

復旦
學



JICHU YIXUE XILIE

基础医学系列

精编现代医学微生物学

● 主编 闻玉梅

复旦博学·基础医学系列

复旦博学·基础医学系列

复旦博学·基础医学系列

復旦大學 出版社



基础医学系列

精编 现代医学微生物学

主 编 闻玉梅

副主编 陆德源 何丽芳

编写者 (以姓氏笔画为序)

王龙妹	叶元康	包幼迪	包其郁	朱既明
阮 力	李子华	吴绍熙	何丽芳	汪 复
陆德源	罗海波	俞树荣	闻玉梅	洪 涛
贾盘兴	郭宁如	郭杰炎	高树德	黄谷良
焦炳华	童善庆	雷祚荣	熊菊贞	

学术秘书 瞿 涤

復旦大學 出版社

图书在版编目(CIP)数据

精编现代医学微生物学/闻玉梅主编. —上海:复旦大学出版社, 2002. 7
ISBN 7-309-03151-2

I. 精… II. 闻… III. 医药学:微生物学 IV. R37

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 014127 号

出版发行 复旦大学出版社

上海市国权路 579 号 200433

86-21-65118853(发行部) 86-21-65642892(编辑部)

fupnet@fudanpress.com <http://www.fudanpress.com>

经销 新华书店上海发行所

印刷 江苏句容市排印厂

开本 787×1092 1/16

印张 22.75

字数 567 千

版次 2002 年 7 月第一版 2002 年 7 月第一次印刷

印数 1—3 000

定价 39.00 元

如有印装质量问题, 请向复旦大学出版社发行部调换。

版权所有 侵权必究

前 言

“人,生活在生物圈之中,相生相克,和人类关系最密切的莫若于微生物。每个人,不论何时何地、一年四季、日日夜夜、体内体外,总与多种微生物共生活。因此,从医学角度研究微生物是科学中一个重要的、永恒的主题”。

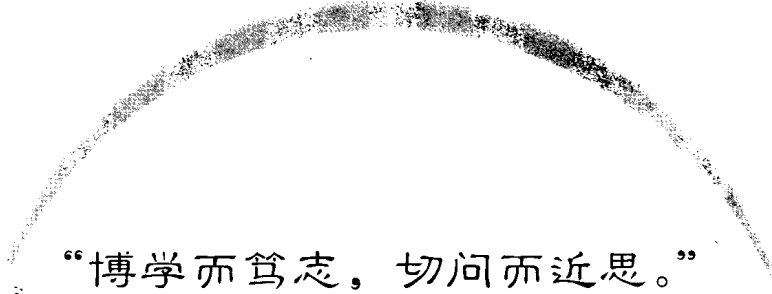
——中国工程院院士李载平

21 世纪的医学微生物学在生命科学及医学的发展中将继续占有十分重要的地位。从过去看未来,微生物作为最原始的生命体,在上一世纪中,为揭示遗传的物质基础与结构、阐明生命活动的基本规律、实现对感染及传染性疾病的防治以及开发高科技生物技术产品等方面,作出了显赫的贡献。当今,微生物结构与功能基因组的研究与开发已显示了开路先锋的势头。作为模式生物之一,微生物基因组学已成为人类基因组学的奠基石。新现与再现的多种病原微生物正在继续危害人类,亟需开拓新的防治领域及策略。医学微生物作为新药开发的创新源头具有巨大的潜在优势。因此学习医学微生物学不仅是本专业研究生及工作人员所必需,也是生命科学及医学、药学、卫生学专业研究生和工作人员所必需。

为研究生及工作人员学习与掌握医学微生物学的总体规律及概括内容,现选择了《现代医学微生物学》(1999 年版)中的总论部分章节内容加以调整汇编与组合,出版本教材。如读者需要对个别微生物作深入了解,请参阅原书。

闻玉梅

2002 年 3 月



“博学而笃志，切问而近思。”

(《论语》)

博晓古今，可立一家之说；
学贯中西，或成经国之才。

复旦博学 · 复旦博学 · 复旦博学 · 复旦博学 · 复旦博学 · 复旦博学 · 复旦博学

主编简介

闻玉梅，1934年生。1956年毕业于上海第一医学院。1980～1982年在英国伦敦大学卫生与热带病研究所及美国国立卫生研究院传染病与变态反应病研究所进修。现任教育部/卫生部医学分子病毒学重点实验室学术委员会主任、教授、博士生导师，中国微生物学会理事长，中华微生物学和免疫学会副主任委员，《国外医学·微生物学分册》主编。在国内外发表论文180余篇，主编《现代医学微生物学》、《医学分子病毒学》，参编《传染与免疫》等专著。曾获国家科技进步奖，国家自然科学基金及卫生部、国家教委（现名教育部）等奖励。

内 容 提 要

医学微生物学作为一门既古老又具有时代特征的学科，正日益受到医学界及生命科学界的重视。近年来，已有60余种微生物完成了基因组测序，其中包括我国科学家协作完成的医学微生物：痢疾杆菌、钩端螺旋体及表皮葡萄球菌。对病原菌及病毒的功能基因组学与蛋白质组学研究正处于启动阶段。新的病原体如尼帕病毒（Nipah virus）等，以及重新肆虐、造成严重危害的多重耐药结核分枝杆菌等，均已成为各国政府及研究机构的关注重点。为抗御不断新出现及重现的传染与感染性疾病，新型疫苗、新型抗微生物药物已成为创新性研究与开发的“前沿阵地”。“9.11”事件后，反生物恐怖已成为“无明确战线”的群众参与的项目。因此，全面、及时地学习并运用医学微生物学基础理论和基础知识是广大医学生、研究生、临床医师及防疫和检验人员的迫切需要。本书选择了《现代医学微生物学》中的细菌、病毒、支原体、衣原体、立克次体、螺旋体、真菌的总论部分等，进行了重新编排；并对章节次序作了调整，以便于学习。读者需要对某一种微生物作更深入的了解，可自原专著中查阅有关内容。

目 录

绪论	1	第六章 衣原体	109
第一章 细菌的结构及其功能	9	第一节 衣原体的种类和生物学特性	109
第一节 细菌的表面结构	10	第二节 衣原体的致病性	124
第二节 细菌的内部结构	19	第三节 衣原体的免疫性	126
第三节 展望	23	第四节 衣原体的微生物学检查	128
第二章 细菌的代谢	25	第五节 抗衣原体治疗	132
第一节 代谢与能量	25	第六节 展望	132
第二节 化能异养菌的糖类降解与产能	28	第七章 支原体	135
第三节 合成代谢	36	第一节 支原体的生物学特征	136
第四节 代谢调节	38	第二节 支原体的致病性	138
第五节 实际应用	42	第三节 支原体的免疫性	138
第六节 展望	43	第四节 呼吸道致病的支原体	139
第三章 细菌的遗传	44	第五节 泌尿生殖道致病的支原体	140
第一节 细菌的染色体	44	第六节 其他与人类疾病有关的支原体	142
第二节 基因转移与重组	55	第七节 细胞培养中支原体的污染及 防治	143
第三节 展望	59	第八节 实验室检查	145
第四章 噬菌体	61	第九节 展望	148
第一节 噬菌体的感染与增殖	62	第八章 立克次体	150
第二节 单链 RNA 噬菌体	64	第一节 立克次体的分类学地位	151
第三节 单链 20 面体噬菌体	66	第二节 立克次体的生物学特征	155
第四节 单链丝状 DNA 噬菌体	67	第三节 立克次体的分子遗传学	161
第五节 双链 DNA 噬菌体	68	第四节 展望	166
第六节 细菌溶源性和温和性噬菌体	70	第九章 螺旋体	169
第七节 转导和转换	74	第一节 螺旋体的分类	170
第八节 Mu 噬菌体	75	第二节 螺旋体的抗原成分	171
第九节 展望	78	第三节 螺旋体的分布	172
第五章 细菌毒素	80	第四节 螺旋体的致病作用与致病机制	174
第一节 细菌内毒素	80	第五节 螺旋体的免疫性	176
第二节 细菌外毒素	92	第六节 螺旋体的微生物学检查	178

第七节 螺旋体 L 型	179	第三节 病毒基因的整合	221
第八节 展望	182	第四节 细胞凋亡	223
第十章 病毒的增殖	183	第五节 展望	225
第一节 病毒的受体	184	第十三章 朊病毒——传染性蛋白质	
第二节 病毒基因组复制及表达的不同形式	187	颗粒	227
第三节 病毒在体内的复制	193	第一节 朊病毒所致的人神经系统疾病	228
第四节 异常的病毒增殖	194	第二节 朊病毒研究进展	229
第五节 展望	195	第三节 展望	235
第十一章 病毒的遗传	197	第十四章 真菌	238
第一节 基本概念和方法学	197	第一节 真菌的生物学	238
第二节 自然界病毒变异与演化的原理	202	第二节 真菌的分子生物学	245
第三节 病毒基因组和病毒蛋白结构与功能的研究	205	第三节 展望	255
第四节 病毒感染与发病机制的研究	208	第十五章 微生物感染与免疫	258
第五节 病毒基因的结构功能与调控原理	210	第一节 细菌的感染与免疫	258
第六节 突变病毒在防治人类疾病中的应用	212	第二节 病毒与免疫系统的相互作用	287
第七节 展望	215	第十六章 抗微生物制剂	302
第十二章 病毒与宿主细胞的相互		第一节 抗菌药物作用机制和细菌耐药性	302
作用	216	第二节 抗病毒制剂	319
第一节 病毒对细胞结构的作用	217	第十七章 微生物感染的诊断	332
第二节 病毒与细胞在生物合成过程中的相互作用	218	第一节 细菌感染的诊断	332
		第二节 病毒的诊断	347

绪 论

一、医学微生物学的过去与现在

1. 微生物的分类 微生物是体形微小、构造简单的单细胞和多细胞以及无细胞结构的为数众多的一大群生物。在生物界中最具有多态性的就属微生物。它们不仅形态多样性,新陈代谢及生长、繁殖多样性,与动物及人体和外周环境的关系也千变万化。经过对各种微生物的长期研究与分析,并结合生物化学、遗传学及生态学等交叉学科的理论与技术,到 20 世纪后期,对于微生物的分类,多数学者已将病毒独立于原核细胞及真核细胞型微生物以外。

病毒及类病毒、朊病毒都必须依赖宿主细胞进行增殖,因此从进化角度考虑,甚至可以把病毒看作是宿主细胞基因的扩大或延伸。一般情况下,病毒的基因向宿主细胞提供信息,病毒在细胞内复制,产生并释放大量的病毒拷贝。有些情况下,病毒的基因可整合入宿主细胞 DNA,而起细胞 DNA 的作用。类病毒主要在植物中进行传播并引起疾病,是小的单链并以共价键相连的闭环杆状 RNA 分子。近年发现的丁型肝炎病毒也是类病毒,显示类病毒与人类疾病相关。根据类病毒的基因有末端重复序列与转座因子及反转录病毒相似,提出了类病毒可能起源于转座因子等观点。由于羊瘙痒病及牛海绵状脑病(俗称疯牛病)的发生与流行,朊病毒已日益受到重视。这类微生物直径 $< 50\text{ nm}$,能耐受核酸酶的灭活作用,但却能被蛋白酶灭活。对于这类微生物的特征及致病机制尚在研究中。

原核细胞型微生物的共同特征为,只有原始类核式 DNA 盘旋而构成的核区,无核膜和核仁,不进行有丝分裂,无细胞器,其中包括细菌、衣原体、立克次体、支原体、螺旋体和放线菌。近年来,结合《Bergey》一书(1994 年版)对细菌的分类,Jawetz 等(1995 年)提供了根据革兰染色、细胞壁有无及真细菌与古细菌作为医学细菌的主要分类,兹选择部分归纳如表 1。

表 1 与医学有关细菌的分类

分 类	致病菌举例
I. 革兰阴性有细胞壁的真细菌	
组 1 螺旋体	苍白螺旋体、包柔体、钩端螺旋体
组 2 需氧/微需氧的可运动细菌	螺杆菌、弯曲菌等
组 4 需氧/微需氧的球菌或杆菌	奈瑟菌属、假单胞菌属、布氏菌属等
组 5 兼性厌氧杆菌	沙门菌属、埃氏菌属、弧菌属、耶尔森菌属等
组 6 专性厌氧杆菌	类杆菌属等
组 9 立克次体与衣原体	斑疹伤寒立克次体、沙眼衣原体等
II. 革兰阳性有细胞壁的真细菌	
组 17 革兰阳性球菌	葡萄球菌属、链球菌属等
组 18 有芽胞杆菌	需氧芽胞杆菌属、厌氧芽胞梭菌属
组 19 形态规则,无芽胞杆菌	李斯特菌属
组 20 形态不规则的无芽胞杆菌	棒状杆菌属等

(续表)

分 类	致 病 菌 举 例
组 21 分枝杆菌属	分枝杆菌
组 22 放线菌属	诺卡菌等
Ⅲ. 无细胞壁的真细菌	
组 30 支原体	脲原体等
Ⅳ. 古细菌	
组 31 甲基化菌	} 未发现
组 34 无细胞壁古细菌	
组 35 极端嗜热菌等	

细菌可分为两大类:真细菌及古细菌。真细菌中包括大多数致病菌。古细菌与真细菌的区别在于古细菌不合成真细菌中存在的肽聚糖(peptidoglycan,或称粘肽),而且古细菌有特殊的新陈代谢,故可在极端环境下(如高温、高盐或 pH 很低)生存,还可以产生一些特殊的代谢产物(如甲醇等)。自耐高温菌(*thermus aquaticus*)中分离到的酶,即 Taq DNA 聚合酶,已被普遍用于聚合酶链反应(PCR),成为医学微生物学中的重要新技术。由于古细菌是有待开发和应用的一大类微生物,而且与海洋微生物以及其他星球中存在的生命现象有关,古细菌学已显示其特殊的重要地位。Pace(1996 年)提出了一个新的观点,即不根据原核细胞及真核细胞类型对微生物作分析,而是根据生物界进化速度慢的 16S 或 18S rRNA 的序列变化,从种系发生学上进行分类。由于地球上绝大多数微生物并不能用常规方法进行培养,故仅从表型(微生物的形态、结构、生长特性)来分析微生物有很大的局限性。他根据已有的近 5 000 个已知的 rRNA 序列作分析,发现“进化树”上的真细菌、古细菌及真核型微生物间的距离相似,即微生物可分为上述三大主要组别。根据这一观点,真细菌与古细菌及真核细胞型微生物应分别地同样受到重视。

真核细胞型微生物主要包括真菌(单细胞真菌、多细胞真菌)、藻类以及原虫等。本型微生物不仅有完整核,进行有丝分裂,其遗传物质可以通过单倍体生殖细胞融合成双倍体细胞后传给子代细胞,即有性繁殖形式;但也可通过孢子形式作无性繁殖。伴随着机会感染率的增多,真菌在医学中的地位已日益被重视,一些原来被认为不致病的酵母菌或酵母样菌已逐渐被确认为传染源。因此这类微生物的新型鉴定技术(包括菌落颜色、同化试验、尿素酶、硝酸盐还原试验等)及抗真菌药品和制剂的研制在近年来已成为研究热点。

2. 医学微生物学的发展历史 医学微生物学是微生物学的一个分支,起源于 19 世纪,即实验微生物时期的细菌生理学阶段。法国科学家巴斯德(Pasteur)在以其著名的“S 形曲颈瓶”实验证明微生物不是“自然生成”以后,对当时流行的蚕病、鸡霍乱、炭疽及狂犬病的病原体等进行了理论联系实际的研究。受巴斯德工作的启发,英国医生李斯特(Lister)认识到伤口感染可能与微生物有关,采用了石炭酸消毒,并利用加热法处理手术用器械,收效显著,创立了无菌外科手术。在密切联系临床及预防医学的同时,德国医生郭霍(Koch)用固体培养基分离出纯培养的细菌,开始了医学微生物学的实验研究。郭霍所分离的第 1 种病原菌是炭疽芽胞杆菌(简称炭疽杆菌)。为证实该菌是病原菌,郭霍将其接种于健康动物,引起同样疾病后,再从被感染的动物体内分离出同样细菌,提出了证实微生物致病性的“郭霍定律”,奠定了研究微生物致病性的基础,并被沿用至今。此后,学者们在 1882~1894 年,分离出了多种重要的病原菌,诸如结核分枝杆菌(简称结核杆菌)、霍乱弧菌、肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟

菌(简称脑膜炎球菌)、白喉杆菌等,可称为细菌学发展的“黄金时代”。

伴随医学微生物学的发展,人们对所迫切要求的抗微生物(主要是抗菌)治疗和预防传染病的措施提出了新的课题,由此衍生对传染病的化学疗法(简称化疗)和抗生素药物的研究及应用得到了迅速的发展。最早发现的化学治疗剂“606”,是由德国化学家欧立希(Ehrlich)经过 605 次实验失败,但在第 606 次时才获得成功的,砷剂可用于治疗梅毒。抗生素则是由英国细菌学家弗来明(Fleming)于 1929 年首先发现污染的青霉菌在固体培养基上可拮抗葡萄球菌生长的现象,由于含杂质过多,Fleming 应用的青霉菌滤液不能用于临床治疗;直到 1940 年,弗洛瑞(Florey)等联合了基础学科及临床医生协同研究,经过提纯,方获得首次可供人体注射用的青霉素 G。为预防肆虐人类的天花,1798 年英国乡村医生詹纳(Jenner)发明了种牛痘的预防方法,是近代抗感染免疫学的开端。此后,狂犬减毒活疫苗、猪霍乱死菌苗及类毒素的应用等均有效地被用于预防传染病。大量实践又推进了理论发展,药理学、抗生素学及免疫学又各自独立地形成了学科。

1892 年俄国学者伊凡诺夫斯基(Ивановский)在研究烟草花叶病时发现该“因子”可通过除菌滤器;6 年后 Beijerinck 用稀释后过滤证明该“因子”是活的、可以增殖的“传染因子”,开创了对病毒的认识。对人致病的病毒首先被证实的是黄热病病毒,虽然至 1931 年已证实一些疾病(如狂犬病、鸡痘、口蹄疫等)是由病毒引起,但对病毒特性的研究自 20 世纪 30 年代才开始。通过应用电子显微镜,开展了鸡胚接种技术,以及 20 世纪 40 年代末被应用的组织培养技术等,对病毒的复制才有了较明确的认识。我国学者黄桢祥在 20 世纪 30 年代研究马脑炎病毒时,发现有病毒增殖的组织块培养液的 pH 与无病毒增殖的培养液有显著差别,提出了有可能利用组织培养病毒。在这一发现的基础上,安德斯(Enders)成功地在非神经组织中培养了脊髓灰质炎病毒,并进一步研制了脊髓灰质炎疫苗。安德斯在诺贝尔奖获得者的报告会上还特别提及黄桢祥的有关工作。一度曾出现过认为噬菌体与动物病毒有不同生命活动规律的观点,直到 20 世纪 50 年代后期,才由洛沃夫(Lwoff)统一。他在 1957 年下的定义:“病毒是由核酸和蛋白质组成的传染性因子,不能独立繁殖”,直到 20 世纪 90 年代仍被广泛认可。

我国学者汤飞凡是我国第 1 代病毒学家,是世界上第 1 个分离出沙眼病原体的学者。虽然日本学者野口(1928 年)声称从沙眼患者中分离出所谓“沙眼杆菌”,但汤飞凡认为沙眼病原体是近似立克次体的大病毒。1955 年他采用鸡胚卵黄囊接种和抗生素抑菌的研究技术,成功地分离出沙眼“病毒”(以后被命名为沙眼衣原体)。1958 年他又将该“病毒”接种于自己的眼睛,造成人工感染并坚持 40 d 才接受治疗,以便观察典型的病理过程,并从本人眼内分离出“病毒”,证明了病原体的致病性。此后,这一方法被许多学者用于研究其他衣原体。作为我国的杰出微生物学家,他一生献身科学事业,而且是一个有强烈民族自尊心的伟大爱国者。

中国科学院院士、著名病毒学家朱既明在微生物学与病毒学研究中作出了卓越贡献。1943~1945 年在云南昆明用自己分离的菌种成功地研制出注射用青霉素,是我国第 1 位研制成功青霉素的学者。以后,在国际上首次将流感病毒裂解为亚单位,提出了病毒结构图像,为以后研究亚单位疫苗提供了原理和方法。他所发现的流感病毒抑制因子被国际学术界称为“朱氏抑制素”。他还在仙台病毒、腺病毒及麻疹病毒的研究中作出了重大贡献。

回顾医学微生物学发展的历史,可以得到以下启示:

(1) 人类在认识世界与改造世界实践中的问题是学科发展的源泉与动力。

(2) 在解决实际问题的过程中将会引发一些涉及基础理论问题,应同时加强对这些理论的研究。

(3) 技术方法的改革或创新是推动学科发展的一个重要方面。科学和技术的密切相关性决定了两者均不可偏废。

(4) 科技工作者的献身科学精神、敏锐观察力、持之以恒的工作态度和主动加强与相关学科的联系、合作是取得成功的关键。

历史上,在医学微生物学及相关学科中因有突出贡献而获得诺贝尔奖的科学家近 60 名,见表 2。

表 2 对微生物学发展有贡献的诺贝尔奖获得者

年份	诺贝尔奖获得者	对微生物学的贡献
1901	von Behring EA (德国)	白喉抗毒素和其他血清疗法
1905	Koch HR (德国)	结核病的研究和旧结核菌素
1908	Ehrlich P (德国)	抗体形成的体液学说及其在免疫中的地位
	Metchnikoff E (俄国)	吞噬作用及其在免疫中的作用
1912	Carrel A (法国)	关于血管和器官移植的研究
1913	Richet CR (法国)	发现过敏反应
1919	Bordet J (比利时)	补体结合和免疫
1928	Nicoll CJ (法国)	斑疹伤寒研究
1930	Landsteiner K (美国)	发现人类血型
1939	Domagk G (德国)	百浪多息药物的抗菌作用
1945	Chain EB (英国)	发现及改进青霉素
	Fleming A (英国)	
	Florey HW (英国)	
1946	Northrop JH (美国)	酶及病毒蛋白纯品制备,对酶的结晶作用
	Stanley WM (美国)	
	Sumner JB (美国)	
1946	Muller HJ (美国)	用 X 线辐射产生突变
1948	Tiselius AW (瑞典)	应用电泳技术发现血清蛋白组成多样性
1951	Theiler M (南非)	研制黄热病疫苗
1952	Waksman SA (美国)	发现链霉素
1954	Enders JF (美国)	进行脊髓灰质炎病毒在非神经组织中培养
	Robbins FC (美国)	
	Weller TH (美国)	
1958	Beadle GW (美国)	对微生物遗传方面有多种贡献
	Tatum EL (美国)	
	Lederberg J (美国)	
1960	Burnet FM (美国)	发现获得性免疫耐受性
	Medawar PB (英国)	
1962	Crick FH (英国)	揭示 DNA 分子结构及其在生物体中遗传信息传递的关系
	Watson JD (美国)	
	Wilkins HF (英国)	
1966	Rous FP (美国)	病毒复制(合成)调节过程中发现小鼠肿瘤病毒

(续表)

年份	诺贝尔奖获得者	对微生物学的贡献
1968	Holley RW (美国) Khorana HG (美国) Nirenberg MW (美国)	提出遗传密码决定细胞功能
1969	Delbrück M (美国) Hershey AD (美国) Luria SE (美国)	揭示病毒复制中病毒基因结构及其作用机制
1972	Edelman GM (美国) Porter R (英国)	揭示了抗体的化学结构
1975	Dulbecco R (美国) Baltimore D (美国) Temin HM (美国)	发现肿瘤病毒和细胞遗传物质间的相互作用 发现反转录酶在引起癌变开始阶段的作用
1976	Blumberg B (美国) Gajdusek DC (美国)	发现澳大利亚抗原 发现库鲁(Kuru)病和克-雅病的慢病毒病因
1977	Yalow R (美国)	发展放射免疫测定法
1978	Arber W (瑞士) Smith HO (美国) Nathans D (美国)	发现和提纯限制性内切酶用于遗传工程
1980	Snell G (美国) Benacerraf B (美国) Dausset J (法国)	发现与人体免疫反应密切关联的基因“主要组织相容性复合体”
1984	Köhler G (德国) Milstein C (阿根廷)	用杂交瘤技术生产单克隆抗体
	Jerne N (英国)	构建免疫网络学说
1987	Tonegawa S (日本)	发现免疫球蛋白的基因结构
1989	Bishop JM (美国) Varmus E (美国)	发现反转录病毒癌基因的细胞起源
1996	Doherty PC (美国) Zinkernagel RM (瑞士)	发现细胞介导的特异免疫应答
1997	Prusiner SB (美国)	发现朊病毒,一种具有传染性的异常构型蛋白

3. 近代医学微生物学的发展 自 20 世纪 70 年代后期以来,医学微生物学有了飞跃性的发展。在日新月异的多种进展中,核心是对微生物的基因结构和功能在理论与应用的研究进展,以及结合免疫学新进展的抗感染免疫进展。分子生物学及基因重组技术推进了微生物全基因结构或部分基因片段的结构与功能研究。免疫学中的细胞因子、免疫调控及抗原呈递等新进展,推动了对微生物致病因子、保护性抗原及机体抗微生物免疫应答的研究与应用。

由于病毒的基因组小,便于克隆和进行核苷酸序列分析,早在 1978 年已进行了对猴病毒 40(SV40 病毒)的基因克隆,物理图谱分析及以后的全基因测序。SV40 病毒属乳多空病毒科,因其持续性感染,污染了用以制备脊髓灰质炎疫苗的猴肾细胞,已被注入人体,故作为一种医学微生物,进行了基因的结构与功能分析,明确了复制起始点,编码的 T 与 t 抗原功能以及其基因组中的启动子、增强子等。此后,许多病毒的全部或部分基因经过克隆、序列分析及编码蛋白的表达,获得了新的有关病毒复制及蛋白功能的资料。在 1995 年,一种流

嗜血杆菌的全基因组 DNA 序列分析作为第 1 个细菌的全基因分析已经完成,以后生殖道支原体 (*Mycoplasma genitalium*)、大肠埃希菌(简称大肠杆菌)、枯草杆菌以及非致病菌 *methanobacterium thermoautotrophicum* 等亦进行了全基因测序。这些工作将导致对启动子、DNA 的蛋白结合位点及 DNA 结合蛋白的全面了解,从而可以揭示微生物一些新的生命活动规律。基因水平的研究在病毒中已揭示了某一核苷酸的变异与致病性降低的相关性,正在研究不同变异株在医学中的作用。细菌菌毛、粘附因子及毒素的编码基因或质粒也进行了大量研究。克隆的微生物基因作为探针已被用于诊断传染病及揭示微生物引起疾病的发病机制。根据微生物基因中的保守片段设计引物,利用聚合酶链反应(PCR)已可快速地诊断一些传染病。根据微生物基因中编码保护性抗原的片段,进行克隆、基因重组及在原核或真核细胞中表达抗原制成的基因工程疫苗已开始生产并应用。从分子水平分析细菌的耐药性已获得了有价值的结果,有些医院已开展对耐药质粒谱的分析,试图了解耐药菌出现的动向及可能规律。这些分子水平的研究进展已对微生物致病性、致病机制、病原体的诊断及防治措施的改进或更新等,产生了深刻的影响。

另一方面,免疫学基础理论的发展,特别是对内源性抗原及外源性抗原两种抗原呈递方式的研究,使人们对微生物感染中胞内菌、胞外菌感染,病毒感染及死、活疫苗分别诱生不同类型免疫应答的理论有了进一步的认识。T 辅助细胞(Th1 和 Th2 细胞类型)、T 杀伤细胞(Tc 细胞)在不同微生物感染中的作用以及体液免疫的作用也分别进行了不同层次的研究。细胞因子(单核因子和淋巴因子)在其基因克隆、重组表达获得纯产品基础上正在进行分析其作用。单克隆抗细胞因子抗体及转基因鼠、基因剔除(gene knock-out)鼠的应用也为研究微生物的致病机制提供了工具与模型。近年来被称为“人类新瘟疫——艾滋病”的病原(人类免疫缺陷病毒)分离工作就是利用白细胞介素-2(IL-2)在体外培养 T 细胞成功的基础上获得的。人类免疫缺陷病毒的研究大大促进了抗感染免疫工作,因此近年来抗感染免疫又成为医学微生物学与免疫学交叉的研究热点。伴随因机体免疫低下而出现的大量机会微生物的感染,以及一些原已降低了发病率的传染病(如结核病)又开始在人群中传播。这些“旧仇”和新发现的“新瘟”在近代医学微生物学领域中,正在进行着新的挑战。

二、展望

20 世纪的后期,医学微生物学经历了分子水平的突破,但对微生物基因的结构与功能研究仅仅是开始。核酸必然要通过其指导编码的蛋白在细胞或整体内发挥作用,因此对微生物基因信息的认识还需致力于对基因表达及调控的研究。微生物作为一大群多态性显著的生物将可作为人类基因组或动物基因组研究的较原始的模式。因此,微生物还将作为生物界中研究生命现象与规律的对象。医学微生物因与人的生命活动相关,在研究微生物与人类、环境的相互作用中更有其重要意义。

然而,医学微生物学毕竟研究的是与医学有关的,主要是病原微生物的生物学特性、致病性,机体与微生物的相互作用,以及特异的诊断、预防及治疗,因此除向分子水平发展外,还需重视从机体整体水平进行研究与发展。脱离了宿主,医学微生物学的发展将会受到挫折。因此医学微生物学与相关学科(细胞生物学、病理学、传染病学、流行病学、免疫学、生物化学等)间应有联系及交流。

展望未来,医学微生物学可能从以下方面发展:

(1) 新现(emerging)与再现(re-emerging)感染微生物的研究 根据霍乱弧菌 O139、大肠杆菌 O157、汉坦病毒及多重耐药结核杆菌等的出现和再现,可以预料这类微生物引起的感染将是全球性研究的重要方面。由于这类感染可由新发现的微生物为病原,也可能由已有的微生物为病原,因此需加强微生物特异诊断技术的建立、人员培训以及国际合作与信息网络的建立。目前我国尚不能广泛地建立医学微生物学诊断中心的条件下,可考虑建立一至数个有较完善装备及合格检验试剂的诊断中心,并加强这些中心与国外的联系网络。新现与再现感染的微生物除可引起某些疾病的流行或暴发外,还可来自医院内感染或由条件致病性微生物所引起。因此,在少数医院内加强微生物学检验及感染性疾病的病原学研究也是发展医学微生物学科的重要策略。从危害性严重程度考虑,对于性传播及经输血和血制品传播的微生物应优先考虑;其次,则应加强对经消化道传播的微生物生物学特性及上述微生物对外界环境的抵抗力研究。这类研究的特点是必须结合临床及流行病学,因此应与医院及防疫站工作互相配合。

(2) 规范化的微生物学诊断及技术的建立 由于微生物基因诊断方法的建立,核酸杂交、PCR 及用合成肽或重组微生物抗原为基础的血清学诊断方法与技术已被广泛采用。此外,原有的鉴别细菌生化反应的方法已有试剂盒或自动化仪器。各种方法均有利弊,而且如何根据不同情况选择不同的微生物学诊断方法亦很重要。基因诊断方法有快速、敏感、特异性较高等优点,但如操作不当可出现假阳性或假阴性。此外,对于不明病原进行诊断时,单用基因诊断并不能解决问题,分离出能生长、繁殖的微生物方能对其生物学特性进行研究。对现有的微生物疫苗在监测其效果及了解微生物野毒株与疫苗株的关系方面,也需要获得有生命活性的微生物。从今后发展趋势来看,人与微生物及环境与微生物都有所联系,卫生微生物学涉及自环境(空气、水等)中分离并检测微生物。因此根据不同要求,发展并建立规范化的微生物诊断及技术也将是医学微生物学发展的另一个重要方面。

(3) 新型微生物疫苗的基础理论与应用基础研究 医学微生物学的基因水平研究为发展新型微生物疫苗奠定了基础。今后将发展重组疫苗(单价或多价)及嵌合疫苗(微生物抗原与佐剂或细胞因子嵌合表达的疫苗)。随之发展的将是重组疫苗效果及不良反应的研究。重组疫苗与传统的微生物死(灭活)疫苗及减毒活疫苗的比较,特别是在诱生体液免疫(抗体的类别与亚类)、细胞免疫及可能产生的变态反应等方面的优缺点均需要进行深入的抗微生物感染的研究。核酸免疫(又称基因免疫)已显示可诱生较强的细胞及体液免疫的特点。微生物和(或)质粒中固有的某些核苷酸序列具有很强的诱生免疫应答作用,将是深入研究核酸作为佐剂和编码特异性抗原成分的 DNA 免疫学的起点。微生物抗原呈递的研究也将对发展新型疫苗作出贡献。根据实验研究确认不同微生物的 T、B 细胞表位,组建嵌合合成肽疫苗等也可能有所进展。发展新型疫苗的基础是分子微生物学与抗感染免疫学科科技工作者的协作与交流。

(4) 新型治疗措施的研究与开发 抗微生物药物将继续沿着化学治疗剂及抗生素两大方面发展,其中的重点将是对抗病毒药物的研制与开发。抑制人类免疫缺陷病毒的药物开发已有了初步结果,因此从抑制病毒基因的复制与表达入手,特别是选择性地抑制病毒所特有的酶将是重要方面。微生物耐药性的机制研究与对策也是治疗措施中的一项重要内容。利用我国的中药,分析其有效成分及结构,从分子水平阐明其抗微生物的机制将是发展我国特有的抗微生物制剂的方向。近年来,由微生物(放线菌等)代谢产物中筛选出的抗生素不

仅有抗菌作用,通过运用其他筛选模型,有的已证明有抗肿瘤作用及抑制免疫应答作用。在发现新的微生物药物的基础上,利用重组技术还有可能发展源自微生物的新一代重组药物。在基因治疗中,多种病毒(反转录病毒、腺病毒、单纯疱疹病毒等)及少数细菌(如卡介苗)均已被考虑作为传递基因的载体而构成基因治疗的组成成分。由于治疗涉及微生物与宿主两个方面,除抗微生物外,利用微生物成分、抗原或代谢产物作免疫调控治疗,也是新型治疗措施的组成部分。

(5) 微生物致病性的分子机制研究 医学微生物学发展的基础理论必然包括微生物致病机制的研究。通过开展微生物基因结构与功能的研究,将逐渐揭示微生物的致病基因或致病相关基因。这类研究将是医学微生物学特有的分子水平研究。在这类研究的基础上,可将分子水平更有效地设计抑制致病基因的新策略。此外,还可通过构建缺失致病基因的人工突变株以建立新的无毒活疫苗株。

我国医学微生物学工作者在过去近半个世纪的研究中已为发展我国的医学微生物学作出了贡献,展望未来,相信在 21 世纪中还将取得更大成就。

(复旦大学医学院 闻玉梅)

参 考 文 献

1. Melnick JL. 缅怀黄桢祥教授. 国外医学·微生物学分册,1993,16:271
2. 袁正宏. 病毒及其相关疾病. 国外医学·微生物学分册,1996,19:7
3. Cohan FM. The role of genetic exchange in bacterial evolution. ASM News,1996,62:631
4. Dixon MD, et al. Researchers use molecular immunology and technology to combat fungal pathogens. ASM News,1996,62:81
5. Finlay BB, et al. Exploitation of mammalian host cell functions by bacterial pathogens. Science, 1997,276:718
6. Hegde RS, et al. A transmembrane form of the prion protein in neurodegenerative disease. Science,1998,279:827
7. Morell V. Tracing the mother of all cells. Science,1997,276:700
8. Strauss EJ, et al. Microbial pathogenesis: genomics and beyond. Science,1997,276:707
9. Vogel JP, et al. Conjugative transfer by the virulence system of *Legionella pneumophila*. Science, 1998,279:873
10. Yang ZY, et al. Distinct cellular interactions of secreted and transmembrane Ebola virus glycoproteins. Science,1998,279:1034