴别细菌，如炭疽杆菌的芽胞呈卵圆形，比菌体横径小，位于菌体中央；破伤风杆菌的芽胞呈正圆形，比菌体横径



大，位于菌体顶端，形似鼓槌；产气荚膜杆菌的芽胞呈卵圆形，与菌体横径相同，位于中央或次端。由于芽胞的结构和化学组成的关系不易着色，用普通染色法原菌体残余部份着色。芽胞不着色而呈一空白区。为了使其着色，必须采取细菌芽胞染色法。

三、细菌的非典型形态与结构

细菌的形态与结构在适宜生长的环境条件下是相当恒定的。当外界环境改变时，由于细菌具有高度适应性，它的形态与结构可随之发生一定程度的改变。这些变化常是暂时的，随着外界影响因素的消除，细菌又可恢复其正常形态与结构。在细菌检验工作中一方面要防止细菌非典型形态产生，以避免判断上的错误。另方面也可利用人为的条件使细菌产生非典型形态以帮助鉴别某些细菌，如将鼠疫杆菌接种在含3—5%氯化钠培养基中，经24小时培养后，可观察到该菌出现多形性形态，对鉴定该菌很有帮助。

引起细菌形态和结构发生改变的因素很多。如营养成份、培养温度、酸碱度、溶菌酶，抑制性物质如染料、金属盐类、抗生素、抗菌血清等。

溶菌酶或青霉素都可破坏或抑制细菌细胞壁的合成，成为细胞壁缺陷细菌（Cell wall defective bacterium），L型细菌（Lister医学研究院的第一个字母定名）。现已发现球菌、杆菌和弧菌等都出现有L型细菌，这类细菌缺乏细胞壁，故呈多形态性。有的能通过滤菌器。L型细菌在低渗状态仍能繁殖，产生典型“油煎蛋”状菌落，有的为能回复至亲代的“不稳定”变异株，有的为不能回复的“稳定”变异株。这类细菌在一定条件下，无论在体外或体内仍可生长、繁殖，并产生毒素，引起疾病，例如肾盂肾炎、骨髓炎、心内膜炎等。有时即使在治疗中，仍可导致复发。这些病例，常规细菌学检查多呈阴性结果，如临幊上有明显症状者，仍应考虑有这类细菌感染的可能。

第三节 细菌的形态和构造的检查

细菌的形态与结构的检查包括菌体形态、大小、排列、特殊结构及染色反应等。在细菌检验工作中，有少数组菌根据其形态结构及染色反应等特征即可鉴定其种属。但对大部份细菌来说，由于形态及染色反应等方面缺乏明显特点，则不能单凭形态检验确定其种属。但在使用培养法，生化反应试验或动物试验法等进行鉴定时，也必须同时辅以形态学检查，以互相印证才能确定结果。

细菌形态检查法可分为不染色标本检查法及染色标本检查法。

一、不染色标本检查

不染色标本检查法适用于观察细菌的动力、形态、大小和繁殖方式等。常用的方法有压滴法、悬滴法、暗视野映光法等。

二、染色标本检查

在细菌的形态结构检查中广泛应用染色标本检查法。通过染色除可清楚观察细菌的

形态、构造外，尚可鉴别细菌的种类。

(一) 常用染料 用于细菌染色的染料，大部份是人工合成的含苯环或苯的衍生物。这些化合物分子中都含有双键，含有双键的部分或基团在化学性质上是不稳定的，所以容易吸收光线而呈现颜色。这些能使苯的衍生物呈色的化学基团叫色基(或发色团)如偶氮基($-N=N-$)，亚硝基($-N=O$)，亚氨基($=C=N-H$)，硫基($=C=S$)，对位醌($=\text{C}_6\text{H}_4\text{C}=\text{O}$)等。色基越多，呈色越深。带有色基的苯衍生物叫做色原(Chromogen)。色原虽有色，但不一定是染料。染料除含有色基之外，还需要有一个能电离的基团，使它有和被染物质生成盐类的特征，这种基团称为助色基(或助色团)，如甲基($-CH_3$)，胺基($-NH_2$)等。有些染料，如美兰，硷性复红等能与氯结合，从而破坏其双链结构，使色原物质变为无色的化合物。这类染料常用于氧化还原指示剂，如细菌学上常作的美兰还原试验等。为了保持染色剂的稳定性，常在染剂中加入某些具有该种特性的物质，如硷性美兰染液中的KOH，结晶紫染液中的草酸铵等。

大部分染料是带色的有机酸或硷类，难溶于水，易溶于有机溶剂中。为使它们容易溶解于水，通常制成盐类。酸性染料通常制成钠、钾或铵盐，硷性染料则制成氯化物或硫酸盐类。染料一般可分为四类：

1、硷性染料 染料离子带正电，易与带负电的物质结合而使其着色。由于细菌的等电点较低，约在PH2—5之间，故在中性、硷性或弱酸性溶液中，细菌都带负电。带负电的细菌和带正电的硷性染料易于结合，所以在细菌学上多用硷性染料，如结晶紫、美兰、硷性复红等。

2、酸性染料 染料离子带负电，易与带正电的物质结合如酸性复红、伊红，刚果红等。细胞浆通常可与酸性染料结合。如降低菌液的酸硷度使细菌带正电时则可被染色。

3、复合染料 系硷性与酸性染料的结合物，如瑞氏染料、姬姆萨染料等。

4、单纯染料 此类染料不能和被染物形成盐类，不溶于水，而溶于脂肪溶剂中，如苏丹类染料，常用于脂肪组织的染色。

(二) 常用染色法 细菌常用染色法有单染色法、复染色法、特殊染色法、负染色法、以及荧光染色法等。

单染色法 只用一种染料染色，如美兰或复红。一般只能观察细菌的形态与排列，不能显示细菌的结构与染色特性。对细菌鉴别价值不大。

复染色法 是用二种以上染料染色，此法除可显示细菌形态大小外，还有鉴别细菌种类的价值，因此也称鉴别染色法。常用的有：革兰氏(Gram)染色法及抗酸染色法。

1、革兰氏染色法 是最常用的鉴别染色法之一。此法的染色步骤是先用结晶紫或龙胆紫染色，再加碘液媒染，然后用酒精脱色，最后以沙黄或稀释复红复染。此法可将所有细菌分为两大类：凡能固定结晶紫与碘的复合物，而不被酒精脱色，仍保留紫色的