



第十一章 细菌的生物学特性

学习目标

1. 掌握细菌的大小与基本形态,细菌的基本结构与特殊结构,革兰阳性菌与革兰阴性菌细胞壁的组成与区别,细菌细胞质内的有形结构,细菌生长繁殖的条件及其规律,细菌代谢产物的种类及意义。
2. 熟悉遗传与变异的概念,常见的细菌变异现象,细菌遗传变异的物质基础,质粒的概念与特性,噬菌体的概念及种类,转化、接合、转导和溶原性转换的概念,细菌变异的实际应用。
3. 了解人工培养细菌的意义。

细菌(bacteria)是一类具有细胞壁的单细胞原核细胞型微生物。在一定环境条件下,细菌有相对稳定的形态和结构。了解细菌的生物学性状、特性对鉴别细菌、诊断疾病、探明致病机制和免疫性等具有重要意义。

第一节 细菌的大小与形态

一、细菌的大小

细菌个体微小,通常以微米(μm)为测量单位,须用显微镜放大数百倍或千倍后才能观察到。不同种类、同一种类不同菌龄的细菌的大小各不相同。大多数球菌的直径约为 $1\ \mu\text{m}$;杆菌长 $2.0\sim 5.0\ \mu\text{m}$,宽 $0.3\sim 1.0\ \mu\text{m}$ 。

二、细菌的形态

细菌的基本形态有球形、球杆形、杆形、弧形和螺旋形五种,但传统的形态分类法将细菌分为球

菌、杆菌和螺形菌三种。细菌的形态及排列形式如图 11-1 所示。

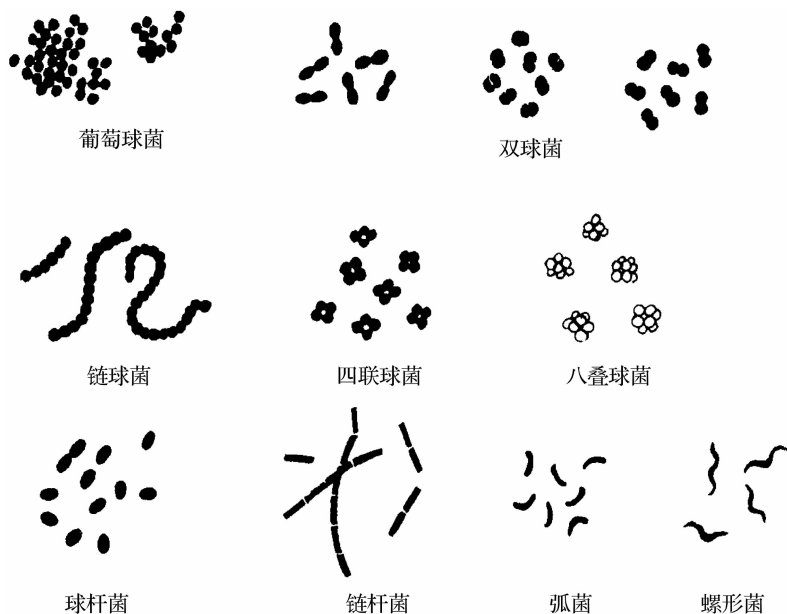


图 11-1 细菌的形态及排列形式

(一) 球菌

球菌(coccus)的菌体呈球形或近似于球形(豆形、肾形、矛头形等)。根据分裂的平面和分裂后排列方式的不同,球菌可分为以下 3 类。

1. 双球菌 细菌在一个平面上分裂,分裂后两个菌细胞成双排列,如肺炎链球菌、淋病奈瑟菌等。
2. 链球菌 细菌在一个平面上分裂,分裂后多个菌体粘连成链状,如溶血性链球菌等。
3. 葡萄球菌 细菌在多个不规则的平面上分裂,分裂后菌细胞聚集在一起似葡萄串状,如金黄色葡萄球菌等。

此外,还有在两个相互垂直的平面上分裂为四个菌体排列成正方形的四联球菌,在三个相互垂直平面上分裂成八个菌体排列在一起的八叠球菌,等等。

(二) 杆菌

杆菌(bacillus)呈杆状,多数为直杆状,也有稍弯的。不同杆菌的大小、长短、粗细差异很大。根据形态上的差异,杆菌可分为以下几类。

1. 粗大杆菌,如炭疽杆菌 $[(1.0\sim 1.5)\mu\text{m}\times(3.0\sim 10.0)\mu\text{m}]$ 。
2. 细长杆菌,如破伤风梭菌 $[(0.3\sim 0.5)\mu\text{m}\times(3.0\sim 8.0)\mu\text{m}]$ 。
3. 中等杆菌,如大肠埃希菌 $[(0.4\sim 0.7)\mu\text{m}\times(2.0\sim 3.0)\mu\text{m}]$ 。
4. 短小杆菌,如流感嗜血杆菌 $[(0.3\sim 0.4)\mu\text{m}\times(1.0\sim 1.5)\mu\text{m}]$ 。
5. 球杆菌,近似椭圆形,如布鲁菌。
6. 棒状杆菌,菌体一端或两端膨大,如白喉棒状杆菌。
7. 分枝杆菌,常呈分枝生长趋势,如结核分枝杆菌。
8. 双歧杆菌,末端常呈分叉状。
9. 链杆菌,常呈链状排列,如炭疽杆菌等。

杆菌菌体两端多呈钝圆形,少数两端平齐(如炭疽芽胞杆菌)或两端尖细(如梭杆菌)。



视频
细菌的形态

(三) 螺形菌

螺形菌(spirillar bacterium)是指菌体有弯曲的细菌。根据菌体的弯曲程度,螺形菌可分为以下3类。

1. 弧菌 菌体仅有一个弯曲,呈逗点状或弧形的细菌,如霍乱弧菌、副溶血性弧菌等。
2. 螺菌 菌体较坚硬,有多个弯曲,呈螺旋形的细菌,如鼠咬热螺菌等。
3. 弯曲菌与螺杆菌 弯曲菌或螺杆菌的菌体细长、弯曲,呈“S”形、螺旋形或海鸥展翅形,如空肠弯曲菌、胎儿弯曲菌、幽门螺杆菌等。

细菌的形态易受温度、pH、培养基成分和培养时间等因素的影响。在适宜生长与繁殖的条件下,细菌经8~18小时的培养后可出现比较典型的形态;在不利环境下或菌龄老时,细菌常出现梨形、气球状或丝状等不规则形态。在机体的感染部位,由于细菌受到药物及体液中溶菌酶、抗体、补体等因素的直接作用,其形态和性状常发生改变。因此,在临床实验室做直接涂片染色镜检时应予以注意。

第二节 细菌的结构

细菌的结构分为基本结构和特殊结构(图 11-2)。

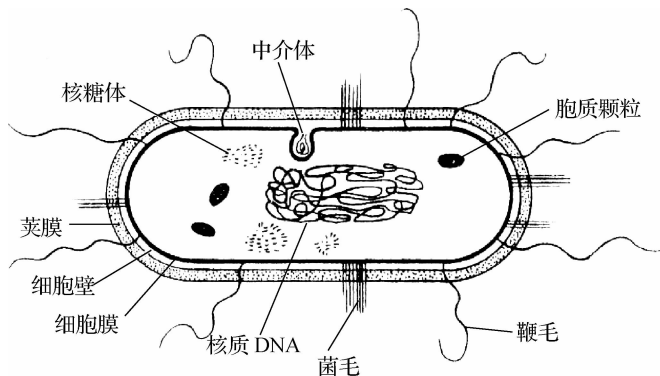


图 11-2 细菌的结构

一、细菌的基本结构

细菌的基本结构是所有细菌所共有的结构,包括细胞壁、细胞膜、细胞质和核质等。

(一) 细胞壁

细胞壁(cell wall)位于细菌细胞的最外层,是紧贴在细胞膜外的一层具有韧性和弹性的复杂膜状结构。细胞壁的厚度因菌种的不同而有所差异,平均为15~30 nm。细菌细胞壁的构成比较复杂,革兰阳性(G^+)菌和革兰阴性(G^-)菌(采用革兰染色法进行区分)的细胞壁结构(图 11-3)具有显著的差异,从而导致这两类细菌在染色性、致病性及对药物的敏感性等方面存在很大差异。

1. 革兰阳性菌的细胞壁 G^+ 菌的细胞壁由肽聚糖和穿插于其中的磷壁酸组成。

(1) 肽聚糖:一类复杂的多聚体,是细菌细胞壁的主要成分,是原核生物细胞所特有的成分。肽聚糖由聚糖骨架、短肽侧链和五肽交联桥三部分组成。



视频
细菌的结构

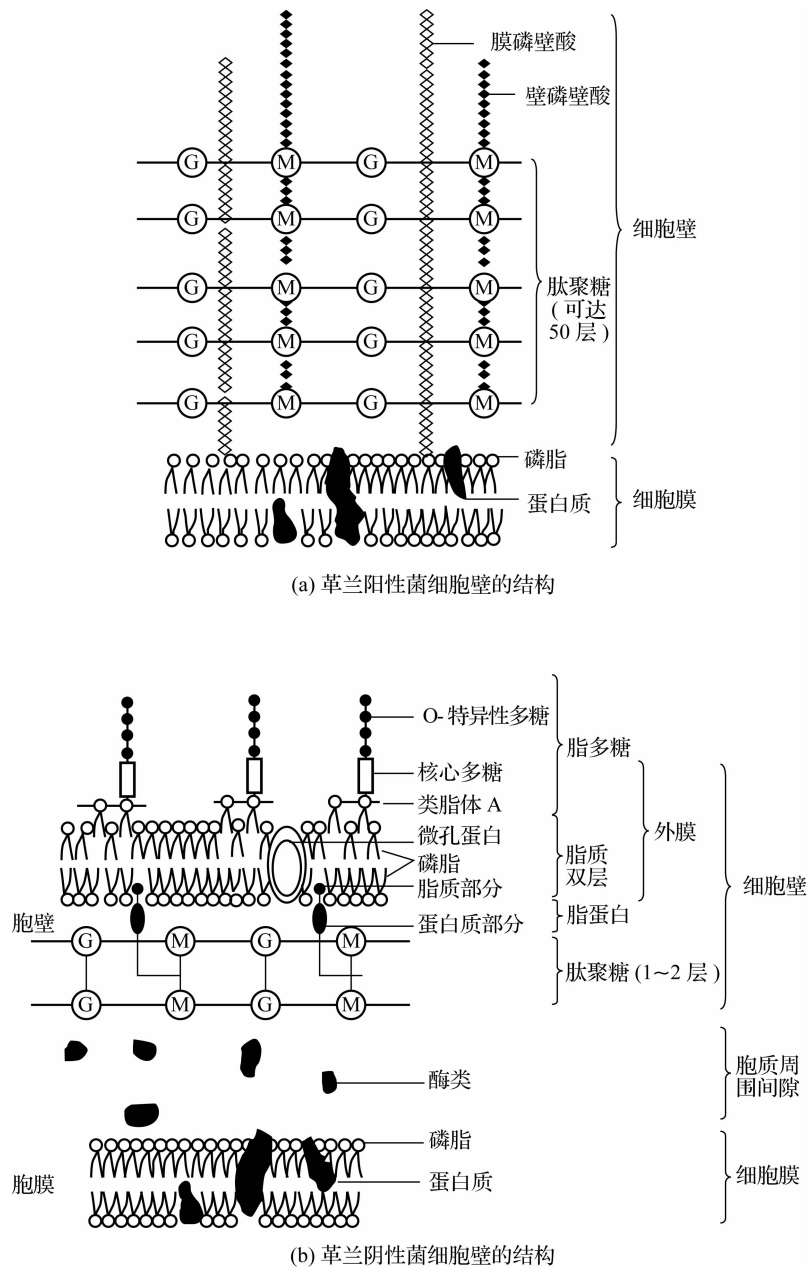


图 11-3 细菌细胞壁的结构

1) 聚糖骨架:由 N-乙酰葡萄糖胺和 N-乙酰胞壁酸交替间隔排列,以 β -1,4 糖苷键连接而成,各种细菌细胞壁的聚糖骨架完全相同(图 11-4)。

2) 短肽侧链:由 4 或 5 个氨基酸组成,如金黄色葡萄球菌的四肽侧链由 L-丙氨酸、D-谷氨酸、L-赖氨酸和 D-丙氨酸组成,L-丙氨酸端与聚糖骨架上的胞壁酸相连,四肽侧链之间由交联桥连接。短肽侧链上氨基酸的种类、数量和连接方式根据菌种的不同而有所差异。

3) 五肽交联桥:由 5 个甘氨酸组成,其中一端与四肽侧链的第三位氨基酸相连,另一端与另一个四肽侧链末端的第四位氨基酸相连,使两个相邻的四肽侧链连接在一起,从而交织成十分坚韧的三维网状结构。G⁺ 菌细胞壁可聚合多层(15~50 层)肽聚糖框架,其含量占细胞壁干重的 50%~80%。

凡能破坏肽聚糖分子结构或抑制其合成的物质都有杀菌或抑菌的作用。例如,溶菌酶能水解聚

糖骨架中的糖苷键;磷霉素、环丝氨酸可抑制聚糖骨架的合成;青霉素、头孢菌素可抑制五肽交联桥与四肽侧链末端的 D-丙氨酸的连接;万古霉素、杆菌肽可抑制四肽侧链的连接。人体的细胞无细胞壁,也无肽聚糖,故这些物质对人体无毒性作用。

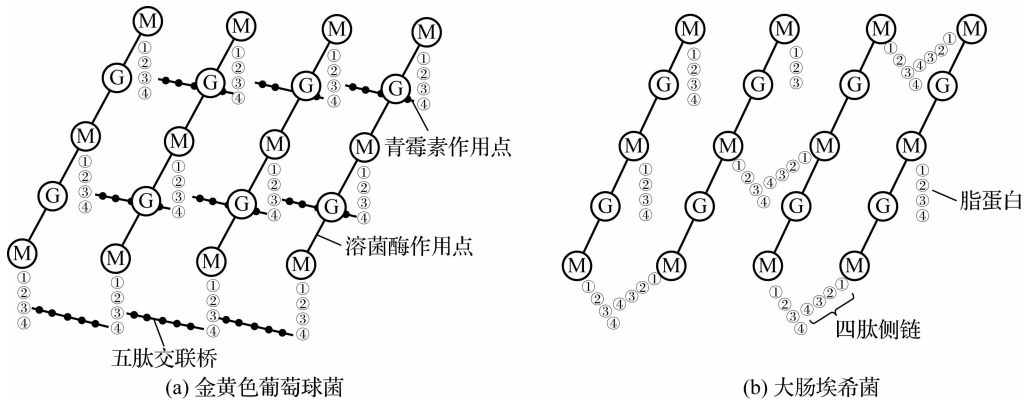


图 11-4 细菌细胞壁肽聚糖的结构

M—N-乙酰胞壁酸; G—N-乙酰葡萄糖胺

1) —L-丙氨酸; ② —D-谷氨酸; ③ —L-赖氨酸; ④ —D-丙氨酸

(2) 磷壁酸: G^+ 菌细胞壁的特有成分,含量最多的约占细胞壁干重的 50%。按其结合部位,磷壁酸可分为壁磷壁酸(结合在聚糖骨架的胞壁酸分子上)和膜磷壁酸(结合在细胞膜的磷脂上)。多个磷壁酸分子可组成长链并穿插于肽聚糖层中,也可延伸至细胞壁外。磷壁酸的免疫原性很强,是 G^+ 菌重要的表面抗原。某些细菌的磷壁酸具有黏附宿主细胞的功能,与其致病性有关。例如,人的口腔黏膜与皮肤细胞、淋巴细胞、血小板、红细胞等细胞的表面都具有膜磷壁酸的受体,A 族溶血性链球菌的膜磷壁酸可与之结合而引起疾病。

此外,某些 G^+ 菌细胞壁表面尚有一些特殊的复合多糖(C 多糖)及表面蛋白质,如金黄色葡萄球菌的 A 蛋白、A 族链球菌的 M 蛋白等。

2. 革兰阴性菌的细胞壁 G^- 菌细胞壁由少量的肽聚糖和复杂的外膜组成。

(1) 肽聚糖: G^- 菌细胞壁所含的肽聚糖较少,仅有 1~2 层,占细胞壁干重的 5%~10%,其组成与 G^+ 菌不同,仅由聚糖骨架和四肽侧链两部分组成,无五肽交联桥。例如,大肠埃希菌,四肽侧链中的第三位氨基酸是二氨基庚二酸(DAP),以肽链与相邻四肽侧链末端的 D-丙氨酸连接,因而仅能构成单层平面网络的二维疏松薄弱结构。 G^- 菌细胞壁含肽聚糖较少,且有外膜保护,因而溶菌酶、青霉素对其作用甚微。

(2) 外膜: G^- 菌细胞壁的特有成分,约占细胞壁干重的 80%。外膜由脂蛋白、脂质双层和脂多糖三部分组成。

1) 脂蛋白:由脂质和蛋白质组成,位于肽聚糖与脂质双层之间,蛋白质部分结合在肽聚糖四肽侧链的 DAP 上,脂质部分与脂质双层非共价结合,使外膜和肽聚糖层构成一个整体。

2) 脂质双层:与细胞膜相似,双层内镶嵌着多种蛋白质,有的蛋白质为微孔蛋白,允许小分子物质通过;有的蛋白质参与特殊物质的扩散过程;有的蛋白质为噬菌体、性菌毛或细菌素的受体。

3) 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS):由脂质 A、核心多糖和特异性多糖三部分组成,它是 G^- 菌的内毒素,牢固地结合在脂质双层上,菌体溶解时方可释放。脂质 A 为一种糖磷脂,耐热,是内毒素的毒性成分;核心多糖位于脂质 A 的外侧,具有属特异性,同一属细菌的核心多糖相同;特异性多糖位于最外层,是由多个低糖重复单位构成的多糖链,为 G^- 菌的菌体抗原,即 O 抗原,又称 O 特异性多糖,不同种或型的细菌其 O 抗原不同,临床可借此鉴定细菌。

细胞壁具有多种功能:维持细菌的固有形态;保护细菌,支持细胞膜承受细菌细胞质内物质高浓度产生的高渗透压(505~2 020 kPa,5~20 个大气压),使细菌在低渗透环境中不破裂、不变形;细胞壁上具有许多微孔,允许水和可溶性的物质自由通过,与细胞膜共同完成细菌细胞的物质交换;带有多种抗原决定簇,具有免疫原性,同时也决定了抗原的特异性,可用于细菌的鉴定;某些细胞壁成分是细菌的主要致病物质,如 G⁻ 菌的脂多糖、结核分枝杆菌的脂类成分等。

(二) 细胞膜

细胞膜(cell membrane)是位于细胞壁内侧,紧包在细胞质外面的一层柔软、有弹性、具有半渗透性的生物膜。细胞膜的基本结构是脂质双层中间镶嵌有多种蛋白质,这些蛋白质多为具有特殊作用的酶和载体蛋白。

细胞膜的主要功能如下。

1. 选择性通透作用 与细胞壁一起共同完成菌体内外的物质交换。
2. 生物合成作用 细胞膜上含有合成多种物质的酶类,菌体的许多成分,如肽聚糖、磷壁酸、脂多糖等均是在细菌的细胞膜上合成的。
3. 呼吸作用 细胞膜上有多种呼吸酶,可参与细胞的呼吸过程,且与能量的产生、储存和利用有关。
4. 形成中介体 有些细菌的细胞膜可向细胞质内陷并反复折叠,形成囊状小体,称为中介体。中介体可参与细菌的呼吸过程、生物合成及分裂繁殖,多见于 G⁺ 菌。

(三) 细胞质

细胞质(cytoplasm)是无色透明的胶状物,其基本成分是水、蛋白质、脂类、核酸及少量糖和无机盐。细胞质内有质粒、核糖体、胞质颗粒等重要的有形结构。

1. 质粒 细菌染色体以外的遗传物质,为双股闭合环状 DNA。质粒基因是细菌生命活动的非必需基因,但其控制着细菌的某些特定性状。质粒具有自我复制、传给子代菌、可自然丢失、可从一个细菌转移至另一个细菌等特点。与医学密切相关的质粒有 F 质粒、R 质粒和 Col 质粒,它们分别决定了细菌的性菌毛、耐药性和产生大肠杆菌素方面的特性。

2. 核糖体 又称核蛋白体,是游离于细胞质中的微小颗粒,在每个菌体内的数量可达数万个,由 RNA 和蛋白质组成。当 mRNA 将核糖体串成多聚核糖体时,其即成为蛋白质的合成场所。细菌核糖体的沉降系数为 70S,由 50S 和 30S 两个亚基组成。链霉素能与细菌核糖体 30S 小亚基结合,红霉素能与 50S 大亚基结合,从而干扰蛋白质的合成而导致细菌死亡。真核生物(包括人类)细胞的核糖体为 80S,由 60S 和 40S 两个亚基组成,故上述抗生素对人体细胞无影响。

3. 胞质颗粒 细菌储存的营养物质,包括多糖、脂类、多偏磷酸盐等。一般在细菌的营养供应充足时,胞质颗粒较多;能源缺乏时则减少或消失。胞质颗粒中较重要的是异染颗粒,其成分是 RNA 和多偏磷酸盐,嗜碱性强,因经染色后颜色明显不同于菌体的其他部位而得名,如白喉杆菌具有此颗粒,可作为细菌鉴别的依据。

(四) 核质

核质(nuclear material)又称拟核,即细菌的染色体,是细菌生命活动所必需的遗传物质,因其无核膜和核仁,也无组蛋白包绕,仅为由裸露的单一密闭环状 DNA 分子反复回旋、卷曲盘绕而成的松散网状结构。核质的功能与真核细胞的染色体相似,习惯上亦称为细菌的染色体。核质决定了细菌的生命活动,控制着细菌的生长代谢、分裂繁殖、遗传和变异等。如果核质 DNA 发生突变、缺失或损伤(如受到紫外线照射等),则可导致细菌的性状发生改变或使细菌死亡。

二、细菌的特殊结构



视频

有荚膜的细菌

细菌的特殊结构是指某些细菌在一定条件下所形成的特有结构,包括荚膜、鞭毛、菌毛和芽胞等。

(一) 荚膜

某些细菌细胞壁外包绕着一层黏液性物质,当厚度大于 $0.2\ \mu\text{m}$ 时,在普通光学显微镜下可见,该物质称为荚膜(capsule)。当荚膜的厚度小于 $0.2\ \mu\text{m}$ 时,可称其为微荚膜。伤寒沙门菌的 Vi 抗原、大肠埃希菌的 K 抗原等的作用与荚膜相似。用一般染色法不易使荚膜着色,在显微镜下仅能看到菌体周围有一层透明圈(图 11-5);用特殊的荚膜染色法可将荚膜染成与菌体不同的颜色。

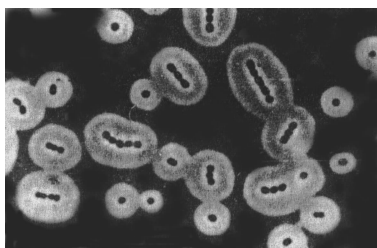


图 11-5 细菌的荚膜

荚膜的形成与细菌所处的环境有关,一般在机体内或营养丰富(含有血清或糖)的培养基中容易形成,在普通培养基上则易消失。荚膜的成分随菌种的不同而有所差异,大多数为多糖,如肺炎链球菌荚膜和脑膜炎奈瑟菌荚膜;少数为多肽,如炭疽杆菌荚膜和鼠疫耶氏菌荚膜;链球菌的荚膜则为透明质酸。荚膜具有免疫原性,可用于鉴别细菌或进行细菌分型。

荚膜是细菌的重要致病因素,它具有保护细菌抵御巨噬细胞的吞噬与消化,抵抗体液中的溶菌酶、补体及其他杀菌物质,增加细菌侵袭力的作用。致病菌失去荚膜后,其致病力也随之减弱或消失,如有荚膜的肺炎链球菌只需几个菌体即可杀死一只小鼠;而在失去荚膜后,则需几亿个菌体才能杀死一只小鼠。



视频

有鞭毛的细菌

(二) 鞭毛

鞭毛(flagellum)是所有的弧菌、螺形菌,以及约半数的杆菌和个别球菌,由细胞膜伸出到菌体外的细长并呈波状弯曲的蛋白丝状物。每个菌体上的鞭毛少数仅 1~2 根,多者可达数百根。根据鞭毛的数目与位置(图 11-6),有鞭毛的细菌可分为单毛菌、双毛菌、丛毛菌和周毛菌等。鞭毛是细菌的运动器官,有鞭毛的细菌能活泼运动。就运动速度而言,单毛菌最快,周毛菌最慢。鞭毛的化学成分是蛋白质,也称鞭毛素,具有较强的免疫原性,鞭毛抗原(H 抗原)可以用来鉴别细菌。霍乱弧菌和空肠弯曲菌的鞭毛与其致病性有关。

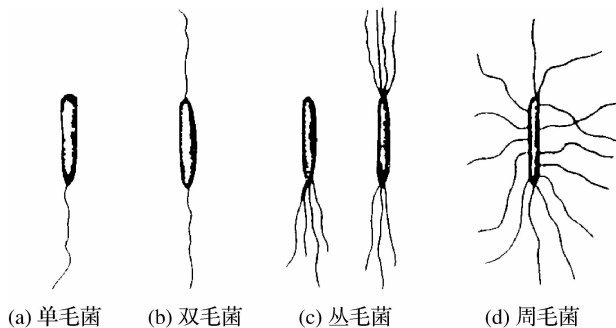


图 11-6 细菌鞭毛的数目与位置

细菌的鞭毛不易着色,经特殊染色后方可进行观察。实验者可用暗视野显微镜或用悬滴法不经染色直接观察活菌的位移运动,也可用固体或半固体培养法观察细菌生长后有无扩散来判断细菌有无活动力。

(三) 菌毛

菌毛(pilus)是许多革兰阴性菌和少数革兰阳性菌表面比鞭毛更细、更短而直的丝状物。菌毛必

须在电子显微镜下才能被观察到(图 11-7)。菌毛的化学成分为菌毛蛋白,与细菌运动无关,可分为普通菌毛和性菌毛两种。

1. 普通菌毛(common pili) 短而直,每个菌体有数百根,遍布于菌体表面。普通菌毛是细菌的黏附器官,细菌可借此牢固地黏附于呼吸道、消化道或泌尿生殖道黏膜上皮细胞上,进而侵入细胞而致病。无菌毛的细菌则易因黏膜细胞的纤毛运动、肠蠕动或尿液冲洗而被排除。因此,普通菌毛与细菌的致病性有关,若丧失菌毛,则细菌的致病性会随之减弱或消失。

2. 性菌毛(sex pili) 比普通菌毛长而粗,仅有 1~4 根,呈中空管状。临床通常把有性菌毛的细菌称为雄性菌(F^+ 菌),无性菌毛的细菌称为雌性菌(F^- 菌)。当 F^+ 菌与 F^- 菌相遇时, F^+ 菌的性菌毛可与 F^- 菌的相应性菌毛受体结合, F^+ 菌体内的质粒或核质片段等遗传物质可通过中空的性菌毛进入 F^- 菌体,引起 F^- 菌变异,细菌的毒力、耐药性等性状可通过此方式传递。

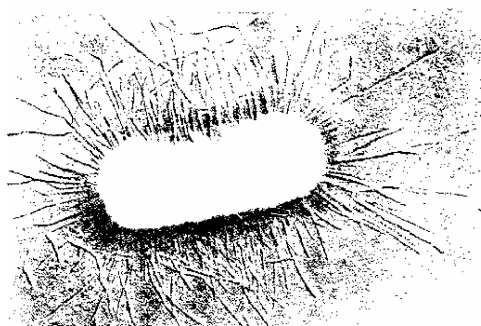


图 11-7 细菌的菌毛(电镜图)

(四) 芽胞

芽胞(spore)是某些细菌在一定环境条件下胞质脱水、浓缩,在菌体内形成的一个折光性强、通透性低、具有多层膜状结构的圆形或卵圆形小体。芽胞一般在机体外营养物缺乏的环境下方可形成。能形成芽胞的细菌均为 G^+ 菌,如需氧与厌氧芽胞杆菌。

芽胞的结构很复杂,由内向外可分为核心、内膜、芽胞壁、皮质层、外膜、芽胞壳和芽胞外壁七层(图 11-8)。芽胞带有完整的核质、酶系统和合成菌体成分的结构,能保持细菌的全部生命活性。芽胞成熟后菌体即成为空壳,菌体崩解后芽胞脱落游离。在条件适宜时,芽胞可发芽形成新的菌体。一个细菌只形成一个芽胞,一个芽胞也只能形成一个菌体。因此,芽胞的形成不是细菌的繁殖方式,而是细菌对营养缺乏的一种反应,是细菌的休眠状态。与芽胞相对而言,未形成芽胞而具有繁殖能力的细菌体,称为繁殖体。

芽胞壁厚不易着色,常规染色时,光学显微镜下可见菌体内有一个无色透明的小体;经特殊染色后,芽胞可被染成与菌体不同的颜色。芽胞的大小、形态和在菌体中的位置随细菌种类的不同而异(图 11-9),可用于鉴别细菌。例如,破伤风梭菌的芽胞呈正圆形,位于菌体顶端且比菌体宽,使菌体呈鼓槌状;炭疽芽胞杆菌的芽胞为卵圆形,位于菌体中央,比菌体小。

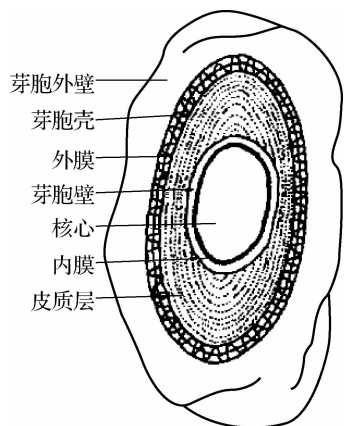


图 11-8 细菌的芽胞结构

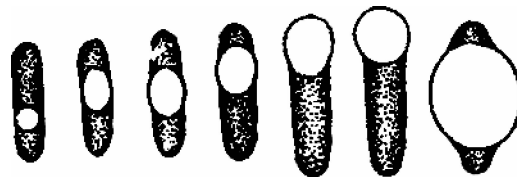


图 11-9 细菌芽胞的大小、形态和位置



视频
芽胞



视频
芽胞杆菌

芽胞对热、干燥、化学消毒剂和辐射等都有很强的抵抗力,这是因为芽胞含水少(约为40%);具有多层厚而致密膜结构的保护;含有耐热性很强的酶类;核心和皮质层含有大量的吡啶二羧酸,可稳定芽胞的酶类。芽胞在自然界中可存活几年甚至几十年,耐煮沸数小时,在5%石炭酸(苯酚)溶液中可存活数日。一旦医疗器械、敷料等被芽胞污染,用一般的理化方法很难将其杀死,因此,临床上以杀灭细菌的芽胞作为灭菌的标准。

第三节 细菌的理化性状

一、细菌的物理性状

细菌具有一定的物理性状,具体有带电现象、表面积和半透性。

(一) 带电现象

构成细菌蛋白的氨基酸在溶液中可电离成带正电荷的氨基(NH_4^+)和带负电荷的羧基(COO^-),其电离与细菌的等电点及所处环境的pH有关,如 G^+ 菌的等电点为pH 2~3, G^- 菌的等电点为pH 4~5。在培养液(多为中性)或反应液(多为弱碱性)中,环境pH均比细菌的等电点高,故细菌均带负电荷;但 G^+ 菌的等电点较 G^- 菌低,故 G^+ 菌所带负电荷比 G^- 菌更多。细菌的带电现象与细菌的染色反应、凝集反应、抑菌和杀菌作用等都有密切的关系。

(二) 表面积

细菌的体积虽小,但相对表面积大,即单位体积的细胞表面积大,有利于与外界进行物质交换。例如,葡萄球菌直径约为 $1\ \mu\text{m}$, $1\ \text{cm}^3$ 细菌的表面积可达 $60\ 000\ \text{cm}^2$;直径为 $1\ \text{cm}$ 的其他生物组织块,每立方厘米的表面积仅为 $6\ \text{cm}^2$,两者差1万倍。因此,细菌对物质的吸收量大,代谢旺盛,繁殖迅速。

(三) 半透性

细菌的细胞壁和细胞膜均为半透膜,允许水和小分子物质通过,有利于营养的吸收与代谢产物的排出。

二、细菌的化学组成

细菌和其他生物的细胞相似,含有多种化学成分,包括水、无机盐、蛋白质、糖类、脂类与核酸等。水分是细菌细胞的主要成分,约占细菌重量的80%,其余为细菌的固体成分。在细菌的固体成分中,无机盐占固体成分的10%左右,以磷为最多;蛋白质占50%~80%,大多为复合蛋白,如核蛋白、糖蛋白、脂蛋白等;糖类占10%~30%;脂类占1%~7%;核酸包括DNA和RNA两种。

此外,细菌还含有与其他生物细胞不同的成分,如肽聚糖、磷壁酸、D-氨基酸、二氨基庚二酸、吡啶二羧酸等。

第四节 细菌的营养与生长繁殖

一、细菌的营养

(一) 细菌的营养物质

细菌从周围环境中吸收的作为代谢活动必需的有机物与无机物称为细菌的营养物质。各种细菌在生长繁殖时对营养物质的要求虽然有很大差异,但不外乎水、碳源、氮源、无机盐和生长因子等。

1. 水 所有细菌不可或缺的成分,细菌营养的吸收、渗透、分泌、排泄等均以水为媒介;其新陈代谢过程的生化反应都必须在有水的条件下方能进行。

2. 碳源 各种无机或有机的含碳化合物,如 CO_2 、碳酸盐、糖、脂肪等都能被细菌吸收、利用并作为合成菌体结构成分所必需的原料;同时,其也是细菌代谢活动的主要能量来源。致病菌所需的碳源主要是从葡萄糖、麦芽糖和甘油中获得的。

3. 氮源 致病菌主要将有机氮化物,如蛋白胨、氨基酸等作为氮源。细菌摄取的氮主要被用于合成蛋白质、酶与核酸等。

4. 无机盐 细菌需要钾、钠、钙、镁、硫、磷、铁、氯等无机盐。这些无机盐的主要作用除构成菌体成分外,更重要的是可以调节菌体的内外渗透压、激活酶等。某些元素还与细菌致病因素的产生有关,如白喉毒素的产生受培养基中铁含量的影响。

5. 生长因子 某些细菌在生长过程中还需要获取一些自身不能合成的物质,主要是维生素、某些氨基酸、嘌呤、嘧啶等;还有少数细菌需要特殊的生长因子,如流感嗜血杆菌需要血液中的 X 因子和 V 因子。X 因子是细胞色素氧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶的辅基,即高铁血红素;V 因子是辅酶 I 或辅酶 II,是脱氢酶的辅酶。这些都是细菌所必需的物质。

(二) 细菌的营养类型

1. 自养菌 以简单的无机物,如 CO_2 、 N_2 等为原料合成菌体成分。其中,通过无机物氧化获能的细菌称为化能自养菌,通过光合作用获能的细菌称为光能自养菌。

2. 异养菌 必须以多种有机物,如蛋白质、糖类等为原料才能合成菌体成分并获能。异养菌可分为以动植物尸体、腐败食物为营养物的腐生菌和寄生于活体内并从宿主的有机物中获得营养的寄生菌。所有致病菌均为异养菌,大多数为寄生菌。

二、细菌的生长繁殖

(一) 细菌生长繁殖的条件

1. 充足的营养物质 无论是在机体内生长繁殖,还是在体外人工培养,细菌都必须得到充足的营养物质供应,而且不同细菌的嗜性需要得到满足,达到其营养要求,这样才能生长繁殖。

2. 适宜的氢离子浓度 大多数致病菌生长繁殖时所需的最适 pH 为 7.2~7.6。个别细菌(如霍乱弧菌)在 pH 为 8.4~9.2 时生长得最好,结核分枝杆菌在 pH 为 6.5~6.8 时生长得最好。

3. 合适的温度 致病菌为嗜温菌,大多数致病菌生长繁殖的最适温度为 37℃,与人的体温基本



视频
细菌的生殖

一致。个别细菌(如鼠疫耶氏菌)在 28~30 °C 的条件下生长最好。

4. 必要的气体环境 致病菌生长繁殖时需要的氧气主要是 O₂ 和 CO₂。根据细菌对 O₂ 的需要情况,细菌可分为以下几类。

(1) 需氧菌或专性需氧菌:必须在有氧的条件下才能生长,如结核分枝杆菌、铜绿假单胞菌等。

(2) 微需氧菌:只有在低氧压(5%左右)下才能生长,当氧压大于 10% 时其生长会受到抑制,如空肠弯曲菌、幽门螺杆菌等。

(3) 厌氧菌或专性厌氧菌:必须在无氧条件下才能生长,如破伤风梭菌、脆弱类杆菌等。

(4) 兼性厌氧菌:在有氧、无氧条件下均能生长,但有氧时生长得较好,大多数致病菌为此类,如葡萄球菌、伤寒沙门菌、痢疾志贺菌等。

大多数致病菌在代谢中自身产生的 CO₂ 即可满足需要,而个别细菌,如脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、布氏杆菌等在初次人工培养时需要为其提供 5%~10% 的 CO₂ 才能较好地生长。

(二) 细菌的繁殖方式和速度

细菌以二分裂的方式进行无性繁殖。一个细菌生长到一定时间,其中间逐渐形成横隔,将一个细胞分裂成两个相同的子细胞。细菌的繁殖速度很快,繁殖一代所需要的时间随细菌的种类不同而异,且受环境条件的影响。在各种条件满足时,一般细菌(如大肠埃希菌)繁殖一代用时 20~30 分;个别细菌(如结核分枝杆菌)分裂较慢,繁殖一代用时 18~20 小时。

(三) 细菌群体生长繁殖的规律

细菌的生长繁殖速度快得惊人,在最佳条件下,若 20 分繁殖一代,则一个细菌在 10 小时后即可增殖到 10 亿个以上。在自然界中,受多种因素的影响,细菌的增殖远没有这么快。在人工培养细菌时,细菌连续繁殖一定时间后,由于细菌群体大量堆积、营养物消耗、代谢废物积聚及 pH 改变等,其繁殖速度逐渐减慢甚至停止。将一定量的细菌接种于适合的培养基后,以培养时间为横坐标,培养物中细菌数的对数为纵坐标,就可以绘出一条生长曲线(图 11-10),该曲线大致可分为四个时期。

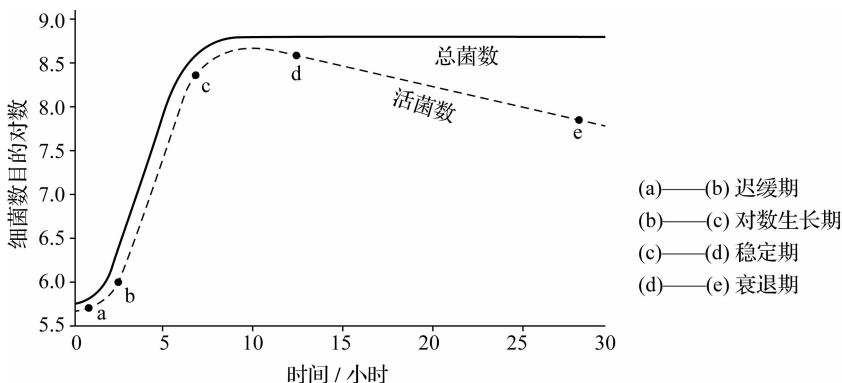


图 11-10 细菌群体生长曲线

1. 迟缓期 为最初培养的 1~4 小时。此期是细菌适应新环境的过程,菌体增大,代谢活跃,可为细菌的分裂增殖合成储备充足的酶和能量,因而其分裂迟缓。

2. 对数生长期 处于对数生长期的细菌可以恒定的几何级数迅速增长,活菌数目呈对数直线上长。对数生长期可持续几小时至数天不等,一般为 10 小时左右。对数生长期细菌的形态、大小、染色性、生物活性等性状典型,对抗生素敏感。因此,研究细菌的性状时最好选用此期的细菌。

3. 稳定期 在细菌生长的稳定期,由于培养基中的营养物质消耗、毒性产物积聚及 pH 下降等,细菌的繁殖速度渐趋下降,繁殖数与死亡数大致平衡,活菌数保持相对稳定。稳定期细菌的性状可发生改变,如 G⁺ 菌可被染成 G⁻ 菌。细菌的芽胞和外毒素、抗生素等代谢产物多在此期形成。

4. 衰退期 细菌的繁殖越来越慢,死菌数迅速超过活菌数。处于衰退期的细菌的形态可发生显著改变,菌体变长、肿胀或扭曲,甚至发生自溶,不易辨认。

第五节 细菌的新陈代谢

细菌的新陈代谢包括分解代谢和合成代谢,它们都是在细菌酶的催化下进行的。分解代谢是将营养物质或胞内物降解为简单的化合物,同时释放能量的过程;合成代谢是将简单的化合物合成为复杂的菌体成分或其他物质,同时消耗能量的过程。细菌的分解代谢产物及合成代谢产物在医学上均具有重要的价值。

一、细菌的分解代谢产物及生化反应

各种细菌所具有的酶不完全相同,对糖和蛋白质的分解能力及形成的代谢产物也不一致,临床工作者可通过生化反应(生化试验)检测这些代谢产物,从而鉴别细菌。生化反应的种类和方法很多,常用的有以下几种。

(一) 糖发酵试验

不同的细菌对各种糖的分解能力及形成的代谢产物不同,临床上可借此鉴定细菌。例如,大肠埃希菌可分解葡萄糖和乳糖,产酸产气(用“ \oplus ”表示);而伤寒沙门菌仅能分解葡萄糖,产酸不产气(用“+”表示),不分解乳糖(用“-”表示)。糖发酵试验是鉴定细菌最常用的生化反应,特别适用于肠杆菌科细菌的鉴定。

(二) VP 试验

大肠埃希菌和产气肠杆菌均可分解葡萄糖并产酸产气,但产气肠杆菌能使丙酮酸脱羧生成乙酰甲基甲醇,后者在碱性溶液中可被氧化为二乙酰,二乙酰与含胍基的化合物反应生成红色化合物,为VP试验阳性。大肠埃希菌不能生成乙酰甲基甲醇,VP试验呈阴性。

(三) 甲基红试验

产气肠杆菌能使丙酮酸脱羧生成中性的乙酰甲基甲醇,故培养液pH大于5.4,甲基红指示剂呈橘黄色,为甲基红试验阴性。大肠埃希菌分解葡萄糖并产生丙酮酸,不生成乙酰甲基甲醇,培养液pH小于5.4,甲基红指示剂呈红色,为甲基红试验阳性。

(四) 靛基质试验

大肠埃希菌、变形杆菌、霍乱弧菌等含有色氨酸酶,能分解蛋白胨水中的色氨酸,生成无色的靛基质(又名吲哚)。若在培养液中加入对二甲氨基苯甲醛,则可生成红玫瑰色的靛基质,为靛基质试验阳性。产气肠杆菌因无色氨酸酶,故为靛基质试验阴性。

(五) 硫化氢试验

变形杆菌、肖氏沙门菌、鼠伤寒沙门菌等能分解含硫氨基酸(胱氨酸或半胱氨酸),产生硫化氢。在培养基中加入铅化物或铁化合物,硫化氢可与其反应生成黑色的硫化铅或硫化铁,为硫化氢试验阳性。

(六) 尿素分解试验

变形杆菌具有尿素酶,能迅速分解尿素而产生氨,使培养基呈碱性,加入酚红指示剂后呈红色,为尿素分解试验阳性。

二、细菌的合成代谢产物及其意义

细菌在合成代谢过程中除合成菌体自身成分外,还可合成一些其他代谢产物,这些代谢产物有的与细菌的致病作用有关,有的可用于鉴别细菌或防治疾病。

(一) 毒素和侵袭性酶

致病菌能合成对人和动物有毒性的物质,称为毒素。细菌的毒素分内毒素和外毒素两种,它们均有很强的毒性,尤以外毒素为甚。内毒素是 G^- 菌细胞壁中的脂多糖,菌体死亡或裂解后才能被释放出来;外毒素是由多数 G^+ 菌及少数 G^- 菌在代谢过程中合成并分泌到菌体外的毒性蛋白质。某些细菌还能产生具有损伤机体组织、促使细菌扩散的侵袭性酶,如链球菌产生的透明质酸酶与链激酶、产气荚膜杆菌产生的卵磷脂酶等。细菌产生的毒素和侵袭性酶是细菌重要的致病因素。

(二) 热原质

许多 G^- 菌与少数 G^+ 菌在代谢过程中能合成一种物质,注入机体可致发热,这种物质称为热原质或致热原。 G^- 菌的热原质是细胞壁中的脂多糖, G^+ 菌的热原质是一种多糖。热原质耐热,不易被高压蒸汽(121 °C、20 分)破坏。注射用药液、器皿等如被细菌污染,就可能有热原质产生。因此,临床工作者在制备注射用制剂时应严格遵守无菌操作技术规范,防止细菌污染;药剂必须用无热原质的蒸馏水配制;玻璃器皿和用具要经 250 °C 高温干烤,这样才能破坏热原质;液体中的热原质可用吸附剂或过滤等方法除去。

(三) 抗生素

某些微生物在代谢过程中产生的一种能抑制和杀灭其他微生物或癌细胞的物质称为抗生素。由细菌产生的抗生素很少,仅有多黏菌素、杆菌肽等。大多数抗生素是由放线菌和真菌产生的,如链霉素、青霉素等。

知识链接

抗生素的生产

几乎所有的抗生素都是利用微生物的代谢产物制成的。例如,临床上经常使用的青霉素是从青霉菌的代谢产物中提取出来的;链霉素、红霉素等均为放线菌中链丝菌的不同菌株的代谢产物。

(四) 细菌素

细菌素(bacteriocin)是某些细菌产生的一种仅对近缘关系的细菌有抗菌作用的蛋白质。细菌素的产生受菌体内质粒的控制,如大肠菌素为大肠埃希菌的 Col 质粒编码。细菌素的种类有很多,常按相应的产生细菌命名,如大肠菌素、绿脓菌素、弧菌素、葡萄球菌素等。细菌素主要可抑制菌体蛋白的合成,而且具有种和型的特异性。因此,细菌素在细菌分型和流行病学调查上具有一定的应用价值。

(五) 维生素

某些细菌能合成自身所需的维生素,并能分泌到菌体外供机体吸收利用,如人体肠道内的大肠埃希菌能合成维生素 B_6 、维生素 B_{12} 和维生素 K 等。

(六) 色素

某些细菌在一定条件下(营养丰富、氧气充足、温度适宜)能产生不同颜色的色素,有助于细菌的鉴别。细菌产生的色素有以下两类。

1. 水溶性色素 能弥散至整个培养基或周围组织,如铜绿假单胞菌产生的绿色色素为水溶性的,可把整个培养基、伤口或感染性的脓汁与敷料染成绿色;
2. 脂溶性色素 不溶于水,仅局限在菌落内,而培养基颜色不变,如金黄色葡萄球菌产生的金黄色色素。

第六节 细菌的遗传与变异

遗传与变异是生物界的普遍现象,细菌与其他生物一样具有遗传和变异的生命特征。细菌在一定环境条件下进行繁殖时可将其生物学性状相对稳定地传给子代,这种现象称为遗传。遗传保证了细菌子代的基本特征与亲代相似,使细菌的种属得以保存。当外界环境条件改变或细菌的遗传物质结构发生改变时,细菌原有的性状就会相应的改变,这种现象称为变异。变异保证了细菌在自然界中不断地进化并得以生存。

一、细菌的变异现象

细菌的变异主要包括大小、形态与结构变异,菌落变异,毒力变异和耐药性变异四个方面。

(一) 大小、形态与结构变异

在生长过程中,受外环境等因素的影响,细菌的大小、形态与结构均可发生变异。例如,在鼠疫耶氏菌的陈旧培养物或含有 3%NaCl 的培养基上,细菌的形态可由两端钝圆、浓染的杆形变为球形、棒状、哑铃形等。在青霉素、溶菌酶、免疫血清和补体等的影响下,许多细菌的细胞壁合成受到抑制,可形成细胞壁缺陷型细菌,称为 L 型细菌(因在 Lister 研究院首先被发现,故以其姓名第一个字母“L”命名)。L 型细菌革兰染色多呈阴性。由于 L 型细菌缺乏完整的细胞壁,不能维持其固有的形态,因此在表面张力的作用下其一般呈球形或表现为多形性。

细菌的荚膜、鞭毛、芽胞等特殊结构也可发生变异。例如,肺炎链球菌在机体内或在血平板上初分离时具有荚膜,但在体外培养基中经多次传代后荚膜会逐渐消失,其致病力亦随之减弱。如将有鞭毛的变形杆菌接种在普通固体培养基表面,由于鞭毛的动力作用,细菌可弥散生长,形似薄膜状,称为 H(薄膜)菌落。将此变形杆菌接种于含 1%石炭酸的培养基中培养,则鞭毛的生长受到抑制,细菌的生长仅限于接种部位,不呈薄膜状分布,称为 O(无薄膜)菌落。因此,细菌鞭毛从有到无的变异称为 H-O 变异,又常以 H 代表细菌的鞭毛,O 代表细菌的菌体。将能形成芽胞、毒力强的炭疽芽胞杆菌置于 42℃ 的环境中培养 10~20 天后,其会丧失形成芽胞的能力,毒力也随之减弱。

(二) 菌落变异

细菌的菌落主要有光滑(smooth,S)型和粗糙(rough,R)型两种。光滑型(S型)菌落表面光滑、湿润、边缘整齐,粗糙型(R型)菌落表面粗糙、干燥、有皱折、边缘不整齐。刚从标本中分离出的细菌菌落多为 S 型,经长期人工培养后,则变为 R 型。细菌菌落由光滑型变为粗糙型的变异称为 S-R 变异。当细菌发生菌落变异时,其毒力、免疫原性、理化性状等也会发生改变。一般而言,S 型菌落的致病性强,但也有少数细菌(如结核分枝杆菌、炭疽芽胞杆菌等)有毒力的菌落是 R 型,而无毒力的菌落则为 S 型。

(三) 毒力变异

细菌的毒力变异可分为毒力减弱和毒力增强两种情况。毒力强的细菌经长期的人工培养或在培

培养基中加入少量对其生长不利的化学物质、抗生素或免疫血清等可使其毒力减弱。但无毒力或毒力弱的细菌也能经变异成为有毒力或毒力强的细菌,如无毒的白喉棒状杆菌感染 β 棒状杆菌噬菌体成为溶原性细菌后即能产生白喉外毒素,成为有毒力的白喉棒状杆菌。

知识链接

卡介苗的发明

1908年,法国巴斯德研究院的 Calmette 和 Guerin 两人把从牛奶中分离到的有毒的牛型结核分枝杆菌培养在含有胆汁、甘油、马铃薯的培养基上,经 13 年 230 次的转种培养于 1921 年获得了一种毒力高度减弱但仍保持原有免疫原性的变异结核菌株,这种变异结核菌株就是现在用来预防结核病的疫苗。人们为了纪念这两位科学家,将此疫苗命名为卡介苗。

(四) 耐药性变异

细菌对某种抗菌药物由敏感变为耐药的变异称为耐药性变异。自从抗生素等抗菌药物被广泛应用以来,耐药菌株逐年增加。据统计,金黄色葡萄球菌耐青霉素的菌株已从 1946 年的 14% 上升至目前的 90% 以上,有些细菌表现为同时耐受多种药物,成为多重耐药性菌株。常见的耐药菌还有结核分枝杆菌、痢疾杆菌、铜绿假单胞菌等。大量耐药菌的出现给临床感染性疾病的治疗带来了极大的困难,成为现代医学界广泛关注的问题。

二、细菌遗传变异的物质基础

细菌遗传变异的物质基础是细菌的染色体和质粒,其化学本质都是 DNA。此外,噬菌体是寄生于某些细菌的病毒,其基因可整合于细菌 DNA 上,因此与细菌的遗传变异有关。

(一) 细菌染色体

细菌的染色体是其核质 DNA,是细菌生命活动所必需的遗传物质,为一条环状双螺旋 DNA 长链,在菌体内盘旋缠绕成丝团状,附着在横隔中介体或细胞膜上,不含组蛋白,外无核膜。例如,大肠埃希菌的染色体 DNA 有 4 000~5 000 个基因,可编码 2 000 多种酶类及其他结构蛋白。

(二) 质粒

质粒(plasmid)是细菌染色体外的遗传物质,为双股环状 DNA。大质粒可含几百个基因,小质粒仅含 20~30 个基因。质粒主要有如下特性。

1. 可赋予细菌某些特定的遗传性状 几种较主要的质粒及其功能如下。

(1) F 质粒(fertility plasmid):编码细菌性菌毛,有 F 质粒的细菌即 F^+ 菌,无 F 质粒的细菌即 F^- 菌。 F^+ 菌可通过性菌毛将质粒传递给 F^- 菌。

(2) R 质粒(resistance plasmid):带有一种或多种耐药基因,可使细菌获得对抗菌药物的耐药性。

(3) Vi 质粒(virulence plasmid):编码细菌毒力。

(4) Col 质粒(colicinogenic plasmid):使大肠埃希菌产生大肠菌素。

2. 具有自我复制的能力 存在于多种细菌胞质内的质粒可不依赖染色体而独立进行复制,并随细菌的分裂传入子代细菌。

3. 可丢失或消除 质粒不是细菌生命活动所必须依赖的遗传物质,可自行丢失或经紫外线等理化因素处理而消除。失去质粒的细菌的生命活动不受影响,但由质粒赋予细菌的性状随之

消失。

4. 可在细菌间转移 可编码性菌毛,以接合方式转移的质粒称为接合性质粒;不能编码产生性菌毛的质粒称为非接合性质粒。非接合性质粒可通过转化、转导等方式在细菌间转移。

(三) 噬菌体

噬菌体(bacteriophage)是一类侵袭细菌、放线菌、螺旋体、真菌等微生物的病毒,其在感染宿主菌后经过增殖,最终能使宿主菌裂解。在电子显微镜下,噬菌体有3种外形,即蝌蚪形、微球形和细杆形。大多数噬菌体呈蝌蚪形,由头部和尾部组成(图11-11)。蛋白质构成噬菌体的头部外壳及尾部,其中尾部包括尾须、尾领、尾鞘、尾髓、尾板、尾刺和尾丝。有尾噬菌体的核酸均为双股DNA,无尾噬菌体的核酸为单股DNA或RNA。核酸存在于噬菌体头部的壳内。当噬菌体感染细菌时,其尾刺或尾丝吸附在敏感菌的相应受体上,通过尾鞘收缩将位于头部的核酸经尾髓注入菌细胞。

噬菌体感染细菌后可产生两种不同的结果,并依此将噬菌体分为毒性噬菌体和温和噬菌体两种类型。

1. 毒性噬菌体 能在宿主菌内复制增殖,产生众多子代噬菌体,并最终裂解细菌。裂解细菌的过程即以噬菌体DNA为模板,复制子代核酸,并合成蛋白质外壳,然后按一定的程序装配成完整、成熟的噬菌体。当子代噬菌体达到一定数目时,菌细胞裂解,释放出噬菌体,此过程称为溶菌周期。

2. 温和噬菌体 感染细菌后,其基因组与宿主菌的染色体整合,不产生子代噬菌体,但随细菌DNA的复制而复制,并随细菌的分裂而传代。整合在细菌染色体上的噬菌体基因组称为前噬菌体。带有前噬菌体的细菌称为溶原性细菌(lysogenic bacterium)。整合的前噬菌体可偶尔自发地或在某些理化等因素的诱导下脱离宿主菌的染色体进入溶菌周期,导致细菌裂解。

此外,某些前噬菌体从宿主菌染色体上脱离时可携带宿主菌的DNA片段;或者噬菌体在装配时将宿主菌的DNA片段错误装入,从而产生带有宿主菌DNA的噬菌体。这些噬菌体可作为载体将宿主菌的遗传物质转移到受体菌中。

某些前噬菌体可导致细菌基因型和性状发生改变而赋予细菌新的性状。溶原性细菌若失去前噬菌体,则有关性状亦随之消失。例如,白喉杆菌产生白喉毒素是因为前噬菌体带有毒性蛋白的结构基因;肉毒杆菌的肉毒毒素、溶血性链球菌的红疹毒素的产生等都与前噬菌体有关。

三、细菌变异的发生机制

(一) 基因突变

突变是指细菌的遗传基因发生突然而稳定的改变,导致细菌性状的遗传性变异。根据DNA核苷酸序列中改变的片段大小的不同,突变可分为小突变和大突变。小突变又称基因突变或点突变,是由个别碱基的置换、插入或缺失引起的,一般只引起极少细菌发生少数性状的变化。大突变又称染色体畸变,是由大段DNA核苷酸序列的改变引起的,此种突变常导致细菌死亡。



动画
噬菌体构型图

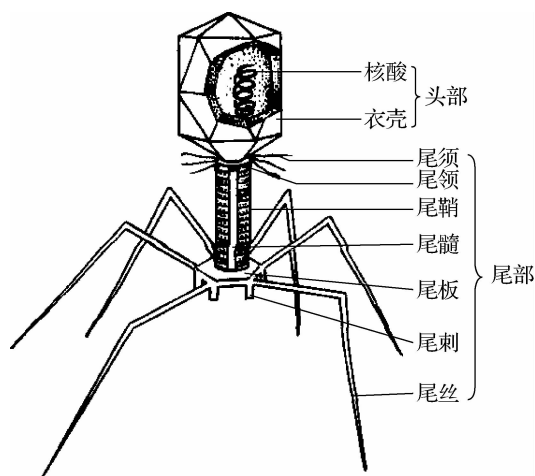


图 11-11 噬菌体结构



动画
噬菌体感染细菌示意



动画
噬菌体在大肠杆菌表面行走寻找感染位点

细菌的基因突变较为常见,在生长繁殖过程中常自然发生,称为自发突变。基因的突变率极低,细菌每分裂 $10^6 \sim 10^9$ 次才发生1次。用高温、紫外线等理化因素诱导的细菌突变称为诱发突变,其突变率可比自发突变高 $10 \sim 1\,000$ 倍。

(二) 基因的转移与重组

细菌从外源取得DNA(包括染色体DNA、质粒DNA、噬菌体基因等)并与自身染色体DNA进行重组,引起细菌原有基因组的改变,导致细菌遗传性状的变化,称为基因的转移与重组。在基因转移中,提供DNA的细菌称为供体菌,接受DNA的细菌称为受体菌。细菌基因转移和重组的方式有转化、接合、转导和溶原性转换等。

1. 转化 受体菌直接摄取供体菌游离的DNA片段并与自身基因重组后获得新遗传性状的过程称为转化(transformation)。例如,活的无荚膜肺炎链球菌(II R)摄取死了的有荚膜肺炎链球菌(III S)的DNA片段并与自身的基因重组后获得了形成荚膜的能力,转变成了有荚膜肺炎链球菌(III S)。

2. 接合 细菌通过性菌毛将遗传物质(主要为质粒DNA)从供体菌转移给受体菌,使受体菌获得新遗传性状的过程称为接合(conjugation)。接合性质粒主要有F质粒、R质粒等。

(1) F质粒的接合: F^+ 菌通过性菌毛的末端与 F^- 菌表面的相应受体结合,性菌毛缩短使两菌间形成通道, F^+ 菌F质粒DNA中的一条链断开并通过性菌毛通道进入 F^- 菌,两菌细胞内的单股DNA链各以滚环模式复制成为双股DNA的F质粒。F质粒接合的结果是 F^- 菌获得F质粒变为 F^+ 菌,原来的 F^+ 菌仍保留有F质粒(图11-12)。

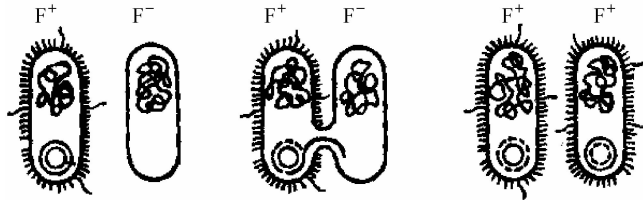


图 11-12 F 质粒接合

(2) R质粒的接合:R质粒可分为接合性R质粒和非接合性R质粒。

1) 接合性R质粒:由耐药决定因子(r 决定因子)和耐药传递因子(resistance transfer factor, RTF)两部分组成。前者编码对抗菌药物(一种或多种)的耐受性,后者编码性菌毛,故接合性R质粒可通过接合的方式转移R质粒。当RTF与多个 r 决定因子组成R质粒时,称为多重耐药性质粒,含有这种质粒的细菌(称为多重耐药菌)可同时对多种抗菌药物产生耐受性。

2) 非接合性R质粒:因不含耐药传递因子,故不能通过接合的方式转移,但可经转导或转化等方式转移。目前,耐药菌株广泛存在,除与耐药性突变有关外,主要与R质粒在细菌间的转移有很大关系。

3. 转导 以温和噬菌体为载体,将供体菌的一段DNA转移到受体菌内,使受体菌获得新性状的过程称为转导(transduction)。根据转导供体菌基因片段的范围,转导可分为普遍性转导和局限性转导。

4. 溶原性转换 溶原性细菌因获得噬菌体基因而导致DNA结构改变,从而表现出新性状的过程称为溶原性转换。例如,无毒性的白喉棒状杆菌、产气荚膜梭菌、肉毒梭菌和A族溶血性链球菌均可在噬菌体感染呈溶原状态时产生外毒素。

四、细菌变异的实际应用

目前,细菌变异已在临床多个方面被广泛应用。

（一）在疾病诊断、治疗和预防中的应用

1. 在疾病诊断方面的应用 由于细菌在形态、结构、染色、生化反应、毒力、抗原性等方面都可能发生变异,故在临床细菌学检查中常会遇到一些生物学性状不典型的菌株,这给实验室诊断带来了一定的困难。因此,了解细菌的变异规律将有助于这方面工作的顺利进行。例如,临床细菌感染患者可在大量使用青霉素、先锋霉素等抗生素治疗时使细菌失去细胞壁变为 L 型细菌(细胞壁缺陷菌)。L 型细菌在普通培养基上不易生长,选用高渗培养基才能分离出,故细菌感染症状明显而常规培养呈阴性者应考虑 L 型变异的可能性。

2. 在疾病治疗方面的应用 由于临床上抗菌药物的广泛使用,从患者体内分离到的耐药菌株日益增多。为了防止细菌耐药性的产生及扩散,提高抗生素的疗效,临床工作者应在实施治疗前从患者体内分离出病原菌做药敏试验,以选用敏感药物。同时,临床工作者应注意足量、合理、联合使用抗菌药物,尽量避免耐药菌株的形成。

3. 在疾病预防方面的应用 由于细菌能发生毒力变异,因而临床上可采用人工方法诱导细菌变异,以获得减毒或无毒菌株,制成活疫苗,预防相应的传染病。目前,临床使用的活疫苗,如卡介苗、炭疽疫苗及鼠疫疫苗等都是用病原微生物的减毒变异株制成的。

（二）在检测致癌物质方面的应用

一般认为基因突变是导致细胞恶性转化的重要原因。凡能诱导细菌突变的物质都有可能是致癌物质,因此,临床上可利用能否致细菌突变来检测致癌物质。Ames 试验是把鼠伤寒沙门菌的组氨酸营养缺陷型(his^-)菌株接种在缺乏组氨酸的培养基上,加入待检测的可疑致癌物质作为诱变剂,若 his^- 菌株发生突变成为 his^+ 菌株,则能在该培养基上生长。比较含有被检测物的试验平板与无被检测物的对照平板,计数培养基上的菌落数。凡能提高突变率,诱导菌落生长较多者均具有致癌的可能性。

（三）在基因工程方面的应用

基因工程是根据细菌可以通过基因转移和重组获得新性状的原理设计的。具体实施方法是:从供体细胞(细菌或其他生物细胞)的染色体 DNA 上用内切酶切取一段需要表达的基因,即所谓的目的基因,然后将目的基因结合在合适的载体(质粒或噬菌体)上,通过载体将目的基因转移到受体菌(工程菌)内与受体菌的基因重组,使受体菌表达目的基因的产物,随着细菌的大量繁殖,即可表达出大量所需的基因产物。目前,人们已能通过基因工程技术获得多种用传统方法较难大量得到的生物制剂,其中有用于治疗疾病的胰岛素、干扰素、生长激素、凝血因子和白细胞介素,还有用于预防疾病的疫苗(如乙肝表面抗原)等。

第七节 细菌的形态结构检查与人工培养

一、细菌的形态结构检查

细菌个体微小,必须借助显微镜才能观察到。常用的显微镜有普通光学显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜、电子显微镜等。检查法可分为不染色标本检查法和染色标本检查法两种。因菌体无色透明、折光性与周围环境相差不多,经固定染色后在显微镜下才能观察清楚,故一般的细菌形态学检查常用染色标本检查法。

染色标本检查法一般包括制片、染色和镜检三个基本步骤。在染色标本检查中最常用的是革兰染色法,它是由丹麦细菌学家革兰(Hans Christian Gram)于1884年创建的,具体操作为:标本经固定后先用碱性结晶紫初染,然后加碘液媒染,再用95%乙醇处理,有些细菌被脱色,有些细菌不被脱色,最后用稀释复红复染。染色标本检查法可将所有细菌分为两大类:不被乙醇脱色仍保留紫色者为 G^+ 菌,被乙醇脱色后复染成红色者为 G^- 菌。革兰染色对鉴别细菌、指导临床选择药物、研究和了解细菌的致病性等具有极其重要的实际意义。

二、细菌的人工培养

人工培养细菌是依据细菌的生理需要,用人工方法提供细菌生长繁殖所需的各种条件,以培养细菌的方法。人工培养细菌在研究与了解细菌的生理需要、细菌生长繁殖的规律、对感染性疾病进行病原学诊断和治疗、生物制品的研制及工农业生产等方面具有重要的实际意义。

(一) 培养基及其分类

培养基是人工配制的适合细菌生长繁殖的营养基质。制作培养基时要调整pH为7.2~7.6,经灭菌后即可使用。根据性质和用途,培养基可分为基础培养基、营养培养基、增菌培养基、合成培养基、选择培养基、鉴别培养基和厌氧培养基等。按物理性状,培养基可分为液体培养基、固体培养基和半固体培养基。

(二) 细菌在培养基中的生长现象

1. 液体培养基 大多数细菌在液体培养基中生长后可呈均匀混浊状态,少数细菌可出现沉淀和菌膜生长(表面生长)。

2. 固体培养基 固体培养基含1%~2%的琼脂。采用划线分离接种的单个细菌经过一定时间(18~24小时)的培养后形成的单一、肉眼可见的细菌集团称为菌落(colony)。挑取一个菌落,移种到另一个培养基中,生长出来的细菌均为纯种,称为纯培养。各种细菌的菌落在形状、大小、颜色、边缘整齐度、表面光滑度、湿润度、透明度、凹凸情况及在血平板上的溶血情况等方面均有很大的差异,这些有助于识别和鉴定细菌。

细菌的菌落一般可分为以下3类。

(1) 光滑型菌落(smooth colony, S型菌落):表面光滑、湿润,边缘整齐,如葡萄球菌、脑膜炎奈瑟菌、大肠埃希菌的菌落。

(2) 粗糙型菌落(rough colony, R型菌落):表面粗糙、干燥,呈皱纹或颗粒状,边缘不整齐,如炭疽杆菌、结核分枝杆菌的菌落。

(3) 黏液型菌落(mucoïd colony, M型菌落):黏稠、有光泽,似水珠样。M型菌落多见于有厚荚膜或丰富黏液层的细菌,如肺炎克雷白杆菌的菌落。

3. 半固体培养基 半固体培养基含0.5%的琼脂,有鞭毛的细菌在其中可沿穿刺线向四周扩散,呈羽毛状或云雾状混浊生长;无鞭毛的细菌不能运动,仅沿穿刺线呈明显的线状生长。

(三) 人工培养细菌的意义

1. 用于细菌的鉴定与研究 对细菌进行鉴定,以及对细菌的形态、代谢活动、生化反应、抗原结构、致病性等方面的研究均须人工培养细菌。

2. 用于传染病的诊断与药物敏感性分析 要判断某种传染病是由何种细菌引起,就必须从患者体内分离并培养出致病菌,鉴定种属后方可确诊。此外,测定致病菌对药物的敏感性,以便临床选择有效药物进行治疗也必须采取人工培养细菌的措施。

3. 用于生物制品的制备 制备各种菌苗、类毒素、抗毒素、免疫血清、诊断血清、诊断菌液等生物

制品均须人工培养细菌。

4. 用于细菌毒力分析 对某些细菌采用一般实验室检查法不能确定其毒力时,须经人工培养细菌、动物接种来分析鉴定有无毒力及毒力的强弱。

5. 用于基因工程 由于细菌具有繁殖快、易培养的特点,因此常被用作接受基因的受体。目前,人工培养细菌在基因工程方面的应用已取得了多项成果,如成功制备干扰素、IL-2、乙肝疫苗、胰岛素等。

【思考题】

1. 简述革兰阳性菌和革兰阴性菌细胞壁的构成及两者的主要区别。
2. 简述细菌的特殊结构及其意义。
3. 简述细菌的合成代谢产物及其意义。
4. 简述细菌生长繁殖的条件、方式及速度。
5. 人工培养细菌有何意义?
6. 阐述 L 型细菌、H-O 变异和 S-R 变异的概念。
7. 质粒有何特性?
8. 阐述噬菌体、转化、接合、溶原性细菌和转导的概念。
9. 常见的细菌变异现象有哪些?
10. 细菌的变异知识有何实际应用?