



“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材

“十三五”全国高等医学院校本科规划教材

供基础、临床、护理、预防、口腔、中医、药学、医学技术类专业用

医学微生物学

Medical Microbiology

(第4版)

主 编 张凤民 肖纯凌 彭宜红

副主编 钟照华 林 旭 金玉怀 李波清 汤 华

编 委 (按姓名汉语拼音排序)

安 静 (首都医科大学)	沈 攸 (北京大学医学部)
包丽丽 (内蒙古医科大学)	汤 华 (天津医科大学)
陈峥宏 (贵州医科大学)	王 丽 (吉林大学白求恩医学部)
揣 侠 (河北医科大学)	王光西 (西南医科大学)
方艳辉 (承德医学院)	王国庆 (吉林大学白求恩医学部)
付玉荣 (潍坊医学院)	王明永 (新乡医学院)
韩 俭 (兰州大学基础医学院)	王培刚 (首都医科大学)
金玉怀 (河北医科大学)	肖纯凌 (沈阳医学院)
赖小敏 (中山大学中山医学院)	杨 帆 (新乡医学院)
李波清 (滨州医学院)	姚淑娟 (齐齐哈尔医学院)
李明远 (四川大学华西医学中心)	张 毓 (北京大学医学部)
李晓霞 (天津医科大学)	张凤民 (哈尔滨医科大学)
林 旭 (福建医科大学)	张力平 (首都医科大学)
凌 虹 (哈尔滨医科大学)	张雄鹰 (长治医学院)
刘 新 (沈阳医学院)	章广玲 (华北理工大学)
刘延菊 (河北工程大学)	赵飞骏 (南华大学衡阳医学院)
鲁凤民 (北京大学医学部)	赵英会 (山东第一医科大学)
马淑霞 (佳木斯大学基础医学院)	钟照华 (哈尔滨医科大学)
孟繁平 (延边大学医学院)	朱 帆 (武汉大学医学部)
彭宜红 (北京大学医学部)	庄 敏 (哈尔滨医科大学)
强 华 (福建医科大学)	

秘 书 庄 敏

北京大学医学出版社

YIXUE WEISHENGWUXUE

图书在版编目 (CIP) 数据

医学微生物学 / 张凤民, 肖纯凌, 彭宜红主编. —4 版.
—北京: 北京大学医学出版社, 2018. 12 (2020. 1 重印)

ISBN 978-7-5659-1900-8

I. ①医… II. ①张… ②肖… ③彭… III. ①医学微生物学 - 医学院校 - 教材 IV. ① R37

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 244576 号

医学微生物学 (第 4 版)

主 编: 张凤民 肖纯凌 彭宜红

出版发行: 北京大学医学出版社

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

电 话: 发行部 010-82802230; 图书邮购 010-82802495

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E-mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京溢漾印刷有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 韩忠刚 责任校对: 靳新强 责任印制: 李 啸

开 本: 850 mm × 1168 mm 1/16 印张: 27.75 字数: 800 千字

版 次: 2018 年 12 月第 4 版 2020 年 1 月第 3 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5659-1900-8

定 价: 62.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

修订说明

国务院办公厅颁布《关于深化医教协同进一步推进医学教育改革与发展的意见》、以“5+3”为主体的临床医学人才培养体系改革、教育部本科临床医学专业认证等一系列重要举措，对新时期高等医学教育人才培养提出了新的要求，也为教材建设指明了方向。

北京大学医学出版社出版的临床医学专业本科教材，从2001年开始，历经3轮修订、17年的锤炼，各轮次教材都高比例入选了教育部“十五”“十一五”“十二五”国家级规划教材。为了顺应医教协同和医学教育改革与发展的要求，北京大学医学出版社在教育部、国家卫生健康委员会和中国高等教育学会医学教育专业委员会指导下，经过前期的广泛调研、综合论证，启动了第4轮教材的修订再版。

本轮教材基于学科制课程体系，在院校申报和作者遴选、编写指导思想、临床能力培养、教材体系架构、知识内容更新、数字资源建设等方面做了优化和创新。共启动46种教材，其中包含新增的《基础医学概论》《临床医学概论》《诊断学》《医患沟通艺术》4种。《基础医学概论》和《临床医学概论》虽然主要用于非临床医学类专业学生的学习，但须依托于临床医学的优秀师资才能高质量完成，故一并纳入本轮教材中。《诊断学》与《物理诊断学》《实验诊断学》教材并存，以满足不同院校课程设置差异。第4轮教材修订的主要特点如下：

1. 为更好地服务于全国高等院校的医学教育改革，对参与院校和作者的遴选精益求精。教材建设的骨干院校结合了研究型与教学型院校，并注重不同地区的院校代表性；由各学科的委员会主任委员或理事长和知名专家等担纲主编，由教学经验丰富的专家教授担任编委，为教材内容的权威性、院校普适性奠定了坚实基础。

2. 以“符合人才培养需求、体现教育改革成果、教材形式新颖创新”为指导思想，以深化岗位胜任力培养为导向，坚持“三基、五性、三特定”原则，密切结合国家执业医师资格考试、全国硕士研究生入学考试大纲。

3. 部分教材加入了联系临床的基础科学案例、临床实践应用案例，使教材更贴近基于案例的学习、以问题为导向的学习等启发式和研讨式教学模式，着力提升医学生的临床思维能力和解决临床实际问题的能力；适当加入知识拓展，引导学生自学。

4. 为体现教育信息化对医学教育的促进作用，将纸质教材与二维码技术、网络教学平台相结合，教材与微课、案例、习题、知识拓展、图片、临床影像资料等融为一体，实现了以纸质教材为核心、配套数字教学资源的融媒体教材建设。

在本轮教材修订编写时，各院校对教材建设提出了很好的修订建议，为第4轮教材建设的顶层设计和编写理念提供了详实可信的数据储备。第3轮教材的部分主编由于年事已高，此次不再担任主编，但他们对改版工作提出了很多宝贵的意见。前3轮教材的作者为本轮教材的日臻完善打下了坚实的基础。对他们的贡献，我们一并表示衷心的感谢。

尽管本轮教材的编委都是多年工作在教学一线的教师，但囿于现有水平，书中难免有不当之处。欢迎广大师生多提宝贵意见，反馈使用信息，以臻完善教材的内容，提高教材的质量。

“十三五”全国高等医学院校 本科规划教材评审委员会

顾 问 王德炳

主任委员 柯 杨 詹启敏

副主任委员 吕兆丰 王维民

秘 书 长 王凤廷

委 员 (按姓名汉语拼音排序)

蔡景一	曹德品	崔慧先	邓峰美	丁元林
管又飞	黄爱民	黄元华	姜志胜	井西学
黎孟枫	李春江	李春鸣	李 燕	刘传勇
刘永年	刘志跃	罗自强	雒保军	宋晓亮
宋焱峰	宋印利	唐世英	陶仪声	王 滨
王鹏程	王松灵	温小军	文民刚	肖纯凌
尹思源	于春水	袁聚祥	张晓杰	朱望东

序

国务院办公厅《关于深化医教协同进一步推进医学教育改革与发展的意见》（以下简称《意见》）指出，医教协同推进医学教育改革与发展，加强医学人才培养，是提高医疗卫生服务水平的基础工程，是深化医药卫生体制改革的重要任务，是推进健康中国建设的重要保障。《意见》明确要求加快构建标准化、规范化医学人才培养体系，全面提升人才培养质量。要求夯实 5 年制临床医学教育的基础地位，推动基础与临床融合、临床与预防融合，提升医学生解决临床实际问题的能力，推进信息技术与医学教育融合。从国家高度就推动医学教育改革作出了部署、明确了方向。

高质量的医学教材是满足医学教育改革、培养优秀医学人才的核心要素，与医学教育改革相辅相成。北京大学医学出版社出版的临床医学专业本科教材，立足于岗位胜任力的培养，促进自主学习能力建设，成为临床医学专业本科教学的精品教材，为全国高等医学院校教育教学与人才培养工作发挥了重要作用。

在医教协同的大背景下，北京大学医学出版社启动了第 4 轮教材的修订再版工作。全国医学院校一大批活跃在教学一线的专家教授，以无私奉献的敬业精神和严谨治学的科学态度，积极参与到本轮教材的修订和建设工作中。相信在全国高等医学院校的大力支持下，有广大专家教授的热情奉献，新一轮教材的出版将为我国高等医学院校人才培养质量的提高和医学教育改革的发展发挥积极的推动作用。

柯杨 詹启敏

前言

本书面向医学高等院校本科临床医学、基础医学以及其他医学相关专业，强调临床与基础结合，遵循三基（基本知识、基础理论、基本技能）和五性（思想性、科学性、创新性、启发性、先进性）的原则，以基本知识为主，重点突出。多年来一直深受广大师生好评，第1版（2003年）、第2版（2009年）、第3版（2013年）分别被评为“十五”“十一五”和“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材。

本版保持了医学微生物学基础（细菌学总论和病毒学总论）、致病性细菌各论、医学相关病毒各论、真菌学的知识框架，这种编排方式既可显示不同类型微生物的生物学和致病性差异，又能说明人体对微生物感染应答的共同规律（致病和免疫），实践证明此编排方式有助于建立医学微生物学的整体观。

本次改版补充了近年的重大进展。例如新增了与感染高度相关的固有免疫机制、禽流感病毒、SARS 冠状病毒、MERS 冠状病毒、寨卡病毒、发热伴血小板减少综合征布尼亚病毒和内源性逆转录病毒等知识。近年随着新技术的发展，许多微生物被重新分类和命名，例如肝炎病毒、汉坦病毒和肠道病毒，本次改版也做了相应的更新。此外，对第3版的个别章节进行了拆分和合并，例如将原第9章“感染性疾病的控制”拆分为到本版的“消毒、灭菌与生物安全”和“细菌与病毒感染的预防原则”等章节。各论部分兼顾生物学分类和临床疾病编排，适度减少了前版主要以生物学分类编排章节的比重，以使教材更贴近临床实践。本书继续坚持少而精的原则，通过大量图表归纳，提高可读性。为便于快速掌握章节的重点，每章后还附有小结。此外，出版社还在其网络平台提供了微课视频、试题、拓展知识等学习辅助资源。

本书由来自全国28所医学院校微生物学专业有丰富教学经验的教师共同编写，在此感谢编委们付出的努力。在付梓出版之际，饮水思源，我们特别感谢哈尔滨医科大学谷鸿喜教授、天津医科大学陈锦英教授为本书做出的贡献，她们教书育人和著书立说的严谨、智慧和远见卓识永远是我们的榜样。庄辉院士、程志教授、罗军高级实验师、日本阿部贤治教授、美国国立卫生研究院

Cynthia Goldsmith 博士、Pierre Rollin 博士等为本书提供了珍贵图片。钟照华教授、商庆龙教授为本书制作了大量插图，庄敏教授以及哈尔滨医科大学微生物学教研室全体教师在本教材的修订校对中做了细致的工作，在此一并致谢。

由于我们的学识所限，也因为医学微生物学知识浩繁且进展迅速，书中难免有错误和疏漏。恳请广大师生在使用教材过程中对发现的错误和问题给予及时指正，以便在后续印刷和改版中纠正完善。

张凤民 肖纯凌 彭宜红

二维码资源索引

资源名称	资源类型	页码
知识拓展：细菌的基本形态	下载资源	13
知识拓展：革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌细菌L型的主要特点	下载资源	17
知识拓展：青霉素和溶菌酶作用的细菌靶标及抗菌机制	下载资源	17
彩图：鞭毛形态	图片	20
彩图：CRISPR-Cas系统的结构与作用机制	图片	30
知识拓展：细菌抵抗噬菌体感染的机制—CRISPR	下载资源	30
彩图：鞭毛形态	图片	30
彩图：IFN家族以及IFN受体信号传导通路	图片	90
彩图：NK细胞介导的自然细胞毒效应和ADCC效应机制	图片	96
彩图：TLR的活化与效应机制	图片	99
彩图：RLR的活化与效应机制	图片	100
知识拓展：基因测序技术的发展助力临床微生物学的诊断	下载资源	121
知识拓展：核酸疫苗	下载资源	132
案例1：违规疫苗事件	下载资源	138
案例1解析	下载资源	138
案例2：医院感染事件	下载资源	141
案例2解析	下载资源	141
彩图：葡萄球菌#（革兰氏染色，×1000）	图片	145
知识拓展：血浆凝固酶的种类及检测方法图解	下载资源	149
彩图：链球菌#（革兰氏染色，×1000）	图片	150
彩图：淋病奈瑟菌#（革兰氏染色，×1000）	图片	159
彩图：大肠埃希菌#（革兰氏染色，×1000）	图片	163
彩图：志贺菌#（革兰氏染色，×1000）	图片	168
彩图：霍乱弧菌#（革兰氏染色，×1000）	图片	180
彩图：结核分枝杆菌#（抗酸染色，×1000）	图片	191
彩图：麻风分枝杆菌#（抗酸染色，×1000）	图片	197
彩图：白喉棒状杆菌#（奈瑟染色，×1000）	图片	201
彩图：破伤风杆菌#（芽胞染色，×1000）	图片	204
彩图：产气荚膜杆菌	图片	207
彩图：炭疽芽胞杆菌#（革兰氏染色，×1000）	图片	214
彩图：羊布鲁菌#（革兰氏染色，×1000）	图片	217
彩图：鼠疫耶尔森菌	图片	220

续表

资源名称	资源类型	页码
彩图：铜绿假单胞菌#（革兰氏染色， $\times 1000$ ）	图片	226
彩图：铜绿假单胞菌在普通培养基上的生长情况	图片	226
案例19-1	下载资源	227
案例19-1解析	下载资源	227
彩图：流感嗜血杆菌的卫星现象（血琼脂平板）	图片	230
案例21-1	下载资源	244
案例21-1解析	下载资源	244
知识拓展：立克次体与立克次体病的检测与鉴定	下载资源	250
知识拓展：恙虫病东方体的疫苗研究进展	下载资源	251
案例：以神经系统症状首发的人粒细胞无形体病	下载资源	252
彩图：钩端螺旋体#（ $\times 1000$ ）	图片	262
彩图：梅毒螺旋体#（ $\times 1000$ ）	图片	264
彩图：伯氏疏螺旋体1#（荧光染色， $\times 1000$ ）	图片	267
彩图：伯氏疏螺旋体2#（荧光染色， $\times 1000$ ）	图片	267
知识拓展：钩端螺旋体、密螺旋体及疏螺旋体的比较	下载资源	270
知识拓展：肠道病毒属的蛋白质合成与成熟过程	下载资源	277
彩图：诺如病毒的基因组结构	图片	280
彩图：HBV复制过程示意图	图片	305
彩图：HCV的感染复制周期模式图	图片	311
彩图：戊型肝炎病毒的感染复制周期	图片	312
彩图：人类免疫缺陷病毒（HIV）的基因组结构及基因产物	图片	319
彩图：人类免疫缺陷病毒的结构	图片	321
知识拓展：艾滋病治疗的三个90%	下载资源	328
知识拓展：艾滋病的功能性治愈	文本	328
彩图：逆转录病毒的复制过程（HTLV）	图片	329
知识拓展：埃博拉病毒的疫苗进展	下载资源	354
彩图：水痘	图片	361
彩图：带状疱疹	图片	361
彩图：巨细胞病毒“猫头鹰眼”状包涵体	图片	362
彩图：人乳头瘤病毒1	图片	369
彩图：人乳头瘤病毒2	图片	369
案例32-1	文本	370
案例32-1解析	文本	370
知识拓展：九价人乳头瘤病毒（HPV）疫苗	文本	371
彩图：-狂犬病病毒结构示意图（左）和电镜照片（右）	图片	372
彩图：狂犬病病毒基因结构图	图片	373
彩图：狂犬病病毒致病过程	图片	374

续表

资源名称	资源类型	页码
彩图：天花病毒电镜照片	图片	376
彩图：天花患者	图片	376
知识拓展：朊粒的致病特点	下载资源	379
知识拓展：PrP基因突变与遗传性prion病	文本	379
彩图：v-CJD患者神经病理图片	图片	381
知识拓展：病原性真菌概要	下载资源	392
知识拓展：主要网址和进展文献	下载资源	393
知识拓展：主要病原性真菌的比较	下载资源	403
知识拓展：主要网址和进展文献	下载资源	403

目 录

绪论.....1

一、微生物与医学微生物学1

二、医学微生物学发展简史2

三、任务与展望9

第一篇 医学微生物学基础

第1章 细菌的形态与结构.....12

第一节 细菌的大小与形态12

第二节 细菌的结构13

一、细菌的基本结构13

二、细菌的特殊结构19

一、细菌染色体40

二、质粒40

三、噬菌体41

四、转座元件42

第二节 细菌的变异现象43

第三节 细菌变异的机制44

一、突变44

二、基因转移与重组45

第四节 细菌遗传学在医学上的应用 49

第2章 细菌的生理.....24

第一节 细菌的理化性状24

一、细菌的化学组成24

二、细菌的物理性状24

第二节 细菌的营养25

一、细菌的营养类型25

二、细菌的营养物质25

三、细菌摄取营养物质的机制25

第三节 细菌的新陈代谢26

一、细菌的能量代谢26

二、细菌的代谢产物27

三、细菌的分泌系统28

四、细菌的免疫系统29

第四节 细菌的生长与繁殖31

一、影响细菌生长的环境因素31

二、细菌的生长与繁殖32

第五节 细菌的人工培养33

一、培养细菌的方法33

二、培养基34

三、细菌在培养基中的生长情况34

四、人工培养细菌的用途35

第六节 细菌的分类35

一、细菌的分类原则与层次35

二、细菌的命名法38

第4章 病毒的基本性状.....51

第一节 病毒的形态、结构与化学组成52

一、病毒的大小和形态52

二、病毒的结构及化学组成53

第二节 病毒的增殖55

一、病毒复制周期55

二、与病毒增殖有关的异常现象59

第三节 病毒的遗传与变异60

一、病毒变异的类型60

二、病毒遗传变异的生物学意义62

第四节 理化因素对病毒的影响63

一、物理因素的影响63

二、化学因素的影响63

第五节 病毒的分类和命名法64

一、病毒的分类64

二、病毒的命名法64

第3章 细菌遗传与变异.....40

第一节 细菌遗传相关物质40

第5章 细菌与病毒的致病机制.....67

第一节 细菌的感染与致病机制67

一、正常菌群与机会致病菌67

二、细菌的致病机制69

三、细菌的感染源与传播途径76

四、感染类型	77	二、病毒的耐药性	117
第二节 病毒的感染与致病机制	79	第 9 章 细菌与病毒感染的病原学检查法	119
一、病毒的传播途径	79	第一节 病原学检查相关技术	119
二、病毒感染类型	81	一、形态学检查	119
三、病毒的致病机制	82	二、病原体的分离培养与鉴定	120
第 6 章 抗感染免疫	88	三、免疫学技术	120
第一节 固有免疫	89	四、分子诊断技术	121
一、生理屏障结构	89	第二节 细菌感染的微生物学检查法	122
二、固有免疫分子	89	一、细菌学诊断	122
三、固有免疫细胞	92	二、病原菌成分的检测	124
四、病原体相关模式分子与模式识别受体	97	三、病原菌相关抗体的检测	125
第二节 适应性免疫	100	第三节 病毒感染的微生物学检查法	125
一、体液免疫	101	一、形态学检查	125
二、细胞免疫	103	二、分离培养与鉴定	126
三、免疫病理损伤	103	三、病毒数量及感染性的检测	127
第 7 章 消毒、灭菌与生物安全	106	四、病毒成分的检测	128
第一节 物理消毒灭菌法	106	五、病毒抗体的检测	128
一、热力灭菌法	106	第 10 章 细菌与病毒感染的预防原则	130
二、辐射杀菌法	107	第一节 细菌与病毒感染的特异性预防	131
三、滤过除菌法	108	一、细菌感染的特异性预防	131
第二节 化学消毒灭菌法	108	二、病毒感染的特异性预防	134
第三节 生物安全	109	第二节 计划免疫	136
第 8 章 细菌和病毒的耐药性	112	一、感染性疾病流行的概述	137
第一节 抗菌药物与耐药性	112	二、感染性疾病的防控原则	137
一、抗菌药物的种类与作用机制	112	三、计划免疫	138
二、细菌的耐药性	114	第三节 医院感染的控制	139
第二节 抗病毒药物与耐药性	116	一、医院感染的特点	139
一、抗病毒化学药物	116	二、医院感染的控制	141
第二篇 致病性细菌			
第 11 章 球菌	144	第三节 肠球菌属	155
第一节 葡萄球菌属	144	一、生物学性状	155
一、金黄色葡萄球菌	144	二、致病性与免疫性	156
二、凝固酶阴性葡萄球菌	148	三、微生物学检查法	156
第二节 链球菌属	149	四、防治原则	157
一、A 群链球菌	150	第四节 奈瑟菌属	157
二、肺炎链球菌	152	一、脑膜炎奈瑟菌	157
三、其他医学相关链球菌	154	二、淋病奈瑟菌	158

第12章 肠道杆菌162**第一节 埃希菌属163**

一、生物学性状163

二、致病性164

三、微生物学检查法167

四、防治原则168

第二节 志贺菌属168

一、生物学性状169

二、致病性与免疫性170

三、微生物学检查法171

四、防治原则172

第三节 沙门菌属172

一、生物学性状172

二、致病性与免疫性174

三、微生物学检查法175

四、防治原则176

第四节 其他菌属176

一、克雷伯菌属176

二、变形杆菌属177

三、肠杆菌属177

四、沙雷菌属178

五、枸橼酸杆菌属178

六、摩根菌属178

第13章 弧菌属180**第一节 霍乱弧菌180**

一、生物学性状180

二、致病性与免疫性181

三、微生物学检查法183

四、防治原则183

第二节 副溶血弧菌184

一、生物学性状184

二、致病性184

三、诊断与防治185

第14章 螺杆菌属和弯曲菌属186**第一节 螺杆菌属186**

一、生物学性状186

二、致病性与免疫性187

三、微生物学检查法188

四、防治原则188

第二节 弯曲菌属189

一、生物学性状189

二、致病性与免疫性189

三、微生物学检查法190

四、防治原则190

第15章 分枝杆菌属191**第一节 结核分枝杆菌191**

一、生物学性状191

二、致病性与免疫性192

三、微生物学检查法195

四、防治原则196

第二节 牛分枝杆菌197**第三节 麻风分枝杆菌197**

一、生物学性状197

二、致病性与免疫性198

三、微生物学检查法198

四、防治原则198

第四节 非结核分枝杆菌199**第16章 棒状杆菌属201**

一、生物学性状201

二、致病性与免疫性201

三、微生物学检查法202

四、防治原则203

第17章 厌氧性细菌204**第一节 厌氧芽胞梭菌属204**

一、破伤风梭菌204

二、产气荚膜梭菌206

三、肉毒梭菌209

四、艰难梭菌210

第二节 无芽胞厌氧菌210

一、类杆菌属210

二、其他无芽胞厌氧菌212

第18章 动物源性细菌214**第一节 芽胞杆菌属214**

一、炭疽芽胞杆菌214

二、蜡样芽胞杆菌216

第二节 布鲁菌属217

一、生物学性状217

二、致病性与免疫性218

三、微生物学检查法218

四、防治原则219

第三节 耶尔森菌属	220	第 22 章 立克次体	247
一、鼠疫耶尔森菌	220	第一节 立克次体属	247
二、小肠结肠炎耶尔森菌	223	一、生物学性状	247
三、假结核耶尔森菌	223	二、致病性与免疫性	248
第四节 弗朗西斯菌属	224	三、微生物学检查法	250
第五节 巴斯德菌属	224	四、防治原则	250
第 19 章 医学相关其他细菌	226	第二节 东方体属	250
第一节 假单胞菌属	226	一、生物学性状	250
一、铜绿假单胞菌	226	二、致病性与免疫性	251
二、鼻疽假单胞菌	227	三、微生物学检查法	251
三、类鼻疽假单胞菌	228	四、防治原则	251
第二节 军团菌属	228	第三节 埃里希体属和无形体属	251
第三节 嗜血杆菌属	229	一、查菲埃里希体	251
第四节 鲍特菌属	231	二、嗜吞噬细胞无形体	252
第五节 不动杆菌属	232	第 23 章 衣原体	253
第六节 莫拉菌属	233	第一节 生物学性状概述	254
第七节 气单胞菌属	234	第二节 沙眼衣原体	255
第八节 窄食单胞菌属	234	一、生物学性状	256
第九节 李斯特菌属	235	二、致病性与免疫性	256
第 20 章 放线菌属与诺卡菌属	237	三、微生物学检查法	257
第一节 放线菌属	237	四、防治原则	257
一、生物学性状	238	第三节 肺炎嗜衣原体	258
二、致病性与免疫性	238	一、生物学性状	258
三、微生物学检查法	239	二、致病性与免疫性	258
四、防治原则	239	三、微生物学检查法	258
第二节 诺卡菌属	239	第四节 鹦鹉热嗜衣原体	259
一、生物学性状	240	一、生物学性状	259
二、致病性与免疫性	240	二、致病性与免疫性	259
三、微生物学检查法	240	三、微生物学检查法	259
四、防治原则	241	四、防治原则	260
第 21 章 支原体	242	第 24 章 螺旋体	261
第一节 支原体属	243	第一节 钩端螺旋体	262
一、生物学性状	243	一、生物学性状	262
二、致病性与免疫性	244	二、致病性与免疫性	262
三、微生物学检查法与防治原则	245	三、微生物学检查法	263
第二节 脲原体属	245	四、防治原则	264
一、生物学性状	245	第二节 梅毒螺旋体	264
二、致病性与免疫性	246	一、生物学性状	264
三、微生物学检查法与防治原则	246	二、致病性与免疫性	265
		三、微生物学检查法	266
		四、防治原则	267

第三节 伯氏疏螺旋体	267	一、生物学性状	269
一、生物学性状	267	二、致病性与免疫性	269
二、致病性与免疫性	267	三、微生物学检查法	269
三、微生物学检查法	268	四、防治原则	269
四、防治原则	268	第五节 奋森疏螺旋体	270
第四节 回归热疏螺旋体	269		

第三篇 医学相关病毒

第 25 章 胃肠道感染病毒	272	二、致病性与免疫性	301
第一节 肠道病毒属	272	三、微生物学检查法	301
一、脊髓灰质炎病毒	274	四、防治原则	301
二、柯萨奇病毒、埃可病毒	276	第二节 乙型肝炎病毒	302
三、肠道病毒 A71 型	277	一、生物学性状	302
第二节 急性胃肠炎病毒	278	二、致病性与免疫性	307
一、轮状病毒	278	三、微生物学检查法	308
二、诺如病毒	280	四、防治原则	309
三、肠道腺病毒	281	第三节 丙型肝炎病毒	310
第 26 章 呼吸道病毒	282	一、生物学性状	310
第一节 流行性感冒病毒	282	二、致病性和免疫性	312
一、生物学性状	283	三、微生物学检查法	312
二、致病性和免疫性	285	四、防治原则	312
三、微生物学检查法	286	第四节 丁型肝炎病毒	313
四、防治原则	286	一、生物学性状	313
五、禽流感病毒	287	二、致病性和免疫性	313
第二节 副黏病毒	287	三、微生物学检查法	313
一、麻疹病毒	288	四、防治原则	313
二、腮腺炎病毒	289	第五节 戊型肝炎病毒	314
三、副流感病毒	290	一、生物学性状	314
四、呼吸道合胞病毒	290	二、致病性与免疫性	316
五、亨德拉病毒和尼帕病毒	291	三、微生物学检查法	316
六、人偏肺病毒	291	四、防治原则	316
第三节 冠状病毒	291	第 28 章 逆转录病毒	318
第四节 其他呼吸道病毒	293	第一节 逆转录病毒的生物学特性	319
一、腺病毒	293	一、病毒的形态、结构及组成	319
二、风疹病毒	296	二、宿主范围	320
三、鼻病毒	297	三、病毒复制	320
四、呼肠病毒	297	四、感染与致癌	321
第 27 章 肝炎病毒	299	第二节 人类免疫缺陷病毒	321
第一节 甲型肝炎病毒	300	一、生物学性状	321
一、生物学性状	300	二、致病性与免疫性	324
		三、微生物学检查法	327

四、防治原则	328	三、微生物学检查法	344
第三节 人类嗜 T 细胞病毒	329	四、防治原则	345
一、生物学性状	329	第八节 基孔肯雅病毒	345
二、致病性与免疫性	329	一、生物学性状	345
三、微生物学检查法	330	二、致病性与免疫性	345
四、防治原则	331	三、微生物学检查法	346
第四节 内源性逆转录病毒	331	四、防治原则	346
第 29 章 虫媒病毒	333	第 30 章 出血热病毒	347
第一节 流行性乙型脑炎病毒	334	第一节 汉坦病毒	348
一、生物学性状	334	一、生物学性状	348
二、致病性与免疫性	335	二、致病性与免疫性	349
三、微生物学检查法	336	三、微生物学检查法	351
四、防治原则	337	四、防治原则	351
第二节 登革病毒	337	第二节 克里米亚 - 刚果出血热病毒	351
一、生物学性状	337	一、生物学性状	352
二、致病性与免疫性	338	二、致病性与免疫性	352
三、微生物学检查法	338	三、微生物学检查法	352
四、防治原则	339	四、防治原则	352
第三节 森林脑炎病毒	339	第三节 埃博拉病毒与马堡病毒	353
一、生物学性状	339	一、埃博拉病毒	353
二、致病性与免疫性	339	二、马堡病毒	355
三、微生物学检查法	340	第 31 章 疱疹病毒	357
四、防治原则	340	第一节 单纯疱疹病毒	358
第四节 寨卡病毒	340	一、生物学性状	359
一、生物学性状	340	二、致病性和免疫性	359
二、致病性与免疫性	340	三、微生物学检查法	360
三、微生物学检查法	341	四、防治原则	361
四、防治原则	341	第二节 水痘 - 带状疱疹病毒	361
第五节 黄热病病毒	341	一、生物学性状	361
一、生物学性状	342	二、致病性及免疫性	361
二、致病性与免疫性	342	三、微生物学检查法	362
三、微生物学检查法	342	四、防治原则	362
四、防治原则	342	第三节 巨细胞病毒	362
第六节 西尼罗病毒	343	一、生物学性状	362
一、生物学性状	343	二、致病性和免疫性	362
二、致病性与免疫性	343	三、微生物学检查法	363
三、微生物学检查法	343	四、防治原则	363
四、防治原则	344	第四节 EB 病毒	364
第七节 发热伴血小板减少综合征布尼亚病毒	344	一、生物学性状	364
一、生物学性状	344	二、致病性和免疫性	365
二、致病性与免疫性	344	三、微生物学检查法	366

四、防治原则	366	四、防治原则	374
第五节 新发现的人类疱疹病毒	366	第二节 细小 DNA 病毒	375
一、人类疱疹病毒 6 型	366	一、生物学性状	375
二、人类疱疹病毒 7 型	367	二、致病性与免疫性	375
三、人类疱疹病毒 8 型	367	三、微生物学检查法	376
第 32 章 人乳头瘤病毒	369	四、防治原则	376
一、生物学性状	369	第三节 痘病毒	376
二、致病性和免疫性	369	一、生物学性状	376
三、微生物学检查法	371	二、致病性与免疫性	376
四、防治原则	371	三、微生物学检查法和防治原则	377
第 33 章 其他病毒	372	第四节 博尔纳病病毒	377
第一节 狂犬病病毒	372	第 34 章 朊粒	379
一、生物学性状	372	一、生物学性状	379
二、致病性与免疫性	374	二、致病性与免疫性	380
三、微生物学检查法	374	三、微生物学检查法	381
		四、防治原则	381
第四篇 真 菌			
第 35 章 真菌的基本性状	384	第三节 深部感染真菌	398
第一节 真菌的生物学性状	384	一、致病性真菌	398
一、真菌的形态	385	二、机会致病性真菌	398
二、真菌的结构	386		
三、真菌的培养与繁殖	387	附录 病原微生物的传播途径分类	405
四、真菌的抵抗力与变异性	388	一、机会致病病原微生物	405
第二节 真菌的致病性与免疫性	388	二、常见的经呼吸道感染病原微生物	405
一、真菌的致病性	388	三、经消化道途径感染的病原微生物	406
二、真菌的免疫性	389	四、经创伤或输血传播的病原微生物	407
第三节 真菌感染的微生物学检查法	390	五、虫媒病原微生物	408
一、临床标本的采集	390	六、性接触传播病原微生物	409
二、病原真菌的检查与鉴定	390	七、垂直传播病原微生物	409
第四节 真菌感染的防治原则	392	八、动物源性病原微生物	410
一、真菌感染的预防	392	九、引起皮肤或经皮肤感染病原微生物	411
二、真菌感染的治疗药物	392		
第 36 章 主要病原性真菌	394	中引文专业词汇索引	412
第一节 皮肤感染真菌	394	主要参考文献及主要相关网址	423
一、皮肤癣菌	394		
二、角层癣菌	396		
第二节 皮下组织感染真菌	396		
一、孢子丝菌属	396		
二、着色真菌	397		

绪 论

一、微生物与医学微生物学

微生物 (microorganism, microbe) 是一类体积微小、结构简单、直接用肉眼看不见, 必须用光学显微镜或者电子显微镜放大后才能看得见的微小生物的总称。微生物种类繁多, 在自然界中广泛分布, 存在于土壤、空气、江河、湖泊, 也存在于动物与人的体表及其与外界相通的腔道内, 如消化道、呼吸道等, 甚至以分子形式存在于宿主组织、血液或细胞基因组中。微生物形态结构、新陈代谢、生长繁殖及遗传变异等具有多样性。

根据微生物的结构特点、遗传特性及生化组成可分为三大类:

1. 原核细胞型微生物 (prokaryotic microbe) 此类微生物细胞分化程度低, 仅有染色质组成的拟核, 无核仁和核膜。胞质内除有核糖体外, 无其他细胞器。《伯杰氏细菌鉴定手册》将原核细胞型微生物分为真细菌 (eubacterium) 和古细菌 (archaebacterium)。古细菌结构更简单, 可在高温、高盐、低 pH 等环境中生存, 如嗜盐菌 (extremehalophile) 和嗜热嗜酸菌 (thermoacidophile) 等, 但至今未发现古细菌对人有致病性。与医学有关的原核细胞型微生物均属真细菌, 包括细菌、螺旋体、衣原体、支原体、立克次体和放线菌。

2. 真核细胞型微生物 (eukaryotic microbe) 此类微生物细胞核分化程度高, 有核仁、核膜和染色体, 胞质内有多种细胞器, 如线粒体、内质网、高尔基复合体等, 可进行有丝分裂。包括真菌 (fungus)、藻类及原生动物, 真菌与医学密切相关。

3. 非细胞型微生物 (acellular microbe) 此类微生物无细胞结构, 仅由蛋白质和一种核酸 (DNA 或 RNA) 组成, 因缺乏产生能量的酶系统和生物代谢的细胞器, 必须在活细胞内增殖, 包括病毒 (virus) 和类病毒 (viroid)。

微生物与人类关系密切。自然界中绝大多数微生物对人或动、植物是有益的, 微生物不仅对自然界的氮、碳、硫等循环和生物生态环境的构成是必需的, 而且对生物的繁衍及食物链的形成均发挥重要作用。

微生物在人类的生活和生产活动中广泛应用的历史源远流长。在农业方面, 利用微生物可以生产细菌肥料、转基因农作物及生物杀虫剂等; 在工业方面, 利用微生物发酵工程进行食品加工, 酒类、食醋和酱油等的酿造以及抗生素生产等, 并且应用于皮革制造、石油勘探、废物处理等生产过程。而近年发展的基因工程技术, 微生物发挥了必不可少的作用, 如细菌的质粒、噬菌体、病毒等作为基因重组中的载体被广泛使用, 大肠埃希菌、酵母菌是最常用的基因工程菌。

人和动物体内, 特别是皮肤、黏膜表面存在着大量的细菌以及多种微生物, 被称为正常菌群 (normal flora) 或正常微生物群 (microbiota)。在正常情况下, 这些正常菌群或正常微生物群对机体发挥着生理、营养、免疫和生物屏障作用。近年研究发现, 正常菌群或正常微生物群的紊乱与异常参与了神经、精神、循环、消化等多系统疾病的发生与发展; 通过补充益生菌 (probiotics) 及其产物等微生态制剂来调整宿主的正常菌群或正常微生物群可以辅助治疗相关疾病, 如菌群失调症。

自然界仅有少数微生物对人或动、植物是有害的，可引起人或动、植物发生相应疾病，这些能致病的微生物被称为病原微生物（pathogenic microbes, pathogen）。包括新现病原微生物（emerging pathogen）和再现病原微生物（reemerging pathogen），是新现感染性疾病（emerging infectious disease）和再现感染性疾病（reemerging infectious disease）的病原体。另外，在寄生位置发生改变或感染宿主处于免疫缺陷条件下，正常菌群或正常微生物群中的某些微生物可引起相关疾病，称为机会致病微生物（conditional pathogen）。

微生物学（microbiology）是生命科学的一门重要学科，主要研究微生物的结构、遗传、代谢等生物学特性、生命规律及其与宿主间关系和实际应用的科学。根据其应用领域可分为工业微生物学、农业微生物学、医学微生物学、兽医微生物学、环境微生物学和海洋微生物学等。

医学微生物学（medical microbiology）是研究与医学相关微生物的一门科学，主要研究内容包括医学相关微生物，特别是病原微生物的生物学性状、致病性及免疫性、微生物学检查法及特异性防治原则等。医学微生物学是基础医学的重要组成部分，不仅对基础医学、临床医学、预防医学和药学的发展以及医学人才的培养发挥着重要的支撑作用，而且以微生物为基础的发酵工程、酶工程、基因工程等有力地促进了生物技术、生物制药以及生命科学等领域的快速发展。

展望 21 世纪的医学、药学、生命科学的发展需求以及人类大健康的发展理念，微生物学仍是领先学科之一，具有无限广阔的发展前景。

二、医学微生物学发展简史

医学微生物学是人类在与传染病 / 感染性疾病的斗争过程中逐步发展起来的一门科学。人们在长期的深入研究和反复实践中，逐渐认识并掌握了引起各种传染病 / 感染性疾病的病原体及其生物学特征、致病性及所致疾病的流行规律，并逐渐建立和掌握了针对传染病 / 感染性疾病的预防和治疗措施，有效地控制了多种传染病 / 感染性疾病，特别是在 1980 年全球消灭了烈性传染病天花（small pox）。然而，人们在控制和征服微生物的过程中，也付出了巨大的代价，甚至生命。而且，随着新现传染病不断出现，再现传染病“死灰复燃”，以及病原体变异和耐药、微生态失衡等问题，人们仍然面临着巨大考验与困难，人们与微生物之间的斗争仍将继续。学习和回顾医学微生物学发展简史，将会给人们以科学的启迪、坚定的信念和必胜的信心，有助于更好地掌握医学微生物学的知识、控制传染病的发生以及促进生命科学、生物技术产业等的快速发展等。

医学微生物学的发展经历了不同的发展阶段。

1. 经验微生物学时期 自古以来，人类始终伴随着许多烈性传染病的威胁和危害，并一直在尝试进行病因探索与疾病防治，但长期未得到正确认识和有效控制。直到 16 世纪中叶，意大利学者吉罗拉摩·法兰卡斯特罗（Girolamo Fracastoro, 1478—1553）提出传染病主要通过直接、间接及通过空气等若干途径进行传播，并于 1546 年提出了传染性生物学说（contagium vivum theory），从而奠定了传染病的生物学病因的基础。我国早期文献中已经记录了对传染病的认识，如明朝隆庆年间（1567—1572）已经建立了用人痘来预防天花的方法；清朝乾隆年间（1736—1795），云南师道南在“鼠死行”一文中记载了鼠疫流行情况，说明了鼠疫在鼠与人间流行的关系。尽管当时人们已经观察到天花、鼠疫等传染病的流行和传染的现象，但限于当时的条件，还不能证实这些传染病的病因以及传染性生物的存在。直到显微镜被发明后，传染性生物学说逐渐被确立。

2. 实验微生物学时期 显微镜的发明标志着微生物学发展进入实验研究时期。1676 年荷兰人吕文虎克（Antony van Leeuwenhoek, 1632—1723）（图 1）发明制造出能放大 270 倍的显微镜，并首次从污水、牙垢等样本中观察到各种形态的微小生物，首次发现和证实了微生物在

自然界的存在，奠定了微生物学的发展基础。但由于当时微生物的实验研究主要停滞在形态描述上，微生物与疾病的关系却长期没得到认识。

直到 19 世纪，法国科学家巴斯德（Louis Pasteur, 1822—1895）（图 2）开创了细菌生理学时代，微生物学开始成为一门独立的科学。巴斯德为解释葡萄酒变质的原因，通过显微镜观察和实验证实酒类变质是由于污染了酵母菌以外的杂菌所致，并认识到微生物间不仅在形态上有差异，而且其生理特性也有不同，有机物发酵与变质是因不同微生物的作用所引起的。同时，巴斯德还发明了现仍沿用的巴氏消毒法（pasteurization），即通过加温（61.1 ~ 62.8℃ 30 分钟）处理，杀灭待发酵基质液、啤酒、牛奶等液体中的细菌以防止变质的方法。此外，巴斯德还创建了现今所用疫苗的原理，首次研制出了炭疽菌苗、狂犬病疫苗，有效地预防了炭疽病和狂犬病。



图 1 吕文虎克（Antony van Leeuwenhoek, 1632—1723）



图 2 巴斯德（Louis Pasteur, 1822—1895）

在实验微生物学发展过程中，德国医生郭霍（Robert Koch, 1843—1910）（图 3）为开展细菌学研究和传染病病原体的鉴定做出了突出贡献，并因对结核分枝杆菌的发现和旧结核菌素的制造荣获了 1905 年诺贝尔奖。郭霍先后创立了细菌染色方法、固体培养基、消毒灭菌及实验动物感染等实验方法，以及细菌学研究和病原体鉴定理论；分离和鉴定了炭疽芽胞杆菌（1876）、结核分枝杆菌（1882）和霍乱弧菌（1883）；并且，还提出了著名的郭霍法则（Koch's postulate），即确定某种细菌引起特定传染性疾病的验证标准：①在可疑病例中发现并分离出同一种病原菌；②细菌能在体外获得纯培养并能传代；③将这种细菌纯培养物接种易感动物能引起相同疾病；④从实验感染动物体内能重新分离出同种细菌。

由于郭霍创立的实验方法和郭霍法则的广泛应用，许多重要传染病病原体，如痢疾志贺菌、白喉棒状杆菌、脑膜炎奈瑟菌等被相继发现。到 19 世纪末几乎所有常见病原菌均已发现，至今在确定新的病原体时，郭霍法则仍有重要的指导意义。

1892 年俄国学者伊凡诺夫斯基（Dmitri Ivanovski, 1864—1920）发现烟草花叶病的叶汁通过细菌滤器后仍保留其传染性。1898 年荷兰学者贝杰林克（Martinus Beijerinck, 1851—1931）重复上述实验，认为烟草花叶病是由一类比细菌更小的“传染”生物体所致，开创了人类对病毒的认识。同年德国学者罗福乐（Friedrich Loeffler, 1852—1915）和弗罗斯（Paul Frosch,

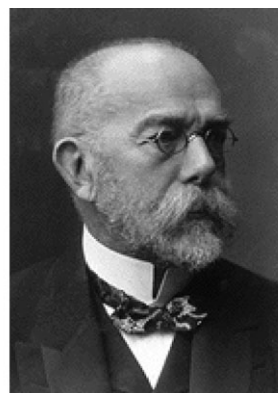


图 3 郭霍（Robert Koch, 1843—1910）

1860—1928)发现患口蹄疫动物淋巴液中含有能通过细菌滤器的感染性物质,并命名为滤过性病毒。1901年美国学者里德(Walter Reed, 1851—1902)首先分离到致人类疾病的黄热病病毒。进入20世纪后,陆续有许多动物病毒、植物病毒、细菌病毒及人类病毒不断被分离到,病毒学研究有了飞跃发展,逐渐成为一门独立学科。21世纪以来,随着新一代测序技术的应用,在人类等生物体内又鉴定出大量新的病毒等微生物,有关微生物群、微生物组(microbiome)等高通量解析与功能鉴定,极大地丰富了人们对微生物学的认识,并促进了微生物学的深入与发展。

在微生物学的发展过程中,人们不断地探索防治传染病的方法。英国医生琴纳(Edward Jenner, 1749—1823)于18世纪末成功研制了预防天花的牛痘苗,是人类运用人工接种免疫法预防传染病的开端。德国学者贝林格(Emil von Behring, 1845—1917)于1890年发现了成功地治疗白喉患儿的白喉抗毒素,开创了被动免疫血清疗法,因此获得了1901年诺贝尔奖。

1929年英国细菌学家弗莱明(Alexander Fleming, 1881—1955)发现固体培养基上污染的青霉菌能抑制金黄色葡萄球菌的生长。1940年英国学者弗洛里(Sir Howard Walter Florey 1898—1968)和钱恩(Ernst Boris Chain, 1906—1979)首次提纯获得了青霉素,并制成注射液成功地治疗了细菌感染。青霉素的发现不仅是人类对细菌等微生物本身生理代谢的新发现,也是人类突破当时应用化学药物治疗传染病的新途径。为此三位学者因发现和纯化青霉素而共同获得1945年诺贝尔医学和生理学奖。此后,多种抗生素相继被发现并投入生产,如链霉素(1944)、氯霉素(1947)、四环素(1948)、头孢霉素(1948)、红霉素(1952)、庆大霉素(1963)等,为感染性疾病的治疗和控制带来了转机。

3. 现代微生物学时期 20世纪中期以来,随着物理学、生物化学、遗传学、分子生物学、免疫学等学科的发展,微生物学有了飞跃发展,微生物学发展进入了现代微生物时期。1932年电子显微镜被发明之后,扫描电镜、免疫电镜、超薄切片技术以及电子计算机等相继出现,可以通过直接观察来深入认识细菌、病毒等微生物的超微结构、感染过程和致病机制等。而且,由于免疫学、分子生物学、细胞培养等技术的出现,微生物学研究方法得到了长足发展,如单克隆抗体、免疫荧光实验、酶联免疫吸附试验(ELISA)、聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)及核酸杂交技术等一大批快速、特异的微生物学诊断方法被应用于临床,不仅加深了对传染病中病原微生物的认识,并促进了感染性疾病的特异性诊断与防治。同时,微生物学的发展又推动了整个生命科学的研究。例如,对基因编码和调控的认识主要来源于微生物学研究;细菌和病毒作为最简单的生命形式,被用于生命科学研究最便利的载体工具;基因克隆、核酸杂交以及PCR等新技术大多奠基于微生物学研究;特别是通过基因克隆、测序等分子生物学手段搞清楚了许多微生物的基因序列和功能。随着人类基因组计划的实施,1994年美国发起了微生物基因组研究计划(microorganism genome project, MGP),通过测序等方法研究微生物完整的基因组信息,获得了大量微生物基因和功能信息。自1995年流感嗜血杆菌基因组首先被测序后,至今已完成近两千株细菌基因组测序,其中60%以上为致病菌或条件致病菌,包括大部分的常见医学微生物的代表菌株,从而在分子水平加深了对微生物的致病机制等特征的认识,包括细菌毒力基因、耐药基因及调控基因等的结构与功能等。同时,也促进了传染病的诊断、防治研究的飞速发展。

20世纪70年代以来,新发现和确认的病原体已有40余种(表1)。新的病原微生物种类繁多,有细菌、病毒、立克次体、衣原体、螺旋体等。其中,许多种类的微生物引起的传染病可以造成世界性大流行,严重危害人类健康。但是,现代研究手段的发展可以使人们迅速认识这些新病原体及其流行所造成的危害,并能够采取有效的防治措施。

新发现病原体包括多种致病性细菌。例如,1977年嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*)被发现;1982年莱姆病病原体伯氏疏螺旋体被确定;1982年肠出血性大肠埃希菌O157的

发现；1982年澳大利亚学者马歇尔（Barry Marshall）和沃伦（Robin Warren）首先发现和证实了引起消化性溃疡的病原体幽门螺杆菌，并因此获得2005年诺贝尔奖。1992年霍乱弧菌O139血清群被发现。另外，先后发现了多种耐药性致病菌。例如，1959年发现的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA），至今感染几乎遍及全球，成为院内和社区感染的重要病原菌之一。1980年代发现的产超广谱 β 内酰胺酶（extended-spectrum beta-lactamases, ESBLs）的肺炎克雷伯菌是临床感染性疾病重要的病原体。1990年代以来陆续发现的耐药结核分枝杆菌、多重耐药结核分枝杆菌（MDR-TB）、广泛耐药结核分枝杆菌（XDR-TB），成为难治性结核病的病原体。2009年发现的携带有新德里金属 β -内酰胺酶blaNDM-1（New Delhi metallo- β -lactamase 1）基因的NDM超级耐药菌，可以水解除氨曲南以外的所有 β -内酰胺类药物，介导菌株对青霉素类、头孢菌素类和碳青霉烯类抗生素的耐受。

新发现的病毒多数具有传播速度快、受染人数多、预防和治疗手段缺乏的特征。如引起获得性免疫缺陷综合征即艾滋病（acquired immunodeficiency syndrome, AIDS）的人类免疫缺陷病毒（human immunodeficiency virus, HIV）。艾滋病首例报告于1981年，随后法国学者弗朗索瓦丝·巴尔-西诺西（Francoise Barre-Sinouss）和吕克·蒙塔尼（Luc Montagnier）于1983年5月从一名淋巴结综合征患者的淋巴结中分离到一株新的逆转录病毒，当时被命名为淋巴结病相关病毒（lymphopathy-associated virus, LAV），后被证实LAV就是艾滋病病原体，1986年被国际病毒分类委员会命名为人类免疫缺陷病毒。2008年两人因发现人类免疫缺陷病毒而获得诺贝尔奖。随着人类免疫缺陷病毒的发现，人们对HIV的生物学性状、基因结构、编码蛋白功能，及其致病机制等进行了深入研究，同时对艾滋病的流行病学、传播途径、临床症状及预防措施也有了明确认识，并建立了多种抗逆转录病毒药物的治疗方法。但艾滋病蔓延的趋势尚未得到控制。目前，全球有HIV感染者和艾滋病患者3400万，年新发感染病例180万，年艾滋病死亡人数约100万。我国累计报告HIV感染者和艾滋病患者69万例，存活的HIV感染者42万例、艾滋病患者28万例，报告死亡病例21万例。2015年在巴西引起流行感染的寨卡病毒（Zika virus），是一种通过蚊子传播的虫媒病毒，可引起疼痛、乏力、呕吐、发热以及小头畸形等。

新型肝炎病毒的发现反映了肝炎病毒的多样性。1947年开始使用甲型肝炎和血清型肝炎的概念时，对其病原体的认识并不清楚。直到1963年美国学者布伦伯格（Baruch Blumberg, 1925-2011）发现澳大利亚抗原（Australia antigen），并于1968年证实是乙型肝炎病毒（hepatitis B virus, HBV），因而获得1976年诺贝尔奖。随后，1973年Stephen Feinstone等利用免疫电镜技术发现了甲型肝炎病毒（hepatitis A virus, HAV）。1977年Mario Rizzetto等发现了丁型肝炎病毒（hepatitis D virus, HDV）。1978年Golafeld发现不同于甲、乙型肝炎的输血后非甲非乙型肝炎病毒；1989年美国学者侯顿（Michael Houghton）将肠道外传播的非甲非乙型肝炎病毒确定为丙型肝炎病毒（hepatitis C virus, HCV）；将肠道传播的非甲非乙型肝炎病毒确定为戊型肝炎病毒（hepatitis E virus, HEV）。

表1 近年来新发现/新流行的病原微生物及所致疾病

年代	病原体名称	所致主要疾病或主要症状
1973	轮状病毒（Rotavirus）	婴儿腹泻
1975	细小病毒 B19（Parvovirus B19）	面部、躯干红斑、再生障碍性贫血
1976	隐孢子虫（ <i>Cryptosporidium parvum</i> ）	隐孢子虫病（急慢性腹泻）
1977	埃博拉病毒（Ebola virus）	埃博拉出血热
1977	嗜肺军团菌（ <i>Legionella pneumophila</i> ）	军团菌病

续表

年代	病原体名称	所致主要疾病或主要症状
1977	汉坦病毒 (Hantaan virus)	流行性出血热
1977	空肠弯曲菌 (<i>Campylobacter jejuni</i>)	空肠弯曲菌肠炎
1977	丁型肝炎病毒 (Hepatitis D virus)	丁型肝炎
1980	人嗜 T 淋巴细胞病毒 I 型 (HTLV- I)	T 细胞淋巴瘤白血病
1982	人嗜 T 淋巴细胞病毒 II 型 (HTLV- II)	毛细胞白血病
1982	大肠埃希菌 O157: H7 (<i>Escherichia coli</i> O157: H7)	出血性结肠炎
1982	伯氏疏螺旋体 (<i>Borrelia burgdorferi</i>)	莱姆病
1983	人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV)	艾滋病 (获得性免疫缺陷综合征)
1983	肺炎衣原体 (<i>Chlamydia pneumoniae</i>)	肺炎衣原体病
1984	幽门螺杆菌 (<i>Helicobacter pylori</i>)	胃炎、消化性溃疡病
1986	朊粒 (prion)	传染性海绵状脑病 (疯牛病、克 - 雅病)
1988	人疱疹病毒 6 型 (Human herpesvirus 6, HHV-6)	突发性玫瑰疹
1989	丙型肝炎病毒 (Hepatitis C virus)	丙型肝炎
1989	戊型肝炎病毒 (Hepatitis E virus)	戊型肝炎
1990	人疱疹病毒 7 型 (HHV-7)	发热皮疹及重型神经系统感染
1992	O139 霍乱弧菌 (<i>Vibrio cholerae</i> O139)	霍乱
1992	汉赛巴尔通体 (<i>Bartonella henselae</i>)	猫抓病
1993	辛诺柏病毒 (Sin Nombre virus)	汉坦病毒肺综合征
1994	Sabia 病毒 (Sabia virus)	巴西出血热
1995	人疱疹病毒 8 型 (HHV-8)	与 AIDS 卡波济肉瘤有关
1999	尼帕病毒 (Nipah virus)	病毒脑炎
1999	西尼罗病毒 (West Nile virus)	西尼罗热
2003	SARS 新型冠状病毒 (SARS-CoV)	严重急性呼吸综合征 (SARS)
2009	新甲型 H1N1 流感病毒 (Novel influenza A virus H1N1)	甲型 H1N1 流感
2012	中东呼吸综合征冠状病毒 (MERS-CoV)	与严重呼吸道疾病和肾衰竭相关
2015	寨卡病毒 (Zika virus) 新流行	寨卡病毒病 (疼痛、呕吐、发热和小头畸形等)

此外, 还有人类疱疹病毒 6、7、8 型、埃博拉病毒、马堡病毒、SARS 冠状病毒等相继出现并引起严重的人类感染性疾病, 特别是近年感染人的高致病性禽流感病毒新亚型的不断出现, 如 H5N1、H7N9 也造成了人类的感染甚至流行。朊粒 (prion) 的发现使人们认识到在自然界尚存在比病毒更简单、无核酸成分与基因结构的致病因子, 它仅由朊蛋白 (prion protein, PrP) 组成, 故称其为传染性蛋白粒子 (朊粒)。自 1996 年英国首次报告由朊粒引起疯牛病以来, 在英国已导致 20 多万头牛感染。现已证实朊粒可以通过食物传染给动物和人类, 并引起动物和人类的海绵状脑病, 包括人类的库鲁病、克雅病及动物羊瘙痒病、疯牛病等。1997 年美国学者布鲁希纳 (Stanley Prusiner) 因对朊粒研究的杰出贡献而获得诺贝尔奖, 但对其增殖机制、致病机制及传播途径等尚需深入研究。

在现代微生物学研究时期，另一突出的进展就是对传染病的特异性预防。1980年5月世界卫生组织（World Health Organization, WHO）宣告天花已在全球彻底被消灭，是人们长期应用疫苗成功预防传染病的标志性成就之一。WHO下一目标是近年内全球消灭脊髓灰质炎。至今新型疫苗不断研制成功，包括灭活疫苗、减毒活疫苗，以及亚单位疫苗、基因工程疫苗及核酸疫苗、联合疫苗、多价疫苗等多种类型疫苗陆续出现。这些疫苗为更有效而安全地预防各种传染病提供了新的途径。如现在国内外普遍使用的乙型肝炎疫苗就是利用基因工程手段获得的有效疫苗。随着计划免疫的实施和有效疫苗的应用，许多严重危害人类健康的传染病将会逐步被控制或消灭。

在医学微生物学的发展中，我国科学工作者也做出了重要贡献。20世纪初，伍连德博士（Wu Lien-Teh, 1879—1960）（图4）建立了中国最早的现代细菌学研究所和传染病防疫体系，控制了1910年和1920年哈尔滨鼠疫大流行，提出肺鼠疫学说，证实旱獭（Tarabagan）在肺鼠疫传播中的作用，获得1935年诺贝尔奖提名。20世纪30年代，黄桢祥（1910—1987）研究马脑炎病毒时，首创了体外细胞培养病毒的技术，发现病毒增殖后培养液pH有显著改变可作为病毒增殖的一个指标，为病毒培养及疫苗制备开辟了新途径。汤飞凡（1897—1958）（图5）1955年用鸡胚卵黄囊接种并加链霉素抑菌技术，首次从沙眼患者样本中成功分离出沙眼衣原体，从而促进了沙眼的控制与衣原体的研究。另外，在传染病疫苗的研制和计划免疫方面我国科学工作者也取得了很大成就，如成功地研制并推广应用了脊髓灰质炎疫苗、麻疹疫苗、甲型肝炎疫苗、基因工程乙型肝炎疫苗等。同时，我国研制的艾滋病预防和治疗复合型疫苗已进入临床试验期。疫苗的广泛应用，不仅成功地根除了天花，有效地控制了鼠疫、霍乱等烈性传染病，而且麻疹、白喉、破伤风、流行性脑脊髓膜炎等传染病也得到了有效控制，发病率大幅度降低。



图4 伍连德（Wu Lien-Teh, 1879—1960）



图5 汤飞凡（1897—1958）

随着深度测序等研究技术的进步，微生物群（microbiota）、微生物组（microbiome）、病毒组（virome）在人类健康与疾病中的作用与机制等得到相应的证明，并可逐步得到应用。

为医学微生物学的发展做出巨大贡献并获得诺贝尔奖的科学家列于表2。

表2 与医学微生物学相关的主要诺贝尔奖获得者

获奖人	奖项和时间	研究成就
Emil von Behring (德国)	1901 年医学和生理学奖	1890 年发现白喉抗毒素血清, 建立血清治疗方法
Robert Koch (德国)	1905 年医学和生理学奖	1882 年分离、鉴定结核分枝杆菌, 明确与结核病的关系
Charles Nicolle (法国)	1928 年医学和生理学奖	1910 年发现斑疹伤寒的传播媒介是体虱
Gerhard Domagk (德国)	1939 年医学和生理学奖	1935 年发现磺胺的抗菌作用
Alexander Fleming (英国) Ernst Chain (英国) Howard Florey (澳大利亚)	1945 年医学和生理学奖	1929 年 Fleming 发现青霉素具有抗菌作用, 1940 年 Chain 和 Florey 分离纯化了青霉素, 开创了抗生素时代
Wendell Stanley (美国) John Northrop (美国)	1946 年化学奖	1935 年发现纯化结晶的烟草花叶病毒仍具有感染性, 纯化的晶体实际是病毒核酸
Max Theiler (南非)	1951 年医学和生理学奖	1937 年将黄热病病毒经鼠传代建立疫苗, 用于黄热病预防
Selman Waksman (美国)	1952 年医学和生理学奖	1944 年发现链霉素, 是第一个有效治疗结核的药物
John Enders (美国) Thomas Weller (美国) Frederick Robbins (美国)	1954 年医学和生理学奖	1949 年发现脊髓灰质炎病毒可以在多种人类胚胎组织增殖, 建立了病毒体外培养方法
Joshua Lederberg (美国)	1958 年医学和生理学奖	1952 年通过影印培养方法证明细菌的耐药性和抗噬菌体变异无需接触药物和噬菌体就能发生, 影印培养促进了细菌遗传学研究
François Jacob (法国) Andre Lwoff (法国) Jacques Monod (法国)	1965 年医学和生理学奖	1950 年发现紫外线可以终止噬菌体的溶原状态而进入溶菌周期, 阐明了酶的遗传控制和病毒复制机制。1960 年 Jacob 和 Monod 发现乳糖操纵子 (Lac operon)
Peyton Rous (美国)	1966 年医学和生理学奖	1911 年发现鸡肉瘤病毒, 证明微生物可致肿瘤。
Max Delbruck (美国) Alfred Hershey (美国) Salvador Luria (美国)	1969 年医学和生理学奖	1943 年通过噬菌体研究发现病毒的复制机制和遗传结构
David Baltimore (美国) Renato Dulbecco (美国) Howard Temin (美国)	1975 年医学和生理学奖	1952 年 Dulbecco 建立病毒噬斑形成试验。1970 年 Baltimore 和 Temin 分别发现某些肿瘤病毒含逆转录酶, 证明遗传信息可从 RNA 流向 DNA
Baruch Blumberg (美国) Carleton Gajdusek (美国)	1976 年医学和生理学奖	1963 年 Blumberg 发现澳抗, 继而发现了乙型肝炎病毒, 并建立了疫苗。1957 年 Gajdusek 提出 Kuru 病、羊瘙痒病是由慢病毒引起
Werner Arber (瑞士) Daniel Nathans (美国) Hamilton Smith (美国)	1978 年医学和生理学奖	1962 年 Nathans 用 E. coli 无细胞提取物表达获得 f2 噬菌体衣壳蛋白。1967 年 Arber 发现细菌甲基化酶。1970 年 Smith 发现细菌限制性内切酶, 后广泛用于分子生物学研究
Paul Berg (美国)	1980 年化学奖	1972 年 Berg 将 λ 噬菌体基因和 E. coli 的半乳糖操纵子 (galactose operon) 插入到 SV40 DNA 中, 开创基因重组先河
J. Michael Bishop (美国) Harold Varmus (美国)	1989 年医学和生理学奖	1976 年发现 Rous 鸡肉瘤病毒的癌基因也存在于动物和人类细胞, 提出原癌基因 (proto-oncogene) 概念
Kary Mullis (美国)	1993 年化学奖	1988 年从耐热菌 Thermus aquaticus 中分离耐热 DNA 聚合酶, 建立聚合酶链反应 (PCR)

续表

获奖人	奖项和时间	研究成就
Stanley Prusiner（美国）	1997 年医学和生理学奖	证明朊粒（prion）是羊瘙痒病的病因
Barrv Marshall（澳大利亚） Bobin warren（澳大利亚）	2005 年医学和生理学奖	发现并分离培养幽门螺杆菌，并阐明其是引起胃炎和 消化道溃疡的主要原因
Harald zur Hausen（德国）	2008 年医学和生理学奖	发现人乳头瘤病毒与宫颈癌发生的关系
Francoise Barre-Sinoussi （法国） Luc Montagnier（法国）	2008 年医学和生理学奖	发现人类免疫缺陷病毒（HIV）
大隅良典 Yoshinori Ohsumi（日本）	2016 年医学和生理学奖	以酵母菌为模型，发现并阐明了细胞自噬的功能与机 制

三、任务与展望

尽管医学微生物学学科有很大发展，但我们面临的任务还很重，在许多方面尚须深入研究。

1. 深入研究病原微生物，特别是对新现（emerging）与再现（re-emerging）传染病病原体。HIV、新型肝炎病毒、出血热病毒、SARS 冠状病毒及高致病性禽流感病毒、朊粒等均属新现病原体。再现传染病，如结核、霍乱，多由耐药株或变异株引起。而且，由于抗生素滥用所造成的宿主微生态失调等问题，以及炭疽芽胞杆菌等病原微生物作为生物武器而用于战争的 危险也应该高度重视。因此，深入研究这些传染病流行特点、再现原因、病原体变异及耐药机制、致病机制以及早期特异性诊断等，可以为研究有效控制措施打基础。

2. 研制新型微生物疫苗，有效预防和控制传染病。除了研制灭活或减毒活疫苗外，利用基因工程技术研制基因重组亚单位疫苗、嵌合疫苗（微生物抗原或细胞因子嵌合表达的疫苗）和核酸疫苗等有效、特异的新型疫苗，为新世纪微生物学研究的一个主要目标。

3. 建立规范化的微生物学检查法。目前传统的细菌生化反应鉴别及药敏鉴定已逐渐被自动化检测仪器及试剂盒取代，而用于检测微生物核酸或抗原成分等快速诊断法已广泛应用于实际。但随着新的病原体及其变异株的不断出现，需要不断研制新的微生物学检查法，才能尽快发现和确认新发现的病原体。在方法学上，将现代分子生物学技术应用于微生物学检查中，可以建立出更特异、更快速的微生物学检查法，以保证新现传染病及再现传染病得到及时、有效的治疗。

4. 不断研制特效抗感染药物。抗感染药物主要包括化学药物和抗生素等。尽管抗生素可以有效治疗细菌感染，但不断出现耐药菌株逐步成为抗感染治疗中的难题。从分子水平研究常用药物的抗菌机制及其耐药机制，研制出新的有特异作用靶点的抗菌药物。同时，抗病毒药物的缺乏严重影响病毒性感染的治疗与控制。除核苷类、非核苷类和蛋白酶抑制剂等抗病毒药物外，从基因水平入手研制出抑制病毒基因复制与表达的药物则是当前研究的重点方向之一，如用 RNA 干扰技术开发抗病毒药物已备受关注。

5. 加强和完善传染病的监测和防控措施，建立健全公共卫生监测机构和体系，加强疾病控制，加强公共卫生突发事件应急处理能力，健全我国国家和地区级，包括省市级公共卫生信息网，及时有效地控制和预防各种传染病的发生和流行。

总之，随着科学的发展，21 世纪医学微生物学将会以更快的速度发展，经广大医学微生物学工作者和医务人员的努力，人们将会更准确地掌握和解析病原微生物的自然规律和致病机制，更深入地发展微生物学检查技术，建立出更有效地预防和治疗各种传染病的措施，以逐渐控制或消灭传染病，维护人类健康与生命。

（张凤民）

PUM

第一篇

医学微生物学基础

第1章

细菌的形态与结构

细菌 (bacterium) 是属于原核生物界 (*Prokaryotae*) 的一种单细胞微生物, 有广义和狭义两种范畴。广义上泛指各类原核细胞型微生物, 包括细菌、放线菌、支原体、衣原体、立克次体、螺旋体。狭义上则专指其中数量最大、种类最多、具有典型代表性的细菌。它们形体微小, 结构简单, 具有细胞壁和原始核质, 无核仁和核膜, 除核糖体外无细胞器。

第一节 细菌的大小与形态

观察细菌最常用的仪器是光学显微镜, 其大小可在显微镜下进行测量, 一般以微米 (μm) 为单位。在营养丰富的人工培养条件下, 细菌按其外形区分主要有球菌、杆菌和螺形菌三大类 (图 1-1)。在自然界及人和动物体内, 绝大多数细菌是黏附在无生命或有生命的物体表面, 以生物被膜 (biofilm) 的形式存在。

1. 球菌 (coccus) 多数球菌直径 $1\ \mu\text{m}$ 左右, 呈圆球形或近似球形。由于繁殖时细菌分裂平面不同和分裂后菌体之间相互黏附程度, 可形成不同的排列方式, 这对一些球菌的鉴别具有意义。

(1) 双球菌 (diplococcus) 在一个平面上分裂, 分裂后两个菌体成对排列, 如脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌。

(2) 链球菌 (streptococcus) 在一个平面上分裂, 分裂后多个菌体连接成链状, 如乙型溶血性链球菌。

(3) 葡萄球菌 (staphylococcus) 在多个不规则的平面上分裂, 分裂后菌体无一定规则地排列在一起似葡萄状, 如金黄色葡萄球菌。

(4) 四联球菌 (tetrad coccus) 在两个互相垂直的平面上分裂, 分裂后四个菌体黏附在一起呈正方形, 如四联加夫基菌。

(5) 八叠球菌 (sarcina coccus) 在三个互相垂直的平面上分裂, 分裂后八个菌体排列成包



图 1-1 细菌的基本形态

裹状立方体，如藤黄八叠球菌。

2. 杆菌 (bacillus) 不同杆菌的大小、长短、粗细差别较大。大的杆菌如炭疽芽胞杆菌长 3 ~ 10 μm，中等的如大肠埃希菌长 2 ~ 3 μm，小的如布鲁菌长仅 0.6 ~ 1.5 μm。杆菌多为直杆状，也有的菌体稍弯；多数分散存在，也有呈链状排列，称为链杆菌 (streptobacillus)；菌体两端大多呈钝圆形，少数两端平齐（如炭疽芽胞杆菌）或两端尖细（如梭杆菌）。有的杆菌末端膨大成棒状，称为棒状杆菌 (corynebacterium)；有的菌体短小，近于椭圆形，称为球杆菌 (coccobacillus)；有的常呈分支生长趋势，称为分枝杆菌 (mycobacterium)；有的末端常呈分叉状，称为双歧杆菌 (bifidobacterium)。

3. 螺形菌 (spiral bacterium) 菌体弯曲，有的菌体长 2 ~ 3 μm，只有一个弯曲，呈弧形或逗点状称为弧菌 (vibrio)，如霍乱弧菌；有的菌体长 3 ~ 6 μm，有数个弯曲，称为螺菌 (spirillum)，如鼠咬热螺菌；也有的菌体细长弯曲呈弧形或螺旋形，称为螺杆菌 (helicobacterium)，如幽门螺杆菌。

细菌形态受温度、pH、培养基成分和培养时间等环境因素影响很大。一般是细菌在适宜的生长条件下培养 8 ~ 18 小时形态比较典型，在不利环境或菌龄老时常出现梨形、气球状和丝状等不规则的多形性，称为衰退型。因此，观察细菌的大小和形态，应选择适宜生长条件下的对数生长期为宜。



知识拓展：细菌的基本形态

第二节 细菌的结构

细菌具有典型的原核细胞结构（图 1-2）和功能。其中细胞壁、细胞膜、细胞质和核质等是每个细菌细胞都具有的，故称为细菌的基本结构；荚膜、鞭毛、菌毛、芽胞仅某些细菌具有，为其特殊结构。

一、细菌的基本结构

细菌的细胞壁、细胞膜、细胞质和核质都有一些细菌特有的成分或结构，决定了细菌独特的性状。

（一）细胞壁

细胞壁 (cell wall) 位于菌细胞的最外层，包绕在细胞膜的周围，是一种膜状结构，组成较复杂，随不同细菌而异。用革兰氏染色法 (Gram staining) 可将细菌分为两大类，即革兰氏阳性菌 (G⁺) 和革兰氏阴性菌 (G⁻)。两类细菌细胞壁的共有组分为肽聚糖，但分别拥有各自特殊

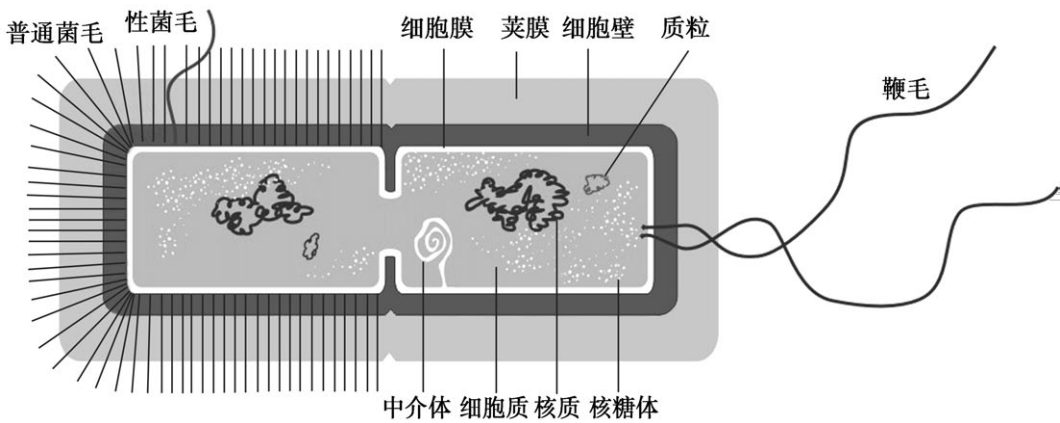


图 1-2 细菌的结构

组分。

1. 肽聚糖 (peptidoglycan) 是一类复杂的多聚体, 是细菌细胞壁中的主要组分, 为原核细胞所特有, 又称为黏肽 (mucopeptide) 或胞壁质 (murein)。革兰氏阳性菌的肽聚糖由聚糖骨架 (backbone)、四肽侧链 (tetrapeptide side chain) 和五肽交联桥 (peptide cross bridge) 三部分组成 (图 1-3), 革兰氏阴性菌的肽聚糖仅由聚糖骨架和四肽侧链两部分组成 (图 1-4)。

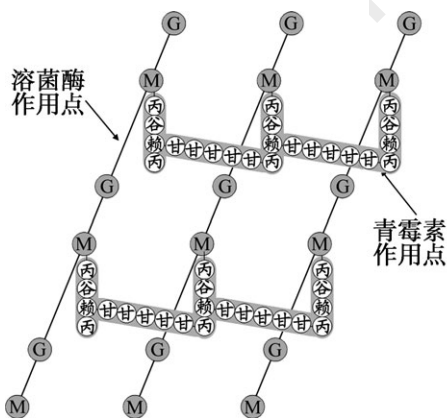


图 1-3 金黄色葡萄球菌细胞壁肽聚糖结构

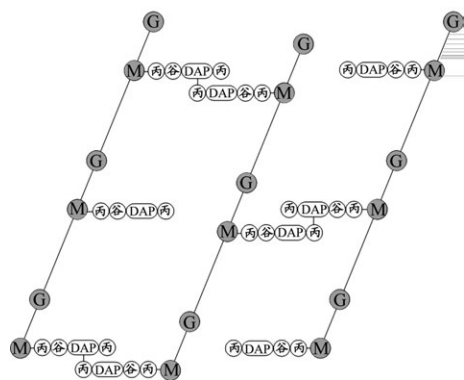


图 1-4 大肠埃希菌细胞壁肽聚糖结构

聚糖骨架由 N-乙酰葡萄糖胺 (N-acetyl glucosamine) 和 N-乙酰胞壁酸 (N-acetylmuramic acid) 交替间隔排列, 经 β -1, 4-糖苷键联结而成。不同细菌细胞壁的聚糖骨架均相同。四肽侧链的组成和联结方式随菌不同而异。如图 1-3 所示, 葡萄球菌 (革兰氏阳性菌) 细胞壁四肽侧链第三位的 L-赖氨酸通过由五个甘氨酸组成的交联桥连接到相邻聚糖骨架四肽侧链末端的 D-丙氨酸上, 从而构成机械强度十分坚韧的三维立体结构。在大肠埃希菌 (革兰氏阴性菌) 的四肽侧链中 (图 1-4), 第三位氨基酸是二氨基庚二酸 (diaminopimelic acid, DAP), 并由 DAP 与相邻四肽侧链末端 D-丙氨酸直接连接, 没有五肽交联桥, 因而只形成单层平面网络的二维结构。细菌四肽侧链中第三位氨基酸变化最大, 大多数革兰氏阴性菌为 DAP, 而革兰氏阳性菌可以是 DAP、L-赖氨酸或其他 L-氨基酸。DAP 迄今仅发现存在于原核细胞的细胞壁中。

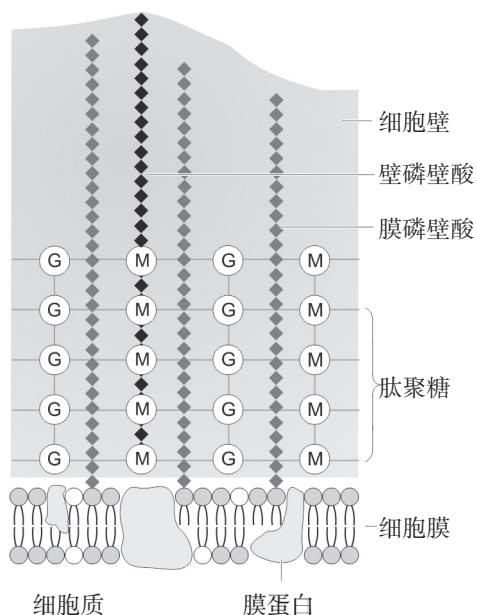


图 1-5 革兰氏阳性菌细胞壁结构

2. 革兰氏阳性菌细胞壁特殊组分 革兰氏阳性菌细胞壁较厚 (20 ~ 80 nm), 除含有 15 ~ 50 层肽聚糖结构外, 大多数尚含有大量的磷壁酸 (teichoic acid), 少数是磷壁醛酸 (teichuronic acid), 约占细胞壁干重的 50% (图 1-5)。磷壁酸是由核糖醇 (ribitol) 或甘油残基经磷酸二酯键互相连接而成。其结构中少数基团被氨基酸或糖所取代, 多个磷壁酸分子组成长链穿插于肽聚糖层中, 这是细菌细胞带负电荷的重要原因。磷壁酸按其结合部位不同, 分为壁磷壁酸 (wall teichoic acid, WTA) 和膜磷壁酸 (membrane teichoic acid, LTA)。壁磷壁酸一端通过磷脂与肽聚糖上的胞壁酸共价结合, 另端伸出细胞壁游离于细胞膜外。膜磷壁酸一端与细胞膜外层上

的糖脂共价结合, 另一端穿越肽聚糖层伸出细胞壁表面呈游离状态。磷壁醛酸与磷壁酸相似, 仅其结构中以糖醛酸代替磷酸。壁磷壁酸与脂磷壁酸共同组成带负电荷的网状多聚物或基质, 使得革兰氏阳性菌的细胞壁具有良好的坚韧性、通透性及静电性能。磷壁酸也具有抗原性及黏附素活性。此外, 某些革兰氏阳性菌细胞壁表面尚有一些特殊的表面蛋白质, 如金黄色葡萄球菌的 A 蛋白, A 群链球菌的 M 蛋白等。大多数革兰氏阳性菌细胞壁中蛋白质含量较少。

3. 革兰氏阴性菌细胞壁特殊组分 革兰氏阴性菌细胞壁较薄 (10 ~ 15 nm), 但结构较复杂。除含有 1 ~ 2 层的肽聚糖结构外, 尚有其特殊组分外膜 (outer membrane), 约占细胞壁干重的 80% (图 1-6)。

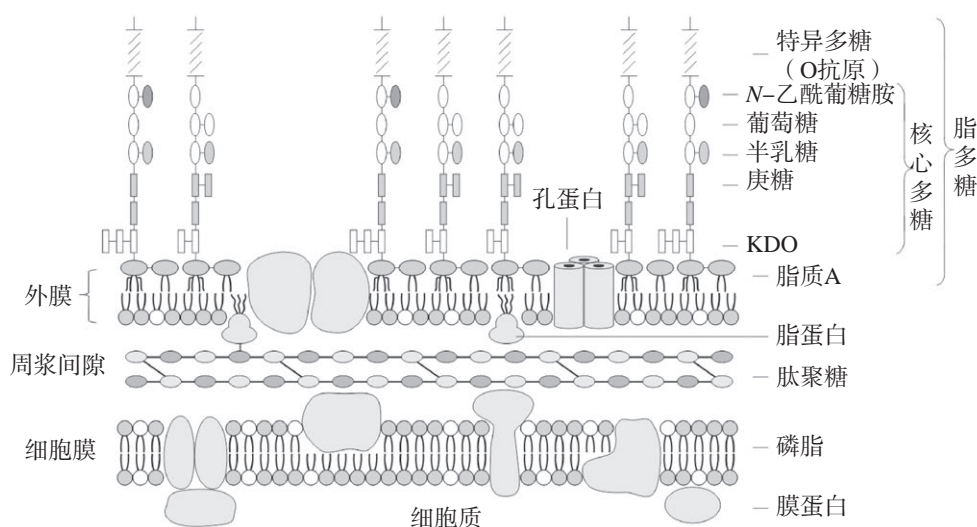


图 1-6 革兰氏阴性菌细胞壁结构

外膜由脂蛋白、不对称的脂质双层和脂多糖三部分组成。磷脂层与细胞膜成分相似, 其和外层的脂多糖成分构成不对称的脂质双层结构。脂蛋白位于肽聚糖层和脂质双层之间, 其蛋白质部分与肽聚糖侧链的二氨基庚二酸相连, 其脂质成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。脂质双层内镶嵌着多种蛋白质称为外膜蛋白 (outer membrane protein, OMP), 其中有的为孔蛋白 (porin), 如大肠埃希菌的 OmpF、OmpC, 允许分子量 ≤ 600 的水溶性分子通过; 有的为诱导性或去阻遏蛋白质, 参与特殊物质的扩散过程; 有的为噬菌体、性菌毛或细菌素的受体。

脂质双层中向细胞外侧层伸出的是脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)。LPS 由脂质 A、核心多糖和特异多糖三部分组成, 即革兰氏阴性菌的内毒素 (endotoxin)。

(1) 脂质 A (lipid A): 为一种糖磷脂, 由 β -1, 6-糖苷键相连的 D-氨基葡萄糖双糖组成的基本骨架, 双糖骨架的游离羟基和氨基可携带多种长链脂肪酸和磷酸基团。不同种属细菌的脂质 A 骨架基本一致, 其主要差别是脂肪酸的种类和磷酸基团的取代不尽相同, 其中 β -羟基豆蔻酸是肠道菌所共有的。脂质 A 是内毒素的毒性和生物学活性的主要组分, 无种属特异性, 故不同细菌产生的内毒素的毒性作用均相似。

(2) 核心多糖 (core polysaccharide): 位于脂质 A 的外层, 由己糖 (葡萄糖、半乳糖等)、庚糖、2-酮基-3-脱氧辛酸 (2-keto-3-deoxyoctonate acid, KDO)、磷酸乙醇胺等组成。经 KDO 与脂质 A 共价联结。核心多糖有属特异性, 同一属细菌的核心多糖相同。

(3) 特异多糖 (specific polysaccharide): 是脂多糖的最外层, 为数个至数十个寡聚糖重复

单位所构成的多糖链。特异多糖即革兰氏阴性菌的菌体抗原（O 抗原），具有种特异性，因其多糖中单糖的种类、位置、排列和空间构型各不相同所致。若特异多糖缺失，细菌会从光滑（smooth, S）型变为粗糙（rough, R）型。

此外，少数革兰氏阴性菌（脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、流感嗜血杆菌）的 LPS 结构不典型，其外膜糖脂含有短链分枝状聚糖组分（与粗糙型肠道菌的 LPS 相似），称为脂寡糖（lipooligosaccharide, LOS）。它与哺乳动物细胞膜的鞘糖脂成分非常相似，从而使这些细菌逃避宿主免疫细胞的识别。LOS 作为重要的毒力因子而受到关注。

在革兰氏阴性菌的细胞膜和外膜的脂质双层之间有一空隙，占细胞体积的 20% ~ 40%，称为周浆间隙（periplasmic space）。该间隙含有多种水解酶，例如蛋白酶、核酸酶、碳水化合物降解酶，以及作为毒力因子的胶原酶、透明质酸酶和 β -内酰胺酶等，在细菌获得营养、解除有害物质毒性等方面起到重要作用。

革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌细胞壁结构显著不同（表 1-1），导致这两类细菌在染色性、抗原性、致病性及对药物的敏感性等方面有很大差异。此外，某些细菌（如分枝杆菌）细胞壁含有丰富脂质，与上述革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌细胞壁结构显著不同，因此这类细菌具有特殊的生物学性状和致病特点。

表 1-1 革兰氏阳性菌与阴性菌细胞壁结构比较

细胞壁性状		革兰氏阳性菌	革兰氏阴性菌
厚度		20 ~ 80 nm	10 ~ 15 nm
强度		较坚韧	较疏松
肽聚糖	组成	聚糖骨架	聚糖骨架
		四肽侧链	四肽侧链
		五肽交联桥	无
	结构类型	三维立体结构	二维平面结构
	层数	可多达 50 层	1 ~ 2 层
	含量	占细胞壁干重 50% ~ 80%	占细胞壁干重 5% ~ 20%
糖类含量		约 45%	15% ~ 20%
脂类含量		1% ~ 4%	11% ~ 22%
磷壁酸或磷壁醛酸		有	无
外膜	脂蛋白	无	有
	不对称的脂质	无	有
	双层		
	脂多糖	无	有

4. 细胞壁的主要功能及相关的医学意义

（1）保护细菌和维持菌体形态：细菌菌体固有形态是由坚韧而富弹性的细胞壁维持。细胞壁还保护细菌抗低渗环境，细菌细胞质内有高浓度的无机盐和大分子营养物质，其渗透压高达 5 ~ 25 个大气压（506.6 ~ 2 533.1 kPa），由于细胞壁的保护作用，细菌能承受内部巨大的渗透压而不会破裂，并能在相对低渗的环境下生存。

（2）物质交换：细胞壁上有许多小孔，以及特定转运蛋白，可参与菌体内外的物质交换。

（3）与致病性有关：乙型溶血性链球菌表面的 M 蛋白与脂磷壁酸结合，在细菌表面形成微纤维（microfibril），可介导菌体与宿主细胞黏附，是该菌重要的致病物质；金黄色葡萄球菌

A 蛋白、乙型溶血性链球菌 M 蛋白具有对抗免疫细胞的吞噬功能；磷壁酸和 LPS 具有抗原性，可以诱发机体的免疫应答。LPS 是内毒素，可使机体发热，白细胞增加，严重时致休克死亡。

(4) 与耐药性有关：革兰氏阳性菌肽聚糖缺失可使得作用于细胞壁的抗菌药物失效；革兰氏阴性菌外膜通透性的降低可阻止某些抗菌药物进入和外膜主动外排（泵出）抗菌药物，成为细菌重要的耐药机制。

(5) 与静电性有关：磷壁酸和 LPS 均带负电荷，能与 Mg^{2+} 等双价离子结合，有助于维持菌体内离子的平衡，调节细菌生理代谢。但革兰氏阳性菌磷壁酸带更多负电荷，等电点更低（革兰氏阳性菌等电点为 pH2 ~ pH3，革兰氏阴性菌为 pH4 ~ pH5），故更易与带正电荷的碱性染料结晶紫结合，被染成紫色。

(6) 其他：革兰氏阳性菌的磷壁酸是重要表面抗原，与血清型分类有关。LPS 也可增强机体非特异性抵抗力，并有抗肿瘤等有益作用。

5. 细菌细胞壁缺陷型（细菌 L 型） 细菌细胞壁的肽聚糖结构受到理化或生物因素的直接破坏或合成被抑制，这种细胞壁受损的细菌在高渗环境下仍可存活者称为细菌细胞壁缺陷型。1935 年 Emmy Klieneberger-Nobel 在英国 Lister 研究所研究念珠状链杆菌时发现，该菌培养物中有一种菌落形态类似支原体的微生物，就以研究所第一个字母命名为 L 型（L-form）细菌，或称细菌 L 型（bacterial L form）。现已发现几乎所有细菌、多种螺旋体和真菌均可产生 L 型。L 型有两种类型：革兰氏阳性菌细胞壁缺失后，原生质仅被一层细胞膜包住，称为原生质体（protoplast）；革兰氏阴性菌肽聚糖层受损后尚有外膜保护，称为原生质球（spheroplast）。支原体是天然缺乏细胞壁的微生物，与细菌 L 型不同。

细菌 L 型在体内或体外、人工诱导或自然情况下均可形成，诱发因素很多，如溶菌酶（lysozyme）和溶葡萄球菌素（lysostaphin）、胆汁、抗体、补体等；或抑制细胞壁合成的药物，如 β -内酰胺类抗生素、杆菌肽、环丝氨酸、甘氨酸等；或因培养基中缺少合成细胞壁的成分，如二氨基庚二酸、赖氨酸等而获得。也可用亚硝基胍、紫外线、氯化锂等诱变获得。

细菌 L 型的形态因缺失细胞壁而呈高度多形性，大小不一，有球形、杆状和丝状等。着色不匀，无论其原为革兰氏阳性菌或革兰氏阴性菌，形成 L 型细菌后，革兰氏染色大多为阴性。细菌 L 型难培养，其营养要求基本与原菌相似，但需在高渗低琼脂含血清的培养基中生长。细菌 L 型生长繁殖较原菌缓慢，一般培养 2 ~ 7 天后在软琼脂平板上形成中间较厚、四周较薄的荷包蛋样细小菌落，也有的长成颗粒状或丝状菌落。细菌 L 型在液体培养基中生长后呈较疏松的絮状颗粒，沉于管底，培养液则澄清。去除诱发因素后，有些 L 型可回复为原菌，有些则不能回复，其决定因素为 L 型是否有残存的肽聚糖可作为自身再合成的引物。

某些细菌 L 型仍有一定的致病力，通常引起慢性感染，如尿路感染、骨髓炎、心内膜炎等，并常在使用作用于细胞壁的抗菌药物（ β -内酰胺类抗生素等）治疗过程中发生。临床上遇有症状明显而标本常规细菌培养阴性者，应考虑细菌 L 型感染的可能性，宜做 L 型的专门分离培养，并更换抗菌药物。

溶菌酶和青霉素是细菌 L 型最常用的人工诱导剂。溶菌酶和溶葡萄球菌素作用相同，能裂解肽聚糖中 N-乙酰葡萄糖胺和 N-乙酰胞壁酸之间的 β -1, 4-糖苷键，破坏聚糖骨架，引起细菌裂解。青霉素能与细菌竞争合成肽聚糖过程中所需的转肽酶，抑制四肽侧链上 D-丙氨酸与五肽桥之间的联结，使细菌不能合成完整的肽聚糖，在一般渗透压环境中，可导致细菌死亡。在高渗情况下，这些细胞壁缺陷的 L 型仍可存活。革兰氏阳性菌细胞壁缺陷形成的原生质体，由于菌体内渗透压很高，在普通培养基中很容易胀裂死亡，必须保存在高渗环境中。革兰氏阴性菌细胞壁中肽聚糖含量较少，菌体内的渗透压比革兰氏阳性菌低，细胞壁缺陷形成的原生质球在低渗环境中仍有一定的抵抗力（表 1-2）。



知识拓展：革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌细菌 L 型的主要特点



知识拓展：青霉素和溶菌酶作用的细菌靶标及抗菌机制

表1-2 细菌L型的特点

性状	特点
形态	因缺失细胞壁，形态呈高度多形性
染色	无论革兰氏阳性菌还是革兰氏阴性菌，其 L 型基本表现为革兰氏阴性
培养	高渗培养基
回复	去除诱发因素后，有些 L 型可回复为原菌，有些则不能回复
致病性	可引起尿路感染、骨髓炎、心内膜炎等慢性感染
药物敏感性	对作用于细胞壁的抗菌药物（如 β - 内酰胺类抗生素）治疗无效

(二) 细胞膜

细胞膜 (cell membrane) 又称胞质膜 (cytoplasmic membrane)，位于细胞壁内侧，紧包着细胞质。厚约 7.5 nm，柔韧致密，富有弹性，占细胞干重的 10% ~ 30%。细菌细胞膜的结构与真核细胞的细胞膜基本相同，由磷脂和多种蛋白质组成，但不含胆固醇。细胞膜是细菌赖以生存的重要结构之一，其主要功能如下。

1. 物质转运 细菌细胞膜形成疏水性屏障，允许水和某些小分子物质被动性扩散，特异性营养物质的选择性进入和废物的排出。透性酶参与营养物质的主动摄取过程。

2. 呼吸和分泌 因细菌无线粒体结构，参与细胞氧化呼吸的细胞色素、组成呼吸链的其他酶类及三羧酸循环的某些酶均定位于细胞膜表面。因此，细菌细胞膜类似于真核细胞的线粒体，在细胞呼吸和能量代谢中发挥重要作用。

3. 生物合成 细胞膜含有多种酶类，参与细胞结构物质（如肽聚糖、磷脂、鞭毛和荚膜等）的合成。其中与肽聚糖合成有关的酶类（转肽酶或转糖基酶），是青霉素作用的主要靶位，称其为青霉素结合蛋白 (penicillin-binding protein, PBP)，与细菌的耐药性形成有关。

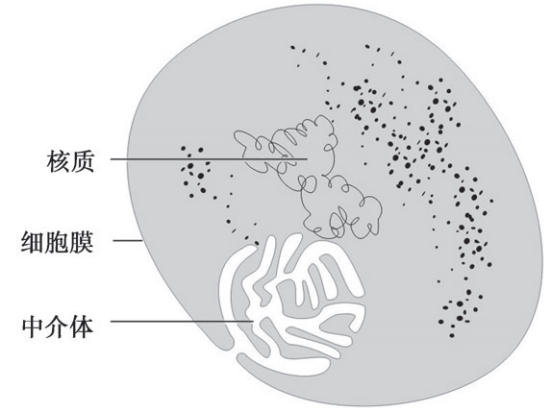


图 1-7 细菌中介体

4. 参与细菌分裂 细菌部分细胞膜内陷、折叠、卷曲形成的囊状物，称为中介体 (mesosome)。中介体多见于革兰氏阳性细菌 (图 1-7)，可有一个或多个。中介体一端连在细胞膜上，另一端与核质相连，细胞分裂时中介体也一分为二，各携一套核质进入子代细胞，有类似真核细胞纺锤丝的作用。中介体的形成，有效地扩大了细胞膜面积，相应地增加了酶的含量和能量的产生，其功能类似于真核细胞的线粒体，故又称为拟线粒体 (chondroid)。

(三) 细胞质

细胞膜包裹的溶胶状物质为细胞质 (cytoplasm) 或称原生质 (protoplasm)，由水、蛋白质、脂类、核酸及少量糖和无机盐组成，其中包含许多重要结构。

1. 核糖体 (ribosome) 核糖体是细菌合成蛋白质的场所，游离存在于细胞质中，每个细菌体内可达数万个。细菌核糖体沉降系数为 70S，由 50S 和 30S 两个亚基组成，以大肠埃希菌为例，其化学组成 66% 是 RNA (包括 23S、16S 和 5S rRNA)，34% 为蛋白质。核糖体常与正在转录的 mRNA 相连呈“串珠”状，称为多聚核糖体 (polysome)，使转录和翻译耦联在一

起。在生长活跃的细菌体内，几乎所有的核糖体都以多聚核糖体的形式存在。

细菌的核糖体与真核生物核糖体不同，后者沉降系数为 80S，由 60S 和 40S 两个亚基组成。有些抗生素可以结合至细菌核糖体的亚基，如链霉素能与 30S 亚基结合，红霉素与 50S 亚基结合，均能干扰其蛋白质合成，从而杀死细菌，但这些药物不结合人类核糖体，因此对人类无作用。

2. 质粒 (plasmid) 是细菌染色体外的遗传物质，存在于细胞质中。质粒为闭合环状的双链 DNA，带有遗传信息，控制细菌某些特定的遗传性状。质粒能独立自行复制，随细菌分裂转移到子代细胞中。质粒不是细菌生长所必不可少的，失去质粒的细菌仍能正常存活。

质粒编码细菌性状有菌毛、细菌素、毒素和耐药性的产生等，与细菌致病性和耐药性有关。质粒可通过接合或转导作用等将有关性状传递给另一细菌。质粒的结构简单，易导入细胞中，在分子生物学研究中作为载体被广泛应用。

3. 胞质颗粒 细菌细胞质中含有多种颗粒，大多为贮藏的营养物质，包括糖原、淀粉等多糖、脂类、磷酸盐等。胞质颗粒又称为内含物 (inclusion)，不是细菌的恒定结构，不同菌有不同的胞质颗粒，同一菌在不同环境或生长期亦可不同。胞质颗粒中有一种主要成分是 RNA 和多偏磷酸盐 (polymetaphosphate) 的颗粒，其嗜碱性强，用亚甲蓝染色时着色较深呈紫色，称为异染颗粒 (metachromatic granule) 或纒回体 (volutin)。异染颗粒常见于白喉棒状杆菌，位于菌体两端，故又称极体 (polar body)，有助于鉴定。

(四) 核质

细菌是原核细胞，不具有成形的核。细菌基因组 DNA 聚集于细胞质的某一区域，多在菌体中央，称为核质 (nuclear material) 或拟核 (nucleoid)，因其功能与真核细胞的染色体相似，亦称之为细菌的染色体 (bacterial chromosome)。细菌无核膜、核仁和有丝分裂器。

细菌染色体为单倍体。大多数细菌的核质由单一的密闭环状 DNA 分子反复回旋卷曲盘绕，形成一松散网状结构，相当于一染色体，附着在横隔中介体或细菌膜上。序列分析证实大肠埃希菌 K-12 MG1655 的染色体 DNA 全长 4639 kb，其中有约 4289 kb 的开放阅读框架 (open reading frame, ORF)。但是，某些细菌也发现有两个不同的染色体，例如，霍乱弧菌和羊布鲁菌有两个不同的染色体，甚至个别细菌有 3 ~ 4 个不同的染色体，而某些疏螺旋体的染色体则为线性双链 DNA 分子。

二、细菌的特殊结构

某些细胞有一些特殊结构，包括荚膜、鞭毛、菌毛和芽胞，与细菌的生存和致病有关。

1. 荚膜 (capsule) 某些细菌在其细胞壁外包绕一层黏液性物质，为多糖或蛋白质的多聚体，用理化方法去除后并不影响菌细胞的生命活动 (图 1-8)。凡黏液性物质牢固地与细胞壁结合，厚度 $\geq 0.2 \mu\text{m}$ ，边界明显者称为荚膜，也称大荚膜 (macrocapsule)，如肺炎链球菌，而厚度 $< 0.2 \mu\text{m}$ 者称为微荚膜 (microcapsule)，如伤寒沙门菌的 Vi 抗原、大肠埃希菌的 K 抗原等。若黏液性物质疏松地附着于菌细胞表面，边界不明显且易被洗脱者称为黏液层 (slime layer)。荚膜是细菌致病重要的毒力因子，也是鉴别细菌的重要标志。

(1) 荚膜的化学组成：大多数细菌的荚膜是多糖，但炭疽芽胞杆菌、鼠疫耶尔森菌等少数

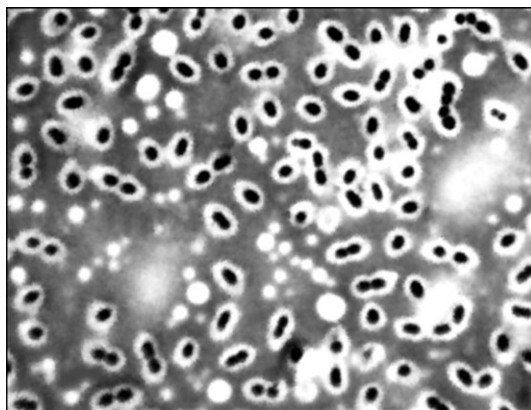


图 1-8 细菌荚膜

菌的荚膜为多肽。由多糖组成的荚膜和黏液层称为糖萼 (glycocalyx)。荚膜多糖为高度水合分子,含水量 95% 以上,与菌细胞表面的磷脂或脂质 A 共价结合。多糖分子组成和构型的多样化使其结构极为复杂,是细菌血清学分型的基础之一,例如肺炎链球菌的荚膜多糖物质的抗原至少可分成 85 个血清型。荚膜与同型抗血清结合发生反应后即逐渐增大,出现荚膜肿胀反应,可借此确定细菌型别。

荚膜对一般碱性染料亲和力低,不易着色,普通染色只能见到菌体周围有未着色的透明圈。如用墨汁负染,则荚膜显现更为清楚。用特殊染色法可将荚膜染成与菌体不同的颜色。

荚膜的形成受遗传的控制和环境条件的影响。一般在动物体内或含有血清或糖的培养基中容易形成荚膜,在普通培养基上或连续传代则易消失。有荚膜的细菌在固体培养基上形成黏液型 (M) 或光滑型 (S) 菌落,失去荚膜后其菌落变为粗糙型 (R)。

(2) 荚膜的功能: 荚膜和微荚膜具有相同的功能。

1) 抗吞噬作用: 荚膜具有保护细菌抵抗宿主吞噬细胞的吞噬和消化的作用,增强细菌的侵袭力,因而荚膜是病原菌的重要毒力因子。荚膜多糖亲水和带负电荷,与吞噬细胞膜有静电排斥力,故能阻滞表面吞噬活性,例如肺炎链球菌,有荚膜株数个菌就可使实验小鼠致死,无荚膜株则需上亿个菌才能使小鼠死亡。

2) 黏附作用: 荚膜多糖可使细菌彼此粘连,也可黏附于组织细胞或无生命物体表面,参与生物被膜 (biofilm) 的形成,是引起感染的重要因素。变异链球菌依靠荚膜将其固定在牙齿表面,利用口腔中的蔗糖产生大量的乳酸,积聚在附着部位形成生物被膜,导致牙齿珐琅质的破坏,发生龋齿。铜绿假单胞菌具有荚膜,在住院患者的各种导管内黏附定居形成生物被膜,是医院感染发生的重要因素。

3) 抗有害物质的损伤作用: 荚膜处于菌细胞的最外层,有保护菌体避免和减少受溶菌酶、补体、抗体和抗菌药物等有害物质的损伤作用。

2. 鞭毛 (flagellum) 许多细菌 (包括所有的弧菌和螺菌,约半数的杆菌和个别球菌) 在菌体上附有细长并呈波状弯曲的丝状物,少仅 1 ~ 2 根,多者达数百根,这些丝状物称为鞭毛,是细菌的“运动器官”。鞭毛经特殊染色法增粗后能在普通光学显微镜下看到 (图 1-9)。

根据鞭毛的数量和部位,可将鞭毛菌分成 4 类 (图 1-9): ①单毛菌 (monotrichate): 只有一根鞭毛,位于菌体一端,如霍乱弧菌; ②双毛菌 (amphitrichate): 菌体两端各有一根鞭毛,如空肠弯曲菌; ③丛毛菌 (lophotrichate): 菌体一端或两端有一丛鞭毛,如铜绿假单胞菌; ④周毛菌 (peritrichate): 菌体周身遍布许多鞭毛,如伤寒沙门菌。

鞭毛自细胞膜长出,游离于菌细胞外,由基础小体、钩状体和丝状体三个部分组成 (图 1-10)。各菌种的鞭毛蛋白结构不同,具有高度的抗原性,称为鞭毛 (H) 抗原。

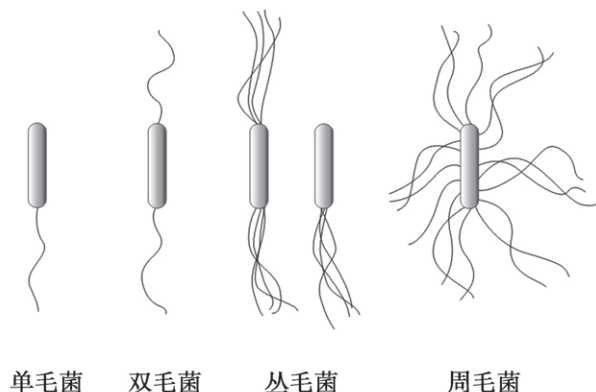


图 1-9 细菌鞭毛的类型



彩图: 鞭毛形态

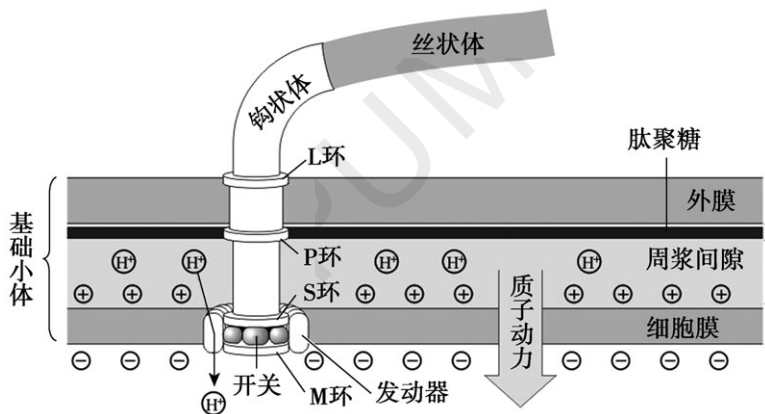


图 1-10 大肠埃希菌鞭毛结构

鞭毛的功能包括：①细菌的运动：具有鞭毛的细菌在液体环境中能主动、自由游动，速度快。细菌的运动有化学趋向性，常向营养物质处前进，而逃离有害物质；②有些细菌鞭毛与致病性有关：例如霍乱弧菌、空肠弯曲菌等通过活泼的鞭毛运动穿透小肠黏膜表面覆盖的黏液层，使菌体黏附于肠黏膜上皮细胞，产生毒性物质导致病变发生；③细菌鉴定和分类：根据细菌能否运动（有无动力），鞭毛的数量、部位和特异的抗原性，可用于鉴定细菌和进行细菌分类。

3. 菌毛 (pilus 或 fimbriae) 许多革兰氏阴性菌和少数革兰氏阳性菌菌体表面存在着一种直的、比鞭毛更细、更短的丝状物，称为菌毛。菌毛由结构蛋白亚单位菌毛蛋白 (pilin) 组成，呈螺旋状排列成圆柱体，新形成的菌毛蛋白分子插入菌毛的基底部。菌毛蛋白具有抗原性，其编码基因位于细菌的染色体或质粒上。菌毛在普通光学显微镜下看不到，必须用电子显微镜观察 (图 1-11)。根据功能不同，菌毛可分为普通菌毛和性菌毛两类。

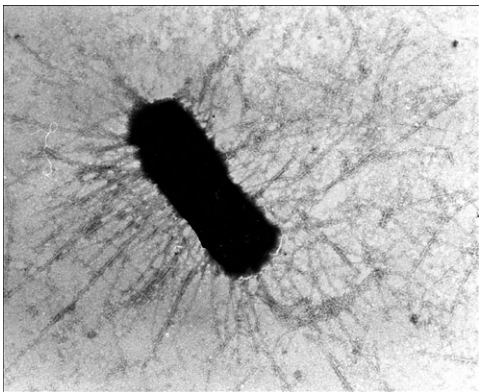


图 1-11 大肠埃希菌菌毛
(透射电镜，× 20 000)

(1) 普通菌毛 (ordinary pilus)：长 0.2 ~ 2 μm，直径 3 ~ 8 nm。遍布菌细胞表面，每菌可达数百根。这类菌毛是细菌的黏附结构，能与宿主细胞表面的特异性受体结合，是细菌感染的第一步。因此，菌毛与细菌的致病性密切相关。

菌毛的受体常为糖蛋白或糖脂，与菌毛结合的特异性决定了宿主的易感部位。某些不同种属的红细胞表面具有菌毛受体相似成分，故不同的菌毛就会引起不同类型的红细胞凝集，称此为血凝 (hemagglutination, HA)，借此鉴定菌毛。例如大肠埃希菌的 I 型菌毛可黏附于肠道和尿道黏膜上皮细胞表面，也能凝集豚鼠红细胞，但可被 D-甘露糖所抑制，称为甘露糖敏感性血凝 (mannose-sensitive hemagglutination, MSHA)。致肾盂肾炎大肠埃希菌 (pyelonephritic *E. coli* 或 uropathogenic *E. coli*, UPEC) 是上行性尿路感染的重要致病菌，其 P 菌毛 (pyelonephritis-associated pilus, P pilus) 常黏附于肾的集合管和肾盏，还能凝集 P 血型阳性红细胞，但不被甘露糖所抑制，故称为甘露糖抗性血凝 (mannose-resistant hemagglutination, MRHA)。

普通菌毛是由染色体或质粒编码，因菌种而异。肠产毒型大肠埃希菌 (enterotoxigenic *E. coli*, ETEC) 的定植因子是一种特殊类型的菌毛 (CFA/I、CFA/II)，黏附于小肠黏膜细胞，编码定植因子和肠毒素的基因均位于可接合传递的质粒。而霍乱弧菌、肠致病型大肠埃希菌

(enteropathogenic *E. coli*, EPEC) 和淋病奈瑟菌的菌毛都由染色体编码, 在所致的肠道或泌尿生殖道感染中起到关键作用。有菌毛的菌株可抵抗肠蠕动或尿液的冲洗作用而有利于定居, 一旦丧失菌毛, 其致病力也随之消失。在革兰氏阳性球菌中, A 群链球菌的菌毛与 M 蛋白和 LTA 结合在一起, 这些结构介导该菌与宿主黏膜上皮细胞的黏附。

(2) 性菌毛 (sex pilus): 仅见于少数革兰氏阴性菌。数量少, 一个菌只有 1 ~ 4 根。比普通菌毛长而粗, 中空呈管状。性菌毛由一种称为致育因子 (fertility factor, F factor) 的质粒编码, 故性菌毛又称 F 菌毛。带有性菌毛的细菌称为 F^+ 菌, 无性菌毛者称为 F^- 菌。当 F^+ 菌与 F^- 菌相遇时, F^+ 菌的性菌毛与 F^- 菌相应的性菌毛受体 (如外膜蛋白 A) 结合, F^+ 菌体内的质粒或染色体 DNA 可通过中空的性菌毛进入 F^- 菌体内, 这个过程称为接合 (conjugation)。细菌的致育性 (编码性菌毛的能力)、毒力、耐药性等性状可通过此方式传递。此外, 性菌毛也是某些噬菌体吸附于菌细胞的受体。

4. 芽胞 (spore) 某些细菌在一定的环境条件下, 胞质脱水浓缩, 在菌体内部形成一个圆形或卵圆形小体, 称为芽胞, 是细菌的休眠形式。产生芽胞的细菌都是革兰氏阳性菌, 芽胞杆菌属 (炭疽芽胞杆菌等) 和梭菌属 (破伤风梭菌等) 是主要形成芽胞的细菌。

芽胞是多层膜结构, 由内向外依次是核心、内膜、芽胞壁、皮质、外膜、芽胞壳和芽胞外衣 (图 1-12)。芽胞带有完整的核质、酶系统和合成菌体组分结构, 能保存细菌的全部生命必需物质。

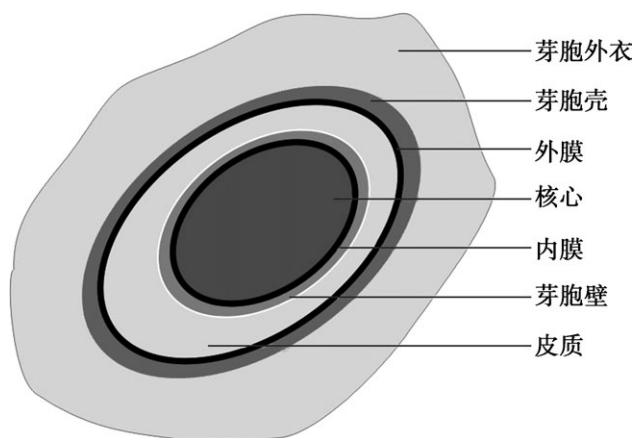


图 1-12 细菌芽胞的结构

芽胞的形成受遗传因素的控制和环境因素的影响。芽胞一般只是在动物体外对细菌不良的环境条件下形成, 其形成条件因菌种而异。如炭疽芽胞杆菌在有氧下形成, 而破伤风梭菌则相反。营养缺乏时细菌生长繁殖减速, 可启动芽胞形成的基因。

芽胞形成后细菌即失去繁殖的能力, 菌体即成为空壳, 有些芽胞可从菌体脱落游离。一个细菌只形成一个芽胞, 一个芽胞发芽也只生成一个菌体, 细菌数量并未增加, 故芽胞不是细菌的繁殖方式。与芽胞相比, 未形成芽胞而具有繁殖能力的菌体称为繁殖体 (vegetative form)。芽胞形成后, 若由于机械力、热、pH 改变等刺激作用, 破坏其芽胞壳, 并供给水分和营养, 芽胞可发芽形成新菌体。芽胞壁厚, 折光性强, 不易着色, 染色时需经媒染、加热等处理。芽胞的大小、形状、位置等随菌种而异, 有重要的鉴别价值, 例如炭疽芽胞杆菌的芽胞为卵圆形、比菌体小, 位于菌体中央。破伤风梭菌芽胞正圆形, 比菌体大, 位于顶端, 状如鼓槌 (图 1-13)。肉毒梭菌芽胞也比菌体大, 位于次极端。

芽胞的功能及其医学意义包括:

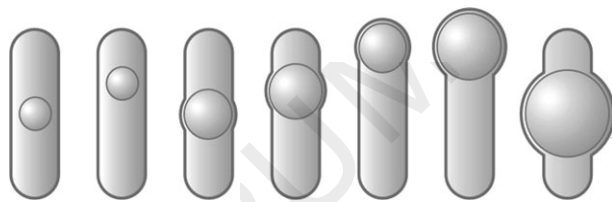


图 1-13 细菌芽胞的位置

(1) 抵抗力强：细菌的芽胞对热力、干燥、辐射、化学消毒剂等理化因素均有强大的抵抗力。一般细菌繁殖体在 80℃ 水中迅速死亡，而有的细菌芽胞可耐 100℃ 沸水数小时。被炭疽芽胞杆菌芽胞污染的草原，传染性可保持 20 ~ 30 年。细菌芽胞抵抗力强与其特殊的结构和组成有关。芽胞含水量少（约为繁殖体的 40%），蛋白质不易受热变性；芽胞具有多层致密的厚膜，理化因素不易透入；芽胞的核心和皮质中含有吡啶二羧酸（dipicolinic acid, DPA），DPA 与钙结合生成的盐能提高芽胞中各种酶的热稳定性。芽胞形成过程中很快合成 DPA，同时也获得耐热性；芽胞发芽时 DPA 从芽胞内渗出，其耐热性也随之丧失。

(2) 杀死细菌的芽胞是作为判断灭菌效果的指标：被芽胞污染的用具、敷料、手术器械等，用一般方法不易将其杀死，杀灭芽胞最可靠的方法是高压蒸汽灭菌法，进行高压蒸汽灭菌时，应以芽胞是否被杀死作为判断灭菌效果的指标。

(3) 细菌芽胞是某些外源性感染的重要来源：某些形成芽胞的细菌可引起人类严重疾病，包括厌氧芽胞梭菌（产气荚膜梭菌、破伤风芽胞梭菌和肉毒梭菌）和需氧芽胞杆菌（炭疽芽胞杆菌），这些细菌的芽胞并不直接引起疾病，仅当芽胞发芽成为繁殖体后才能致病，引起气性坏疽、破伤风、食物中毒和人兽共患的炭疽病。

小结

细菌是一种具有细胞壁和原始核质，无核仁和核膜，除核糖体外无细胞器的单细胞微生物。其形体微小，结构简单，属原核生物界。细菌按其外形区分主要有球菌、杆菌和螺形菌三大类，其大小可在显微镜下进行测量，一般以微米（ μm ）为单位。

细菌的基本结构包括细胞壁、细胞膜、细胞质和核质等，是每个细菌细胞所共有的。肽聚糖是细菌细胞壁中的主要组分，为原核细胞所特有。革兰氏阳性菌的肽聚糖由聚糖骨架、四肽侧链和五肽交联桥三部分组成，革兰氏阴性菌的肽聚糖仅由聚糖骨架和四肽侧链两部分组成。革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌细胞壁还有各自的特殊组分。

脂多糖（LPS）：即革兰氏阴性菌的内毒素，是革兰氏阴性菌细胞壁重要而独特的成分，由脂质 A、核心多糖和特异多糖三部分组成。

细菌细胞壁缺陷型（细菌 L 型）：细菌细胞壁的肽聚糖结构因理化或生物因素的直接破坏或合成被抑制，使得细胞壁受损，但在高渗环境下仍可存活，并有致病能力。

细菌的特殊结构包括细菌荚膜、鞭毛、菌毛和芽胞。

（彭宜红）

第2章

细菌的生理

细菌的生理活动包括摄取和合成营养物质，进行新陈代谢及生长繁殖，整个生理活动的中心是新陈代谢。与其他生物相比，细菌的代谢活动十分活跃而且多样化，繁殖迅速是其显著的特点。细菌在代谢过程中可产生多种对医学、工农业生产和环境卫生等具有重要意义的代谢产物。对于致病菌，了解其代谢与致病的关系，有助于寻找和设计有关诊断和防治的方法。

第一节 细菌的理化性状

一、细菌的化学组成

细菌的化学成分和其他生物细胞相似，主要包括水、无机盐、蛋白质、糖类、脂质以及核酸等。水是细菌细胞的重要组成部分，占细胞总重量的 75% ~ 90%。细菌去除水和有机物，还有少量无机离子，如钾、钠、铁、镁、钙、氯等，用以构成细菌的各种成分及维持酶的活性和跨膜化学梯度。细菌尚含有一些原核细胞型微生物特有的化学成分，如肽聚糖、胞壁酸、磷壁酸、D 型氨基酸、二氨基庚二酸、吡啶二羧酸等，这些物质在真核细胞中尚未发现。

二、细菌的物理性状

1. 光学性质 细菌为半透明体。当光线照射至细菌，部分被吸收，部分被折射，故细菌悬液呈浑浊状态。菌数越多浊度越大，使用比浊法或分光光度计可以粗略地估计细菌的数量。利用细菌的这种光学性质，可用相差显微镜观察其形态和结构。

2. 表面积 生物体代谢与表面积 / 体积比有重要关系。细菌体积微小，但细胞膜通过曲折折叠，获得相对大的表面积，有利于同外界环境进行物质交换，以保证细菌的旺盛代谢。

3. 带电现象 细菌固体成分的 50% ~ 80% 是蛋白质，蛋白质由兼性离子氨基酸组成。革兰氏阳性菌等电点 (pI) 为 2 ~ 3，革兰氏阴性菌 pI 为 4 ~ 5，故在近中性或弱碱性环境中，细菌均带负电荷，尤其以前者所带电荷更多。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关系。

4. 半透性 细菌的细胞壁和细胞膜都有半透性，允许水及部分小分子物质通过，有利于吸收营养和排出代谢产物。

5. 渗透压 细菌体内含有高浓度的营养物质和无机盐，因此菌体内的渗透压较大，一般革兰氏阳性菌的渗透压高达 20 ~ 25 个大气压，革兰氏阴性菌为 5 ~ 6 个大气压。细菌所处的一般环境相对低渗，因有坚韧细胞壁的保护不致崩裂。若处于比菌体内渗透压更高的环境中，菌体内的水分逸出，胞质浓缩，细菌就不能生长繁殖。

第二节 细菌的营养

一、细菌的营养类型

由于各种细菌的酶系统不同，代谢活性各异，因而对营养物质的需求也不同。根据细菌所利用的能源和碳源不同，将细菌分为自养菌和异养菌两大营养类型。

1. 自养菌 (autotroph) 该类菌以简单的无机物为原料，如利用 CO_2 、 CO_3^{2-} 作为碳源，利用 N_2 、 NH_3 、 NO_2^- 、 NO_3^- 等作为氮源，合成菌体成分。其中所需能量来自无机物氧化的细菌称为化能自养菌 (chemotroph)，而通过光合作用获得能量的细菌称为光能自养菌 (phototroph)。

2. 异养菌 (heterotroph) 该类菌必须以多种有机物为原料，如蛋白质、糖类等，才能合成菌体成分并获得能量。异养菌包括腐生菌 (saprophyte) 和寄生菌 (parasite)。腐生菌以动植物尸体、腐败食物等作为营养物质；寄生菌寄生于活体内，从宿主的有机物中获得营养。所有的病原菌都是异养菌，大部分属寄生菌。

二、细菌的营养物质

对细菌进行人工培养时，必须供给其生长所必需的各种成分，一般包括水、碳源、氮源、无机盐和生长因子等 (表 2-1)。

表2-1 细菌生长所需的营养物质

营养物质	营养成分	功效作用
碳源	糖类	合成菌体成分，供给能量
氮源	氨基酸、蛋白质	合成菌体成分
无机盐和微量元素	磷、硫、钾、钠、钙、镁、铁、钴、锌、锰、铜等	合成菌体成分，维持酶的活性，参与能量储存和转运，调节菌体的渗透压，某些元素（铁）与细菌致病性有关
生长因子	维生素、氨基酸、嘌呤、嘧啶、高铁血红素（X因子）、辅酶（V因子）	补充细菌自身不能合成的有机营养成分，供给特殊需要的呼吸辅酶
水	营养物质溶于水	在营养吸收和代谢中起介质作用

三、细菌摄取营养物质的机制

不同细菌转运营养物质的方式不同，即使对同一种物质，不同细菌的摄取方式也不一样。水和水溶性物质可以通过具有半透膜性质的细胞壁和细胞膜进入细胞内，蛋白质、多糖等大分子营养物质需经细菌分泌的胞外酶作用分解成小分子物质才能被吸收。营养物质进入菌体内有被动扩散和主动转运系统两种方式。

1. 被动扩散 是指营养物质从浓度高向浓度低的一侧扩散，其驱动力是浓度梯度，不需要提供能量。将不需要任何细菌组分的帮助，营养物就可以进入细胞质内的过程称为简单扩散。将需要细菌的特异性蛋白来帮助或促进营养物的跨膜转运的过程称为易化扩散。如甘油的转运就属于后者，进入细菌内的甘油要被甘油激酶催化形成磷酸甘油才能在菌体内积累。

2. 主动转运系统 是细菌吸收营养物质的主要方式，其特点是营养物质从浓度低向浓度

高的一侧转运，并需要提供能量。细菌有如下几种主动转运系统：

(1) ABC 转运体 (ATP-binding cassette transporter)：是跨质膜的运输 ATP 酶，是一个复杂的蛋白超家族，每个成员都有高度保守的 ATP 结合区 (ATP-binding cassette, ABC)。ABC 转运体通过水解 ATP 获得能量，发生构象改变，进而将与之结合的底物 (离子、氨基酸、核苷酸、多糖、多肽等) 转移至膜的另一侧，包括入胞和出胞。原核生物和真核生物均有 ABC 转运体。革兰氏阴性菌的特异性结合蛋白位于周浆间隙，革兰氏阳性菌的特异性结合蛋白位于细胞外表面。ABC 转运体不仅可以摄入营养，也可外排抗菌药物，与细菌的耐药性有关。

(2) 化学渗透驱使转运系统 (离子耦联转运)：该系统利用膜内外两侧质子或离子浓度差产生的质子动力或钠动力作为驱使营养物质跨膜转移的能量。转运营养物质的载体是电化学离子梯度透性酶，这种酶是一种能够进行可逆性氧化还原反应的疏水性膜蛋白，即在氧化状态与营养物质结合，而在还原状态时其构象发生变化，使营养物质释放进入胞质内。这种方式在需氧菌极为常见。

(3) 基团转移：营养物质在转运的过程中被磷酸化，使营养物质的转运与代谢相结合，更为有效地利用能量。如大肠埃希菌摄入葡萄糖需要的磷酸转移酶系统，细胞膜上的载体蛋白首先在胞质内从磷酸烯醇丙酮酸获得磷酸基团后，在细胞膜的外表面与葡萄糖相结合，将其运送入胞质内后释放出 6-磷酸葡萄糖。经过磷酸化的葡萄糖在胞内累积，不能再逸出菌体。该系统的能量供体是磷酸烯醇丙酮酸。

(4) 特异性转运：几乎所有的细菌生长都需要铁。细菌分泌载铁体，与铁螯合使其以可溶性复合物的形式进入菌体内。载铁体是异羟肟酸的衍生物，与 Fe^{3+} 螯合能力极强，形成铁-异羟肟酸复合物，通过贯穿细菌外膜、周浆间隙和内膜的蛋白质协同作用，使铁进入菌细胞内并释放出来。载铁体与细菌的致病性有关。也有的病原菌以特异性受体与宿主的转铁蛋白或者乳铁蛋白结合，依赖于提供的能量将铁转运至细胞内。

第三节 细菌的新陈代谢

细菌的新陈代谢 (metabolism) 是指细菌细胞内分解代谢与合成代谢的总和，其显著特点是代谢旺盛和代谢类型多样化。分解代谢是底物分解和转化为能量的过程。合成代谢是指所产生的能量和少数几种简单的前体用于细胞组分的合成过程。将两者紧密结合在一起的称为中间代谢。伴随代谢过程细菌还将产生许多在医学上具有重要意义的代谢产物。

一、细菌的能量代谢

细菌能量代谢活动中主要涉及 ATP 形式的化学能。细菌的有机物分解或无机物氧化过程中释放的能量通过底物磷酸化或氧化磷酸化合成 ATP。

生物体能量代谢的基本生化反应是生物氧化。生物氧化的方式包括加氧、脱氢和脱电子反应，细菌则以脱氢或氢的传递更为常见。在有氧或无氧环境中，各种细菌的生物氧化过程、代谢产物和产生能量的多少均有所不同。以有机物为受氢体的称为发酵 (fermentation)；以无机物为受氢体的称为呼吸 (respiration)，其中以分子氧为受氢体的是需氧呼吸 (aerobic respiration)，以其他无机物 (硝酸盐、硫酸盐等) 为受氢体的是厌氧呼吸 (anaerobic respiration)。需氧呼吸在有氧条件下进行，厌氧呼吸和发酵必须在无氧条件下进行。大多数病原菌只进行需氧呼吸和发酵。

病原菌合成细胞组分和获得能量的基质 (生物氧化的底物) 主要为糖类，通过糖的氧化或酵解释放能量，并以高能磷酸键的形式 (ADP、ATP) 储存能量。现以葡萄糖为例，简述细菌的能量代谢过程。

1. **糖酵解 (glycolysis)** 是大多数细菌共有的基本代谢途径, 专性厌氧菌产能的唯一途径。反应最终的受氢体为未彻底氧化的中间代谢产物, 产生能量远比需氧呼吸少。1 分子葡萄糖可生成 2 分子丙酮酸, 并产生 2 分子 ATP 和 2 分子 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 。关于丙酮酸以后的代谢随细菌的种类不同而异。

2. **磷酸戊糖途径 (pentose phosphate pathway)** 是糖酵解途径的分支, 由己糖生成戊糖的循环途径。其主要功能是为生物合成提供前体和还原能, 反应获得的 12 分子 $\text{NADPH} + \text{H}^+$, 供进一步利用。产能效果仅为糖酵解途径的一半, 所以不是产能的主要途径。

3. **需氧呼吸** 1 分子葡萄糖在有氧条件下彻底氧化, 生成 CO_2 、 H_2O , 并产生 32 分子 ATP。需氧呼吸中, 葡萄糖经过糖酵解途径生成丙酮酸, 后者脱羧产生乙酰辅酶 A 后进入三羧酸循环彻底氧化。然后将脱出的氢进入电子传递链进行氧化磷酸化, 最终以分子氧作为受氢体。需氧菌和兼性厌氧菌都能进行需氧呼吸。

4. **厌氧呼吸** 专性厌氧菌没有需氧电子传递链和完整的三羧酸循环, 1 分子葡萄糖经厌氧糖酵解只能产生 2 分子 ATP, 最终以外源的无机氧化物 (CO_2 、 SO_4^{2-} 、 NO_3^-) 作为受氢体, 厌氧呼吸是一种产能效率低的特殊呼吸。兼性厌氧菌在缺氧条件下也进行厌氧呼吸。

二、细菌的代谢产物

1. **分解代谢产物和细菌的生化反应** 各种细菌所具有的酶不完全相同, 对营养物质的分解能力也不一致, 因而其代谢产物各异。根据此特点, 利用生物化学方法来鉴别不同细菌称为细菌的生化反应试验 (biochemical reaction), 该试验对于一些形态和培养特性上相似而代谢上不同的菌种的鉴别尤为重要。常见的有:

(1) **糖发酵试验 (carbohydrate fermentation test)**: 不同细菌分解糖类的能力和代谢产物不同, 例如大肠埃希菌能发酵葡萄糖和乳糖; 而伤寒沙门菌只能发酵葡萄糖, 不能发酵乳糖。即使两种细菌均可发酵同一糖类, 其结果也不尽相同, 如大肠埃希菌有甲酸脱氢酶, 能将葡萄糖发酵生成的甲酸进一步分解为 CO_2 和 H_2 , 故产酸并产气; 而伤寒沙门菌缺乏该酶, 发酵葡萄糖仅产酸不产气。

(2) **吲哚试验 (indole test)**: 有些细菌如大肠埃希菌、变形杆菌、霍乱弧菌等能分解培养基中的色氨酸生成吲哚 (靛基质), 该产物能与试剂中的对二甲基氨基苯甲醛作用, 生成玫瑰吲哚而呈红色, 是为吲哚试验阳性。

(3) **甲基红试验 (methyl red test)**: 产气肠杆菌分解葡萄糖产生丙酮酸, 后者经脱羧后生成中性的乙酰甲基甲醇, 故最终的酸含量减少, 培养液 $\text{pH} \geq 5.4$, 甲基红指示剂呈橘黄色, 是为甲基红试验阴性。大肠埃希菌分解葡萄糖产生的丙酮酸不转变为乙酰甲基甲醇, 最终酸性较强, 培养液 $\text{pH} \leq 4.5$, 甲基红指示剂呈红色, 是为甲基红试验阳性。

(4) **VP 试验 (Voges-Proskauer test)**: 大肠埃希菌和产气肠杆菌均能发酵葡萄糖, 产酸产气, 两者不能区别。但产气肠杆菌能使丙酮酸脱羧生成中性的乙酰甲基甲醇, 后者在碱性溶液中被氧化生成二乙酰, 二乙酰与含胍基化合物反应生成红色化合物, 是为 VP 试验阳性。大肠埃希菌不能生成乙酰甲基甲醇, 故 VP 试验阴性。

(5) **枸橼酸盐利用试验 (citrate utilization test)**: 当某些细菌 (如产气肠杆菌) 利用铵盐作为唯一氮源, 并利用枸橼酸盐作为唯一碳源时, 可在枸橼酸盐培养基上生长, 分解枸橼酸盐生成碳酸盐, 并分解铵盐生成氨, 使培养基变为碱性, 此为该试验阳性。大肠埃希菌不能利用枸橼酸盐为唯一碳源, 故在该培养基上不能生长, 是为枸橼酸盐试验阴性。

(6) **硫化氢试验 (hydrogen sulfide test)**: 有些细菌如沙门菌、变形杆菌等能分解培养基中的含硫氨基酸 (如胱氨酸、甲硫氨酸) 生成 H_2S , H_2S 遇铅或铁离子生成黑色的硫化物, 是为硫化氢试验阳性。

(7) 尿素酶试验 (urease test): 变形杆菌有尿素酶, 能分解培养基中的尿素产生氨, 使培养基变碱性, 以酚红为指示剂检测为红色, 是为尿素酶试验阳性。

细菌的生化反应用于鉴别细菌, 尤其对形态、革兰氏染色反应和培养特性相同或相似的细菌更为重要。例如, 吡唑试验 (I)、甲基红试验 (M)、VP 试验 (V)、枸橼酸盐利用试验 (C) 常用于鉴定肠道杆菌, 合称为 IMViC 试验。大肠埃希菌的试验结果是 “++-”, 产气肠杆菌则为 “-++”, 可以据此鉴别。

临床细菌学已普遍采用微量、快速的生化鉴定方法, 全自动细菌鉴定及药敏分析仪使细菌的生化反应鉴定更加快速高效。此外, 应用气相、液相色谱法鉴定细菌分解代谢产物中挥发性或非挥发性有机酸和醇类, 能够快速确定细菌种类。

2. 合成代谢产物及其医学上的意义 细菌利用分解代谢中的产物和能量不断合成菌体自身成分, 如细胞壁、多糖、蛋白质、脂肪酸、核酸等, 同时还合成一些在医学上具有重要意义的代谢产物。

(1) 热原质 (pyrogen): 是细菌合成的一种能引起人体或动物发热反应的物质。产生热原质的细菌大多是革兰氏阴性菌, 热原质为其细胞壁的脂多糖。

热原质耐高温, 即使高压蒸气灭菌 (121℃, 20 分钟) 也不能破坏, 但 250℃ 高温干烤可以破坏热原质。用吸附剂和特殊石棉滤板可除去液体中大部分热原质, 蒸馏法效果最好。在制备和使用注射药品过程中应严格遵守无菌操作, 防止细菌污染。

(2) 毒素与侵袭性酶: 细菌产生外毒素和内毒素两类毒素, 在细菌致病作用中甚为重要。外毒素 (exotoxin) 是多数革兰氏阳性菌和少数革兰氏阴性菌在生长繁殖过程中释放到菌体外的蛋白质; 内毒素 (endotoxin) 是革兰氏阴性菌细胞壁的脂多糖, 当菌体死亡崩解后游离出来。外毒素毒性强于内毒素。

某些细菌可产生具有侵袭性的酶, 能损伤机体组织, 促使细菌的侵袭和扩散, 是细菌重要的致病物质。如产气荚膜梭菌的卵磷脂酶, 链球菌的透明质酸酶等。

(3) 色素 (pigment): 某些细菌能产生不同颜色的色素, 有助于鉴别细菌。细菌的色素有两类, 一类为水溶性, 能弥散到培养基或周围组织, 如铜绿假单胞菌产生的色素使培养基或感染的脓汁呈绿色。另一类为脂溶性, 不溶于水, 只存在于菌体, 使菌落显色而培养基颜色不变, 如金黄色葡萄球菌的色素。细菌产生色素需要一定的条件, 如营养丰富、氧气充足、温度适宜。细菌色素不能进行光合作用, 其功能尚不清楚。

(4) 抗生素 (antibiotic): 某些微生物代谢过程中产生的一类能抑制或杀死某些其他微生物或肿瘤细胞的物质。抗生素大多由放线菌和真菌产生, 细菌产生的少, 只有由黏细菌产生的多黏菌素 (polymyxin)、由枯草杆菌所产生的杆菌肽 (bacitracin) 等。

(5) 细菌素 (bacteriocin): 某些菌株产生的一类具有抗菌作用的蛋白质称为细菌素。细菌素与抗生素不同, 它的作用范围狭窄, 仅对与产生菌有亲缘关系的细菌有杀伤作用, 如大肠埃希菌产生的细菌素称大肠菌素 (colicin), 其编码基因位于 Col 质粒上。细菌素的临床应用价值不大, 但可用于细菌分型和流行病学调查。

(6) 维生素 (vitamin): 细菌能合成某些维生素, 除供自身需要外, 还能分泌至周围环境中。大肠埃希菌在人体肠道内合成维生素 B 和 K, 可被人体吸收利用。

三、细菌的分泌系统

细菌在生长代谢过程中, 合成许多蛋白质类的物质, 如毒素、蛋白酶、溶血素等, 这些蛋白质可分布于细菌细胞的表面, 或释放到所处的外环境中, 或注入到宿主细胞内, 从而参与细菌各种重要的生命活动和致病作用。细菌为了在宿主体内存活、繁殖和扩散, 必须分泌一些毒性或非毒性蛋白质。革兰氏阳性细菌具有单一胞质膜, 胞质膜外是一层厚厚的由肽聚糖组成的

细胞壁，而革兰氏阴性细菌则有两层生物膜，即细胞膜（内膜）和位于细胞壁的外膜（outer membrane）。内膜和外膜之间为一层薄的肽聚糖层和周浆间隙（periplasmic space）。细菌依赖分泌通路进行蛋白质的跨胞质膜转运的系统，称为蛋白分泌系统（protein secretion system）。细菌合成的蛋白质，大多数革兰氏阳性菌将其直接分泌到胞外，革兰氏阴性菌、少数革兰氏阳性菌以及分枝杆菌则由蛋白分泌系统将其分泌到胞外。

细菌的分泌系统是一种贯穿细菌细胞膜的特殊结构，由多种镶嵌蛋白、细胞膜蛋白、外膜蛋白和辅助蛋白（ATP 酶、信号肽酶或分子伴侣）组成。根据细菌分泌系统的结构和功能的不同，目前确认的有 7 型分泌系统，完成合成蛋白的分泌过程。

1. I 型分泌系统（type I secretion system, T1SS） 由位于内膜的 ABC 转运酶、定位在内膜跨过周质的膜融合蛋白（MFP）和外膜蛋白（OMP）等 3 种功能蛋白组成。革兰氏阴性菌利用 I 型分泌系统向胞外转运合成的分泌蛋白包括成孔毒素（pore-forming toxin）、蛋白酶、酯酶、S 层蛋白（S layer protein）等。大肠埃希菌 α -溶血素分泌系统是最典型的 I 型分泌系统。

2. II 型分泌系统（type II secretion system, T2SS） 由细胞膜蛋白 SecD ~ F、SecY、ATPase（SecA）、伴侣蛋白和信号肽酶 LspA 组成的 Sec 途径和外膜多聚蛋白复合体（PulD）组成。带有 N 端信号肽的前体蛋白与 SecB 结合后依赖 Sec 途径先穿过内膜，将信号肽切除后释放出成熟蛋白，再经 PulD 跨越外膜完成分泌过程。II 型分泌系统是革兰氏阴性菌分泌胞外降解酶的主要途径。

3. III 型分泌系统（type III secretion system, T3SS） 主要存在于耶尔森菌、肠炎沙门菌、志贺菌、大肠埃希菌等。T3SS 是细菌分泌致病性蛋白的主要途径，由 20 余种蛋白质组成。该分泌系统是接触依赖系统，一旦细菌与宿主细胞接触，III 型分泌系统被激活，毒素蛋白被直接注入宿主细胞内。

4. IV 型分泌系统（type IV secretion system, T4SS） 在革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有，参与细菌的致病性。分泌底物范围很广，可以分泌单个蛋白质、蛋白质复合物或者 DNA-蛋白质复合物。T4SS 是与细菌接合机制有关的一类分泌系统，如大肠埃希菌的 F 质粒接合系统，参与细菌遗传物质从供体菌到受体菌的转移。

5. V 型分泌系统（type V secretion system, T5SS） 是革兰氏阴性菌外膜通道转运蛋白系统中最大的一个家族，分泌装置最为单一，分泌的蛋白在跨外膜转运过程中似乎不需要能量和辅助蛋白的参与，又称自主转运（autotransport）蛋白系统。T5SS 首先通过 Sec 依赖的分泌通路跨内膜转运，到达外周质间隙后，又通过自身的 C 端在外膜上形成一个 β 折叠桶实现跨外膜转运。淋病奈瑟菌的 IgA 蛋白酶和幽门螺杆菌的空泡毒素经 T5SS 分泌。

6. VI 型分泌系统（type VI secretion system, T6SS） 广泛存在于致病性革兰氏阴性菌，包括霍乱弧菌、铜绿假单胞菌、沙门菌和伯霍尔德杆菌等。T6SS 是由一系列蛋白质组成的复合体，其相关蛋白按功能可分为结构蛋白、效应蛋白、调节蛋白和分子伴侣蛋白。T6SS 的功能就是将细菌合成的毒性蛋白转运到外界环境或是宿主细胞内，与细菌的致病性密切相关。

7. VII 型分泌系统（type VII secretion system, T7SS） 镶嵌于革兰氏阳性菌细胞膜中，目前结核分枝杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、白喉棒状杆菌和放线菌均发现有 T7SS。结核分枝杆菌 T7SS 参与其 ESAT-6 毒力因子、脯氨酸-脯氨酸-谷氨酸蛋白（proline-proline-glutamic acid, PPE）的分泌。

四、细菌的免疫系统

细菌常受到病毒（噬菌体）和外来 DNA（如质粒）的侵袭。面对这些威胁，细菌在进化过程中逐渐形成了多种防御机制。目前研究发现了四种不同的免疫类型，包括限制修饰系统、流产感染系统、毒素-抗毒素系统、间隔的短回文重复序列系统。

1. 限制修饰系统 (restriction modification) 是最早发现的细菌免疫系统。典型的限制修饰系统由限制性内切酶 (restriction endonuclease) 和甲基化酶 (methylase) 构成, 它们通常成对出现, 具有相同的 DNA 识别位点。限制性内切酶识别特异的 DNA 序列并打断 DNA, 同源的甲基转移酶对同一识别位点上的腺嘌呤或胞嘧啶进行甲基化, 使得限制性内切酶无法识别, 保护 DNA 不被限制酶裂解。这种系统在细菌中起到了免疫的作用, 即外来入侵的 DNA 在限制性内切酶的作用下被水解, 而细菌自身的 DNA 在甲基化酶的作用下被保护起来。

2. 流产感染系统 (abortive infection, Abi) 或称噬菌体排斥系统。自然界中噬菌体无处不在, 其数量远超细菌数量, 对细菌的生存构成了极大威胁。流产感染系统是由噬菌体诱发的细菌死亡进而限制噬菌体增殖的机制。噬菌体的入侵干扰了细菌的正常生理功能, 导致细菌死亡, 从而也阻止了噬菌体的增殖和扩散, 从而保护了周围细菌。

3. 毒素-抗毒素系统 (toxin-antitoxin system, TAS) 普遍存在于细菌, 是细菌染色体及质粒上的两个共表达基因, 分别编码毒素 (toxin) 和抗毒素 (antitoxin) 蛋白。毒素会抑制细菌的生长, 而抗毒素可以拮抗毒素, 对细菌起保护作用。在不良生长状况或应激状态下毒素表达, 而抗毒素低表达或不表达, 导致细菌生长抑制和死亡 (即程序性死亡)。目前发现 TAS 也参与细菌对噬菌体的防御, 但其机制尚不清楚。

4. CRISPR-Cas 系统 该系统广泛分布于细菌和古细菌基因组中, 为细菌的一种获得性免疫系统。细菌基因组中大量长度 25 ~ 50 bp 的规律成簇的间隔短回文重复序列 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR), 在 CRISPR 序列上游有一小簇与 CRISPR 相关的基因 (CRISPR-associated gene, Cas), 二者合称为 CRISPR-Cas 系统 (图 2-1)。噬菌体或质粒入侵时, 细菌将噬菌体或质粒的特征 DNA 序列记录在自己基因组的 CRISPR 区域。当该噬菌体或质粒再次入侵细菌时, CRISPR-Cas 系统以间隔序列为模板, 转录带有噬菌

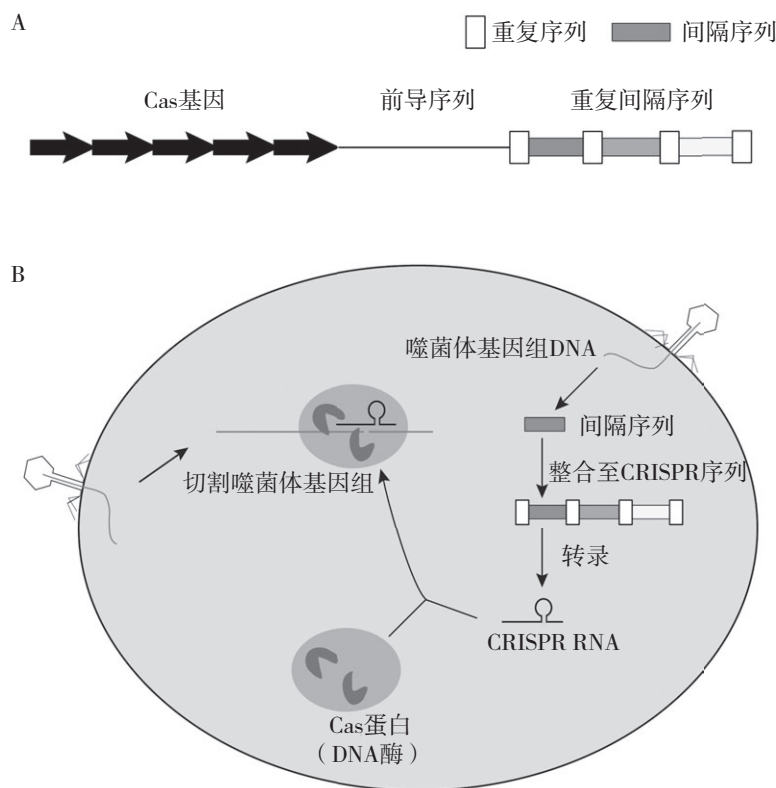


图 2-1 CRISPR-Cas 系统的结构与作用机制

A: CRISPR 序列结构; B: CRISPR-Cas 系统作用机制



彩图: CRISPR-Cas 系统的结构与作用机制



知识拓展: 细菌抵抗噬菌体感染的机制—CRISPR

体或质粒特征序列的 RNA, CRISPR-RNA 和 Cas 蛋白(核酸内切酶)共同作用,靶向破坏噬菌体或质粒 DNA,起到保护作用。这一系统可以通过获得新的间隔序列来使自身适应新的入侵者。

目前已发现三种不同类型的 CRISPR-Cas 系统,而且 CRISPR-Cas 系统也适用于哺乳类细胞,例如属于 II 型的 CRISPR-Cas9 已被广泛应用于真核细胞的基因编辑和遗传改造。

第四节 细菌的生长与繁殖

一、影响细菌生长的环境因素

营养物质、能量和适宜的环境是细菌生长繁殖的必备条件。充足的营养物质可以为细菌的新陈代谢及生长繁殖提供必要的原料和充足的能量。

1. 氢离子浓度(pH) 每种细菌都有一个可生长的 pH 范围和最适生长 pH。大多数细菌生长的 pH 范围是 6.0 ~ 8.0,病原菌最适 pH 一般为 7.2 ~ 7.6;个别细菌如霍乱弧菌在 pH 8.4 ~ 9.2 生长最好,结核分枝杆菌生长的最适 pH 为 6.5 ~ 6.8。细菌通过细胞膜的质子转运系统调节细胞内的 pH。

2. 温度 各类细菌对温度的要求不一。借此分为:①嗜冷菌,其生长范围 -5 ~ 30℃,最适生长为 10 ~ 20℃;②嗜温菌,生长范围 10 ~ 45℃,最适 20 ~ 40℃;③嗜热菌,生长范围 25 ~ 95℃,最适 50 ~ 60℃。病原菌经过长期进化过程已适应人体环境,均为嗜温菌,最适生长温度为人的体温,即 37℃。细菌与动物或植物一样,当突然暴露于高出适宜生长温度的环境下,可暂时性合成热休克蛋白(heat-shock protein, HSP)。这些蛋白质具有耐热性,因而对菌细胞内的热敏感蛋白质起到稳定作用。

3. 气体 根据细菌代谢时对分子氧的需要与否,可以分四类。

(1) 专性需氧菌(obligate aerobe):具有完善的呼吸酶系统,需要分子氧作为受氢体来完成需氧呼吸,仅能在有氧环境下生长,如结核分枝杆菌。

(2) 微需氧菌(microaerophilic bacterium):在低氧压(~5%)时生长最好,氧浓度>10%对其有抑制作用,如空肠弯曲菌、幽门螺杆菌。

(3) 兼性厌氧菌(facultative anaerobe):兼有需氧呼吸和无氧发酵两种功能,不论在有氧或无氧环境中都能生长,但以有氧时生长较好。大多数病原菌属于此类。

(4) 专性厌氧菌(obligate anaerobe):缺乏完善的呼吸酶系统,利用氧以外的其他物质作为受氢体,只能在无氧环境中进行发酵。有游离氧存在时,不但不能利用分子氧,而且还能受其毒害,甚至死亡,如破伤风梭菌、脆弱拟杆菌。

专性厌氧菌在有氧环境中不能生长,可能由于下述原因:

(1) 缺乏氧化还原电势(Eh)高的呼吸酶:各种物质均有其固有的 Eh。在氧化还原过程中,Eh 高的物质可氧化 Eh 低的物质,反之不能。人组织的 Eh 约为 150mV,普通培养基在有氧环境中 Eh 可达 300mV 左右,因此细菌必须具有 Eh 比它们更高的呼吸酶(如细胞色素和细胞色素氧化酶),才能氧化环境中的营养物质。专性厌氧菌缺乏这类高 Eh 呼吸酶,只能在 120mV 以下的 Eh 时生长,有氧时 Eh 高于此值,故不能生长。

(2) 缺乏分解有毒氧基团的酶:细菌在有氧环境中代谢时,常产生具有强烈杀菌作用的超氧阴离子(O_2^-)和过氧化氢(H_2O_2)。需氧菌有超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和触酶(catalase),前者将超氧阴离子还原成过氧化氢,后者将过氧化氢分解为水和分子氧。



有的细菌不产生触酶，而是产生过氧化物酶（peroxidase），将 H_2O_2 还原成无毒的水分子。



专性厌氧菌缺乏这三种酶，故在有氧时受到有毒氧基团的影响而不能生长繁殖。

4. 渗透压 一般培养基的盐浓度和渗透压对大多数细菌是适合其生长的，少数细菌如嗜盐菌（halophilic bacterium）需要在高浓度（3%）的 NaCl 环境中生长良好。细菌通过补偿 K^+ 主动转运和带有正电荷的有机多胺（丁二胺）的补偿性分泌来调节细胞内的渗透压和离子强度。因此，细菌可以耐受外部较大范围的渗透压和离子强度的变化。

二、细菌的生长与繁殖

1. 细菌个体的生长繁殖 细菌一般以简单的二分裂方式（binary fission）进行无性繁殖。在适宜条件下，多数细菌繁殖速度很快。细菌分裂数量倍增所需要的时间称为代时（generation time），多数细菌为 20 ~ 30 分钟，产气荚膜梭菌在适宜条件下代时仅为 8 分钟。有些细菌繁殖速度较慢，如结核分枝杆菌的代时为 18 ~ 20 小时。

细菌分裂时菌体首先增大，染色体复制。革兰氏阳性菌的染色体与中介体相连，当染色体复制时，中介体一分为二，各向两端移动，分别将复制好的一条染色体拉向细胞的一侧。接着染色体中部的细胞膜向内陷，形成横隔。同时细胞壁也向内生长，最后肽聚糖水解酶使细胞壁肽聚糖的共价键断裂，分裂成为两个菌细胞。革兰氏阴性菌无中介体，染色体直接连接在细胞膜上。复制产生的新染色体则附着在邻近的一点上，在两点间形成的新细胞膜将各自的染色体分隔在两侧。最后细胞壁沿横隔内陷，整个细胞分裂成两个子代细菌。

2. 细菌群体的生长繁殖 细菌生长速度很快，一般细菌约 20 分钟分裂一次。若按此速度计算，一个细菌经 7 小时可繁殖到约 200 万个，10 小时后可达 10 亿以上，随着时间的延长细菌群体将庞大到难以想象的程度。但事实上由于细菌繁殖中营养物质的逐渐耗竭，有害代谢产物的逐渐积累，细菌不可能始终保持高速度的无限繁殖。经过一段时间后，细菌繁殖速度逐渐减慢，死亡菌数增多，活菌增长率随之下降并趋于停滞。

将一定数量的细菌接种于适宜的液体培养基中，连续定时取样检查活菌数，可发现其生长过程的规律性。以培养时间为横坐标，培养物中活菌数的对数为纵坐标，可绘制出一条生长曲线（growth curve）。根据细菌浓度的变化，细菌的群体生长可分为四期（图 2-2）。

（1）迟缓期（lag phase） 细菌进入新环境后的短暂适应阶段。该期菌体增大，代谢活跃，为细菌的分裂繁殖合成并积累充足的酶、辅酶和中间代谢产物；但分裂迟缓，繁殖极少。迟缓期长短因菌种、接种菌的菌龄和菌量、培养基及培养条件等的不同而异，一般为 1 ~ 4 小时。

（2）对数期（exponential phase） 又称指数期。细菌在该期生长迅速，活菌数以恒定的几何级数增长，生长曲线图上细菌数的对数呈直线上升。此期细菌的形态、染色性、生理活性等都较典型，对外界环境因素的作用敏感。因此，研究细菌的生物学性状（形态染色、生化反应、药物敏感试验等）应选用该期的细菌。一般细菌对数期在培养后的 8 ~ 18 小时。

（3）稳定期（stationary phase） 由于培养基中营养物质消耗，有害代谢产物积聚，该期细菌繁殖速度逐渐减慢，死亡数缓慢增加，生长分裂和死亡的细菌数量处于平衡状态。限制需氧菌或兼性厌氧菌生长的因素通常是氧，当细菌浓度超出 $1 \times 10^7/\text{ml}$ ，生长速率就会下降；达到 $(4 \sim 5) \times 10^9/\text{ml}$ 时，即使振荡通气培养，氧扩散的速度也难以满足细菌生长的要求。该期细菌形态、染色性和生理性状常有改变。一些细菌的芽胞、外毒素和抗生素等代谢产物大多

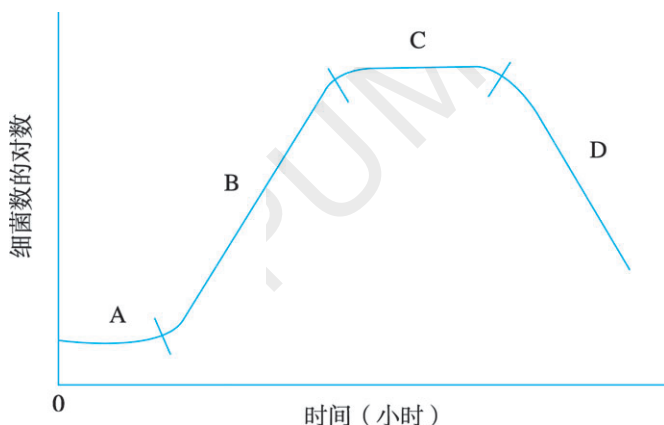


图 2-2 细菌的生长曲线

A: 迟缓期; B: 对数期; C: 稳定期; D: 衰亡期

在稳定期产生。

(4) 衰亡期 (decline phase) 稳定期后细菌繁殖越来越慢, 死亡数越来越多, 并超过活菌数。该期细菌形态显著改变, 出现衰退型或菌体自溶, 难以辨认, 生理代谢活动也趋于停滞。因此, 陈旧培养的细菌难以鉴定。

细菌生长曲线只有在体外人工培养的条件下才能观察到。在自然界或人类、动物体内繁殖时, 受多种环境因素和机体免疫因素的多方面影响, 不可能出现人工培养中的那种典型的生长曲线。细菌的生长曲线在细菌鉴定、研究工作和生产实践中都有指导意义。掌握细菌生长规律, 可以人为地改变培养条件, 调整细菌的生长繁殖阶段, 更为有效地利用对人类有益的细菌。

第五节 细菌的人工培养

人工培养细菌除需要提供充足的营养物质使细菌获得生长繁殖所需要的原料和能量外, 尚要有适宜的环境条件, 如酸碱度、渗透压、温度和必要的气体等。

一、培养细菌的方法

将已接种标本或细菌的培养基置于合适的气体环境, 需氧菌和兼性厌氧菌置于空气条件下即可, 专性厌氧菌须在无游离氧的环境中培养。多数细菌在代谢过程中需要 CO_2 , 但分解糖类时产生的 CO_2 已足够其所需, 且空气中还有微量 CO_2 , 不必额外补充。只有少数菌如布鲁菌、脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌等, 初次分离培养时必须在 5% ~ 10% CO_2 环境中才能生长。

病原菌的人工培养一般采用 35 ~ 37℃, 培养时间多数为 18 ~ 24 小时, 但有时需根据菌种及培养目的选择, 如细菌的药物敏感试验应选用对数期的培养物。根据不同标本及不同培养目的, 可选用不同的接种和培养方法。常用的有细菌的分离培养和纯培养两种方法。

将标本或培养物画线接种在固体培养基的表面, 因划线的分散作用, 使许多原本混杂的细菌在固体培养基表面上散开, 称为分离培养。一般经过 18 ~ 24 小时培养后, 单个细菌分裂繁殖成一堆肉眼可见的细菌集团, 称为菌落 (colony)。挑取一个菌落, 移种到另一培养基中, 可生长出来的大量纯种细菌, 称为纯培养 (pure culture)。多用于某些菌种的扩增。这是从临床标本中检查鉴定细菌很重要的第一步。

在医药等工业中常使用发酵培养, 即在适宜的条件下, 利用发酵罐大量培养微生物 (细菌、真菌等) 细胞和生产代谢产物的工艺过程。发酵培养分两步, 种子培养和发酵罐培养。种子培养目的在于扩大培养, 增加细菌的数量同时培养出活性高的细胞, 使细胞迅速进行分裂或

菌丝快速生长,有利于在发酵罐中产生更多的所需产物。通过发酵培养可制成许多食品、酶制剂和医药用品(其中包括传统的发酵产品和基因工程的发酵产品)。

二、培养基

培养基(culture medium)是由人工方法配制而成的,专供微生物生长繁殖使用的混合营养物质制品。通常培养基 pH 为 7.2 ~ 7.6,少数细菌按生长要求调整 pH 偏酸或偏碱。许多细菌在代谢过程中分解糖类产酸,故常在培养基中加入缓冲剂,以保持稳定的 pH。培养基制成后必须经灭菌处理。培养基按其营养组成和用途不同,分为以下几类:

1. 基础培养基(basic medium) 含有多数细菌生长繁殖所需的基本营养成分。它是配制特殊培养基的基础,也可作为一般培养基用,如营养肉汤(nutrient broth)、营养琼脂(nutrient agar)、蛋白胨等。

2. 增菌培养基(enrichment medium) 若了解某种细菌的特殊营养要求,可配制出适合这种细菌而不适合其他细菌生长的增菌培养基。在这种培养基上生长的是营养要求相同的细菌群。它包括通用增菌培养基和专用增菌培养基,前者为基础培养基中添加合适的生长因子或微量元素等,以促使某些特殊细菌生长繁殖,例如链球菌、肺炎链球菌需在含血液或血清的培养基中生长;后者又称为选择性增菌培养基,即除固有的营养成分外,再添加特殊抑制剂,有利于目的菌的生长繁殖,如碱性蛋白胨水用于霍乱弧菌的增菌培养。

3. 选择培养基(selective medium) 在培养基中加入某种化学物质,使之抑制某些细菌生长,而有利于另一些细菌的生长,从而将后者从混杂的标本中分离出来,这种培养基称为选择培养基。例如培养肠道致病菌的 SS 琼脂,其中的胆盐能抑制革兰氏阳性菌,枸橼酸钠和煌绿能抑制大肠埃希菌,因而使致病的沙门菌和志贺菌容易分离到。若在培养基中加入抗生素,也可起到选择作用。实际上有些选择培养基、增菌培养基之间的界限并不十分严格。

4. 鉴别培养基(differential medium) 用于培养和区分不同细菌种类的培养基称为鉴别培养基。利用各种细菌分解糖类和蛋白质的能力及其代谢产物的不同,在培养基中加入特定的作用底物和指示剂,一般不加抑菌剂,观察细菌在其中生长后对底物的作用,从而鉴别细菌。如常用的糖发酵管、三糖铁培养基、伊红-亚甲蓝琼脂等。

5. 厌氧培养基(anaerobic medium) 专供厌氧菌分离、培养和鉴别用的培养基,称为厌氧培养基。这种培养基营养成分丰富,含有特殊生长因子,氧化还原电势低,并加入亚甲蓝作为氧化还原指示剂。其中心脑浸液、肝块和肉渣含有不饱和脂肪酸,能吸收培养基中的氧;硫乙醇酸盐和半胱氨酸是较强的还原剂;维生素 K₁、氧化血红素可以促进某些拟杆菌的生长。常用的有庖肉培养基(cooked meat medium)、硫乙醇酸盐肉汤等,并在液体培养基表面加入凡士林或液状石蜡以隔绝空气。

此外,也可根据培养基的物理状态不同分为液体培养基、固体培养基和半固体培养基三大类。在液体培养基中加入 1.5% 的琼脂粉,即凝固成固体培养基;琼脂粉含量在 0.3% ~ 0.5% 时,则为半固体培养基。琼脂在培养基中起赋形剂作用,不具有营养意义。液体培养基可用于大量繁殖细菌,但必须接种纯种细菌;固体培养基常用于细菌的分离和纯化;半固体培养基则用于观察细菌的动力和短期保存细菌。

三、细菌在培养基中的生长情况

1. 在液体培养基中生长情况 大多数细菌在液体培养基中生长繁殖后呈现均匀浑浊状态;少数链状的细菌则呈沉淀生长;枯草芽孢杆菌、结核分枝杆菌等专性需氧菌呈表面生长,常形成菌膜。

如果细菌悬浮在液体培养基中,可以用以下方法测量细菌数量:①使用细胞计数板显微计数细菌;②适当稀释细菌,接种到固体培养基,计数形成菌落的数量;③测定液体培养基的浊度。

2. 在固体培养基中生长情况 通过分离培养,细菌可在固体培养基上形成菌落,分离培养是检查、鉴定细菌很重要的第一步。各种细菌形成的菌落,在大小、形状、颜色、气味、透明度、表面光滑或粗糙、湿润或干燥、边缘整齐与否,以及在血琼脂平板上的溶血情况等均有不同表现,这些有助于识别和鉴定细菌。此外,取一定量的液体标本或培养液均匀接种于琼脂平板上,可计数菌落,推算标本中的活菌数,以菌落形成单位(colony forming unit, CFU)作为计量单位。这种菌落计数法常用于检测自来水、饮料、污水和临床标本的活菌含量。

细菌菌落可分为三型:①光滑型菌落(smooth colony, S型菌落):表面光滑、边缘整齐湿润、有光泽,其他特点如突起、扁平、透明度、溶血等可依菌种不同而有区别。②粗糙型菌落(rough colony, R型菌落):菌落表面粗糙、干燥、呈皱纹或颗粒状,边缘大多不整齐。R型细菌多由S型细菌变异失去菌体表面多糖或蛋白质形成。R型细菌抗原不完整,毒力和抗吞噬能力都比S型菌弱。但也有少数细菌新分离的毒力株就是R型,如炭疽芽胞杆菌、结核分枝杆菌等。③黏液型菌落(muroid colony, M型菌落):黏稠、有光泽,似水珠样。多见于有厚荚膜或丰富黏液层的细菌,如肺炎克雷伯菌等。

3. 在半固体培养基中生长情况 半固体培养基黏度低,有鞭毛的细菌在其中仍可自由游动,沿穿刺线呈羽毛状或云雾状浑浊生长。无鞭毛的细菌只能沿穿刺线呈明显的线状生长。

四、人工培养细菌的用途

细菌培养对疾病的诊断、预防、治疗和科学研究都具有重要的作用。

1. 感染性疾病的病原学诊断 明确感染性疾病的病原菌必须取患者的有关标本进行细菌分离培养、鉴定和药物敏感试验,其结果可指导临床用药。

2. 细菌学的研究 有关细菌生理、遗传变异、致病性和耐药性等研究都离不开细菌的培养和菌种的保存等。

3. 生物制品的制备 供防治用的疫苗、类毒素、抗毒素、免疫血清及供诊断用的菌液、抗血清等均来自培养的细菌或其代谢产物。

4. 在工农业生产中的应用 细菌培养和发酵过程中的多种代谢产物在工农业生产中有广泛用途,可制成抗生素、维生素、氨基酸、有机溶剂、酒、酱油、味精等产品。细菌培养物还可生产酶制剂、处理废水和垃圾、制造菌肥和农药等。

5. 在基因工程中的应用 将带有外源性基因的重组DNA转化给受体菌,使其在菌体内能获得表达。细菌操作方便,容易培养,繁殖快,基因表达产物易于提取纯化,故可大大降低成本。基因工程技术已用于制备胰岛素、干扰素、乙型肝炎疫苗等。

第六节 细菌的分类

细菌分类学(bacterial taxonomy)是一个古老和传统的学科,但也是还在迅速发展的学科。

一、细菌的分类原则与层次

细菌的分类原则上分为传统分类和种系分类(phylogenetic classification)两种。传统分类以细菌的生物学性状为依据,由于对分类性状的选择和重视程度带有一定的主观性,故又称为人为分类。种系分类以细菌的发育进化关系为基础,故又称为自然分类,诸如依据组成细菌的大分子(核酸、蛋白质等)同源程度进行分类的各种方法。具体到细菌鉴定(identification)

和分类（classification）的方法，包括表型分类、分析分类和基因型分类。

1. 表型分类 以细菌的形态和生理特征为依据的分类方法，即选择一些较稳定的生物学性状，如菌体形态与结构、染色性、培养特性、生化反应、抗原性等作为分类的标记，将细菌按其性状的相似程度进行归类（一般种的水平相似度> 80%），以此划分种和属，称为数值分类。表型分类是传统分类的基础。

2. 分析分类 应用电泳、色谱、质谱等方法，对菌体组分、代谢产物组成与图谱等特征进行分析，例如细胞壁脂肪酸分析、全细胞脂类和蛋白质的分析、多点酶电泳等。

3. 基因型分类 分析细菌的遗传物质，根据细菌进化信息分类，包括 DNA 碱基组成（G+C mol%）、核酸杂交（DNA-DNA 同源性、DNA-rRNA 同源性）和 16S rRNA 同源性分析、细菌核酸、蛋白质序列和结构同源程度等。

16S rRNA 在进化过程中保守、稳定，很少发生变异，是种系分类的重要依据。根据 16S rRNA 序列描绘的生物系统发育树，可将生物分成真细菌（eubacterium）、古细菌（archaebacterium）和真核生物（eukaryote）三个域（domain）。真细菌指典型常见的细菌（bacterium）。古细菌和真细菌同为原核生物，核糖体均为 70S。古细菌生存在极端环境（高温、高盐、低 pH），细胞壁无肽聚糖，蛋白质合成起始甲硫氨酸不需甲酰化，tRNA 基因中有内含子，含有多重 RNA 聚合酶，蛋白质合成对白喉毒素的抑制敏感，而对氯霉素的抑制不敏感，这些特性与真核生物相同，而与真细菌不同。

国际最具权威性的细菌分类系统专著是《伯杰氏系统细菌学手册》（Bergey's Manual of Systematic Bacteriology）第 2 版，已收集了 4000 余种模式菌株的 16S rRNA 序列，力求细菌分类学模式（taxonomic model）和种系发育模式（phylogenetic model）的一致性，将原核生物分为两个域，即古细菌域（Archaea）和细菌域（Bacteria），前者分为 2 个门，后者分为 24 个门，依次再分为纲、目、科、属、种。目前尚未在古细菌中发现病原菌。2004—2012 年分别出版了 5 卷各自描述 Archaea、Proteobacteria、Firmicutes、Bacteroidetes、Actinobacteria 等详细分类。医学上重要的细菌见表 2-2。

表2-2 与医学有关细菌的分类

类别	属
I 革兰氏阴性有细胞壁的真细菌	
螺旋体	密螺旋体属 疏螺旋体属 钩端螺旋体属
需氧 / 微需氧、有动力、螺旋形 / 弧形的革兰氏阴性菌	螺菌属 弯曲菌属 螺杆菌属
需氧 / 微需氧的革兰氏阴性杆菌与球菌	假单胞菌属 军团菌属 奈瑟菌属 莫拉菌属 产碱杆菌属 布鲁菌属 罗卡利马体属 鲍特菌属 弗朗西斯菌属

续表

类别	属
兼性厌氧的革兰氏阴性杆菌	埃希菌属 志贺菌属 沙门菌属 克雷伯菌属 变形杆菌属 普罗威登斯菌属 耶尔森菌属 弧菌属 巴氏杆菌属 嗜血杆菌属
厌氧的革兰氏阴性直、弯或螺旋形杆菌	类杆菌属 梭杆菌属 普雷沃菌属
厌氧的革兰氏阴性球菌	韦荣球菌属
立克次体与衣原体	立克次体属 考克斯体属 衣原体属
非光合滑行菌	二氧化碳嗜纤维菌属
II 革兰氏阳性有细胞壁的细菌	
革兰氏阳性球菌	肠球菌数 葡萄球菌属 链球菌属 消化链球菌属
可形成芽胞的革兰氏阳性杆菌与球菌	芽胞杆菌属 梭菌属
形态规则的无芽胞革兰氏阳性杆菌	李斯特菌属 丹毒丝菌属
形态不规则的无芽胞革兰氏阳性杆菌	棒状杆菌属 放线菌属 动弯杆菌属
分枝杆菌	分枝杆菌属
放线菌	奴卡菌属 链霉菌属 红球菌属
III 无细胞壁真细菌	支原体属 脲原体属
IV 古细菌	未发现病原菌，故略

细菌的分类层次与其他生物相同，在细菌学分类中更常用属和种。广义的细菌包括各类原核细胞型微生物，如细菌、放线菌、衣原体、支原体、立克次体和螺旋体；狭义的细菌专指其中的细菌，它的种类最多、数量最大、最具代表性。

种 (species) 是细菌分类的基本单位。一般是生物学性状基本相同的细菌群体构成一

个菌种，彼此间 DNA 的同源性达到 70% 以上；性状相近、关系密切的若干菌种组成一个属 (genus)。同一菌种的各个细菌，虽性状基本相同，但在某些方面仍有一定差异，差异较明显的称亚种 (subspecies, *subsp.*) 或变种 (variety, *var.*)，差异小的则为型 (type)。经典种下分型的方法有生物分型 (biotyping)、血清学分型 (serotyping)、抗微生物药物敏感性试验分型 (antimicrobial susceptibility test)、噬菌体分型 (bacteriophage typing) 和细菌素分型 (bacteriocin typing)。近些年来发展起来的分型方法还有：①用单克隆抗体建立的高度标准化血清学分型系统 (highly standardized serology-based subtyping system)；②基于大分子靶位 (LPS、蛋白质) 的分型方法，如 LPS 电泳带谱分析、全细胞或外膜蛋白谱分析、多点酶电泳分析 (multilocus enzyme electrophoresis, MLEE)；③基于核酸的分型方法，如质粒谱分析、核型分析、脉冲场凝胶电泳分析、PCR 扩增、随机引物 PCR、PCR 限制性片段长度多态性分析、核酸序列分析等。

对天然来源的每一个原始培养物称为分离物 (isolate)。对不同来源的同一菌种的细菌称为菌株 (strain)。在流行病学上，具有共同祖先的引起感染暴发流行的菌株统称为克隆 (clone)，从遗传学角度意味着它们完全相同。此外，在细菌学分类中将具有某种细菌典型特征的菌株称为该菌种的标准菌株 (standard strain 或 reference strain) 或模式菌株 (type strain)。

二、细菌的命名法

细菌的命名采用生物普遍适用的拉丁双名法 (binomial nomenclature)，每个菌名由两个拉丁字组成，用斜体字表示。前一字为属名，用名词，第一个字母大写；后一字为种名，用形容词，小写。一般属名表示细菌的形态或发现有贡献者，种名表明细菌的性状特征、寄居部位或所致疾病等。中文的命名次序与拉丁文相反，是种名在前，属名在后。例如 *Staphylococcus aureus* (金黄色葡萄球菌)、*Escherichia coli* (大肠埃希菌)、*Neisseria meningitidis* (脑膜炎奈瑟菌) 等。属名也可不将全文写出，只用第一个字母代表，如 *E. coli*、*M. tuberculosis*、*S. typhi* 等。有些常见菌有其习惯通用的俗名，如 tubercle bacillus (结核分枝杆菌)、typhoid bacillus (伤寒杆菌)、meningococcus (脑膜炎球菌) 等。有时泛指某一属细菌，不特指其中某个菌种，则可在属名后加 *sp.* (单数) 或 *spp.* (复数)，如 *Salmonella sp.* 表示为沙门菌属中的细菌。

小 结

细菌的生理活动包括摄取和合成营养物质，进行新陈代谢及生长繁殖。细菌和其他生物细胞相似，含有多种化学成分，主要包括水、无机盐、蛋白质、糖类、脂质以及核酸等。细菌体内含有高浓度的营养物质和无机盐，菌体内的渗透压较大。细菌所处的一般环境相对低渗，但有坚韧细胞壁的保护不至于崩裂。

根据细菌所利用的能源和碳源不同，将细菌分为自养菌和异养菌两大营养类型：以简单的无机物为原料的自养菌；以多种有机物为原料的异养菌。细菌的葡萄糖能量代谢过程：糖酵解、磷酸戊糖途径、需氧呼吸、厌氧呼吸。

根据各种细菌所具有的酶不完全相同，对营养物质的分解能力亦不一致，因而其代谢产物不同，利用生物化学方法来鉴别不同细菌。细菌利用分解代谢中的产物和能量不断合成菌体自身成分，同时还合成一些在医学上具有重要意义的代谢产物，如热原质、毒素与侵袭性酶、色素、抗生素、维生素等。

细菌合成的代谢产物包括蛋白质、毒素等，经由多个结构与功能不完全相同的分泌系统释放至菌体外。细菌也有抵抗外源侵入物质的免疫系统，从而保护自身的遗传和代

谢稳定。CRISPR-Cas 系统已被用于真核生物的基因编辑改造。

细菌个体以简单的二分裂方式进行无性繁殖。细菌群体于适宜的液体培养基中，其典型的生长曲线可分为四期：迟缓期、对数期、稳定期、衰亡期。

将标本或细菌划线接种在固体培养基的表面，使许多原本混杂的细菌在固体培养基表面上散开，称为分离培养。单个细菌分裂繁殖成一堆肉眼可见的细菌集团，称为菌落。培养基是指由人工方法配制而成的，专供微生物生长繁殖使用的混合营养物制品。

细菌的分类原则上分为传统分类和种系分类两种。传统分类以细菌的生物学性状为依据；种系分类以细菌的发育进化关系为基础，诸如依据组成细菌的大分子（核酸、蛋白质等）同源程度进行分类的各种方法。具体到细菌鉴定和分类的方法，包括表型分类、分析分类和基因型分类。

.....

(汤 华)

细菌为原核细胞型微生物，没有核膜、核仁结构，但具有核质，有遗传和变异特征。细菌在生长过程中，通过 DNA 复制，将亲代生物学性状稳定地传与子代，维持种属性状称为遗传 (heredity)；而变异 (variation) 是指细菌繁殖时，出现子代和亲代生物学性状的差异，变异可能使细菌产生变种或新种，促进了细菌的进化。细菌的变异有基因型变异 (genotype variation) 和表型变异 (phenotype variation)。基因型变异是细菌遗传物质结构发生改变，可遗传给子代；表型变异是由外界环境的变化引起的变异，其遗传物质的结构尚未改变，故当外环境恢复到细菌原来的生长条件时，细菌将仍表现原来的性状，这种变异是可逆的，不能遗传。通过对细菌遗传变异的认识，将推动细菌致病机制、耐药方式、细菌感染的诊断及其防治的研究进展。

第一节 细菌遗传相关物质

细菌的基因组 (genome) 是指细菌染色体和染色体外遗传物质所携带基因的总称。细菌的遗传物质包括细菌染色体、质粒、噬菌体及转座子。

一、细菌染色体

细菌染色体 (chromosome) 是一条环状双螺旋 DNA 长链，按一定构型反复回旋而成的松散网状结构，附着在横隔中介体或细胞膜上。绝大部分遗传信息由细菌染色体携带，决定细菌的基因型。大肠埃希菌染色体 DNA 的复制是双向复制，从复制起点开始按顺时针和逆时针两个方向进行，全过程约需 20 分钟。

细菌染色体与真核细胞染色体不同，除了 rRNA 基因是多拷贝外，绝大多数基因保持单拷贝形式，很少有重复序列。细菌只有连续的基因结构，一般无内含子，转录后形成的 RNA 分子不必加工剪切。

自 1995 年完成流感嗜血杆菌全基因组测序以来，目前已完成 4 789 株细菌的全基因组测序，其中 60% 为致病菌或条件致病菌。全基因组序列分析表明细菌间存在着广泛的遗传交换，如耐药性基因和致病岛的获得。

细菌致病岛 (pathogenicity island, PAI) 是在基因组的特定区域集中了某些毒力的相关基因，具有编码多个毒力因子的功能，如黏附素、侵袭素、离子摄取系统、毒素以及Ⅲ型和Ⅳ型蛋白分泌系统，都是由 PAI 编码。致病岛的 G+C 百分比和密码使用频率与细菌染色体有明显差异，显示致病岛是重组至染色体的外源 DNA 片段。PAI 通常较大 (20 ~ 100 kb)，其两端常有重复序列或插入序列，便于发生转移和重组。质粒也可有 PAI。

二、质粒

质粒 (plasmid) 是细菌染色体外的遗传物质，存在于细胞质中，具有自主复制的能力，

是闭合的环状双链 DNA 分子。质粒不是细菌生长繁殖所必需的物质，可丢失或经人工处理而消除。质粒携带的遗传信息能赋予宿主菌某些生物学性状，有利于细菌在特定的环境下生存。根据质粒的接合性、相容性以及编码特性，可对质粒进行分类。

根据质粒能否通过性菌毛以接合 (conjugation) 方式传递，可分为接合质粒 (conjugative plasmid) 和非接合质粒 (nonconjugative plasmid)。接合质粒带有与接合传递有关的基因 (例如 *tra* 基因)，一般较大 (40 ~ 100 kb)，如 F 质粒、R 质粒。非接合质粒较小，一般小于 15 kb，但也有例外 (例如志贺菌毒力质粒为 220 kb)。

同种的或亲缘关系相近的两种质粒不能同时稳定共存于同一细菌内的现象，称为质粒的不相容性 (incompatibility)。质粒可以根据不相容性进行分类，常用于流行病学调查。例如肠杆菌科细菌的质粒可分为 30 余个不相容组。

质粒还可以根据其编码的生物学性状分类，例如编码性菌毛的 F 质粒 (fertility plasmid)、携带耐药基因使细菌产生耐药性的 R 质粒 (resistance plasmid)、编码大肠埃希菌细菌素的 Col 质粒 (colicinogenic plasmid) 以及与细菌毒力有关的 Vi 质粒 (virulence plasmid) 等。

三、噬菌体

噬菌体 (bacteriophage 或 phage) 是能够感染细菌、真菌、放线菌或螺旋体等微生物的病毒。噬菌体体积微小，可通过细菌滤器，需用电子显微镜观察。噬菌体主要由核酸和蛋白质外壳组成，没有独立的代谢酶，只能在活的宿主菌内寄生和复制，有严格的宿主特异性。

噬菌体形态有蝌蚪状、微球状和细杆状。大多数噬菌体呈蝌蚪状，有头部和尾部之分。头部是由蛋白质外壳包绕核酸组成，呈二十面体立体对称结构。尾部由蛋白质组成，有尾领、尾鞘和尾髓之分，尾部末端有尾板、尾刺和尾丝，与吸附宿主有关 (图 3-1)。感染细菌后可导致噬菌体增殖、宿主菌裂解或建立溶原状态，此过程中细菌基因可以被转移，并赋予宿主菌相应的生物学性状。

噬菌体感染细菌后有两种结果：①噬菌体增殖，宿主菌被裂解，进入溶菌周期，这类噬菌体称为毒性噬菌体 (virulent phage)；②噬菌体核酸与细菌染色体整合，细菌变成溶原性细菌 (lysogenic bacterium)，进入溶原周期，这类噬菌体称为温和噬菌体 (temperate phage)。

1. 溶菌周期 (lytic cycle) 毒性噬菌体的感染过程包括吸附、穿入、生物合成、成熟、释放等阶段。噬菌体感染细菌时首先尾丝识别和吸附细菌表面的特殊受体，然后用酶类溶解细

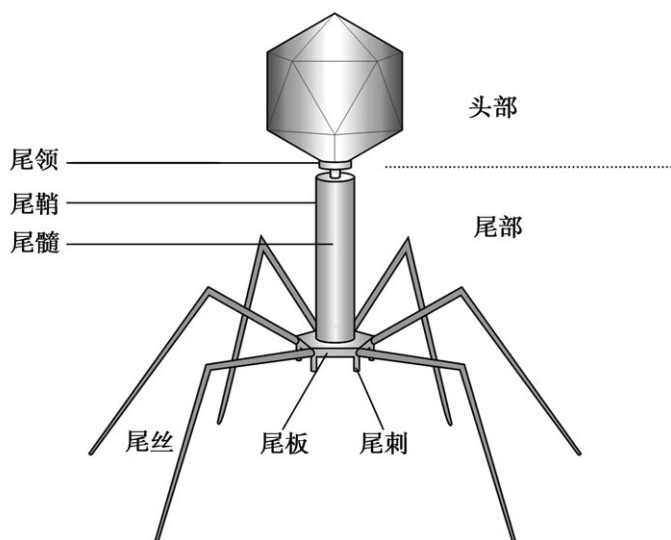


图 3-1 蝌蚪形噬菌体结构

菌细胞壁，导致细胞壁出现小孔，尾髓再收缩，将头部的核酸注入细菌内，蛋白质外壳留在菌体外。进入细菌内的噬菌体核酸首先经早期转录和翻译产生早期蛋白，一般是噬菌体核酸复制所需的酶类，用于复制子代核酸，之后进行晚期转录和翻译，产生噬菌体的结构蛋白（如衣壳和尾部蛋白），最后子代蛋白与核酸装配为完整的子代噬菌体，细菌裂解后被释放出去，继续感染细菌。

2. 溶原周期 (lysogenic cycle) 温和噬菌体感染细菌后，其基因组核酸整合至细菌染色体。整合细菌染色体的噬菌体基因组 DNA 称为前噬菌体 (prophage)。带有前噬菌体的细菌称为溶原性细菌，前噬菌体随细菌染色体的复制而复制，并随细菌分裂而至子代细菌。温和噬菌体又称为溶原性噬菌体 (lysogenic phage)，在某些理化或生物因素的诱导下，前噬菌体可脱离宿主菌染色体，进入溶菌周期导致细菌裂解，并产生新的成熟噬菌体。自发地进入溶菌周期导致细菌裂解机会仅偶尔发生。因此温和噬菌体可有溶原周期和溶菌周期，而毒性噬菌体仅有溶菌周期 (图 3-2)。

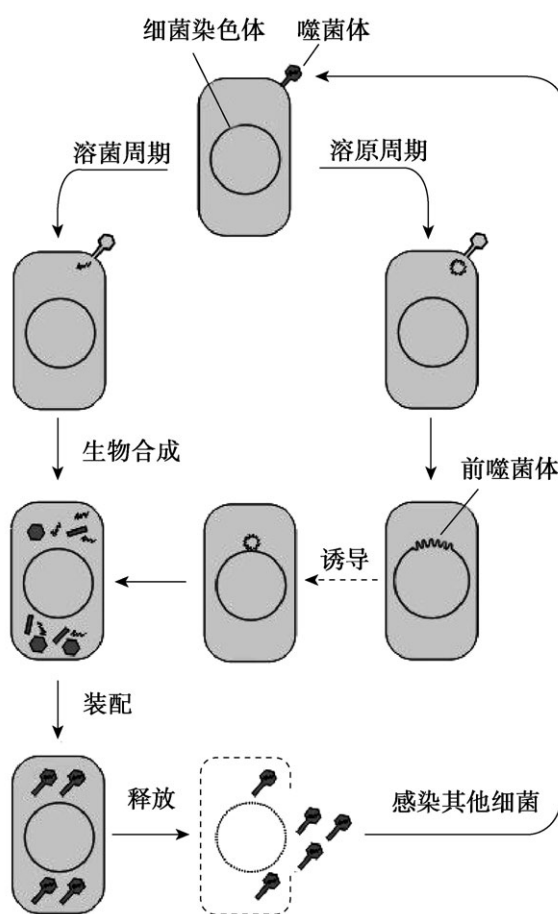


图 3-2 噬菌体的溶原性周期和溶菌性周期

前噬菌体携带着遗传性状，可使溶原性细菌的性状发生改变，称为溶原性转换 (lysogenic conversion)。如 β 棒状杆菌噬菌体感染不产毒素的白喉棒状杆菌后，发生溶原性转换，变成产生外毒素的白喉棒状杆菌。溶血性链球菌产生红疹毒素、肉毒梭菌产生肉毒毒素以及沙门菌的特异性 O 抗原都是通过溶原性转换获得的。

四、转座元件

转座元件 (transposable element, TE) 是一段可以在基因组内移动的 DNA 序列，原核和

真核生物都具有转座子。转座子自身可以携带基因，其表达产物可以赋予宿主菌一定遗传表型。转座子还可能因为转位而干扰插入点附近基因的表达。

细菌的转座子能在细菌染色体、质粒或噬菌体之间自行移动，包括插入序列、转座子和转座噬菌体三类。

1. 插入序列（insertion sequence, IS）是最小的转位因子，长度不超过 2 kb，仅仅携带编码自身转座所需酶的基因，不携带任何已知与插入功能无关的基因序列。IS 在插入后因为破坏基因的开放读码框而导致基因沉默。

2. 转座子（transposon, Tn）长度一般大于 2 kb，除携带与转位有关的基因外，还携带耐药性基因、抗金属基因、毒素基因等。其两端为插入序列（图 3-3）。当 Tn 插入时，细菌可能因为插入部位导致基因失活而失去某种表型，但也可因 Tn 携带的基因而获得某种新表型（如耐药性）。转座子携带耐药基因在染色体与质粒、质粒与质粒之间转移，导致耐药基因的播散，是自然界中细菌获得耐药性的重要原因。常见的携带耐药基因转座子见表 3-1。

表3-1 常见的耐药性转座子

转座子	携带抗性基因
Tn1 Tn2 Tn3	Ap（氨苄西林）
Tn4	Ap、SM（链霉素）、Su（磺胺）、Hg ²⁺
Tn5 Tn6 Tn903	Km（卡那霉素）
Tn7	TMP（甲氧苄啶）、SM（链霉素）
Tn9	Cm（氯霉素）
Tn10	Tc（四环素）
Tn551 Tn971	Em（红霉素）



图 3-3 转座子模式图（IR：反向重复序列，inverted repeat）

3. 噬菌体相关转座子（phage-associated transposon）Mu 噬菌体（mutator phage，诱变噬菌体）是具有转座功能的大肠埃希菌温和噬菌体，含有转座基因和反向重复序列。Mu 噬菌体能够随机插入宿主染色体中，引起染色体的重新排列，插入基因后具有导致突变的能力。

第二节 细菌的变异现象

细菌始终处于变异之中，多数变异发生致死性后果，能够观察到的变异都是非致死性变异。变异可能导致细菌的致病性变化，也可能造成诊断的困难。

1. 形态结构变异 细菌的形态、大小及结构受环境因素影响可发生变异。细菌在抗生素和溶菌酶的作用下，细胞壁缺乏而成为 L 型细菌。有些细菌变异后可失去特殊结构，如有鞭毛的伤寒沙门菌变异后可失去鞭毛，称为 H-O 变异。鞭毛可使细菌在固体培养基上呈弥散生长，菌落似薄膜，称 H 菌落（德语 hauch，意为薄膜）。失去鞭毛的细菌呈单个菌落生长，称为

O 菌落（德语 ohne hauch，意为无薄膜）。变异的肺炎链球菌失去荚膜，同时毒力也降低。

2. 抗原变异 肠道杆菌的鞭毛抗原、菌毛抗原常发生变异。沙门菌属的 H 抗原可发生相变异（Ⅰ相和Ⅱ相变化）。

3. 菌落变异 肠道杆菌的菌落变异较为常见。由光滑型（smooth, S）变为粗糙型（rough, R）称为 S-R 变异。这种变异是由失去 LPS 的特异性寡糖重复单位引起的，往往伴有毒力、抗原性和生化反应等其他性状的改变。

4. 毒力变异 细菌的毒力变异包括毒力增强和减弱。白喉棒状杆菌感染 β- 棒状杆菌噬菌体后变成溶原性细菌，获得产生白喉毒素的能力，由无毒株变成产毒株。卡 - 介二氏（Calmette-Güérin）将有毒力的牛型结核分枝杆菌在含胆汁、甘油和马铃薯的培养基上经 13 年传代 230 次，获得毒力减弱而保留免疫原性的变异株，即卡介苗（Bacillus of Calmette-Güérin, BCG），用于结核病的预防。

5. 耐药性变异 细菌对某种抗菌药物由敏感变成耐药，进而成为耐药菌株。有的细菌表现为同时对多种抗菌药物耐药，称为多重耐药（multi-drug resistance, MDR）菌株。少数细菌变异后产生对药物的依赖性，如痢疾志贺菌链霉素依赖减毒株（SmD 株），可用于痢疾的预防。

第三节 细菌变异的机制

细菌表现出的性状称为表型，由基因组和环境决定。表型变异是环境因素影响基因表达的结果，例如大肠埃希菌乳糖操纵子的表达。基因型变异是细菌基因结构发生的变化，包括基因突变及基因转移和重组。

一、突变

细菌以二分裂方式进行繁殖时，理论上 DNA 复制过程十分精确，子代与亲代的基因组应是完全相同的，但实际子代细菌经常会出现基因组 DNA 的改变。

基因组 DNA 序列单个或多个碱基的改变称为突变（mutation），因为发生于很小的局部，通常也称为点突变（point mutation）。常见的突变方式有碱基置换、碱基插入和碱基缺失（图 3-4）。碱基的突变可能不改变三联密码的编码，不影响细菌的表型，但突变经常造成基因的开放读码框改变，如移码、起始密码或终止密码变化，导致基因不表达和表型变异。

突变是基因序列中稳定的可遗传变异，可以是自发产生的，也可通过化学诱变剂或辐射诱导产生。在未加任何影响因素下自然发生的突变称为自发突变，利用物理或化学诱变剂诱发的突变称为诱发突变。自发突变率约为 $10^{-10} \sim 10^{-6}$ 。没有发生突变的细菌称为野生株（wild

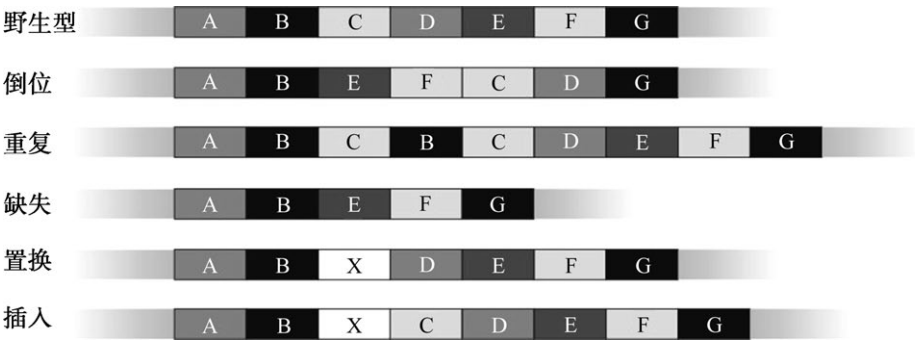


图 3-4 突变类型的示意图

A ~ G、X 代表不同的 DNA 片段

strain), 其表型称为野生型 (wild type)。携带突变基因的细菌称为突变株 (mutant)。

细菌群体中能够存活下来的一些突变株, 可以被特定的环境条件所选择。进入患者体内的少量细菌经过生长繁殖也会自发地产生各种突变菌株, 这些突变可以赋予细菌耐药性、细菌毒力增强或抗原性的改变, 从而提高了细菌在患者体内的生存能力, 致使突变菌株迅速过度生长而被选择出来成为优势型。

细菌由野生型变为突变型是正向突变。突变株经过第二次突变可以恢复野生型的性状, 称为回复突变 (reverse mutation)。大多数第二次点突变是在另一位点的突变, 这种第二位点的突变并没有改变正向突变的 DNA 序列, 只是第一次突变后所出现的表型改变被第二次突变抵消或校正, 故这样的回复突变又称为抑制突变 (suppressor mutation)。抑制突变的位点可能发生在正向突变的基因组内, 也可能发生在正向突变的基因组外侧, 回复突变发生的频率一般是正向突变的 1/10, 可以用诱变剂处理增加其频率。

二、基因转移与重组

细菌的进化过程中需要基因型变异进而发生表型变异, 以适应环境的变化。但对单个细菌而言突变发生的频率很低, 细菌之间可以通过 DNA 转移 (transfer) 与重组 (recombination), 在短期内产生不同基因型的个体, 以适应环境变化。不同基因型的细菌经自然界选择存活下来, 形成了细菌遗传多样性。供体菌 (donor) DNA 转移给受体菌 (recipient) 的过程称为基因转移或基因交换。遗传重组 (genetic recombination) 是指进入受体菌 DNA 重组至受体菌, 导致受体菌基因型改变, 成为重组菌 (recombinant bacteria)。细菌基因转移和重组的方式有转化、接合、转导、溶原性转换和原生质体融合。

(一) 转化

受体菌直接摄取供体菌游离 DNA, 从而获得新的遗传性状的过程称为转化 (transformation)。

1928 年 Griffith 在研究肺炎链球菌时, 首先发现细菌转化的现象。将有荚膜、毒力强、菌落呈光滑型 (S) 的 III 型肺炎链球菌注射至小鼠体内, 小鼠死亡, 从死鼠血中分离出 III 型光滑型肺炎链球菌。将无荚膜、毒力减弱、菌落呈粗糙型 (R) 的 II 型肺炎链球菌或经加热杀死的 III 型光滑型肺炎链球菌分别注射小鼠, 小鼠不死亡。但若将加热杀死的 III 型光滑型有荚膜的肺炎链球菌和活的 II 型粗糙型无荚膜的肺炎链球菌混合注射至小鼠体内, 则小鼠死亡, 并从死鼠中可分离到 III 型光滑型肺炎链球菌。1944 年 Avery 等用 III 型光滑型肺炎链球菌的 DNA 代替加热杀死的 III 型光滑型肺炎链球菌重复上述试验, 得到相同的结果, 证实引起 II 型粗糙型肺炎链球菌转化的物质是 III 型光滑型肺炎链球菌的 DNA (图 3-5)。

在这种天然转化体系中, 细菌进入感受态 (competence) 的特殊生理状态时才能捕获外源 DNA。感受态状态可以经人工处理形成, 例如将对数生长期的大肠埃希菌在 0℃ 下加入到低渗的氯化钙溶液中, 菌细胞会膨胀形成原生质球, 加入的外源 DNA 黏着在菌细胞表面, 在转移到 42℃ 下做短暂的热刺激期间, DNA 便会被细菌所吸收。在富集培养基中生长一段时间使转化基因实现表达之后, 再涂布于选择培养基中分离转化子。对于一般转化方法不能成功的细菌, 用电穿孔技术 (electroporation) 可使转化频率提高 10 ~ 100 倍。

近年发现的细菌 CRISPR-Cas 系统可将入侵的噬菌体或质粒的 DNA 片段摘取并贮存于自身染色体。以后再遇到该噬菌体或质粒, CRISPR-Cas 系统可转录相关特征序列的 RNA, 指导 Cas 的核酸内切酶活性, 破坏噬菌体或质粒。

(二) 接合

细菌通过性菌毛相互连接沟通, 将质粒或染色体的 DNA 从供体菌转移给受体菌的过程称为接合 (conjugation)。

在已发现的许多质粒接合传递系统中, F 质粒研究得最为详细。在大肠埃希菌内, F 质粒

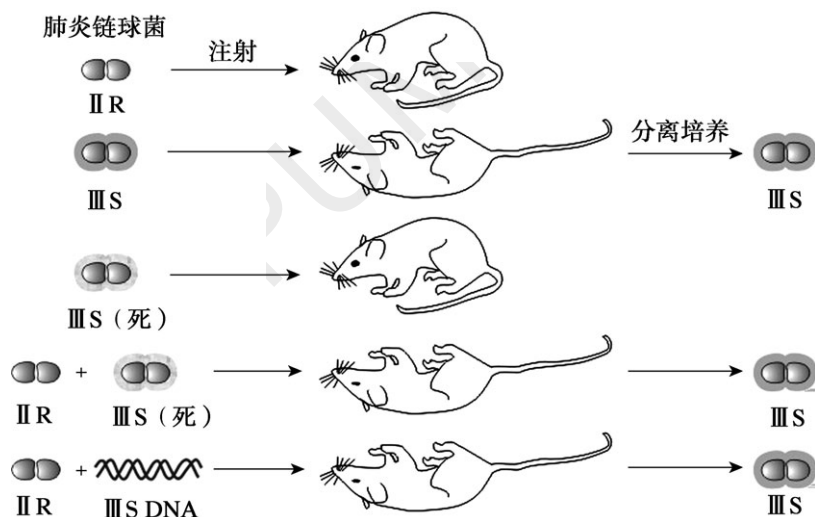


图 3-5 肺炎链球菌的转化试验

有三种不同的存在方式。F 质粒以染色体外 DNA 形式存在，这种细菌叫做雄性菌 (F^+)，其表面有 F 质粒编码的性菌毛，接合时做供体菌。无 F 质粒的为雌性菌 (F^-)，接合时做受体菌。在合适的条件下，将 F^+ 与 F^- 细菌混合培养，由于性菌毛的作用，就会形成 F^+ - F^- 配对。F 质粒 DNA 的传递是从转移起点 $oriT$ 开始的，首先在 $oriT$ 位点做单链切割，随后缺口链在其游离的 5' 端的引导下转移到受体菌，并作为模板合成互补链，形成新的质粒分子。在供体菌内，也会发生质粒 DNA 按滚环复制模式合成互补链以取代已转移走的缺口单链。接合过程结束，两个菌细胞内各形成一个双链 F 质粒， F^- 变成 F^+ ，也长出性菌毛（图 3-6）。

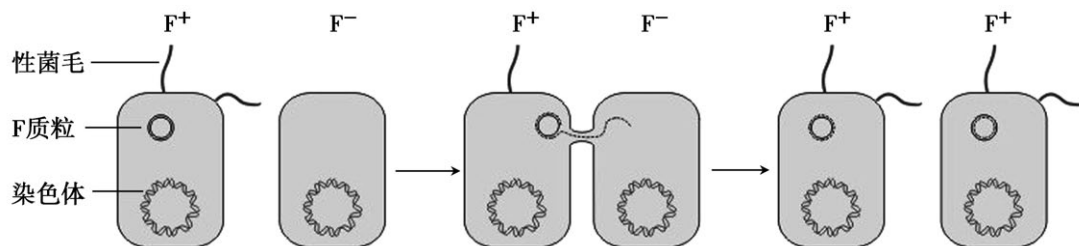


图 3-6 F 质粒接合转移模式图

F 质粒可以整合到细菌的染色体。整合有 F 质粒序列的菌株可以频繁引发其染色体 DNA 片段的转移，称为高频重组菌株 (high frequency recombinant, Hfr)。F 质粒在 Hfr 菌中的整合作用是一种可逆过程，有时也会脱离下来，从染色体上脱离下来的 F 质粒还会携带相邻的染色体基因或 DNA 片段，称为 F' 质粒。Hfr 与 F^- 接合时，F 质粒的起始转移位点的一股 DNA 链断开，引导染色体 DNA 通过性菌毛接合桥进入 F^- 菌细胞，F 质粒的其他部分最后进入受体菌，整个过程约需 100 分钟。由于细菌间的接合并不稳定，接合作用可随时自发解离或受外界因素影响而中断，故在 Hfr 菌接合转移中，可以有不同长度的供体染色体片段进入受体菌进行重组。但受体菌获得完整 F 质粒 DNA 的机会很小，因其大部分是最后进入受体菌，故受体菌往往仍然是 F^- 。应用中断配接试验 (interrupted mating)，根据各基因进入受体菌的时间，可绘制大肠埃希菌染色体的基因排序图。

1959 年日本学者将具有多重耐药性的大肠埃希菌与敏感的志贺菌混合培养，发现多重耐

药性可由大肠埃希菌传递给志贺菌，证明 R 质粒可接合传递。耐药性质粒的结构以 R100 研究得较为详细。R100 质粒由两部分组成，一是耐药性传递因子（resistance transfer factor, RTF），能编码性菌毛，使其以接合方式传递；另一个是耐药决定子（resistance determinant），赋予宿主菌耐药性，一个耐药决定子可携带多个耐药基因（图 3-7）。因此，携带耐药性质粒的细菌可同时对多种抗菌药物耐药，即多重耐药性（MDR）。接合性耐药性质粒通过接合方式可以在同一种属细菌间或不同菌属间进行传递，在革兰氏阴性菌中更为突出，使细菌耐药性迅速播散，耐药菌株不断增加。

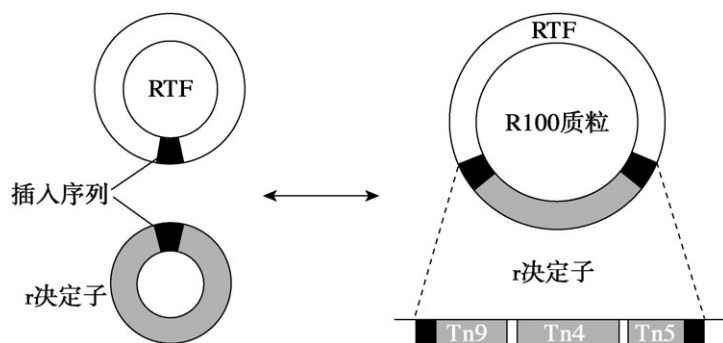


图 3-7 R100 质粒结构

（三）转导

转导（transduction）是以噬菌体为媒介，将供体菌 DNA 片段转移到受体菌内，使受体菌获得新的遗传性状。根据转导 DNA 片段的范围，可分为普遍性转导和局限性转导。

1. 普遍性转导（generalized transduction）噬菌体进行增殖，导致宿主菌 DNA 被裂解成大小不同的片段，如果子代噬菌体装配发生错误，将供体菌 DNA 片段误装入噬菌体头部，当它再次感染其他受体菌时，则将供体菌 DNA 带入受体菌内。因供体菌染色体或质粒的任何 DNA 片段都有可能被转导，故称为普遍性转导。

转导过程包含基因转移和重组。若供体菌的 DNA 片段在受体菌内重组，与其一起复制成为稳定的转导子，称为完全转导。如果供体菌 DNA 片段未能与受体菌 DNA 重组，其本身不具有独立复制功能，称为流产转导（图 3-8）。

2. 局限性转导（restricted transduction）是前噬菌体从宿主菌染色体切离时发生偏差，将前噬菌体两侧的基因转移到受体菌，使后者的遗传性状发生改变的过程。例如，温和噬菌体 λ 感染大肠埃希菌，整合于染色体上半乳糖操纵子（gal）和生物素操纵子（bio）之间。但切离时可能发生偏差，其概率为 10^{-6} ，与细菌染色体进行部分交换，形成带有 gal 或 bio 的缺陷噬菌体。这种缺陷噬菌体感染受体菌时可将供体菌染色体 DNA 带入受体菌（图 3-9）。

转导在革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌中均可发生，由于噬菌体有宿主特异性，转导现象仅发生在同种细菌内。普遍性转导是金黄色葡萄球菌中耐药性传递的主要方式。

（四）溶原性转换

溶原性细菌因染色体上整合有前噬菌体而获得新的遗传性状称为溶原性转换（lysogenic conversion）。溶原性转换可使某些细菌发生毒力变异或抗原性变异。例如，不产生毒素的白喉棒状杆菌被 β -棒状杆菌噬菌体感染成为溶原性细菌时，由于该噬菌体携带编码白喉毒素的结构基因 tox，宿主菌便可产生白喉毒素。此外，A 群链球菌的红疹毒素、金黄色葡萄球菌的 α 溶血素和肠毒素 A、肉毒梭菌的 C 型和 D 型毒素等都是溶原性转换的结果。溶原性转换可导致沙门菌属和志贺菌属中表面抗原结构有较多的改变。

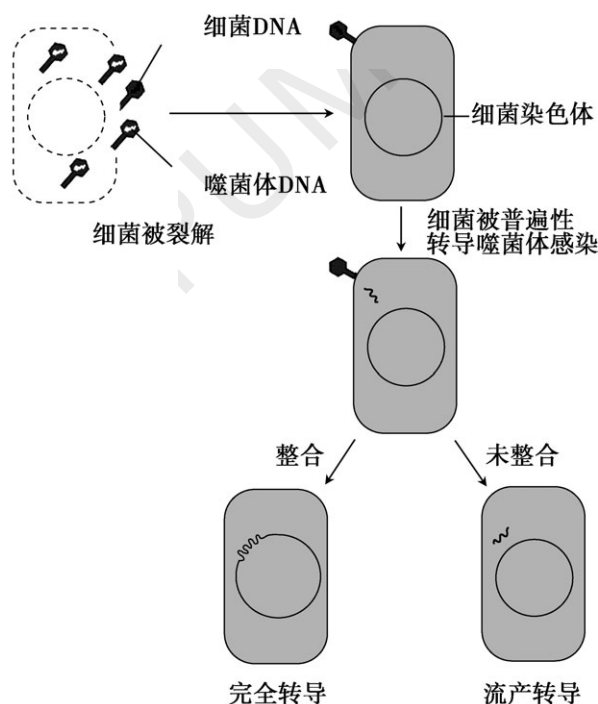


图 3-8 普遍性转导

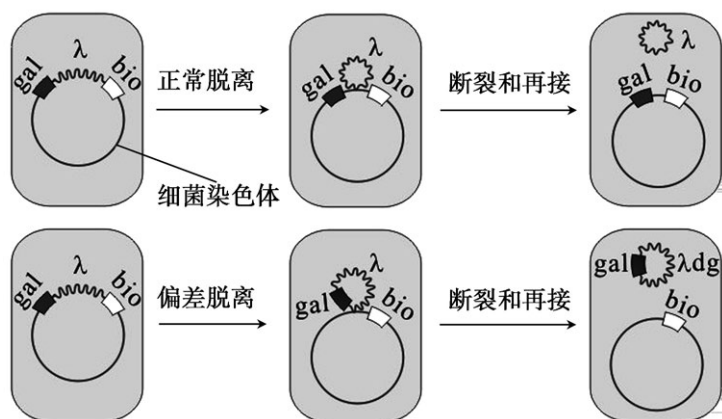


图 3-9 局限性转导

(五) 原生质体融合

原生质体融合是分别将两种细菌经处理失去细胞壁悬于高渗培养基中保持原生质体状态，然后将两种细菌的原生质体混合，滴加聚乙二醇促使原生质体融合（protoplast fusion）。融合后的双倍体细胞可以短期生存，在此期间染色体之间可以发生基因的交换和重组，获得多种不同表型的重组融合体。融合体经培养重新形成细胞壁，再按其遗传标志选择重组菌。

原生质体融合技术可以使一些原来不具备基因转移条件的细菌实现基因的转移和重组，可用于同种或异种细菌之间的基因转移与重组。

第四节 细菌遗传学在医学上的应用

（一）在细菌感染的诊断与防治中的应用

细菌的遗传物质是快速检测、鉴别、诊断细菌的重要基础。聚合酶链反应（polymerase chain reaction, PCR）方法对特定 DNA 序列进行选择体外扩增，是特异、敏感和快速的检测方法，广泛应用于细菌的分类鉴定和临床诊断。PCR 是不易培养或生长缓慢细菌（如结核分枝杆菌、嗜肺军团菌等）鉴定和诊断的有力工具。

细菌的耐药性变异是临床细菌性感染面临的重要问题之一，对临床分离菌株进行耐药性监测，注意耐药谱的变化和耐药机制的研究，将有利于指导正确选择抗菌药物和防止耐药菌株的扩散。

细菌遗传变异的研究对传染病的预防也具有重要的意义。以毒力减弱而保留免疫原性的菌株制成减毒活疫苗，已成功地用于某些传染病的预防。早在人们对细菌的遗传和变异的理论尚未了解的年代，巴斯德就已将 42℃ 高温下培养，毒力减弱的炭疽芽胞杆菌制成活疫苗用于炭疽病的预防。卡介苗（BCG）用于结核病的预防已经延续了半个多世纪。

对于某些局部感染，可用噬菌体作为一种辅助治疗，如铜绿假单胞菌噬菌体在烧伤创口感染的应用。但由于噬菌体的宿主菌特异性过于专一，其应用受到很大限制。

（二）在检测致癌物质方面的应用

细菌的基因突变可由诱变剂引起。凡能诱导细菌突变的物质也可能诱发人体细胞的突变，这些物质有可能是致癌物质。Ames 试验就是根据细菌的致突变试验检测致癌物质的原理设计的。采用鼠伤寒沙门菌组氨酸营养缺陷型（his⁻），在组氨酸缺乏的培养基上不能生长，但如发生回复突变成为 his⁺，则能够生长。计数培养基上的菌落数，比较有诱导物的试验平板与无诱导物的对照平板，凡能提高突变率，诱导菌落生长较多者，即有致癌的可能性。

（三）在流行病学方面的应用

将分子生物学的分析方法应用于流行病学调查，追踪基因水平的转移与播散，有其独特的优点。例如指纹图谱法（finger printing），将不同来源细菌所携带的质粒 DNA、毒力基因或耐药性基因等，经同一种限制性内切酶切割后进行琼脂糖凝胶电泳，比较所产生片段的数目和大小是否相同或相近，确定某一感染暴发流行菌株或相关基因的来源，或调查医院内耐药性质粒在不同细菌中的播散情况。

在细菌感染的流行病学调查中，也可利用噬菌体分型的方法追踪其来源。

（四）在分子生物学方面的应用

分子生物学是从研究细菌开始的，由此发展了理论和技术，成为独立的新兴学科。分子生物学研究中使用的各种工具酶（限制性内切酶、连接酶、核酸酶、Taq 酶等）、载体、转座子、DNA 重组的方法（转化、接合、转导）及基因功能定位的方法等都是细菌遗传和变异研究重大发现的延伸。近年发现的细菌 CRISPR-Cas 系统已经广泛应用于真核生物的基因组编辑。

（五）在基因工程方面的应用

基因工程是在分子遗传学基础上发展的生物技术，核心是 DNA 重组技术，涉及以下主要过程：①分离目的基因；②体外重组：将基因连接到能够自我复制的质粒、噬菌体等载体分子上；③将重组 DNA 分子转移到受体菌（或其他宿主细胞）；④扩增并筛选重组体克隆，然后表达或制备特定的功能蛋白质。此技术解决了一些天然合成或分离纯化困难的生物制品的来源，例如重组胰岛素、干扰素、生长激素等药物的生产，基因工程也用于疫苗的生产，如乙型肝炎病毒表面抗原疫苗。

小结

细菌遗传物质包括染色体和染色体外的质粒、噬菌体及转位因子。

细菌的变异包括表型变异和基因型变异，表型变异是因外环境变化引起，不能遗传。

基因型变异涉及遗传物质结构改变，可以遗传给子代。

细菌基因转移和重组的方式有转化、转导、接合、溶原性转换和原生质体融合。

细菌遗传与变异可应用于细菌感染的诊断和防治、细菌耐药性监测、流行病学调查和基因工程技术。

(肖纯凌)

病毒的基本性状

病毒（virus）是一类非细胞型微生物。其主要特征是：①体积非常微小，能通过细菌滤器，一般需用电子显微镜放大数万倍以上方能观察到；②结构简单，无完整的细胞结构，只含有一种核酸（DNA 或 RNA）；③具有严格的细胞内寄生性，只能在一定种类的活细胞中增殖，增殖方式是复制；④对常用抗生素不敏感，对干扰素敏感。病毒与其他微生物相比，具有不同的特征（表 4-1）。

表4-1 病毒与其他微生物的特征比较

特性	病毒	细菌	支原体	立克次体	衣原体	真菌
通过细菌滤器（0.45 μm）	+	-	+	-	+	-
结构	非细胞	原核细胞	原核细胞	原核细胞	原核细胞	真核细胞
有无细胞壁	-	+	-	+	+	+
核酸类型	DNA 或 RNA	DNA + RNA	DNA + RNA	DNA + RNA	DNA + RNA	DNA + RNA
人工培养基生长	-	+	+	-	-	+
增殖方式	复制	二分裂	二分裂	二分裂	二分裂	有性或无性
抗生素敏感性	-	+	+	+	+	+
干扰素敏感性	+	-	-	-	-	-

病毒种类繁多，包括动物病毒、植物病毒和细菌病毒（噬菌体）。动物病毒是引起人类疾病的重要病原。人类的传染病约 75% 是由病毒引起的。病毒所致的传染病不仅数量多，而且传染性强，部分病毒性疾病病情严重、病死率高或病后留有后遗症。如流感、病毒性肝炎、艾滋病等可造成世界性大流行，狂犬病、病毒性脑炎和出血热等疾病则死亡率很高。近年来，新现或再现病毒性疾病对人类的危害以及生物安全的潜在危险受到人们高度关注；特别是病毒与肿瘤、自身免疫病等疾病的内在联系及其在医学、生命科学中的广泛应用，表明病毒感染与多学科之间的关系愈发紧密。掌握和运用病毒学知识、理论及其相关技术，对防控病毒性疾病，保证生物安全以及探索医学和生命科学的规律等尤为重要。医学病毒学（medical virology）是研究病毒与人类疾病关系的一门科学，主要内容包括病毒的生物学性状、致病性及机体的免疫应答、微生物学检查法和特异性防治原则。学习和掌握医学病毒学可以更有效地预防、控制和消灭病毒性疾病，保障人类健康。

第一节 病毒的形态、结构与化学组成

病毒虽然体积微小，但有其典型的形态和结构。具有一定形态结构和感染性的完整病毒颗粒（viral particle），被称为病毒体（virion）。病毒体的大小、形态和结构可以通过电镜技术、分级超过滤技术、超速离心沉降法及 X 线晶体衍射技术等进行观察研究。

一、病毒的大小和形态

1. 病毒的大小 病毒的大小指病毒体的大小。测量单位是纳米（nanometer, nm），即微米（1/1000 μm ）。各种病毒的大小相差很大，一般病毒大小 20 ~ 250 nm，其中绝大多数病毒都在 100 nm 左右；最大的病毒如痘病毒（poxvirus）为 300 nm，在普通光学显微镜下可以勉强看到；最小的病毒如小 RNA 病毒和微小 DNA 病毒的大小约为 20 ~ 30 nm。

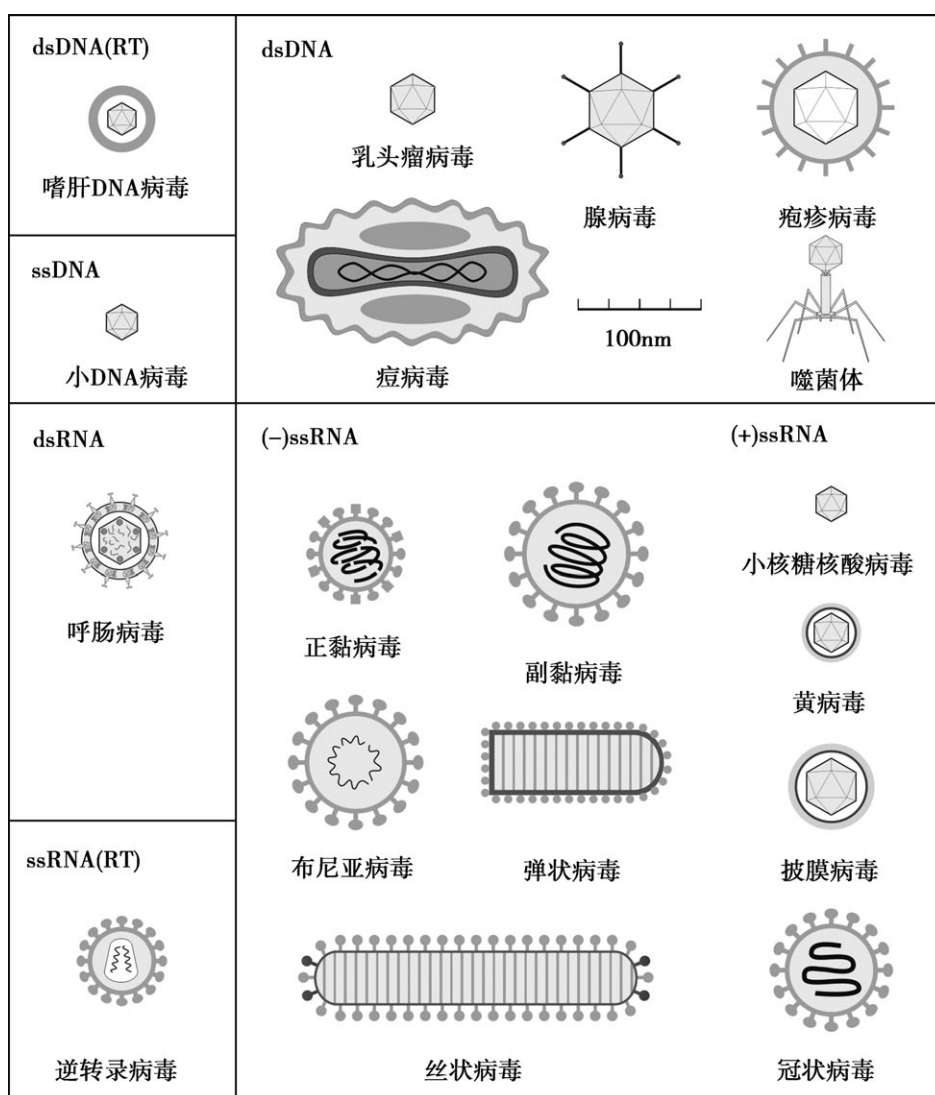


图 4-1 病毒的形态与结构

2. 病毒的形态 病毒的形态多种多样（图 4-1）。绝大多数动物病毒呈球形或近似球形，某些动物病毒呈砖形（痘病毒）、子弹形（狂犬病病毒）或丝状（埃博拉病毒）；植物病毒多呈杆状或丝状；细菌病毒，即噬菌体多呈蝌蚪形。大部分病毒的形态比较固定，如小 RNA 病毒

呈球形；但某些病毒的形态呈多形性，如正黏病毒（*Orthomyxoviridae*）可以呈球形、丝状和杆状等。

二、病毒的结构及化学组成

病毒的形态和大小虽有明显差异，但其结构却有共同之处。总体上，病毒的结构可分为基本结构和辅助结构。

（一）病毒的基本结构

病毒基本结构包括：病毒的核心（viral core）和衣壳（capsid），二者构成核衣壳（nucleocapsid）。无包膜病毒的核衣壳就是病毒体。

1. 病毒核心 是病毒体的中心结构成分，要由一种类型核酸，即 DNA 或 RNA 组成。此外，还包含有少量的病毒基因编码的非结构蛋白，也是病毒增殖所需要的功能蛋白，如核酸多聚酶、转录酶或逆转录酶等。

病毒核酸具有多种多样的存在形式，如线型、环型结构；核酸构成可以呈单链或双链、分节段或非分节段。在 DNA 病毒中，除微小 DNA 病毒外，主要是双链 DNA 结构；单链 DNA 或为正链（+ssDNA）或为负链（-ssDNA）。双链 DNA 均有正链和负链。在 RNA 病毒中，除呼肠病毒外，主要是单链 RNA 结构。其中，根据病毒单链 RNA 是否具有 mRNA 的作用，单链 RNA 又分正链（+ssRNA）与负链（-ssRNA）。+ssRNA 可直接作为 mRNA，指导蛋白质的合成，如小 RNA 病毒；而 -ssRNA 则需先合成具有 mRNA 功能的互补链，才能指导蛋白质的合成，如流感病毒。病毒核酸的分子量大小不一，约为 $(16 \times 10^3 \sim 160 \times 10^3)$ kD。核酸大小从 3 ~ 400 kb 不等。如果平均 1 kb 为一个基因，小病毒可能仅含 3 ~ 4 个基因，大病毒则可含几百个基因。病毒基因的转录与翻译均在细胞内进行，因此其基因组与真核细胞基因组相似，如基因组中有内含子，转录后需加工和剪接，而与细菌基因组不同。

病毒核酸携带有病毒的全部遗传信息，决定了病毒的感染、增殖、遗传、变异等生物学性状，其主要功能有：

（1）指导病毒复制：病毒进入活细胞内，首先释放出核酸，自行复制，复制出更多同样的子代核酸；同时，由病毒核酸转录生成病毒 mRNA（或直接作为 mRNA），再以 mRNA 为模板翻译出病毒所需的蛋白质，包括病毒的非结构蛋白（如功能性的酶类等）和病毒的结构蛋白。最后再由病毒核酸与蛋白质装配成具有感染性的完整病毒颗粒。

（2）决定病毒的特性：病毒核酸的核苷酸链上的基因密码储存着病毒全部遗传信息。复制产生的子代病毒体均保留着亲代病毒的特性，如形态结构、致病性、抗原性等。若病毒核酸的核苷酸链中发生碱基置换或移码突变等变异，则病毒的性状也可能发生变异。

（3）具有感染性：实验证实，一部分病毒经化学方法除去衣壳蛋白后所获得的病毒核酸，仍具有侵染、进入宿主细胞后而引起感染的能力，称为感染性核酸（infectious nucleic acid）。由于病毒感染性核酸不易与细胞吸附，且易被体液中及细胞膜上的核酸酶降解，所以其感染性低于完整病毒体的感染性。但感染性核酸不受相应受体限制，导致其感染宿主范围比完整病毒广。如脊髓灰质炎病毒不能感染鸡胚与小鼠细胞，但其感染性核酸却有感染能力。

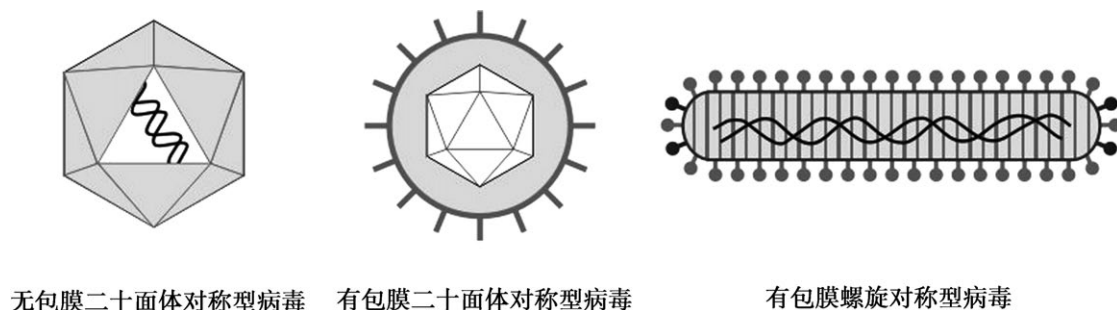
2. 病毒衣壳（viral capsid） 是包围在病毒核心外面的结构蛋白，其成分是蛋白质。衣壳由一定数量壳粒（capsomere）组成。壳粒是衣壳的形态学亚单位，在电镜下可见到壳粒的形态。壳粒是由一些多肽分子组成，因此多肽分子是衣壳的化学亚单位。

不同病毒核酸结构不同，壳粒数目和排列方式也不相同。根据壳粒的排列方式，病毒结构有以下几种对称形式：

（1）螺旋对称型（helical symmetry）：病毒核酸呈螺旋状排列，壳粒沿着螺旋形核酸链对称排列（图 4-2），如正黏病毒、副黏病毒及弹状病毒等。

(2) 20 面体立体对称型 (icosahedral symmetry): 病毒核酸聚集成团, 其衣壳的壳粒呈立体对称排列, 构成有 20 个等边三角形的平面、12 个顶角、30 个棱边的立体结构, 称其为 20 面体立体对称型 (图 4-2)。在其棱边、三角形面及顶角上皆有对称排列的壳粒。大多数病毒顶角的壳粒由 5 个同样的壳粒包围称为五邻体 (penton); 而在三角形平面上的壳粒, 周围都有 6 个相同的壳粒, 称为六邻体 (hexon)。不同病毒其壳粒数目也不相同, 例如腺病毒有 252 个壳粒, 而小 RNA 病毒仅有 32 个壳粒。可作为病毒鉴别及分类的依据之一。

(3) 复合对称型 (complex symmetry): 病毒体结构复杂, 包括有立体对称、螺旋对称等多种形式, 如痘病毒和噬菌体。



无包膜二十面体对称型病毒

有包膜二十面体对称型病毒

有包膜螺旋对称型病毒

图 4-2 病毒二十面体立体对称型和螺旋对称型

衣壳的主要功能有: ①保护病毒核酸 蛋白质组成的衣壳包绕着核酸, 可使核酸免遭环境中核酸酶和其他理化因素 (如紫外线、射线等) 的破坏; ②参与病毒的感染过程 病毒引起感染首先需要病毒特异地吸附于细胞表面。无包膜病毒依靠衣壳吸附于细胞表面, 构成感染的第一步; ③具有抗原性 衣壳蛋白具有良好抗原性, 当病毒进入机体后, 能引起机体特异性体液免疫和细胞免疫, 不仅有免疫防御作用, 有时也可引起免疫病理损伤。

(二) 病毒的辅助结构

病毒的辅助结构主要指的是包膜。

1. 病毒包膜 (viral envelope) 是包绕在病毒核衣壳外面的双层膜。病毒体外带有包膜的病毒称为有包膜病毒。包膜主要成分是蛋白质、多糖及脂类, 常以糖蛋白或脂蛋白形式存在。其中, 蛋白质是由病毒基因编码合成, 而多糖、脂类来自宿主细胞膜、核膜或空泡膜。当有包膜病毒成熟并以“出芽” (budding) 方式释放时, 穿过并获得细胞膜此部位的脂类、多糖成分和少许蛋白质而形成病毒包膜。有些病毒其包膜表面有突起, 称为包膜子粒 (peplomere) 或刺突 (spike) (图 4-2), 赋予病毒一些特殊功能。如流感病毒包膜上有血凝素 (hemagglutinin, HA) 和神经氨酸酶 (neuraminidase, NA) 两种刺突。HA 对呼吸道上皮细胞和红细胞有特殊的亲和力; NA 能破坏易感细胞表面受体, 便于病毒从细胞内释放。有包膜病毒对脂溶剂 (如乙醚、氯仿和胆汁) 敏感, 乙醚因其能破坏包膜而灭活病毒, 常被用于鉴定病毒有无包膜。有包膜病毒 (如呼吸道病毒) 因可被胆汁灭活, 故一般不能经消化道感染。

包膜的主要功能是: ①维护病毒体结构的完整性。其脂类成分可以加固病毒体的结构; ②具有与宿主细胞膜融合的性能, 因此包膜与病毒入侵细胞及感染性有关; ③具有病毒抗原的特异性。病毒包膜中含有的糖蛋白或脂蛋白均具有抗原性, 如根据甲型流感病毒的 HA 的抗原性不同可划分亚型。

2. 其他辅助结构 如腺病毒在 20 面体结构的各个顶角壳粒上有触须样纤维 (antennal fiber), 亦称纤维刺突或纤突, 能凝集某些动物红细胞并毒害宿主细胞。

第二节 病毒的增殖

病毒不具有能独立进行生物合成与新陈代谢的酶系统，所以必须进入活的易感宿主细胞内，由宿主细胞提供合成病毒核酸与蛋白质的原料，如低分子量前体成分、能量、必要的酶等，病毒才能增殖。病毒增殖的方式不是二分裂，而是自我复制（self replication）。复制是以病毒核酸为模板，在 DNA 多聚酶或 RNA 多聚酶及其他必要因素作用下，合成子代病毒的核酸和蛋白质，装配成完整病毒颗粒并释放至细胞外。病毒复制（replication）一般可分为吸附、穿入、脱壳、生物合成及装配与释放 5 个阶段，称为复制周期（replication cycle）。病毒经过复制产生大量的子代病毒，与此同时，宿主细胞的生物合成则受到不同程度的抑制和破坏。

一、病毒复制周期

1. 吸附（adsorption/attachment） 吸附于宿主细胞表面是病毒感染的第一步。吸附主要是通过病毒体表面的吸附蛋白（viral attachment protein, VAP）与易感细胞表面特异性病毒受体相结合。不同细胞表面有不同的病毒受体，它决定了病毒的不同嗜组织性（亲和性）和感染宿主的范围，如无包膜脊髓灰质炎病毒衣壳蛋白能与灵长类动物细胞表面脂蛋白受体结合，而腺病毒与细胞结合是依靠衣壳表面触须样纤维。有包膜病毒多通过表面糖蛋白结构与细胞受体结合，如流感病毒 HA 糖蛋白与细胞表面唾液酸结合发生吸附；人类免疫缺陷病病毒（HIV）包膜糖蛋白 gp120 的受体是人 T 辅助淋巴细胞表面的 CD4 分子；EB 病毒则能与 B 细胞表面的 CD21 分子结合。常见病毒的宿主细胞受体如表 4-2。无病毒受体的细胞不能吸附病毒，也不能发生病毒感染。细胞包含受体的数量不尽相同，最敏感细胞可含 10 万个受体。吸附过程可在几分钟到几十分钟内完成。

表4-2 常见病毒的吸附蛋白和宿主细胞受体

病毒	病毒吸附蛋白	细胞表面受体
脊髓灰质炎病毒	VP1	特异膜受体（免疫球蛋白超家族成员）
鼻病毒	VP1	黏附因子 I（ICAM-1）
埃可病毒		连接素成员
柯萨奇 A 病毒		连接素成员
甲型流感病毒	HA	唾液酸
单纯疱疹病毒	gB、gC、gD	硫酸乙酰肝素聚糖及 FGF 受体
EB 病毒	gp350	CD21
人巨细胞病毒	CD13 样分子	MHC I 类抗原的 β_2m
人类疱疹病毒 6		CD46
人类免疫缺陷病毒	gp120	CD4、CCR5、CXCR4
狂犬病病毒	糖蛋白 G	乙酰胆碱受体
呼肠病毒	δ_1 蛋白	β - 肾上腺素受体
乙型肝炎病毒	preS1 蛋白	NTCP（钠离子 - 牛磺胆酸共转运蛋白）

2. 穿入（penetration） 病毒与细胞表面结合后穿过细胞膜进入细胞的过程称为穿入。病毒体可通过胞饮、融合、直接穿入 3 种方式进入细胞。胞饮类似吞噬泡，细胞膜内陷将病毒包裹进入细胞质内形成吞饮泡，无包膜病毒多以胞饮形式进入易感染动物细胞内；融合是多数有

包膜病毒穿入细胞的方式，病毒包膜与细胞膜融合，之后再将病毒的核衣壳释放至细胞质内；直接穿入是少数无包膜病毒在吸附细胞时，病毒蛋白衣壳的某些多肽成分和结构发生改变，从而可直接穿过细胞膜，进入细胞。

3. 脱壳 (uncoating) 病毒脱去蛋白衣壳后，核酸才能发挥作用。多数病毒穿入细胞后，在细胞溶酶体酶的作用下，脱去衣壳蛋白释放病毒核酸。少数病毒的脱壳过程复杂，如痘病毒的脱壳过程分为两步，先由溶酶体酶作用脱去外壳，再经病毒编码产生的脱壳酶脱去内壳，方能使病毒核酸完全释放出来。

4. 生物合成 (biosynthesis) 病毒脱壳后，核酸释放进入细胞内，则开始病毒的生物合成阶段。病毒生物合成包括病毒核酸复制和基因表达过程，即病毒利用宿主细胞提供的环境和物质合成大量病毒核酸和功能蛋白、结构蛋白。病毒核酸在细胞内复制的部位因核酸类型不同而异。除痘病毒外，DNA 病毒都在细胞核内复制；除正黏病毒和逆转录病毒等病毒外，RNA 病毒均在细胞质内复制。病毒基因通过转录 mRNA 指导翻译合成病毒的蛋白质。

生物合成一般分早期和晚期两个阶段。早期阶段合成早期蛋白质，即病毒早期基因组在细胞内进行转录、翻译而产生病毒生物合成中所需要的功能蛋白质，如酶类以及某些抑制或阻断细胞核酸和蛋白质合成的非结构蛋白，以保证病毒进一步复制和阻断宿主细胞的正常代谢。晚期阶段根据病毒基因组指令，开始病毒核酸的复制，并经过病毒晚期基因的转录、翻译而产生病毒的结构蛋白。由于在细胞内病毒进行生物合成阶段中，用电镜方法不能查到细胞内的完整病毒，用免疫学方法也测不到病毒抗原，故此阶段被称为隐蔽期。各种病毒的隐蔽期长短不一，如脊髓灰质炎病毒为 3 ~ 4 小时，而腺病毒为 16 ~ 18 小时。

根据病毒核酸类型的不同，病毒分为 7 个类型，分别是双链 DNA 病毒、单链 DNA 病毒、单正链 RNA 病毒、单负链 RNA 病毒、双链 RNA 病毒、逆转录病毒以及嗜肝 DNA 病毒。不同类型病毒的复制方式和生物合成过程不同。

双链 DNA 病毒 dsDNA 病毒复制过程在细胞核内进行，可分为早期和晚期两个阶段（图 4-3）。早期阶段是病毒利用宿主细胞核内的依赖 DNA 的 RNA 多聚酶，转录病毒早期 mRNA，再于胞质内的核糖体上翻译出病毒早期蛋白。病毒早期蛋白主要是非结构蛋白，包括 DNA 多聚酶、脱氧胸腺嘧啶激酶及调控基因和抑制细胞代谢的多种酶类，用于子代 DNA 的复制。晚期阶段包括子代 DNA 复制和病毒晚期蛋白的合成。病毒 DNA 复制为半保留复制形式，即在解链酶作用下，亲代 DNA 的双链解开为正、负两条单链；再分别以两条单链为模板，利用早期合成的 DNA 多聚酶，复制出子代 DNA。然后以子代 DNA 分子为模板，转录晚期 mRNA，继而在胞质核糖体内翻译出病毒结构蛋白，主要为衣壳蛋白。

单链 DNA 病毒 ssDNA 病毒种类很少，微小 DNA 病毒属此类。该类病毒基因组可为正链，也可为负链。在生物合成时，首先以亲代 DNA 作模板，合成其互补链，并与亲代 DNA 链形成 dsDNA，作为复制中间体 (replicative intermediate, RI)。然后进行解链，再以新合成的互补链为模板复制出子代 DNA，同时转录 mRNA 并翻译合成病毒蛋白质。

单正链 RNA 病毒 +ssRNA 病毒包括小 RNA 病毒、黄病毒等。+ssRNA 本身具有 mRNA 功能，可直接于宿主细胞的核糖体上翻译合成早期蛋白质，首先翻译合成出大分子多聚蛋白前体，然后在细胞或病毒编码的蛋白酶作用下，把大分子多聚蛋白前体切割成为相应的功能蛋白（如 RNA 聚合酶）及结构蛋白。同时，+ssRNA 在 RNA 聚合酶作用下，转录出与亲代互补的负链 RNA，形成双股 RNA (\pm RNA)，即复制中间体 (RI)，并以负链 RNA 为模板复制子代病毒 RNA，进而再装配与释放（图 4-4）。

单负链 RNA 病毒 多数有包膜病毒属于 -ssRNA 病毒，如流感病毒、狂犬病病毒等。虽然，-ssRNA 不具有 mRNA 的功能，但病毒体中含有的依赖 RNA 的 RNA 多聚酶，能够以病毒 RNA 为模板进行自我复制。在生物合成过程中，-ssRNA 首先转录出互补的正链 RNA，两

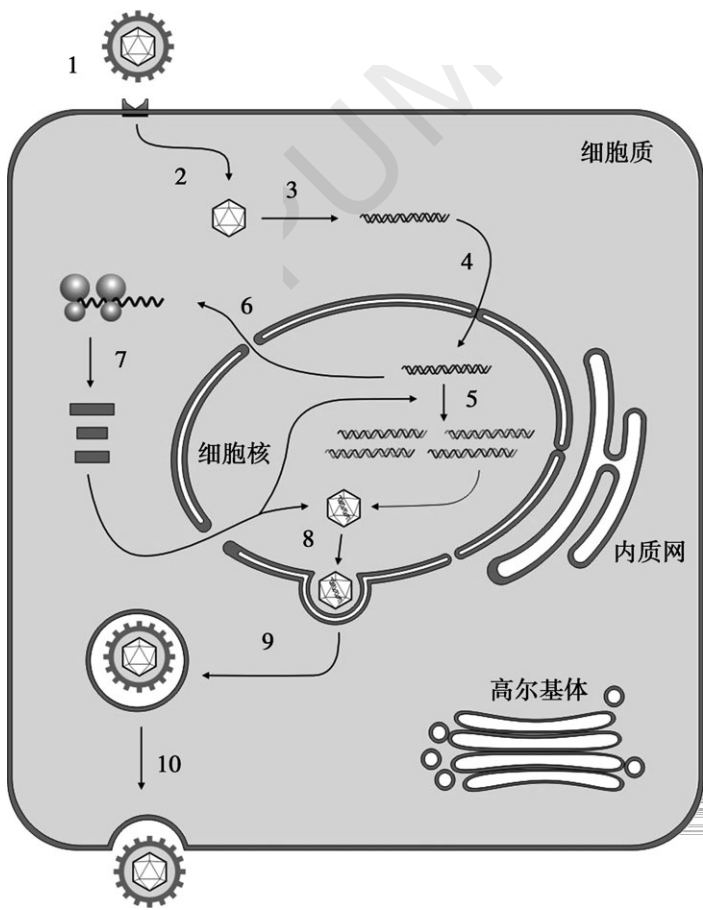


图 4-3 dsDNA 病毒复制示意图

以单纯疱疹病毒为例。(1) 吸附;(2) 病毒穿入, 去包膜;(3) 脱壳;(4) 病毒 DNA 进入细胞核;(5) 病毒基因组复制, 合成子代核酸及病毒 mRNA;(6) 病毒基因转录的 mRNA 进入细胞质;(7) 病毒 mRNA 翻译病毒蛋白, 包括早期蛋白和晚期蛋白;(8) 装配子代病毒;(9) 出核, 获得包膜;(10) 释放

者形成复制中间体 (\pm RNA), 随后以正链 RNA 为模板复制子代病毒的 -ss RNA, 同时通过另一部分正链 RNA 直接发挥 mRNA 作用, 指导翻译出病毒的结构蛋白和非结构蛋白。

双链 RNA 病毒 人类呼肠病毒科属于 dsRNA 病毒。在生物合成时, 病毒的负链 RNA 在病毒自身 RNA 多聚酶作用下, 首先转录出病毒 mRNA, 然后再翻译出病毒早期蛋白或晚期蛋白。在核酸复制时, 必须先以病毒原有的负链 RNA 为模板复制出新的正链 RNA, 再由新的正链 RNA 复制出新的负链 RNA, 共同组成子代病毒 RNA。

逆转录病毒 人类免疫缺陷病毒 (HIV) 和人类 T 淋巴细胞白血病病毒 (HTLV) 属于逆转录病毒 (retrovirus)。此类病毒自身携带有逆转录酶, 并具有由两条相同的正链 RNA 构成的基因组, 称为单正链双体 RNA, 但均不具有 mRNA 功能。逆转录病毒的生物合成过程与其他单正链 RNA 不同, 首先以病毒 RNA 为模板, 在逆转录酶的作用下合成 cDNA, 而构成 RNA: DNA 中间体。进而, 中间体中的 RNA 链被 RNA 酶 H 水解, 在 DNA 多聚酶作用下复制成 dsDNA 进入细胞核。dsDNA 则整合至宿主细胞的染色体 DNA 上, 成为前病毒 (provirus), 并可随宿主细胞的分裂存在于子代细胞内。在特定条件下, 前病毒可以在细胞核内转录出子代病毒 RNA 和 mRNA, mRNA 在胞质核糖体上翻译出子代病毒的结构蛋白和非结构蛋白 (图 4-5), 共同组成完整的逆转录病毒颗粒。

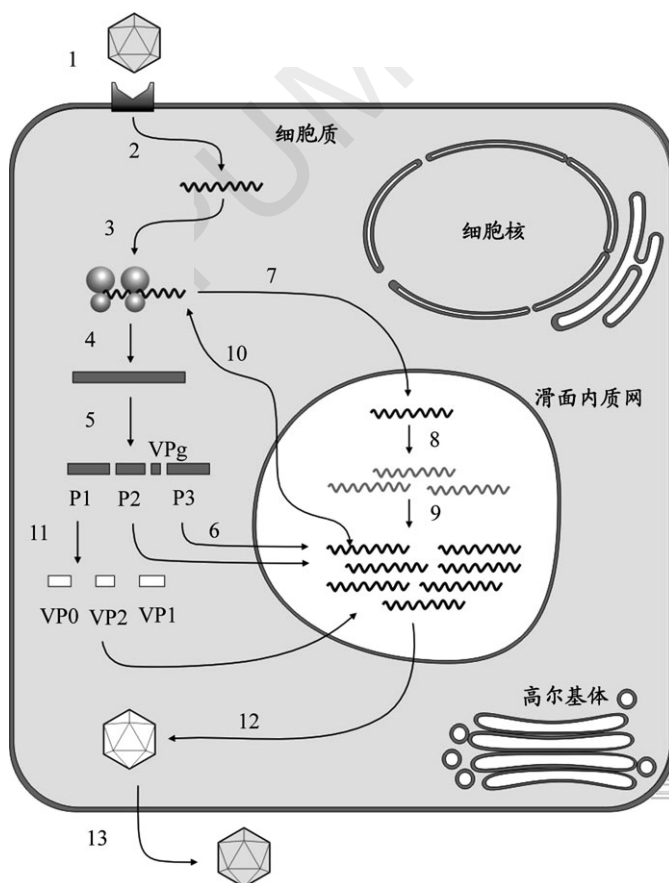


图 4-4 +ssRNA 病毒复制示意图

以脊髓灰质炎为例。(1) 吸附；(2) 穿入、脱壳；(3) RNA 附着于核糖体；(4) 合成多聚蛋白前体；(5) 多聚蛋白裂解成 P1 (结构蛋白)、P2 和 P3 (蛋白酶、RNA 聚合酶)；(6) P2、P3 进入滑面内质网；(7) 正链 RNA 转运至滑面内质网；(8) 合成负链 RNA；(9) 以负链 RNA 为模板合成子代正链 RNA；(10) 病毒正链 RNA 进入翻译系统；(11) P1 前体裂解成结构蛋白；(12) 子代病毒体形成；(13) 细胞溶解释放子代病毒

嗜肝 DNA 病毒 乙型肝炎病毒 (HBV) 属于该类型病毒。HBV 基因组属于不完全闭合双链 DNA，其复制有逆转录过程，其逆转录过程发生在病毒转录后，在装配好的病毒衣壳中，以前病毒 DNA 转录的 RNA 为模板进行逆转录，同时形成 RNA : DNA 中间体，然后再形成子代双链环状 DNA。

5. 装配与释放 (assembly and release) 病毒装配是指病毒核酸与蛋白质合成之后，在细胞质内或细胞核内组装为成熟病毒颗粒的过程。不同种类的病毒在细胞内装配的部位也不同。除痘病毒外，DNA 病毒均在细胞核内装配；除正粘病毒、逆转录病毒外，RNA 病毒主要在细胞质内装配。病毒的结构蛋白质先组装形成空心衣壳后，病毒核酸从衣壳裂隙间进入壳内形成核衣壳，可以直接装配为无包膜病毒的成熟病毒体，但有包膜病毒需要在核衣壳外再加一层包膜，才能成为完整的病毒体。病毒包膜形成是在细胞膜系统 (质膜或核膜) 特定部位，当病毒编码的特异糖蛋白插入细胞膜时，装配形成的核衣壳与此处细胞膜结合，则形成包膜。包膜的脂类来源于细胞，而包膜的蛋白质 (包括糖蛋白) 是由病毒基因组编码，故具有病毒的特异性和抗原性。

病毒发育成熟是指成为具有感染性的病毒体。成熟的病毒体以不同方式释放于细胞外。无包膜病毒，如脊髓灰质炎病毒等均以破胞方式释放，即病毒装配完成后，导致宿主细胞破裂而把病毒全部释放到周围组织中。有包膜的病毒，如疱疹病毒等，在装配完成后，以出芽

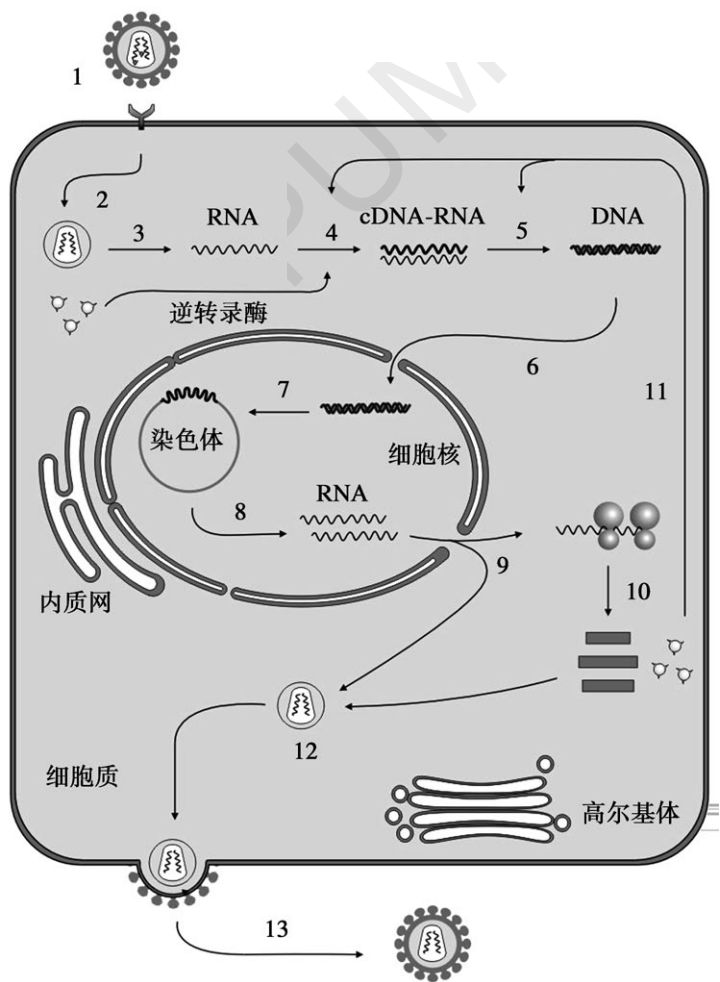


图 4-5 逆转录病毒复制示意图

以人类免疫缺陷病毒（HIV）为例。(1) 病毒体与细胞受体（CD4 分子）结合；(2) 病毒进入细胞，去包膜；(3) 脱衣壳；(4) 以病毒 RNA 为模板，逆转录合成 cDNA，形成中间体；(5) 以 cDNA 为模板合成 dsDNA；(6) dsDNA 进入细胞核；(7) 整合到细胞染色体上形成前病毒；(8) 前病毒被激活，转录出子代 RNA；(9) 一部分子代 RNA 与核糖体结合，翻译子代蛋白；另一部分为子代病毒 RNA；(10) 翻译子代结构蛋白和酶蛋白；(11) 合成的酶蛋白参与逆转录；(12) 子代病毒体形成；(13) 子代病毒获包膜并释放

(budding) 方式释放到细胞外，此时细胞通常不死亡，细胞膜在出芽后可以修复，细胞仍能继续分裂增殖。此外，病毒还有其他释放方式，如某些肿瘤病毒，其基因组以整合方式随细胞的分裂而出现在子代细胞中。

病毒复制周期的时间长短与病毒种类有关，如小 RNA 病毒为 6 ~ 8 小时，而流感病毒为 15 ~ 30 小时。每个细胞产生子代病毒的数量也因病毒和宿主细胞不同而异。

二、与病毒增殖有关的异常现象

病毒在宿主细胞内增殖是病毒与细胞相互作用的过程与结果。病毒在细胞内大量复制的同时，也影响细胞正常代谢，导致细胞损伤或死亡。但当细胞不提供病毒增殖所需要的条件和物质，或者病毒基因组发生突变和缺陷时，病毒也不能完成复制过程，这种情况属于病毒的异常增殖。病毒的异常增殖主要包括顿挫感染和缺陷病毒。此外，如果两种病毒同时感染同一细胞，会发生病毒间的影响而出现病毒干扰现象。

1. 顿挫感染 (abortive infection) 病毒进入宿主细胞后, 如果细胞不能为病毒增殖提供所需要的酶、能量及必要的成分, 则病毒在其中不能合成本身的成分; 或者虽能合成部分或全部病毒成分, 但不能装配和释放, 而不能复制出完整成熟的病毒体, 此感染过程被称为顿挫感染。不能为病毒增殖提供条件的细胞, 被称为非容许细胞 (non-permissive cells)。能为病毒提供条件, 可产生完整病毒的细胞被称为容许细胞 (permissive cells)。

2. 缺陷病毒 (defective virus) 因病毒基因组不完整或基因发生改变而不能进行正常增殖的病毒称为缺陷病毒。如果缺陷病毒与其他病毒共同感染细胞时, 而且其他病毒能为缺陷病毒提供所需要的条件, 缺陷病毒则又能完成正常增殖而产生完整的子代病毒, 将这种有辅助作用的病毒称为辅助病毒 (helper virus)。腺病毒伴随病毒 (adeno-associated virus) 就是一种缺陷病毒, 在任何细胞培养中都不能增殖, 但当和腺病毒共同感染细胞时却能产生成熟病毒。腺病毒就是辅助病毒。丁型肝炎病毒 (HDV) 也是缺陷病毒, 必须依赖于乙型肝炎病毒 (HBV) 的存在才能复制。缺陷病毒虽然不能复制, 但对同种类的成熟病毒体感染细胞有干扰作用, 故又称其为缺陷干扰颗粒 (defective interfering particle, DIP)。DIP 具有正常病毒的衣壳和包膜, 只是内含缺损的基因组。DIP 不仅能干扰非缺陷病毒的复制, 还能影响细胞的生物合成。伪病毒体 (pseudovirion) 是缺陷病毒的另一形式, 它不含有病毒基因组, 只是在病毒复制时将宿主细胞 DNA 的某一片段包装进入其他病毒的衣壳中, 该种类病毒颗粒可以用电镜观察到, 但不能复制。

3. 干扰现象 (interference) 是指当两种病毒感染同一细胞时, 可发生一种病毒抑制另一种病毒增殖的现象, 称为病毒的干扰现象。干扰现象不仅可发生在不同种类的病毒之间, 也可在同种类不同型或不同株病毒之间发生。发生干扰的主要机制是: ①一种病毒诱导细胞产生的干扰素 (interferon, IFN) 抑制另一种病毒的增殖; ②病毒吸附时与宿主细胞表面受体结合而改变了宿主细胞代谢途径, 阻止了另一种病毒的吸附和穿入等复制过程; ③ DIP 所引起的干扰, 互相竞争复制必需物质, 如聚合酶、翻译起始因子等。病毒之间干扰现象能使宿主感染中止或不发病。在使用病毒疫苗时, 应注意合理使用不同病毒株之间的配伍组成, 避免由于干扰现象而影响病毒疫苗的免疫效果。

第三节 病毒的遗传与变异

病毒和其他微生物一样, 具有遗传性和变异性。病毒的毒力和抗原性等均可发生变异。利用病毒毒力可发生变异的特点, 人们制备出最早的病毒疫苗。例如, 1798 年琴纳 (Edward Jenner) 就根据经验观察创立了牛痘疫苗, 为控制天花打下基础; 1884 年巴斯德 (Louis Pasteur) 研制了狂犬病疫苗, 为预防医学开辟了广阔前途。此外, 由于病毒仅含有一种核酸, 基因组也较简单, 所以病毒成为了最早研究遗传学的工具。在病毒遗传学研究中, 通过对病毒生物学性状的变异现象及变异株的产生进行研究, 建立了病毒株、病毒准种、病毒突变株及病毒型别等概念。病毒株 (strain) 是同一种病毒的不同分离株; 病毒准种 (quasispecies) 是同一宿主体内同一种、同一株病毒群中基因发生某些变异的个体病毒株; 病毒突变株是与原来野毒株相比, 其表型已发生改变; 病毒型别 (type) 是根据中和抗体进行免疫反应确定的同一种病毒的不同血清型。随着病毒分子遗传学研究进展, 人们对病毒基因组结构和功能、病毒遗传变异的机制有了深入的认识, 特别是病毒的变异性研究将在病毒感染的诊断和防治, 特别是在制备病毒的基因工程疫苗中发挥更大的作用。

一、病毒变异的类型

根据遗传物质有无改变, 病毒的变异可分为遗传和非遗传物质变异两种类型。

（一）遗传物质变异

遗传物质变异主要包括基因突变、基因重组与重配。

1. 基因突变 是病毒基因组中的碱基序列由于置换、缺失或插入而发生改变。主要来源于病毒基因复制时发生的自发突变，其自发突变率为 $10^{-8} \sim 10^{-6}$ ，以及用物理因素（如紫外线或 X 线）或化学因素（如亚硝基胍、5- 氟尿嘧啶或 5- 溴脱氧尿苷）处理病毒颗粒或其核酸时诱发的突变，人工诱变可以提高突变率。由于基因突变产生的表型性状发生改变的病毒株称为突变株（mutant）。突变株包括多种表型，如病毒空斑的大小、病毒颗粒形态、抗原性、宿主范围、营养要求、细胞病变以及致病性等。常见的有意义突变株包括条件致死性突变株、宿主范围突变株和耐药突变株，其中条件致死性突变株最为常见。

（1）条件致死性突变株（conditional-lethal mutant）：是指在某种条件下能够增殖，而在其他条件下不能增殖的病毒株。温度敏感性突变株（temperature-sensitive mutant，ts 突变株）就是典型的条件致死性突变株。ts 突变株在 $28 \sim 35^{\circ}\text{C}$ （容许性温度）条件下可增殖，而在 $37 \sim 40^{\circ}\text{C}$ （非容许性温度）条件下不能增殖。主要是因为 ts 突变株的基因所编码的蛋白质或酶在较高温度下失去功能，导致病毒株不能增殖。ts 突变株可来源于基因任何部位的改变，所以一种病毒能产生多种 ts 突变株。ts 突变株多为减毒株，是生产疫苗的理想毒株。但 ts 突变株容易发生回复突变（回复率为 10^{-4} ），因此在制备疫苗时必须经多次诱变处理，才能获得稳定的突变株，亦称变异株（variant）。脊髓灰质炎病毒活疫苗就是 ts 突变株。

（2）宿主范围突变株（host-range mutant，hr）：由于病毒基因组的改变影响了病毒对宿主细胞的感染范围，导致野生型病毒株可以感染原来不能感染的细胞种类，病毒感染范围扩大。狂犬病疫苗就是通过该方式获得的减毒的突变病毒株。

（3）耐药突变株（drug-resistant mutant）：常因编码病毒酶类基因的突变，而引起药物作用的靶酶特性发生改变，从而降低了病毒对药物的亲和力，从而导致相应的病毒对药物不敏感或耐药而继续增殖。

2. 基因重组与重配 两个或多个病毒颗粒感染同一细胞时，病毒的基因组之间可发生多种形式的互相作用，但通常发生于有近缘关系的病毒之间。例如，两种病毒的基因组或基因片段可以发生互换，从而产生具有两个亲代病毒特性的子代病毒，并能继续增殖，该过程称为基因重组（gene recombination），所获得的子代病毒被称为重组体（recombinant）。重组不仅可发生于两种活病毒之间，也可发生于活病毒与灭活病毒之间，甚至还可发生于两种灭活病毒之间。

两个非分节段基因组病毒间的重组，是在核酸内切酶和连接酶的作用下，造成两种病毒核酸分子发生断裂和交叉连接，从而形成核酸分子内部序列重新排列所致。

分节段 RNA 病毒基因组的重组，是指两株病毒之间通过基因片段的交换使子代基因组发生改变的过程，又称重配（reassortment）。如流感病毒、轮状病毒等可发生重配（图 4-6）。

3. 病毒基因组与宿主细胞基因组的整合 在病毒感染细胞的过程中，有时会发生病毒基因组或某一片段插入到宿主染色体 DNA 中并进行重组的过程，这种病毒基因组与细胞基因组的重组过程称为整合（integration）。多种肿瘤病毒（如人乳头瘤病毒）、逆转录病毒等均有整合特性。整合主要引起宿主细胞基因组的改变而导致细胞发生恶性转化，而且还可引起病毒基因组的变异。

（二）非遗传物质变异

非遗传物质变异即病毒基因产物的相互作用。当两种病毒感染同一细胞时，除可发生基因重组外，也可发生病毒基因产物的相互作用，包括互补、表型混合与核壳转移等，导致子代病毒发生表型性状的改变。

1. 基因产物的互补作用（complementation） 是指两株病毒同时感染同一细胞时，通过基因产物之间的相互作用，能产生一种或两种有感染性的子代病毒。互补作用可发生在两种缺

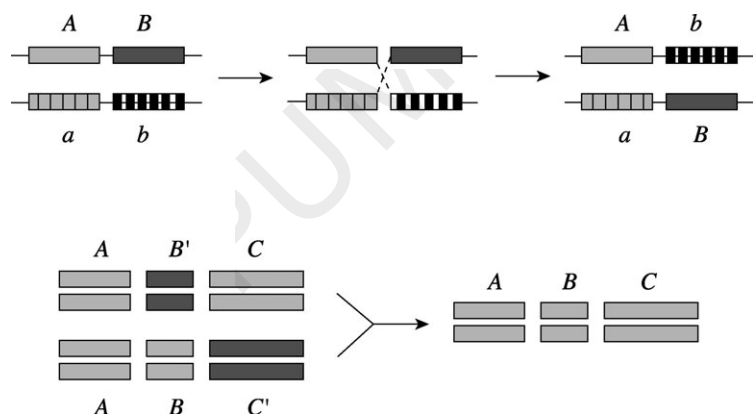


图 4-6 病毒的基因重组

上图:两株非分节段病毒基因组分别为AB和ab,基因重组后形成新子代病毒分别为Ab和aB。下图:两株分节段病毒基因组,每个由3个片段的双链核酸组成;一个B段发生突变成B',另一个C段发生突变成C',当二者进入同一细胞时,发生C段重配,则产生出未突变的基因组。

陷病毒间,也可发生于感染性病毒与缺陷病毒或灭活病毒之间。主要是因为一种病毒能提供另一缺陷病毒所需要的基因产物,如病毒的衣壳、包膜或酶类等,从而辅助缺陷病毒复制产生子代病毒。

2. 病毒的表型交换和表型混合 (phenotypic mixing) 当两株具有某些共同特征的病毒感染同一细胞时,可出现一种病毒所产生的衣壳或包膜包裹在另一病毒基因组外面,称为表型交换。有时可产生来自两亲代病毒的相嵌衣壳或包膜称为表型混合(图4-7)。因为不是遗传物质的变异,所以表型交换和表型混合并不稳定,病毒经细胞培养传代后,又可恢复亲代病毒的表型。

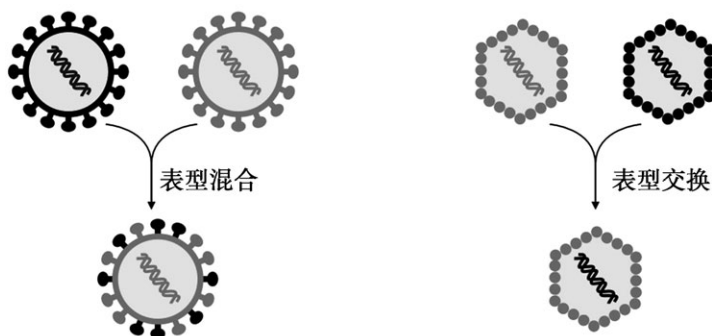


图 4-7 表型交换和表型混合

二、病毒遗传变异的生物学意义

病毒的分子遗传学研究开始于1970年代,主要采用基因克隆及测序技术,通过研究多种病毒的结构、组成,以及基因组复制、转录和翻译的调控,及其产物的结构和功能,特别是解析病毒致病转化机制及耐药性等,从分子水平上阐明了病毒的生物学性状、遗传变异特征、致病机制和宿主防御以及有效的防治等,促进了病毒学研究的飞跃发展。

研究病毒遗传学规律,探索病毒遗传变异的特性,对加深理解医学和生物学理论和开展包括病毒性疾病的诊断、治疗和预防等实际应用具有重要意义。核酸杂交、PCR等方法提高了

病毒核酸的检测敏感性,促进了病毒病诊断的效果;基因治疗、RNA 干扰等方法也开辟了病毒病治疗的新途径;特别是利用病毒的变异株(减毒株)、基因重组株制备减毒活疫苗、基因工程疫苗、核酸疫苗、多肽疫苗等特异性疫苗已经成为预防病毒病最有效的措施。在近百年的预防医学史上,用牛痘接种法预防天花获得了巨大成就,根除天花就是最好的见证。

第四节 理化因素对病毒的影响

在体外受到物理、化学因素作用下,导致病毒感染性丧失的过程,称为灭活(inactivation)。灭活的病毒仍能保留如抗原性、红细胞吸附、血凝及细胞融合等其他特性。理化因素灭活病毒的机制主要包括:①破坏病毒的包膜(如脂溶剂或冻融);②使病毒蛋白质变性(如酸、碱、甲醛、温热等);③损伤病毒的核酸(变性剂、射线)等途径。病毒对理化因素的敏感性的强弱因病毒种类不同而异。了解理化因素对病毒的影响,在预防病毒感染、进行病毒分离和疫苗制备等方面均有意义。

一、物理因素的影响

1. 温度 大多数病毒耐冷不耐热。在干冰温度(-70°C)或液氮温度(-196°C)条件下,病毒感染性可保持数月至数年。保存病毒标本需低温冷冻,但反复冻融也可使病毒失活。对温度的敏感性因病毒而异,多数病毒加热 60°C 30 分钟或 100°C 数秒钟可被灭活,但乙型肝炎病毒需 100°C 10 分钟才能灭活;有包膜的病毒比无包膜病毒更不耐热。

2. 酸碱度 多数病毒在 $\text{pH}5 \sim \text{pH}9$ 稳定,但也因病毒种类而异。肠道病毒在 $\text{pH}3 \sim \text{pH}5$ 时稳定,而鼻病毒在 $\text{pH}3 \sim \text{pH}5$ 时则迅速被灭活。因此,可通过检测病毒对 pH 的稳定性来鉴别病毒。

3. 射线 X 线、 γ 射线或紫外线均能以不同机制使病毒灭活。射线可使病毒核苷酸链发生致死性断裂;紫外线能使病毒基因核苷酸结构发生改变,形成胸腺核苷与尿核苷双聚体,从而影响病毒 DNA 或 RNA 的复制。但某些病毒,如脊髓灰质炎病毒经紫外线灭活后,再用可见光照射,可因除去双聚体而复活,称为光复活(photoreactivation),故不宜使用紫外线来制备灭活疫苗。

二、化学因素的影响

1. 脂溶剂 乙醚、氯仿、去氧胆酸盐、阴离子去污剂等脂溶剂均能使有包膜病毒(如流感病毒、流行性乙型脑炎病毒等)的包膜脂质溶解,失去对细胞的吸附能力而被灭活,但对无包膜病毒(如肠道病毒等)几乎无作用。因此,可用耐乙醚试验鉴别病毒有无包膜。

2. 消毒剂 除强酸、强碱外,次亚氯酸盐、过氧乙酸、戊二醛、甲醛、氧化剂、卤素及其化合物等化学消毒剂,均有灭活病毒的作用。病毒对消毒剂的抵抗力比细菌强,特别是无包膜的微小病毒。病毒对消毒剂的敏感性也因病毒种类而异。由于醛类消毒剂能使病毒灭活但仍保持抗原性,故常用甲醛作灭活剂来制备灭活疫苗。

3. 其他 现有的抗生素对病毒无抑制作用。中草药如板蓝根、大青叶、大黄、贯仲和七叶一枝花等对某些病毒有一定的抑制作用,其机制尚须深入研究。

MgCl_2 、 MgSO_4 、 Na_2SO_4 等盐类对小 RNA 病毒科、疱疹病毒科和正黏病毒科等病毒有稳定作用,能提高病毒对热的抵抗力,如用 1mol/L MgSO_4 保存上述病毒可耐受 50°C 1 小时。为此在保存这些病毒时需要经常加入镁盐,以延长病毒保存期。

第五节 病毒的分类和命名法

一、病毒的分类

根据病毒寄生宿主的不同,自然界存在的病毒可分为动物病毒、植物病毒、细菌病毒(噬菌体)和昆虫病毒。动物病毒包括感染人和脊椎动物的病毒。国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV)定期对病毒分类进行修改,并提出了动物病毒分类原则。主要根据病毒生物学性状和理化特性进行分类:

1. 病毒基因组特性 包括核酸类型(DNA或RNA)、单链还是双链、线状还是环状、是否分节段、基因组大小(kb)、核酸占病毒体总量的百分比及G+C含量、核苷酸序列及特异结构(重复序列、异构、5'端帽结构、5'端共价环状蛋白及3'端poly(A))等。

2. 病毒体形态大小 包括形态大小和结构、衣壳的对称型、衣壳壳粒数目及核衣壳直径和刺突等。

3. 病毒体的生理学特性 包括分子大小、浮密度、pH稳定性、末端稳定性,对乙醚、消毒剂等理化因素的敏感性等。

4. 病毒蛋白特性 包括蛋白质含量、结构蛋白、非结构蛋白特异活性(转录酶、逆转录酶、神经氨酸酶等),以及氨基酸序列、变性(糖基化、磷酸化、烷化)特征等。

5. 抗原性 指病毒抗原诱导机体产生特异性抗体或致敏淋巴细胞,并与其特异性结合的能力。抗原性的强弱与病毒抗原分子的大小、化学成分、抗原决定簇的结构及其与被免疫动物亲缘关系的远近等有密切关系。病毒抗原性的不同可以决定病毒的种类、分型和亚型等。

6. 组织培养生长特性 包括对细胞种类的敏感性、复制方式、复制过程(生物合成、装配及释放方式),以及包涵体形成等。

7. 生物学特性 包括自然宿主范围、传播方式及传播媒介、流行病学特征、致病性和病理学特点、组织亲嗜性等。

目前,ICTV根据复制过程又把病毒分为DNA病毒、RNA病毒、DNA和RNA逆转录病毒三个大组。

根据分类原则,病毒可以按科(family)(包括亚科subfamily)、属(genus)、种(species)进行分类。病毒科名用-viridae后缀表示,如痘病毒科、疱疹病毒科、小RNA病毒科及副黏病毒科等。病毒属是指在同一病毒科内,结构、生物学性状相似,亲缘关系相近的病毒。根据血清学和生理学的不同,病毒属内又分为若干病毒种。属名和种的后缀均用-virus表示。

2012年,ICTV将其承认的2284种病毒和类病毒分为6个目、87个科、19个亚科、349个属,并公布了卫星病毒和朊粒的种类。感染人和动物的重要病毒科列于表4-3。

二、病毒的命名法

根据ICTV的病毒命名规定,病毒不再采用拉丁双名法命名,而是依据分类原则,将病毒分为目、科、亚科、属和种。病毒目(order)、病毒科(family)、亚科(subfamily)和属(genus)名的英文书写时均为斜体,第一个字母大写。种(species)名不斜体,第一个字母也不大写,除非该字来源于人名、地名或科、属名。在正式书写时,病毒分类名称前应冠以分类名称,如副黏病毒科(the family Paramyxoviridae)。以疱疹病毒为例,分别命名如下:疱疹病毒目(order Herpesvirales)疱疹病毒科(family Herpesviridae)甲疱疹病毒亚科(subfamily Alphaherpesvirinae)单纯病毒属(genus Simplexvirus)单纯疱疹病毒2型(herpes simplex virus 2)。

表4-3 感染人和动物的病毒分类

核酸	病毒科	衣壳 对称型	包膜	病毒大小 (nm)	核酸大小 (kb)	核酸物理 学类型	主要病毒
DNA	小 DNA 病毒 (<i>Parvoviridae</i>)	20 面体	无	18 ~ 26	5.6	+SS	细小病毒 B19
	乳头瘤病毒 (<i>Papillomaviridae</i>)	20 面体	无	45 ~ 55	5.8	dS 环状	人类乳头瘤病毒
	腺病毒 (<i>Adenoviridae</i>)	20 面体	无	80 ~ 110	36 ~ 38	dS	腺病毒
	疱疹病毒 (<i>Herpesviridae</i>)	20 面体	有	150 ~ 200	124 ~ 235	dS	单纯疱疹病毒、水痘 - 带状疱疹病毒、巨细胞 病毒、EB 病毒
	痘病毒 (<i>Poxviridae</i>)	复杂	复杂 外壳	230 ~ 300	130 ~ 375	dS	天花病毒、痘苗病毒、 传染性软疣病毒
	嗜肝病毒 (<i>Hepadnaviridae</i>)	20 面体	有	42	3.2	dS ※	乙型肝炎病毒
RNA	小 RNA 病毒 (<i>Picornaviridae</i>)	20 面体	无	20 ~ 30	7.2 ~ 8.4	+SS	肠道病毒、鼻病毒
	星状病毒 (<i>Astroviridae</i>)	20 面体	无	28 ~ 30	7.2 ~ 7.9	+SS	
	杯状病毒 (<i>Caliciviridae</i>)	20 面体	无	27 ~ 38	7.4 ~ 7.7	+SS	戊型肝炎病毒
	呼肠病毒 (<i>Reoviridae</i>)	20 面体	无	60 ~ 80	16 ~ 27	dS 分节段	呼肠病毒、轮状病毒
	披膜病毒 (<i>Togaviridae</i>)	20 面体	有	50 ~ 70	7.9 ~ 11.8	+SS	风疹病毒
	黄病毒 (<i>Flaviviridae</i>)	20 面体	有	45 ~ 60	9.5 ~ 12.5	+SS	流乙脑炎病毒、森林脑 炎病毒、登革热病毒
	砂粒病毒 (<i>Arenaviridae</i>)	U or C	有	50 ~ 300	10 ~ 14	-SS 分节段	拉沙病毒
	冠状病毒 (<i>Coronaviridae</i>)	螺旋	有	80 ~ 220	20 ~ 30	+SS	冠状病毒
	布尼雅病毒 (<i>Bunyaviridae</i>)	螺旋	有	80 ~ 120	11 ~ 21	-SS 分节段	汉坦病毒、新疆出血热 病毒
	正黏病毒 (<i>Orthomyxoviridae</i>)	螺旋	有	80 ~ 120	10 ~ 13.6	-SS 分节段	流感病毒
	副黏病毒 (<i>Paramyxoviridae</i>)	螺旋	有	150 ~ 300	16 ~ 20	-SS 分节段	麻疹病毒、呼吸道合胞 病毒、腮腺炎病毒、副 流感病毒
	弹状病毒 (<i>Rhabdoviridae</i>)	螺旋	有	75 ~ 180	13 ~ 16	-SS	狂犬病病毒
	丝状病毒 (<i>Filoviridae</i>)	螺旋	有	80 ~ 1000	19.1	-SS	马堡病毒、埃博拉病毒

续表

核酸	病毒科	衣壳 对称型	包膜	病毒大小 (nm)	核酸大小 (kb)	核酸物理 学类型	主要病毒
RNA	博尔纳病毒 (<i>Bornaviridae</i>)	螺旋	有	80 ~ 125	8.5 ~ 10.5	SS	博尔纳病毒
	逆转录病毒 (<i>Retroviridae</i>)	20 面体	有	80 ~ 100	7 ~ 11	+SS 双体	人类免疫缺陷病毒、人 类嗜 T 细胞病毒

ss：单链。ds※：双链有单链区。U or C：未知或复杂。

小 结

病毒是一类非细胞型微生物。其主要特点是体积微小、结构简单，无完整的细胞结构，严格的细胞内寄生。病毒的基本结构包括核心和衣壳，二者构成核衣壳。一些病毒还有包膜和刺突等辅助结构。

病毒复制一般可分为吸附、穿入、脱壳、生物合成及装配与释放 5 个阶段，称为病毒复制周期。病毒的异常增殖主要包括顿挫感染和缺陷病毒。当细胞不提供病毒增殖所需要的条件和物质时，病毒不能完成复制过程，称为顿挫感染。当两种病毒感染同一细胞时会发生病毒间的干扰现象。

病毒的基因突变是指基因组中的碱基序列由于置换、缺失或插入而发生的基因改变。常见的基因突变株包括条件致死性突变株（例如温度敏感性突变株，ts）、宿主范围突变株（hr）、耐药突变株。

两种或更多的病毒颗粒感染同一细胞时，可发生多种形式的互相作用，包括基因组与重配、互补作用、表型混合和基因整合等。

病毒在体外受到物理、化学因素作用后而失去感染性的过程称为灭活。病毒对理化因素的敏感性的强弱因病毒种类而异。

.....

(张凤民)

细菌与病毒的致病机制

微生物感染是指在一定条件下，微生物侵入宿主体内并与机体相互作用，引起的一系列病理变化的过程。能感染宿主并导致疾病产生的微生物称为病原微生物（pathogenic microorganism）或病原体（pathogen），不造成宿主感染的为非病原微生物（nonpathogenic microorganism）。病原微生物（包括致病的细菌、真菌及病毒等）在宿主体内与宿主防御机制相互作用并引起一定的病理过程称为感染（infection）。引起感染的微生物可来自宿主体外，也可来自宿主体内。前者称外源性感染（exogenous infection），后者称内源性感染（endogenous infection）。病原体从一个宿主到另一个宿主体内并引起感染的过程称为传染。病原微生物能通过一定的方式、不同途径传染，引起宿主不同程度的病理过程。不同的病原微生物感染的宿主种类不同。

感染是病原微生物同宿主相互作用的一种生命现象，是其同宿主免疫防御机制相互斗争的生命过程。感染和抗感染免疫是同时发生的，感染的发生、发展与结局可以有多种表现，这主要取决于宿主的免疫防御能力和病原微生物的致病性，同时与环境等因素也有关系。对病原微生物感染与致病机制的认识和研究，有助于有效地控制其感染和防治人类感染性疾病。

第一节 细菌的感染与致病机制

细菌在自然界分布十分广泛，在人类的体表及与外界相通的腔道表面存在着大量细菌及其他微生物，这些微生物在长期进化过程中与机体形成共生关系。在一定条件下细菌侵入机体生长繁殖并与机体相互作用，引起一系列病理变化的过程称为细菌感染。能感染宿主并引起疾病的细菌称为致病菌（pathogenic bacterium）或病原菌（pathogen）；不能感染宿主也不引起疾病的细菌称为非致病菌（nonpathogenic bacterium）或非病原菌（non-pathogen）。致病菌的致病性与其毒力、侵入机体的途径及入侵病原菌数量等因素有密切关系。不同病原菌可通过各种途径感染机体，并与机体的抗感染免疫相互作用、相互斗争而导致不同类型感染的发生、发展与结局。

一、正常菌群与机会致病菌

（一）正常菌群

胎儿是无菌的，出生 1 ~ 2 小时后因与环境接触，微生物快速移居于体内。绝大多数定植于人体的微生物属正常微生物群（normal microbiota），其中以细菌数量最多。这些细菌有的在体内短暂停留，有的则终生存在。在长期进化过程中，一些细菌与人形成共生关系。在人体免疫功能正常时，这些细菌对人不仅无害，而且有益。通常把这些在人体各部位正常寄居而对人无害或有利的细菌称为正常菌群（normal flora）。人体正常菌群主要分布于体表和与外界相通的腔道中，人体各部位常见的正常菌群（表 5-1），偶有少量侵入血液、组织和器官，机体的天然防御作用能迅速消灭这些细菌，故机体多数组织器官在正常情况下是无菌的。人体各部分

存在的正常菌群各有特点，以肠道内生长最多，统称为肠道菌群（intestinal flora），其中细菌种类多达千种，厌氧菌为主要优势菌，生物量高达 10^{14} 个，是人体总细胞数的 10 倍以上，基因数量约 300 万个，是人类自身基因的 100 多倍。近年来肠道菌群与人类健康的关系备受关注。

表5-1 人体各部位常见的正常菌群

部位	主要细菌种类
皮肤	葡萄球菌、链球菌、类白喉棒状杆菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、丙酸杆菌、非致病性分枝杆菌等
口腔	链球菌、非致病性奈瑟菌、放线菌、葡萄球菌、乳杆菌、梭菌、肺炎链球菌等
鼻咽腔	葡萄球菌、甲型链球菌、肺炎链球菌、奈瑟菌、拟杆菌等
外耳道	葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、铜绿假单胞菌、非致病性分枝杆菌等
眼结膜	葡萄球菌、结膜干燥杆菌等
肠道	大肠埃希菌、产气肠杆菌、变形杆菌、铜绿假单胞菌、肠球菌、双歧杆菌、乳杆菌、类杆菌、破伤风梭菌、产气荚膜梭菌等
尿道	葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、非致病性分枝杆菌等
阴道	乳杆菌、大肠埃希菌、类白喉棒状杆菌、白假丝酵母菌等

- 正常菌群与宿主间存在着相互依存的关系。目前已知正常菌群对宿主有以下生理作用：
- 1. 生物拮抗作用** 正常菌群与黏膜上皮细胞紧密结合，在定植处形成一层膜菌群（membrane flora），对机体起占位性生物屏障作用。其机制是寄居的正常菌群通过占位空间竞争、环境中营养物质竞争及产生有害代谢产物抵制病原菌定植或将其杀死。抗生素使用不当将会破坏这一保护作用，引起病原菌的侵入。实验发现，口服链霉素破坏小鼠肠道正常菌群后，以鼠伤寒沙门菌感染小鼠，10 个细菌就可引起小鼠死亡，而对于正常小鼠需 10^5 个细菌才可致小鼠死亡。
 - 2. 营养作用** 正常菌群在宿主体内，能影响和参与宿主营养代谢、物质转化与合成，生成一些有利于宿主吸收、利用的物质，甚至合成一些宿主自身不能合成的物质供宿主使用。如肠道正常菌群能促进营养物质吸收，能合成 B 族维生素和维生素 K 被宿主吸收。所以长期使用抗生素可抑制某些肠道菌生长，导致维生素缺乏，应予补充。此外，正常菌群还参与人体的胆汁代谢、胆固醇代谢及激素转化等过程。
 - 3. 免疫作用** 正常菌群的免疫作用表现在两个方面：①作为与宿主终生相伴的抗原库，刺激宿主产生免疫应答，产生的免疫物质对具有交叉抗原组分的致病菌有一定程度的抑制和杀灭作用。②促进宿主免疫器官发育，刺激免疫系统成熟。研究发现无菌动物免疫器官发育不良，使之建立正常菌群 2 周后，免疫系统发育与普通动物一样。机体抗感染免疫力与其受内环境定居细菌抗原的刺激有密切关系，特别是肠道中乳杆菌和双歧杆菌能诱导分泌型 IgA（sIgA）的产生，sIgA 能与具有相应抗原的致病菌发生免疫反应，激活免疫细胞产生细胞因子，在胃肠道抗感染免疫中发挥重要作用。
 - 4. 抑癌作用** 动物实验发现，在致癌剂作用下，无菌大鼠的癌症诱发率比正常大鼠高 2 倍。正常菌群的抑癌作用，一方面可能是其能将致癌物质转化为非致癌物质，另一方面与其激活巨噬细胞活性及提高免疫功能有关。
 - 5. 抗衰老作用** 研究表明，在人一生的不同阶段，肠道正常菌群的构成与数量是不同的，它们与人体的发育、成熟和衰老有着一定关联。例如，肠道双歧杆菌有抗衰老作用，健康乳儿肠道中的细菌约 80% 是双歧杆菌，成年后这类细菌逐渐减少，老年后产生有害物质的芽胞

杆菌类增多。机体吸收有害物质后,加速机体衰老。另外,正常菌群可产生超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD), SOD能保护细胞免受活性氧的损伤,有抗衰老作用。

医学微生态学(medical microecology)是研究微生物与微生物、微生物与人体以及微生物和人体与外界环境相互依存和相互制约关系的学科。正常菌群寄居在人体体表和与外界相通的腔道黏膜表面,这些细菌之间、细菌与人体间及与环境之间形成了一种生态关系,这种微生态环境处于一个平衡状态,即微生态平衡(microeubiosis)。当宿主(免疫、营养及代谢等)、正常微生物群(种类、数量、位置等)或外界环境(理化和生物)等因素变化打破了微生态平衡,就会导致微生态失调(microdysbiosis),最常见的是菌群失调(dysbacteriosis)。例如,肠道菌群种类、数量的改变,以及肠道菌群移位,均可导致肠道菌群失调。大量研究表明,肠道菌群失调很可能是导致肥胖、高血压、糖尿病等代谢性疾病以及抑郁、焦虑、认知功能下降等精神心理疾病的重要原因。在临床治疗工作中,诱发微生态失调的因素多见于不规范使用抗生素、应用免疫抑制剂、肿瘤化疗药物以及部分外科手术和插管等侵入性诊疗操作。

(二) 机会致病菌

当正常菌群与宿主间的生态平衡失调时,原来不致病的正常菌群中的细菌可成为致病菌,称这类细菌为机会性致病菌(opportunistic bacterium),也称条件致病菌(conditional bacterium)。由机会性致病菌引起的感染称为机会性感染(opportunistic infection),机会性致病菌产生的主要条件有:

1. **定居部位改变** 某些细菌离开正常寄居部位,进入其他部位,脱离原来的制约因素而生长繁殖,进而感染致病。如大肠埃希菌从寄居的肠道进入泌尿道引起尿道炎、膀胱炎,或通过手术进入腹腔引起腹膜炎等。

2. **机体免疫功能低下** 临床应用大剂量皮质激素和抗肿瘤药物、实行放射治疗或发生某些感染等,可导致机体免疫功能低下,使正常菌群在寄居部位引起感染灶,进而穿透黏膜屏障进入组织或血液扩散。

3. **菌群失调** 机体某部位正常菌群中,种群发生改变或各种群间的比例发生较大幅度变化超出正常范围,由此产生的病症,称为菌群失调症或菌群交替症(microbial selection and substitution)。菌群失调时,多引起二重感染或重叠感染(superinfection),即在原发感染的治疗中,又发生了另一种或多种新致病菌的感染。菌群失调多见于不规范使用抗生素和慢性消耗性疾病等。长期大量应用广谱抗生素后,大多数敏感菌和正常菌群被抑制或杀灭,耐药菌却获得生存优势而大量繁殖致病,如耐药金黄色葡萄球菌引起腹泻、败血症,对抗生素不敏感的白假丝酵母菌引起鹅口疮、阴道炎、肠道和肛门感染。某些革兰氏阴性杆菌引起肺炎、泌尿系统感染和败血症。

二、细菌的致病机制

致病性(pathogenicity)指病原菌能感染或引起宿主疾病的能力。病原菌的致病性是相对宿主而言,不同病原菌对不同宿主的致病能力有差异,不同病原菌对同一宿主可引起不同的感染类型和不同的病理过程,且同种不同型或不同株病原菌的致病性也有差异。毒力(virulence)指病原菌致病性的强弱程度,是致病性量的概念。病原菌的致病性与其毒力强弱,侵入机体细菌数量的多少,入侵部位是否合适,以及机体的免疫力有着密切关系。细菌的毒力指标常用半数致死量或半数感染量表示。半数致死量(median lethal dose, LD_{50})的含义是在单位时间内,通过一定途径,使一定体重的某种实验动物 50% 死亡所需最少量的细菌数或细菌毒素量。半数感染量(median infective dose, ID_{50})指单位时间内,通过一定途径,使一定体重的某种实验动物 50% 感染所需最少量的细菌数或细菌毒素量。微生物毒力越强, LD_{50} 或 ID_{50} 数值越小。此外,环境等因素也对病原菌的致病机制有一定影响。

（一）细菌的毒力物质

细菌的毒力建立在一定的物质基础上，主要包括侵袭力、细菌毒素、超抗原、体内诱生抗原和基因组水平上与毒力相关的簇集 DNA 序列（毒力岛）等。一般细菌的毒力主要体现在两方面：一是病原菌有突破宿主皮肤、黏膜等生理屏障，进入机体定植和繁殖扩散的能力，称为侵袭力（invasiveness）；二是毒素，即病原菌含有损害宿主组织、器官并引起生理功能紊乱的大分子成分。病原菌毒力的物质基础是侵袭力和毒素，统称为毒力因子（toxic factor）。

1. 侵袭力 侵袭力的物质基础是与致病菌黏附、定植、扩散和产生侵袭作用有关的一些物质，主要涉及菌体的表面结构和释放的胞外蛋白和酶类，包括荚膜、黏附素、侵袭素、侵袭性酶类和细菌生物被膜等物质。

（1）黏附素（adhesin）：细菌必须黏附于宿主的皮肤和腔道等处的上皮细胞后，在局部定居繁殖、聚集毒力因子才能形成感染。细菌的黏附作用是引起感染的首要条件，是其感染细胞的第一步，与致病性密切相关。细菌表面存在的一些特殊结构和蛋白质，具有使细菌黏附到宿主靶细胞的作用，称为黏附素。黏附素有两类：菌毛黏附素和非菌毛黏附素（afimbrial adhesin）。①菌毛黏附素：主要存在于革兰氏阴性菌的菌毛上，细菌菌毛通过与宿主表面相应受体相互作用使细菌吸附于细胞表面而定植，又称定植因子（colonization factor）。菌毛黏附素的作用具有选择性，这与宿主细胞表面的黏附素受体有关。②非菌毛黏附素：指存在于菌毛之外且与黏附有关的分子，如某些革兰氏阴性菌的外膜蛋白和革兰氏阳性菌表面的某些分子。鼠疫耶尔森菌的外膜蛋白、A 群链球菌的 M 蛋白上面覆盖着膜磷壁酸及其 F 蛋白、肺炎支原体的 P1 蛋白等均为非菌毛黏附素。

病原菌通过黏附素与宿主细胞表面黏附素受体特异性结合，介导其进入宿主组织细胞生长繁殖，形成细菌群体，称为定植（colonization）。黏附作用具有抵抗黏液冲刷、细胞纤毛运动和肠蠕动等清除作用，有利于病原菌定植。抗特异性菌毛抗体对病原菌感染有预防作用，如肠产毒型大肠埃希菌的菌毛疫苗已用于预防动物腹泻。黏附素的致病机制有：①激活被黏附细胞的信号传导系统，使其不同程度释放不同种类的细胞因子，导致炎性反应性损伤。②某些黏附因子与受体作用，激活细胞凋亡控制系统，引起细胞凋亡（apoptosis）。炎症损伤和细胞凋亡有利于细菌生长、繁殖和扩散。

（2）荚膜和微荚膜：荚膜具有抗吞噬和阻挠杀菌物质的作用，使病原菌得以在宿主体内存在、繁殖和扩散。例如有荚膜的肺炎链球菌、炭疽杆菌不易被吞噬细胞吞噬杀灭。有些细菌表面有类似荚膜的物质，如 A 群链球菌的 M 蛋白、伤寒杆菌的 Vi 抗原及大肠埃希菌的 K 抗原等，这些物质位于细胞壁外层，称为微荚膜。微荚膜除具有抗吞噬作用外，还有抵抗抗菌抗体和补体的作用。这类细菌表面结构的主要功能是抵抗和突破宿主防御功能，使细菌迅速繁殖。

（3）侵袭性酶类：有些病原菌能释放侵袭性胞外酶类，这些酶一般不具有毒性，但可协助病原菌抗吞噬和向周围组织进而向全身扩散。如致病性葡萄球菌产生的血浆凝固酶的抗吞噬作用，A 群链球菌的透明质酸酶、链激酶利于细菌在组织中扩散。有些细菌被吞噬细胞摄入后，还能产生一些酶类物质抵抗杀灭作用，如葡萄球菌产生的过氧化氢酶能抵抗中性粒细胞的杀菌作用，利于细菌扩散。

（4）侵袭素（invasin）：某些细菌的侵袭基因（invasive gene）能编码一些具有侵袭功能的蛋白多肽，促使细菌向邻近组织扩散甚至介导细菌进入邻近黏膜上皮细胞内。常见具有侵袭能力的病原菌有肠侵袭型大肠埃希菌、福氏志贺菌、鼠伤寒沙门菌、空肠弯曲菌、淋病奈瑟菌和假结核耶尔森菌等。肠侵袭型大肠埃希菌通过质粒侵袭基因编码的侵袭素，入侵肠黏膜上皮细胞。福氏志贺菌通过一些侵袭基因编码不同的侵袭蛋白，向邻近组织细胞扩散。

（5）细菌生物被膜（bacterial biofilm）：当细菌菌群附着在黏膜上皮细胞或无生命材料表面并与之紧密结合，在定植处形成一层膜状结构。把这种由细菌及其分泌的菌体外多

聚物 (extracellular polymeric substance, EPS) 组成的细菌膜状群体结构称为细菌生物被膜或膜菌群 (membrane flora)。其形成过程是细菌首先在体内表面定植、繁殖并形成微菌落 (microcolony)，再以一种或多种细菌的微菌落为基础，通过菌体外多聚物使微菌落和生物被膜彼此黏附，细菌的其他黏附素也参与作用 (图 5-1)。

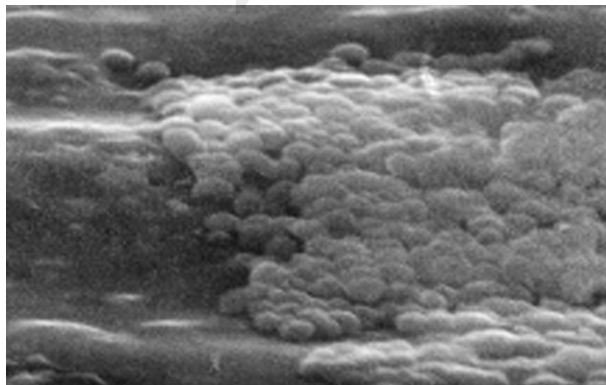


图 5-1 生物被膜 (定植于静脉导管表面的表皮葡萄球菌) 扫描电镜照片 ($\times 6\,000$)

(From Lansing M. Prescott *et al.* Microbiology, 5th edition, McGraw-Hill companies; 2002: p920)

生物被膜是细菌在生长过程中为了适应生存环境而形成的一种群体黏附定植方式，是一种与游离、悬浮细菌相对应的存在方式。细菌生物被膜的作用：①有利于细菌的黏附和附着；②阻挡抗生素等杀菌药物和免疫物质的作用；③利于细菌之间的信息传递和致病基因的转移；④与细菌耐药性的产生有关；⑤与医院感染有关。以上细菌生物被膜的作用与细菌的致病性密切相关。

2. 细菌毒素 (bacteria toxin) 毒素是细菌在黏附、定居及生长繁殖过程中合成并释放的多种对宿主细胞结构和功能有损害作用的毒性物质。依据毒素产生的来源、性质和作用的不同，可分为外毒素 (exotoxin) 和内毒素 (endotoxin) 两类。

(1) 外毒素：主要由革兰氏阳性菌和部分革兰氏阴性菌产生并释放到菌体外的毒性蛋白质。革兰氏阳性菌中的破伤风梭菌、肉毒梭菌、白喉棒状杆菌，产气荚膜梭菌、金黄色葡萄球菌等，以及革兰氏阴性菌中的痢疾志贺菌、耶尔森菌、霍乱弧菌、肠产毒型大肠埃希菌、铜绿假单胞菌等均能产生外毒素。外毒素也可存在菌体内，待菌溶解后释放出来，如痢疾志贺菌和肠产毒型大肠埃希菌。

外毒素共同特性：①化学本质是蛋白质：其分子结构多由 A 和 B 两个亚单位组成，A 亚单位是外毒素活性部分，决定其毒性效应。B 亚单位是结合亚单位，无毒性但免疫原性强，与宿主靶细胞表面特殊受体结合，介导 A 亚单位进入细胞 (图 5-2)。外毒素的致病作用依赖于毒素分子结构的完整，各亚单位单独对宿主无致病作用。提纯的结合亚单位可作为疫苗，预防外毒素所致疾病。②毒性作用强：1mg 肉毒毒素纯品能杀死 2 亿只小鼠，毒性比氰化钾强 1 万倍。③高度选择性：外毒素因对靶细胞特定受体有亲和作用，因此仅对特定组织、器官造成损害，引起特殊病症。如肉毒毒素可阻断胆碱能神经末梢释放乙酰胆碱，使眼和咽肌麻痹，引起眼睑下垂、复视、吞咽困难等。④理化稳定性差：多不耐热，60 ~ 80℃，30 分钟可被破坏，对化学因素不稳定。但葡萄球菌肠毒素是例外，能耐受 100℃ 30 分钟。⑤抗原性强：外毒素在 0.3% ~ 0.4% 甲醛作用下，经一定时间改变 A 亚单位活性后使之脱去毒性，但保留了具有保护性抗原的 B 亚单位，制成无毒的外毒素生物制品，用于人工主动免疫预防相关疾病。这种用人工方法脱去外毒素毒性而保留其免疫原性的生物制品称类毒素 (toxoid)。类毒素注

入机体可刺激其产生具有中和外毒素作用的抗外毒素抗体（简称抗毒素）。类毒素主要用于人工主动免疫，抗毒素用于治疗 and 紧急预防，两者均可用于防治一些传染病。⑥外毒素种类多，按外毒素对宿主细胞的亲和性及作用方式可分成三大类（表 5-2）：神经毒素（neurotoxin），主要作用于神经组织引起神经传导功能紊乱，如破伤风痉挛毒素和肉毒毒素。细胞毒素（cytotoxin），直接抑制细胞蛋白质的合成（如白喉毒素）及破坏宿主细胞膜。破坏宿主细胞膜毒素较多，如一些细菌的溶血素破坏红细胞和产气荚膜梭菌的 α 毒素溶解组织细胞。细胞毒素可通过成孔毒素样作用或类磷脂酶作用破坏细胞膜。肠毒素（enterotoxin），能作用于肠上皮细胞引起肠功能紊乱，如产毒型大肠埃希菌肠毒素、艰难梭菌毒素及霍乱肠毒素等。

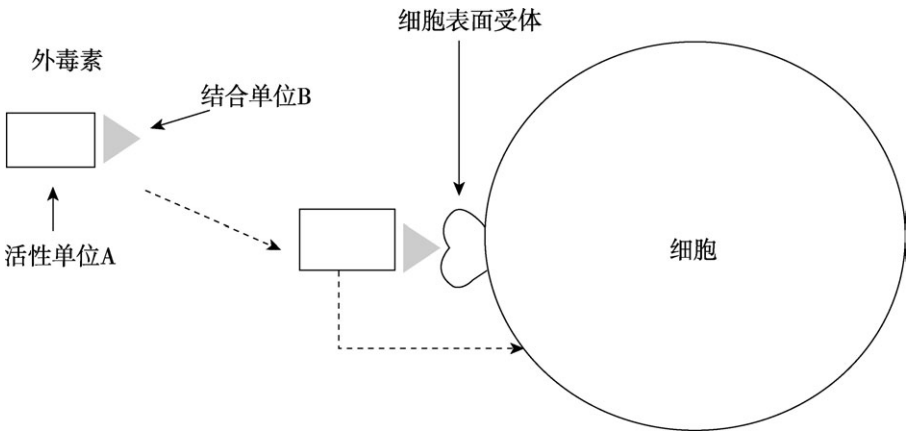


图 5-2 细菌外毒素的组成与作用

表5-2 外毒素的种类、作用机制和所致疾病

类型	产生细菌	外毒素	作用机制	所致疾病	症状与体征
神经毒素	破伤风梭菌	痉挛毒素	阻断正常抑制性神经冲动传递	破伤风	骨骼肌强直性痉挛
	肉毒梭菌	肉毒毒素	抑制胆碱能神经释放乙酰胆碱	肉毒中毒	肌肉松弛性麻痹
细胞毒素	白喉棒状杆菌	白喉毒素	抑制细胞蛋白质合成	白喉	肾上腺出血、心肌损伤、外周神经麻痹
	金黄色葡萄球菌	毒性休克综合征毒素 1	增强对内毒素作用的敏感性	毒性休克综合征	发热、皮疹、休克
		表皮剥脱毒素	表皮与真皮脱离	烫伤样皮肤综合征	表皮剥脱性病变
	A 群链球菌	致热外毒素	破坏毛细血管内皮细胞	猩红热	猩红热皮疹
肠毒素	霍乱弧菌	肠毒素	激活肠黏膜腺苷环化酶，增高细胞内 cAMP 水平	霍乱	小肠上皮细胞内水分和钠离子大量丢失、腹泻、呕吐
	产毒型大肠埃希菌	肠毒素	不耐热肠毒素作用同霍乱肠毒素；耐热肠毒素使细胞内 cGMP 增高	腹泻	呕吐、腹泻
	产气荚膜梭菌	肠毒素	同霍乱肠毒素	食物中毒	呕吐为主、腹泻
	金黄色葡萄球菌	肠毒素	作用于呕吐中枢	食物中毒	呕吐、腹泻

外毒素的致病机制及方式有两类，一类是外毒素与特异性受体结合后的作用机制与方式：①通过信号传导系统，改变细胞内离子平衡，如耶尔森菌外毒素可使细胞内钠离子和水分大量丢失。②进入细胞质，抑制宿主细胞蛋白质合成导致细胞死亡，如白喉毒素、炭疽毒素等。③直接改变细胞膜结构，形成通道，导致细胞裂解，如金黄色葡萄球菌 α 溶血素。④直接由细菌的毒素破坏细胞，如链球菌溶血素、蜡样芽胞杆菌溶细胞素等。另一类是外毒素本身的固有性质的作用：①外毒素具有酶活性，如葡萄球菌 β 溶血素为磷脂酶C，可分解胞膜上磷脂使细胞膜结构损害。②超抗原作用，一些外毒素分子属超抗原，金黄色葡萄球菌和链球菌的超抗原毒素就与一些原发性皮肤病和自身免疫性疾病密切相关（详见本节细菌超抗原内容），如葡萄球菌毒性休克综合征、链球菌所致风湿热、风湿性和类风湿性关节炎、肾小球肾炎、多发性硬化症及牛皮癣等。

(2) 内毒素：内毒素是革兰氏阴性细菌细胞壁中的脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）组分，只有当菌体裂解（细菌死亡或人工破坏）后才释放出来。螺旋体、衣原体、支原体、立克次体亦有类似的LPS，具有内毒素活性。内毒素是革兰氏阴性病原菌的主要毒力物质，其分子量大于10万，分子结构由O特异性多糖、非特异核心多糖和脂质A三部分组成（图5-3），脂质A是内毒素的主要毒性成分。不同革兰氏阴性菌脂质A结构虽有差异，但基本相似，所以引起的毒性作用大致相同。

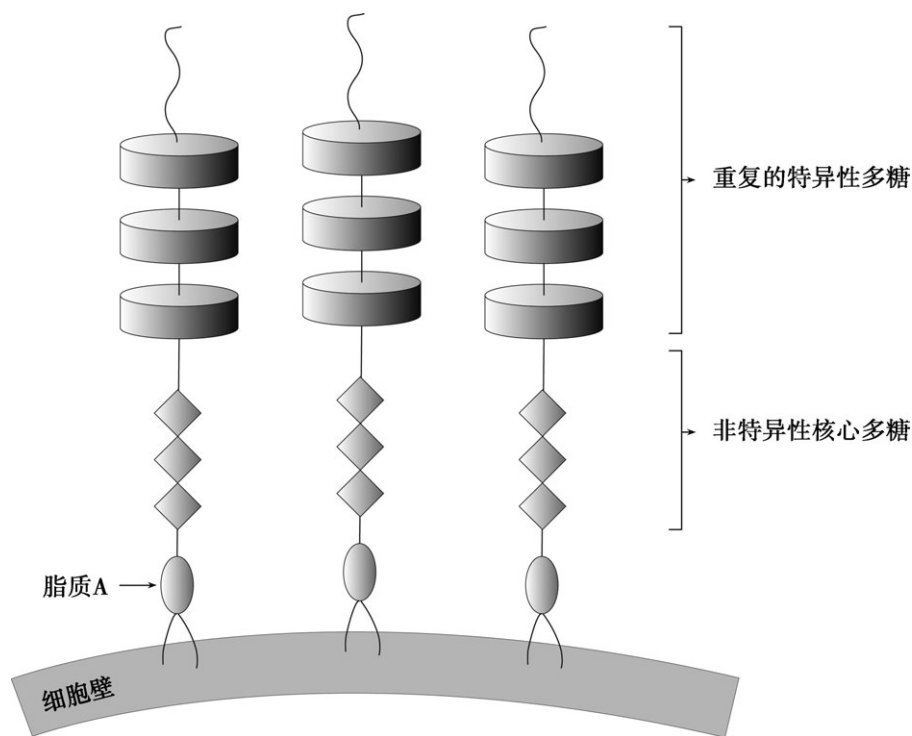


图 5-3 革兰氏阴性菌细胞壁内毒素结构

内毒素的特点：①革兰氏阴性细菌产生；②化学本质是LPS；③对理化因素稳定， 160°C 2~4小时才被破坏，或用强酸、强碱、强氧化剂处理30分钟才能灭活；④不能用甲醛液脱毒成为类毒素；⑤免疫原性较弱，注射机体可产生相应抗体，但中和作用较差；⑥毒性作用相对较弱且对组织无选择性。

内毒素的生物学作用：①发热反应：微量（1~5 ng/kg）内毒素就能引起健康人体温上升。其致热反应（pyrogenicity）机制是LPS激活巨噬细胞、血管内皮细胞等，使之产生IL-1、

TNF- α 及 IL-6 等细胞因子。这些细胞因子是内源性致热原 (endogenous pyrogen)，它们能作用于宿主下丘脑体温调节中枢，促使体温升高。②白细胞数量变化：当 LPS 进入血液循环后，血液白细胞数骤减。1 ~ 2 小时后，LPS 诱生的中性粒细胞释放因子刺激骨髓释放中性粒细胞进入血液，使其数量显著增加，并有核左移现象。只有伤寒沙门菌内毒素例外，血液中白细胞总数始终减少，机制不明。③内毒素血症与内毒素性休克：在病灶内或血液中病原菌释放大量的内毒素入血，或者输入大量内毒素污染液体时，机体出现内毒素血症，严重时可引起内毒素性休克。主要是 LPS 诱生大量 TNF- α 、IL-1 和组胺、前列腺素及激肽等血管活性介质，使全身小血管舒缩功能紊乱，出现血液循环障碍，表现为血压降低，有效循环量减少，组织器官毛细血管灌注不足，缺氧、酸中毒等，严重者可出现以微循环衰竭和低血压为特征的内毒素性休克。④ Shwartzman 现象与弥散性血管内凝血 (disseminated intravascular coagulation, DIC)：Shwartzman 现象是观察内毒素致病作用时动物出现的反应。在家兔皮内注射革兰氏阴性菌培养滤液 (含 LPS)，8 ~ 24 小时后静脉再注射同一种或另一种革兰氏阴性菌的培养滤液，10 小时后发现在第一次注射的局部皮肤呈现出血和坏死的局部反应，是局部 Shwartzman 现象。若两次均静脉注射休克剂量滤液，则动物两侧肾上腺皮质坏死，全身广泛出血，最终死亡，此为全身性 Shwartzman 现象。小量 LPS 可对宿主产生有益的炎性反应，但大量释放的内毒素刺激免疫细胞产生过量细胞因子，能活化凝血系统，诱发 DIC，导致内毒素性休克甚至死亡。在人类严重革兰氏阴性菌感染中常出现 DIC，其病理变化与动物全身性 Shwartzman 现象相同。

内毒素的致病机制复杂，主要与细胞因子及补体的协同作用密切相关。LPS 并不直接损伤组织细胞，而是通过激活体内免疫细胞、内皮细胞和黏膜细胞的某些特定功能，诱导产生细胞因子、炎症因子和生物活性因子，引起局部及全身性病理生理反应。LPS 可与机体内的靶细胞结合，结合方式有两种：①与脂质 A 受体特异性结合，LPS 有多种膜受体，如 CD14 分子，LPS 与其结合进而激活免疫细胞、上皮及内皮细胞膜上的 Toll 样受体 (toll-like receptor, TLR)，开启跨膜信号传导，激活核转录因子 NF- κ B，启动下游免疫、炎症、凋亡等相关的基因转录，表达 IL-1、IL-6、TNF- α 及趋化因子等，产生一系列生物学效应。②非特异性结合细胞膜磷脂，脂质 A 通过亲脂性疏水作用与之结合，通过改变细胞膜的完整性、流动性、通透性、传导性及膜电位等，使细胞膜形态、结构及功能发生改变，进而产生病理性变化 (图 5-4)。

细菌毒素对机体并非只有致病作用，在一定条件下也有积极作用。业已证实，应用低剂量 LPS 可提高机体非特异性抵抗力，有增强抗感染免疫、抗肿瘤免疫、网状内皮系统功能和增加佐剂活性的作用，其作用机制可能与激活一系列免疫细胞及体液免疫系统有关。细菌外毒素在

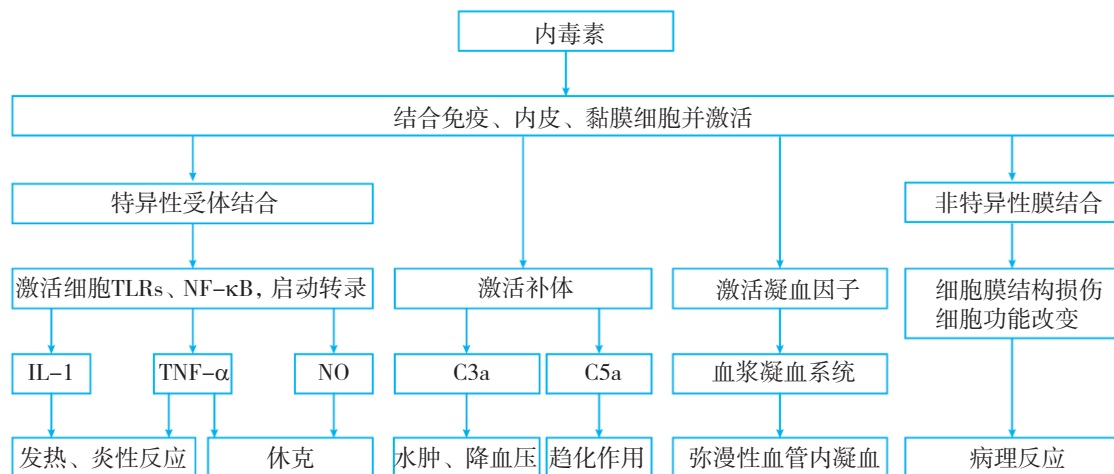


图 5-4 细菌内毒素的生物学作用

医药上的应用更受重视：①把外毒素与单克隆抗体连接，制备免疫毒素和重组毒素作为导向药物治疗肿瘤。②外毒素是强力丝裂原，有刺激多种细胞因子产生的作用。利用外毒素这一特性，可作为免疫调节剂用于增强宿主抵抗力。③有些外毒素如肉毒毒素可作为药物应用，肉毒毒素可直接治疗功能性失明的眼肌痉挛及内斜视，临床治疗效果较为理想。

细菌外毒素与内毒素的主要区别见表 5-3。

表5-3 外毒素与内毒素的主要区别

区别要点	外毒素	内毒素
来源	革兰氏阳性菌与部分革兰氏阴性菌	革兰氏阴性菌
存在部位	由活菌分泌到菌体外，少数是细菌崩解后释出	细胞壁组分，细菌裂解后释出
化学成分	蛋白质	脂多糖
编码基因	染色体基因、质粒或前噬菌体基因	染色体基因
稳定性	60 ~ 80℃，30 分钟被破坏	160℃，2 ~ 4 小时才被破坏
作用方式	与细胞的特异受体结合	刺激宿主细胞分泌细胞因子、血管活性物质
毒性作用	强，对组织器官有选择性毒害效应，引起特殊临床表现	较弱，各菌的毒性效应大致相同，引起发热、白细胞增多、微循环障碍、休克、DIC 等
抗原性	强，刺激机体产生抗毒素；甲醛液处理脱毒形成类毒素	弱，刺激机体产生的中和抗体作用弱；甲醛液处理不形成类毒素

(二) 细菌侵入的数量

病原菌除了必须有一定毒力物质外，还需有足够数量，才能导致感染的发生。侵入宿主菌量的多少，取决于致病菌毒力强弱和宿主免疫力的高低。细菌毒力越强，引起感染所需菌量越小；反之则需菌量越大。例如毒力强的鼠疫耶尔森菌，在无特异性免疫力的机体中，有数个细菌侵入即可发生感染；而毒力弱的某些沙门菌，多需摄入数亿个细菌才能引起急性胃肠炎。

(三) 细菌侵入的部位

具有一定毒力物质和足够数量的致病菌，必须侵入易感机体的适宜部位才能引起感染。如破伤风梭菌的芽胞进入深部创伤，在厌氧环境下才能出芽；脑膜炎奈瑟菌经呼吸道吸入；伤寒沙门菌必须经口进入等。也有一些致病菌的适宜入侵部位不止一种，例如结核分枝杆菌对呼吸道、消化道、皮肤创伤等部位均可造成感染。不同致病菌的特定侵入部位不同，这与其所需的特定生长繁殖微环境有关。

(四) 其他影响因素

病原菌致病机制除与毒力强弱、侵入机体细菌量和入侵部位是否合适三大因素有关外，细菌毒力的基因调控、免疫病理作用、环境因素、细菌超抗原和体内诱生抗原等因素也能影响其感染致病。

1. 毒力的基因调控 所有细菌的毒力因子（包括侵袭性毒力物质和毒素）均受遗传控制。病原菌的毒力基因可存在于染色体、质粒、转座子或前噬菌体中，亦可在不同株、不同菌种间自行发生转移。病原菌的毒力基因具有特定结构，除结构基因外，还有邻近的调控基因序列，在调控基因及结构基因两端还有重复序列。重复序列不编码蛋白质但具有插入活性。这种决定细菌毒力、可移动的特定 DNA 序列称为致病岛（pathogenicity island），也称毒力岛。致病岛多见于决定侵袭力和外毒素的基因，其能通过某种方式完整地转移到无毒的菌株，使其成为毒力菌株。病原菌也可通过基因突变及基因重排等机制改变毒力物质的组成和抗原性，逃避宿主免疫，增强自身毒力。

2. 细菌的免疫病理作用 细菌产生的没有直接毒性的抗原物质, 可通过诱导机体的免疫应答, 发生超敏反应引起组织细胞的免疫病理损伤, 最终导致疾病。如 A 群乙型溶血性链球菌在感染的同时或感染康复后诱发Ⅲ型超敏反应, 免疫复合物沉积在血管基底膜, 损伤宿主正常组织器官的结构和生理功能, 可引起急性风湿热、急性肾小球肾炎和风湿性心脏病。结核分枝杆菌引起的结核病理改变, 也与Ⅳ型超敏反应密切相关。细菌的免疫病理作用的产生与宿主和病原菌的相互作用有关, 宿主的遗传因素和免疫状态起着重要作用。

3. 环境因素 病原菌的感染和致病机制除涉及宿主和病原菌两个方面外, 环境因素也对感染有一定影响作用。自然因素包括气候、季节、温度和地理条件等可影响感染的发生和发展。如自然疫源性传染病和人兽共患传染病的发生和流行, 就充分说明环境因素的重要性。环境因素还包括社会因素, 如战争、灾荒、生活水平和生活条件等, 在感染和疾病的流行中也起着很大作用。

4. 细菌超抗原 (superantigen) 超抗原是某些细菌产生的一类高活性蛋白质分子, 与普通抗原不同, 具有超强能力刺激淋巴细胞增殖和刺激产生过量 T 细胞及细胞因子, 其特点为: ①抗原在体内可不经抗原递呈细胞处理, 便能以高亲和力与 MHC II 类分子结合; ②不受 MHC 限制; ③一个超抗原分子能以不同部位同时与多个 T 细胞的 TCR 和 APC 的 MHC II 类分子结合, 只需极低浓度超抗原就能够活化大量 T 细胞, 释放大量的 IFN- γ 、IL-2 等细胞因子, 激起机体免疫应答。超抗原能引起一些急性和慢性疾病, 有的引起自身免疫性疾病 (如类风湿关节炎, 多发性硬化症)。金黄色葡萄球菌毒性休克综合征毒素 1、链球菌的 M 蛋白都是超抗原毒素, 它们与一些原发性皮肤病和自身免疫性疾病密切相关。

5. 细菌的体内诱生抗原 (*in vivo* induced antigen) 一些细菌基因组中存在体外培养不表达、只在感染宿主后受到诱导才表达的基因, 称为体内诱导基因 (*in vivo* induced gene, IVIG), 其表达的抗原称为体内诱生抗原。研究发现, 一些体内诱生抗原与细菌的致病性相关。

三、细菌的感染源与传播途径

(一) 感染源

引起机体感染的致病菌来源有两大类: 外源性感染 (exogenous infection) 和内源性感染 (endogenous infection)。

1. 外源性感染 病原菌来自宿主机体以外的环境, 传染源主要是: ①患者: 患者感染后从潜伏期一直到病后恢复期这段时间内, 均有可能将致病菌排出污染外环境或通过接触传播给周围正常人。②带菌者 (carrier): 携带有病原菌但由于机体免疫力与病原菌致病性处于平衡状态, 而不表现临床症状的人, 在一定时间内可持续排菌。带菌者不易被发觉, 其危害性高于患者, 是重要的传染源。③患病及带菌动物: 某些细菌可引起人兽共患病, 病畜或野外带菌动物的病原菌可传染给人, 例如炭疽杆菌、布鲁菌和鼠疫耶尔森菌等。对患者, 带菌者和患病动物应早期诊断, 尽早采取治疗、隔离和预防等措施, 这在控制外源性感染, 消灭传染病的流行方面有重要意义。

2. 内源性感染 主要指来自患者自身体内或体表的细菌引起的感染, 又称为自身感染。这类感染的病原菌大多为正常菌群内的细菌, 当某些条件改变时, 一些条件致病菌引起感染并致病。内源性感染也包括原发感染后少数病原菌潜伏下来而后又重新感染的现象, 如结核分枝杆菌。内源性感染具有条件依赖性, 是医院感染的一种常见现象, 已成为临床细菌感染中的常见病、多发病。

3. 医院感染 患者或医务人员在医院环境内发生的感染通称为医院感染 (nosocomial infection)。其感染来源有: ①交叉感染, 由医院内患者或医务人员直接或间接传播引起的感染。②自身感染, 由患者体内细菌引起, 属内源性感染。③环境感染, 在医院环境内, 因吸入

污染的空气、接触到受污染的医院内设施而获得的感染。医院内各种患者聚集，感染机会大，患者抵抗力降低增加了易感性。致病菌可以是通常致病菌，也可是条件致病菌，大多具有耐药性，它们造成的感染流行和二重感染已成为医院感染的重要问题。

(二) 感染途径

病原微生物固有的生物学特性决定了其感染途径和入侵宿主的部位。不同病原菌的生物学特性不同，它们通过不同途径入侵机体，在相对适应的系统和器官寄居、生长、繁殖并引起疾病。一种病原菌可能通过多种途径感染机体，多种病原菌亦可经同一途径侵入机体，但通常每种病原菌都有相对固定的主要感染途径，这与病原菌生物学特性和侵入部位的微环境有关。了解病原菌感染途径，在病原菌鉴别诊断，指导临床用药和进行预防方面有重要意义。

1. 病原菌传播方式 主要包括：①直接方式，如吸入、食入病原菌。②间接方式，通过接触环境污染物或器具。③媒介方式，动物或昆虫叮咬，如鼠疫、斑疹伤寒的病原体。

2. 感染途径 病原菌经不同途径（表 5-4）感染机体后出现两种情况：有的一般只在皮肤、黏膜表面引起感染，不进入组织内部；另有一些则先在局部引起轻微感染，再侵入皮肤、黏膜以及其他组织引起感染。任何皮肤、黏膜的创伤和破损，均可使病原菌通过人体皮肤、黏膜这一天然屏障，侵入机体在局部生长繁殖并致病，也可经体液扩散到机体其他部位引起感染。

表5-4 病原菌感染途径

途径	方式	疾病举例
呼吸道感染	气溶胶，飞沫方式吸入	肺结核、白喉、百日咳等
消化道感染	粪 - 口方式，食入、喝入	伤寒、痢疾、食物中毒等
泌尿生殖道感染	性接触，血液或黏膜损伤	淋病、梅毒等
创伤性感染	皮肤、黏膜创伤、破损	皮肤化脓感染、破伤风等
经血感染	输血、注射、针刺	细菌败血症
媒介昆虫感染	密切接触、叮咬	鼠疫，沙门菌病
多途径感染	消化道、呼吸道、创伤等	结核及炭疽芽胞杆菌感染疾病

四、感染类型

感染的发生、发展与结局，是病原菌与宿主在一定条件下相互作用的复杂过程。依据病原菌和宿主力量的对比和临床表现，可把感染分为不同类型：不感染、隐性感染（inapparent infection）、潜伏感染（latent infection）、显性感染（apparent infection）和带菌状态（carrie state）五种类型（表 5-5）。

(一) 不感染

当侵入的病原菌数量不足，毒力很弱，入侵部位不适当或宿主具有高度免疫力时，病原菌迅速被机体免疫系统消灭，不发生感染。

(二) 隐性感染

当侵入的病原菌数量不多，毒力较弱，宿主抗感染免疫力较强时，虽发生感染但对机体损害较轻，不出现或出现不明显的临床症状，称为隐性感染或亚临床感染（subclinical infection）。隐性感染后，机体可获得足够特异免疫力，能抵御同种致病菌的再次感染。一般在一次传染病流行中，90% 以上感染人群为隐性感染。结核、白喉、伤寒等常有隐性感染。

(三) 潜伏感染

致病菌与机体相互作用过程中暂时处于平衡状态时，病原菌长期潜伏在病灶内或某些特殊

组织中，一般不出现在血液、分泌物或排泄物中。一旦机体免疫力下降，潜伏的病原菌就大量繁殖而引起疾病，如结核分枝杆菌的潜伏感染。

表5-5 病原菌的感染类型

感染类型	病原菌毒力	宿主抗感染免疫	临床症状
带菌状态	显性感染后病原菌没被全消灭与免疫力短暂平衡		症状轻或不明显
不感染	菌数少，毒力很弱，部位不合适	高强度	无症状
隐性感染	菌数少，毒力弱	强	不出现或很弱
潜伏感染	致病性与抗感染免疫力平衡		长期潜伏灶，症轻
显性感染	数量多，毒力强	弱	有症状，结构功能损害
急性感染			发病急，病程短，数日 - 数月
慢性感染			发病慢，病程长，数年
局部感染	局限在一定部位		疖、痈
全身感染	扩散全身		多种多样，各种毒菌血症

(四) 显性感染

当入侵病原菌数量大、毒力强，而宿主抗感染免疫力较弱时，机体组织细胞受到不同程度损害，生理功能紊乱，出现一系列临床症状和体征，称为显性感染。具有传染性的病原菌引起的显性感染称为传染病 (infectious disease)。由于致病菌的毒力、宿主免疫力的差异以及两者相互作用的复杂关系，显性感染按临床病情和感染部位可分为不同模式。

按病情缓急分为：

- 1. 急性感染 (acute infection) 发病急，病程短，只有数日至数周。病愈后病原菌多从宿主体内消失，如霍乱弧菌、脑膜炎奈瑟菌感染等。
- 2. 慢性感染 (chronic infection) 发病慢，病程长，常持续数月至数年。少数胞内寄生菌如结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌及布鲁菌等，通常引起慢性感染。

临床上按感染发生部位与性质不同又分为：

- 1. 局部感染 (local infection) 入侵的病原菌只局限在宿主一定部位生长繁殖，引起局部病变的感染类型，如化脓性球菌所致的疖、痈等。
- 2. 全身感染 (generalized infection, systemic infection) 感染发生后，病原菌或其毒性代谢产物向全身扩散，引起全身性症状。全身感染在临床上常见下列几种情况：
 - (1) 毒血症 (toxemia)：病原菌侵入宿主体内后只在机体局部生长繁殖，细菌不进入血流，但其产生的外毒素进入血循环，达到易感靶器官，引起组织损害，产生特殊的毒性症状。例如白喉、破伤风等。
 - (2) 菌血症 (bacteremia)：病原菌由局部侵入血流，但未在其中生长繁殖，只是短暂的一过性，经血液循环到达体内适宜部位再繁殖致病。如伤寒早期的菌血症，临床症状轻微。
 - (3) 败血症 (septicemia)：病原菌侵入血流后，在其中大量繁殖并产生毒性产物，引起严重全身中毒症状，例如高热、皮肤和黏膜瘀斑、肝大、脾大等。革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均可引起败血症，如鼠疫耶氏菌、炭疽芽胞杆菌等。
 - (4) 脓毒血症 (pyemia)：化脓性细菌侵入血流后，在其中大量繁殖，通过血流扩散到机体其他组织或器官，产生新的化脓性病灶。如金黄色葡萄球菌的脓毒血症，常导致多发性肝脓肿、皮下脓肿、肺脓肿和肾脓肿。

(5) 内毒素血症 (endotoxemia): 革兰氏阴性菌侵入血流, 并在其中大量繁殖、死亡崩解后释放出大量内毒素, 或由病灶内大量革兰氏阴性细菌死亡, 释放内毒素入血所致。症状因血中内毒素量的不同而异, 轻则只有发热, 重则可有 DIC、休克甚至死亡。例如小儿急性中毒性细菌性痢疾。

上述全身性感染, 除菌血症外临床表现都很严重, 危害性极大。

(五) 带菌状态

机体在显性感染或隐性感染后, 由于病原菌未被消灭而在体内继续存在一定时间, 与机体免疫力处于相对平衡状态, 称为带菌状态, 处于带菌状态的宿主称为带菌者。例如伤寒、白喉等病后常出现带菌状态。带菌者没有临床症状, 但常间歇排出病原菌, 是感染性疾病中重要的传染源。

(王国庆)

第二节 病毒的感染与致病机制

病毒通过不同传播途径侵入人体, 并在人体细胞中增殖的过程称为病毒感染 (viral infection)。病毒感染的实质是病毒与宿主细胞之间、病毒与机体之间相互作用的过程, 病毒感染常因病毒种类、机体状态不同而产生轻重不一的损伤, 病毒感染引起的临床症状即为病毒性疾病 (viral disease)。病毒性疾病与病毒感染是两个相关但又不同的概念。病毒性疾病是病毒感染的结果。

病毒感染的结果取决于病毒、机体及其他影响两者相互作用的因素。病毒因素包括病毒的种类与毒力、数量、感染途径等。机体则与遗传背景、个体健康状况、年龄、免疫状态及生长发育情况等因素相关。因此, 不同个体感染同种病毒, 其结果各异, 甚至同一个个体在不同时间感染同种病毒, 也会出现不同的结局。病毒引起人体感染和疾病的能力称为病毒的致病作用, 病毒的致病作用则表现为细胞和宿主两个水平。

一、病毒的传播途径

1. 侵入方式 病毒侵入机体的方式和途径决定感染的发生和发展, 机体与外界相通的皮肤、口腔、鼻腔及泌尿生殖道等都是病毒入侵机体的门户。一般情况下, 病毒主要通过破损的皮肤和黏膜 (眼、呼吸道、消化道或泌尿生殖道) 传播。在特定条件下, 病毒可直接进入血循环感染机体, 如输血、注射、器官移植、昆虫叮咬、动物咬伤等。人类病毒的感染途径及方式见表 5-6。

表5-6 人类病毒的感染途径

感染途径	传播方式与媒介	病毒种类
呼吸道	空气、飞沫、痰、唾液	流感病毒、副黏病毒、鼻病毒、腺病毒、水痘一带状疱疹病毒等
消化道	污染的水或食物	脊髓灰质炎病毒和柯萨奇病毒等肠道病毒; 轮状病毒、甲型肝炎病毒、戊型肝炎病毒等
眼及泌尿生殖道	直接或间接接触、游泳池、性交、毛巾等	人类免疫缺陷病毒、单纯疱疹病毒、乳头瘤病毒、巨细胞病毒、腺病毒 8 型等

续表

感染途径	传播方式与媒介	病毒种类
破损皮肤	吸血昆虫叮咬、狂犬、鼠类	乙型脑炎病毒、出血热病毒、狂犬病病毒
血液	输血、注射、外伤、器官移植	人类免疫缺陷病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、巨细胞病毒等
胎盘、产道	宫内、分娩产道、哺乳	风疹病毒、人类免疫缺陷病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、巨细胞病毒等

2. 传播途径 流行病学上将病毒在人群中的传播方式分为水平传播和垂直传播两类。水平传播（horizontal transmission）指病毒在人群中不同个体之间的传播（也包括由媒介、动物参与的传播），即人-人之间的传播和动物-人之间的传播，大多数病毒都是这种传播方式。主要通过呼吸道、消化道、皮肤黏膜或血液等途径进入人体，产生水平感染（horizontal infection）。水平传播的病毒感染率高，可迅速繁殖和在体内播散。垂直传播（vertical transmission）指存在母体的病毒经胎盘或产道由亲代传播给子代的方式，主要是孕妇发生病毒血症，或病毒与血细胞紧密结合造成子代的感染。此外，垂直传播也包括通过母亲哺乳或通过整合病毒基因的生殖细胞等传播方式。垂直传播是病毒感染的特点之一，主要发生在胎儿期、分娩过程和出生后的哺乳期。存在于母体的病毒可以经过胎盘-胎儿、产道-新生儿和母-婴哺乳途径，由亲代传播给子代。病毒经垂直传播方式引起胎儿或新生儿的感染，称垂直感染（vertical infection），也称先天性感染（congenital infection）。垂直感染是病毒常见的感染方式，但在其他种类微生物少见。已知有十余种病毒可引起垂直感染，其中以乙型肝炎病毒（hepatitis B virus, HBV）、丙型肝炎病毒（hepatitis C virus, HCV）、巨细胞病毒、人类免疫缺陷病毒（human immunodeficiency virus, HIV）和风疹病毒为多见。垂直感染可致死胎、流产、早产或先天畸形，子代也可没有任何症状或成为病毒携带者（图 5-5）。垂直传播较难控制，应注意孕期和围生期保健，尤其是在妊娠 3 个月内。

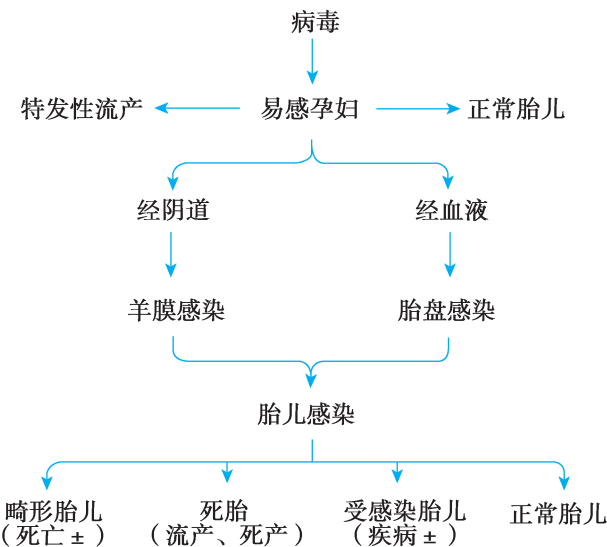


图 5-5 胎儿的病毒感染

3. 病毒的体内播散（viral spread or dissemination） 病毒侵入机体后，在宿主体内有不同方式和不同程度的传播，有些病毒仅在局部（如入侵部位）感染细胞、增殖并产生病

变,其感染局限于同一个组织和器官,造成局部感染(local infection)或表面感染(superficial infection)。如鼻病毒仅在上呼吸道黏膜细胞内增殖,引起普通感冒;轮状病毒在肠黏膜细胞内增殖,导致腹泻。

当机体防御能力降低或病毒的毒力过强时,病毒由入侵部位经血流或神经系统向全身或到达远离入侵部位播散,造成全身感染(systemic infection)。病毒由局部向全身播散方式主要有:①血液播散:病毒局部增殖后侵入血液,经血流播散到其他部位,如麻疹病毒、脊髓灰质炎病毒等。病毒进入机体血液系统称病毒血症(viremia)。病毒先在入侵机体的局部及其所属淋巴结增殖,而后进入静脉引起第一次病毒血症。有的病毒引起第一次病毒血症后,如果病毒未受到中和抗体等的作用,则在肝、脾细胞内进一步增殖,再进入动脉引起第二次病毒血症,病毒播散全身到达靶器官并引起感染,各种病毒因其最终到达靶器官不同而表现出不同的临床症状。病毒也可通过接种、输血、注射、动物叮咬和外伤直接进入血液向全身播散。②神经系统播散,嗜神经的病毒可通过感染部位的神经末梢侵入神经细胞并向远离入侵部位的中枢神经系统或全身播散,其所致疾病体现出沿神经移行的特点,如疱疹病毒、狂犬病病毒等。水痘-带状疱疹病毒在其原发感染水痘发生以后,即潜伏在脊髓后根神经节或脑神经的感觉神经节,再发时病毒沿感觉神经分布产生带状疱疹。各种病毒因其最终的靶器官不同而表现出不同的临床症状。

二、病毒感染类型

机体感染病毒后,机体和病毒的相互作用最终可表现出不同的临床类型。根据有无症状,可分为隐性感染(inapparent infection)和显性感染(apparent infection)。病毒感染一般呈“冰山现象”,即隐性感染者占绝大多数。

(一) 隐性感染

病毒进入机体后,在宿主细胞内增殖但不引起临床症状的感染称为隐性感染,又称为亚临床感染(subclinical infection)。这可能与病毒的种类不同、毒力较弱、侵入数量少或机体免疫力较强有关,结果病毒在体内不能大量增殖,未造成组织细胞的损伤或对细胞和组织造成损伤不明显。有时病毒虽进入人体,但不能到达靶细胞,也不表现出明显临床症状。病毒隐性感染非常普遍,脊髓灰质炎病毒和流行性乙型脑炎病毒的大多数感染者为隐性感染,发病率只占感染者的0.1%。因其不出现临床症状,容易造成漏诊和误诊。

隐性感染患者可激活机体免疫系统产生抗病毒免疫,导致感染终止,但也有少数患者可一直携带病毒,机体免疫力无法将其清除,病毒仍可在体内增殖并向外界播散,成为重要的传染源。这种隐性感染者也叫病毒携带者(viral carrier),所以隐性感染在疾病流行控制上具有重要意义。

(二) 显性感染

病毒显性感染指病毒进入机体,到达靶细胞后大量增殖,使细胞组织损伤,致使机体出现临床症状的感染类型,也称临床感染(clinical infection)。显性感染可表现在局部(如腮腺炎、单纯疱疹等),也可以是全身性的(如天花病毒、麻疹病毒等)。病毒显性感染按病毒在机体内感染过程、滞留的时间及临床症状出现早晚和持续时间长短,又分急性感染(acute infection)和持续感染(persistent infection)。

1. 急性感染 在急性感染中,机体感染病毒后,潜伏期短、发病急,病程数日或数周,对于大多数感染,宿主能在出现症状后的一段时间内将病毒彻底清除而进入恢复期,最后完全康复,恢复后机体内获得特异性免疫,不再存在病毒,因此急性感染又称病原消灭型感染,机体内特异性抗体可作为感染证据,例如流行性感冒、甲型肝炎等。但也有少数病毒的致病作用大大超过机体的免疫作用,加之病毒损害的器官又是生命的重要脏器,则机体常以死亡告终,

如重症肝炎等。

2. 持续感染 某些病毒在机体内可持续存在数月、数年甚至数十年。可出现临床症状也可不出现临床症状,但体内病毒存在时间长,成为长期带毒者,不但是重要传染源,也可引起慢性进行性疾病。病毒持续感染是病毒感染的重要类型,其形成原因有病毒和机体两方面因素,是二者相互作用的结果:①机体免疫力低下,无力清除病毒;②病毒抗原性弱,机体难以产生免疫应答予以清除;③病毒存在于受保护部位或病毒发生突变,逃避宿主免疫作用;④病毒基因组整合于宿主基因组中,与细胞长期共存;⑤某些病毒在感染过程中产生缺陷干扰颗粒,干扰病毒增殖,影响病毒的感染过程,也形成持续性感染。

病毒持续感染随病毒不同其致病机制也有差异,临床表现多种多样,依据感染过程和临床表现,分为慢性感染、潜伏感染、慢发病毒感染三种类型。

(1) 慢性感染 (chronic infection): 经显性或隐性感染后,病毒未被完全清除,持续存在于机体血液或组织中,病毒不断排出体外,可被检测或分离培养。慢性病毒感染病程长达数月或数十年,患者临床症状轻微或为无症状病毒携带者,但会反复发作,迁延不愈,如乙型肝炎病毒等常形成慢性感染。

(2) 潜伏感染 (latent infection): 经急性或隐性感染后,病毒与机体处于平衡状态,病毒基因组潜伏在特定组织或细胞内,但不能产生有感染性的病毒体,也不出现临床症状,此时用常规方法不能分离出病毒,在机体免疫力下降的某些条件下(如劳累、辐射、内分泌功能失调和基础疾病等),若平衡被破坏,则病毒可被激活,增殖而出现临床症状,并可检测出病毒的存在。潜伏感染的特点是反复发作,病毒长期潜伏在体内,例如单纯疱疹病毒感染后,在三叉神经节中潜伏,此时机体无症状也无病毒排出,以后由于机体免疫功能下降或使用皮质激素时,潜伏的病毒被激活后,沿感觉神经到达皮肤,发生唇部单纯疱疹。

(3) 慢发病毒感染 (slow virus infection): 经显性或隐性感染后,病毒有很长潜伏期,此时机体无症状,一旦出现临床症状后,病程多呈慢性、进行性加重、常导致死亡。人类免疫缺陷病毒引起的获得性免疫缺陷综合征 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS),从感染到出现严重临床症状要经过数年时间,是典型的慢发病毒感染过程。极少数得过麻疹的儿童在青春期出现亚急性硬化性全脑炎 (subacute sclerosing panencephalitis, SSPE) 的并发症,可能是由于麻疹病毒感染过程中形成了缺陷病毒颗粒所致,也被认为是慢发病毒感染。近来研究显示一些病因未知疾病如多发性硬化症、动脉硬化症和糖尿病等可能也与慢发病毒感染有关。

病毒感染的不同类型是病毒感染在机体整体水平上的表现,其感染的过程和结局取决于病毒和机体间的相互作用,病毒毒力、嗜细胞组织特性、机体遗传特性及天然和获得性免疫应答均可影响感染的类型、进程和结局。

三、病毒的致病机制

病毒侵入机体后,首先进入易感细胞并在细胞中增殖,进而对宿主产生致病作用。病毒能否感染机体以及能否引起疾病,取决于病毒致病性和宿主免疫力两方面因素。病毒致病性 (pathogenicity) 是指病毒感染特定宿主并引起疾病的能力,是定性的概念。致病性用毒力 (virulence) 量化,毒力反映病原体引起宿主产生症状和病理变化的强弱。例如,流感病毒可感染人群并引起症状,具有致病性,但同是流感病毒,其不同毒株的毒力强弱不同,造成的流行规模也不同。病毒的致病作用是从入侵细胞开始,并扩展到多数细胞,最终导致组织器官的损伤、功能障碍。显然,病毒致病作用表现在细胞和机体两个水平上,包括(图 5-6)病毒对宿主细胞的直接致病作用,以及病毒感染诱发机体的免疫应答而导致的免疫病理损伤。

(一) 病毒感染对宿主细胞的作用

病毒具有严格的细胞内寄生特性,其致病的基础是病毒在细胞中增殖而导致宿主细胞结构

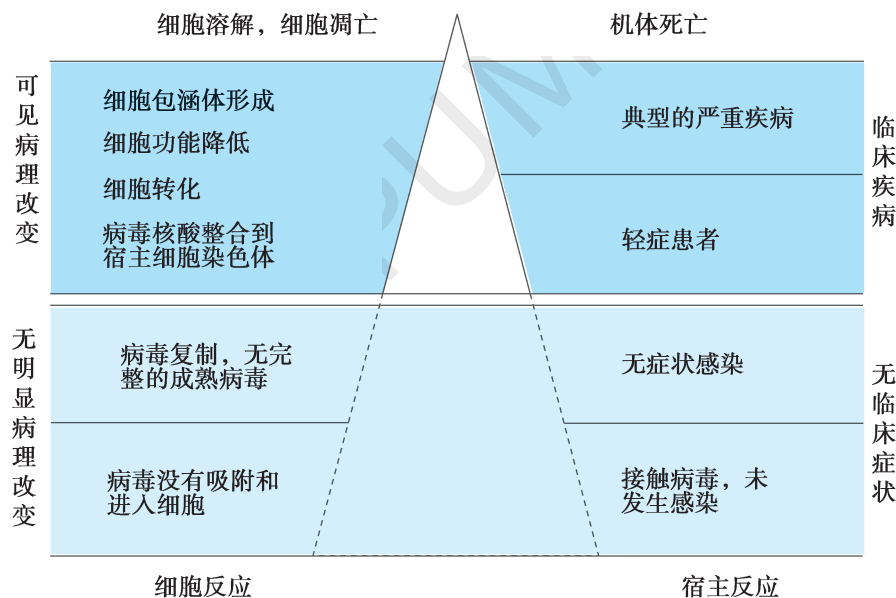


图 5-6 急性病毒感染时细胞和宿主的反应

受损和功能障碍。病毒对细胞的致病作用又包含来自病毒的直接损伤和机体免疫病理反应两个方面的因素。对细胞水平病毒感染的分析，主要通过病毒接种培养细胞后，观察细胞形态学、新陈代谢功能和抗原性变化，也可对机体病理组织进行超微结构检查。采用分子生物学技术，对病毒基因组的改变和在宿主细胞中存在状态进行研究，为从分子水平上阐明病毒与细胞相互作用及病毒致病机制提供了可能。细胞被病毒感染后，由于病毒和宿主细胞相互作用的结果不同，表现形式多样。除进入非容许细胞后产生顿挫感染而终止感染过程外，在容许细胞中可表现为溶细胞感染、稳定状态感染、细胞凋亡、细胞增殖和转化、病毒基因组整合、包涵体形成等。

1. 溶细胞型感染 (cytolytic infection) 病毒在宿主细胞内增殖成熟后短时间大量释放子代病毒，造成细胞破坏而死亡，也称为病毒的杀细胞效应 (cytotoxic effect)。主要见于无包膜、杀伤性强的病毒，多数引起急性感染，如脊髓灰质炎病毒、腺病毒等。溶细胞型感染的主要机制：①阻断细胞大分子合成：病毒编码早期蛋白（酶类等）通过各种途径抑制、阻断（或降解）细胞核酸的复制、转录和蛋白质合成，使细胞新陈代谢功能紊乱，造成细胞病变与死亡；②细胞溶酶体结构和通透性的改变：病毒感染导致溶酶体膜通透性增加或破坏，溶酶体中的酶类释放致细胞自溶；③细胞表面抗原改变：病毒抗原成分也可插入细胞膜表面，引起细胞膜抗原改变，造成细胞融合，或引起免疫性细胞损伤；④病毒产生的毒性蛋白对细胞的毒性作用：某些病毒的毒性蛋白具有直接杀伤宿主细胞的作用，如腺病毒表面的蛋白纤维突起，即有毒性作用；⑤细胞病变效应 (cytopathic effect, CPE)：病毒感染、复制过程中可导致细胞器的损伤，包括核、内质网、线粒体等，常使细胞出现浑浊、肿胀、团缩等改变。体外组织培养时，具有杀细胞效应的病毒感染的细胞可见到细胞变圆、聚集、融合、裂解或脱落等现象，称为病毒的致细胞病变效应。一般病毒在体外引起的 CPE 与其在体内感染产生细胞损伤作用一致。溶细胞型感染是较为严重的类型，当靶器官的细胞破坏到一定程度时，机体就出现典型的症状。如果发生在重要器官，如中枢神经系统，可导致严重后果，甚至造成严重后果或死亡。

2. 稳定状态感染 (steady state infection) 某些病毒（多为有包膜病毒）在宿主细胞内增殖过程中，对细胞代谢、溶酶体膜影响不大，以出芽方式释放病毒，其过程缓慢、病变较轻、短时间也不会引起细胞溶解和死亡，称为病毒的稳定状态感染，如流感病毒、疱疹病毒等。病毒的稳定状态感染最终也会导致细胞破坏和死亡，原因是：①细胞融合：病毒产生的蛋白酶以

及细胞溶酶体受损释放的水解酶能损伤、改变感染细胞膜成分,导致感染细胞与邻近细胞融合,形成多核巨细胞或合胞体,如麻疹病毒在体内可形成华新(Warthin)多核巨细胞。病毒可借助细胞融合扩散至其他细胞,是病毒的扩散方式之一。②细胞膜上抗原成分改变:病毒基因编码的蛋白表达于感染细胞的表面,导致细胞膜结构改变和表面表达新抗原,被机体细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)或特异性抗体识别,成为被攻击的靶细胞。例如流感病毒表达的血凝素出现在细胞膜上,使细胞具有吸附红细胞的功能,也能被中和抗体作用。

3. 细胞凋亡(apoptosis) 疱疹病毒科、正黏病毒科、小RNA病毒科、逆转录病毒科、细小病毒科等的病毒感染细胞后,可直接或间接诱导宿主细胞凋亡。细胞凋亡可造成宿主病理损伤,但也可限制病毒的复制和扩散,因而也是宿主细胞抵抗病毒感染的保护性反应。某些病毒(如丙型肝炎病毒、疱疹病毒、腺病毒等)可表达抗凋亡蛋白,有利于病毒自身的复制。

4. 病毒基因组整合(integration) 有些病毒可将基因组部分或全部整合到宿主细胞染色体DNA中。病毒基因组整合有两种方式:①全基因组整合:逆转录病毒如HIV在复制过程中,先将基因组RNA逆转录成互补DNA(complementary DNA, cDNA),再合成DNA双链,然后整合至细胞染色体中,成为前病毒(provirus)。②失常式整合(aberration):病毒的部分基因组DNA随机整合至细胞染色体中,整合的病毒DNA可随细胞分裂而带入子代细胞中,但不出现病毒颗粒,多见于DNA病毒,如人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)。病毒DNA的整合可能造成宿主细胞基因组损伤,例如整合处基因的失活、附近基因的激活等。有些整合的病毒基因仍有编码功能,可表达出对细胞有特殊作用的蛋白质,如猴病毒40型(SV40)整合片段编码T抗原,可导致细胞发生转化和恶性增殖,诱发肿瘤形成。

5. 细胞的增殖与转化 有少数病毒感染后可促进宿主细胞的增殖,并使细胞形态发生变化,失去细胞间接接触性抑制而成堆生长,这些细胞生物学行为的改变被称为细胞转化(cell transformation)。单纯疱疹病毒、巨细胞病毒、EB病毒(Epstein-Barr virus)、人乳头瘤病毒、腺病毒的某些型别均能转化体外培养细胞,这些病毒都有致癌潜能。被病毒转化的细胞多具有旺盛的生长力,易于连续传代,细胞表面可出现新抗原,而且多数细胞染色体中整合有病毒DNA,部分被转化的细胞移植到动物可形成肿瘤。

6. 包涵体的形成 细胞被病毒感染后,在细胞质或细胞核内出现光镜下可见嗜酸性或嗜碱性、圆形或椭圆形、大小和数量不一的斑块状结构,称为包涵体(inclusion body)。病毒包涵体由病毒颗粒或未装配的病毒成分组成,也可以是病毒增殖留下的细胞反应痕迹。包涵体可破坏细胞的正常结构和功能,有时引起细胞死亡。不同病毒包涵体在细胞内位置、形状以及着色具有不同的特征,具有病原学诊断价值,因此,临床上可通过检查包涵体作为某些病毒感染的辅助诊断。如狂犬病病毒感染的大脑海马回锥体细胞质内出现嗜酸性包涵体,称内基小体(Negri body)。

(二) 病毒感染对机体的致病作用

病毒感染造成的宿主细胞结构与功能的改变会随着病毒增殖扩散到其他细胞,可导致组织器官以及机体的损伤。病毒在感染的过程中,病毒通过与机体的免疫系统相互作用,诱发机体的免疫病理损伤也是重要的病毒致病机制之一,尤其是持续性病毒感染及病毒感染诱导的自身免疫性疾病。有些病毒还可直接破坏机体免疫功能。

1. 病毒对组织器官的亲嗜性与组织器官的损伤 病毒感染侵犯的靶器官不同,会导致不同的临床症状。病毒侵入机体感染细胞具有一定的选择性,即病毒对机体某些种类的细胞易感,并在一定种类细胞内寄生,称为病毒对组织的亲嗜性。病毒亲嗜性的基础主要是该组织器官的细胞有病毒受体,并具有病毒增殖的条件。例如,流感病毒和鼻病毒对呼吸道黏膜有亲嗜性,脑炎病毒和脊髓灰质炎病毒对神经组织有亲嗜性,肝炎病毒对肝组织有亲嗜性。病毒的组织器官亲嗜性造成了对特定组织器官的损伤,也是形成临床上不同系统疾病的原因。

病毒感染细胞造成细胞结构和功能损伤,进而扩展到一定组织和器官损伤和功能障碍。病毒感染过程,即病毒增殖及释放出病毒编码的毒性蛋白均可造成组织器官炎性反应。与细菌性感染不同,病毒感染的炎性细胞主要是单核细胞。

2. 免疫病理损伤 病毒具有很强的抗原性,通过与机体的相互作用,诱发机体的免疫应答,产生免疫病理损伤导致疾病,在病毒感染的致病机制中占有重要地位,特别是病毒持续感染如病毒性肝炎。病毒感染细胞后还会出现自身抗原,机体免疫应答所产生的超敏反应和炎症反应是主要的病理反应。

(1) 体液免疫病理作用:主要是抗体介导的Ⅱ型、Ⅲ型超敏反应。病毒的组成性抗原多具良好的抗原性,能够引起机体的免疫应答。许多病毒(特别是有包膜病毒)能诱发细胞表面出现新抗原,当特异抗体与这些抗原结合后,激活补体并引起感染细胞的破坏(Ⅱ型超敏反应),例如登革热病毒在体内与相应抗体在红细胞和血小板表面结合,激活补体,导致血细胞和血小板破坏,出现出血和休克综合征。抗原抗体结合的复合物也可引起Ⅲ型超敏反应。有些病毒抗原与相应抗体结合形成免疫复合物,可长期存在于血液中,当这种免疫复合物沉积在某些器官组织的膜表面时,激活补体并引起Ⅲ型变态反应,造成局部损伤和炎症。例如,免疫复合物沉积在肾小球毛细血管的基底膜上,造成肾损伤(蛋白尿、血尿),如乙型肝炎病毒可引起相关肾炎,有症状者常表现为血尿、蛋白尿等。免疫复合物沉积在关节滑膜上导致关节炎,如慢性病毒性肝炎患者常出现关节症状等。免疫复合物沉积于肺部,则引起细支气管炎和肺炎,如婴儿呼吸道合胞病毒感染。免疫复合物沉积于血管壁,则可因激活补体导致血管通透性增高,而引起出血和休克,如登革病毒感染。

(2) 细胞免疫病理作用:细胞免疫在其发挥抗病毒感染的同时,特异性CTL也会对病毒感染细胞(出现了新抗原)造成损伤。病毒蛋白因与宿主细胞蛋白之间存在共同抗原性而导致自身免疫应答。对700种病毒的病毒蛋白进行序列分析和单克隆抗体分析表明,约4%与宿主蛋白有共同抗原决定簇。麻疹病毒引起的脑炎及乙型肝炎病毒引起的慢性肝炎就有自身免疫性疾病的病理损伤因素。

在病毒感染早期,病毒所致细胞损伤,活性及毒性物质的释放等能引起机体的炎症反应,使机体产生全身症状。感染后期由免疫复合物、补体活化、 $CD4^+$ T细胞介导的复杂反应和感染细胞溶解等又引起机体局部组织器官严重损伤和炎症,属于Ⅳ型超敏反应。由于某些病毒可引起免疫病理损伤,因此临床治疗应慎用免疫功能增强剂。

(3) 炎性细胞因子导致的病理损伤:病毒感染可引起免疫细胞释放大量的炎性细胞因子,如 $INF-\gamma$ 、 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1$ 等,导致代谢紊乱、使血管活性因子活化,引起休克甚至死亡。

3. 病毒对免疫系统的致病作用 病毒可抑制、破坏和干扰机体的免疫系统。

(1) 病毒感染引起免疫抑制:许多病毒感染可引起机体免疫应答降低或暂时性免疫抑制,例如,麻疹病毒感染的患儿对结核菌素皮肤试验应答低下。病毒所致的免疫抑制使感染加重和持续,并可能使疾病进程复杂化。免疫抑制还可加重体内原有疾病,或激活体内潜伏的病毒,或促进某些肿瘤的生长。

免疫应答低下可能与病毒直接侵犯免疫细胞有关,如麻疹病毒、EB病毒、风疹病毒等。病毒入侵免疫细胞后,不仅影响机体免疫功能,而且病毒可以在免疫细胞中受到保护,逃避抗体、补体的作用,使得病毒难以清除,并随免疫细胞播散至全身。

(2) 病毒杀伤免疫细胞:人类免疫缺陷病毒对 $CD4^+$ T辅助细胞(Th)具有强的亲和性和杀伤性,使其数量持续减少,最终导致细胞免疫功能低下和AIDS。

(3) 病毒感染引起自身免疫病:病毒感染免疫系统后可致免疫应答功能紊乱,主要表现为失去对自身与非自身抗原的识别功能。病毒感染细胞后,除了前述病毒新抗原与细胞抗原结合,改变细胞膜表面结构成为“非己物质”外,也有可能使正常情况下隐蔽的抗原暴露或释放

出来，导致机体对这些细胞产生免疫应答，引起自身免疫病（autoimmune disease）。

（三）病毒的逃逸免疫应答作用

病毒具有通过逃避免疫监视、防止激活免疫细胞或者阻止免疫应答发生诸多方式实现病毒的逃逸免疫应答作用。病毒可以通过多种方式逃脱免疫系统的打击作用（表 5-7）。病毒的免疫逃逸作用是病毒毒力的一个重要能力和指标，这也是病毒致病作用的一个重要因素。

表5-7 病毒的免疫逃逸作用

免疫逃逸机制	举例
细胞内寄生	所有病毒具有的方式，可逃避抗体、补体等免疫物质作用，也可逃避抗病毒药物作用
抑制机体抗病毒物质	乙型肝炎病毒可抑制干扰素和抗病毒蛋白的表达
损伤免疫细胞	人类免疫缺陷病毒、EB 病毒、人类嗜 T 细胞病毒（HTLV）和麻疹病毒可在 T 细胞或 B 细胞中寄生，并导致细胞死亡。麻疹病毒可损伤 DC 细胞功能
病毒基因组易变异	人类免疫缺陷病毒、流感病毒等 RNA 病毒基因组的高频突变导致抗原变异引起免疫应答滞后
病毒抗原多态性	病毒的型别和准株众多，使得免疫应答和疫苗的效果不佳
降低抗原的表达	腺病毒、巨细胞病毒可抑制 MHC-I 类抗原的表达，影响免疫应答

（朱 帆）

小 结

正常菌群存在于人体体表及与外界相通的腔道表面，与机体共生共存，正常情况下不致病，且有生理作用。

当机体免疫功能低下，或发生寄生部位改变、菌群失调等情况，正常菌群中的一些细菌以及外源性的非致病菌可对人体致病，从而成为机会致病菌。

细菌可利用菌毛或非菌毛黏附素等黏附、定植于人体皮肤黏膜表面，进而生长繁殖而发生感染；其中的致病菌和机会致病菌可进一步利用其各种侵袭机制侵袭、扩散至特定感染部位生长繁殖，甚至产生外毒素或内毒素，并突破机体免疫防御机制，从而造成致病。

除毒力强弱、侵入机体细菌量和入侵部位是否合适三大因素外，细菌毒力的基因调控、免疫病理作用、环境因素、细菌超抗原和体内诱生抗原等因素也能影响病原菌感染致病。

病原菌通过内源性或外源性途径引起感染后，一些不表现临床症状而导致隐性感染；一些导致显性感染，表现为局部感染或全身感染（如毒血症、内毒素血症、菌血症、败血症、脓毒血症等）；隐性感染和显性感染后一些细菌还可导致机体的带菌状态。

患者、带菌者和医院工作人员之间交叉接触，通过污染的医院环境及诊疗器械、有关诊疗操作等可造成外源性或内源性的医院感染。

病毒在人群中的传播方式分为人群中不同个体间的水平传播和母体病毒经胎盘或产道由亲代传播给子代的垂直传播。

人类病毒的感染途径多，主要通过皮肤和黏膜，也可直接进入血液循环感染机体。

病毒感染的类型多，按有无症状分为隐性感染和显性感染。显性感染又分为急性感

染和持续感染。持续感染依据疾病过程分为慢性感染、潜伏感染、慢发感染。

病毒的致病取决于病毒致病性和宿主免疫力两方面因素。病毒的致病作用从少数细胞开始，扩延到多数细胞。病毒和宿主细胞相互作用产生细胞病理改变，其机制表现为溶细胞感染、稳定状态感染、细胞凋亡、细胞增殖和转化、病毒基因组的整合及包涵体的形成。

病毒感染最终可导致组织器官的损坏、功能障碍。病毒感染对机体的致病作用表现在：①病毒对组织器官的亲嗜性与组织器官的损伤；②免疫病理损伤（体液免疫、细胞免疫、炎症因子的病理作用）；③病毒对免疫系统的致病作用。

病毒可通过多种途径逃逸机体的免疫清除作用。

.....

宿主抵御和清除入侵病原微生物的免疫防御功能即为抗感染免疫（anti-infection immunity）。抗感染免疫包括固有免疫（innate immunity）和适应性免疫（adaptive immunity）（表 6-1）。

固有免疫又称为天然免疫，是在种系发育和进化过程中建立的防御病原微生物的功能，由屏障结构、固有免疫细胞和固有免疫分子组成，其特点是与生俱来，作用广泛，初次接触病原微生物即可迅速发挥效应。

适应性免疫又称为获得性免疫，是个体出生后在与病原微生物等抗原物质接触过程中产生的免疫防御功能。其特点是后天获得，具有针对抗原的专一性，再次接触相同抗原时能迅速发生强烈的免疫应答。适应性免疫分为体液免疫和细胞免疫两种类型。体液免疫由 B 淋巴细胞介导，B 淋巴细胞识别抗原后，分化、增殖、形成浆细胞分泌抗体。体液免疫在抗细胞外病原微生物感染及中和其细菌毒素方面发挥重要作用。细胞免疫由 T 淋巴细胞介导，产生以细胞浸润为主的炎症反应或 T 细胞直接杀伤靶细胞的细胞毒作用。细胞免疫在抗胞内菌、病毒以及真菌感染中起重要作用。

表6-1 抗感染免疫的主要作用机制

免疫类型	免疫因素	主要免疫机制
固有免疫	物理、化学和微生物屏障	机械阻挡、分泌杀菌物质以及正常微生物群拮抗作用
	固有免疫分子	溶菌酶、防御素、急性期蛋白、干扰素等固有免疫因子介导的抗感染效应
	固有免疫细胞	中性粒细胞、单核巨噬细胞、树突状细胞、NK 细胞、NKT 细胞和 $\gamma\delta$ T 细胞等免疫细胞介导的抗感染效应
适应性免疫	体液免疫	包括抗胞外菌体液免疫和抗病毒体液免疫，有中和作用、激活补体、调理作用、ADCC 等免疫效应
	细胞免疫	包括抗胞内菌细胞免疫和抗病毒的细胞免疫，有 CTL 介导的细胞毒作用；Th1、Th17 介导的免疫应答等免疫效应

在抗感染免疫过程中，固有免疫与适应性免疫相互依赖与协作，共同发挥消除病原微生物感染的作用。固有免疫是宿主抵御病原微生物入侵的第一道防线，在适应性免疫产生之前，可限制病原微生物在体内迅速扩散，并能启动适应性免疫应答。适应性免疫能特异、有效地清除病原微生物，其作用的发挥也有赖于固有免疫因素的参与，如细胞因子可以通过活化巨噬细胞和补体等，发挥抗感染效应。抗感染免疫在某些情况下也可引起机体发生免疫病理损伤。

第一节 固有免疫

固有免疫包括生理屏障、固有免疫分子和固有免疫细胞等因素，是机体抵御病原微生物入侵机体的第一道防线。

一、生理屏障结构

1. 物理屏障 包括皮肤和黏膜屏障、血脑屏障和胎盘屏障。

(1) 皮肤和黏膜屏障：人体的皮肤及与外界相通腔道的黏膜层可通过多种方式发挥抗感染作用。皮肤由多层扁平细胞组成，完整的皮肤能阻挡病原微生物的侵入。黏膜由单层柱状上皮细胞构成，屏障作用较弱，但其表面的附属结构和分泌液具有防御病原微生物感染的作用，如呼吸道黏膜上皮细胞的纤毛运动可将附着于细胞表面的微生物排出等。

(2) 血脑屏障：由软脑膜、脉络丛的脑毛细血管壁及包裹在管壁外的星状胶质细胞形成的胶质膜组成。其结构致密，能阻挡病原微生物及其毒性产物进入脑组织或脑脊液，从而保护中枢神经系统。由于婴幼儿的血脑屏障尚未发育完善，而易于发生中枢神经系统感染。

(3) 胎盘屏障：由母体子宫内膜的基蜕膜和胎儿的绒毛膜滋养层细胞组成。可防止感染于母体的病原微生物进入胎儿体内。胎盘屏障在妊娠3个月内尚未发育完善，若母体中感染的病原微生物经胎盘进入胎儿体内，则可致胎儿畸形、流产或死胎。

2. 化学屏障 主要由皮肤和黏膜分泌的多种具有抗病原微生物作用的化学物质组成，包括皮肤汗腺分泌的乳酸、皮脂腺分泌的脂肪酸，以及特定部位的黏膜分泌的溶菌酶、胃酸和蛋白酶等。

3. 微生物屏障 是指由正常微生物群构成的菌膜屏障，是宿主抵御病原菌入侵的重要防御机制之一。正常微生物群与机体之间保持动态性平衡，对病原微生物有抑制作用。如大肠埃希菌产生的大肠菌素能抑制志贺菌、金黄色葡萄球菌等；口腔中的唾液链球菌可产生 H_2O_2 等可以杀死脑膜炎奈瑟菌、白喉棒状杆菌等。

二、固有免疫分子

固有免疫分子是指在正常体液和组织中存在的多种具有杀伤或抑制病原微生物作用的可溶性分子。主要包括补体、溶菌酶、防御素、急性期蛋白和干扰素。

1. 补体 (complement) 是重要的固有免疫分子之一，激活后可以发挥多方面的生物学效应。当病原微生物侵入机体后，可以通过甘露糖结合凝集素 (mannan-binding lectin, MBL) 途径 (MBL pathway) 或旁路激活途径 (alternative pathway) 迅速激活补体系统，还可以在适应性免疫阶段与相应抗体结合后激活经典途径 (classical pathway) 激活补体系统。上述三条补体激活途径均可激活补体并形成膜攻击复合物 (membrane attack complex, MAC)，发挥溶解病原微生物的作用。其中，MBL 途径和旁路途径在适应性抗体产生之前即可发挥杀灭病原微生物作用，因此在感染早期发挥重要的固有免疫作用。

2. 溶菌酶 (lysozyme) 是一种不耐热的碱性蛋白，主要来源于吞噬细胞，广泛存在于血清、唾液、泪液、尿液、乳汁和肠液等体液中。通过作用于革兰氏阳性细菌细胞壁肽聚糖而使细菌溶解。由于革兰氏阴性细菌的肽聚糖外有脂蛋白等包绕，故对溶菌酶不敏感。

3. 防御素 (defensin) 是一种大多由 29 ~ 42 个氨基酸残基组成，内含 3 对分子内二硫键的小分子多肽，根据其二硫键位置的不同可分为 α -防御素、 β -防御素、 θ -防御素 3 类。防御素对细菌、真菌和某些有包膜病毒具有直接杀灭作用。人体内存在的 α -防御素为阳离子多肽，主要由小肠的潘氏细胞 (Paneth cell) 和中性粒细胞产生，可通过以下机制杀伤某些细菌

和包膜病毒：①通过静电作用结合病原体的脂多糖、磷壁酸和病毒包膜脂质，以破坏膜屏障和增加细胞膜通透性，使细菌裂解死亡；②诱导病原体产生自溶酶；③增强吞噬细胞对病原体的吞噬、杀伤和清除作用。

4. 急性期蛋白 (acute phase protein, APP) 是一组血清蛋白，是在病原微生物感染后导致机体产生的一系列早期、高度复杂反应的产物。绝大多数 APP 由肝细胞合成。APP 有很多种，其中典型的有脂多糖结合蛋白、甘露糖结合凝集素 (MBL)、C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 等。在炎症刺激后，大多数 APP 可以迅速地呈十倍或百倍以上升高，在感染或炎症的恢复中起重要作用。

5. 干扰素 (interferon, IFN) 是病毒感染早期最重要的抗病毒细胞因子。1957 年由病毒学家 Alick Isaacs 和 Jean Lindenmann 研究发现，是用灭活流感病毒作用细胞后，细胞产生一种具有干扰活病毒增殖的可溶性物质，故称为干扰素。干扰素是由病毒或其他干扰素诱生剂诱导人或动物细胞产生的一类糖蛋白，可被蛋白酶破坏，4℃ 可保存较长时间，-20℃ 可长期保持其活性。干扰素具有抗病毒、抑制肿瘤及免疫调节等多种生物活性。干扰素的诱生及其作用的发挥均受细胞基因组的调控。

(1) IFN 分类：根据 IFN 的分泌细胞来源、抗原性以及 IFN 受体的不同，目前已确定由人类细胞诱生的干扰素有 I 型、II 型和 III 型 IFN 三个家族。pDC 是 I 型和 III 型 IFN 主要分泌细胞，而 NK 细胞和 Th1 细胞是 II 型 IFN 的主要来源。IFN 结合其受体后，主要通过 JAK/STAT 信号通路调控靶细胞基因表达 (图 6-1)。

I 型 IFN 包括 IFN α 的 13 种亚型和 IFN β 、IFN κ 、IFN ϵ 、IFN σ 和 IFN δ 等，是发挥抗病毒作用的主要类型 IFN。I 型 IFN 受体复合物由 IFN α R1 和 IFN α R2 两条链组成，在大多数类型细胞中均表达。I 型 IFN 通过诱导干扰素刺激因子 15 (interferon-stimulated gene 15, ISG15)、寡聚腺苷合成酶 (oligoadenylate synthetase, OAS) 和蛋白激酶 B (PKB) 途径发挥抗病毒效应。

II 型 IFN 只有一个成员 IFN γ ，其免疫调节和抑制肿瘤作用强于抗病毒作用，又称为免疫干扰素。IFN γ 受体复合体为四聚体，由两个 IFN γ R1 和两个 IFN γ R2 组成，主要在抗原呈递细

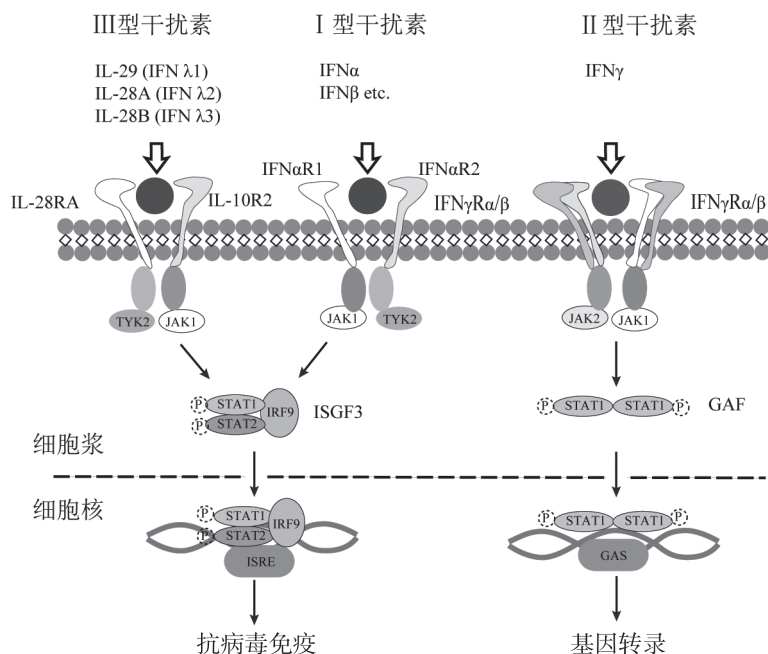


图 6-1 IFN 家族以及 IFN 受体信号传导通路



彩图：IFN 家族以及
IFN 受体信号传导通路

胞 (antigen-presenting cell, APC) 上表达。

Ⅲ型 IFN 也称为 IFN λ , 有 IL-28A、IL-28B 和 IL-29 三个成员。Ⅲ型 IFN 受体相对有限, 由 IL-28R α 和 IL-10R2 组成, 主要表达在浆细胞样树突状细胞 (plasmacytoid dendritic cell, pDC)、巨噬细胞、B 细胞和肝细胞表面。Ⅲ型 IFN 可通过 I 型 IFN 类似的机制发挥强大的抗病毒效应。

(2) IFN 的诱生: 干扰素的诱生是宿主细胞在病毒或干扰素诱生剂刺激下, 编码 IFN 基因被激活而表达产生的糖蛋白 (图 6-2)。巨噬细胞、淋巴细胞及体细胞在干扰素诱生剂作用下均可产生干扰素。病毒及其他细胞内繁殖的微生物、细菌内毒素、原虫及人工合成的双链 RNA (dsRNA) 等均可诱导细胞产生干扰素, 其中以病毒和人工合成的 dsRNA, 如 poly (I:C) 的 IFN 诱生能力最强。

(3) IFN 的抗病毒作用: 干扰素并不能直接杀灭病毒, 而是通过与邻近细胞表面的干扰素受体结合, 经受体介导的信号转导, 引发一系列生化反应, 使细胞合成多种抗病毒蛋白 (antiviral proteins, AVP), 由抗病毒蛋白阻止病毒的合成而发挥抗病毒作用 (图 6-2)。

抗病毒蛋白主要包括 2'-5' 腺嘌呤核苷合成酶 (2'-5' A 合成酶) 和蛋白激酶 R (PKR) 以及 ISG15 等, 可以通过降解病毒的 mRNA、抑制多肽链的延伸等阻断病毒蛋白的合成 (图 6-3)。主要作用途径如下: ① 2'-5' A 合成酶途径: 2'-5' A 合成酶是一种依赖 dsRNA 的酶, 被激活后使 ATP 多聚化, 形成 2'-5' A, 2'-5' A 再激活 RNA 酶 L 或 F, 活化的 RNA 酶则可切断病毒 mRNA; ② PKR 途径: PKR 也是依赖 dsRNA 的酶, 它可磷酸化蛋白合成起始因子的 α 亚基 (eIF-2 α), 从而抑制病毒蛋白质的合成; ③ ISG15 途径: ISG15 是 15 kD 的干扰素刺激蛋白, 在干扰素信号调节中有重要作用, 具有广泛的抗病毒活性。此外, 干扰素还有其他抗病毒机制, 如增加主要组织相容性抗原-I 类分子 (HLA-I) 的表达, 有助于 CTL 识别靶抗原等方式, 阻断病毒的复制。

IFN 抗病毒作用的特点是有种属特异性, 无病毒特异性。种属特异性是指 IFN 抗病毒作用除了依赖靶细胞表面的 IFN 受体外, 还受细胞种属的 MHC 限制, 即由人类细胞产生的 IFN 只能作用于人类细胞, 而不是动物细胞, 才能发挥强大的抗病毒作用。无病毒特异性是指 IFN 具有广泛的抗病毒活性, 对 RNA 和 DNA 病毒均有抗病毒活性, 但不同病毒对干扰素的敏感性有差别, 如 RNA 病毒中的披膜病毒、DNA 病毒中的痘病毒很敏感, 而 DNA 病毒的单纯疱疹病毒则不甚敏感。另外, 某些病毒及其相关蛋白, 如 HBV 多聚酶蛋白、SARS 冠状病毒 N 蛋白等, 可以在特定条件下抑制 IFN 的诱生或者阻断 IFN 的抗病毒作用。

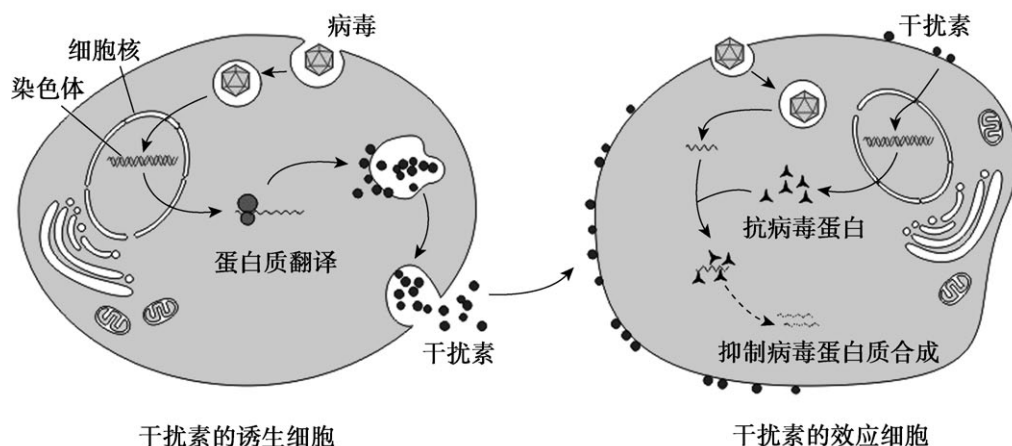


图 6-2 IFN 的诱生及其抗病毒作用机制

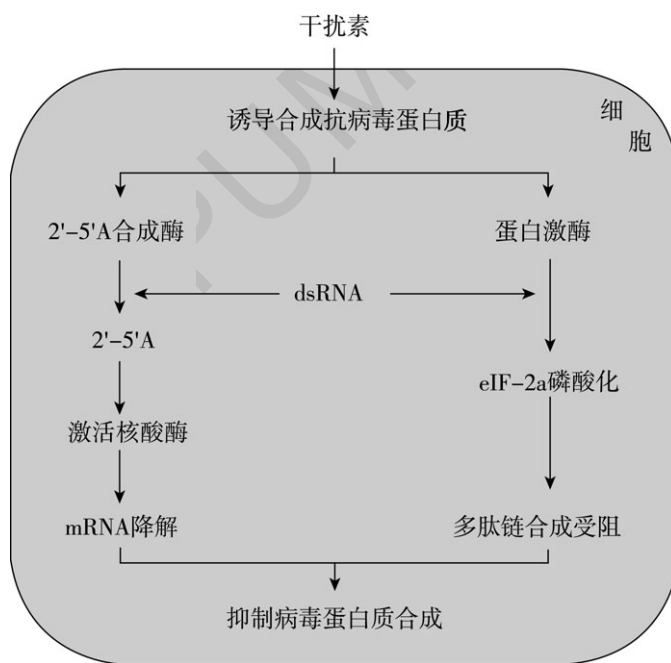


图 6-3 抗病毒蛋白质的抗病毒作用机制

6. 其他细胞因子 是指由病原体感染机体后刺激机体免疫细胞和感染的组织细胞所产生，除干扰素之外的具有抗感染和免疫调节作用的多种细胞因子。如白介素-8 (interleukin-8, IL-8)、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白-1 (macrophage inflammatory protein 1, MIP-1) 等可通过趋化作用，募集、活化吞噬细胞，增强机体抗感染免疫应答能力；IL-1、IL-6、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 可促进抗感染的炎症反应；IL-1、IL-12、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) 可激活巨噬细胞和自然杀伤细胞 (natural killer, NK)，有效杀伤病原体感染的靶细胞；TNF- α 可增强抗原呈递作用，提高抗感染适应性细胞免疫应答能力；IL-4、IL-5、IL-6 可促进 B 细胞增殖分化，增强体液免疫应答；IL-2、IL-12 等可促进 Th1 细胞免疫应答等，来发挥抗病毒作用。

三、固有免疫细胞

固有免疫细胞包括吞噬细胞 (单核细胞、巨噬细胞)、NK 细胞、树突状细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、NKT 细胞等，其他能发挥固有免疫的细胞类型还包括 B-1 细胞、肥大细胞、嗜碱性细胞和嗜酸性细胞等。

(一) 吞噬细胞

吞噬细胞 (phagocyte) 分为大吞噬细胞和小吞噬细胞两种。大吞噬细胞包括血中的单核细胞和组织中的巨噬细胞，两者组成单核吞噬细胞系统 (mononuclear phagocyte system)。小吞噬细胞为外周血中的中性粒细胞。当病原体突破皮肤或黏膜屏障侵入组织中后，首先被聚集到病原体所在部位的中性粒细胞吞噬消灭。一般只有数量多、毒力强的病原体才有可能进一步侵入血流或其他器官，再由血液、肝、脾等处的吞噬细胞继续进行吞噬杀灭。

1. 吞噬和杀灭病原微生物的过程 一般可分为三个连续的阶段 (图 6-4)。

(1) 游走、识别与结合：细菌、病毒或病原体产物 (如内毒素) 刺激宿主细胞 (吞噬细胞、内皮细胞、成纤维细胞等) 产生的趋化因子 (chemokine)、IL-8、中性粒细胞激活蛋白-2 (neutrophil activating protein-2, NAP-2) 及巨噬细胞炎性蛋白 (macrophage inflammatory

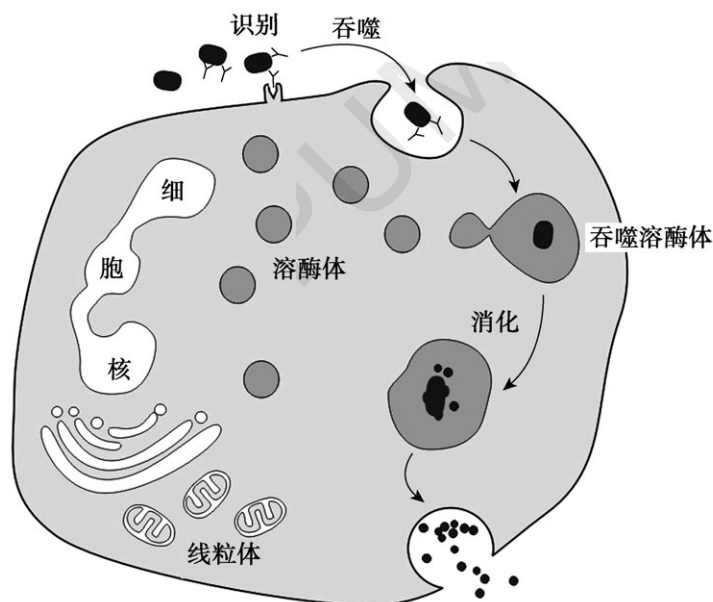


图 6-4 吞噬细胞吞噬和杀灭病原微生物过程

protein, MIP) 等, 能够趋化大量的中性粒细胞和单核吞噬细胞沿血管边缘移动, 并穿越血管内皮细胞层, 最终至感染部位。感染组织的裂解产物和一些补体成分也具有趋化作用。吞噬细胞主要通过相应的模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 识别细菌、病毒及真菌等病原体。

另外, 吞噬细胞上还有一些受体可间接识别和结合病原微生物及其成分, 如吞噬细胞表面表达的 CD14 分子, 可与结合脂多糖 (LPS) 的血清中脂多糖结合蛋白 (lipopolysaccharide binding protein, LBP) 结合, 以及吞噬细胞表面的 C3b、iC3b 和 IgG Fc 受体, 可与结合病原微生物的 C3b、iC3b 和 IgG 分子结合, 此种方式更有利于吞噬细胞捕获病原微生物。

(2) 吞噬: 吞噬细胞识别病原菌后, 即启动吞噬过程。吞噬细胞接触病原体部位的细胞膜内陷, 伸出伪足将病原体包裹并摄入细胞质内, 形成吞噬体 (phagosome)。

(3) 消化: 吞噬细胞内的溶酶体与吞噬体融合, 形成吞噬溶酶体 (phagolysosome)。在吞噬溶酶体中, 溶酶体内的溶菌酶、髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO)、防御素、活性氧中介物和活性氮中介物等发挥杀灭病原体作用; 蛋白酶、多糖酶、核酸酶和脂酶等起降解作用; 不能降解的残渣则被排出吞噬细胞外。

2. 吞噬细胞杀灭病原微生物的机制 分为氧依赖性杀菌途径和氧非依赖性型杀菌途径 (图 6-5)。

(1) 氧依赖性杀菌途径: 杀灭病原微生物过程需要分子氧参加, 可通过三种方式发挥杀灭病原微生物的作用: ①呼吸暴发 (respiratory burst): 吞噬细胞在吞噬病原体后, 出现有氧代谢活跃、氧耗急剧增加, 通过氧的部分还原作用产生一组高反应性的杀灭病原体物质的过程, 称为呼吸暴发。在呼吸暴发过程中激活细胞膜上的还原型辅酶 II (NADPH 氧化酶), 使分子氧活化, 生成活性氧中间物 (reactive oxygen intermediate, ROI), ROI 包括超氧阴离子 (O_2^-)、单态氧 (1O_2)、游离羟基 (OH^-)、 H_2O_2 、次氯酸 (HOCl) 和氯胺 (NH_2Cl) 等。这些物质具有强氧化作用或细胞毒作用, 可有效地杀伤病原微生物; ②过氧化氢 - 髓过氧化物酶 - 卤化物杀菌系统: 中性粒细胞和单核细胞含有髓过氧化物酶 (MPO), 作用于 H_2O_2 和氯化物, 使病原微生物蛋白卤素化而死亡。但需要指出的是组织中的巨噬细胞无 MPO, 不能通过此机制发挥作用; ③一氧化氮 (nitric oxide, NO) 系统: 吞噬细胞活化后可产生诱导型一氧化氮合酶 (inducible NO synthase, iNOS)。iNOS 可催化 L-精氨酸与氧分子反应, 生成瓜氨酸和 NO。

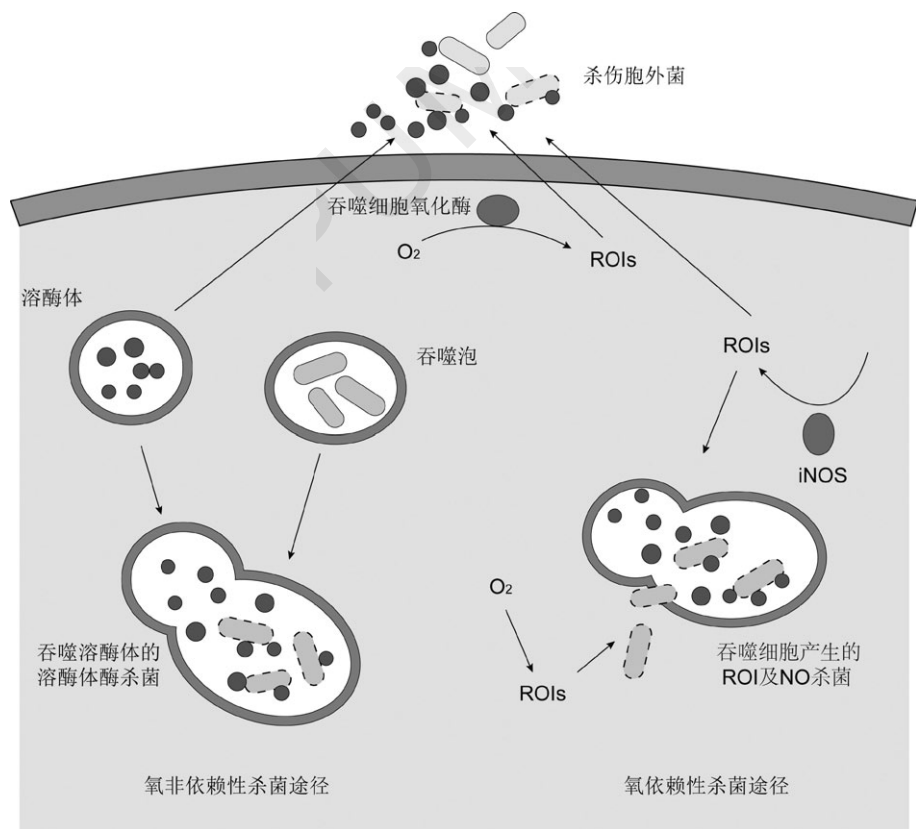


图 6-5 吞噬细胞杀灭病原微生物的机制

NO 与 O_2 结合后再进一步氧化成 NO_2 和 NO_3 。NO、 NO_2 和 NO_3 等，共同构成具有杀灭病原微生物活性的活性氮中介物 (reactive nitrogen intermediate, RNI)，在厌氧条件下发挥更强大的抗感染效应。

(2) 氧非依赖性杀菌途径：即杀灭过程中不需要分子氧的参加，是在无氧条件下，通过吞噬溶酶体内的酸性产物和吞噬细胞颗粒释出的某些效应物质，发挥杀灭病原微生物作用。吞噬溶酶体形成后，细胞糖酵解作用增强，当乳酸累积使 pH 降至 4.0 以下时，细胞内的病原体难以存活。从颗粒中释放出的杀灭物质主要有溶菌酶、防御素、乳铁蛋白和弹性蛋白酶等。

3. 病原菌被吞噬细胞吞噬后的结果 因病原体种类、毒力和机体免疫力不同，有完全吞噬和不完全吞噬两种。

(1) 完全吞噬：大多数情况下，被吞噬的病原体能够被完全杀死、破坏，称为完全吞噬。如通常化脓性球菌被吞噬后，一般于 5 ~ 10 分钟死亡，30 ~ 60 分钟被破坏。

(2) 不完全吞噬：病原微生物被吞噬后，但不能被杀死的过程，称为不完全吞噬。如结核分枝杆菌、布鲁菌、伤寒沙门菌等胞内寄生菌，在免疫力低下的机体中易出现不完全吞噬。不完全吞噬可使病原体在吞噬细胞中受到保护，免受体液中的效应分子、抗体及药物的作用。有的甚至能在吞噬细胞内生长繁殖，导致吞噬细胞死亡，或可通过游走的吞噬细胞经淋巴液或血液扩散到机体其他部位，引起病变。

(二) NK 细胞

NK 细胞由造血干细胞发育分化而来，是淋巴细胞的一个亚群，占外周淋巴细胞的 10% ~ 15%。其胞质内含有嗜天青颗粒，故又名大颗粒淋巴细胞。NK 细胞具有非特异性杀伤病毒感染的靶细胞的作用。病毒感染细胞后，细胞膜上出现可被 NK 细胞识别的糖类配体，如流行性感冒病毒血凝素。NK 细胞与靶细胞直接作用后，一般在体内 4 小时即可出现杀伤效应。

NK 细胞对靶细胞的杀伤主要与其释放的细胞毒性物质及细胞因子有关, 主要包括: ①穿孔素: 可溶解病毒感染细胞; ②丝氨酸酯酶: 从穿孔素在靶细胞上形成的孔洞进入细胞, 通过激活核酸内切酶, 使细胞 DNA 断裂, 引起细胞凋亡; ③细胞因子: TNF 可改变靶细胞溶酶体的稳定性, 使多种水解酶外漏, 导致细胞死亡; IFN- γ 可抑制细胞内病毒的增殖。

与 T 细胞和 B 细胞相比, NK 细胞识别病毒感染细胞不需要抗原提呈细胞的介导, 而在细胞因子刺激后能够被迅速地激活。进而通过多种途径活化或抑制信号的细胞表面受体, 识别潜在的靶细胞。当活化性受体传递的信号超过抑制性受体传递的信号时, NK 细胞的自然细胞毒效应即可启动。NK 细胞上的活化性受体包括 C 型凝集素样受体 NKG2D 和 CD94:NKG2C/E, 自然细胞毒性受体 NPp44、NKp30、NKp46 和 CD16 (FC- γ -R III)。NK 细胞上重要的抑制性受体有杀伤细胞免疫球蛋白样受体 (KIR) 和 CD94:NKG2A 异源二聚体 (表 6-2)。

表6-2 NK细胞的主要受体以及相应配体

功能	家族	受体	配体
活化性	C 型凝集素受体	NKG2D	MIC-A/B, ULBPs
		CD94:NKG2C	HLA-E
		CD94:NKG2E	
	天然细胞毒性受体	NKp30	BAT-3, B7-H6, CMV pp65
		NKp44	病毒血凝素
		NKp46	病毒血凝素
	杀伤细胞免疫球蛋白样受体	3DS1	HLA-Bw4
抑制性	Ig Fc 低亲和力受体	CD16	IgG
		Toll 样受体	病原体相关分子模式 (PAMPs)
	杀伤细胞免疫球蛋白样受体	2DL1	HLA-C2
		2DL2/3	HLA-C1
	C 型凝集素受体	CD94 : NKG2A	HLA-E

MHC I 类分子的表达可抑制 NK 细胞的杀伤作用, 从而避免 NK 细胞对“自我”的攻击。病毒感染早期产生的干扰素可以活化 NK 细胞, 提高 NK 细胞的杀伤作用, 以后由于干扰素使靶细胞表面的 MHC I 类分子表达, 从而使靶细胞对 NK 细胞的杀伤敏感性降低。但是, 靶细胞上 MHC I 类分子的表达则有利于 CTL 杀伤作用的发挥。因此, 在病毒感染的早期以 NK 细胞的杀伤作用为主, 感染后 3 天时达高峰, 当 NK 细胞的作用逐渐降低时, CTL 开始发挥作用。NK 细胞和干扰素构成了感染早期天然抗病毒作用的重要免疫因素。

另外, NK 细胞还可通过其表面受体与靶细胞、病毒感染细胞结合, 或释放相应的免疫因子, 发挥 NK 细胞介导的自然细胞毒效应。NK 细胞膜上有高表达的抗体 IgG Fc 低亲和力受体, 即 CD16 分子。当 IgG 抗体通过其 Fab 段与病毒感染细胞上抗原特异性结合后, 裸露的 IgG Fc 段便与 NK 细胞上的 CD16 分子相结合, 抗体在靶细胞与 NK 细胞之间形成桥梁, NK 细胞释放细胞毒性介质 (穿孔素、颗粒酶和细胞因子), 最终导致靶细胞溶解破坏, 即 NK 细胞的抗体依赖性细胞介导的细胞毒效应 (antibody dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) (图 6-6)。除 NK 细胞是 ADCC 效应的主要免疫细胞外, 单核巨噬细胞、中性粒细胞都可以通过 ADCC 的方式清除被感染的靶细胞。

(三) 树突状细胞

树突状细胞 (dendritic cell, DC) 在全身多处脏器和组织广泛分布。DC 根据其分布和分化程度不同, 有不同命名, 如朗格汉斯细胞 (langerhans cell, LC) 分布在表皮和胃肠上皮组



彩图：NK 细胞介导的自然细胞毒效应和 ADCC 效应机制

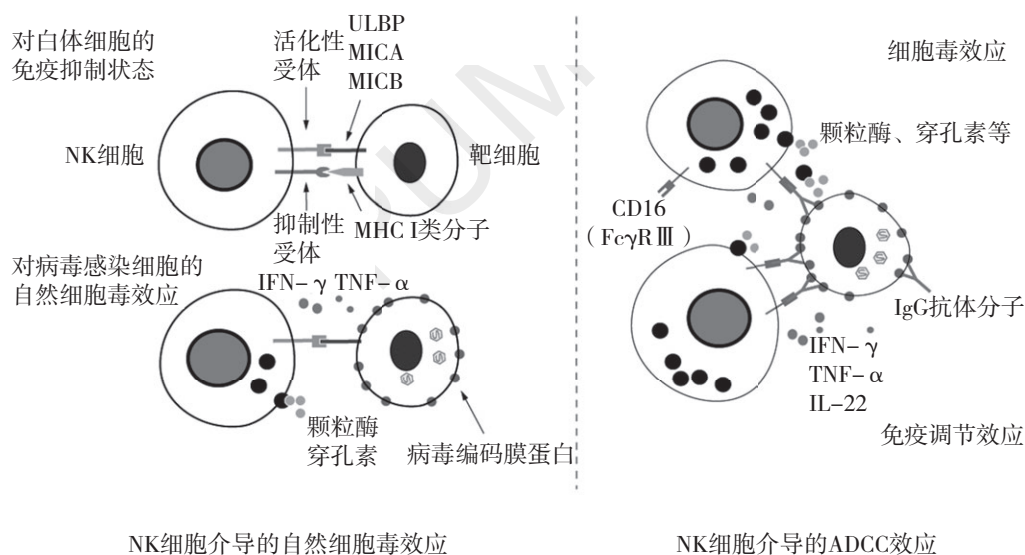


图 6-6 NK 细胞介导的自然细胞毒效应和 ADCC 效应机制

织；间质性树突状细胞（interstitial DC）分布在器官结缔组织；并指树突状细胞（interdigitating dendritic cell, IDC）分布胸腺；滤泡样树突状细胞（follicular dendritic cell, FDC）主要分布在外周免疫器官。DC 是机体功能最强的专职抗原递呈细胞（APC），它能高效地摄取、加工处理和递呈抗原，未成熟 DC 具有较强的迁移能力，成熟 DC 能有效激活初始型 T 细胞，处于启动、调控、并维持免疫应答的中心环节。成熟的 DC 可分为两个亚群：髓样 DC（myeloid DC, mDC）和浆细胞样 DC（plasmacytoid DC, pDC）。mDC 可表达 TLR2/4/5，在病原体等异种抗原刺激下，能分泌以 IL-12 和 IL-2 为主的细胞因子，诱导或促进 Th0 细胞分化为 Th1 细胞，引发和增强细胞免疫应答；pDC 可表达 TLR7/8/9，在病毒感染刺激下，主要产生以 IFN- α 为主的细胞因子，发挥抗病毒作用。

（四） $\gamma\delta$ T 细胞

$\gamma\delta$ T 细胞是一个独特的免疫细胞群体，主要存在于皮肤、小肠、肺和生殖器官等黏膜及皮下组织，是构成皮肤的表皮内淋巴细胞和黏膜组织的上皮内淋巴细胞的主要成分之一，另有少部分 $\gamma\delta$ T 细胞存在于外周血中。尽管 $\gamma\delta$ T 细胞表面有 $\alpha\beta$ T 细胞膜类似的 T 细胞受体（T cell receptor）表达，但其多样性十分有限，抗原识别谱较窄，只能识别多种病原微生物表达的共同抗原成分，如分枝杆菌的小磷酸化非肽分子、感染细胞表达的热休克蛋白和脂类抗原-CD1 分子复合物，以及某些病毒蛋白等。 $\gamma\delta$ T 细胞表面受体的抗原识别过程一般不需要 MHC 分子的辅佐。 $\gamma\delta$ T 细胞在功能上具有 T 辅助细胞（Th）和细胞毒 T 细胞（CTL）的双重细胞效应，其杀伤作用机制与 CD8 $^{+}$ $\alpha\beta$ T 细胞相似，可在不同性质抗原的刺激下分泌多种细胞因子如 IL-2、IFN- γ 和 TNF- α 等，促进免疫应答和炎症反应，也可直接识别靶细胞表面的抗原发挥即时杀伤效应。因此， $\gamma\delta$ T 细胞在皮肤黏膜表面的固有免疫防御中，特别是抵抗胞内菌和病毒感染中发挥第一道防线作用。

（五）NKT 细胞

自然杀伤 T 细胞（natural killer T cell, NKT）是一类天然存在的介导固有免疫和适应性免疫的免疫细胞群。其主要特征包括 TCR V α 链高度保守，能特异性识别抗原递呈细胞表面 MHC I 样分子 CD1d 递呈的糖脂类抗原，活化后的 NKT 细胞可以分泌多种细胞因子，直接或间接参与机体的免疫应答。I 型 NKT 细胞（iNKT）是研究得最多和最深入的细胞类型，人类 iNKT 细胞表达恒定的 TCRV α 24、V β 11 和 J α 18。NKT 细胞通过其分泌表达的 IFN- γ 及其下

游的效应细胞和分子，在清除病原微生物过程中发挥重要的作用。

四、病原体相关模式分子与模式识别受体

抗病原微生物的固有免疫应答中，吞噬细胞、树突状细胞以及病毒感染的宿主细胞主要通过模式识别（pattern recognition）来实现对病原微生物的识别。病原体内存在一些进化上非常保守的与致病性相关的组分，称为病原体相关模式分子（pathogen-associated molecular patterns, PAMP）（表 6-3）。PAMP 是病原微生物的分子标志，为共有的高度保守的组分，为微生物生存和致病性所必需，但不存在于高等哺乳动物中，免疫系统可借此区分“自己”（self）与“非己”（non-self）。即 PAMP 可被宿主免疫系统识别为入侵“危险信号”以诱发免疫应答。

在宿主细胞上存在一类可识别 PAMP 并介导固有免疫的受体，称为模式识别受体（pattern recognition receptors, PRR）。根据细胞定位和相关功能，PRR 主要可分为 4 个种类：位于血清中的分泌型 PRR、膜结合的内吞型 PRR、膜结合的信号转导型 PRR 和胞质的信号转导型 PRR。

表6-3 宿主模式识别受体及其识别的病原相关模式分子

模式识别受体（PRRs）	分类	病原体相关模式分子（PAMPs）	配体来源
血清中的分泌型 PRR			
MBL（甘露聚糖结合凝集素）	C 型凝集素超家族	甘露糖或岩藻糖样结构	细菌
C 反应蛋白	急性时相蛋白	细胞膜磷脂酰胆碱	细菌
膜结合的内吞型 PRR			
清道夫受体	清道夫受体家族	LPS，磷壁酸	细菌
甘露糖受体	C 型凝集素超家族	甘露糖或岩藻糖样结构	细菌
膜结合的信号转导型 PRR			
TLR1	TLR 家族	脂蛋白	分枝杆菌
TLR2	TLR 家族	肽聚糖、磷壁酸、脂阿拉伯甘露聚糖、	革兰氏阳性菌、分枝杆菌
TLR4	TLR 家族	LPS（脂多糖）	革兰氏阴性菌
TLR5	TLR 家族	鞭毛蛋白	细菌
TLR3	TLR 家族	dsRNA	脑心肌炎病毒、西尼罗病毒、呼吸道合胞病毒
TLR7/8	TLR 家族	ssRNA	人类免疫缺陷病毒、水痘一带状疱疹病毒、甲型流感病毒、仙台病毒、登革病毒
TLR9	TLR 家族	CpG DNA	细菌、单纯疱疹病毒、乙型肝炎病毒
胞质的信号转导型 PRR			
RIG-I	RLRs	5' ppp-dsRNA 短柄	甲型流感病毒、水痘一带状疱疹病毒、仙台病毒、乙型脑炎病毒、丙型肝炎病毒、西尼罗病毒、登革病毒、呼吸道合胞病毒

续表

模式识别受体（PRRs）	分类	病原体相关模式分子（PAMPs）	配体来源
MDA5	RLRs	长 dsRNA	脑心肌炎病毒、登革病毒、西尼罗病毒
NLR1（核苷酸结合寡聚化结构域样受体 1）	NLR 家族	肽聚糖降解产物二氨基庚二酸	革兰氏阴性菌
NLR2（核苷酸结合寡聚化结构域样受体 2）	NLR 家族	肽聚糖降解产物胞壁酰二肽	细菌
NOD2	NLR 家族	5' ppp-dsRNA	呼吸道合胞病毒
NALP3	NLR 家族	dsRNA、dsDNA、ssRNA	甲型流感病毒、腺病毒、仙台病毒
LGP2	RLRs	dsRNA	脑心肌炎病毒（动物）
cGAS	DNA 模式识别受体	DNA	各类 DNA 病毒
DAI	DNA 模式识别受体	富含 AT 的 dsDNA	单纯疱疹病毒
AIM2	DNA 模式识别受体	dsDNA	痘病毒

1. 分泌型 PRR 主要包括甘露聚糖结合凝集素和 C- 反应蛋白。

(1) 甘露聚糖结合凝集素 (mannose-binding lectin, MBL): 又称甘露聚糖结合蛋白 (mannan/mannose-binding protein, MBP), 其在肝中合成, 作为急性相应答反应成分释放入血清, 可识别并结合某些致病性细菌、病毒、酵母表面的甘露糖组分, 激活补体或发挥调理作用。

(2) C- 反应蛋白 (CRP): 是急性期蛋白, 可通过结合细菌细胞壁磷脂酰胆碱来发挥效应。

2. 内吞型 PRR 是巨噬细胞表面表达的多种跨膜受体, 可识别并结合相应 PAMP, 介导吞噬细胞对病原体的摄取和运输, 参与病原体的降解及病原体蛋白加工和处理。

(1) 清道夫受体 (scavenger receptor, SR): 可识别多种阴离子聚合物及乙酰化的低密度脂蛋白。清道夫受体包括至少 6 种不同的分子家族。A 型清道夫受体可结合多种细菌胞壁组分, 帮助巨噬细胞内化细菌。B 型清道夫受体则结合高密度脂蛋白, 并内化脂质。

(2) 甘露糖受体 (mannose receptor, MR): 可识别并结合多种病原微生物 (包括真菌、细菌和病毒) 的甘露糖残基。甘露糖受体可能主要作为宿主糖蛋白 (如 β - 葡萄糖醛酸酶和溶酶体水解酶) 的清除受体来发挥作用。 β - 葡萄糖醛酸酶和溶酶体水解酶具有甘露糖残基侧链, 并在炎症应答中升高。

3. 膜结合的信号转导型 PRR 主要有 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR)。TLR 识别 PAMP 后, 可传递固有免疫细胞活化或功能相关的信号, 从而促进固有免疫细胞发挥功能。TLR 在脊椎动物和非脊椎动物抵御感染的过程中均起到重要作用。

(1) 分类与结构: 目前已发现十多种哺乳动物的 TLR 分子, TLR1 ~ TLR9 较为保守, 在人体和小鼠内均表达, TLR10 只存在人体, TLR11 ~ TLR13 则只存在于小鼠。TLR 是 I 型跨膜蛋白, 由胞外区、跨膜区和胞内区组成。其中, 胞外区构成配体结合区, 能够识别各种病原体的相关成分; 跨膜区是富含半胱氨酸的结构域; 胞内区含有与高度保守的蛋白质相互作用区, 可以启动信号传递。TLRs 根据其亚细胞定位不同, 可分为细胞表面的 TLR (1、2、4、5、6) 和细胞内溶酶体、内体及内质网 TLR (3、7、8、9) 两大类。

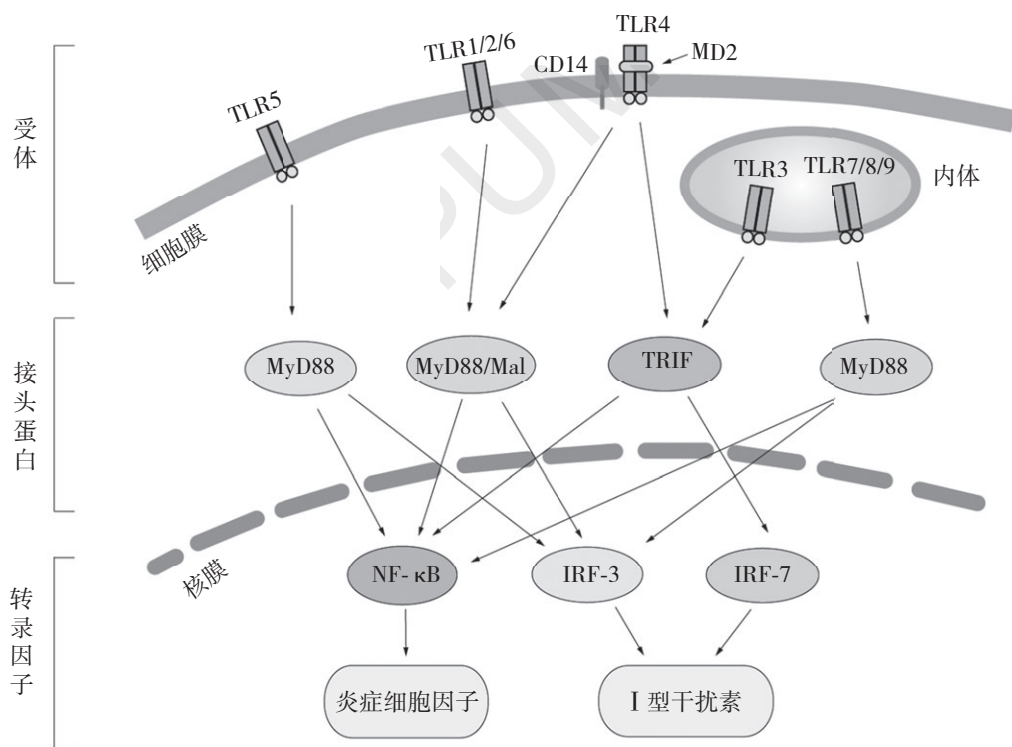


图 6-7 TLR 的活化与效应机制



彩图：TLR 的活化与效应机制

(2) 活化与效应机制：表达于细胞表面的 TLR 能够选择性识别和结合相应的 PAMP，进而启动激活细胞信号传导途径。TLR 介导的信号传导主要分为 MyD88 (myeloid differentiation factor 88) 依赖途径和 TRIF (TIR-domain-containing adaptor-inducing interferon- β) 依赖途径。TLR 在有效识别“非己”成分被活化后，通过直接增强天然免疫细胞的吞噬和杀伤能力、促进细胞因子和趋化因子以及抗微生物肽的分泌参与固有免疫 (图 6-7)。

(3) 功能：TLR 信号在固有免疫中发挥重要作用，能够启动和控制炎症反应的性质、强度和持续时间，同时能够调节抗原提呈细胞的成熟和 T 淋巴细胞向 Th1 或 Th2 分化，以及调节性 T 细胞 (Treg) 的活化，进而从多个途径影响适应性免疫应答，是连接固有免疫和适应性免疫的桥梁。如果 TLR 信号过度活化会导致免疫病理损害，所以机体的 TLR 信号被正、负调控分子精细地调控，从而保持机体免疫状态的平衡。

4. 胞质的信号转导型 PRR 是新近发现的在固有免疫应答中起重要作用的 PRR，主要包括 RIG 样受体和 MDA-5 受体等。其中，有些胞质的信号转导型 PRR 的功能类似于 TLR，在抗病毒感染中发挥作用 (图 6-8)。

(1) 视黄酸诱导基因 (retinoic acid-inducible gene I, RIG-I)：RIG-I 广泛表达在各种组织和细胞类型中，可被 IFN、TNF- α 和 LPS 等诱导表达上调。RIG-I 主要识别特异的 ssRNA 病毒。与真核生物 RNA 在核内转录时核酸起始端包含 5' - 三磷酸基团的形式不同，大多数 RNA 病毒不在核内复制，转录过程也不发生加帽修饰。RIG-I 主要识别 ssRNA 病毒的未经修饰的 5' - 三磷酸末端而发挥作用，当 ssRNA 病毒的 RNA 5' 端与病毒蛋白共价结合时而不能被 RIG-I 所识别。RIG-I 在 dsRNA 诱发的免疫应答中亦可能起到重要作用，当 dsRNA 被 RNA 多聚酶 III 识别并转录成 5' 端带三磷酸基团的 RNA (5' -PPP-RNA) 后，可被 RIG-I 识别。

(2) 黑色素瘤分化基因 5 (melanoma differentiation-associated gene 5, MDA-5)：MDA-5 与 RIG-I 结构类似，但只识别 dsRNA。RIG-I、MDA5 的分子结构包括：① N-端两个半胱氨酸蛋

白水解酶招募结构域 (caspase recruitment domain, CARD), CARD 与偶联在线粒体外膜上的线粒体抗病毒信号蛋白 (mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS) 相互作用, 负责传递信号; ②内含一个解旋酶, 可识别 dsRNA 及合成 dsRNA (如 poly I:C)。RIG-I 和 MDA-5 与配体结合后, 可活化 MAVS, 进而募集 IKK, 激活 NF- κ B 和 IRF3/7, NF- κ B 的活化促进炎症细胞因子的产生, IRF3/7 协同有效诱导 I 型 IFN 表达, 从而参与抗病毒效应。

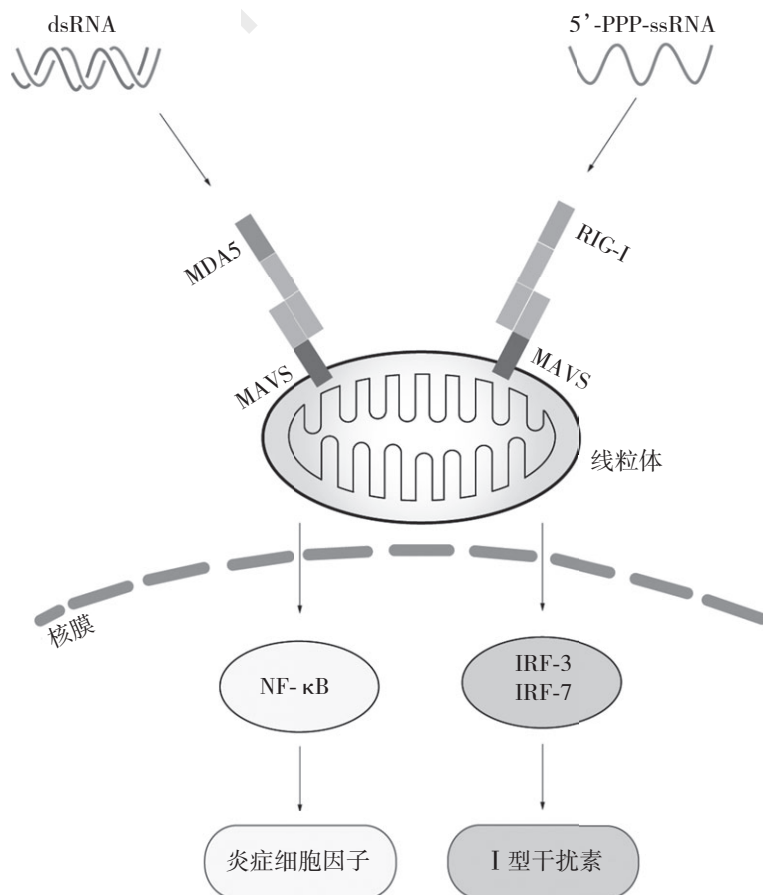


图 6-8 RLR 的活化与效应机制

此外, NOD 样受体 (NOD-like receptor, NLR) 以及最近发现的识别 DNA 的模式识别受体环状 GMP-AMP 合酶 (cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)、干扰素调控 DNA 依赖性激活因子 (DNA-dependent activator of interferon-regulator factors, DAI) 和黑色素瘤缺乏因子 (absent in melanoma 2, AIM2) 均在机体抗病毒固有免疫应答中发挥着重要的作用。

第二节 适应性免疫

适应性免疫 (adaptive immunity) 不同于固有免疫, 是在宿主与病原体及其代谢产物相互作用的过程中逐步形成的免疫应答, 具有特异性和记忆性等特点, 是宿主防御感染的第二道防线。抗胞外菌和胞内菌的适应性免疫的作用方式有所不同, 对胞外菌感染多以体液免疫为主, 对胞内菌感染主要由细胞免疫发挥作用。在抗病毒感染过程中, 适应性免疫发挥更重要的作用, 是最终清除病毒的主要因素。病毒抗原一般具有较强的免疫原性, 可诱导机体产生有效的体液免疫和细胞免疫应答。细胞外的病毒经吞噬细胞吞噬处理后, 通过 MHC II 类途径提呈病



彩图: RLR 的活化与效应机制

毒抗原,被 $CD4^+$ T 细胞识别,启动 Th 细胞应答,产生 $IFN-\gamma$ 、 $TNF-\alpha$ 和 $IL-2$ 等细胞因子,并辅助 B 细胞产生抗体。病毒在感染细胞内合成的病毒蛋白通过 MHC I 类途径提呈病毒抗原,被 $CD8^+$ T 细胞识别,启动 CTL 应答。

一、体液免疫

(一) 抗胞外菌体液免疫

胞外菌感染机体后,主要寄居于宿主细胞外的血液、淋巴液和组织液中的病原菌,称为胞外菌。其致病机制主要是产生内、外毒素等毒性物质和引起炎症反应。感染人类的大多数病原菌为胞外菌,如各种化脓性球菌、白喉棒状杆菌、破伤风梭菌、百日咳杆菌、致病性大肠埃希菌和霍乱弧菌等。抗胞外菌感染以体液免疫为主。

1. 黏膜免疫系统 (mucosal immune system, MIS) 即黏膜相关淋巴组织 (mucosa-associated lymphoid tissue, MALT),由呼吸道、消化道、泌尿生殖道黏膜上皮的淋巴细胞、黏膜固有层中非被膜化弥散的淋巴组织以及扁桃体、肠道的派氏集合淋巴结和阑尾等被膜化的淋巴组织所组成。MIS 是产生分泌型 IgA (sIgA) 的主要淋巴组织,对黏膜感染的防御具有十分重要的作用。在 MIS 中的肠淋巴滤泡上覆盖着特化的滤泡相关上皮 (follicle-associated epithelium, FAE),FAE 中有一种特化的抗原转运细胞,称为 M 细胞 (membranous cell, microfold cell),在运输病原菌、启动免疫应答中发挥作用。M 细胞表面有少量的毛刷状的微绒毛,胞质内容酶体很少,其基底面内陷形成胞内中央袋,内有巨噬细胞和淋巴细胞游走进出。在 M 细胞表面具有特殊的糖结合物,有利于与各种病原菌相互作用。一些共生微生物只黏附于肠道吸收细胞,而许多病原菌可黏附 M 细胞,可能与病原菌含有特殊的结构成分有关。黏附于 M 细胞的病原菌可被 M 细胞内吞,由于胞内容酶体少,病原菌可完整地穿越 M 细胞到达黏膜固有层 (图 6-9)。因此 M 细胞可将病原菌递呈给中央袋内的抗原递呈细胞,再由抗原递呈细胞活化淋巴细胞,由此启动免疫应答,引起以产生 sIgA 为主的适应性体液免疫应答。

2. 抗体的作用 抗体抗胞外菌感染的主要保护性免疫机制是以特异性抗体的作用为中心的防御过程,是 B 细胞介导的免疫应答反应。胞外菌的胞壁和荚膜等成分中的多糖抗原属于胸腺非依赖性抗原 (thymus independent antigen, TI-Ag),能直接激发 B 细胞产生 IgM 抗体。

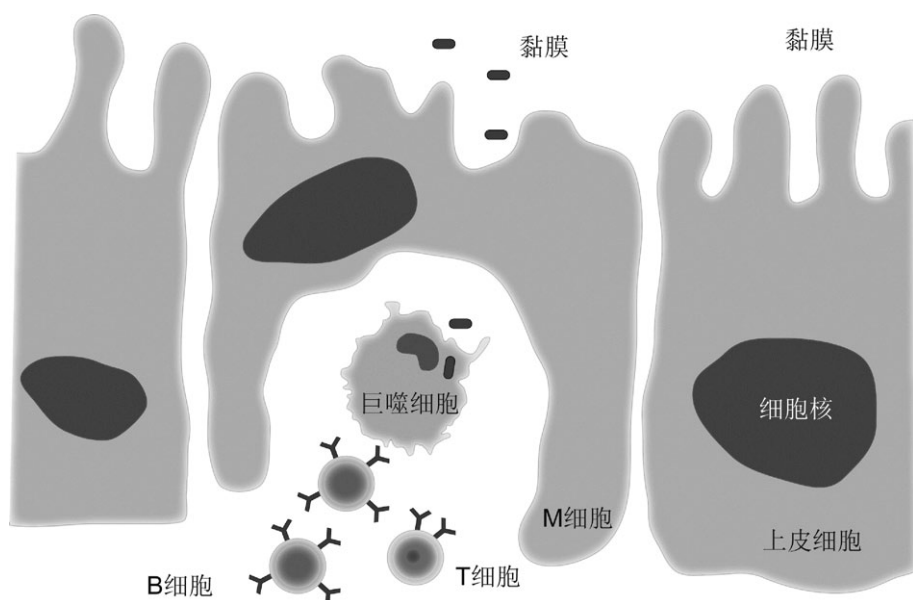


图 6-9 位于黏膜上皮细胞之间的 M 细胞

胞外菌的大多数蛋白抗原属于胸腺依赖性抗原 (thymus dependent antigen, TD-Ag), 需抗原递呈细胞和 Th2 细胞的辅助诱发抗体产生, 早期产生 IgM, 随后转变以产生 IgG 为主, 并产生 IgA 或 IgE。黏膜免疫系统产生的抗体主要是 sIgA。抗体通过抵抗细菌侵入、激活补体溶解细菌、通过免疫调理增强吞噬细胞吞噬细菌及中和细菌毒素的作用, 最终清除病原菌及其毒素。抗体的抗胞外菌免疫主要体现以下方面:

(1) 阻止细菌黏附: 病原菌要侵入机体首先要黏附于宿主细胞表面。这种黏附是细菌表面黏附素与宿主细胞膜上受体的特异性结合。黏膜免疫系统分泌的 sIgA 对阻止病原菌的黏附起着尤为重要的作用。sIgA 可与细菌菌毛等黏附素结合, 从而封闭黏附素与上皮细胞上相应受体的相互作用。如唾液 sIgA 能阻止链球菌黏附口颊黏膜、肠道 sIgA 可阻止肠道病原菌如霍乱弧菌等的黏附。

(2) 调理吞噬作用: 抗体单独存在条件下或与补体联合均可发挥调理作用, 促进吞噬细胞对某些病原体的吞噬。①通过 IgG Fc 段结合吞噬细胞: IgG 的 Fab 段与细菌表面抗原结合, 其 Fc 段与吞噬细胞结合。②通过激活补体产生 C3b 结合吞噬细胞: IgG、IgM 与细菌抗原结合形成免疫复合物可激活补体, 复合物上形成的 C3b 可与吞噬细胞上的 C3b 受体结合。

(3) 中和细菌外毒素: 抗体与细菌外毒素结合, 可使外毒素失去毒性作用。细菌外毒素大都由 A 和 B 两种亚单位构成, A 亚单位具有生物学活性的部分, B 亚单位则具有与靶细胞相应受体结合的位点, 特异性抗体即抗毒素与外毒素 B 亚单位结合后改变了毒素分子的构型, 使毒性部位的 A 亚单位不能发挥作用。抗毒素与外毒素形成的复合物, 易被吞噬细胞吞噬清除。对以外毒素为主要致病因素的病原菌如白喉棒状杆菌等的感染, 机体产生的抗毒素是主要的免疫保护机制。

(4) 抑制细菌对营养素的同化作用: 当细菌抗原或蛋白参与营养素的摄取或运输的情况下, 其特异性抗体能够抑制细菌对营养素的同化作用。例如, 某些铁离子螯合物具有抗原性, 其抗体能够防止铁离子的同化作用, 进而抑制细菌的生长, 因为铁离子是某些细菌生长所必需的。

(二) 抗病毒体液免疫

病毒有严格的细胞内寄生性, 依赖宿主细胞提供的酶类和能量代谢物质才能够完成其复制周期, 病毒的这一特点决定了体液免疫在抗病毒感染中作用的局限性, 即体液免疫主要作用于细胞外游离的病毒。机体在病毒感染后, 能产生针对病毒多种抗原成分的特异性抗体, 主要是 IgM、IgG 和 sIgA。IgM 抗体在病毒感染后的 2 ~ 3 天即可出现, 持续时间较短, 约 1 周后 IgG 抗体的滴度则明显高于 IgM, 且可持续几个月甚至几年之久, IgG 是唯一能够通过胎盘的抗体, 在新生儿抗感染中有重要作用。一般经黏膜感染并在黏膜上皮细胞中复制的病毒, 在黏膜局部可诱生 sIgA 抗体。抗体对细胞外游离的病毒和病毒感染细胞可通过不同方式发挥作用。

1. 抗体对游离病毒的作用 可以阻断包膜病毒和无包膜病毒的感染。由于包膜病毒可通过包膜蛋白、无包膜病毒可通过衣壳蛋白与易感细胞上相应的受体结合而吸附、进而侵入细胞, 机体内有些特异性抗体则可以通过结合病毒吸附蛋白, 从而阻断病毒感染的发生。这种能与病毒结合, 中和病毒感染能力的抗体称为中和抗体 (neutralizing antibody), 如流行性感冒病毒、乙型脑炎病毒等的血凝抑制抗体。中和抗体的作用机制包括: ①改变病毒表面构型, 或与吸附于易感细胞受体的病毒表位结合, 从而阻止病毒吸附和侵入易感细胞; ②与病毒形成免疫复合物易于被巨噬细胞吞噬和清除; ③与无包膜病毒结合并将其覆盖, 可阻断病毒在进入细胞时脱壳, 抑制病毒的复制环节; ④与包膜病毒表面抗原结合后, 通过激活补体使病毒裂解。

中和抗体是针对病毒表面的、与病毒入侵有关的抗原产生的抗体, 具有保护作用, 是机体灭活游离病毒的主要抗体。而有些抗体是针对病毒内部抗原如核蛋白、复制酶等的抗体, 或针对与病毒入侵易感细胞无关的表面抗原, 如具有细胞融合功能的酶的抗体, 这些抗体称为非中和抗体, 没有保护作用, 但有些具有诊断价值, 如补体结合抗体。

2. 抗体对病毒感染细胞的作用 主要包括①包膜病毒感染细胞后,细胞膜上可出现病毒编码的蛋白,抗体与其结合后,在补体的参与下,可使细胞裂解或起调理作用,促进巨噬细胞吞噬病毒感染细胞;②抗体与病毒感染细胞结合,通过NK细胞、巨噬细胞及中性粒细胞的ADCC作用杀伤感染细胞。病毒一旦进入宿主细胞后,抗体则不能直接发挥抗病毒作用。对细胞内病毒的清除,主要依赖于CTL和Th1细胞释放的细胞因子。它们主要在病毒感染的局部发挥作用。

二、细胞免疫

(一) 抗胞内菌细胞免疫

感染机体后,主要寄居于细胞内的细菌称为胞内菌(intracellular bacteria)。根据胞内菌的寄居特征,又可分为兼性胞内菌(facultative intracellular bacteria)和专性胞内菌(obligate intracellular bacteria)。兼性胞内菌不仅可以在细胞内生存,也可在体外无活细胞的适宜条件下生长、繁殖。对人致病的胞内菌主要有结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌、伤寒沙门菌、布鲁菌、嗜肺军团菌和单核细胞增生李斯特菌等。专性胞内菌只能在细胞内生存和繁殖,包括立克次体、衣原体等。胞内菌感染的特征包括细胞内寄生,低毒性,呈慢性感染过程,往往有肉芽肿形成,并多伴有迟发型超敏反应等。由于抗体不能进入细胞内发挥作用,以及胞内菌能抵抗吞噬细胞的胞内杀菌作用等原因,抗胞内菌感染的获得性免疫主要依赖于细胞免疫,即主要通过Th1细胞和CTL细胞完成。

胞内菌主要寄生在单核吞噬细胞中,并通过细胞表面MHC II类分子的抗原递呈途径发生免疫应答,因此CD4⁺T细胞在抗胞内菌感染中起主要作用。按分泌的细胞因子不同,CD4⁺T细胞分为具有不同功能的Th1和Th2细胞。Th1细胞主要分泌IL-2和IFN- γ 等,促进细胞免疫应答;Th2细胞主要分泌IL-4、IL-5、IL-6、IL-10和IL-13,增强体液免疫应答。Th1细胞通过分泌IFN- γ 等细胞因子活化巨噬细胞和CTL,有助于杀伤胞内菌。IFN- γ 是巨噬细胞最强的激活剂,可使巨噬细胞的吞噬和杀伤活性明显增强。Th1细胞分泌的细胞因子亦可引起迟发型超敏反应,有利于对胞内菌的清除。另外,胞内菌进入宿主吞噬细胞后,可以自吞噬体进入细胞质,其肽段被MHC I类分子提呈到细胞表面,可诱导CD8⁺T细胞活化,启动CTL应答。CTL可释放穿孔素(perforin)、颗粒酶(granzyme)等特异性成分,作用胞内菌感染细胞,使细菌散出,并在抗体或补体的调理作用下被吞噬细胞杀灭。

(二) 抗病毒细胞免疫

与抗胞内菌的细胞免疫的机制相似,抗病毒细胞免疫主要由Th1细胞和CTL细胞所介导。活化的Th1细胞可分泌IL-2、IFN- γ 、TNF- α 等多种细胞因子,在抗病毒感染中发挥主要作用,主要作用有:①促进CTL、NK细胞及巨噬细胞活化和增殖,介导细胞毒效应;②与其受体的相互作用可明显改变靶细胞的基因表达,阻止病毒感染的进程;如IFN- γ 可增强靶细胞MHC分子和蛋白激酶R(protein kinase R, PKR)、2'-5'-A合成酶等抗病毒蛋白的表达。CTL细胞活化后,可释放穿孔素和颗粒酶,通过细胞裂解和细胞凋亡两种机制,直接杀伤病毒感染的靶细胞。当病毒仅在靶细胞中复制,尚未装配成完整病毒体之前,CTL已可识别并杀伤在细胞表面有病毒抗原表达的靶细胞,而发挥阻断病毒复制的作用。然后,在抗体配合下,由吞噬细胞清除靶细胞被破坏后释放出的病毒。CTL的作用是使病毒感染恢复的主要机制。

三、免疫病理损伤

在机体清除入侵病原微生物的过程中,由病原微生物感染诱生的免疫应答也可能对机体造成免疫病理性损伤。

（一）抗胞外菌的免疫病理损伤

宿主抗胞外菌的免疫应答可诱导吞噬细胞和 T 细胞等免疫细胞产生大量的炎性介质和生物活性物质，在清除病原微生物的同时，也可造成免疫损伤，导致炎症和败血症休克等疾病。中性粒细胞和巨噬细胞活化后，可以产生活性氧中间物、活性氮中间物和溶酶体酶等效应产物，在清除胞外菌感染的同时也可引起组织损伤，更严重的是细菌产物刺激免疫细胞产生的细胞因子可诱导机体产生大量的急性期蛋白，引发全身炎症综合征。败血症休克是由某些革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌感染扩散造成的严重病理损伤。当机体免疫力低下时，侵入机体或体内正常寄居的病原体大量繁殖，释放其毒性产物，并激活体液和细胞免疫应答，产生各种炎性介质和生物活性物质，引起机体一系列病理生理变化，导致循环衰竭和广泛的血管内凝血。细菌组分包括 LPS 和肽聚糖激活巨噬细胞产生大量的细胞因子，引起细胞因子风暴（cytokine storm），介导败血症休克的早期反应。另外，有些细菌毒素如葡萄球菌的肠毒素、链球菌的致热外毒素等可以作为超抗原，非特异地激活具有相同 V β TCR 的 CD4⁺ T 细胞活化，产生大量的细胞因子，介导败血症休克或全身炎症综合征。某些情况下，有些胞外菌与人体组织存在交叉抗原，诱导的抗胞外菌抗体可能因交叉反应而致病。如咽部或皮肤感染溶血性链球菌数周后，可出现风湿热和肾小球肾炎；咽部或皮肤感染某些血清型的 β -溶血性链球菌后，机体产生的抗细菌胞壁 M 蛋白的抗体可通过交叉反应与心肌蛋白结合，并沉积在心脏引发 II 型超敏反应而导致心肌炎； β -溶血性链球菌抗原与其抗体结合形成的免疫复合物，沉积在肾小球基底膜则引发 III 型超敏反应而导致肾小球肾炎。

（二）抗胞内菌的免疫病理损伤

在抗胞内菌的免疫应答中，针对胞内菌蛋白质抗原的迟发型超敏反应可能是引起组织损伤的主要原因。胞内菌被吞噬细胞吞入后，可以抵抗吞噬细胞的杀伤而长期在细胞内生存，引起慢性抗原刺激以及 T 细胞和巨噬细胞活化，围绕胞内菌形成肉芽肿。这种类型的炎症反应可以局限和防止胞内菌感染扩散，但是由于肉芽肿炎症造成的组织坏死和纤维化形成，导致严重的功能障碍。如在典型的胞内菌之一结核分枝杆菌感染中，宿主体内抗结核分枝杆菌的保护性免疫反应和病理性迟发型超敏反应共同存在，迟发型超敏反应可导致严重的组织损伤。结核分枝杆菌可以通过多种机制，包括抑制吞噬溶酶体融合、抑制巨噬细胞凋亡、破坏活性氧中间物等，逃避巨噬细胞的杀菌作用并干扰抗原释放，从而长期寄生于巨噬细胞中，导致潜伏感染或者持续性感染。在潜伏感染情况下，结核分枝杆菌可以在机体内长期生存，而不会引起病理损伤和临床症状；当机体免疫力低下时，细菌会被再次激活，导致感染性疾病的发生。在结核分枝杆菌慢性感染中，Th1 激活并迁移至肺部结核分枝杆菌感染的巨噬细胞周围，介导迟发型超敏反应，控制病菌扩散并使炎症反应局限化。如果 Th1 免疫应答不足或炎症过度出现，就会导致形成中心是感染结核分枝杆菌的巨噬细胞，外围是 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞和中性粒细胞，最外围是成纤维细胞的慢性肉芽肿，造成组织坏死和纤维化，引起功能障碍和临床疾病。

（三）抗病毒的免疫病理损伤

CTL 在杀伤病毒感染的靶细胞同时也造成细胞损伤，并在感染局部引起炎症反应。例如，HBV 感染时 CTL 介导的免疫应答是彻底清除 HBV 并导致肝炎损伤的主要原因。在急性自限性乙型肝炎患者肝活检标本中，存在大量活化的肝炎病毒特异性、MHC I 类分子限制性的 CD8⁺ CTL；在慢性乙型肝炎患者免疫清除阶段，CTL 应答无法清除肝中 HBV 感染，反而导致肝炎及损伤；但是在 HBV 感染的免疫缺陷患者或婴幼儿期免疫耐受阶段，一般不会出现肝炎等疾病症状，而是作为病毒携带者传染其他健康人群；提示 CTL 可能介导了 HBV 感染造成的肝组织损伤。此外，在 HBV 感染的患者体内还发现病毒抗原和特异性抗体形成的免疫复合物，可沉积在血管中导致全身性血管炎。另外，某些病毒感染时，病毒抗原可以通过分子模拟

(molecular mimicry) 等作用, 导致抗病毒的免疫应答对宿主自身抗原产生免疫反应, 从而造成宿主组织损伤。

小结

宿主抵御和清除入侵病原微生物的免疫防御功能即为抗感染免疫, 包括固有免疫和适应性免疫。固有免疫是在种系发育和进化过程中建立起的防御病原微生物的免疫体系, 由屏障结构、非特异性免疫细胞和非特异性免疫分子组成。适应性免疫是个体出生后在生活过程中与病原微生物等抗原物质接触后产生的免疫防御功能, 分为体液免疫和细胞免疫两种类型; 其共同特点是后天获得, 具有针对抗原的专一性, 再次接触相同抗原时能迅速发生强烈的免疫应答。

固有免疫生理屏障结构包括物理、化学和微生物屏障。参与固有免疫的可溶性小分子有补体、溶菌酶、防御素、急性期蛋白、细胞因子等。干扰素作为最重要的抗病毒细胞因子, 包括 I 型、II 型以及 III 型干扰素; I 型和 III 型干扰素可发挥强大的抗病毒效应, II 型干扰素主要发挥免疫调节和抗肿瘤作用。参与固有免疫的细胞包括吞噬细胞、NK 细胞、DC 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞和 NKT 细胞等。吞噬细胞、树突状细胞以及病毒感染的宿主细胞主要通过自身存在的模式识别受体 (PRR) 识别病原微生物保守的病原体相关模式分子 (PAMP) 以启动固有免疫。PRR 主要可分为 4 个种类, 包括位于血清中的分泌型 PRR、膜结合的内吞型 PRR、膜结合的信号转导型 PRR 和胞质的信号转导型 PRR。

抗感染适应性免疫是宿主在与病原体及其代谢产物相互作用的过程中逐步形成的, 具有特异性和记忆性等特点, 是宿主防御感染的第二道防线。抗胞外菌和胞内菌的适应性免疫的作用方式有所不同, 对胞外菌感染多以体液免疫为主, 对胞内菌感染则主要由细胞免疫发挥作用。在抗病毒感染过程中, 适应性免疫发挥更重要的作用, 是最终清除病毒的主要因素。

适应性免疫在清除病原微生物感染的过程中可能造成宿主组织细胞损害, 即为免疫病理损伤。

(沈 弢 张 毓)

微生物的生命活动与环境有着密切的关系。适宜的环境促进微生物生长繁殖，不适宜的环境抑制微生物生长、甚至杀灭微生物。在医学、生物科学、工农业生产实践和日常生活中，常采用多种物理或化学方法来抑制或杀灭外界环境及体表的微生物，以防止微生物污染或病原微生物传播。如英国外科医生李斯特（Joseph Lister）采用苯酚消毒空气、手术器械、洗手等措施，显著降低了医院的交叉感染和死亡率，创建了对医院环境的消毒灭菌法和手术的无菌操作方法。常用以下术语来表示物理或化学方法对微生物的灭菌程度。

1. 灭菌（sterilization） 杀灭物体上所有微生物的方法，包括杀灭病原微生物、非病原微生物以及细菌芽胞。凡需要进入机体内部的器具都要求无菌，如手术器械、注射用具、引流导管等。

2. 消毒（disinfection） 杀灭物体上病原微生物的方法，但不一定能杀死芽胞和非病原微生物。用以消毒的化学药品称为消毒剂，一般消毒剂在常用浓度下，只对细菌的繁殖体有效，对细菌的芽胞无效。

3. 防腐（antiseptis） 防止或抑制微生物生长繁殖的方法。用于防腐的化学药品称为防腐剂。许多化学药品在高浓度时为消毒剂，低浓度时为防腐剂。

4. 抑菌（bacteriostasis） 抑制细菌或真菌生长繁殖的方法。常用的抑菌剂（如各种抗生素）能可逆性抑制细菌的繁殖，但不直接杀死细菌。

5. 无菌（asepsis） 不含活菌的意思，是灭菌的结果。防止微生物进入机体或物体的操作方法，称为无菌操作。进行外科手术、医疗基本操作及微生物学实验等过程中，均需进行严格的无菌操作。

第一节 物理消毒灭菌法

物理消毒灭菌采用的方法主要包括热力、辐射、过滤、干燥低温、超声波等。

一、热力灭菌法

利用高温来杀灭微生物的方法，是最常用的消毒灭菌法。多数无芽胞细菌经过 55 ~ 60℃ 作用 30 ~ 60 分钟后死亡。而细菌芽胞对高温有很强的抵抗力，如肉毒梭菌芽胞需煮沸 3 ~ 5 小时才死亡。热力灭菌法可分为干热灭菌法和湿热灭菌法两类，在同一温度下后者的效力比前者大。

1. 干热灭菌法 一般细菌的繁殖体在干燥状态下，80 ~ 100℃ 1 小时可被杀死，芽胞需要加热至 160 ~ 170℃ 2 小时才能被杀灭。干热灭菌的方法有：

（1）焚烧：用火焚烧是一种彻底的灭菌方法，破坏性大，仅适用于废弃物品或动物尸体等。

（2）烧灼：直接用火焰灭菌，适用于实验室的金属器械（镊、剪、接种环等）、玻璃试管口和瓶口等。

(3) 干烤：在干烤箱内进行，加热至 $160 \sim 170^{\circ}\text{C}$ 维持 2 小时，可杀灭包括芽胞在内的所有微生物，适用于耐高温的玻璃器皿、瓷器、玻璃注射器等。

(4) 红外线 (infrared)：是波长为 $0.77 \sim 1000 \mu\text{m}$ 的电磁波，以 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ 波长的热效应最强。红外线的热效应只能在照射到的表面产生，不能使物体均匀加热，常用于医疗器械和碗、筷等餐具的灭菌。

2. 湿热灭菌法 湿热法可在较低的温度下达到与干热法相同的灭菌效果，因为：①湿热中蛋白质吸收水分，更易凝固变性；②水分子的穿透力比空气大，更易均匀传递热能；③蒸汽有潜热存在，水由气态变成液态释放出大量热能，可迅速提高物体的温度。常用的湿热灭菌法有：

(1) 巴氏消毒法 (pasteurization)：由法国微生物学家巴斯德 (Louis Pasteur) 创建，方法是加热 $61.1 \sim 62.8^{\circ}\text{C}$ 30 分钟，或者 71.7°C 经 15 ~ 30 秒，可杀死乳制品中的链球菌、沙门菌、布鲁菌、结核分枝杆菌等病原菌，但仍保持其中不耐热成分不被破坏，用于乳制品和酒类消毒。

(2) 煮沸法：在 1 个标准大气压下水的沸点为 100°C ，细菌繁殖体 5 分钟能被杀死，芽胞需 1 ~ 2 小时才能被杀灭。如果水中加入 2% 碳酸氢钠，沸点提高到 105°C ，可促进芽胞被杀灭，也防止金属器皿生锈，适合高原地区。常用于餐具、刀剪、注射器的消毒。

(3) 流通蒸汽法：在 1 个标准大气压下利用 100°C 的水蒸气进行消毒。常用器械是 Arnold 消毒器或普通蒸笼，消毒 15 ~ 30 分钟，但不能杀灭全部细菌芽胞。

(4) 间歇蒸汽灭菌法 (fractional sterilization)：利用反复多次的流通蒸汽加热，杀灭所有微生物，包括芽胞。方法同流通蒸汽灭菌法，但要重复 3 次以上，每次间歇是将要灭菌的物体放到 37°C 温箱过夜，目的是使芽胞发育成繁殖体。若被灭菌物不耐 100°C 高温，可将温度降至 $75 \sim 80^{\circ}\text{C}$ ，加热延长为 30 ~ 60 分钟，并增加重复次数。适用于不耐高热的含糖或牛奶的培养基。

(5) 高压蒸汽灭菌法 (autoclaving)：可杀灭包括芽胞在内的所有微生物，是灭菌效果最好、应用最广的灭菌方法。方法是需灭菌的物品放在高压锅内，加热时蒸汽不外逸，高压锅内温度随着蒸汽压的增加而升高。在 103.4kPa (1.05 kg/cm^2) 蒸汽压下，温度达到 121.3°C ，维持 15 ~ 20 分钟。适用于普通培养基、生理盐水、手术器械、玻璃容器及注射器、敷料等物品的灭菌。由于高压蒸汽灭菌所需时间较长，近年来，在此基础上又研发了一种新型的预真空压力蒸汽灭菌器，即先将灭菌器内的空气抽出 98%，再送入蒸汽，灭菌时间只需 3 ~ 4 分钟，特别适合周转快的物品。

二、辐射杀菌法

1. 紫外线 紫外线的杀菌波长范围为 $240 \sim 300 \text{ nm}$ ，其中 $250 \sim 270 \text{ nm}$ 波长的紫外线杀菌力最强，原因是由于在此波长范围内的紫外线易被细菌 DNA 吸收。紫外线杀菌机制是破坏细菌 DNA 的构型，使同一条 DNA 链上相邻的嘧啶通过共价键结合成二聚体，从而干扰 DNA 的正常碱基配对，导致细菌死亡或变异。但紫外线穿透力较弱，玻璃、纸张、尘埃、水蒸汽等均能阻挡紫外线穿过，故紫外线只适用于空气和物体表面的消毒。另外，杀菌波长的紫外线对人体皮肤、眼睛均有损伤作用，使用时要注意防护，更不要直接在紫外线灯照射下进行工作。

2. 电离辐射 具有较高的能量与穿透力，因而对细菌产生极强的致死效应，其杀菌机制是干扰 DNA 的合成、破坏细胞膜、引起酶系统的紊乱等。常用的射线包括 β 射线、 γ 射线等。 β 射线可由电子加速器产生，其穿透性差，但作用时间短、安全性好； γ 射线多用 ^{60}Co 为放射源，其穿透力强，但作用时间慢，安全措施要求高。电离辐射常用于大量的一次性医用塑料注射器、吸管、导管等的灭菌；也可用于药品和生物制品的消毒灭菌。

3. 微波 波长为 $1 \sim 1000 \text{ mm}$ 的电磁波统称为微波，可穿透玻璃、塑料薄膜与陶瓷等物质，但不能穿透金属表面，用于非金属器械及餐具消毒。微波主要靠热效应发挥作用，但微波

的热效应必须在有一定含水量的条件下才能显示出来，在干燥条件下，即使再延长消毒时间也不能达到有效的消毒效果。

三、滤过除菌法

滤过除菌法（filtration）是用机械阻留方法除去液体或空气中的细菌、真菌，但不能除去病毒和支原体。常利用具有微细小孔的滤菌器的筛滤和吸附作用，使带菌液体或空气通过滤菌器后成为无菌液体或空气。该法常用于不耐热的血清、抗毒素、抗生素及药液等的除菌。常用的器具是含有微小孔径的滤菌器如薄膜滤菌器、陶瓷滤菌器、石棉滤菌器和玻璃滤菌器等。

近年来，医院手术室、烧伤病房以及无菌制剂室已逐步采用生物洁净技术，通过初、中、高三级高效滤菌器以除去空气中直径 $0.5 \sim 5 \mu\text{m}$ 的尘埃微粒，从而保持室内的无菌环境。初级过滤采用塑料泡沫海绵，过滤率在 50% 以下；中效过滤采用无纺布，过滤率在 50% ~ 90%；高效过滤用超细玻璃纸，过滤率为 99.99%。这种经过高度净化的空气形成一种细薄的气流，以均匀的速度向同一方向输送，均匀分布于室内，不产生涡旋，聚集的尘埃通过回风口把它带出房间。凡在送风系统上装有高效过滤系统的房间，一般称为生物洁净室（biological clean room）。

第二节 化学消毒灭菌法

许多化学药物能影响细菌的化学组成、物理结构和生理活动，将这些化学药物称为化学消毒剂。化学消毒剂主要通过以下机制杀灭细菌：①使菌体蛋白质变性或凝固，如重金属盐类、氧化剂、酸、碱、醇类、酚类等；②干扰细菌的酶系统和代谢，导致细菌生长代谢障碍而死亡，如氧化剂、重金属盐类等；③损伤细菌细胞壁或改变细胞膜的通透性，使细菌破裂、溶解，如表面活性剂、酚类等。化学消毒剂一般对人体组织细胞有害，所以只能外用而不能内服，主要用于体表、器械及周围环境的消毒。化学消毒剂的应用要适度、适量，消毒时间不能过长。要注意消毒剂对人的毒副作用、对环境的污染和对物体的腐蚀作用。

化学消毒剂种类繁多，不同的消毒剂其杀灭微生物的能力和用途也不同，在临床上，应根据目的选择不同的消毒剂。常用消毒剂的种类、浓度和用途见表 7-1。

表7-1 常用消毒剂的种类、作用机制及用途

类别	作用机制	常用消毒剂	用途
酚类	蛋白质变性，损伤细胞膜，灭活酶类	3% ~ 5% 苯酚、2% 来苏、0.01% ~ 0.05% 氯己定	地面、器具表面消毒；皮肤消毒、术前洗手，阴道冲洗等
醇类	蛋白质变性与凝固，干扰代谢	70% ~ 75% 乙醇	皮肤、体温计消毒（不用于伤口和黏膜）
重金属盐类	氧化作用，蛋白质变性与沉淀，灭活酶类	0.05% ~ 0.01% 升汞 2% 红汞水溶液、0.1% 硫柳汞 1% 硝酸银	非金属器皿的消毒；皮肤、黏膜消毒 皮肤消毒；手术部位消毒 新生儿滴眼，预防淋球菌感染
氧化剂	氧化作用，蛋白质沉淀	0.1% 高锰酸钾 3% 过氧化氢 0.2% ~ 0.3% 过氧乙酸 2% ~ 2.5% 碘酊 10% ~ 20% 漂白粉 0.2% ~ 0.5% 氯胺	皮肤、尿道、蔬菜和水果消毒 创口、皮肤黏膜消毒 塑料玻璃器材消毒 皮肤消毒 地面、厕所与排泄物消毒 室内空气及表面消毒，浸泡衣服

续表

类别	作用机制	常用消毒剂	用途
表面活性剂	损伤细胞膜，灭活氧化酶等酶活性，蛋白质沉淀	0.05% ~ 0.1% 苯扎溴铵	外科手术洗手，皮肤黏膜消毒，浸泡手术器械
		0.05% ~ 0.1% 杜米芬	皮肤创伤冲洗，金属器械塑料橡皮类消毒
烷化剂	菌体蛋白质及核酸烷基化	10% 甲醛	物品表面消毒，空气消毒，手术器械、敷料等消毒
		2% 戊二醛	精密仪器、内镜消毒
染料	抑制细菌繁殖，干扰代谢	2% ~ 4% 甲紫	浅表创伤消毒
酸碱类	破坏细胞膜和细胞壁，蛋白质凝固	5 ~ 10 ml/m ³ 醋酸加等量水蒸发	空气消毒
		生石灰（按 1:4 ~ 1:8 比例加水配成糊状）	地面、排泄物消毒

消毒剂种类和性质、环境条件、微生物种类和数量等因素对消毒剂的灭菌效果有显著影响。

1. 消毒剂的性质、浓度与作用时间 消毒剂的杀菌力与其化学性质相关。例如，戊二醛对细菌繁殖体、真菌和病毒都有强消毒作用，也可杀死细菌芽胞，是广谱的消毒剂。表面活性剂只对细菌繁殖体和某些病毒有作用，不能杀死真菌和细菌芽胞，而且对革兰氏阳性菌的杀菌效果比对革兰氏阴性菌强。一般规律是消毒剂浓度越高，作用时间越长，杀菌效果越好。许多消毒剂在高浓度时有杀菌作用，低浓度时只有抑菌作用。但醇类例外，70% ~ 75% 乙醇（酒精）的消毒效果比 100% 更好，可能与高浓度乙醇迅速凝固蛋白质，无法渗入微生物内部有关。

2. 温度与酸碱度 通常消毒剂的杀菌作用随温度升高而增强。例如，2% 戊二醛杀灭 10⁴/ml 炭疽芽胞杆菌芽胞，20℃时需 15 分钟，40℃为 2 分钟，56℃仅 1 分钟即可。酸碱度也影响消毒剂的杀菌作用，例如相同浓度的苯扎溴铵，杀菌作用随 pH 降低而减弱，含氯消毒剂在酸性条件下杀菌效率最高。

3. 微生物的种类、数量 不同微生物对消毒剂的敏感性不同。革兰氏阳性菌通常比革兰氏阴性菌对消毒剂更敏感。结核分枝杆菌、细菌芽胞和真菌孢子对消毒剂有较强的抵抗力。有包膜病毒比无包膜病毒更敏感，脂溶性消毒剂对亲水性病毒如脊髓灰质炎病毒和其他肠道病毒几乎无作用。因此，必须根据消毒对象选择合适的消毒剂。此外，微生物的数量越大，所需消毒的时间就越长。

4. 有机物 细菌常与血液、尿液、痰或脓汁混合，这些液体中的有机物与消毒剂作用，可以稀释或中和消毒剂，影响消毒剂的效果。受有机物影响较大的消毒剂是表面活性剂、乙醇、次氯酸盐、升汞等，酚类消毒剂受有机物影响相对小。对于痰、呕吐物、粪便的消毒，宜选择受有机物影响较小的含氯石灰、生石灰及酚类化合物为宜。

第三节 生物安全

从事微生物相关的工作均有被感染和传播微生物的风险，20 世纪 80 年代发达国家开始对病原生物进行分级分类管理，规范生物安全，建立了生物安全实验室分级制度。我国从 2004 年开始对生物实验室进行生物安全分级，以避免生物危险因素发生实验室感染及向实验室外扩散，目前基本建立了严格的生物安全法规和认证监测体系。

病原微生物危害程度分类确定的主要因素是病原微生物的致病性、传播方式和宿主范围，同时还要考虑当地人群免疫水平、易感群体密度和流动性、传播媒介以及当地卫生水平（如药物与疫苗）等因素。我国根据病原微生物的传染性、感染后对个体或者群体的危害程度，将病原微生物分为四类（表 7-2），其中第一、二类为高致病性病原微生物，其标本的取样、送检、保存和销毁均有生物安全的严格限制。

表7-2 病原微生物的分类*

分类	致病性与危害	种类
第一类	能引起极其严重疾病的病原微生物，或者我国尚未发现及已经宣布消灭的病原微生物，尚无有效预防和治疗措施	共 29 种，均为病毒，包括天花病毒、新疆出血热病毒、埃博拉病毒、黄热病毒、脾传脑炎病毒（森林脑炎病毒）等
第二类	能引起严重疾病，易发生人与人、人与动物以及动物与动物间传播的病原微生物，有预防和治疗措施	共 70 种，包括霍乱弧菌、鼠疫耶尔森菌、炭疽芽胞杆菌、布鲁菌、结核分枝杆菌、HIV、狂犬病病毒（街毒株）、汉坦病毒、乙型脑炎病毒、SARS 冠状病毒、高致病性禽流感病毒、西尼罗病毒、脊髓灰质炎病毒、朊粒等
第三类	能引起人类或动物疾病，但传播风险有限，对人、动物和环境没有严重危害，有预防和治疗措施的微生物	共 275 种，包括破伤风梭菌、脑膜炎奈瑟菌、肝炎病毒、肠道病毒属、腺病毒、腺病毒相关病毒、杯状病毒、星状病毒、布尼亚病毒、冠状病毒、疱疹病毒科等
第四类	各种弱毒病原微生物以及不属于第一、二、三类的各种低毒力的病原微生物	目录共列出 6 种，均为实验动物的疱疹病毒科和逆转录病毒科成员，例如豚鼠疱疹病毒、小鼠白血病病毒等

* 根据原卫生部 2006 年发布的《人间传染的病原微生物名录》

生物安全（biosafety）是指研究评价生物危害因素对人体健康的危害以及对风险相应控制的理论与技术。实验室的生物危害因素包括：①病原微生物（病毒、细菌、真菌、寄生虫）及相关毒素；②人或动物的血液、体液和组织等；③培养细胞、病原生物的核酸及重组 DNA 等。生物安全实验室（biosafety laboratory）是指具备防护屏障和严格管理措施，符合生物安全要求的实验室。生物安全实验室需政府主管部门审批，实验室需在显著位置张贴生物危险警告标志。生物安全实验室的物理防护包括两部分：①个人防护：主要是生物安全柜（biosafety cabinet, BSC），安全柜内有空气回收和过滤装置，以免气溶胶传播至操作人员；②环境防护：由实验室建筑的密封、过滤排放以及消毒操作等构成，防止危险生物因素泄漏至环境。

根据实验室的工作性质和研究对象不同，生物安全实验室的建设和操作要求也不同，目前将生物安全实验室的防护水平（biosafety level, BSL）分为四级（表 7-3），以 BSL-1 ~ BSL-4 表示，I 级防护水平最低，IV 级防护水平最高。从事动物活体操作的实验室也需要相应的四级生物安全防护（animal biosafety level, ABSL）。

表7-3 实验室的生物安全分级

级别	缩写	适用情况	主要安全设施
一级	BSL-1	适用于通常情况下不引起人或者动物疾病的微生物	开放实验室
二级	BSL-2	适用于能引起人或者动物疾病，但一般情况下不构成严重危害，传播风险低，且能有效治疗和预防的微生物	需要用生物安全柜防护操作中可能生成的气溶胶
三级	BSL-3	适用于能引起人或动物严重疾病，易直接或间接在人与人、动物与人、动物与动物间传播的微生物	负压、空气通过高效过滤器排出、生物安全柜、或其他所有生物安全实验室工作所需要的基本设备
四级	BSL-4	适用于能引起人或动物极严重疾病的微生物，以及我国尚未发现或已宣布消灭以及没有预防治疗措施的微生物	Ⅲ级或Ⅱ级生物安全柜并穿着正压服、空气通过高效过滤器排出

小 结

消毒、灭菌、无菌、抑菌和防腐的概念；热力灭菌法的种类及其应用；射线灭菌法的原理和应用；常用化学消毒剂的种类、浓度和应用。

根据病原微生物的传染性、感染后对个体或者群体的危害程度，将病原微生物分为四类，其中第一、二类为高致病性病原微生物。

生物安全是指研究评价生物危害因素对人体健康的危害以及对风险相应控制的理论与技术。生物安全实验室是指具备防护屏障和严格管理措施，符合生物安全要求的实验室，生物安全实验室的防护水平分为四级。

(王明永 杨 帆)

感染性疾病的控制包括治疗和预防两方面，抗微生物药物（antimicrobial agent）是治疗的物质基础。抗微生物药物通过选择毒性（selective toxicity）发挥作用，选择毒性是指药物只对微生物有毒性，而对人体无毒。选择毒性不是绝对的概念，是指相对于人体能耐受的浓度下可以杀死或抑制微生物。选择毒性是建立在微生物和人类的细胞差异基础上，针对微生物结构和生物合成过程中独特环节起作用。理想的抗微生物药物应具有良好的选择毒性。

耐药（drug resistance）是药物治疗失败的主要原因之一。微生物可通过多种机制获得耐药性，耐药性是当前医学面临的重大挑战之一。

第一节 抗菌药物与耐药性

抗微生物药物治疗（antimicrobial chemotherapy）一般认为起步于 20 世纪初 Paul Ehrlich 将砷凡纳明（arsphenamine）用于梅毒治疗。Ehrlich 提出了药物的选择毒性、耐药性、联合用药等概念。1929 年英国 Alexander Fleming 发现青霉素，开启了抗生素时代。

一、抗菌药物的种类与作用机制

抗菌药物（antibacterial agent）是指具有杀菌或抑菌活性、能全身应用的抗生素或化学合成药物。其中，抗生素（antibiotics）专指对微生物来源的抗菌药物，但现在将人工化学修饰或半合成的衍生物也统称为抗生素。

1. 抗菌药物的种类 抗菌药物包括杀菌药、抑菌药。杀菌药（bactericidal drug）是指能杀死细菌细胞的药物，如青霉素类、氨基苷类药物。抑菌药（bacteriostatic drug）是指仅有抑制细菌生长繁殖而无杀灭作用的药物，停药后细菌可继续生长，如四环素、磺胺等。抑菌药的抗菌效应有赖于机体吞噬细胞（如巨噬细胞和 NK 细胞）的参与。

抗菌药物有广谱（broad spectrum）和窄谱（narrow spectrum）之分，如四环素可以作用于多种微生物，是广谱抗生素，而窄谱抗生素仅针对少数种类的细菌。习惯将抗菌药物按化学结构和性质分类（表 8-1）。

表8-1 抗菌药物的种类

分类	代表药物
β -内酰胺类	青霉素类、头孢霉素类、头霉素、单环 β -内酰胺类、碳青霉烯类、 β -内酰胺酶抑制剂（如棒酸）等
大环内酯类	红霉素、螺旋霉素、交沙霉素、罗红霉素、阿奇霉素等
氨基苷类	链霉素、庆大霉素、卡那霉素、妥布霉素、阿米卡星等
四环素类	四环素、多西环素（也称强力霉素）、米诺环素等

续表

分类	代表药物
氯霉素类	氯霉素、甲砒霉素等
化学合成药物	喹诺酮类（诺氟沙星、环丙沙星、氧氟沙星、依诺沙星、培氟沙星、洛美沙星）、磺胺、甲氧苄啶
抗结核药物	利福平、异烟肼、乙胺丁醇、吡嗪酰胺等
多肽类抗生素	多黏菌素类、万古霉素、杆菌肽、林可霉素、克林霉素

2. 抗菌药物的作用机制 细菌细胞与人类细胞在结构和生物合成等许多方面存在差异，抗菌药物针对这些差异破坏细菌结构，或者抑制细菌细胞代谢，从而达到抗菌的目的。抗菌药物的作用机制有：①抑制细菌细胞壁合成；②抑制细菌细胞膜功能；③抑制细菌蛋白质合成；④抑制细菌核酸合成（图 8-1、表 8-2）。

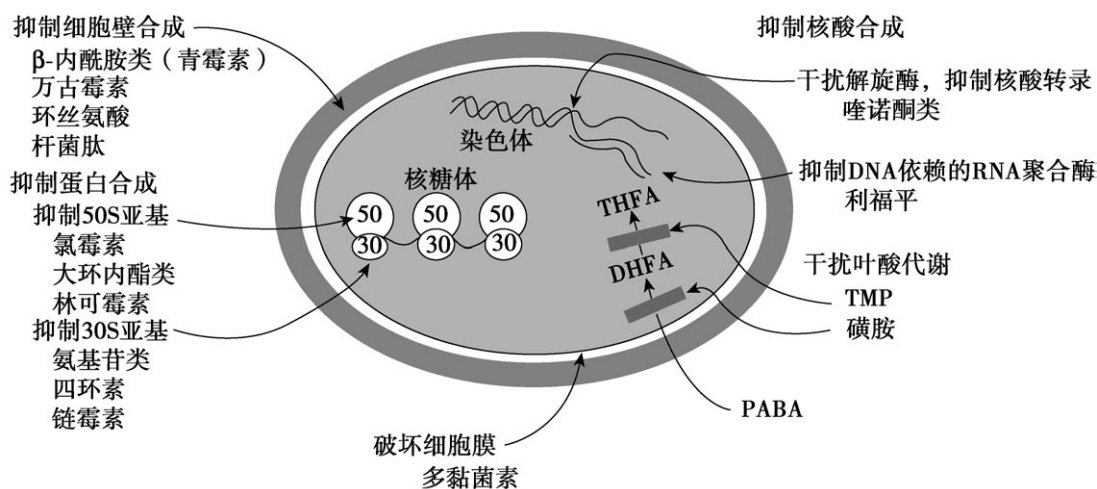


图 8-1 抗菌药物的作用机制

PABA: 对氨基苯甲酸 (para-aminobenzoic acid); DHFA: 二氢叶酸 (dihydrofolic acid); THFA: 四氢叶酸 (tetrahydrofolic acid)
TMP: 三甲氧苄氨嘧啶 (甲氧苄啶)

表 8-2 主要抗菌药物的作用机制

抗菌机制	作用靶点	代表药物
抑制细胞壁合成	抑制转肽酶活性，阻断肽聚糖交联	青霉素类、头孢霉素类、万古霉素
	抑制肽聚糖合成的其他环节	环丝氨酸、杆菌肽
抑制蛋白质合成	作用于核糖体 50S 亚基	氯霉素、红霉素、多西环素等
	作用于核糖体 30S 亚基	四环素类、氨基苷类、克林霉素等
抑制核酸合成	抑制核苷合成	磺胺类
	抑制 DNA 合成	喹诺酮类
	抑制 mRNA 合成	利福平
改变细胞功能		多黏菌素
其他机制		异烟肼、甲硝唑、乙胺丁醇、吡嗪酰胺

(1) 抑制细胞壁合成：细胞壁是维持细菌形态，保持内部渗透压和物质交换的结构。细

胞壁缺陷的细菌在低渗环境中因大量吸收水分而肿胀破裂。青霉素 (penicillin)、头孢霉素 (cephalosporin) 等 β -内酰胺药物 (β -lactam) 的杀菌机制主要是抑制细菌细胞壁合成。哺乳动物细胞没有细胞壁, 因此 β -内酰胺药物对人没有毒性。

β -内酰胺药物结构含 β -内酰胺环, 耐药细菌染色体或质粒编码 β -内酰胺酶 (β -lactamase), 可水解 β -内酰胺环, 导致 β -内酰胺类药物分解而耐药, 常见于葡萄球菌和链球菌。

(2) 抑制细菌细胞膜功能: 多黏菌素 (polymyxin) 分子有两极性, 亲水端与细菌细胞膜的蛋白质结合, 亲脂端与细胞膜内双层磷脂结合, 使细胞膜裂开, 对革兰氏阴性菌有杀菌作用。

(3) 抑制细菌蛋白质合成: 细菌核糖体由 50S 和 30S 亚基构成, 氨基苷类 (aminoglycoside)、四环素 (tetracycline)、氯霉素 (chloramphenicol)、大环内酯类 (macrolide)、林可霉素 (lincomycin) 等药物的作用靶点就是细菌的核糖体亚基。其中氨基苷类抗生素 (如链霉素、卡那霉素、庆大霉素)、四环素等抑制 30S 亚基, 氯霉素、大环内酯类 (如红霉素、阿奇霉素) 等作用于 50S 亚基。哺乳动物核糖体由 60S 和 40S 亚基构成, 不受这些药物的作用。

(4) 抑制细菌核酸合成: 磺胺 (sulfonamide)、甲氧苄啶 (trimethoprim, TMP) 通过干扰细菌叶酸代谢, 抑制细胞核酸代谢。喹诺酮类 (quinolone)、利福平 (rifampin) 等也是通过抑制细菌核酸合成而发挥抗菌作用。

二、细菌的耐药性

从遗传学的角度, 细菌的耐药性有些是由细菌遗传物质编码, 属遗传性耐药性, 有些耐药现象仅仅是与细菌暂时的生理状态和环境有关, 为非遗传性耐药。

1. 非遗传性耐药 静止状态的细菌对药物通常不敏感, 如结核分枝杆菌在结核病灶中可以存活数年但不繁殖, 此时抗结核治疗效果不好, 所以抗结核治疗需要长时间用药。伤寒沙门菌、嗜肺军团菌等胞内寄生菌可寄生于巨噬细胞内, 氨基苷类药物不能进入巨噬细胞, 故对此类细菌无效。

2. 遗传性耐药 大多数耐药是细菌遗传物质改变和药物连续筛选的结果。

细菌通过多种机制实现耐药 (表 8-3)。一些药物的化学结构、结合位点和作用方式高度相似, 当细菌对其中一种产生耐药性, 对其他同类药物也都耐药, 称为交叉耐药 (cross resistance)。

(1) 产生钝化酶, 灭活药物: β -内酰胺酶可水解 β -内酰胺环, 使青霉素、头孢霉素等 β -内酰胺类药物失效, 常见于葡萄球菌、革兰氏阴性杆菌。棒酸 (clavulanic acid) 虽然不水解 β -内酰胺酶, 但能与 β -内酰胺酶不可逆性结合, 抑制 β -内酰胺酶活性, 从而保护 β -内酰胺药物。

通过化学修饰 β -内酰胺环, 可避免其被 β -内酰胺酶水解, 例如头孢噻肟霉素 (cefotaxime)。但近来在肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌等革兰氏阴性菌中, 发现有破坏这些化学修饰的 β -内酰胺环的水解酶, 称为超广谱 β -内酰胺酶 (extended-spectrum β -lactamase, ESBL)。

革兰氏阴性菌通过腺苷化酶、磷酸化酶或乙酰化酶, 修饰氨基苷类药物。革兰氏阴性菌还编码氯霉素乙酰转移酶, 破坏氯霉素。

(2) 细胞通透性的改变: 四环素必须富集到细胞内发挥作用。耐四环素菌株不主动摄取四环素, 或者通过耐药泵增强外排作用造成细胞内四环素浓度过低, 从而耐药。链球菌细胞壁对氨基苷类药物 (如链霉素) 是天然屏障, 如果联合使用破坏细胞壁的药物 (如青霉素), 氨基苷类药物也可抑制链球菌。

(3) 靶位结构的改变: 染色体突变可致核糖体 30S 亚基蛋白的变化, 造成氨基苷类药物无法与 30S 亚基结合。23S rRNA 的甲基化可阻碍红霉素与 50S 亚基结合, 导致红霉素耐药。

(4) 建立代谢旁路：某些细菌能像哺乳动物细胞一样，直接利用环境提供的叶酸，从而对磺胺和 TMP 耐药。

(5) 同工酶的替代作用：通过编码同工酶，细菌可避开药物的抑制作用，如 TMP 耐药菌株有二氢叶酸还原酶的同工酶，不被 TMP 抑制。

表8-3 细菌耐药机制

耐药机制	典型举例	受影响的药物
灭活药物	β -内酰胺酶破坏 β -内酰胺环	β -内酰胺类抗生素（青霉素、头孢霉素等）
修饰细菌的药物靶点	青霉素结合蛋白基因突变	青霉素
	核糖体 30S 亚基突变	氨基苷类（链霉素）
	肽聚糖的乳酸被丙氨酸取代	万古霉素
	DNA 解旋酶（gyrase）突变	喹诺酮类
	RNA 聚合酶突变	利福平
	过氧化物酶突变	异烟肼
降低药物的通透性	孔蛋白（porin）突变	青霉素、氨基苷类等
增强药物外排	多药耐药泵（MDR pump）	四环素、磺胺类

3. 细菌耐药的遗传物质 染色体、质粒和转座子均可携带耐药基因（表 8-4）。

(1) 染色体：染色体突变的频率很低（ $10^{-12} \sim 10^{-7}$ ），因此临床上因染色体突变而产生的耐药发生概率低。但染色体编码的利福平耐药频率非常高（ $10^{-7} \sim 10^{-5}$ ），临床单用利福平往往会因耐药而治疗失败。

(2) 质粒：携带耐药基因的质粒称为耐药质粒（resistance plasmid, R 质粒）。通常是编码水解或修饰药物分子的酶，包括 β -内酰胺酶、氯霉素乙酰转移酶、乙酰化酶、腺苷化酶、磷酸化酶等。一些细菌的染色体也能编码这些酶。

表8-4 染色体、质粒编码耐药的机制

药物	主要耐药机制	编码基因位置
β -内酰胺类	β -内酰胺酶裂解 β -内酰胺环	质粒、染色体
氨基苷类	对药物分子进行乙酰化、腺苷化、磷酸化修饰	质粒、染色体
氯霉素	对药物分子进行乙酰化修饰	质粒
大环内酯类	将药物的受体 rRNA 甲基化处理	质粒、染色体
四环素	降低细胞对药物的摄取量，或增加药物从细胞排出量	质粒
磺胺	促进细胞排出药物，并降低酶分子对药物的亲和力	质粒

质粒编码的耐药性对临床药物治疗尤其重要，因为：①耐药质粒普遍存在于各种细菌，尤其是革兰氏阴性杆菌；②质粒编码的耐药性通常是多重耐药（multiple drug resistance, MDR）；③质粒可通过接合在菌株间高频传递。

(3) 转座子（transposon, Tn）：Tn 是可在染色体内、质粒内或者染色体与质粒间转移的小 DNA 片段。Tn 结构简单，两端是反向重复序列（inverted repeat, IR），使得转座子可以在染色体或质粒 DNA 分子里转移。典型的耐药转座子含 3 个基因：①转座酶（transposase）基因：编码的转座酶负责转座子 DNA 与染色体或质粒 DNA 分子的切割和连接；②转座酶抑制

基因：编码产物抑制转座酶基因的表达，保证转座子位置的相对稳定；③耐药基因：编码破坏药物分子的酶类。

4. 细菌耐药的控制 控制耐药是临床抗菌药物治疗的关键问题。通过以下途径可最大限度防止耐药发生：①维持高水平药物浓度，在最短时间内清除原始感染细菌；②联合使用两种没有交叉耐药的药物，避免耐药株被筛选出来；③避免滥用药物，防止细菌过多接触该药。

第二节 抗病毒药物与耐药性

抗病毒药物 (antiviral drug) 包括化学药物、天然药物 (黄芪、板蓝根、大青叶、姜黄素等) 和基因制剂。其中，抗病毒化学药物的研发和临床应用近年有较大进展，人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 感染可在药物治疗下得到良好控制，丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 感染可用药物治愈并实现病毒清除。

一、抗病毒化学药物

病毒复制的各个环节都可能是药物的作用靶点，目前主要的抗病毒化学药物的作用靶点见表 8-5。

1. 抑制病毒脱壳 金刚烷胺 (amantadine) 的作用是阻止甲型流感病毒的脱壳。对乙型和丙型流感病毒无效。

2. 阻断病毒核酸合成 这些药物按化学结构可分为 3 类：核苷类似物 (nucleoside analogue)、核苷酸类似物 (nucleotide analogue) 和非核苷类似物。

大部分抗病毒药物都是核苷类似物。核苷或核苷酸类似物通过以下机制抗病毒：①核苷类似物被细胞编码的磷酸激酶作用后，掺入子代病毒 DNA，使病毒无法基因转录，如瑞昔；②核苷类似物进入细胞后，竞争抑制病毒 DNA 聚合酶，干扰病毒核酸转录，如无环鸟苷 (acyclovir, 阿昔洛韦)；③抑制病毒逆转录酶：核苷类似物磷酸化后，结构类似核苷酸，可作为底物竞争抑制病毒逆转录酶 (reverse transcriptase)，并掺入新合成的 DNA 链，造成 DNA 链延伸终止，如齐多夫定 (azidothymidine, AZT)、拉米夫定 (lamivudine)、阿巴卡韦 (abacavir)、去羟肌苷 (didanosine)、司坦夫定 (Stavudine) 等。

非核苷类似物如奈韦拉平 (nevirapine)、地拉夫定 (delavirdine) 等可结合至逆转录酶的活性部位，干扰逆转录酶活性。

干扰病毒核酸合成的策略在单纯疱疹病毒感染和 HIV 感染的临床治疗取得了较好效果，近年来应用此策略又在 HCV 治疗取得突破。HCV 基因组是一条正链 RNA，其复制依赖病毒的 RNA 聚合酶 NS5B，而 NS5B 需要另一个非结构蛋白 NS5A 的支持才能发挥 RNA 聚合酶活性。核苷酸类似物索非布韦 (sofosbuvir) 可干扰 NS5B 的聚合酶功能，雷迪帕韦 (ledipavir) 是 NS5A 的小分子抑制剂，联合使用索非布韦和雷迪帕韦可以有效清除 HCV。该药于 2014 年获批进入临床，使得丙型肝炎成为临床可治愈疾病。

3. 抑制病毒蛋白酶 许多病毒均编码蛋白酶，用于反式切割病毒编码的大前体蛋白，形成成熟的子代病毒蛋白。HIV 的 *gag*、*pol* 基因编码的前体蛋白需经酶切后才具有功能，但 HIV 的蛋白酶可被沙奎那韦 (Saquinavir)、茚地那韦 (Indinavir) 等药物结合，抑制蛋白酶活性，从而阻断 HIV 复制。

小 RNA 病毒科成员 (如脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒、肠道病毒 71 型等) 的基因组只有一个开放读码框，编码生成一个大的前体蛋白 (polyprotein)，这个蛋白内含两个蛋白酶片段 (2A^{pro} 和 3C^{pro})，两个蛋白酶对前体蛋白进行反式切割，逐渐形成病毒的结构蛋白和功能蛋

白。抑制 2A^{pro} 和 3C^{pro} 的化合物可以有效抑制小 RNA 病毒的复制，因此是研发抗小 RNA 病毒的重要靶点之一。

4. 阻断病毒蛋白合成 α -干扰素、 β -干扰素刺激细胞产生 2,5-寡核苷酸合成酶 (2,5-oligonucleotide synthetase)、RNA 酶和蛋白激酶，这些酶通过降解病毒 mRNA 阻断病毒蛋白合成。

5. 阻断病毒释放 流感病毒在成熟释放时，要靠病毒的神经氨酸酶水解 N-乙酰神经氨酸才能脱离宿主细胞，扎那米韦 (zanamivir)、奥司他韦 (oseltamivir) 可以抑制神经氨酸酶，阻止流感病毒释放 (表 8-5)。

表8-5 抗病毒化学药物作用的靶位点

作用靶点	药物
抑制病毒穿入与脱壳	金刚烷胺、甲基金刚烷胺
干扰病毒 DNA 或 RNA 聚合酶介导的核酸合成	阿昔洛韦、丙氧鸟苷、脱氧鸟苷、阿糖腺苷、碘苷、3 氟胸腺嘧啶、甲酸磷霉素、齐多夫定、拉米夫定、双脱氧肌苷、双脱氧胞苷、利巴韦林等
抑制病毒蛋白酶，阻止病毒蛋白成熟	沙奎那韦、茚地那韦、利托那韦、奈非那韦
干扰病毒 mRNA 翻译蛋白质	干扰素
抑制病毒释放	扎那米韦、奥司他韦

二、病毒的耐药性

抗病毒药物的研发和应用还存在很大局限性。病毒是严格的细胞内寄生微生物，病毒复制与宿主细胞的生物合成过程非常相似，抑制病毒复制也可能影响细胞的生理和功能，因此寻找抗病毒药物所需的选择毒性相对困难。

抗病毒药物对潜伏病毒无效。药物总是针对病毒复制过程的某个环节发挥作用，而潜伏病毒不复制，药物因此无法发挥作用。

病毒对抗病毒药物也可产生耐药。无环鸟苷进入细胞后需要疱疹病毒的胸苷激酶 (thymidine kinase, TK) 将其转化为一磷酸无环鸟苷，进而在细胞的激酶作用下转变成为三磷酸无环鸟苷，然后干扰病毒 DNA 合成。临床上 90% 耐无环鸟苷的疱疹病毒都存在 TK 的变异，包括基因缺失和功能缺陷。

逆转录病毒如 HIV 极易产生耐药性。逆转录酶保真性差，转录过程中极易产生突变，导致病毒复制突变频率非常高，故需要逆转录酶的病毒都易发生耐药性。临床上逆转录酶抑制剂、蛋白酶抑制剂均不能在抗 HIV 治疗中单独使用，否则很快即出现耐药。通常将蛋白酶抑制剂、逆转录酶抑制剂联合使用，组成高效抗逆转录病毒治疗 (high active antiretroviral therapy, HAART)，即所谓“鸡尾酒疗法”。

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 的聚合酶是核苷和核苷酸类似物的靶点。临床发现对药物反应差的 HBV 聚合酶基因存在一些特征性的突变，导致药物靶点的改变。此外，HBV 复制过程中会形成一个共价闭环 DNA 中间体 (covalently closed circular DNA, cccDNA)，现有药物对 cccDNA 几乎没有作用，是 HBV 逃逸药物作用的重要机制之一。

小 结

抗菌药物通过以下机制发挥抑制或杀菌作用：①抑制细菌细胞壁合成；②抑制细菌细胞膜功能；③抑制细菌蛋白质合成；④抑制细菌核酸合成。

细菌通过以下分子机制产生耐药性：①产生钝化酶；②细胞通透性的改变；③靶位结构的改变；④建立代谢旁路；⑤同工酶的替代作用。防止细菌耐药发生的措施包括：①维持高水平药物浓度；②联合用药；③避免滥用药物。

抗病毒药物的作用机制：①抑制病毒脱壳；②阻断病毒核酸合成；③抑制病毒蛋白酶，阻止病毒蛋白成熟；④阻断病毒蛋白质合成；⑤阻断病毒释放。病毒可通过多种机制耐药。

.....

(钟照华 王光西)

细菌与病毒感染的病原学检查法

微生物感染的病原学检查可查明标本中的病原微生物种类、鉴定其种属和型别，必要时测定其毒力和筛选敏感药物，从而对感染性疾病进行病因学诊断、临床治疗指导、病原体特性研究以及流行病学分析。

标本的采集与送检是微生物学检查的第一步，方法正确与否直接影响病原体的检出率，因此应遵循以下原则：

(1) 采集标本时应无菌操作，尽量避免污染。盛放标本的容器和培养基应预先进行无菌处理并贴好标签。

(2) 应在感染部位或病变明显的部位采集标本，避免周围器官、组织或分泌物中的杂菌污染。例如应从感染性伤口的深部而不是表面采集标本。若采集龈沟液检查口腔厌氧菌，应将无菌滤纸条置入龈沟中，停留数秒后取出。怀疑细菌性痢疾时，应采集有黏液或脓血的粪便。

(3) 根据病原体在感染性疾病不同时期的体内分布和排出部位选择性采集适宜标本。例如，若对可疑肠热症患者进行实验室检查，应在病程的第1～2周内取血液，2～3周时则取粪便或尿液送检。怀疑流行性脑脊髓膜炎的患者，应选取脑脊液、血液或皮肤上的出血瘀斑进行检测。如果进行病毒培养或抗原检测，一般应取急性期标本，标本采集越早，病毒检出率越高。

(4) 可疑细菌感染时，应尽量在抗生素使用前采集患者标本，特别是怀疑感染了对抗生素敏感的病原体，如乙型溶血性链球菌、脑膜炎奈瑟菌。病毒对抗生素不敏感，为避免在病毒培养过程中的细菌污染，可在用于病毒分离培养的标本中加入抗生素。

(5) 标本采集后应及时送检。大多数细菌标本应冷藏送检，但是某些细菌（如脑膜炎奈瑟菌）对低温和干燥极敏感，应注意保温，尽量床旁接种，并预温培养基。病毒在室温中易于灭活，应尽快接种，运送时以4℃条件为宜。若需较长时间保存，可加入保护剂（如甘油或二甲基亚砷）后，放入-70℃冰箱保存。取外周血检测特异性抗体，必须在冷冻前分离血清，血清标本应保存在-20℃冰箱。

第一节 病原学检查相关技术

微生物感染的病原学实验室诊断方法大致包括：①借助显微镜对标本或组织中的病原体进行形态学检查；②病原体的分离培养与鉴定；③用免疫学方法检测病原体的抗原或感染者血清中的特异性抗体；④用分子诊断技术检测病原体的核酸、蛋白质等生物标志物。

一、形态学检查

1. 显微镜 微生物的临床标本或悬浮液可置于玻片上，放在显微镜下进行检查。常用于微生物形态结构检查的显微镜如下：

(1) 普通光学显微镜 (optical microscope)：以可见光（日光或灯光）为光源，波长0.4～

0.7 μm ，平均约 0.5 μm 。使用油浸物镜时，用可见光照明的显微镜分辨率的极限是 0.2 μm 。低倍镜用于大致浏览标本片，搜寻目的区域。高倍镜用于寻找丝状真菌和寄生虫等大的病原体。油镜用于观察细菌、单细胞真菌和较大微生物及细胞的形态细节。

(2) 暗视野显微镜 (dark field microscope)：在普通光镜上配置了特制的暗视野聚光器，其反光镜反射的光线不能进入物镜，使背景视野变暗。而光线只能从暗视野聚光器周围边缘斜射到菌体上，由于散射作用而使菌体发光，反射到物镜映入眼中，因此在暗视野中可见照亮的细菌，用于观察在明视野显微镜中不易看清的未染色活菌，常用于检查活菌、螺旋体及其活动。

(3) 相差显微镜 (phase contrast microscope)：在普通光学显微镜上进行特殊设计，于光源与聚光器之间增加了环形光阑，在物镜中增加了涂有氟化镁的相位板，把通过物体不同部分的光程差转变为振幅（光强度）的差别，用于观察活菌和未染色标本。

(4) 荧光显微镜 (fluorescent microscope)：采用高强度的汞灯做激发光源，发射很强的紫外光和蓝紫光，从而激发各类荧光物质，根据荧光素的不同选择光源波长。将荧光素标记的特异性抗体作用于相应病原体后，在荧光显微镜下被有效激发出来荧光，在暗背景可见发荧光的病原体。近年来荧光显微镜广泛应用于细菌、病毒的快速检查，例如，用荧光标记抗体快速诊断嗜肺军团菌感染。

(5) 电子显微镜 (electron microscope, EM)：是根据电子光学原理，用电子束和电子透镜代替光束和光学透镜。目前使用的电子显微镜主要有两类：透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 和扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM)。TEM 是电子束穿透标本，看到标本内部的超微结构，分辨率可达 0.1 ~ 0.2 nm，常用于观察亚细胞结构和病毒形态。SEM 用电子束扫描物体表面，分辨率为 1 nm，常用于观察物体（细胞、组织）的表面立体构象。

2. 染色方法 无论是光学显微镜还是电子显微镜，都需要先对标本染色才能观察，前者用染料，后者用高电子密度材料。

细菌形体微小、半透明，必须染色才能在显微镜下看到细菌的形态、大小和排列方式，还可根据染色反应将细菌进行分类。最常用的染色剂是盐类，碱性染色剂 (basic stain) 由有色的阳离子和无色的阴离子组成，酸性染色剂 (acid stain) 则相反。细菌富含核酸，可以与带正电荷的碱性染色剂结合。酸性染色剂不能使细菌着色，但能使背景着色形成反差。多种鉴别染色法用于细菌染色。荧光染色法方法简便、敏感性强、容易观察结果，在临床细菌鉴定中有很大的实用价值。吉姆萨染色法 (Giemsa staining) 等染色方法常用于多种病毒包涵体的检查。

二、病原体的分离培养与鉴定

选择人工配制的培养基 (medium) 对细菌进行分离 (isolation) 和培养，是对病原菌分离鉴定的经典手段，也是大多数细菌或真菌感染标本的常规检测方法。培养得到的细菌通过形态染色、生化反应、免疫学方法或分子生物学方法等进行鉴定和分型。

与细菌的体外培养不同，病毒必须在敏感的活细胞内增殖，所以应选用易感的活细胞对病毒进行分离培养和鉴定。动物接种是最原始的分离病毒的方法，现已逐渐被细胞培养所代替。鸡胚培养 (chick embryo culture) 是根据培养的病毒种类，选择适宜的接种途径感染 9 ~ 14 日龄的鸡胚。细胞培养 (cell culture) 又称单层细胞培养 (monolayer culture)，是病毒分离、鉴定以及疫苗制备的主要技术，也是医学和生物学研究的主要手段。通过培养分离得到的病毒可用于进一步的鉴定，如血清学鉴定、基因分型等。

三、免疫学技术

免疫学技术是检查病原微生物的常用技术。可直接采用临床标本或在病原微生物分离

培养后进行抗原的检测,其原理是用已知的特异性抗体检测未知病原体的抗原成分。常用的方法有:①凝集试验,包括玻片凝集试验、协同凝集试验、间接血凝试验、乳胶凝集试验等;②沉淀试验,如对流免疫试验;③免疫标记技术,如酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)和免疫荧光试验等。

病原微生物侵入机体后,其抗原常诱导机体产生特异性抗体。血液或其他体液中的特异性抗体常随病程进展而变化,用已知病原微生物或其抗原检测患者体内是否有相应抗体及其效价的动态变化,可作为某些病原体感染的辅助诊断指标。IgM 抗体出现早,消失也早,高滴度 IgM 抗体是早期感染的表现。IgG 抗体出现较晚,但持续时间长,因此常用于血清流行病学调查。常用的血清学试验包括凝集试验、沉淀试验、补体结合试验、中和试验、间接免疫荧光试验和 ELISA 等。因需采集患者的外周血分离血清进行此类试验,故称为血清学诊断(serological diagnosis)。

四、分子诊断技术

传统的微生物学鉴定技术主要根据微生物形态学和生化反应等表型特征来进行,对病原体的表型特点和数量要求较高,限制了其敏感性和特异性。随着分子生物学技术的兴起,分子诊断(molecular diagnosis)技术逐渐成为微生物病原学诊断的主要手段。最初的分子诊断局限于测定病原体基因片段序列达到鉴定的目的,近年来,随着基因组学、蛋白组学和代谢组学等新兴技术的发展,分子诊断技术已经涵盖基因组(核酸)、结构成分(蛋白质、多糖、脂质)及其代谢产物等生物大分子的检测。最常用的还是检测核酸,方法有核酸杂交、核酸扩增、基因序列分析和生物芯片技术等。

1. 核酸杂交(nucleotide hybridization) 包括 Southern 印迹杂交(Southern blot, 检测 DNA)、Northern 印迹杂交(Northern blot, 检测 RNA)。可提取病原体核酸,点到膜上进行斑点杂交(dot blot),也可以在组织切片上直接进行原位杂交(in situ hybridization)。核酸杂交技术结合了碱基互补的高度特异性和标记技术的敏感性,具有高度敏感和特异的优点,其敏感性达到 0.05 pg/ μ l 水平。

2. 核酸扩增 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)是一种选择性 DNA 或 RNA 体外合成放大技术。选择待检病原体的特异、保守基因片段作为靶基因,利用序列特异的引物,在含耐热 DNA 聚合酶、dNTP 等材料的扩增反应系统中,完成特定基因的体外扩增,将微量的病原体核酸放大到能够检测的水平,从而对感染性疾病进行诊断。具有快速、敏感、特异和简便的优点。实时定量 PCR 技术(real-time quantitative PCR)可对病原体的核酸进行快速定量检测,常用于监测药物治疗效果。

3. 基因序列分析 基因序列分析最初只是微生物学的一种研究工具,逐步发展成为颇有前景的感染性疾病的诊断方法之一。通过基因测序可以鉴定出病原体的基因型、基因变异和进化过程。可基于细菌的 16S rRNA 基因的序列分析对病原菌进行鉴定。

4. 生物芯片(biochip) 将核酸、蛋白质、抗原、抗体等生物样品有序地固定于硅片、尼龙膜等固相支持物上,在一定条件下进行核酸杂交、生化反应、抗原抗体反应等,用荧光标记或酶标记等方法显示反应结果,通过共聚焦扫描仪或电荷偶联照像机(CCD)等仪器读取和收集数据,经数据分析判断标本中靶分子的种类和数量。生物芯片在医学微生物学领域的应用包括:①对细菌、真菌和病毒等病原体感染进行多重快速检测与鉴别;②微生物耐药性的检测和变异机制的研究;③微生物基因分型及分子流行病学的调查;④微生物基因组及后基因组的研究;⑤抗微生物药物的研发等。与传统的检测方法相比,生物芯片具有高通量、微型化、自动化等特点,在感染性疾病的临床诊断上具有明显的优势和应用前景。目前已有多种生物芯片产品获得批准并应用于临床诊断。



知识拓展: 基因测序技术的发展助力临床微生物学的诊断

第二节 细菌感染的微生物学检查法

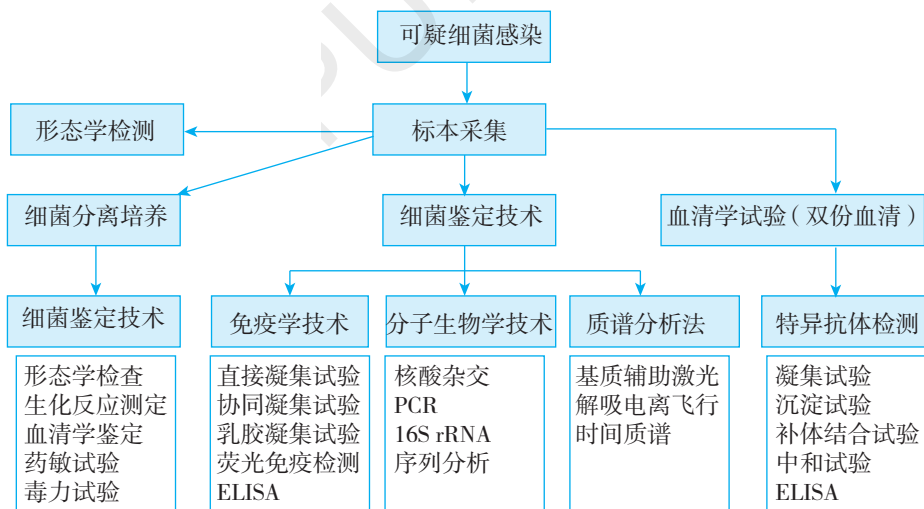


图 9-1 细菌感染的实验室检测项目与方法

一、细菌学诊断

细菌学诊断可以依据细菌的形态学检查、菌落特征、生化反应和血清学鉴定试验等（图 9-1）。

1. 形态学检查 细菌个体微小，借助显微镜对标本中细菌的形态结构、排列、染色及运动进行观察，初步判断病原菌的种类，为进一步鉴定提供参考。

用光学显微镜可观察直接涂片或分离培养的细菌标本（包括染色标本和不染色标本）。具有特征性形态和染色特点的致病菌通过直接涂片染色就可能初步诊断，例如采集患者脓性脑脊液或皮下瘀点的渗出物，在其中的白细胞内若检出革兰氏阴性双球菌即可初步诊断为脑膜炎奈瑟菌感染。在生殖器官病变部位的标本中若发现革兰氏阴性双球菌，结合临床症状即可初步诊断为淋病奈瑟菌感染。但很多细菌的形态和染色缺乏明显特征，仅凭形态学不能做确切的诊断，需经分离和培养后进行生化反应和血清学鉴定。

常用的细菌染色方法包括革兰氏染色、抗酸染色和荧光染色等。革兰氏染色法（Gram staining）是由丹麦细菌学家革兰（Hans Christian Gram）在 1884 年建立的经典染色方法，至今仍广泛应用，是最常用和最重要的分类鉴别染色法。在细菌标本固定后，先用碱性染料结晶紫初染，再加碘液媒染，使之生成结晶紫-碘复合物，此时细菌均染成深紫色。然后用 95% 乙醇脱色，有些细菌被脱色，有些不能。最后用稀释复红或沙黄复染。此法可将细菌分为两大类：不被乙醇脱色仍保留紫色者为革兰氏阳性菌；被乙醇脱色后复染成红色者为革兰氏阴性菌。革兰氏染色法在鉴别细菌、选择抗菌药物、研究细菌致病性等方面具有重要意义。

抗酸染色法（acid-fast staining）是鉴别结核和麻风等分枝杆菌属细菌的重要方法。细菌经涂片、干燥和固定后，先用 5% 苯酚复红初染，细菌被染成红色，然后用 3% 盐酸酒精脱色。由于分枝杆菌细胞壁富含脂类物质，一旦着色，盐酸酒精难以将其脱色，故为抗酸染色阳性（红色）；而一般的细菌容易脱色，再经碱性亚甲蓝溶液复染呈现蓝色。若有肺结核症状患者的痰液中检出抗酸染色阳性的杆状细菌，则可初步诊断患者感染了结核分枝杆菌。

此外还有一些特殊染色方法用于染色鞭毛、荚膜、芽胞和异染颗粒等。

不染色标本主要用于检查活菌的动力和运动状况,常采用压滴法和悬滴法,可用暗视野显微镜或相差显微镜观察,例如在镜下观察到标本中有“鱼群”样排列、运动活泼的细菌,可初步确定霍乱弧菌。

2. 分离培养 标本通常混杂不同种类细菌,从中找出致病菌通常需要进行分离培养,分离培养的目的是获得单个菌落(colony)。根据菌落的形态、颜色、表面性状、边缘、透明度和溶血性等可对细菌做出初步识别。取分离出来的单个菌落进行增殖培养即为纯培养,纯培养是进一步进行形态学、生物化学、免疫学、致病性或药物敏感性等检查的基础。

细菌培养时应选择适宜的培养基,提供特定细菌生长所需的必要条件(温度、气体、pH等)。在液体培养基中细菌的沉淀、浑浊或表面生长状态,在半固体培养基上细菌的运动,均为细菌的鉴定提供有价值的信息。

3. 生化试验 在得到细菌纯培养物后,生化试验是鉴别细菌的重要方法之一。如用糖发酵试验、吲哚试验、硝酸盐还原试验等对细菌的酶系统及其代谢产物的检查。肠道杆菌科细菌的染色、形态和菌落特征基本相同,必须经分离培养后用生化反应试验来鉴别。幽门螺杆菌含有丰富的脲酶,将胃镜活检组织放入尿素培养基,该菌产生的高活性脲酶可将尿素分解,使培养基颜色由黄变红。

4. 动物实验 一般不作为临床标本的细菌学常规检查技术。动物实验主要用于:①未知病原感染或疑难感染病例,常要用动物实验进行病原体分离或病原生物学研究;②测定细菌的毒力或致病性;③建立动物感染模型;④制备免疫血清。根据实验目的和要求选择适宜的实验动物和接种途径,常用的动物有小鼠、豚鼠和家兔等,常用的接种途径有皮内、皮下、腹腔、静脉、脑内注射及鼻腔滴入、灌胃等。

5. 细菌毒素 细菌毒素分为外毒素(exotoxin)和内毒素(endotoxin)。外毒素常用实验动物测定,也可用免疫学方法检测,例如,用Elek平板方法测定白喉棒状杆菌是否产生毒素。内毒素通常用鲎试验检测。鲎是一种海洋节肢动物,在其血液和淋巴液中的变形细胞的胞质内有大量的致密颗粒,内含凝固酶及凝固蛋白原,其细胞溶解物在极微量内毒素($0.0005\text{ }\mu\text{g/ml}$)存在时可形成凝胶。鲎试验具有简便、特异、快速和灵敏度高的优点。

6. 药物敏感试验(antimicrobial susceptibility test) 是测定抗生素或其他抗微生物制剂在体外对病原菌有无抑制或杀灭作用的方法。不同病原菌对抗生素的敏感性不同,即使同一种细菌的不同菌株对抗生素的敏感性也存在差别。能够抑制培养基内细菌生长的最低药物浓度为最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC);能够杀死培养基内细菌的最低药物浓度为最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)。MIC和MBC的值越低,表示细菌对该药越敏感。药敏试验的方法包括纸片扩散法、稀释法、E-test法(epsilometer test)和仪器自动化检测。

纸片扩散法又称Kirby-Bauer法(K-B法),是将含有定量抗生素的纸片贴在已接种待检病原菌的琼脂平板上,纸片上的抗生素向周围琼脂中扩散,形成了逐渐减小的药物浓度梯度。由于病原菌对各种抗生素的敏感程度不同,在不同药物纸片周围便出现因抑制病原菌生长而形成的大小不同的抑菌环。抑菌环大小与病原菌对各种抗生素的敏感程度成正比关系,根据抑菌环的大小可定性检测待检病原菌对特定抗菌药物的敏感程度。

稀释法是将抗生素在液体培养基或琼脂培养基中倍比稀释,接种细菌进行培养,从而定量测定抗生素抑制待检病原菌生长活性的药敏试验。近几年采用的E-test法是将稀释法和扩散法的原理相结合,使用预先设定的稳定且连续的抗菌药物浓度梯度,采用琼脂培养基培养,定量检测不同抗菌药物的MIC,结果更加精确,重复性更好。

药敏试验主要用于如下几个方面:①临床分离菌株应常规做药敏试验。临床疗效差而考虑

更换抗菌药物时,对拟选择药物应做药敏试验,以指导临床选择适宜抗菌药。②对医院或地区进行耐药菌监测,了解所在医院或地区常见病原菌耐药性的变迁情况,积累耐药菌的流行病学资料。③对新型抗菌药物进行药敏试验,评估其抗菌谱和抗菌活性。

7. 微生物自动鉴定和药敏分析系统 细菌检测技术正在向快速化、微量化、自动化和标准化发展。目前自动化微生物鉴定和药敏分析系统已在临床实验室广泛应用。微生物自动鉴定系统以微生物编码鉴定技术为基础,该技术集数学、电子、信息及自动分析技术于一体,将细菌的生化反应模式信息转换为数学模式信息,用一组数码代表每种细菌的反应模式,构建数据库。系统包括菌液接种器、测试卡、培养和监测系统以及数据管理系统。

取分离培养的可疑致病菌配制成纯菌液,放入自动微生物鉴定及药敏分析系统中。待检细菌的生化反应完成后,计算机将其结果转换成数字,与数据库中的细菌条目比对,通过分析并计算鉴定出细菌的属、种、亚种、群或生物型。自动化抗生素敏感性分析采用的是微型化的肉汤稀释试验,根据细菌在不同抗菌药物中的生长情况,分析得出最低抑菌浓度,并按照判断标准判断细菌对药物的敏感程度。

从微量细菌培养、自动监测、记录到打印出细菌鉴定和药敏结果的全过程一般在 24 小时内即可完成,不但能准确检测一般医院常见的致病菌,而且适用于难以培养的细菌的鉴定以及药物敏感性分析。

二、病原菌成分的检测

1. 抗原检测 采用免疫学方法,用已知的特异性抗体检测抗原,具有很好的特异性和抗原检测敏感性。即便患者在采集样本前使用了抗生素或细菌难以分离培养,也可能检测到细菌抗原。抗原检测是细菌感染性疾病实验室诊断的重要手段。如志贺菌属、沙门菌属的单价和多价诊断血清,不仅能鉴定细菌的种属,还可鉴别细菌的群和型。常用方法是玻片凝集试验。

2. 核酸检测 目前最敏感和特异的方法。应用于几乎所有细菌的检测,尤其是体外不能培养或培养耗时长的病原体。常用的方法有 PCR、核酸杂交、16S rRNA 基因序列分析和基因芯片等。

(1) PCR 技术:经常在下列情况用于病原体的检查:①形态和生化反应不典型的病原微生物的鉴定;②当病原菌与大量正常菌群成员混合在一起时,分离鉴定耗时费力,用 PCR 可从混合标本中直接检测目的菌;③生长缓慢或难于培养的病原菌鉴定:如分枝杆菌、奈瑟菌等。

(2) 核酸杂交技术:从临床标本中提取 DNA 或 RNA,然后用标记的核酸探针进行杂交,如果二者有互补序列,则被探针检出。核酸杂交对尚不能或难分离培养的病原菌尤为适用,但操作较复杂,故少用。

(3) 16S rRNA 基因序列分析 (16S rRNA gene sequence analysis):所有原核细胞生物(细菌、衣原体、立克次体、支原体、螺旋体、放线菌)染色体 DNA 上都有编码核糖体 RNA (rRNA) 的基因。原核生物有 5S、16S 和 23S 三种 rRNA,其中 16S rRNA 基因具有多拷贝、多信息、长度适中的特点。16S rRNA 基因由可变区和保守区组成,保守区为所有细菌所共有,细菌之间无差别,可据此设计通用引物(universal primer, up)。可变区具有属或种的特异性,可据此设计引物、探针,对细菌进行系统分类和检测。检测技术包括核酸杂交、基因芯片技术、单链构象多态性分析(single strand conformation polymorphism, SSCP)、实时荧光定量 PCR 技术、限制性片段长度多态分析(restriction fragment length polymorphism, RFLP)和 16S rRNA 直接测序法等。将检测获得的 16S rRNA 序列信息与数据库中的序列进行比对,确定其在进化树中的位置,从而鉴定样本中病原体的种类。

16S rRNA 基因序列分析可以实现对原核生物进行简便、快速、微量和准确的检测、分类与鉴定,可用于检测难以培养(如结核分枝杆菌)或用常规试验方法难以区别表型的致病菌。

但 16S rRNA 的进化速度缓慢, 基因序列相对保守, 在对相近种或同一种内的不同菌株则很难区分, 需要进一步的生物生化试验或其他方法作为补充。

3. 质谱分析法 (mass spectrometry) 是将有机化合物的分子电离、碎裂, 然后按照离子的质荷比 (m/z) 大小把生成的各种离子分离, 检测其强度并排列成谱, 这种研究物质的方法称作质谱法。

近年来发展起来的基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS) 主要由三部分组成: 基质辅助解吸电离离子源 (MADLI)、飞行时间质量分析器 (TOF) 和检测器。用基质覆盖直接涂在样品靶盘上的细菌单菌落而形成共结晶薄膜, 或将细菌重悬液与基质溶液充分混合后点样。脉冲激光照射结晶后, 电离的生物分子在电场下加速飞过飞行管道, 通过检测离子到达检测器的飞行时间确定离子的质荷比, 从而对样品进行分析。每种细菌都有自身独特的蛋白质组成, 所以各菌种的蛋白质质谱图不同。将得到的谱图与数据库中的微生物参考谱图比对, 实现对细菌的属、种, 甚至不同亚种进行鉴定与分类。与常规方法相比, MADLI-TOF MS 具有简便快速、灵敏度高、准确度好、低成本、自动化和高通量等特点。目前操作简易的商品化质谱仪已经进入临床微生物实验室, 用于鉴定临床培养物中的细菌和真菌, 并可对药物敏感性及耐药机制进行分析。将 PCR 技术与质谱分析方法相结合, 可直接对临床标本中微生物核酸进行检测, 而不必进行微生物培养。

利用放射性核素技术、气相色谱技术和电阻抗技术等新技术已应用于细菌的检测和研究。气相色谱法可鉴别厌氧菌, ^{13}C 或 ^{14}C 呼吸试验常用于检查幽门螺杆菌的尿素酶, 噬菌体裂解试验可用于细菌感染的流行病学调查、追踪传染源和某些耐药菌株的筛选。

三、病原菌相关抗体的检测

一般适用于病程较长和抗原性较强的病原菌引起的感染。若以血清学试验结果作为感染性疾病的诊断依据, 应在病程的急性期和恢复期各取一份血清进行检测。恢复期病原体的特异性 IgG 抗体效价明显升高 4 倍或以上时, 方有诊断价值。IgM 抗体出现较早, 消失也早, 因此高效价 IgM 一般是近期感染所致, 常用于快速诊断。

第三节 病毒感染的微生物学检查法

病毒的分离与鉴定是经典的病毒学检查方法, 但是实验过程耗时费力, 而且至今仍有些病毒的培养尚未成功。随着分子病毒学和现代实验技术的发展, 已经建立了无需病毒培养的检测手段, 包括电镜直接观察病毒形态、检查病毒的抗原、核酸或特异性抗体等, 使得病毒感染的快速诊断成为可能 (图 9-2)。

一、形态学检查

电子显微镜能观察病毒颗粒的大小和形态特征。对含有高浓度病毒颗粒 ($\geq 10^7/\text{ml}$) 的样品, 可直接在电镜下观察。对病毒含量少的样品可用免疫电镜法检查, 即先将待检标本与特异性抗体混合, 使病毒颗粒凝聚, 再进行电镜观察, 比直接电镜观察更加敏感和特异, 可提高病毒检出率。例如甲型肝炎病毒或轮状病毒感染者的粪便标本、人类免疫缺陷病毒和乙型肝炎病毒感染者的血清标本等均可采用此法检出具有典型形态的病毒颗粒。

光学显微镜仅能用来观察病毒感染细胞内的病理变化, 如包涵体或多核巨细胞等。包涵体的位置 (胞质内或核内) 和经 Giemsa 染色表现的嗜酸性或嗜碱性的不同对某些病毒性疾病的

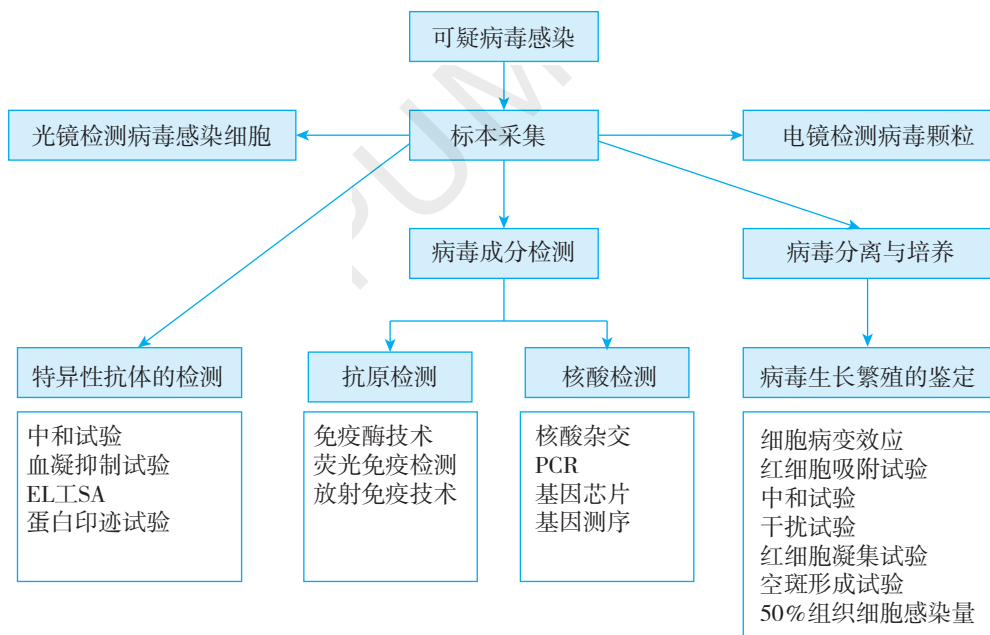


图 9-2 病毒感染的实验室检测项目与方法

诊断有重要意义，如狂犬病病毒感染后可在脑神经细胞质中检出嗜酸性包涵体，称为内基小体（Negri body），可辅助诊断狂犬病。

二、分离培养与鉴定

病毒的分离与鉴定用于下列情况：①对新发或再现的病毒性疾病的病原学检测与研究。②疑似病毒感染者，其他的病毒检测结果均阴性，需要获得病因学诊断。③不同病毒感染可引起相同临床症状的疾病，需要明确为何种病毒感染所致。例如，无菌性脑膜炎可被多种病毒引起；呼吸系统感染可被多种病毒、支原体或其他病原体引起。④监测减毒活疫苗是否出现毒力回复突变株。⑤进行病毒生物学性状研究和流行病学调查。

病毒分离培养常用的方法包括动物接种、鸡胚培养和组织细胞培养。动物接种目前很少用于临床诊断，但用于病毒学研究。在进行高致病性病毒的动物实验时需要相应的动物生物安全实验室。

鸡胚培养是培养流感病毒的敏感方法。羊膜腔接种用于流感病毒初次分离培养；尿囊腔接种常用于流感病毒和腮腺炎病毒等的培养。收获尿囊液或羊水等做血凝试验可作为具有血凝素的病毒生长繁殖的指标。

细胞培养（cell culture）有三个细胞类型：①原代细胞（primary cell）：直接从组织制备的细胞，通常不能传代或仅能传代数次，多用于研究，极少用于临床诊断。病毒通常对原代细胞敏感。②二倍体细胞（diploid cell）：基本保持正常细胞的核型和表型，可传 10 ~ 50 代，常用于病毒疫苗的制备。人胚肺成纤维细胞可用于巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、水痘-带状疱疹病毒和肠道病毒等的分离培养。③传代细胞系（cell line）：具有永生化的特性，可以持续分裂和传代，一般是肿瘤源性细胞，核型和表型都与正常细胞有较大不同。传代细胞的优点是使用和保存方便，是分离和培养病毒最常用的细胞类型，但不能用于疫苗生产。常用于分离病毒的传代细胞有 HeLa 细胞（子宫颈癌）、Hep-2 细胞（人喉上皮癌）、KB 细胞（鼻咽上皮癌）和 Vero 细胞（非洲绿猴肾）等。

将含有病毒的标本接种在敏感的单层细胞，经过培养后，根据不同病毒的特性选择不同的

鉴定方法。

1. 细胞病变 大多数病毒在敏感细胞内增殖后,会引起细胞颗粒增多、圆缩、聚集或融合、形成包涵体,之后细胞会脱落、溶解乃至死亡,称为细胞病变效应(cytopathic effect, CPE)。不同病毒引起的CPE表现不同,例如副黏病毒、疱疹病毒和合胞病毒等引起细胞融合,腺病毒引起Hep-2细胞圆缩,呼吸道合胞病毒引起Hep-2细胞融合,形成多核巨细胞(图9-3)。因此观察细胞病变是初步判断病毒感染的常用方法,但是应注意有些病毒虽可在细胞中增殖,却不引起明显的细胞病变。

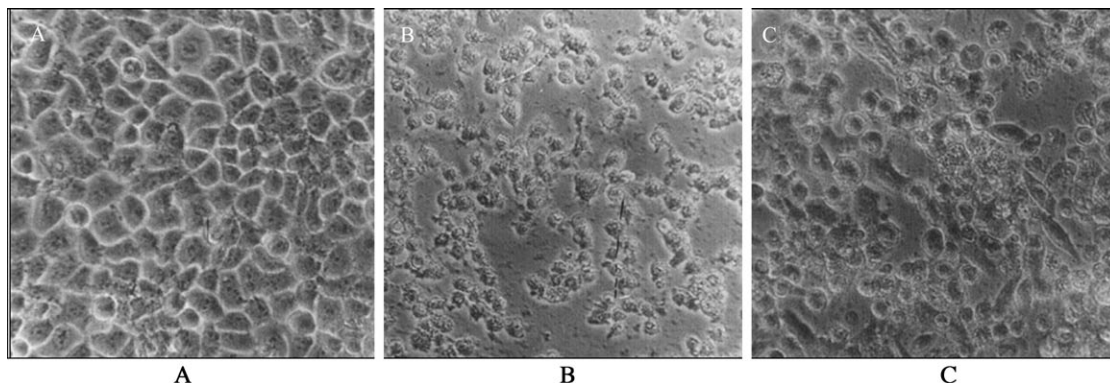


图9-3 细胞病变效应(×200)

A:未感染病毒的HeLa细胞;B:被柯萨奇病毒B3感染后,细胞变圆、皱缩,细胞折光性减弱;C:被腺病毒感染后,细胞肿胀,折光性增强,呈葡萄状排列(李呼伦提供)

2. 红细胞吸附(hemadsorption) 有些包膜病毒有血凝素(hemagglutinin, HA)蛋白,在感染的细胞膜上也能表达HA,使感染细胞能与红细胞结合,称之为红细胞吸附现象。这是检测正黏病毒(流感病毒)和副黏病毒的间接指标,例如,流感病毒在感染细胞后不出现明显的细胞病变,但加入红细胞后可见红细胞吸附到感染细胞上。

3. 病毒干扰作用(viral interference) 有些病毒感染细胞后,不产生明显的细胞病变,但可干扰感染同一种细胞的另一种病毒的正常增殖,称为干扰作用。例如,风疹病毒在感染猴肾细胞后不引起细胞病变,但可抑制随后接种的埃可病毒11型在细胞中的正常增殖。埃可病毒单独感染猴肾细胞则可出现明显的细胞病变。

4. 中和试验(neutralization test, NT) 将已知的抗病毒血清预先与病毒悬液混合,在适宜条件下作用一定时间后,接种于敏感细胞进行培养,观察病毒致细胞病变作用或红细胞吸附现象是否消失。这是比较可靠的病毒检测方法。

为适应病毒感染的快速诊断,细胞培养技术也进行了改良。病毒小瓶快速培养(shell vial culture, SVC)是在培养小瓶中已放置盖玻片,其上有单层细胞生长。将可疑含病毒的标本接种于培养瓶中,室温下低速离心从而促进病毒对单层细胞的感染。培养18~24小时后,取出盖玻片,用荧光标记的特异性抗体检测病毒早期蛋白,通过免疫荧光染色技术使病毒感染细胞直接显影。这种方法具有速度快、敏感性好的优点,用于病毒的快速诊断。最先用于巨细胞病毒的检测,目前已经有商品化培养小瓶供实验室选择使用。

三、病毒数量及感染性的检测

采用空斑形成试验和50%组织细胞感染量等方法可以检测活病毒的数量或感染能力。

1. 空斑形成试验(plaque formation assay) 是测定病毒数量的一种方法。将适宜浓度的病毒接种于敏感的单层细胞中。经一定时间后,在其上方覆盖一层琼脂糖或甲基纤维素。继

续培养后, 单个病毒的增殖使局部感染的单层细胞脱落, 形成肉眼可见的空斑 (plaque), 经染色后更加明显。一个空斑是由一个病毒大量增殖所致。因此, 可通过空斑数计算出该样品中病毒的含量。通常以每毫升病毒悬液的空斑形成单位表示 (pfu/ml)。该技术是最常用的活病毒的定量方法, 也常用于抗病毒药物的药效评价。

2. 50% 组织细胞感染量 (50% tissue culture infectious dose, TCID₅₀) 是根据有无细胞病变来判断病毒感染性和毒力的指标。该方法是将待测病毒液进行 10 倍系列稀释, 分别接种于易感的单层细胞, 培养一定时间后, 观察细胞 CPE 等病毒增殖指标, 以能感染 50% 细胞的最高病毒稀释度作为判定终点, 用统计学方法计算出 TCID₅₀。也可以用动物替代细胞, 计算导致 50% 动物死亡的病毒量, 称为半数致死量 (50% lethal dose, LD₅₀)。

有血凝素的病毒 (如流感病毒) 感染细胞后释放至培养上清液, 与脊椎动物 (鸡、豚鼠、人等) 的红细胞作用可出现红细胞凝集现象 (hemagglutination), 也可用于病毒定量, 以出现血凝现象的培养上清液最高稀释度作为血凝效价, 间接表示病毒含量。

四、病毒成分的检测

1. 抗原检测 用已知抗体检测可疑标本中是否含有相应的病毒抗原。此技术的待检样品中不必有完整病毒颗粒, 可以节省分离病毒的时间, 特别是对于难以用常规方法分离培养的病毒。只要具有较高质量的特异性抗体, 标本中存在一定量的病毒抗原, 可在数小时至 1 天内完成检测。常用的抗体一般是单克隆抗体, 用荧光标记技术和酶标记技术对抗体预先标记。ELISA 操作简便、敏感性高, 是最广泛应用的实验方法。

2. 核酸检测 所有重要致病病毒都已有全基因组或部分基因的测序数据, 检测核酸是病毒感染性疾病的最常用临床诊断方法。PCR 正逐渐替代传统的病毒培养和抗原检测, 成为病毒感染诊断的标准方法。核酸杂交因操作复杂而少用, 但在某些情况还有其价值, 例如原位杂交主要用于细胞内病毒的检测和定位, 可用于宫颈癌组织中乳头瘤病毒的检测与分型。

临床检测要求高通量和自动化, 基因芯片可实现自动化、微量化和高通量, 临床应用越来越广泛。例如, 肝炎病毒检测芯片已经面市, 可对所有肝炎病毒的分型、变异、耐药和病毒核酸含量进行高通量、平行检测。

五、病毒抗体的检测

病毒感染的血清学诊断在临床具有不可或缺的重要性: ①用于长潜伏期的病毒感染的诊断。潜伏期没有明显症状, 抗体检测和定量可以快捷获知病毒的感染情况。例如人类免疫缺陷病毒感染的最初阶段仅为血清中病毒抗体阳性。之后通过核酸扩增技术监测体内病毒载量 (viral load), 指导抗病毒治疗。②病毒感染的早期诊断: 特异 IgM 的出现和升高通常表示早期病毒感染, 例如, 出现 IgM 类乙型肝炎病毒核心抗体提示被检查者处于病毒感染早期。

单份血清 IgG 抗体效价不能区分既往感染或正在感染, 通常不用于辅助诊断, 但人类免疫缺陷病毒只要检测到 IgG 抗体即表明已经感染, 常用于临床诊断。

多种免疫学实验方法可用于病毒抗体的检测, 包括中和试验、血凝抑制试验、补体结合试验、ELISA 和蛋白印迹等技术。

1. 中和试验 病毒在体内或细胞培养中可被特异性抗体中和而失去感染性, 根据特异性抗血清能保护细胞 (或鸡胚、动物) 不出现病变的稀释倍数判定抗体效价。常用于人群免疫状况调查, 临床诊断较少使用。

2. 血凝抑制试验 当表面具有 HA 的病毒与 HA 抗体作用后, 可以阻止 HA 与红细胞的结合, 称为血凝抑制试验 (hemagglutination inhibition test, HI)。本法可用于正黏病毒、副黏

病毒及黄病毒等含 HA 病毒的血清学诊断和流行病学调查,也可用于鉴定病毒的型或亚型。

3. 蛋白印迹技术 (western blot) 是将 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 与酶免疫技术相结合的方法。由于病毒蛋白的分子量和所带电荷不同,通过 SDS-PAGE 分离出不同的蛋白条带。将蛋白条带转移至硝酸纤维素膜上,加入病毒抗体 (一抗) 与样品中的蛋白作用,冲洗之后再加酶标记的抗 IgG 抗体 (二抗),最后用显色剂或化学发光物质显示与相应抗原结合的特异性抗体。本试验是用已知病毒蛋白检测未知病毒特异性抗体的方法。目前 WHO 规定该试验作为 HIV 感染的确认试验,被广泛应用。

小

结

对病原微生物进行分离和鉴定,必要时进行药物敏感试验和毒力检查等,有助于对感染性疾病进行病因学诊断、指导合理用药及观察治疗效果,也可为传染病的流行病学调查提供可靠的依据。

1. 标本的质量直接影响病原体的实验室诊断结果的可靠性,因此需要在感染性疾病进程中合适的时间、感染部位,以正确的方法采集、运送并保存标本。

2. 病原体的形态学检查:采用光学显微镜观察细菌的形态与染色性,观察病毒感染细胞的细胞病变效应。采用电子显微镜检查病毒颗粒。

3. 细菌的分离培养与鉴定:从可疑感染标本中分离出细菌的单个菌落后,进行形态学检查、生化反应、血清学鉴定及药物敏感试验等。

4. 病毒分离培养与鉴定:选择敏感细胞分离病毒,观察病毒感染细胞的特殊病理变化、红细胞吸附现象、中和作用及病毒干扰作用等。用空斑形成试验、50% 组织细胞感染量对病毒定量。

5. 病原体的成分检测:用已知特异性抗体检测细菌和病毒的抗原 (凝集试验、对流免疫试验、酶免疫技术、免疫荧光技术和发光免疫技术等);用分子生物学技术 (PCR、核酸杂交、基因芯片和基因测序等) 检测细菌或病毒的核酸。

6. 病原体感染的血清学诊断:用已知病原体的抗原检测患者血清中的特异性抗体 (凝集试验、中和试验、补体结合实验、血凝抑制试验、ELISA 或免疫印迹试验等)。特异性抗体 IgM 的出现或升高提示病原体的早期感染。必要时需要双份血清辅助诊断感染性疾病。

(张力平)

对细菌和病毒感染的预防原则主要是管理传染源、切断传播途径和提高人群免疫力，其中提高人群免疫力主要是使机体获得特异性免疫力。特异性免疫力的产生是预防、控制感染性疾病或传染病最重要的方法，而特异性免疫既可以通过主动免疫（active immunization）获得，也可以通过被动免疫（passive immunization）获得，而且均可分为自然方式和人工方式（图 10-1）。

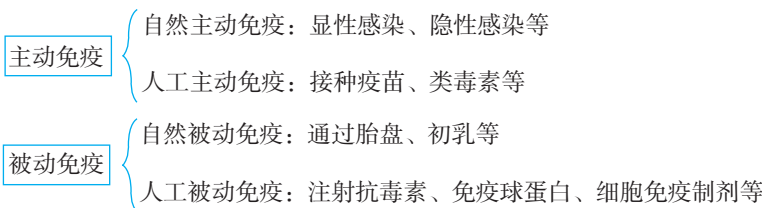


图 10-1 特异性免疫的产生方式

人工主动免疫（artificial active immunization）是采用人工的方法，将疫苗、类毒素等抗原物质接种于人体，使之产生特异性免疫力，从而预防感染性疾病的措施。人工主动免疫的特点是免疫力出现缓慢，但维持时间较长。因此，人工主动免疫主要用于传染病的特异性预防。

人工被动免疫（artificial passive immunization）是给人体注射含特异性抗体的免疫血清或细胞因子的制剂，以紧急预防或治疗感染性疾病的措施。这种免疫力不是由受者自身免疫系统产生，而是通过被动输入方式获得的，所以被动免疫后，免疫效应分子可立即发挥免疫效应，但作用维持时间较短。因此，人工被动免疫多用于传染病的紧急预防或治疗。人工主动免疫与人工被动免疫的区别见表 10-1。

表10-1 人工主动免疫与人工被动免疫的区别

区别要点	人工主动免疫	人工被动免疫
接种 / 输入的物质	抗原（疫苗、类毒素）	抗体、活化的淋巴细胞、细胞因子
免疫产生的时间	慢，约 1 ~ 4 周	快，立即
免疫维持的时间	较长，半年至数年	较短，2 ~ 3 周
主要用途	疾病预防	疾病紧急预防或治疗

生物制品（biological product）是以人、动物和微生物的组织、细胞或体液等为原料，通过生物技术制成的、用于人类疾病的预防、诊断和治疗的制剂。生物制品包括人工制备的主动免疫制剂（如疫苗、类毒素）和被动免疫制剂（如抗毒素、丙种球蛋白）以及诊断血清、细胞因子等。

第一节 细菌与病毒感染的特异性预防

疫苗 (vaccine) 是指接种机体后, 能使机体对特定疾病产生免疫力的生物制品的统称。疫苗接种是预防传染病的最重要、最有效的手段, 现在已有 20 余种疫苗用于人类疾病预防, 其中半数以上是病毒疫苗。由于疫苗的广泛使用, 使曾经严重危害人类生命与健康的急性传染病如天花、脊髓灰质炎、麻疹、白喉等疾病的流行得到了有效控制, 其中天花已经被消灭, 世界卫生组织 (WHO) 于 1980 年 5 月正式宣布全球天花业已绝迹, 所以疫苗接种是消灭或控制感染性疾病的重要措施。

一、细菌感染的特异性预防

虽然现在已经有了多种抗菌药物可有效治疗细菌感染性疾病, 但“预防为主、防重于治”一直是控制感染性疾病的最好策略, 特别是近年“超级细菌”的出现, 更需要重视对细菌感染的特异性预防。

(一) 人工主动免疫常用的生物制品

疫苗是用各种微生物制备的、用于预防相应传染病的生物制品。疫苗接种 (vaccination) 是将疫苗制剂接种到人体, 使机体产生针对该病原体的特异性抗体和 / 或细胞免疫应答, 并使机体获得特异性免疫记忆能力的方法。当机体感染相应病原体时, 产生的免疫应答相当于再次感染引起的免疫效应, 可以有效地抵抗病原微生物的侵袭。

用于人工主动免疫的疫苗, 可分成传统疫苗和新型疫苗两大类。传统疫苗包括减毒活疫苗、灭活疫苗和用天然微生物的某些成分制成的亚单位疫苗。新型疫苗主要是指利用基因工程技术生产的疫苗, 包括基因工程亚单位疫苗、基因工程载体活疫苗、核酸疫苗等。预防细菌感染常用的主要有减毒活疫苗、灭活疫苗和亚单位疫苗。

1. 减毒活疫苗 (attenuated live vaccine) 亦称活疫苗, 是通过人工培养使病原菌毒力下降或由自然界直接筛选出弱毒或无毒但仍保留抗原性且遗传性稳定的活菌制成。如预防结核病的卡介苗 (BCG) 就是用牛型结核分枝杆菌在人工培养基上培养 13 年传代 230 次制备而成的减毒活疫苗, 而预防鼠疫用的鼠疫耶尔森菌低毒株则是通过自然筛选获得的。

活疫苗接种机体后, 在体内有一定的增殖能力, 但因为是减毒或无毒的微生物, 所以机体只发生类似隐性感染或轻症感染的过程, 却可以使机体获得更好的特异性免疫效果。活疫苗的优点是用量小, 副作用轻微, 一般只需接种一次, 免疫效果好, 免疫力持久。主要缺点是需冷藏保存, 且保存期短。此外, 减毒活疫苗有潜在的危险性, 即有可能回复为有毒力的病原体。虽然这种现象极少发生, 但如果给免疫缺陷的机体接种活疫苗, 则可能引起感染或激活体内其他潜伏的病原体而引起显性感染。医务工作者必须充分了解减毒活疫苗的优缺点, 以便恰当地选择疫苗类型和接种对象。

2. 灭活疫苗 (inactivated vaccine) 亦称死疫苗, 是将病原菌经人工大量培养后, 用物理或化学方法将其杀死而制成。常用的有伤寒、百日咳、霍乱和流脑等灭活疫苗。灭活疫苗的优点是易于保存, 一般 4℃ 可保存 1 年。其不足之处是需要培养大量病原菌, 成本较高; 不能诱发细胞毒性 T 细胞 (CTL) 反应, 但却可激活胸腺依赖性 T 细胞而引起迟发型超敏反应; 免疫效果较差, 维持时间短; 需多次接种, 用量较大, 注射局部和全身可出现一定反应。为减少接种次数、提高接种效率和降低成本, 可将不同种类的死疫苗适当混合制成联合疫苗使用, 一次接种即可预防多种传染病。目前应用的联合疫苗有鼠疫、霍乱、伤寒和甲、乙型副伤寒、多价钩端螺旋体疫苗、白百破三联疫苗 (DPT) 以及近年研制的白 - 百 - 破 - 脊髓灰质炎、白 - 百 - 破 - 流感嗜血杆菌及甲肝 - 乙肝 - 白喉 - 破伤风 - 流感联合疫苗。减毒活疫苗和灭活疫苗的区别要点见表 10-2。

表10-2 减毒活疫苗和灭活疫苗的区别

区别要点	减毒活疫苗	灭活疫苗
制剂特点	活病原微生物的无毒或减毒株	灭活的病原微生物
接种途径	天然感染途径	局部注射
接种量及次数	量较小、1次	量较大、多次
免疫维持时间	3 ~ 5年甚至更长	0.5 ~ 1年
抗体应答	IgG、IgA	IgG
细胞免疫	良好	差
毒力恢复	可能（但少见）	无
保存	4℃条件下数周后失去活性，冷冻干燥可保存较长时间	易保存，4℃条件下有效期一年

3. 亚单位疫苗 (subunit vaccine) 是分离提取病原体中具有诱导免疫保护作用的菌体成分制成的疫苗。这些疫苗不是完整的病原体，只是病原体的一部分，故称为亚单位疫苗。细菌外毒素的亚单位疫苗是由外毒素的 B 亚单位制成的，而有些细菌的亚单位疫苗是由菌体表面的特异性多糖提纯后加吸附剂制成，如脑膜炎奈瑟菌、流感嗜血杆菌和肺炎链球菌等的多糖亚单位疫苗。

亚单位疫苗的优点与灭活疫苗相似，但这些亚单位分子的免疫原性较差，需要与蛋白质载体耦联后使用。荚膜多糖亚单位疫苗的免疫原性较弱，可与破伤风类毒素、白喉类毒素等结合成耦联疫苗，既可以增强多糖的免疫原性，同时也可预防两种以上相应细菌的感染。

4. 基因工程疫苗 (gene engineered vaccine) 是指利用 DNA 重组技术，把病原体编码保护性抗原决定簇的目的基因插入载体 DNA 分子中，然后将重组体导入原核或真核表达系统，再纯化表达的保护性抗原而制成的疫苗。基因工程疫苗的优点是安全、经济、可批量生产，但技术要求高，对表达的保护性抗原蛋白质的回收和纯化比较复杂。

5. 重组载体疫苗 (recombined vector vaccine) 是将病原体编码诱发保护性免疫应答的蛋白抗原的基因转入减毒的病毒或细菌载体而制成的疫苗。转入的目的基因可整合到病毒或细菌的基因组上，也可以质粒的形式存在。重组载体疫苗接种人体后，可以在体内增殖并将编码蛋白抗原的基因表达成相应的蛋白质，从而刺激人体产生免疫应答，所以重组载体疫苗实际也是活疫苗的一种特殊形式。在重组载体疫苗构建过程中，可将一种病原体的两个或多个蛋白质抗原的编码基因或多个病原体的蛋白抗原编码基因，导入到同一种载体宿主内以制成“多价”的重组载体疫苗，一次接种即可预防多种传染病。如带有可表达痢疾杆菌表面抗原质粒的伤寒杆菌 Ty21a 菌株就是一种重组载体疫苗，接种后既可预防痢疾杆菌感染，又可预防伤寒沙门菌感染。

6. 核酸疫苗 (nucleic acid vaccine) 也称 DNA 疫苗，是由编码病原体某种蛋白抗原的基因和表达载体的 DNA 重组而成，然后将重组的 DNA 直接注射到机体内，使外源基因在活体内表达出蛋白抗原，激发机体产生保护性免疫应答。核酸疫苗是疫苗发展的方向之一，其主要优点是：①核酸疫苗表达的抗原免疫原性强，对不同亚型的病原体有交叉保护作用，免疫效果好；②可同时诱导特异性体液免疫和细胞免疫应答，能有效预防病毒、细胞内寄生菌等引起的传染病；③由于外源基因可以在体内存在较长时间，并不断表达抗原，故免疫应答持久；④不需要提取和纯化蛋白质抗原等复杂过程，制备简便，成本低廉；⑤可将编码不同抗原的基因构建在同一个表达载体上，进行联合免疫。核酸疫苗目前的主要缺点是：①外源性 DNA 若整合到宿主染色体中，可能会激活癌基因或者影响抑癌基因的表达，导致细胞的恶性转化；②外



知识拓展：核酸疫苗

源性 DNA 可能会诱发机体产生抗核抗体,从而引发自身免疫性疾病等;③持续表达的外源性抗原,可能会导致机体对该抗原的免疫耐受,导致免疫预防作用的降低。目前,美国 FDA 已批准结核、流感、乙型肝炎等数种疾病的核酸疫苗进入临床实验,也有动物用的核酸疫苗获准生产。我国的核酸疫苗研究与国际同步,也有 10 余种核酸疫苗进入了临床前研究。

7. 类毒素 (toxoid) 是细菌外毒素经 0.4% 甲醛溶液处理后,其毒性消失而仍保留免疫原性的生物制品。在类毒素中加入适量的磷酸铝或氢氧化铝等吸附型佐剂,可使类毒素在体内缓慢吸收,能较长时间地刺激机体产生特异的抗毒素,以增强免疫预防效果。常用的类毒素有白喉类毒素、破伤风类毒素等。类毒素也可与死疫苗混合后制成联合疫苗,如由百日咳死菌苗、白喉类毒素和破伤风类毒素混合制备的白 - 百 - 破三联疫苗 (DPT)。应用这种混合疫苗不仅可同时预防三种疾病,而且百日咳鲍特菌还具有佐剂作用,故能增强类毒素的免疫效果。

预防细菌感染的人工主动免疫的生物制品见表 10-3。

表10-3 常用的预防细菌感染性疾病的疫苗

疫苗所预防的疾病或病原菌	疫苗类型
结核	减毒活疫苗 (卡介苗)
鼠疫	减毒活疫苗 (EV 株)
布鲁菌病	减毒活疫苗、灭活疫苗、基因工程疫苗
炭疽	减毒活疫苗 (A16R 株)
伤寒	灭活疫苗、减毒活疫苗 (Ty21a)
霍乱	灭活疫苗
脑膜炎奈瑟菌	亚单位疫苗 (多糖)
肺炎链球菌	亚单位疫苗 (多糖)
流感嗜血杆菌	亚单位疫苗 (多糖)
白喉 - 百日咳 - 破伤风	白喉类毒素 - 百日咳灭活菌苗 - 破伤风类毒素

(二) 人工被动免疫常用的生物制品

人工被动免疫是注射含有特异性抗体的免疫血清、纯化的免疫球蛋白或细胞因子等细胞免疫制剂,使机体即刻获得免疫力的方法。因被动免疫作用发生快,常用于某些感染性疾病的紧急预防或治疗。但由于输入的制剂不是机体自身产生的,故维持时间短。常用的被动免疫制剂主要有抗毒素、抗菌血清、丙种球蛋白、胎盘球蛋白和细胞因子等。

1. 抗毒素 (antitoxin) 是将细菌类毒素接种马进行免疫后,取其免疫血清纯化免疫球蛋白而成。抗毒素注入机体后可立即与外毒素结合,中和其毒性作用,阻止其扩散及与靶细胞的结合,临床上常用于细菌外毒素所致疾病的紧急预防和治疗。常用的抗毒素有破伤风抗毒素、白喉抗毒素等。由于目前使用的破伤风抗毒素和白喉抗毒素多数来自马血清,对人是异种蛋白,有时可引起 I 型超敏反应,所以注射前必须先做敏感试验。

2. 抗菌血清 (antibacterial serum) 是用病原菌免疫动物制成的含有抗该病原菌抗体的血清,过去曾用于治疗肺炎链球菌、鼠疫耶尔森菌、炭疽芽胞杆菌、百日咳鲍特菌等引起的感染。自抗生素等抗菌药物问世后,加之细菌的型别比较多,抗菌血清的制备又较复杂,使用异种血清还可能引起超敏反应等,因此抗菌血清目前已经很少使用,只是对某些已产生多重耐药的菌株如铜绿假单胞菌的感染,或病原菌不明的新发感染,仍可考虑用抗菌血清进行治疗。

3. 免疫球蛋白 (immunoglobulin) 主要有胎盘丙种球蛋白和人血清丙种球蛋白两种制剂,前者是从健康产妇胎盘和脐带血中提取、纯化制成,后者是从健康人血清中提取制备的。

正常人一般都经历过多种病原微生物的隐性或显性感染,故血清中含有针对多种病原微生物的抗体,所以免疫球蛋白制剂对多种病原微生物的感染均有一定的预防作用。临床上可将免疫球蛋白用于烧伤或长期化疗的患者,以防治各种常见细菌的感染;也可用于某些病毒性疾病(如麻疹、甲型肝炎、脊髓灰质炎等)的紧急预防,以及丙种球蛋白缺乏症的治疗。

细胞免疫制剂在细菌感染的特异性预防中应用不多,因为参与细胞免疫的有关细胞和细胞因子较多,相互间的调控关系复杂。因此,细胞免疫制剂主要应用于病毒性疾病的防治和肿瘤的治疗,包括干扰素、IL-2、NK 细胞等。

二、病毒感染的特异性预防

病毒感染性疾病在临床感染性疾病中占据重要的地位,在微生物引起的感染性疾病中,由病毒引起的约占 75%。但是,目前抗病毒药物种类有限,主要是针对少数几种病毒的药物,所以对病毒感染的特异性预防就显得更为重要。某些病毒性疾病(如麻疹、腮腺炎等)的多数患者病后可获得持久的免疫力,因此,针对病毒感染既可用病毒疫苗进行人工主动免疫,也可用人体免疫球蛋白等进行人工被动免疫。

(一) 人工主动免疫常用的生物制品

病毒疫苗与细菌疫苗一样,可以通过刺激机体免疫系统产生特异性免疫应答,当机体再次暴露于该病毒时,其发病率和病死率都得以降低。病毒疫苗已经成为预防病毒性疾病最重要、最有效的手段。随着现代医学和分子生物学技术的发展,病毒疫苗的研究和应用也得到了快速发展,特别是近 30 年来,基因工程技术的迅猛发展,极大地促进了病毒疫苗的研究和开发。病毒疫苗的分类与细菌疫苗的分类相同,但由于病毒基因组较小,更利于进行新型疫苗研究,所以病毒的新型疫苗相对较多,包括了基因工程亚单位疫苗、基因工程载体疫苗、核酸疫苗、遗传重组疫苗等。

1. 减毒活疫苗 是自然筛选的或人工突变培育出的致病性减弱或消失的病毒突变株,包括宿主范围突变株、温度敏感突变株等,如我国研制的脊髓灰质炎活疫苗就是采用低温传代减毒后制成的温度敏感突变株。常用减毒活疫苗进行预防的疾病有脊髓灰质炎、流感、麻疹、腮腺炎、风疹、乙型脑炎、甲型肝炎等。接种活疫苗相当于一次隐性感染过程,但若遇到免疫功能低下或特殊体质的人接种时,可能会出现类似感染症状或超敏反应等不良现象,而且孕妇一般不宜接种活疫苗。减毒活疫苗还存在着毒力回复的可能性,对免疫缺陷的个体接种活疫苗可引起感染或并发症,如口服脊髓灰质炎活疫苗引起的“脊灰疫苗相关性麻痹”,其临床表现与脊髓灰质炎极为相似,但发生率极低。

2. 灭活疫苗 是利用某些理化因素处理灭活病毒,使其失去感染性而保留抗原成分制备而成的疫苗。灭活疫苗突出的优点是安全性好和易于保存,但由于灭活病毒不能在体内增殖,所以其诱生的免疫效果不如减毒活疫苗。灭活疫苗常用于预防毒力不能减弱或可能致癌的病毒性感染,如乙型脑炎死疫苗就是用地鼠肾单层细胞培养出乙型脑炎病毒,然后用甲醛处理灭活制成。常用的灭活疫苗还有狂犬病疫苗、流感疫苗等。

3. 亚单位疫苗 是用化学分解或蛋白质水解的方法,将病毒中有效的抗原成分提取制备而成,故亦称组分疫苗。亚单位疫苗的特点与灭活疫苗相似,主要优点是安全性好,接种疫苗后的不良反应轻;缺点是免疫原性弱、预防接种效果稍差。流感病毒诱导中和抗体的血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA)频繁变异,目前没有减毒疫苗株,预防主要靠从当年流行株制备 HA 和 NA 的亚单位疫苗,故需要每年接种。

4. 基因工程疫苗 是利用基因工程技术制备的病毒疫苗,包括了以下 5 类。

(1) 基因工程亚单位疫苗 (gene engineered subunit vaccine): 是利用基因工程技术表达病毒蛋白质抗原成分而制成的疫苗。通过把病毒某种具有诱生保护性免疫应答的蛋白抗原的编码

基因插入到表达载体中,使其在原核或真核细胞中表达,再经纯化精制而成。目前常用于表达外源基因的细胞主要有细菌、酵母、哺乳动物细胞、昆虫细胞等系统。用基因工程技术生产的亚单位疫苗,可以用来替代传统方法生产的亚单位疫苗,特别是可用于制备那些不易培养病毒的疫苗,但其缺点是免疫性较差。目前已经成功应用于人群预防接种的只有乙型肝炎基因工程亚单位疫苗,正在研究的基因工程亚单位疫苗的病毒主要有甲型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、戊型肝炎病毒、EB 病毒、流行性出血热病毒等。另外,也可利用基因工程技术表达出病毒结构蛋白并组装成病毒样颗粒(virus-like particle, VLP)作为疫苗,如我国现在批准上市的 HPV 疫苗就是用 HPV 16 型和 18 型的 L1 蛋白组装成的病毒样颗粒。

(2) 基因工程载体疫苗(gene engineered vector vaccine):是利用某些无致病性的或经去除毒力基因后的微生物作为载体,将病毒的保护性抗原的基因片段插入到载体微生物基因组中,再将能表达保护性抗原的微生物制备成疫苗。常用的微生物载体有痘苗病毒、腺病毒、伤寒沙门菌 Ty21a、卡介苗等。若载体本身基因组较大(如痘苗病毒等),可以容纳较多的外源基因插入,这样的载体更有利于研制多价疫苗。载体疫苗为活疫苗,具有与减毒活疫苗相似的特点。但疫苗所针对的病毒与所用的载体可能存在不同感染途径,如麻疹病毒的自然感染途径为呼吸道,而使用重组痘病毒制备的载体疫苗必须采用划痕接种,因此可能不利于诱发呼吸道黏膜免疫,从而影响疫苗的保护效果。针对甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、麻疹病毒、单纯疱疹病毒等的基因工程载体疫苗目前正处于研制阶段。

(3) 基因缺失活疫苗(gene deleted live vaccine):是利用基因工程技术去除与病毒毒力或病毒复制有关的基因,如疱疹病毒的胸腺嘧啶核苷激酶基因(tk)和包膜糖蛋白 gG 基因,由此缺失突变株制成的疫苗称为基因缺失活疫苗。与从自然界或人工突变培育筛选出的活疫苗(多数为点突变毒株)相比,基因缺失突变株具有突变性状明确、稳定、不易发生毒力回复的优点,如兽用伪狂犬病疫苗就是采用 tk 基因缺失株、糖蛋白 3 区缺失株制备的,用于猪伪狂犬病的防治,收到了良好效果。另外,将腺病毒的毒力基因去除,该缺陷病毒既可作为基因缺失活疫苗,也可以用作载体疫苗的病毒载体。

(4) 核酸疫苗:是将病毒基因组中编码能诱生保护性免疫应答的蛋白抗原基因片段与表达载体进行重组,将重组体注射入宿主体内,通过宿主细胞的转录翻译系统合成病毒抗原,在体内持续表达,进而诱导体液免疫和细胞免疫应答,以达到预防和治疗疾病的目的。针对病毒的核酸疫苗的突出优点是可诱发明显的细胞免疫,增强免疫保护作用;通过对目的基因选择,可诱生针对不同病毒亚型间的交叉保护作用。1993 年首次报道了流感病毒核酸疫苗的交叉保护作用;目前正在进行核酸疫苗研究的病毒有免疫缺陷病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、戊型肝炎病毒、单纯疱疹病毒、EB 病毒、巨细胞病毒、乳头瘤病毒等。

核酸疫苗克服了基因工程疫苗的后处理问题,抗原的表达和后加工由宿主细胞完成并保持抗原的天然结构和免疫原性,因而能较好地诱导产生获得性免疫,包括体液免疫和细胞免疫。同时还具有可大量制备、成本低等优点。

(5) 遗传重组疫苗(genetic recombinant vaccine):是指病毒通过共同感染细胞后,强、弱病毒株之间进行基因片段交换而获得的减毒活疫苗。遗传重组疫苗是一种既无致病性,又含有野毒株保护性抗原基因片段的基因重组病毒疫苗。基因组分节段的 RNA 病毒,如甲型流感病毒、汉坦病毒和轮状病毒等,都可以利用基因重配方法来制备遗传重组减毒活疫苗,而且五价的人-牛重组轮状病毒疫苗(RV5)已经批准上市。

5. 合成肽疫苗(synthetic peptide vaccine) 是根据病毒的保护性抗原的氨基酸序列设计、用化学方法合成的多肽所制备的疫苗,常常由多个 B 细胞抗原表位和 T 细胞抗原表位共同组成。合成肽疫苗的优点是安全性好、保存方便、不存在病原微生物的污染和质量容易控制。缺点是免疫原性弱、免疫效果不佳,特别是对于容易变异的 RNA 病毒,其诱生的免疫保

护作用是有限的。

表 10-4 概括了已经批准上市和研制阶段的常用病毒性疫苗。

表10-4 常用的病毒性疫苗

疾病或病毒	疫苗类型
脊髓灰质炎	减毒活疫苗、灭活疫苗
麻疹	减毒活疫苗
风疹	减毒活疫苗
流行性腮腺炎	减毒活疫苗
流感	灭活疫苗、减毒活疫苗
甲肝	减毒活疫苗、灭活疫苗
乙肝	亚单位疫苗（基因工程）
乙型脑炎	减毒活疫苗、灭活疫苗
森林脑炎	灭活疫苗
狂犬病	灭活疫苗
流行性出血热	灭活疫苗
水痘	减毒活疫苗
黄热病	减毒活疫苗
腺病毒	减毒活疫苗
轮状病毒	重组疫苗
人乳头瘤病毒	病毒样颗粒疫苗

（二）人工被动免疫常用的生物制品

丙种球蛋白（gamma globulin）包括胎盘丙种球蛋白和人血清丙种球蛋白，都可以用来预防一些病毒性疾病，因为正常成人一般都经历过多种病毒的隐性或显性感染，血清中含有针对多种病毒的抗体。人群中常见的病毒感染有麻疹病毒、甲型肝炎病毒、脊髓灰质炎病毒等，所以丙种球蛋白对这些病毒的感染均有紧急预防的作用，如 80% ~ 95% 的甲型肝炎接触者应用免疫球蛋白后，可获得有效的保护作用。

特异性免疫球蛋白（specific immunoglobulin）是从某种病毒感染者的血清中提取、纯化后制备的免疫球蛋白，可紧急预防相应的病毒感染。如含高效价抗 HBs 的人免疫球蛋白（HBIG），能有效防止接触者感染乙型肝炎病毒，以及阻断 HBsAg 阳性母亲将病毒传播给新生儿。

第二节 计划免疫

计划免疫（planned immunization）是指有计划地进行预防接种。计划免疫的措施是根据人群的免疫状况和传染病的流行情况，以及各种生物制品的性能和免疫保护时间，科学地安排接种对象和时间，达到控制和消灭传染病的目的。我国规定的计划免疫包括两种程序，即基础免疫和加强免疫，前者是指在一周岁内必须完成的初次接种，后者是指根据疫苗的免疫持久性和人群的免疫水平以及疾病流行情况适时地进行疫苗重复接种。

一、感染性疾病流行的概述

感染性疾病的发生与流行是微生物、宿主、环境三者相互作用的动态过程。关于疾病流行强度常用的术语有：①散发 (sporadic)：零星病例，病例间没有明显关联，如破伤风梭菌的感染；②暴发 (outbreak)：指一个单位或局部地区，短时间突然出现许多相同的病例；③流行 (epidemic)：突然大量病例出现某地区，感染人数明显超出预期值，如 1987 年 12 月—1988 年 2 月上海甲型肝炎流行，30 万市民受到感染；④大流行 (pandemic)：如果病情迅速蔓延超过一定历史条件下的流行水平，且波及他国甚至全球，则称为大流行。大流行常发生于战争年代，且造成严重危害，如有记载的第一次世界性流感大流行，发生在 1918—1919 年，造成约 7 亿人感染，2 000 万～4 000 万人死亡。

由于经济增长和人口流动增加，我国感染性疾病的流行趋势也有所变化。目前我国感染性疾病流行的现状和趋势是：曾经造成严重危害的白喉、百日咳、破伤风和麻疹等疾病得到有效控制，脊髓灰质炎已被消灭，但结核病的疫情仍然严重。发病率最高的是呼吸道和肠道感染性疾病，与生活环境、饮食及个人卫生有关。此外，新中国成立后已经消灭的性传播疾病卷土重来，一些新的感染性疾病，如艾滋病 (AIDS)、肠出血型大肠埃希菌感染 O157:H7、严重急性呼吸综合征 (severe acute respiratory syndrome, SARS)、手足口病 (hand-foot-mouth disease, HFMD)、人感染高致病性禽流感 (avian influenza)、甲型 H1N1 流感等相继出现，甚至造成严重后果。加之病原微生物耐药状况日益严重，给感染性疾病的防治带来了严峻挑战。

二、感染性疾病的防控原则

感染性疾病的防控不是一个单纯的医学问题，需要借助政府的决策支持，所以各国都设立疾病控制和预防的专门机构，例如我国的国家疾病预防控制中心以及各省市的下属机构，而协调全球疾病控制的机构是世界卫生组织 (WHO)。

一旦发生感染性疾病的流行，应当立即进行调查，以便尽快进行控制和预防。感染性疾病的控制和预防需从三方面着手，即管理传染源、切断传播途径和保护易感染人群。

1. 管理传染源 感染性疾病的传染源可能是疾病患者或病原携带者，也可能是一些带有病原体的动物。如果传染源是疾病患者，对其发现和控制相对容易；但如果传染源是健康携带者，通常很难发现，所以早期发现传染源对管理传染源非常重要。

隔离 (isolation) 是最有效的管理传染源的措施。所谓隔离就是将患者或病原携带者安排在指定的地点，暂时与人群隔离，对其有传染性的分泌物和排泄物进行消毒处理，防止病原体向外扩散的措施。对动物传染源，处死被感染的动物并严格处理动物尸体是主要方法。

检疫 (quarantine) 是管理传染源的另一个有效措施。检疫是为了预防传染病的输入、传出和传播所采取的综合措施，包括医学检查、卫生检查和必要的卫生处理，并分为对动物和植物的国境卫生检疫和疫区检疫，目的是防止危险性传染病的传播，以及外来有害物种的侵入。我国的国境卫生检疫法规定检疫的传染病有鼠疫、霍乱、黄热病以及国务院公布的其他传染病。

疫情报告制度也是预防和控制感染性疾病流行的重要措施。2004 年修订的《中华人民共和国传染病防治法》规定，将 39 种急性和慢性传染病分为甲、乙、丙三类，被列为法定管理的传染病，如发现规定的传染病疫情或者发现其他传染病暴发、流行以及突发原因不明的传染病时，应及时上报。

2. 切断传播途径 对各种传染病，特别是消化道传染病、虫媒传播的传染病，切断传播途径是起主导作用的预防措施。注意个人卫生，如洗手、消毒等是防止接触传播的主要措施。在发生空气传播的感染性疾病期间，应当避免人群聚集，可减少病原体传播的机会。保护水



案例 1：违规疫苗事件



案例 1 解析

源，加强饮食业管理，可以防止经水源或食物传播的传染病。此外，还需根据传播途径的改变而调整措施，如 HIV 在我国的主要传播途径已经由吸毒途径转变为性传播途径，所以对普通人群普及预防知识是控制艾滋病疫情的关键措施，而且加强健康教育已在很多国家取得了良好成效。垂直传播应在产前和分娩时注意防护，并加强产后的监测和指导。此外，搞好环境卫生也是切断传播途径的重要环节。

3. 保护易感人群 保护易感人群是控制感染性疾病流行的最主要环节，可通过计划免疫来实现。计划免疫的具体措施是进行群体免疫（herd immunity），它是根据疫情监测和人群免疫状况调查，按照规定的免疫程序，有计划地预防接种，以获得对某些感染性疾病的特异性免疫力。预防接种（prophylactic immunization）是指将人工制备的疫苗通过适宜的途径接种人体，使机体获得对某种感染性疾病的特异性免疫力。计划免疫和预防接种是两个不同的概念。计划免疫有固定的免疫程序，接种对象是 15 岁以下儿童和少年；而预防接种不含强制色彩，针对任何年龄的个人和群体。

三、计划免疫

全球通过计划免疫已极大地减少了感染性疾病的发病率和死亡率。1974 年，WHO 发起扩大免疫计划（expanded program on immunization, EPI），建议各国将天花、脊髓灰质炎、麻疹、百日咳、白喉、破伤风和结核等列入计划免疫，使得全球从只有 5% 儿童接受预防接种提高到 1990 年的 80%，并且消灭了天花。WHO 据此又提出在近年内，全球要消灭的感染性疾病是脊髓灰质炎和麻疹。

各国计划免疫会根据本国经济状况和本地区疫情有所调整，发达国家的计划免疫一般包括乙型肝炎、白喉、破伤风、百日咳、乙型流感嗜血杆菌感染、脊髓灰质炎、肺炎球菌感染、麻疹、腮腺炎、风疹、水痘、甲型肝炎和流感等项目。我国 2016 年版国家免疫规划将乙型肝炎疫苗、卡介苗、脊髓灰质炎疫苗、白百破疫苗、麻疹腮腺炎风疹疫苗（麻腮风疫苗）、麻疹风疹疫苗、A 群流脑疫苗、乙脑疫苗和甲型肝炎疫苗列为我国的计划免疫项目，对适龄儿童进行常规接种（表 10-5）。重点地区对重点人群进行出血热疫苗接种，对炭疽病疫苗、钩端螺旋体疫苗等可进行应急接种。通过疫苗接种可预防的感染性疾病已经达到 16 种。

预防接种有时可能会发生一些不良反应，大多数反应是轻微的，如局部红肿、疼痛等；少数人也可能出现严重反应，如过敏性皮疹、过敏性紫癜、过敏性休克等，应及时去医院诊治，以免造成严重后果。

表 10-5 中国国家免疫规划疫苗儿童免疫程序*

疫苗	接种次数	接种月龄或年龄	接种途径	备注
乙肝疫苗	3	0、1、6 月龄	肌内注射	出生后 24 小时内接种第 1 剂次，第 1、2 剂次间隔 ≥ 28 天
卡介苗	1	出生时	皮内注射	
脊灰灭活疫苗	1	2 月龄	皮内注射	
脊灰减毒活疫苗	3	3、4 月龄，4 周岁	口服	第 1、2 剂次，第 2、3 剂次间隔均 ≥ 28 天
白百破疫苗	4	3、4、5 月龄，18 ~ 24 月龄	肌内注射	第 1、2 剂次，第 2、3 剂次间隔均 ≥ 28 天
白破疫苗	1	6 周岁	肌内注射	
麻疹风疹疫苗	1	8 月龄	皮下注射	

续表

疫苗	接种次数	接种月龄或年龄	接种途径	备注
麻腮风疫苗	1	18 ~ 24 月龄	皮下注射	预防麻疹、风疹和流行性腮腺炎的三联疫苗
乙脑减毒活疫苗	2	8 月龄, 2 周岁	皮下注射	也可接种乙脑灭活疫苗
A 群流脑疫苗	2	6 ~ 18 月龄	皮下注射	第 1、2 剂次间隔 3 个月
A+C 群流脑疫苗	2	3 周岁, 6 周岁	皮下注射	2 剂次间隔 ≥ 3 年; 第 1 剂次与 A 群流脑疫苗第 2 剂次间隔 ≥ 12 个月
甲肝减毒活疫苗	1	18 月龄	皮下注射	也可接种甲肝灭活疫苗
出血热疫苗 (双价)	3	重点地区重点人群, 16 ~ 60 周岁	肌肉注射	接种第 1 剂次后 14 天接种第 2 剂次, 第 3 剂次在第 1 剂次接种后 6 个月接种
炭疽疫苗	1	炭疽疫情发生时, 病例或病畜间接接触者及疫点周围高危人群	皮上划痕	病例或病畜的直接接触者不能接种

* 摘自《国家免疫规划疫苗儿童免疫程序及说明 (2016 年版)》(国卫办疾控发〔2016〕52 号)

第三节 医院感染的控制

医院感染 (hospital infection) 曾被称为院内感染 (nosocomial infection), 或医院获得性感染 (hospital-acquired infection), 我国原卫生部在 2001 年统一定义为医院感染。医院感染是指患者在医院内获得的感染, 包括在住院期间发生的感染和在医院内获得但出院后发生的感染。但医院感染不包括患者入院后延伸的原发感染, 入院前已感染但处于潜伏期的感染也不属于医院感染。对于细菌性感染而言, 一般入院后 48 小时或更晚发生的感染可认为是医院感染, 但不同病原微生物由于其感染的潜伏期不同, 所以不能一概而论。医院感染的对象是一切在医院活动的人群, 包括患者、患者陪护人员、医院职工等。

近 30 年来, 由于抗生素、介入技术 (导管、插管、内镜等)、免疫抑制剂和化疗药物等的大量使用, 医院感染病例呈上升趋势, 平均 5% ~ 10% 的住院患者发生医院感染。在医院感染的部位方面, 呼吸道、尿路和创口感染是最常见的医院感染。

医院感染是感染性疾病控制的新难题, 因此许多国家都设有专门监测网络, 如美国疾病控制与预防中心 (Center of Disease Control and Prevention, CDC) 有国家医院感染监测数据库, 该数据显示美国的医院感染发生率约为 5%。我国有卫生健康委员会和全国医院感染监控网, 该监控网资料显示我国医院感染率约为 8.4% (1989) 和 4.6% (1998)。我国已将医院感染控制列为综合医院分级管理标准的重要考核指标。

一、医院感染的特点

医院感染明显不同于传染性疾病 (表 10-6), 其主要特点是:

1. 感染类型 医院感染可分为外源性感染和内源性感染, 但以内源性感染为主。导致医院感染的大多数微生物在人群中普遍存在, 以寄生在人体皮肤和与外界相通腔道等处的微生物群引起的机会感染居多。

表10-6 医院感染与传染性疾病的区别

病情特点	传染性疾病	医院感染
病原体	典型致病性微生物	多为条件致病微生物
流行病学		
传染源	多为外源性	多为内源性，少数为外源性
传播途径	经空气、水源、食物、接触等方式	接触传播为主（如介入治疗）
感染对象	无特异免疫力的易感染人群	患者，尤其伴有免疫低下者
传染性	强	弱
预防	免疫接种	控制危险因素
诊断	根据临床和流行病学调查，病原体易确定	需微生物学实验室辅助诊断，病原体难确定
治疗	多数有针对性治疗方案，易控制	较难，病原体常具有耐药性

2. 医院感染微生物 医院感染常见的微生物种类见表 10-7，包括：①条件致病微生物：如铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、表皮葡萄球菌及大肠埃希菌等。由于介入技术、广谱抗生素和免疫抑制剂大量应用，革兰氏阴性菌在医院感染中越来越常见；②常具有耐药性甚至多重耐药：耐药质粒通过转化、接合等方式传递，医院感染的细菌普遍存在多重耐药性，如耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA）对多种广谱抗生素都不敏感，是典型的医院感染多重耐药菌株。病毒感染方面常见的有疱疹病毒、合胞病毒、肠道病毒和肝炎病毒。真菌感染方面最常见的是念珠菌属，但也包括曲霉、毛霉菌和新生隐球菌。

一些过去不常引起感染的微生物近年来也频繁出现在医院感染中，常引起严重的医院感染。如空调的普及导致嗜肺军团菌在医院中引起散发或暴发性感染，还有不动杆菌属、产碱杆菌和黄杆菌属等细菌的感染也呈上升趋势。

表10-7 常见的医院感染微生物

感染部位	微生物
呼吸道感染	流感嗜血杆菌，肺炎链球菌，金黄色葡萄球菌，肠杆菌科，呼吸道病毒
尿道感染	大肠埃希菌，克雷伯菌，变形杆菌属，沙雷菌属，铜绿假单胞菌，肠球菌属，白色念珠菌
伤口和皮肤溃疡	金黄色葡萄球菌，大肠埃希菌，变形杆菌属，厌氧性细菌，肠球菌属，凝固酶阴性葡萄球菌
胃肠道感染	沙门菌属，宋内志贺菌，肠道病毒，诺如病毒

3. 感染对象 婴幼儿和老年人是医院感染的主要对象，但患有某些基础疾病或肺、心、肝、肾、脑等重要器官功能不全者，也容易发生医院感染。糖尿病患者、免疫抑制剂使用者、接受放射治疗和脾切除手术的患者等，因机体抵抗力低下，也是医院感染的常见对象。

4. 传播途径 医院感染的微生物有多种传播途径（表 10-8），但接触传播是最主要的途径。医院感染的传播途径包括：①接触传播：病原微生物从患者或带菌者直接传给接触者，污染的手是接触传播的主要媒介；其次是医院的器械、设备和物品被污染，外科手术、置留导尿管、气管切开术为正常菌群进入非定居部位提供了条件，也容易导致医院感染。②空气传播：通过喷嚏、扬尘等形成的气溶胶微粒和尘埃为媒介进行传播。革兰氏阴性杆菌通常不能长时间存活于空气，但可借助高湿度的换气设备，如空调、呼吸机和雾化吸入装置等传播。③偶尔针刺、锐器伤等意外事故的发生，是肝炎病毒、HIV 等血液传播病原体的医院感染方式，也是近年来比较受重视的一种医院感染传播途径。

表10-8 医院感染的主要传播途径和所致疾病

传播途径	传染源	所致疾病
接触		
直接接触	呼吸道分泌物	葡萄球菌和链球菌感染
间接接触	粪、尿、伤口渗出物	细菌性腹泻、铜绿假单胞菌感染
与医疗环境接触	设备、食物、药剂、液体	肠道杆菌感染（克雷伯菌、沙雷菌、肠杆菌属）、铜绿假单胞菌或其他假单胞菌
空气		
飞沫	口腔	麻疹、结核、肺炎
	鼻腔	葡萄球菌感染
皮肤	皮肤伤口	葡萄球菌和链球菌感染
气雾	呼吸机	革兰氏阴性菌呼吸道感染
	空调机	嗜肺军团菌、真菌感染
经皮肤	锐器伤、血液制品	血液传播肝炎、HIV 感染

二、医院感染的控制

预防和控制医院感染涉及医院设施、医疗技术、医院管理等多个环节的多个方面，主要措施包括以下几方面：

1. 严格消毒灭菌和无菌操作 医疗器械、工作衣物、各种制剂和液体的消毒灭菌是降低医院感染发生的重要环节，医疗器械和医用物品必须经高压蒸汽灭菌或干烤灭菌，并进行严格的质量控制；注射器和各种导管的一次性使用，也是有效降低医院感染的措施之一。另外，医务人员进行各种操作时应严格无菌操作，也是降低医院感染的重要因素。

2. 采取隔离措施 隔离包括传染源隔离（infectious source isolation）和对易感者的保护性隔离（protective isolation），前者包括对传染病患者的隔离、对医院感染者排泄物的消毒处理等，后者是防止易感者被感染。骨髓移植、血液病患者经常发生严重的侵袭性真菌感染，对其所住病房空气的过滤要求更严格，需要建立层流病房（laminar airflow ward），以降低医院感染的发生。

3. 建立监测制度 定期对住院患者进行随机检测有利于记录医院感染疫情，如发现医院感染流行应迅速监控。药物敏感试验有助于指导使用抗菌药物和控制医院感染，还应对长期在病房工作的职工定期进行鼻部及手部的细菌培养，持续携带金黄色葡萄球菌者应停止在病房工作。

4. 合理使用抗菌药物 滥用抗菌药物会加剧病原生物的耐药，如 2012 年报道的“超级细菌”，在世界上很多个国家（包括中国）都有过数量不等的确认病例。使用抗菌药物的原则是应根据药物敏感试验结果选用最敏感的抗菌药物；尽量避免使用广谱抗菌药物和减少联合用药，以减少细菌不必要的耐药性，也能有效预防医院感染的发生。

5. 建立和健全医院感染控制机构和规章 在医院成立医院感染管理委员会或医院感染管理科，其主要的职责包括：①监测和控制医院感染的发生；②监测医院卫生状况和流行菌株；③提供疫情报告和防控建议；④提供医院感染控制的教育和培训。



案例 2：医院感染事件



案例 2 解析

小 结

对病原微生物所致的传染病的预防原则，主要是管理传染源、切断传播途径及提高人群免疫力，其中提高人群免疫力主要是使机体获得特异性免疫力。特异性免疫可以通过主动免疫和被动免疫的方式获得，二者均可分为自然方式和人工方式。

计划免疫是指有计划地进行预防接种。计划免疫的措施是根据人群的免疫状况和传染病的流行情况，以及各种生物制品的性能和免疫期限，科学地安排接种对象和时间，达到控制和消灭传染病的目的。计划免疫分为在一周岁内必须完成初次接种的基础免疫，以及根据疫苗的免疫持久性、人群的免疫水平、疾病流行情况适时地进行疫苗接种的加强免疫。

医院感染是指患者在医院内获得的感染，包括住院期间发生的感染和在医院内获得但在出院后发生的感染。感染对象是一切在医院活动的人群，包括患者、患者陪护人员、医院职工等。医院感染的控制涉及医院设施、医疗技术、医院管理等各个方面，须采取综合措施才能得以实现。

(李明远)

第二篇

致病性细菌

球菌（coccus）是细菌中的一大类，种类繁多，大多为非致病性球菌，少数对人有致病作用，称为病原性球菌。因它们都能引起化脓性炎症，故又称为化脓性球菌（pyogenic coccus）。根据革兰氏染色不同分为两类，革兰氏阳性球菌有葡萄球菌、链球菌、肺炎链球菌；革兰氏阴性球菌有脑膜炎奈瑟菌和淋病奈瑟菌等。

第一节 葡萄球菌属

葡萄球菌属（*Staphylococcus*）是一群葡萄串状排列的革兰氏阳性球菌，广泛分布于空气、水、土壤、人和动物的体表以及与外界相通的腔道，大部分是正常菌群或不致病的腐生菌，仅少数对人致病。

依据传统分类，目前葡萄球菌属细菌有 32 种，在人体寄生的有 16 种。常见的有金黄色葡萄球菌（*S. aureus*）、表皮葡萄球菌（*S. epidermidis*）和腐生葡萄球菌（*S. saprophyticus*）（表 11-1）。根据是否产生凝固酶，可将葡萄球菌分为凝固酶阳性葡萄球菌和凝固酶阴性葡萄球菌两大类。凝固酶阳性葡萄球菌还可利用噬菌体进一步分型，目前可分为 5 个噬菌体群和 26 个噬菌体型。噬菌体分型在流行病学调查时，对追踪传染源及研究菌型与疾病种类间的关系有重要意义。

表 11-1 三种葡萄球菌的主要性状

性状	金黄色葡萄球菌	表皮葡萄球菌	腐生葡萄球菌
菌落色素	金黄色	白色	白色或柠檬色
凝固酶	+	—	—
分解葡萄糖	+	+	—
分解甘露醇	+	—	—
溶血素	+	—	—
耐热核酸酶	+	—	—
A 蛋白	+	—	—
致病性	强	弱	无

一、金黄色葡萄球菌

金黄色葡萄球菌在鼻咽部带菌率为 20% ~ 50%，医务人员的带菌率可高达 70% 以上，是医院内交叉感染的重要传染源。

(一) 生物学性状

1. 形态与染色 革兰氏染色阳性, 衰老、死亡、被中性粒细胞吞噬或受青霉素等药物影响后, 可染成革兰氏阴性。球形或略呈椭圆形, 直径 $0.5 \sim 1.5 \mu\text{m}$ (图 11-1)。在固体培养基上生长的细菌常呈典型葡萄串状排列, 在脓汁或液体培养基中生长者, 常为双球或短链状。葡萄球菌无鞭毛, 无芽胞, 体外培养时一般不形成荚膜。在作用于细胞壁的抗生素 (如青霉素等) 的干扰下, 可形成 L 型, 菌体膨胀导致形态改变, 或裂解死亡。

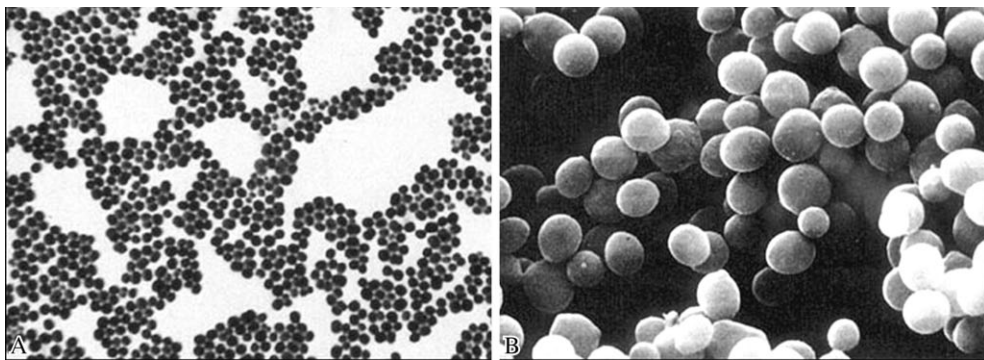


图 11-1 金黄色葡萄球菌形态

A. 为光镜下形态, 革兰氏染色 $\times 1\,000$; B. 为扫描电镜下形态 $\times 13\,500$



彩图: 葡萄球菌# (革兰氏染色, $\times 1000$)

2. 培养特性 营养要求不高, 兼性厌氧或需氧, 最适生长温度为 37°C , 最适 pH 为 7.4。在基础培养基上生长良好, 在肉汤培养基中呈均匀浑浊生长, 管底稍有沉淀。在普通琼脂平板上孵育 $24 \sim 48$ 小时后, 形成直径 2 mm 的圆形、隆起、表面光滑、湿润、边缘整齐、不透明的金黄色菌落 (表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌可出现白色、柠檬色等色素)。在血琼脂平板上, 可形成透明的溶血环 (β -溶血), 溶血菌株大多有致病性。

3. 生化反应 触酶阳性。多数菌株能分解葡萄糖、麦芽糖和蔗糖, 产酸不产气。致病菌株能分解甘露醇。

4. 抗原构造 金黄色葡萄球菌抗原结构复杂多样, 重要的有以下几种。

(1) 葡萄球菌 A 蛋白 (staphylococcal protein A, SPA) 是存在于细胞壁的一种表面蛋白, 具有属特异性, 90% 以上的金黄色葡萄球菌有此抗原。SPA 是一种单链多肽, 与胞壁肽聚糖呈共价结合。该蛋白可与人类 IgG1、IgG2 和 IgG4 的 Fc 段非特异性结合, 与吞噬细胞争夺 Fc 段, 有效地降低抗体介导的调理作用。SPA 与 IgG 结合后的复合物还具有促细胞分裂、引起超敏反应、损伤血小板等多种生物学活性。与 SPA 结合的 IgG 分子 Fab 段仍能同相应抗原特异性结合。协同凝集试验 (coagglutination test) 即采用含 SPA 的葡萄球菌作为载体, 结合特异性抗体, 可简易、快速检测多种微生物抗原。

(2) 荚膜多糖 宿主体内的大多数金黄色葡萄球菌表面存在着荚膜多糖, 有利于细菌抗吞噬, 促进细菌对细胞或生物合成材料表面 (如生物性瓣膜、导管、人工关节等) 的黏附。

(3) 磷壁酸 具有群特异性, 金黄色葡萄球菌的磷壁酸是 A 多糖 (N-乙酰葡萄糖胺核糖醇型磷壁酸); 表皮葡萄球菌的磷壁酸是 B 多糖 (N-乙酰葡萄糖胺甘油型磷壁酸)。磷壁酸能与细胞表面的纤连蛋白结合, 介导葡萄球菌对黏膜表面的黏附。

5. 抵抗力 金黄色葡萄球菌对外界因素的抵抗力强于其他无芽胞菌。在干燥脓汁、痰液中存活 $2 \sim 3$ 个月, 加热 60°C 1 小时或 80°C 30 分钟才被杀死, 2% 苯酚中 15 分钟或 1% 升汞水中 10 分钟死亡, 耐盐性强, 在含 10% ~ 15% NaCl 的培养基中仍能生长。对碱性染料敏感。金黄色葡萄球菌对多种抗生素易产生耐药性: ①青霉素 (penicillin) 类抗生素, 金黄色葡

萄球菌可携带编码 β -内酰胺酶的质粒,对多种青霉素类抗生素(青霉素 G、氨苄西林等)产生耐药性。目前金黄色葡萄球菌对青霉素 G 的耐药率已高达 90% 以上。②耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 20 世纪 70 年代开始在世界范围内引起严重的医院内感染。MRSA 携带抗甲氧西林基因 *mecA*,其编码的青霉素结合蛋白-2'(penicillin binding protein-2', PBP2'),对青霉素类抗生素结合力下降,而产生耐药性。③耐万古霉素金黄色葡萄球菌(vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*, VRSA),其耐药性的机制是,细菌细胞壁增厚使万古霉素与细胞壁肽聚糖的亲合力降低,阻碍万古霉素不能与活性靶位接触,导致耐药性形成。此外,金黄色葡萄球菌还可携带抗红霉素、四环素及其他抗药基因的质粒。

(二) 致病性与免疫性

致病物质 在葡萄球菌中金黄色葡萄球菌毒力最强。毒力因子包括菌体表面结构、多种酶类及毒素等。

1. 凝固酶(coagulase) 金黄色葡萄球菌可产生两种凝固酶:①游离凝固酶(free coagulase):作用类似凝血酶原物质,被人或家兔血浆中协同因子活化为凝血酶样物质后,使液态的纤维蛋白原变成固态的纤维蛋白,使血浆凝固,可用试管法检测;②结合凝固酶(bound coagulase):是该菌表面的纤维蛋白原受体,能与纤维蛋白原结合,引起细菌凝聚呈颗粒状,可用玻片法检测。血浆凝固酶使纤维蛋白凝聚于菌体表面,能阻止体内吞噬细胞的吞噬或胞内消化作用,也能保护细菌不受血清中杀菌物质的破坏,与其致病性关系密切。病灶周围因有纤维蛋白的凝固和沉积,使细菌不易向外扩散,故葡萄球菌感染易局限化和形成血栓。大多致病性葡萄球菌能产生凝固酶,故凝固酶试验是鉴别葡萄球菌有无致病性的重要指标。

2. 葡萄球菌溶素(staphylolysin) 为膜损伤毒素,按免疫原性不同,可分为 α 、 β 、 γ 、 δ 四种,对人类有致病作用的主要是 α 溶素,除对多种哺乳动物红细胞有溶血作用外,还对白细胞、血小板、肝细胞、成纤维细胞、血管平滑肌细胞等有损伤作用。 α 溶素是一种外毒素,免疫原性强,经甲醛处理可制成类毒素,可作为防止金黄色葡萄球菌感染的人工主动免疫制剂。

3. 杀白细胞素(leukocidin) 又称为 Panton-Valentine (PV) 杀白细胞素,只攻击中性粒细胞和巨噬细胞,有 F(电泳移动快成分)和 S(电泳移动慢成分)两个组分,两者必须协同才有作用。能使细胞膜中三磷酸肌醇发生构型变化,胞膜通透性增高,胞内颗粒排出,细胞死亡。死亡的细胞可形成脓栓。杀白细胞素在抵抗宿主吞噬细胞、增强病菌侵袭力方面有意义。

4. 肠毒素(enterotoxin) 约 30% ~ 50% 临床分离株可产生肠毒素。分 A、B、C₁、C₂、C₃、D、E、G 和 H 9 个血清型,以 A、D 型为常见。葡萄球菌肠毒素是热稳定的蛋白质,100℃ 30 分钟仍保存部分活性,能抵抗胃肠液中蛋白酶的水解作用。葡萄球菌肠毒素是超抗原,能非特异性激活 T 细胞,释放过量的细胞因子如 TNF、IL-1 和 IFN- γ 等。食物如果被产毒株污染,在 20 ~ 22℃ 经 8 ~ 10 小时,可产生大量的肠毒素。食用被肠毒素污染的食品后,毒素与肠道神经细胞受体结合,刺激呕吐中枢,引起以呕吐为主要症状的急性胃肠炎,以 A 型最多见。

5. 表皮剥脱毒素(exfoliative toxin, exfoliatin) 也称表皮溶解毒素(epidermolytic toxin),有两个血清型,A 型耐热,由前噬菌体编码,B 型不耐热,由 RW002 质粒编码。表皮剥脱毒素能与皮肤存在的 GM4 样糖脂结合,发挥丝氨酸蛋白酶功能,裂解细胞间桥小体,使表皮和真皮脱离,引起葡萄球菌烫伤样皮肤综合征(staphylococcal scalded skin syndrome, SSSS),又称剥脱性皮炎。多见于新生儿、幼儿和免疫功能低下的成人。

6. 毒性休克综合征毒素-1(toxic shock syndrome toxin 1, TSST-1) 为外毒素,曾称肠毒素 F 和致热性外毒素 C,由细菌染色体编码。它也是一种超抗原,可激活大量的 T 细胞,诱导单核细胞产生 IL-1、TNF 等引起机体发热,使毛细血管通透性增加,组织损伤,引起器

官功能紊乱或毒性休克综合征 (TSS)。

7. 其他

(1) 纤维蛋白溶酶 (fibrinolysin): 亦称葡激酶 (staphylokinase)。可激活血浆中的纤维蛋白酶原, 使之成为纤维蛋白酶, 导致血浆纤维蛋白的溶解, 利于病菌的扩散。

(2) 耐热核酸酶 (heat-stable nuclease): 致病性葡萄球菌能产生该酶。耐热, 经 100℃ 15 分钟或 60℃ 2 小时不被破坏, 能降解 DNA 和 RNA。目前临床上已将耐热核酸酶作为测定葡萄球菌有无致病性的重要指标之一。

(3) 透明质酸酶 (hyaluronidase): 也称为扩散因子 (spreading factor), 能溶解细胞间质中的透明质酸, 利于细菌的扩散。90% 以上的金黄色葡萄球菌能产生该酶。

(4) 脂酶 (lipase) 绝大多数凝固酶阳性葡萄球菌和约 30% 凝固酶阴性株能产生多种脂酶, 它们分解血浆和机体各部位表面的脂肪和油脂, 细菌藉以获得必需营养从而可定植于分泌脂质的部位, 故脂酶有利于细菌入侵皮肤和皮下组织。

所致疾病

有侵袭性疾病和毒素性疾病两种类型。

1. 侵袭性疾病 主要引起化脓性炎症。葡萄球菌可通过多种途径侵入机体, 导致皮肤或器官的感染, 甚至败血症。

(1) 皮肤及软组织感染 如毛囊炎、疖、痈、蜂窝组织炎、伤口化脓等, 其脓汁黄而黏稠, 化脓灶多局限, 与周围组织界限明显。

(2) 内脏器官感染 如肺炎、胸膜炎、中耳炎、脑膜炎、心包炎、心内膜炎等。

(3) 全身性感染 如败血症、脓毒血症等。

2. 毒素性疾病 由葡萄球菌产生的相关外毒素引起。

(1) 食物中毒 进食含葡萄球菌肠毒素食物后 1 ~ 6 小时出现症状, 先有恶心、呕吐、上腹痛, 继以腹泻。呕吐最为突出。大多数患者于 1 ~ 2 天内恢复。

(2) 烫伤样皮肤综合征 由表皮剥脱毒素引起。多见于幼儿及免疫功能低下的成人。发病初期患者皮肤出现弥漫性红斑 (可累及全身皮肤的 20% ~ 100%), 48 小时内表皮起皱, 继而形成清亮的水疱。皮肤有触痛, 形似砂纸状。最后表皮上层脱落。

(3) 毒性休克综合征 主要由 TSST-1 引起, 常发生在使用月经塞的女性月经期, 表现为突发的高热、呕吐、腹泻、猩红热样皮疹伴脱屑。严重者可出现低血压及心肾衰竭, 导致休克。也可发生在儿童及术后伤口被葡萄球菌感染的患者。

此外, 肠道内菌群失调时, 优势菌如脆弱类杆菌、大肠埃希菌等受抗菌药物作用而被抑制或杀灭, 耐药的艰难梭菌、金黄色葡萄球菌等乘机繁殖并产生肠毒素, 引起以腹泻为主要症状的假膜性肠炎, 病理特点是肠黏膜覆盖一层由炎性渗出物、肠黏膜坏死组织和细菌组成的假膜。现认为假膜性肠炎主要由艰难梭菌引起, 葡萄球菌仅为伴随细菌。

免疫性 人类对葡萄球菌有一定的天然免疫力。只有当皮肤黏膜受损后, 或患有慢性消耗性疾病如结核、糖尿病、肿瘤等以及其他病原感染导致宿主免疫力降低时, 才易引起葡萄球菌感染。患病恢复后获得的免疫力不强, 难以防止再次感染。

(三) 微生物学检查法

1. 标本 化脓性病灶采取脓汁、渗出液, 疑为败血症采取血液, 脑膜炎采取脑脊液, 食物中毒则分别采集剩余食物、患者呕吐物和粪便等。

2. 直接涂片镜检 取标本涂片, 革兰氏染色后镜检。一般根据细菌形态、排列和染色性可作出初步诊断。

3. 分离培养和鉴定 将标本接种至血琼脂平板, 37℃ 孵育 18 ~ 24 小时后挑选可疑菌落涂片染色镜检。血液标本需先经肉汤培养基增菌后再接种血琼脂平板。

致病性葡萄球菌的鉴定主要根据溶血性、金黄色色素以及是否产生凝固酶和耐热核酸酶,发酵甘露醇可为参考指标。凝固酶阴性株虽亦能致病,但凝固酶仍是判断致病性菌株的重要指标。

4. 葡萄球菌肠毒素检查 传统方法为取患者呕吐物或剩余食物作为标本,接种于肉汤培养基,培养后取滤液注射于6~8周龄的幼猫腹腔,如4小时内幼猫出现呕吐、腹泻、体温升高或死亡等现象,提示有肠毒素存在的可能,此方法灵敏但实用性差,目前已有ELISA、PCR等方法快速检测葡萄球菌肠毒素。也可用特异的DNA基因探针杂交技术检测葡萄球菌是否为产肠毒素的菌株。

(四) 防治原则

注意个人卫生,加强对食品或饮食服务业的卫生监督管理,作好消毒隔离,尤其是手部的消毒处理,防止医源性感染。目前耐药菌株日益增多,要根据药物敏感性试验结果,选用最佳抗菌药物。慢性反复发作疖病的患者,可采用自身菌苗疗法。自身疫苗系从患者自体分出的葡萄球菌,培养于琼脂斜面上,用无菌生理盐水洗下,置60℃水浴中加热1小时杀死细菌。然后将菌液稀释至5亿~10亿/ml,加防腐剂即成。治疗时,第一次皮下注射0.1 ml,每隔5~7天注射1次,剂量递增,直至1 ml。

二、凝固酶阴性葡萄球菌

凝固酶阴性葡萄球菌(coagulase negative staphylococcus, CNS)常为寄生在人和动物体表及与外界相通的腔道中的正常菌群。包括表皮葡萄球菌、腐生葡萄球菌、人葡萄球菌、溶血葡萄球菌、头葡萄球菌、木糖葡萄球菌、猿类葡萄球菌等30余种。过去认为凝固酶阴性葡萄球菌不致病,近年来临床和实验室检测结果表明,CNS已成为医院感染的常见病原,感染标本中分离最多的是表皮葡萄球菌、腐生葡萄球菌。随着抗生素大量使用,耐药菌株日益增多,耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(methicillin-resistant CNS, MRCNS),发病率逐年上升,已成为医院感染的主要病原菌之一。

(一) 生物学性状

CNS营养需求同金黄色葡萄球菌。表皮葡萄球菌产生白色色素,腐生葡萄球菌产生柠檬色色素。在血液琼脂平板上一般不形成溶血环。不能分解甘露醇,此点可与金黄色葡萄球菌相鉴别。

(二) 致病性

1. 致病物质 与金黄色葡萄球菌相比,凝固酶阴性葡萄球菌不产生凝固酶和 α 溶血素,其致病物质主要为细菌胞壁外的黏液物质(extracellular slime substance, ESS)、 β 溶血素和 δ 溶血素,它们在细菌黏附、抗吞噬和抵抗宿主的免疫防御机制中起重要的作用。

2. 所致疾病 凝固酶阴性葡萄球菌已成为临床上常见的条件致病菌,在医源性感染中最为常见。MRCNS虽为低毒力条件致病菌,感染后症状不明显,但多重耐药,给临床诊断和治疗带来一定困难。CNS主要引起以下几种感染:

(1) 泌尿系统感染 为年轻妇女急性膀胱炎的主要致病菌,尿道感染仅次于大肠埃希菌。以表皮葡萄球菌、人葡萄球菌和溶血葡萄球菌多见。腐生葡萄球菌是青年人原发性泌尿道感染的常见病原。

(2) 心内膜炎 常因心瓣膜修复术而发生感染,主要为表皮葡萄球菌。

(3) 败血症 特别是新生儿败血症,凝固酶阴性葡萄球菌引起的败血症仅次于大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌,居第三位,常见的是溶血葡萄球菌、人葡萄球菌及表皮葡萄球菌。

(4) 侵入性诊疗手段引起的感染 导管、动脉插管、心脏起搏器、人工关节等植入性医疗器械特别适合CNS的黏附和生长,常导致各种术后感染。目前耐甲氧西林的表皮葡萄球菌

感染已成为外科手术后的严重问题。此外，器官移植、长期腹膜透析等也可造成凝固酶阴性葡萄球菌的感染。

（三）微生物学检查法

1. 细胞外黏质（ESS）的检测 通过黏附试验检测。

（1）定性试验（试管法）：将待检菌接种于 5 ml TSB 中，35℃ 静止培养 24 ~ 48 小时，吸出菌液，沿管壁加入 3% 阿辛蓝（alcian blue），如管壁出现明显的蓝色薄膜为阳性。

（2）定量试验：利用分光光度计测定。按上法培养，吸出菌液以 PBS 洗 3 次，再经 Beunin 固定，用结晶紫染色后，在 570 nm 波长下比色，记录光密度值（optical density, OD）。如 OD 值 ≤ 0.12 为阴性， $0.12 < OD \leq 0.24$ 为阳性（+），OD 值 > 0.24 为强阳性（++）。

2. 菌血症（败血症）的诊断 如何确定凝固酶阴性葡萄球菌引起的菌血症（败血症）是一个重要问题。当怀疑患者患凝固酶阴性葡萄球菌的菌血症（败血症）时，应连续两次血培养阳性，并结合临床分析，可认为是凝固酶阴性葡萄球菌的感染。

（四）防治原则

凝固酶阴性葡萄球菌，尤其是表皮葡萄球菌对多种抗生素易产生耐药性。治疗时应根据药敏试验选择敏感药物。



知识拓展：血浆凝固酶的种类及检测方法图解

第二节 链球菌属

链球菌属（*Streptococcus*）是化脓性球菌的另一类常见细菌，革兰氏染色阳性，成对或成链状排列，广泛存在于自然界、人及动物粪便和健康人的鼻咽部，大多为正常菌群。病原性链球菌可引起人类各种化脓性炎症、猩红热、产褥热、肺炎、新生儿败血症、细菌性心内膜炎以及风湿热、肾小球肾炎等超敏反应性疾病。链球菌属中对人类致病的主要是 A 群链球菌和肺炎链球菌。

链球菌常用的分类方法有三种：

1. 根据溶血现象分类

（1）甲型溶血性链球菌（ α -hemolytic streptococcus）：红细胞不完全溶解，菌落周围有 1 ~ 2 mm 宽的半透明、草绿色溶血环，称甲型溶血或 α 溶血，绿色物质可能是细菌产生的过氧化氢使血红蛋白氧化成高铁血红蛋白所致。甲型溶血性链球菌亦称为草绿色溶血性链球菌（*Streptococcus viridans*），多为条件致病菌，可致亚急性细菌性心内膜炎。

（2）乙型溶血性链球菌（ β -hemolytic streptococcus）：红细胞完全溶解，菌落周围形成 2 ~ 4 mm 宽、界限分明、完全透明的溶血环，称乙型或 β 溶血。乙型溶血性链球菌致病力强，常引起人和动物多种疾病。

（3）丙型链球菌（ γ -streptococcus）不产生溶血素，菌落周围无溶血环，故亦称为非溶血性链球菌（*Streptococcus non-hemolyticus*），一般情况下不致病。

2. 根据抗原结构分类 根据细胞壁中 C 多糖抗原性不同，可分成 A ~ H、K ~ V 等 20 个群。对人致病的链球菌 90% 左右属 A 群。A 群链球菌（group A streptococcus）常引起化脓性感染，又称为化脓性链球菌（*Streptococcus pyogenes*）。同群链球菌间，因表面蛋白质抗原不同又分成若干型，如 A 群链球菌根据 M 抗原不同可分成约 150 个型；B 群分 4 个型；C 群分 13 个型。

链球菌群别与溶血性之间并无平行关系，但 A 群链球菌大多表现为 β 溶血。

3. 根据生化反应等分类 一些链球菌可根据生化反应、致病性、药物敏感性、对氧需求等特性进行分类。如根据对氧的需要分为需氧性、兼性厌氧性和厌氧性链球菌三类。对人类致

病的主要为前两类，厌氧性链球菌是口腔、消化道、泌尿生殖道的正常菌群，在特定条件下可致病。

一、A 群链球菌

A 群链球菌又称为化脓性链球菌，是链球菌中致病力最强的细菌，90% 链球菌感染为 A 群链球菌引起。

(一) 生物学性状

1. 形态与染色 球形或椭圆形，直径 $0.6 \sim 1 \mu\text{m}$ (图 11-2)。链状排列，在液体培养基形成的链较固体培养基的长，临床标本可见成对和短链排列，易与葡萄球菌混淆。无芽胞、无鞭毛。幼龄菌 (2 ~ 3 小时培养物) 可形成透明质酸荚膜，随培养时间延长，细菌产生的透明质酸酶使荚膜消失。细胞壁外有菌毛样结构，含有型特异性 M 蛋白。革兰氏染色阳性，在陈旧培养基或脓液标本被吞噬细胞吞噬后常呈革兰氏阴性。

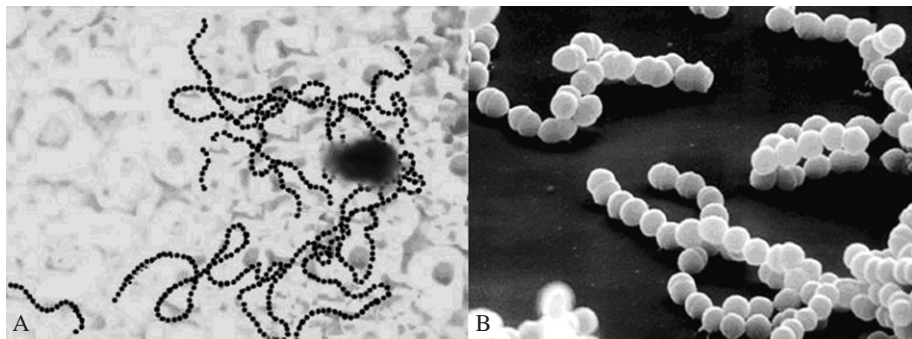


图 11-2 链球菌的形态

A. 为革兰氏染色 $\times 1000$; B. 为扫描电镜 $\times 13000$

2. 培养特性 需氧或兼性厌氧。营养要求较高，普通培养基中需加血液、血清、葡萄糖或腹水等营养物质才能生长。在血清肉汤培养基中生长时易形成长链状，管底呈絮状沉淀。在血琼脂平板上形成圆形隆起、表面光滑、灰白色、半透明或不透明的细小菌落，多数菌株菌落周围有 β 溶血现象。

3. 生化反应 能发酵简单的糖类，产酸不产气。一般不分解菊糖，不被胆汁溶解，此两特性可与肺炎链球菌鉴别。链球菌与葡萄球菌不同，不产生触酶。

4. 抗原构造 链球菌抗原构造较复杂。主要有以下三种。

(1) 多糖抗原：也称 C 抗原，存在于多数链球菌的细胞壁中，是链球菌分群的依据。对人致病的链球菌 90% 属于 A 群，其次为 B 群，其他群少见。

(2) 蛋白质抗原：也称表面抗原，是链球菌细胞壁的蛋白质，位于 C 抗原外层，A 群链球菌有 M、T、R 和 S 四种抗原组分，与致病性有关的是 M 抗原。表面抗原具有型特异性，如 A 群链球菌可根据 M 抗原不同分成约 150 个型。

(3) 核蛋白抗原：也称 P 抗原，无特异性，各种链球菌均相同，且与葡萄球菌有交叉。

5. 抵抗力 多数链球菌 60°C 30 分钟可被杀死，对一般消毒剂敏感。在干燥的尘埃中可生存数月。A 群链球菌对青霉素、红霉素、杆菌肽、四环素和磺胺药都很敏感。

(二) 致病性与免疫性

1. 致病物质 A 群链球菌有较强的侵袭力，并产生多种侵袭性酶和外毒素。



彩图：链球菌# (革兰氏染色， $\times 1000$)

(1) 菌体细胞壁成分

1) 脂磷壁酸 (lipoteichoic acid, LTA): 人类多种细胞膜上均有 LTA 结合位点, A 群链球菌通过 LTA 与宿主细胞黏附。LTA 与 M 蛋白共同构成 A 群链球菌的菌毛结构。

2) F 蛋白: 位于链球菌细胞壁内, 其结合区暴露于菌体表面, 能与上皮细胞表面的纤维粘连蛋白结合, 有利于细菌在宿主体内定植和繁殖, 也能与纤维蛋白原结合, 增加链球菌抗吞噬的能力。

3) M 蛋白: 具有抵抗吞噬作用。M 蛋白与心肌、肾小球基底膜成分有共同抗原, 与风湿热、肾小球肾炎等超敏反应性疾病有关。

(2) 致热外毒素 (streptococcal pyrogenic exotoxin, SPE) 亦称为红疹毒素 (erythrogenic toxin) 或猩红热毒素 (scarlet fever toxin), 是人类猩红热的主要致病物质, 由携带溶源性噬菌体的菌株产生, 能损害细胞或组织, 使患者产生红疹, 也具内毒素样致热作用。化学组成为蛋白质, 有 A、B、C、F 共 4 个血清型。SPE 具有超抗原作用, 可导致毒性休克综合征。

(3) 溶血素 (hemolysins) A 群链球菌可产生两种溶血素。

1) 链球菌溶血素 O (streptolysin O, SLO): 为含 -SH 基的蛋白质, 对氧敏感, 遇氧时 -SH 基即被氧化为 -S-S- 基, 失去溶血能力。加入亚硫酸钠和半胱氨酸等还原剂, 溶血作用可以逆转。SLO 对中性粒细胞、血小板及心肌组织有毒性作用。85% 以上患者感染后 2 ~ 3 周产生抗溶血素 O 抗体 (antistreptolysin O, ASO), 病愈后可持续数月甚至数年。风湿热患者血清中 ASO 效价明显升高, 活动性风湿热患者 ASO 水平更高, 效价一般超过 1 : 400。因此, 测定 ASO 效价可作为新近链球菌感染, 或风湿热及其活动性的辅助诊断。

2) 链球菌溶血素 S (streptolysin S, SLS): A 群链球菌在血琼脂平板上的溶血环由 SLS 所致。SLS 对氧稳定, 无抗原性, 对白细胞和组织细胞等具有破坏作用。

(4) 侵袭性酶

1) 透明质酸酶 (hyaluronidase): 能分解细胞间质的透明质酸, 有利于细菌在组织中的扩散, 又称为扩散因子 (spreading factor)。

2) 链激酶 (streptokinase, SK): 亦称为链球菌纤维蛋白溶酶 (fibrinolysin)。可使血浆中的纤维蛋白酶原转化为纤维蛋白酶, 溶解血凝块或阻止血浆凝固, 有利于细菌在组织中扩散。临床已将链激酶用于治疗早期肺栓塞、冠状动脉及静脉的血栓形成。

3) 链道酶 (streptodornase, SD): 亦称链球菌 DNA 酶 (streptococcal deoxyribonuclease)。主要由 A、C、G 群链球菌产生, 可降解黏稠的 DNA, 使脓液稀薄, 有利于细菌的扩散。链激酶与链道酶可联合用于化脓性伤口的清创, 通过液化脓性分泌物, 有利于脓液及坏死物的清除以及抗菌药物进入感染组织。

由于 SD 和 SK 能致敏 T 细胞, 故常用来进行皮肤试验, 通过迟发型超敏反应原理测定受试者的细胞免疫功能, 这项试验称为 SK-SD 皮试。

2. 所致疾病 常见的传播途径有呼吸道及皮肤伤口感染传播, 所致疾病大致分为三种类型:

(1) 化脓性感染

1) 局部皮肤及皮下组织感染: 丹毒、淋巴管炎、蜂窝组织炎、疖、脓疱疮等。其病灶特点为界限不明显, 脓性分泌物稀薄, 细菌易于扩散。

2) 其他系统感染: 化脓性扁桃体炎、咽炎、鼻窦炎、中耳炎及产褥热等。

(2) 毒素性疾病

1) 猩红热: 多发于 10 岁以下儿童, 潜伏期为 2 ~ 3 天, 临床特征为发热、全身弥漫性鲜红色皮疹、皮疹退后明显脱屑。此病常继发于严重的咽炎或皮肤软组织感染, 致热外毒素是致病物质。

2) 链球菌毒性休克综合征: 产生致热外毒素的 A 群链球菌引起的以休克为主要症状的感染。可继发于皮肤伤口的感染, 常伴有呼吸系统及其他多个脏器功能的衰竭。

(3) 超敏反应性疾病

1) 风湿热: 由 A 群链球菌的多种型别引起, 常继发于 A 群链球菌感染的咽炎。临床表现以关节炎、心肌炎为主。其发病机制是链球菌细胞壁中的多糖抗原、M 抗原与心瓣膜、心肌组织及关节组织存在共同抗原, 或免疫复合物沉积于心瓣膜和关节滑膜等, 导致机体的免疫病理损伤。

2) 急性肾小球肾炎: A 群链球菌引起的上呼吸道及皮肤感染均可继发急性肾小球肾炎。多见于儿童和少年。临床表现为蛋白尿、水肿和高血压。大部分人可康复, 少数病例可转变为慢性肾小球肾炎、肾衰竭。其致病机制有: 链球菌某些成分与肾小球基底膜有共同抗原以及免疫复合物沉积于肾小球基底膜, 导致肾小球基底膜发生 II 型及 III 型免疫病理损伤。

3. 免疫性 感染 A 群链球菌后, 机体可获得对同型链球菌的免疫力。由于链球菌型别多, 各型间无交叉免疫力, 故可反复感染。猩红热患者可产生抗同型致热外毒素的抗体, 对同型细菌有较牢固的免疫力。

(三) 微生物学检查法

1. 标本 根据不同疾病采取不同的标本。如伤口的脓液, 咽喉、鼻腔等病灶的棉拭, 败血症时取血液, 检测抗体时取血清。

2. 直接涂片镜检 脓液标本可直接涂片, 革兰氏染色后镜检, 发现有典型的链状排列球菌时, 可作出初步诊断。

3. 分离培养与鉴定 脓液或棉拭子直接接种血琼脂平板, 血液标本应增菌后再划种。37℃ 孵育 24 小时后, 如有 β 溶血菌落, 应与葡萄球菌鉴别; 如有 α 溶血菌落, 要和肺炎链球菌鉴别。因甲型溶血性链球菌生长缓慢, 怀疑草绿色链球菌所致的细菌性心内膜炎, 孵育时间应延长至 3 周。

4. PYR 试验 用于特异性检测 A 群链球菌氨基肽酶, PYR (L- 吡咯酮 β 萘酰胺) 被分解后释放萘胺, 加入 N-N- 二甲基内桂醇试剂, 1 分钟内产生桃红色。A 群链球菌为阳性, 其他溶血性链球菌为阴性。

5. 血清学试验

(1) 抗链球菌溶血素 O 试验 (antistreptolysin O test, ASO test): 简称抗 O 试验, 常用于风湿热的辅助诊断。风湿热患者血清中抗 O 抗体比正常人显著增高, 大多在 250 单位左右; 活动性风湿热患者一般超过 400 单位。

(2) Dick 试验 (Dick test): 是一种皮内试验。注射 0.1 ml 含有 1 个皮肤试验量的链球菌红疹毒素于受试者一侧前臂皮内, 6 ~ 24 小时出现直径大于 1 cm 红斑者为阳性反应, 表明机体对猩红热无免疫力。注射局部无反应或红斑小于 1 cm 者为阴性反应, 说明机体对猩红热有免疫力。若早期 Dick 试验结果阳性, 恢复后转为阴性, 可作为猩红热的诊断依据。

(四) 防治原则

患者、隐性感染者、恢复期带菌者是 A 群链球菌感染的传染源。对患者和带菌者应及时治疗, 以减少传播机会。对于急性咽喉炎和扁桃体炎患者, 特别是儿童, 治疗一定要及时彻底, 以防止并发急性肾小球肾炎和风湿热等变态反应性疾病。治疗 A 群链球菌感染时, 青霉素 G 为首选药物。

二、肺炎链球菌

肺炎链球菌 (*S. pneumoniae*) 俗称肺炎球菌 (pneumococcus), 广泛存在于自然界, 常寄居在正常人鼻咽腔, 仅少数有致病力, 可引起大叶性肺炎、脑膜炎、支气管炎等疾病。

（一）生物学性状

1. 形态与染色 革兰氏染色阳性球菌，直径约 $1\ \mu\text{m}$ ，常成双排列，菌体成矛头状，宽端相对，尖端向外。在痰、脓液标本中可呈单个或短链状。有毒株在机体内或含血清的培养基中能形成荚膜，荚膜需特殊染色才可见。普通染色时荚膜不着色，表现为菌体周围透明环（图 11-3）。无鞭毛，不形成芽胞。菌体衰老时或由于产生自溶酶（autolysin），革兰氏染色可为阴性。

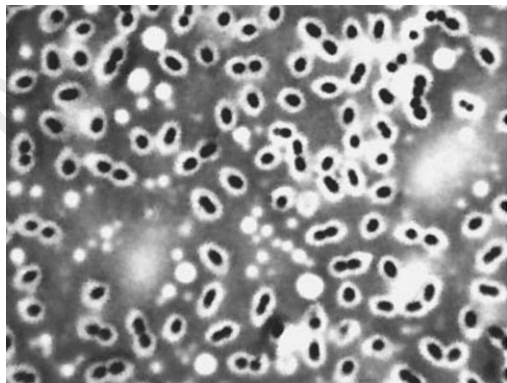


图 11-3 肺炎链球菌

荚膜染色 $\times 1\ 600$

2. 培养特性 需氧或兼性厌氧。在血琼脂平板上形成圆形、隆起、表面光滑、湿润的菌落，菌落周围形成与甲型溶血性链球菌相似的草绿色溶血环。随着培养时间延长，细菌产生的自溶酶裂解细菌，使菌落中央凹陷成“脐窝状”。在血清肉汤中，初期呈浑浊生长，随后细菌的自溶酶使细菌自溶，培养液渐变澄清。自溶酶可被胆汁或胆盐等物质激活，从而促进培养物中的菌体溶解。

3. 生化反应 可分解葡萄糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖等，产酸不产气。对菊糖发酵反应不一，新分离菌株多能分解菊糖。可用胆汁溶菌试验和菊糖发酵试验与甲型溶血性链球菌相鉴别。

4. 抗原结构与分型

（1）荚膜多糖抗原：存在于肺炎链球菌荚膜中。根据荚膜多糖抗原性的不同将肺炎链球菌分为 90 多个血清型。

（2）菌体抗原：① C 多糖：存在于肺炎链球菌细胞壁中，具有种特异性，为各型菌株所共有。C 多糖可被血清中 C-反应蛋白（C reactive protein；CRP）沉淀。正常人血清中 CRP 含量极微。当急性炎症时含量剧增，故可用 C 多糖来检测 CRP，对活动性风湿病及急性炎症性疾病的诊断有一定意义。② M 蛋白：具有型特异性，与毒力无关。M 蛋白刺激机体产生的相应抗体无保护作用。

5. 抵抗力 较弱， 56°C 15 ~ 30 分钟即被杀死。对一般消毒剂敏感。有荚膜株抗干燥力较强。对青霉素、红霉素、林可霉素等敏感。

（二）致病性与免疫性

1. 致病物质

（1）荚膜（capsule）：是肺炎链球菌的主要致病因素。有荚膜的肺炎球菌可抵抗吞噬，有利于在宿主体内定居并繁殖。

（2）肺炎链球菌溶血素 O（pneumolysin O）：可与细胞膜上胆固醇结合，导致红细胞裂解。还能活化补体经典途径，引起发热、炎症及组织损伤。

（3）其他：脂磷壁酸有利于细菌黏附到肺泡上皮细胞或血管内皮细胞表面。肺炎链球菌产生的神经氨酸酶、IgA 蛋白酶均有利于本菌在鼻咽部和支气管黏膜上定居、繁殖和扩散。

2. 所致疾病 该菌常寄居在正常人口腔及鼻咽部，一般不致病，只形成带菌状态，当机体免疫力下降时可致病。病毒感染、心力衰竭、营养不良等都可以是诱因，主要引起人类大叶性肺炎，其次为支气管炎。肺炎后可继发胸膜炎和脓胸，也可侵入机体其他部位，引起中耳炎、乳突炎、心内膜炎及化脓性脑膜炎等，尤其是呼吸道病毒感染者或婴幼儿、老年体弱者。成人肺炎以 1、2、3 型最多见，其中 3 型肺炎链球菌因产生大量荚膜，毒力强，病死率高。儿童大叶性肺炎以 14 型最常见。

3. 免疫性 肺炎链球菌感染后，机体可建立较牢固的型特异性免疫，患者发病后 5 ~ 6 天，体内可形成荚膜多糖型特异性抗体，有利于机体吞噬细胞杀灭肺炎链球菌。同型病菌再次

感染少见。

(三) 微生物学检查法

- 1. 标本** 根据感染部位, 采取痰液、脓液、血液、脑脊液等不同标本。
- 2. 直接涂片镜检** 痰、脓液及脑脊液沉淀物可做成标本涂片, 革兰氏染色镜检, 发现典型的成双排列、有荚膜的革兰氏阳性球菌, 可结合临床症状作出初步诊断。
- 3. 分离培养** 痰或脓液直接接种于血琼脂平板上, 37℃ 孵育 24 小时后, 挑选 α 溶血的可疑菌落作进一步鉴定。血液及脑脊液先在血清肉汤培养基中增菌后, 接种到血琼脂平板上培养并鉴定。
- 4. 鉴别试验** 肺炎链球菌与甲型溶血性链球菌菌落相似, 应加以鉴别。常用的试验有:
 - (1) 菊糖发酵试验: 肺炎球菌对菊糖发酵反应不一, 但大多数新分离出的肺炎链球菌可发酵菊糖, 而甲型溶血性链球菌不分解菊糖, 可用于二者的鉴别诊断, 但胆汁溶菌试验更为可靠。
 - (2) 胆汁溶菌试验: 肺炎链球菌可产生自溶酶。胆汁或脱氧胆酸盐可激活自溶酶, 加速菌体自溶。甲型溶血性链球菌不产生自溶酶, 故加入胆汁胆盐等表面活性剂后菌体不发生溶解。可鉴别甲型溶血性链球菌与肺炎链球菌。

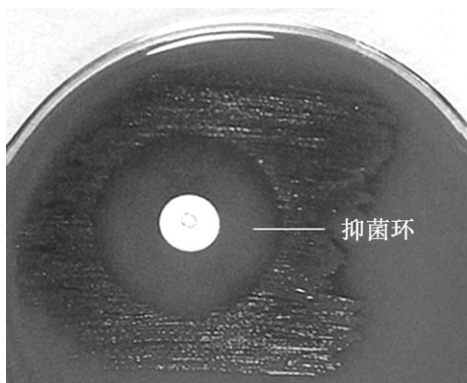


图 11-4 奥普托欣试验

(3) 奥普托欣试验 (optochin test): 奥普托欣对肺炎链球菌的生长有抑制作用。试验时, 将可疑的细菌涂布于血液琼脂平板上, 取直径 6 mm 的无菌滤纸片在 1 : 2000 optochin 溶液中浸湿后, 置于涂布好菌的平板上。37℃ 孵育 48 小时后观察抑菌圈大小。肺炎链球菌的抑菌圈直径在 20 mm 以上, 甲型溶血性链球菌 (98%) 小于 12 mm (图 11-4)。

(4) 动物毒力试验: 小鼠对肺炎链球菌高度敏感。将少量有毒力肺炎球菌注射小鼠腹腔, 若 24 小时内小鼠死亡, 解剖小鼠, 取心脏血或腹腔液分离培养, 常可获得肺炎链球菌的纯培养物, 而甲型溶血性链球菌感染小鼠一般不死亡。

(5) 荚膜肿胀试验 (capsule swelling test): 亦称为 Quellung 试验。肺炎链球菌若与同型免疫血清相遇, 显微镜下可见荚膜明显肿胀增大, 可用于快速诊断。

(四) 防治原则

目前采用的 23 个型别的多价肺炎链球菌荚膜多糖疫苗对预防肺炎链球菌感染有较好效果。治疗可根据药敏试验, 选用敏感的抗生素。青霉素 G 为首选治疗药物, 耐药菌株可选用万古霉素。

三、其他医学相关链球菌

(一) 甲型溶血性链球菌

甲型溶血性链球菌亦称草绿色溶血性链球菌 (*Streptococcus viridans*), 为人口腔及上呼吸道的正常菌群, 对人致病较常见的菌种有变异链球菌 (*S. mutans*)、唾液链球菌 (*S. salivarius*)、米勒链球菌 (*S. milleri*)、缓症链球菌 (*S. mitis*) 和血链球菌 (*S. sanguis*) 五个型。镜下常呈短链状或成双排列, 血琼脂平板上形成 α 溶血环, 引起的感染主要有龋齿和心内膜炎。

1. 龋齿 与变异链球菌关系密切。变异链球菌可分解蔗糖产生黏性很大的葡聚糖或果聚糖, 菌群黏附于牙齿表面形成菌斑。其中乳杆菌进一步发酵多种糖类产生大量酸, 导致牙釉质及牙质脱钙, 形成龋齿。

2. 亚急性细菌性心内膜炎 甲型溶血性链球菌常为上呼吸道寄生的正常菌群。在拔牙或扁桃体摘除等手术过程中可经伤口侵入血流引起菌血症,若遇到受损的心瓣膜或心内膜,细菌可滞留并繁殖,引起亚急性细菌性心内膜炎。

(二) 无乳链球菌

无乳链球菌 (*S. agalactiae*) 又称 B 群链球菌,最初因引起牛乳房炎,而受畜医界关注。20 世纪 70 年代后发现该菌也能感染人类,尤其是新生儿。该菌在机体免疫功能低下时,可引起产后感染、心内膜炎、肺炎、脑膜炎、败血症等。B 群链球菌寄居于直肠与阴道,带菌率约为 30%,也可寄居在健康人鼻咽部。新生儿感染多由分娩时胎儿经过带菌产道受染,或因医护人员带菌传播引起。常见的新生儿 B 群链球菌感染有两种:

1. 暴发性败血症 早期发病,感染源主要为生殖道内携带 B 群链球菌的产妇。易感条件为早期羊膜破水、产程延长、新生儿体重过轻。婴儿出生后数小时或 1 ~ 2 天发病,表现为昏睡、皮肤发绀,甚至休克,死亡率可达 50% ~ 70%。

2. 化脓性脑膜炎 晚期发病,相当一部分医务工作者为 B 群链球菌携带者。新生儿可通过医护人员在护理过程中感染,也可通过新生儿之间传播。常于出生后数天到数周发病,临床表现为化脓性脑膜炎,多为医院内感染。

(三) 猪链球菌

猪链球菌 (*S. suis*) 属于人兽共患病原体,除了引起猪脑膜炎、败血症、肺炎和突然死亡外,主要通过消化道、呼吸道、皮肤黏膜创伤感染人,引起脑膜炎、心内膜炎、败血症以及中毒性休克等。猪链球菌已发现 35 个血清型,最常见的对人和动物致病的为 II 型。

(四) C 群链球菌

C 群链球菌 (group C streptococcus) 主要引起动物疾病。有些 C 群链球菌可感染人类,通过食用消毒不彻底的牛奶等引起流行性咽痛。感染通常发生在幼儿园、学校等人群密集的场所。C 群链球菌也可引起人类急性肾小球肾炎、脑膜炎、肺炎及伤口感染等。

(五) D 群链球菌

D 群链球菌 (group D streptococcus) 主要有牛链球菌 (*S. bovis*) 和马链球菌 (*S. equinus*)。D 群链球菌在遗传性上与其他链球菌相关性低。D 群链球菌在生化反应、血清学及致病性等方面与 A、C 及 G 群链球菌不同,D 群链球菌寄居在人类皮肤、上呼吸道、消化道和泌尿生殖道,感染者多为老年人、中青年女性、身体衰弱及肿瘤等免疫低下人群,可引起皮肤、肠道、胆道感染,败血症常继发于泌尿生殖道感染。

第三节 肠球菌属

依据 Lancefield 血清分型系统,肠球菌曾归属于链球菌属的 D 群链球菌,1984 年依据 16s rRNA 和 DNA 杂交证据,将其从链球菌属中分离出来,另分为肠球菌属。肠球菌属 (*Enterococcus*) 属链球菌科,广泛分布于自然界,是人和动物肠道的正常菌群。对人致病的主要是粪肠球菌 (*E. faecalis*) 和屎肠球菌 (*E. faecium*)。在革兰氏阳性球菌中,肠球菌是仅次于葡萄球菌的重要医院感染病原菌。肠球菌属耐药性强,大多数肠球菌对青霉素和氨基糖苷类抗生素呈不同程度的耐药,并出现耐万古霉素的菌株,使肠球菌所致的重症感染的治疗更加棘手。

一、生物学性状

菌体呈球形或卵圆形,革兰氏染色阳性,成双或呈链状排列,无芽胞和鞭毛。需氧或兼性厌氧菌,营养要求较高。在血平板上经 37℃ 培养 24 小时后,形成灰白色、不透明、圆形、直

径 0.5 ~ 1.0 mm 的光滑型菌落, 不同的菌株表现为不同的溶血现象。触酶试验阴性。与 D 群链球菌之间具有共同抗原, 与同科链球菌的显著区别在于肠球菌能在高盐 (6.5% NaCl)、高碱 (pH9.6)、40% 胆汁培养基上和 10 ~ 45℃ 环境下生长。

肠球菌细胞壁较厚, 能耐受 60℃ 30 分钟, 对许多抗菌药物表现为固有耐药或获得性耐药。肠球菌的耐药性在 20 世纪 70 年代表现为对氨基糖甙类耐药, 如庆大霉素和链霉素, 80 年代表现为耐 β -内酰胺类及糖肽类, 1986 年首次发现耐万古霉素肠球菌 (VRE)。90 年代以后, 由于侵入性治疗以及过度使用氟喹诺酮类和口服头孢菌素类药物等因素, 肠球菌耐药菌所致感染不断增加, 已成为院内感染的主要病因。

二、致病性与免疫性

(一) 致病物质

1. **黏附素** 如胶原蛋白黏附素、聚集物质和信息素等, 它们均在介导菌体和宿主细胞 (肠道、泌尿道上皮细胞及心内膜等) 黏附、加强接合作用、促进致病质粒转移和感染方面发挥重要作用。

2. **细胞溶素** 大约 60% 粪肠球菌可分泌细胞溶素, 对真核细胞和原核细胞均有溶解作用, 使得细菌和细胞溶解, 可加重感染。

3. **明胶酶** 通过降解宿主细胞的胶原蛋白或组织蛋白, 破坏宿主细胞完整性, 激活其自溶素, 缩短肠球菌链的长度, 利于菌体和致病物质向周围组织扩散。

4. **致炎因子** 肠球菌的脂磷壁酸、信息素等可激活补体系统、诱导白细胞释放 TNF 和 IFN 等细胞因子。粪肠球菌产生的多形核白细胞趋化因子可介导炎症反应。

(二) 所致疾病

肠球菌是医院感染的重要病原体, 易引起老年人、免疫功能低下或菌群失调患者的感染。可引起尿路感染、心内膜炎、创伤和外科术后感染、老年患者败血症等, 以泌尿系感染最为多见。

1. **泌尿系统感染** 为粪肠球菌所致感染中最常见的, 绝大部分为医院感染。其发生多与留置导尿管、器械操作和尿路结构异常有关。大多表现为膀胱炎、肾盂肾炎, 少数表现为肾周围脓肿等。

2. **心内膜炎** 肠球菌是引起感染性心内膜炎的第 3 位病原菌。约 5% ~ 20% 的心内膜炎由肠球菌感染引起。

3. **败血症** 多发生于有严重基础疾病、长期住院接受抗菌药物治疗、免疫功能低下的患者。可经中心静脉导管、腹腔和盆腔化脓性感染、泌尿生殖道感染、烧伤创面感染等多种途径引发。

此外, 肠球菌还可引起骨髓炎及腹腔、盆腔、伤口、皮肤、骨关节等感染, 但很少引起蜂窝织炎和呼吸道感染。

三、微生物学检查法

合理采取相应标本, 如尿液、脓汁、胆汁、分泌物或血液等。标本接种于血琼脂平板或选择培养基叠氮胆汁七叶苷琼脂, 分离培养后, 挑取可疑菌落, 进行涂片、染色、镜检、触酶试验、胆汁七叶苷试验、6.5% NaCl 耐受试验等生化反应, 可鉴定到属。肠球菌可以在胆汁七叶苷和含 6.5% NaCl 培养基中生长, 此点可与链球菌鉴别。

对具有临床意义的肠球菌应进行体外药敏试验, 一般要测试对 β -内酰胺类尤其是青霉素类 (如青霉素、氨苄西林)、万古霉素和氨基糖甙类 (如庆大霉素) 的敏感性, 耐万古霉素肠

球菌国外检出率较国内高。

四、防治原则

加强医院感染控制,严格消毒隔离和无菌操作,合理使用抗生素。泌尿系统感染病原菌为非产酶菌,可选用氨苄青霉素、呋喃妥因或万古霉素治疗。肠球菌引起的心内膜感染,常用青霉素与氨基糖苷类药物联合进行治疗。对于耐万古霉素的肠球菌感染,需要依据药敏试验和临床效果调整用药,且需要对肠球菌感染的散布进行严格隔离。

第四节 奈瑟菌属

奈瑟菌属 (*Neisseria*) 是一群革兰氏阴性双球菌,无鞭毛,无芽胞,有菌毛,需氧,具有氧化酶和触酶。

奈瑟菌属有脑膜炎奈瑟菌 (*N. meningitidis*)、淋病奈瑟菌 (*N. gonorrhoeae*)、干燥奈瑟菌 (*N. sicca*)、浅黄奈瑟菌 (*N. subflava*)、金黄奈瑟菌 (*N. flavescens*)、黏膜奈瑟菌 (*N. mucosa*) 等 23 个种和亚种。人类是奈瑟菌属细菌的自然宿主,对人致病的只有脑膜炎奈瑟菌和淋病奈瑟菌,其他奈瑟菌均存在于鼻咽腔和黏膜,为正常菌群。

一、脑膜炎奈瑟菌

脑膜炎奈瑟菌俗称脑膜炎球菌 (*meningococcus*),是流行性脑脊髓膜炎 (流脑) 的病原菌。

(一) 生物学性状

1. 形态与染色 革兰氏染色阴性球菌,菌体常呈肾形或豆形,直径约为 $0.6 \sim 0.8 \mu\text{m}$,成双排列,两菌接触面平坦或略向内陷。在患者脑脊液中,多位于中性粒细胞内,形态典型。新分离的菌株大多有荚膜和菌毛。

2. 培养特性 营养要求较高,需在含有血清、血液等培养基中生长,常用的是经 80°C 以上加温的血琼脂平板,由于血液经热变色似巧克力,故名巧克力 (色) 培养基。专性需氧, $5\% \text{CO}_2$ 条件下生长更佳。最适生长温度为 37°C ,低于 30°C 不生长。最适 pH 为 $7.4 \sim 7.6$ 。一般培养 48 小时后,形成直径 $1.0 \sim 1.5 \text{ mm}$,无色、圆形、光滑、透明的露滴状菌落。在血琼脂平板上不溶血,在血清肉汤中呈浑浊生长,有少量黏稠沉淀。能产生自溶酶,培养 48 小时,菌体开始发生自溶,因此,培养物如不及时转种常死亡。

3. 生化反应 大多数脑膜炎奈瑟菌分解葡萄糖和麦芽糖,产酸不产气。氧化酶试验和过氧化氢酶试验阳性。

4. 抗原结构与分类

(1) 荚膜多糖抗原 (capsular polysaccharides antigen): 具有群特异性。根据此抗原不同,可将脑膜炎奈瑟菌分为 A、B、C、D、X、Y、Z、29E、W135、H、I、K 和 L 13 个血清群。引起流行性脑脊髓膜炎的主要是 A、B、C 三个血清群。我国一直以 A 群流行为主。

(2) 外膜蛋白抗原 (outer membrane protein antigen): 具有型特异性。根据外膜蛋白的不同,各血清群又可分为若干血清型。但 A 群所有菌株的外膜蛋白相同。部分外膜蛋白可刺激机体产生抗体,对机体有保护作用。

(3) 脂寡糖抗原 (lipooligosaccharide antigen): 是外膜的糖脂组分,是型特异性抗原,可根据 LOS 进行免疫学分型。脂寡糖是脑膜炎奈瑟菌的主要致病物质。

5. 抵抗力 对理化因素抵抗力弱。对寒冷、热力、干燥、紫外线都很敏感,室温中 3 小时即死亡, 55°C 5 分钟即被破坏。对苯酚、75% 乙醇、苯扎溴铵 (新洁尔灭) 等常用消毒剂

也很敏感。

（二）致病性与免疫性

1. 致病物质

- （1）荚膜 新分离的脑膜炎奈瑟菌具有荚膜，可抵抗吞噬细胞的吞噬作用。
- （2）菌毛 细菌借助菌毛黏附于鼻咽部黏膜上皮细胞表面，有利于细菌侵入机体。
- （3）IgA1 蛋白酶 可破坏 sIgA1，帮助细菌黏附于细胞黏膜表面。
- （4）内毒素 即脂寡糖 LOS，是脑膜炎奈瑟菌的主要致病物质，可引起发热及小血管和毛细血管内皮细胞损伤、引起血栓、出血及坏死，表现为出血性皮疹或淤斑。严重败血症时，因大量内毒素释放，可导致中毒性休克及 DIC。

2. 所致疾病 脑膜炎奈瑟菌主要引起流行性脑脊髓膜炎。人类是其唯一易感宿主。传染源是患者和带菌者。约有 5% ~ 10% 正常人鼻咽部带有本菌，流行期可高达 70% 以上，是重要的传染源。发病年龄多在 6 个月 ~ 5 岁，其中以 6 个月 ~ 2 岁发病率最高。

病菌经飞沫传染，也可通过接触患者呼吸道分泌物污染的物品而感染，潜伏期 2 ~ 3 天，长者可达 10 天。多数人感染后仅停留在上呼吸道感染阶段，表现为带菌状态或隐性感染。约 2% ~ 3% 的感染者可进入血流，引起菌血症或败血症，出现发热、恶心和出血性皮疹等。极少数可到达脑脊髓膜，引起化脓性脑脊髓膜炎，出现剧烈头痛、喷射状呕吐和颈项强直等。其中少数患者因细菌在血中大量繁殖，并释放大量内毒素，引起内毒素休克及 DIC，表现为暴发型，病情凶险。

3. 免疫性 主要以体液免疫为主。特异性抗荚膜多糖抗体及抗外膜蛋白抗体是主要的保护性抗体，sIgA 抗体在呼吸道黏膜起局部抗感染作用。出生 6 个月 ~ 2 岁的婴幼儿，由于来自母体的抗体水平逐渐下降，自体合成的免疫球蛋白不足，抵抗力低，是流行性脑脊髓膜炎的易感人群。

（三）微生物学检查法

1. 标本 采集患者的脑脊液、血液或皮肤淤斑组织液标本，带菌者检查可取鼻咽拭子。由于脑膜炎奈瑟菌可产生自溶酶、对低温和干燥极敏感，标本采集和送检过程中要注意保温和防干燥，并及时送检，最好做床边接种。

2. 直接涂片镜检 脑脊液离心沉淀后，取沉淀物涂片或无菌针头刺破淤斑，取血液渗出物制成涂片，革兰氏染色镜检，发现革兰氏染色阴性双球菌，可做初步诊断。

3. 分离培养与鉴定 血液或脑脊液先经血清肉汤培养基增菌后，在巧克力（色）平板上划线分离培养，挑取可疑菌落做生化反应和玻片凝集试验鉴定。

4. 快速诊断法 在疾病的早期或使用抗生素后，机体内菌含量不多，分离培养阳性率不高，脑膜炎奈瑟菌易自溶，患者脑脊液和血清中存在可溶性抗原，可用对流免疫电泳、SPA 协同凝集试验、ELISA 等免疫学方法进行快速诊断。也可用 PCR 检测患者血中或脑脊液中存在的脑膜炎奈瑟菌 DNA。

（四）防治原则

注意隔离治疗流脑患者，控制传染源。治疗首选青霉素、磺胺药等能通过血脑屏障的抗生素。我国对流脑的预防已纳入计划免疫，虽然我国流行的脑膜炎奈瑟菌是以 A 群为主，但近年也有 C 群流行，故我国目前接种的菌苗是 A、C 双价菌苗，或 A、C、Y 和 W135 四价混合多糖疫苗，保护率可达 90%。

二、淋病奈瑟菌

淋病奈瑟菌 (*N. gonorrhoeae*) 又称淋球菌 (gonococcus)，是人类淋病的病原菌，主要引起泌尿生殖道黏膜的急性和慢性化脓性炎症。淋病是我国目前发病率最高的性传播疾病。

(一) 生物学性状

1. 形态与染色 革兰氏染色阴性,成双排列,两菌接触面平坦,似一对咖啡豆,直径约为 $0.6 \sim 0.8 \mu\text{m}$,有荚膜和菌毛,无鞭毛,无芽胞。多数淋病奈瑟菌位于中性粒细胞内,但慢性淋病患者的淋病奈瑟菌多分布于中性粒细胞外。

2. 培养特性 专性需氧,初次分离培养须补充 $5\% \sim 10\% \text{CO}_2$ 。营养要求高,常用巧克力(色)培养基。适宜温度为 $35 \sim 36^\circ\text{C}$,低于 30°C 或高于 38.5°C 停止生长。培养48小时后,形成圆形、凸起、表面有光泽、灰白色、直径约 $0.5 \sim 1.0 \text{mm}$ 的光滑型菌落。根据菌落大小、色泽等分为T1~T5五种类型,新分离的菌株属T1、T2型,菌落小,有菌毛。人工培养基转种后可转为T3、T4和T5型,失去菌毛,无致病性。

3. 生化反应 不活泼,只分解葡萄糖,产酸不产气;不分解其他糖类;氧化酶试验和过氧化氢酶试验阳性。

4. 抗原结构 淋病奈瑟菌菌体表面抗原可分为三类。

(1) 菌毛蛋白抗原(pili protein antigen):由多肽组成,与淋病奈瑟菌的黏附性有关,不同菌株提取的菌毛,其抗原性不同。

(2) 脂寡糖抗原(lipooligosaccharide antigen, LOS):与其他革兰氏阴性菌相比,淋病奈瑟菌脂寡糖抗原易发生变异,因此抗脂寡糖抗体对淋病奈瑟菌再感染无保护作用。

(3) 外膜蛋白抗原(outer membrane protein antigen):有Por蛋白(porin protein, PI)、Opa蛋白(opacity protein, PII)和Rmp(reduction-modifiable protein, PIII)三种。PI为主要外膜蛋白,是淋病奈瑟菌分型的主要基础。PII为次要蛋白,可使细菌彼此黏附或吸附在易感细胞上。PI与PIII相连,可在外膜上形成微孔。

5. 抵抗力 淋病奈瑟菌对外界抵抗力弱,对热、冷、干燥以及苯酚、硝酸银等消毒剂极其敏感。

(二) 致病性与免疫性

1. 致病物质

(1) 菌毛蛋白 有菌毛的T1、T2型菌株可黏附至泌尿生殖道黏膜,不易被尿液冲去,抗吞噬作用明显,即使被吞噬,仍能寄生在吞噬细胞内。

(2) 脂寡糖抗原 为淋病奈瑟菌重要的表面结构之一,脂寡糖与IgM、补体协同作用,引起局部炎症反应。LOS还具有内毒素活性。

(3) IgA1蛋白酶 能破坏黏膜表面特异性sIgA抗体,有利于细菌黏附于黏膜上皮细胞。

(4) 外膜蛋白 PI可直接插入中性粒细胞膜上,或与PIII相连形成微孔导致中性粒细胞损伤,也介导细菌与靶细胞的黏附,有利于细菌定植,还可阻止吞噬溶酶体形成,即使被吞噬,仍能寄生在吞噬细胞。PII可促进黏附,包括细菌之间以及细菌与宿主细胞间的黏附;PIII可阻抑杀菌抗体的活性。

2. 所致疾病 人类是淋病奈瑟菌的唯一宿主,无症状携带者是主要储存宿主,感染后引起淋病。淋病主要通过性接触传播,也可通过污染的毛巾、衣裤、浴池等间接传播,但机会较少。潜伏期平均 $3 \sim 5$ 天,患者出现尿频、尿痛、尿道或宫颈流脓等尿道炎、子宫颈炎症状,可进一步扩散到生殖系统,引起男性前列腺炎、精囊精索炎和附睾炎,女性前庭大腺炎和盆腔炎等,是导致不育的原因之一。感染淋病奈瑟菌的孕妇分娩时,胎儿通过产道感染,引起新生儿淋菌性结膜炎,患儿眼部有大量脓性分泌物排出,俗称“脓漏眼”。

3. 免疫性 人类对淋病奈瑟菌无天然抵抗力。感染后多数患者可以自愈,并出现特异性IgM、IgG和sIgA抗体,但免疫不持久,再感染和慢性感染普遍存在。

(三) 微生物学检查法

1. 标本 用无菌棉拭子蘸取泌尿生殖道和宫颈口分泌物。



彩图:淋病奈瑟菌
#(革兰氏染色, $\times 1000$)

2. 直接涂片镜检 标本涂片后,革兰氏染色镜检。如观察到中性粒细胞内成双排列的革兰氏阴性球菌时,具有诊断价值。

3. 分离培养与鉴定 淋病奈瑟菌抵抗力弱,为提高检出率,标本采集后应注意保湿保温,尽快送检。为抑制杂菌生长,可在培养基中加入多黏菌素、万古霉素等抗生素。将标本接种于巧克力(色)培养基或 Thayer-Martin (T-M) 培养基上,在 35 ~ 36℃, 5% ~ 10% CO₂ 环境中培养 24 ~ 48 小时,挑选可疑菌落涂片染色镜检,同时做生化反应鉴定。革兰氏染色阴性双球菌伴氧化酶阳性菌落可诊断。

此外,亦可采用免疫酶试验、直接免疫荧光法、核酸杂交技术或核酸扩增技术等快速诊断法直接检测标本中的淋病奈瑟菌抗原或核酸。

(四) 防治原则

淋病是一种性传播疾病,是一个社会问题。无症状携带者或有症状却被忽视或未去求医是淋病传播的重要因素,开展防治性病的知识教育以及防止性接触传播是控制淋病非常重要的环节。对患者要早发现、早用药,除了及时彻底治疗淋病患者外,还应治疗其性伙伴。近年来,淋病奈瑟菌耐药菌株不断增加,故应做药物敏感试验以指导合理用药。女性感染淋病奈瑟菌后,有 60% 无症状,故不论母亲有无淋病,都可使用 1% 硝酸银等眼药水预防新生儿淋菌性结膜炎。目前尚无有效的特异性预防疫苗。

小 结

常见的化脓性球菌包括革兰氏阳性的葡萄球菌属、链球菌属、肠球菌属和革兰氏阴性的奈瑟菌属。

葡萄球菌属主要致病种为金黄色葡萄球菌。葡萄球菌 A 蛋白可用于协同凝集试验。凝固酶是致病性葡萄球菌的重要指标。致病物质有毒素及各种酶类。金黄色葡萄球菌是医院内交叉感染的重要来源,可引起化脓性感染(感染易局限化)和多种毒素性疾病(食物中毒、烫伤样皮肤综合征、毒性休克综合征等)。凝固酶阴性葡萄球菌也是医源性感染的常见病原。

链球菌属主要致病种有 A 群链球菌和肺炎链球菌。A 群链球菌的主要致病物质为侵袭性酶类和外毒素,引起化脓性感染(病灶界限不明显)、毒素性疾病和超敏反应性疾病。肺炎链球菌致病物质为荚膜,引起大叶性肺炎。

肺炎链球菌、甲型溶血性链球菌均为不完全溶血,但肺炎链球菌能产生自溶酶,菌落可呈“脐窝状”。肺炎链球菌、甲型溶血性链球菌的鉴别常用胆汁溶菌试验、菊糖发酵和奥普托辛(Optochin)试验等。抗 O 试验常用于风湿热的辅助诊断。

甲型溶血性链球菌引起的感染主要有龋齿和感染性心内膜炎。B 群链球菌是引起新生儿败血症的主要病因。D 群链球菌感染者多为老年人、中青年女性、身体衰弱及肿瘤等免疫低下人群,可引起皮肤、肠道、胆道感染,败血症多继发于泌尿生殖道感染。

肠球菌属是人和动物肠道的正常菌群,是医院内感染的常见病原,对人致病的主要是粪肠球菌和屎肠球菌。可引起尿路感染、心内膜炎、创伤和外科术后感染、老年患者败血症等,以泌尿系感染最为多见。肠球菌可以在胆汁七叶苷和含 6.5% NaCl 培养基中生长,此点可与链球菌鉴别。肠球菌耐药性严重,大多数肠球菌对青霉素和氨基糖苷类抗生素呈不同程度的耐药,并出现耐万古霉素的菌株。

奈瑟菌属革兰氏染色阴性、呈肾形或豆形,成双排列,营养要求较高,常用巧克力培养基,专性需氧。脑膜炎奈瑟菌由呼吸道传播,引起流行性脑脊髓膜炎。淋病奈瑟菌通过性接触传播,导致淋病。奈瑟菌属不耐干燥和寒冷,标本采集后应注意保湿保温。

淋病奈瑟菌可用无菌棉拭子蘸取泌尿生殖道和宫颈口分泌物。标本涂片镜检发现革兰氏染色阴性双球菌具有诊断意义

(强 华)

肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 是一大群生物学性状相似的革兰氏阴性杆菌, 经常寄居于人和动物的肠道中, 随粪便排出, 广泛分布于水、土壤或腐物中。肠杆菌科细菌种类繁多, 根据生化反应、抗原结构、DNA 同源性等进行分类。现已发现的肠杆菌科细菌包括 44 个菌属 170 多个菌种。

肠杆菌科细菌多数是肠道中的正常菌群, 当宿主免疫力下降、细菌移居至肠道以外部位或菌群失调时, 可成为条件致病菌, 引起机会性感染, 如大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌等; 少数为致病菌, 易于引起人类疾病, 如伤寒沙门菌、痢疾志贺菌、致病性大肠埃希菌、鼠疫耶尔森菌等。肠杆菌科细菌感染可累及机体的任何部位, 引起伤口化脓性感染、泌尿生殖道感染、呼吸道感染、肠道感染及神经系统感染等。

肠杆菌科细菌具有下列共同生物学性状:

1. 形态结构 肠杆菌科细菌形态结构相似, 为中等大小 (长 $1 \sim 3 \mu\text{m}$, 宽 $0.3 \sim 1 \mu\text{m}$)、两端钝圆的革兰氏阴性杆菌, 多数有周鞭毛, 少数有荚膜或包膜, 致病菌多有菌毛, 均无芽胞。

2. 培养特性 需氧或兼性厌氧。营养要求不高, 在普通琼脂平板培养基上生长繁殖后, 形成直径 $2 \sim 3 \text{ mm}$ 、扁平、湿润的灰白色 S 型菌落。在血琼脂平板培养基上, 有些菌株可形成溶血环。在液体培养基中, 呈均匀浑浊生长。

3. 生化反应 生化反应活泼, 能分解多种糖类和蛋白质, 生成不同的代谢产物, 有助于鉴别不同的肠杆菌科细菌。乳糖发酵试验常用于初步鉴别肠道致病菌和非致病菌, 肠道致病菌多数不发酵乳糖, 非致病菌一般能发酵乳糖。肠杆菌科细菌可还原硝酸盐为亚硝酸盐, 大多触酶阳性, 氧化酶阴性 (邻单胞菌属除外), 后者在鉴别肠杆菌科细菌与其他发酵和不发酵的革兰氏阴性杆菌上有重要价值。

4. 抗原结构 复杂, 主要有菌体 (O) 抗原、鞭毛 (H) 抗原、荚膜或包膜抗原、菌毛抗原等。

(1) O 抗原: 存在于细胞壁脂多糖 (LPS) 的最外层, 其特异性取决于 LPS 分子末端寡聚糖重复结构的糖残基种类、数量、排列顺序和空间构型。O 抗原耐热, 100°C 不被破坏。检测 O 抗原时, 凝集试验必须采用加热煮沸过的菌体, 以避免因荚膜或包膜抗原和 H 抗原的存在而造成的不凝集现象。O 抗原凝集相对较慢, 呈颗粒状。新从患者标本中分离出的肠杆菌科细菌富含 O 特异多糖, 菌落呈光滑 (S) 型, 致病性强; 细菌若失去 O 特异多糖, 菌落由光滑型变为粗糙 (R) 型, 称为 S-R 变异, R 型菌株毒力通常显著低于 S 型菌株。O 抗原主要刺激机体产生 IgM 型抗体。

(2) H 抗原: 存在于鞭毛蛋白中, 其特异性取决于多肽链上氨基酸的序列和空间构型, 多数肠杆菌科细菌 H 抗原特异性强。H 抗原不耐热, 60°C 30 分钟或用乙醇处理可被破坏。检测 H 抗原的凝集试验需采用半固体培养基连续传代, 用甲醛溶液固定过的鞭毛丰富的菌株作抗原。H 抗原的凝集出现较快, 呈絮状。细菌失去鞭毛后, H 抗原消失的同时 O 抗原外露,

称为 H-O 变异。H 抗原主要刺激机体产生 IgG 型抗体。

(3) 荚膜或包膜抗原：为包绕在 O 抗原外围的不耐热多糖抗原，其特异性取决于多糖的分子组成和构型，具有型特异性。能阻断 O 抗原与相应抗体的结合，但加热 60℃ 30 分钟可去除该阻抑作用。不同菌属有不同名称，重要的有大肠埃希菌 K 抗原、伤寒沙门菌 Vi 抗原等。

5. 抵抗力 肠杆菌科细菌对理化因素抵抗力不强。60℃ 30 分钟即被杀死。易被一般化学消毒剂杀灭。胆盐、煌绿等染料对大肠埃希菌等非致病性肠杆菌科细菌有抑制作用，但对致病性肠杆菌科细菌无抑制作用，可借以制备选择培养基来分离肠道致病菌。肠杆菌科细菌在自然界中的生存能力强，在水、粪便中可存活较长时间。

6. 变异 肠杆菌科细菌易出现变异菌株。除自发突变外，更因寄居于同一密切接触的肠道微环境，易经质粒、转座子、毒力岛、噬菌体等介导，在肠杆菌科细菌，甚至非肠杆菌科细菌之间传递遗传物质，使受体菌获得新的性状而导致变异。最常见的是耐药性变异，此外尚有毒素产生、培养特性、生化反应、抗原性等特性的改变。

第一节 埃希菌属

埃希菌属 (*Escherichia*) 现有 6 个种。大肠埃希菌 (*E. coli*) 俗称大肠杆菌，是临床最常见、最重要的菌种。

(1) 大肠埃希菌是肠道中重要的正常菌群：婴儿出生后数小时即随哺乳进入肠道寄居并伴随终生，为宿主提供一些具有营养作用的合成代谢产物，并可抑制志贺菌等致病菌的生长。

(2) 大肠埃希菌是条件致病菌：当机体免疫力下降或细菌寄生于肠道外组织或器官时，大肠埃希菌可成为机会致病菌，引起肠道外感染，临床上以化脓性感染和泌尿道感染最为常见。

(3) 大肠埃希菌的某些血清型具有致病性：某些特殊血清型的大肠埃希菌致病性较强，可引起胃肠炎，称为致病性大肠埃希菌。

(4) 大肠埃希菌是食品、饮用水污染的卫生检测指标：大肠埃希菌在人和动物肠道内大量繁殖，并经粪便不断散播于周围环境。在环境卫生和食品卫生学上，大肠埃希菌常被作为粪便直接或间接污染食品、饮用水的卫生学检测指标。

(5) 大肠埃希菌是重要的实验材料：在分子生物学和基因工程研究中，大肠埃希菌作为外源基因表达工程菌，遗传背景清楚，培养条件简单，可大规模发酵，是应用最广泛、最成功的原核表达体系。

一、生物学性状

1. 形态结构 大小 $0.4 \sim 0.7 \mu\text{m} \times 1 \sim 3 \mu\text{m}$ ，革兰氏阴性杆菌。多数菌株有周身鞭毛，能运动。有普通菌毛和性菌毛，普通菌毛与致病性有关。无芽胞。引起肠道外感染的菌株常有多糖包膜（微荚膜）。

2. 基因组特征 大肠埃希菌染色体是一个双链环状 DNA 分子，基因组平均大小为 5.1 Mb，包含约 5 000 个基因，质粒数量 1 ~ 9 个不等。非致病的大肠埃希菌 K12 株基因组长约 4.6 Mb，含有 4 290 个 ORF。大肠埃希菌 O157 : H7 (Sakai 株) 染色体 DNA 大小 5.59 Mb，菌体中还有质粒 pO157 (大小 92.7 kb) 和质粒 pOASK1 (大小 3.3 kb)，共有 5 447 个 ORF。致病性大肠埃希菌基因组中有 35 ~ 200 kb 的致病基因聚集区域，称为致病岛 (pathogenesis island, PAI)，包括 PAI I 致病岛、PAI II 致病岛及 LEE (locus of enterocyte effacement) 致病岛，编码 α 溶血素、志贺毒素、P 菌毛、分泌蛋白等致病相关蛋白。

3. 培养特性 兼性厌氧，营养要求不高，其生长温度范围广 (15 ~ 45℃)。在普通琼脂平板上 37℃ 培养 24 小时后，形成直径 2 ~ 3 mm、圆形、凸起、湿润、灰白色的 S 型菌落；



彩图：大肠埃希菌 # (革兰氏染色， $\times 1000$)

在血琼脂平板上,有些菌株呈 β 溶血;在液体培养基中,呈均匀浑浊生长;在肠道选择鉴别培养基上,因可发酵乳糖产酸而使菌落呈现颜色,易与沙门菌、志贺菌等肠道致病菌区别;在人和动物肠道中,繁殖速度要慢得多,细菌数量成倍增长的时间为一天。

4. 生化反应 能发酵葡萄糖等多种糖类,产酸并产气。绝大多数菌株发酵乳糖。在双糖管中产酸产气,硫化氢阴性。吲哚、甲基红、VP、枸橼酸盐利用试验(IMViC)结果为“+ + -”。凡IMViC试验显示此结果的,判为典型的大肠埃希菌。

5. 抗原结构 大肠埃希菌抗原主要有O、H和K三种,是血清学分型的基础。目前已知O抗原已有170多种,大肠埃希菌之间、大肠埃希菌与枸橼酸杆菌属、沙门菌属、志贺菌属和耶尔森菌属在O抗原上存在很多交叉。H抗原已有60余种,与其他肠道菌基本无交叉反应。K抗原已有100余种,从患者新分离的大肠埃希菌多有K抗原,与细菌的侵袭力有关。大肠埃希菌血清型的表示方式按O:K:H排列,例如O111:K58(B4):H2。大肠埃希菌还有菌毛抗原,与致病有关。

6. 抵抗力 某些埃希菌菌株对热的抗性较强,经60℃ 15分钟或55℃ 60分钟仍可存活。易产生对抗菌药物的耐药性。胆盐、煌绿对大肠埃希菌具有抑制作用。在自然界生存能力较强,在肥沃的土壤表层可存活数月。

大肠埃希菌可产生大肠菌素(colicin),大肠菌素产生菌株对自身产生的细菌素有抗性,可用于大肠埃希菌的分型。

二、致病性

(一) 致病物质

大肠埃希菌的致病物质主要包括黏附素(adhesin)、Ⅲ型分泌系统(type Ⅲ secretion system, T3SS)和外毒素等。

1. 黏附素 大肠埃希菌的黏附素又称定植因子(colonization factor, CF),能使细菌紧密黏附在肠道和泌尿道上皮细胞的刷状缘上,避免因肠道的蠕动和排尿时尿液的冲刷而被排出。大肠埃希菌黏附素种类繁多,主要有:①定植因子抗原(colonization factor antigen, CFA)Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ;②集聚黏附菌毛(aggregative adherence fimbriae, AAF)Ⅰ和Ⅲ;③束形成菌毛(bundle forming pilus, Bfp);④紧密黏附素(intimin):与分泌到宿主细胞表面的紧密黏附素转位受体(translocation intimin receptor, Tir)特异结合,介导细菌与细胞的紧密结合;⑤P菌毛:因能与P血型抗原结合而命名;⑥Dr菌毛:能与Dr血型抗原结合;⑦I型菌毛:其受体含有D-甘露糖;⑧侵袭质粒抗原(invasion plasmid antigen, Ipa)蛋白等。

2. Ⅲ型分泌系统 是细菌黏附宿主细胞后,能把毒力蛋白直接注入宿主细胞内的一个细菌效应系统。一般由20多种蛋白质组成,包括转位蛋白(如EspA、EspB和EspD)、效应蛋白(如Tir、Map、cif、EspG、EspF和EspH)和一些分子伴侣。当效应蛋白注入宿主肠上皮细胞内后,导致细菌和细胞紧密黏附、细胞骨架重排(cytoskeleton reorganization)、离子转移、屏障作用破坏、细胞凋亡等一系列的效应,引起肠黏膜上皮细胞特异性A/E损伤。

3. 外毒素 大肠埃希菌能产生多种类型外毒素,包括志贺毒素Ⅰ和Ⅱ、耐热肠毒素a和b、不耐热肠毒素Ⅰ和Ⅱ、溶血素A(hemolysin A, HlyA)等。

此外,大肠埃希菌的致病物质还有荚膜、载铁蛋白、内毒素等。

(二) 所致疾病

包括肠道外感染(大多为内源性感染)和肠道内感染(大多为外源性感染)。

1. 肠道外感染 多数大肠埃希菌在肠道内不致病,但如移位至肠道外的组织或器官,如尿道、胆道和腹腔等部位,则可引起肠道外感染。肠道外感染多为机会性感染,以化脓性感染和泌尿系统感染最为常见。

(1) 化脓性感染：大肠埃希菌可引起机体多种组织器官的化脓性感染，常见的有腹膜炎、胆囊炎、阑尾炎、手术创口感染等。在婴儿、老人、慢性消耗性疾病、消化道穿孔、大面积烧伤等患者或免疫力低下者，大肠埃希菌可侵入血流，引起败血症。早产儿，尤其是出生后 30 天内的新生儿，易患新生儿大肠埃希菌性脑膜炎。

(2) 泌尿系统感染：大肠埃希菌是泌尿系统感染最常见的细菌。引起泌尿系统感染的大肠埃希菌大多数来源于结肠，污染尿道，逆向上行至膀胱，甚至肾和前列腺，可表现为尿道炎、膀胱炎、肾盂肾炎等。女性尿道较短、较宽，不能完全有效防止细菌上行，故女性泌尿系统感染比男性高，性交、怀孕也为危险因素。在男性，前列腺肥大也是最常见的诱因。泌尿系统感染的临床症状主要有尿频、尿急、排尿困难、血尿和脓尿等。大多数大肠埃希菌可引起泌尿系统感染，但某些特殊血清型引起的感染更为常见。这些易引起泌尿系统感染的特殊血清型统称为尿路致病性大肠埃希菌 (uropathogenic *E. coli*, UPEC)，常见的血清型有 O1、O2、O4、O6、O7、O16、O18、O75 等。黏附素（如 P 菌毛、AAF/ I、AAF/ II、Dr 菌毛等）是 UPEC 最重要的毒力因子，有助于细菌的黏附、定植和引起局部炎症反应；溶血素 A 能溶解红细胞和一些其他类型的细胞，导致细胞因子的释放和炎症反应，在 UPEC 致病中起重要作用；其毒力因子还有 LPS、荚膜等。

2. 肠道感染 大肠埃希菌某些血清型通过污染的食品和饮水，经粪-口途径进入机体，可引起胃肠炎。引起肠道感染的大肠埃希菌主要有 5 种类型，不同类型细菌的侵袭部位、致病机制等不尽相同（表 12-1）。

表12-1 引起肠道感染的大肠埃希菌

菌株	侵袭部位	疾病与症状	致病机制	常见O血清型
ETEC	小肠	旅行者腹泻；婴幼儿腹泻；水样便，恶心，呕吐，腹痛，低热	质粒介导 LT 和（或）ST 肠毒素，大量分泌液体和电解质	6、8、15、25、27、78、148、159
EPEC	小肠	婴儿腹泻；水样便、恶心，呕吐，发热	质粒介导 A/E 组织病理损伤，伴上皮细胞绒毛结构破坏，导致吸收受损和腹泻	2、55、86、111、114、119、125、126、127、128、142、158
EHEC	大肠	水样便，继以大量出血，剧烈腹痛，低热或无，可并发 HUS、血小板减少性紫癜	溶原性噬菌体编码 Stx I 和 Stx II，中断蛋白质合成；A/E 损伤，伴肠绒毛结构破坏，导致吸收受损	157、26、28ac、103、111、121
EIEC	大肠	水样便，继以少量血便，腹痛，发热	质粒介导侵袭和破坏结肠黏膜上皮细胞	28ac、29、112ac、124、136、143、144、152、164、167
EAEC	小肠	婴儿腹泻；持续性水样便，呕吐，脱水，低热	质粒介导聚集性黏附上皮细胞，阻止液体吸收	42、44、3、86

(1) 肠产毒型大肠埃希菌 (enterotoxigenic *E. coli*, ETEC)：常引起 5 岁以下婴幼儿和旅游者腹泻。主要通过污染的水源和食物传播，人-人间不直接传播。临床上常表现轻度腹泻，也可呈严重的霍乱样症状。腹泻常为自限性，一般 2～3 天即愈，营养不良者可达数周，也可反复发作。常见血清型为 O6:K15:H16 和 O25:K7:H42。

致病物质主要是肠毒素和定植因子。ETEC 的肠毒素有不耐热和耐热两种，其编码基因存在于同一个转移性质粒上，该质粒也同时携带编码定植因子的基因。

不耐热肠毒素 (heat labile enterotoxin, LT) 为蛋白质，对热不稳定，65℃ 30 分钟可被破

坏。LT 分为 LT-I 和 LT-II 两型, LT-I 是引起人类胃肠炎的致病物质, LT-II 与人类疾病无关。LT-I 分子由 1 个 A 亚单位和 5 个 B 亚单位组成。A 亚单位是毒素的活性部位。B 亚单位无毒性, 有免疫原性, 与肠上皮细胞表面的 GM1 神经节苷脂 (ganglioside) 受体结合后, 介导 A 亚单位穿越细胞膜进入肠上皮细胞内, 并持续激活 NAD 依赖的腺苷环化酶 (adenyl cyclase), 使胞内 ATP 转化为 cAMP。胞质内 cAMP 水平增高后, 导致小肠黏膜细胞内水、 Na^+ 、 Cl^- 和 K^+ 等过度分泌至肠腔, 超过肠道的吸收能力, 最终引起水样腹泻。毒素还可刺激前列腺素的释放和炎症因子的产生, 进一步导致水分的丧失。LT 在结构和功能上与霍乱肠毒素密切相关, 两者的氨基酸同源性达 75% 左右; B 亚单位的肠黏膜结合受体都是同一个 GM1 神经节苷脂; 都能刺激机体产生中和抗体, 两者抗血清有交叉中和作用。

耐热肠毒素 (heat stable enterotoxin, ST) 分为 STa 和 STb 两型, 其中 STa 的毒性强, STb 与人类疾病无关。STa 是低分子量多肽, 对热稳定, 加热 100°C 20 分钟仍不失活性。免疫原性弱, 与霍乱肠毒素无共同抗原。ST 的作用机制与 LT 不同, STa 可激活小肠上皮细胞的鸟苷酸环化酶 (guanyl cyclase), 使细胞内 cGMP 增加, 导致小肠黏膜细胞过度分泌, 引起腹泻。很多 ETEC 菌株产生 STa 的同时产生 LT, 具有更强的致病性。

ETEC 的定植因子主要有 CFA/I、CFA/II、CFA/III, 具有很强的免疫原性, 能刺激机体产生特异性抗体。定植因子虽然不是 ETEC 导致宿主腹泻的直接致病因子, 但细菌必须借助定植因子黏附于宿主的小肠上皮细胞, 才能在肠内定居和繁殖, 进而产生致病作用。

(2) 肠致病型大肠埃希菌 (enteropathogenic *E. coli*, EPEC): 是最早发现的引起腹泻的大肠埃希菌。是婴幼儿腹泻的主要病原菌, 严重者可致死; 较大儿童和成人感染少见, 可能与机体产生的保护性免疫有关。EPEC 有高度传染性, 全球流行, 发展中国家尤甚, 在医院中常引起暴发流行。EPEC 不产生肠毒素及其他外毒素, 其侵入肠道后, 先黏附于小肠上皮细胞, 进而破坏刷状缘, 导致微绒毛萎缩、变平, 产生 A/E 组织病理损伤, 造成严重水样腹泻。

EPEC 导致宿主产生 A/E 损伤的过程主要分四个阶段: ① Bfp 首先介导细菌与细胞的疏松黏附; ②细菌的 III 型分泌系统主动分泌 EspA、EspB 和 EspD 蛋白形成“分子注射器” (molecular syringe) 样结构, 众多效应分子 (如 Tir、Map、cif、EspG、EspF 和 EspH) 通过 III 型分泌系统“注射”到宿主细胞内, 细胞骨架改变, 肌动蛋白异常聚集, 微绒毛受损; ③ Tir 插入到肠上皮细胞膜中, 作为细菌紧密黏附素的受体, 介导细菌和细胞紧密黏附, 肌动蛋白进而异常聚集和重构 (rearrangement); ④形成特征性的垫状结构 (pedestal formation), 紧密连接完整性破坏, 线粒体功能丧失, 电解质丢失, 导致细胞最终脱落死亡。

A/E 损伤是 EPEC 致病的主要原因, 决定 A/E 损伤的毒力基因集中于染色体 LEE 致病岛内, 由 41 个基因组成。目前, EPEC 已成为研究 A/E 损伤致病机制的模式生物。

(3) 肠出血型大肠埃希菌 (enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC): 1982 年发现于美国, 现已分离到 50 多个血清型, 引起人类疾病的主要是 O157:H7 血清型, 但不同国家的流行株有差异。EHEC 可引起严重腹泻、出血性结肠炎 (haemorrhagic colitis, HC)、溶血性尿毒综合征 (haemolytic uraemic syndrome, HUS), 在世界各地有散发或地方性小流行。1993 年美国发生 O157:H7 暴发流行, 700 多名儿童患病, 其中 51 例为溶血性尿毒综合征, 4 例死亡。1996 年日本发生 O157:H7 暴发流行, 9 000 余名儿童受到感染, 持续 2 个月, 患者逾万, 死亡 11 人。2000 年我国苏皖等地发生 O157:H7 大规模暴发流行, 患者约 2 万人, 急性肾衰竭患者 195 人, 死亡 177 人。被污染的牛奶、肉类、蔬菜、水果等食品是 EHEC 感染的重要传染源, 牛可能是 O157:H7 的主要储存宿主。5 岁以下儿童易感, 引起感染的菌量可低于 100 个, 症状轻重不一, 可从轻度水泻至伴剧烈腹痛的血便。约 10% 小于 10 岁的患儿可并发有急性肾衰竭、血小板减少、溶血性贫血的 HUS, 病死率达 3% ~ 5%。

EHEC 主要通过产生志贺毒素 (shiga toxin, Stx) 和引起肠黏膜上皮细胞 A/E 损伤来致病。

Stx 分 Stx I 与 Stx II 两型。Stx I 与痢疾志贺菌产生的志贺毒素具有 99% 的同源性, Stx II 和 Stx I 有 60% 同源性, 两型毒素均由溶原性噬菌体介导。Stx 是典型的 A-B 模式蛋白毒素, 由 1 个 A 亚单位和 5 个 B 亚单位组成。B 亚单位与宿主细胞上特异性糖脂受体 (Gb3) 结合后, 介导 A 亚单位进入细胞内。A 亚单位进入细胞内后裂解成 28 kD 的 A1 和 4 kD 的 A2 片段, A1 可裂解 28S rRNA, 从而导致蛋白质合成受阻和细胞死亡, 肠绒毛结构的破坏导致吸收减少和液体分泌相对增加, 肠黏膜和血管内皮细胞破坏, 引起血液释放到肠腔。Stx 对肾小球内皮细胞的损伤, 可引起肾小球滤过减少和急性肾衰竭。另外, 内毒素和溶血素在 EHEC 的致病过程中亦有作用。

(4) 肠侵袭型大肠埃希菌 (enteroinvasive *E. coli*, EIEC): EIEC 感染较少见, 主要侵犯较大儿童和成人。EIEC 无动力, 生化反应和抗原结构近似志贺菌, 容易误诊为志贺菌。EIEC 不产生肠毒素, 致病物质主要是侵袭力, 其侵袭结肠黏膜上皮细胞的能力与质粒携带的一系列侵袭性基因 (pInv gene) 有关。细菌到达大肠后, 穿过黏液层, 黏附于肠黏膜上皮细胞, 进而侵入肠黏膜上皮细胞并在其中生长增殖, 最后杀死感染细胞, 再扩散到邻近细胞, 导致组织破坏和炎症发生。本菌所致疾病很像细菌性痢疾, 有发热、腹痛、腹泻、脓血便及里急后重等症状。

(5) 肠集聚型大肠埃希菌 (enteroaggregative *E. coli*, EAEC): 引起婴儿和旅行者持续性腹泻, 脱水, 偶有血便。EAEC 不侵袭细胞, 60 MD 质粒编码的 Bfp、AAF/ I 和 AAF/ II 介导 EAEC 在细胞表面自动聚集, 形成砖状排列。感染导致微绒毛变短、单核细胞浸润和出血。EAEC 还能刺激黏液的分泌, 促使细菌形成生物被膜覆盖在小肠的上皮上。EAEC 可产生肠聚集耐热肠毒素 (enteroaggregative heat-stable toxin, EAST) 和质粒编码毒素 (plasmid encoded toxin, PET), EAST 可导致大量液体分泌, PET 可刺激肠道分泌增加。

最近出现了一些新型大肠埃希菌。2011 年德国暴发了新型大肠埃希菌感染和溶血性尿毒综合征疫情, 后来蔓延到法国、美国、加拿大等 16 个国家, 4137 人患病, 50 例死亡。基因组分析发现, 该菌株通过基因水平转移方式获得了 EHEC 的毒力基因, 如志贺毒素 2 基因 (*stx2*)、噬菌体介导的 *stx* 基因, 并携带 EAEC 的某些致病基因。该菌株聚合了肠聚集型、肠出血型和肠致病型大肠埃希菌的基因特征和致病特性, 携带多种耐药基因, 是一种罕见的混合致病型大肠埃希菌, 命名为肠聚集出血型大肠埃希菌 (entero-aggregative-haemorrhagic *E. coli*, EAHEC)。

三、微生物学检查法

(一) 临床标本的检查

1. 标本采集 肠道外感染者取中段尿、血液、脓液、脑脊液等, 肠道感染者取粪便。

2. 涂片染色检查 肠外感染者标本除血液外均需做涂片染色检查。脓、痰、分泌物可直接涂片, 革兰氏染色后镜检。尿液和其他液体标本先低速离心, 再取沉淀物做涂片染色检查。

3. 分离培养与鉴定

(1) 肠道外感染: 血液标本接种肉汤培养基增菌, 待生长后再移种血琼脂平板。体液标本的离心沉淀物和其他标本直接划线接种于血琼脂平板。35 ~ 37℃ 孵育 18 ~ 24 小时后, 观察菌落形态, 挑取可疑菌落, 进行鉴定。初步鉴定根据 IMViC (++) 试验, 最后鉴定根据系列生化反应。尿路感染尚需记数菌落量, 每毫升 ≥ 10 万才有诊断价值。

(2) 肠道内感染: 将粪便标本接种于鉴别培养基, 挑选可疑菌落并鉴定为大肠埃希菌后, 再分别检测不同类型致腹泻大肠埃希菌的毒力因子和血清型等特征进行分型鉴定。① ETEC: 过去用动物或细胞培养测定 LT 或 ST, 现常用 ELISA、核酸杂交或 PCR 法检测这些肠毒素或相关基因; ② EPEC: 用特异性多价和单价 O、H 抗血清与分离菌作凝集试验, 测定特异血清

型,亦可以用 ELISA、细胞培养法和核酸杂交等方法检测黏附素;③ EHEC: O157:H7 血清型多数对山梨醇不发酵或缓慢发酵。可用 ELISA 法测定 Stx 毒素,也可用 PCR 法结合基因探针检测 *stx* 基因;④ EIEC: 与志贺菌相似,多数 EIEC 无动力,乳糖不发酵或迟缓发酵。测定侵袭力可用 Senery 试验,系将被检菌液接种于豚鼠眼结膜囊内,若产生典型的角膜结膜炎症状,并在角膜上皮细胞内有大量细菌,判断为 Senery 试验阳性;⑤ EAEC: 用液体培养-集聚试验 (liquid-culture clump aggregation) 检测受检菌的黏附性或用 PCR、核酸杂交技术检测肠集聚耐热毒素 EAST 基因。

(二) 卫生细菌学检查

寄居于肠道中的大肠埃希菌随粪便排出后,可污染周围环境、水源及食品。对环境卫生、水源、食品、药品等进行细菌学检验时,样品中检出此菌,提示已被粪便污染,样品中检出的大肠埃希菌越多,表示被粪便污染越严重,也表明样品中存在有肠道致病菌的可能性越大。因此,卫生细菌学以“大肠菌群数”作为判断饮水、食品等被粪便污染的指标之一。

大肠菌群指在 37℃ 24 小时内发酵乳糖产酸产气的肠道杆菌,包括埃希菌属、肠杆菌属、枸橼酸杆菌属及克雷伯菌属等。我国《生活饮用水卫生标准》(GB5749-2006) 规定每 100 ml 生活饮用水中,菌落总数限值 100,不得检出总大肠菌群、耐热大肠菌群和大肠埃希菌。

四、防治原则

加强垃圾、污水及粪便管理,注意个人卫生,避免食用污染的水和食品。

污染的水和食品是 ETEC 最重要的传染媒介,EHEC 则常由污染的肉类和未消毒的牛奶引起,如美国多次 EHEC 流行,传染源多是汉堡包中污染 EHEC 的牛肉馅,正确烹饪可减少 ETEC 和 EHEC 感染的危险。

对腹泻患者应进行隔离治疗,及时纠正水和电解质平衡。尿道插管和膀胱镜检查应严格无菌操作。采取各种适宜措施减少医院内感染的发生,

大肠埃希菌菌毛抗原在自然感染和人工自动免疫中是关键性抗原之一。在家畜中,用菌毛疫苗防治新生畜崽腹泻已获得成功,例如在孕牛产前 6 个月接种大肠埃希菌 K99 株的菌毛抗原,则新生牛犊吮乳后可被动获得特异菌毛抗体,对同型菌毛型大肠埃希菌感染有免疫保护。人工合成的 ST 产物与 LT B 亚单位交联的疫苗可预防人类 ETEC 感染,预防 EPEC 及 EHEC 感染的疫苗也在研究中。

很多大肠埃希菌菌株已获得对一种或多种抗菌药物的耐药性,因此,需要依据药敏试验结果选择敏感抗生素治疗。

第二节 志贺菌属

志贺菌属 (*Shigella*) 俗称痢疾杆菌 (dysentery bacterium), 是一类具有高度传染性和危害严重的革兰氏阴性肠道致病菌, 为人类细菌性痢疾 (简称菌痢) 的病原菌, 灵长类动物也是其天然宿主, 1898 年 Shiga 首先分离到该菌, 故名。细菌性痢疾是一种常见病, 主要流行于发展中国家, 全世界每年菌痢患者超过 2 亿例, 其中 500 万例需住院治疗, 每年死于菌痢的人数达 65 万, 其中绝大多数为 5 岁以下的儿童, 是造成婴幼儿死亡的主要原因。细菌性痢疾是我国分布最广、发病率最高的肠道传染病, 自 2003 年以来, 细菌性痢疾报告病例数一直高居我国法定传染病的前五位, 死亡数在前十位。



彩图: 志贺菌 # (革兰氏染色, $\times 1000$)

一、生物学性状

1. 形态结构 大小为 $0.5 \sim 0.7 \mu\text{m} \times 2 \sim 3 \mu\text{m}$ ，革兰氏阴性短小杆菌。无芽胞，无鞭毛，无荚膜，有菌毛。

2. 基因组特征 我国志贺菌优势流行株是福氏志贺菌 2a 型。福氏志贺菌 2a 型 301 株全基因组序列测定显示，其染色体大小为 4.6 Mb，菌体内还有一个 221 kb 的毒力大质粒 DCP301 和两个小质粒。在染色体上有 3 个致病岛（she 毒力岛、SHI-2 毒力岛和 Sis “痢疾岛”）。毒力大质粒中有一个约 31 kb 的片段（*Ipa/mxi-spa* 基因簇），编码Ⅲ型分泌系统、侵袭质粒抗原和转录激活因子。

3. 培养特征 兼性厌氧，营养要求不高，在普通琼脂平板上培养 24 小时，可形成直径约 2 mm、半透明的光滑型菌落，宋内志贺菌常出现扁平的粗糙型菌落。

4. 生化反应 分解葡萄糖，产酸不产气。除宋内志贺菌个别菌株迟缓发酵乳糖（一般需 37°C 3 ~ 4 天）外，均不分解乳糖，故在 SS 选择鉴别培养基上，呈无色半透明菌落；在克氏双糖管中，斜面不发酵，底层产酸不产气，硫化氢阴性，动力阴性，可与沙门菌、大肠埃希菌等区别。

5. 抗原构造及分类 志贺菌属细菌的主要表面抗原为 O 抗原，部分菌株有 K 抗原。O 抗原分群特异抗原和型特异抗原 2 种，是分类的依据，藉此将志贺菌属分为 4 群（种）50 个血清型（包括亚型）。K 抗原在分类上无意义，但可阻止 O 抗原与 O 抗体的结合。志贺菌因无鞭毛，故无 H 抗原。

从生化特性看，B、C、D 群能发酵甘露醇，而 A 群不发酵甘露醇；A、B、C 群无鸟氨酸脱羧酶，而 D 群有此酶（表 12-2）。

表 12-2 志贺菌属的抗原分类和生化特征

菌种	群	型	亚型	乳糖	甘露醇	鸟氨酸脱羧酶
痢疾志贺菌	A	1 ~ 15		-	-	-
福氏志贺菌	B	1 ~ 6, x, y 变型	1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 5a, 5b	-	+	-
鲍氏志贺菌	C	1 ~ 18		-	+	-
宋内志贺菌	D	1		-/L	+	+

注：+ 产酸或阳性；- 不产酸或阴性；L 迟缓发酵

A 群：即痢疾志贺菌（*S. dysenteriae*）。有 15 个血清型，不能发酵甘露醇，不产生鸟氨酸脱羧酶。

B 群：即福氏志贺菌（*S. flexneri*）。有 16 个血清型（包括变型和亚型），各型间有交叉反应。

C 群：即鲍氏志贺菌（*S. boydii*）。有 18 个血清型，各型间无交叉反应。

D 群：即宋内志贺菌（*S. sonnei*）。抗原单一，只有一个血清型，可迟缓发酵乳糖，并可发酵甘露醇，是唯一具有鸟氨酸脱羧酶的志贺菌。宋内志贺菌有Ⅰ相和Ⅱ相两个交叉变异相。Ⅰ相呈 S 型菌落，对小鼠有致病力，多自急性期感染患者标本中分离到。Ⅱ相为 R 型菌落，对小鼠不致病，常从慢性患者或带菌者检出。Ⅰ相抗原受控于一个 140 MDa 的大质粒，若质粒丢失，Ⅰ相抗原不能合成，细菌则从有毒力的Ⅰ相转变为无毒力的Ⅱ相。

根据志贺菌的菌型分布调查，我国以福氏志贺菌为主，其中又以 2a 亚型、3 型多见；其次为宋内志贺菌；痢疾志贺菌与鲍氏志贺菌则较少见。

6. 抵抗力 志贺菌的抵抗力比其他肠道杆菌弱, 加热 60°C 10 分钟即被杀死。对酸和一般消毒剂敏感, 在 1% 苯酚中 15 ~ 30 分钟死亡。在粪便中, 由于其他肠道菌产酸或噬菌体的作用, 常使本菌在数小时内死亡, 故用于志贺菌分离培养的粪便标本应迅速送检。在 37°C 水中可存活 10 ~ 20 天, 蝇肠内可存活 9 ~ 10 天, 在污染物品及瓜果、蔬菜上可存活 10 ~ 20 天。在适宜的温度下, 志贺菌可在水及食品中繁殖, 引起水源或食物型的暴发流行。由于抗菌药物的广泛应用, 志贺菌的多重耐药性问题日趋严重, 即使在边远地区分离的志贺菌也常见 4 ~ 8 种耐药谱, 给临床治疗带来一定困难。

二、致病性与免疫性

1. 致病物质 主要是侵袭力和内毒素, 有的菌株尚能产生外毒素。

(1) 侵袭力 志贺菌侵袭的靶细胞是回肠末端和结肠的黏膜上皮细胞。志贺菌首先黏附并侵入位于派氏淋巴结 (Peyer's patch) 的 M 细胞, 通过 M 细胞跨过上皮屏障进入肠黏膜, 转位于上皮下的巨噬细胞或邻近的上皮细胞, 然后通过 III 型分泌系统向黏膜上皮细胞和巨噬细胞分泌 4 种蛋白 (IpaA、IpaB、IpaC、IpaD), 这些蛋白诱导细胞膜凹陷, 导致细菌内吞。志贺菌能溶解吞噬小泡, 进入细胞质内生长繁殖。通过宿主细胞肌动纤维的重排, 推动细菌进入毗邻细胞, 开始细胞到细胞的传播。在这过程中, 引起 IL-1 β 释放, 吸引多形核白细胞到达感染组织, 使肠壁的完整性遭到破坏, 细菌得以到达较深层的上皮细胞, 加速了细菌的扩散。坏死的黏膜、死亡的白细胞、细胞碎片、渗出的纤维蛋白、血液和细菌混在一起, 形成脓血黏液便。

志贺菌的侵袭毒力主要与侵袭质粒有关, 无此质粒的志贺菌株则失去侵袭能力。主要的侵袭性基因位于侵袭性质粒上一个大小为 31 kb 的区域, 由 5 个部分组成: ①编码 III 型分泌系统的 *mix-spa* 基因; ②编码侵袭性蛋白的 *Ipa* (ABCD) 基因和 *IpgD* 基因; ③细胞质间的分子伴侣基因 *ipgC* 和 *ipgE*; ④编码调控 *mix*、*spa* 和 *ipa* 基因转录的 *virB* 基因, MixG 蛋白与细菌在细胞间的扩散有关; ⑤一些功能不明的基因。

(2) 内毒素 所有志贺菌菌株都产生强烈的内毒素。内毒素致病作用有 3 个方面: ①作用于肠黏膜, 使其通透性增高, 促进内毒素的吸收, 引起发热、神志障碍、中毒性休克等一系列症状; ②破坏肠黏膜, 引起炎症、溃疡, 呈现典型的脓血黏液便; ③作用于肠壁自主神经系统, 使肠功能发生紊乱, 肠蠕动失调和痉挛, 尤其以直肠括约肌痉挛最明显, 使患者出现腹痛、里急后重等症状。

(3) 外毒素 A 群志贺菌 I 型和 II 型可产生外毒素, 称为志贺毒素 (Shiga toxin, Stx)。Stx 由 1 个 A 亚单位和 5 个 B 亚单位组成。B 亚单位与宿主细胞膜受体 Gb3 结合并促使 A 亚单位进入细胞内, 导入细胞内的 A 亚单位可裂解 60S 核糖体亚单位中的 28S rRNA, 阻止其与氨酰 tRNA 的结合, 使蛋白质合成中断。毒素效应主要表现为上皮细胞的损伤, 但在小部分患者志贺毒素可介导肾小球内皮细胞的损伤, 导致溶血性尿毒综合征。志贺毒素还具有神经毒素和肠毒素作用, 其作用于中枢神经系统, 可引起致死性感染 (假性脑膜炎昏迷); 其肠毒素效应类似霍乱肠毒素的作用, 可引起水样腹泻。

2. 所致疾病 志贺菌可引起细菌性痢疾。细菌性痢疾是最常见的肠道传染病, 一年四季均可发生, 夏秋季多发, 多见于小儿。各型志贺菌都有可能引起菌痢, 痢疾志贺菌感染病情较重, 但大多预后良好; 福氏志贺菌感染易转为慢性, 排菌时间长; 宋内志贺菌感染病情较轻, 非典型病例较多。我国常见的流行型别主要为福氏志贺菌和宋内志贺菌。

传染源是患者和带菌者, 无动物宿主。急性期患者排菌量大, 每克粪便可有 $10^5 \sim 10^8$ 个细菌, 传染性强; 慢性病例可长期储存病原体, 排菌时间长; 恢复期患者带菌可达 2 ~ 3 周, 有的可达数月。主要通过细菌污染的食物、饮水等经粪-口途径传播。志愿者研究表明, 人类对志贺菌易感, 10 ~ 150 个志贺菌即可引起细菌性痢疾。常见的感染剂量为 10^3 个细菌, 比沙

门菌和霍乱弧菌的感染剂量低2~5个数量级。

志贺菌感染通常只局限于肠道，一般不侵入血流，细菌性痢疾有急性和慢性两种类型。

(1) 急性细菌性痢疾 分为典型菌痢、非典型菌痢和中毒性菌痢三型。

典型急性菌痢经1~3天的潜伏期后，突然发病，常有发热、畏寒、乏力、食欲减退、腹痛和腹泻。大多先为稀水样便，1~2天后由水样便转为脓血黏液便，腹泻次数增多（每日10多次至数十次），并伴有里急后重等症状。若及时治疗，预后良好。但在体弱的老人和儿童，因水分和电解质的丧失，可导致失水、酸中毒，在有些患者还可引起溶血性尿毒综合征，甚至死亡。

中毒性菌痢多见于小儿，各型志贺菌都可引起，发病急，常无明显的消化道症状，而全身中毒症状严重，临床主要表现为高热（ $\geq 40^{\circ}\text{C}$ ）、休克、中毒性脑病，可迅速发生呼吸和循环衰竭，若抢救不及时，往往造成患者死亡。

(2) 慢性细菌性痢疾 急性菌痢治疗不彻底、机体抵抗力低、营养不良、胃酸过低或伴有其他慢性病时，易转为慢性。病程多在2个月以上，迁延不愈或时愈时发。有10%~20%的急性患者可转为慢性。其症状不典型者，易被误诊，而影响治疗。

部分感染者可成为带菌者，是菌痢的重要传染源。

3. 免疫性 感染后可获得型特异性免疫，但志贺菌菌型多，各型间无交叉免疫，且感染局限于肠黏膜层，细菌一般不侵入血液，因此病后免疫期短，免疫力不牢固，不能防止再感染。机体抗志贺菌感染的免疫主要依赖肠道的局部免疫，即肠道黏膜细胞吞噬能力的增强和sIgA的作用。sIgA可阻止志贺菌黏附到肠黏膜上皮细胞表面，病后3天左右即出现，但维持时间短。大多数患者病后可产生循环抗体，但此种抗体无保护作用。

三、微生物学检查法

1. 标本 在使用抗生素之前挑取新鲜粪便的脓血或黏液部分，避免与尿混合；怀疑中毒性菌痢者可取肛门拭子。送检应及时，不能及时送检的标本应保存于30%甘油缓冲盐水或专门运送培养基中。

2. 培养与鉴定 标本接种于肠道鉴别或选择培养基上， 37°C 孵育18~24小时，挑取无色半透明的可疑菌落，做生化反应和玻片凝集试验，确定其菌群（种）和菌型。如遇非典型菌株，需做系统生化反应，以确定菌属。

3. 毒力试验 可测定志贺菌的侵袭力和毒素。

(1) 志贺菌侵袭力的测定：可用Sereny试验。将受试菌培养18~24小时，以生理盐水制成 $9\times 10^8/\text{ml}$ 菌悬液，接种于豚鼠眼结膜囊内。若发生角膜结膜炎，则Sereny试验阳性，表明受试菌有侵袭力。

(2) 志贺毒素的测定：可用HeLa细胞或Vero细胞检测志贺菌Stx毒素；也可用PCR、探针杂交技术直接检测其毒素基因 $stxA$ 、 $stxB$ 。

4. 快速诊断法

(1) 免疫凝集法：将粪便标本与志贺菌抗血清在玻片上混匀，于光镜下观察有无凝集现象。

(2) 免疫荧光菌球法：将标本接种于含有荧光素标记的志贺菌抗血清的液体培养基中， 37°C 孵育4~8小时。若标本中有相应型别的志贺菌存在，则生长繁殖后与荧光素标记的抗体凝集成小菌球，在荧光显微镜下易被检出。

(3) 协同凝集试验：以志贺菌IgG抗体与富含SPA的Cowan I葡萄球菌结合，用来检测患者粪便中是否有志贺菌的可溶性抗原。

(4) 乳胶凝集试验：将志贺菌抗血清与乳胶结合成致敏乳胶，通过凝集反应检测粪便中的志贺菌抗原；也可用志贺菌抗原致敏胶乳，检测粪便中是否有志贺菌抗体。

(5) 分子生物学方法：应用 PCR、基因探针等技术检测与志贺菌致病性密切相关的 *she* 毒力岛基因、侵袭性基因和 140 MDa 的毒力大质粒等。

四、防治原则

非特异性预防措施主要包括：①及时发现亚临床病例和带菌者；②隔离患者；③加强水、食物和牛奶的卫生学监测与管理；④对患者排泄物和生活垃圾及时消毒处理；⑤带菌者不能从事饮食业、炊事及保育工作。

特异性预防主要是口服减毒活疫苗。目前致力于研究的减毒活疫苗主要包括减毒突变株、用不同载体构建的杂交株和营养缺陷减毒株。链霉素依赖株 (streptomycin dependent strain, Sd) 是一种减毒突变株，只有在环境中存在链霉素时才能生长（正常人体内不存在链霉素），将其制成活疫苗给志愿者口服后，该 Sd 株不能生长繁殖，但也不立即死亡，可一定程度侵袭志愿者肠黏膜，激发局部免疫应答，产生 sIgA，同时，血清中特异抗体也增多。Sd 活疫苗的免疫保护具有型特异性，目前已能生产多价志贺菌 Sd 活疫苗。有多种杂交株活疫苗也在研究之中，如将志贺菌的大质粒导入另一弱毒或无毒菌中，形成二价减毒活疫苗。

治疗志贺菌感染的药物很多，可用磺胺类药、氨苄西林、环丙沙星、氯霉素、小檗碱等。中药黄连、黄柏、白头翁、马齿苋等也有疗效。但此菌很易出现多重耐药菌株，故用药前应做药物敏感试验，以减少盲目用药、提高疗效。

(张雄鹰)

第三节 沙门菌属

沙门菌属 (*Salmonella*) 是一大群寄生在人和动物肠道中的、生化反应和抗原结构相似的革兰氏阴性杆菌。目前，沙门菌属被分为两个种，即肠道沙门菌 (*S. enterica*) 和邦戈沙门菌 (*S. bongori*)。每个种又被分为多个亚种 (subspecies) 和血清型。其中肠道沙门菌被分为 6 个亚种，引起人类疾病的沙门菌大多属于肠道沙门菌第一亚种，即肠道沙门菌肠道亚种 (*S. enterica* subspecies *enterica*)。

沙门菌属有 2500 多个血清型，其中伤寒沙门菌、甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌（原称乙型副伤寒沙门菌）和希氏沙门菌（原称丙型副伤寒沙门菌）是人的病原菌，引起肠热症，对非人类宿主不致病。绝大多数血清型宿主范围广泛，家禽、家畜、啮齿类动物、宠物（如龟、鹦鹉）、节肢动物等均可带菌，其中部分血清型为人兽共患病的病原菌，引起人类食物中毒或败血症。感染的动物大多无症状或为自限性胃肠炎。

沙门菌血清型的完整命名包括属、种和血清型，以伤寒沙门菌为例，肠道沙门菌肠道亚种伤寒血清型 (*S. enterica* subspecies *enterica* serotype Typhi)，缩写为伤寒沙门菌 (*S. Typhi*)，属名用斜体字，血清型用罗马字体)。

一、生物学性状

1. 形态结构 革兰氏阴性杆菌，大小为 $0.6 \sim 1.0 \mu\text{m} \times 2 \sim 4 \mu\text{m}$ 。有菌毛。绝大多数分离株有周身鞭毛。一般无荚膜。均无芽胞。

2. 培养特性 兼性厌氧，营养要求不高，在普通琼脂平板上可生长，最适生长温度为 $35 \sim 37^\circ\text{C}$ ，最适生长 pH 为 $6.8 \sim 7.8$ 。在 SS 选择和鉴别培养基上，由于不发酵乳糖，形成较小、无色半透明的 S 型菌落；有些菌株可分解含硫氨基酸产生硫化氢，而形成中心黑色的菌落。

3. 生化反应 不发酵乳糖或蔗糖。发酵葡萄糖、麦芽糖和甘露糖产酸产气，但伤寒沙门菌例外，只产酸不产气。吡啶试验和尿素酶试验阴性。沙门菌在克氏双糖管中表现为：斜面层不分解乳糖，下层分解葡萄糖产酸产气（但伤寒沙门菌只产酸不产气），硫化氢阳性或阴性，动力阳性。常见沙门菌主要的生化反应见表 12-3。

表12-3 常见沙门菌主要的生化反应

菌名	乳糖	葡萄糖	甘露糖	H ₂ S	动力
甲型副伤寒沙门菌	-	⊕	⊕	-/+	+
肖氏沙门菌	-	⊕	⊕	+++	+
鼠伤寒沙门菌	-	⊕	⊕	+++	+
猪霍乱沙门菌	-	⊕	⊕	+/-	+
希氏沙门菌	-	⊕	⊕	+	+
伤寒沙门菌	-	+	+	-/+	+
肠炎沙门菌	-	⊕	⊕	+++	+

注：+：阳性或产酸；⊕：产酸产气；-：阴性

4. 抗原构造 沙门菌属细菌主要有 O 和 H 两种抗原。少数血清型还有一种表面抗原，功能类似于大肠杆菌的 K 抗原，因其与毒力（virulence）有关而被称为 Vi 抗原（表 12-4）。

(1) O 抗原 为沙门菌细胞壁 LPS 最外层的特异多糖。每个血清型的沙门菌含有一种或多种 O 抗原。凡含有共同 O 抗原的沙门菌归为一个群（或组），引起人类疾病的沙门菌大多数在 A ~ E 群。O 抗原为胸腺非依赖性抗原（TI-Ag），刺激机体主要产生 IgM 类抗体，不形成免疫记忆。

(2) H 抗原 存在于沙门菌的鞭毛蛋白中。H 抗原分为第 I 相和第 II 相两种，第 I 相特异性高，又称为特异相，以小写英文字母 a、b、c……表示；第 II 相特异性低，可为多种血清型的沙门菌共有，称为非特异相，以 1、2、3……表示。同时有第 I 相和第 II 相 H 抗原的菌株称双相菌。每一群沙门菌根据 H 抗原不同，可被进一步分成不同血清型。H 抗原为胸腺依赖性抗原（TD-Ag），刺激机体主要产生 IgG 类抗体，能形成免疫记忆。

(3) Vi 抗原 位于菌体最表层。新分离的伤寒沙门菌和希氏沙门菌均有 Vi 抗原，由聚-N-乙酸-D-半乳糖胺糖醛酸组成。Vi 抗原不稳定，经 60℃ 加热、苯酚处理或传代培养后易消失。Vi 抗原存在于菌体表面，可阻止 O 抗原与其相应抗体的凝集反应。Vi 抗原的免疫原性弱，只有当机体内有 Vi 抗原存在时才可检出相应抗体。因此，检测 Vi 抗体可用于带菌者的检出。

表12-4 常见的人类致病性沙门菌和抗原组成

群别	菌名	O抗原	H抗原	
			第 I 相	第 II 相
A	甲型副伤寒沙门菌 (<i>S. Paratyphi A</i>)	O1、O2、O12	a	-
B	肖氏沙门菌 (<i>S. Schottmuelleri</i>)	O1、O4、O5、O12	b	1、2
	鼠伤寒沙门菌 (<i>S. Typhimurium</i>)	O1、O4、O5、O12	i	1、2
C1	猪霍乱沙门菌 (<i>S. Choleraesuis</i>)	O6、O7	c	1、5
	希氏沙门菌 (<i>S. Hirschfeldii</i>)	O6、O7、Vi	c	1、5
D	伤寒沙门菌 (<i>S. Typhi</i>)	O9、O12、Vi	d	-
	肠炎沙门菌 (<i>S. Enteritidis</i>)	O1、O9、O12	g、m	-

5. 抵抗力 沙门菌属细菌对理化因素抵抗力较差。湿热 65℃ 15 ~ 30 分钟即被杀死，但在常温水中能存活 2 ~ 3 周，粪便中可存活 1 ~ 2 个月。对一般消毒剂敏感，但对某些化学物质如胆盐、煌绿等的耐受性较其他肠道细菌强，故这些化学物质被用于 SS 琼脂平板等沙门菌选择和鉴别培养基。

二、致病性与免疫性

1. 致病物质 主要包括侵袭力和内毒素，个别菌株能产生肠毒素。

(1) 侵袭力 沙门菌有毒株通过特异性的菌毛黏附于小肠黏膜上皮细胞，接着通过沙门菌致病岛 I (*Salmonella* pathogenicity island I, SPI-I) 编码的 III 型分泌系统 (type III secretion system, T3SS) 分泌的多种毒力因子，引发上皮细胞内肌动蛋白重排、细胞膜凹陷而将细菌内吞。SPI-II 编码的 T3SS 也分泌多种毒力因子，在其作用下，沙门菌可在小肠黏膜上皮细胞内的吞噬体中繁殖，并进一步穿过黏膜细胞。沙门菌被吞噬细胞吞噬后，这些毒力因子可使沙门菌在吞噬溶酶体中繁殖，并促进携带有沙门菌的吞噬细胞播散。

伤寒沙门菌和希氏沙门菌在宿主体内可形成 Vi 抗原，该抗原具有微荚膜功能，能抵抗吞噬细胞的吞噬和杀伤，并阻挡抗体和补体等对菌体的破坏作用。

(2) 内毒素 沙门菌死亡裂解后释放的内毒素，可引起宿主体温升高，白细胞数改变（肠热症时白细胞数往往降低），甚至导致内毒素血症和休克。

(3) 肠毒素 个别沙门菌如鼠伤寒沙门菌可产生肠毒素，其性质类似于 ETEC 产生的肠毒素。

2. 所致疾病 沙门菌病在世界范围内流行，主要见于夏秋等温暖季节。沙门菌寄生于人或动物的肠道中，可随粪便污染水或食物，经口进入人体后定位于小肠而引起感染。胃酸、肠道正常菌群和肠道局部免疫等宿主因素有助于抵抗沙门菌感染。

常见的人类沙门菌病包括急性胃肠炎（食物中毒）、肠热症（enteric fever）和败血症。少数感染者可形成带菌者。

(1) 胃肠炎（食物中毒）是最常见的沙门菌感染。以鼠伤寒沙门菌和肠炎沙门菌最为多见。常见的食物包括未经充分加热的畜肉、禽肉制品，这些肉制品可能来自感染动物，或在屠宰和加工过程中被污染；来自污染水体的未经充分加热的水产品；被污染的、直接食用的生鸡蛋；被污染的、消毒不当的奶或奶制品等。

食入沙门菌后 8 ~ 48 小时出现恶心、呕吐和水样泻。低热和腹痛也很常见。如无并发症，多为自限性，2 ~ 3 天后痊愈，但粪检沙门菌阳性可持续几周。

(2) 肠热症 包括伤寒沙门菌引起的伤寒（typhoid fever），以及甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌和希氏沙门菌引起的副伤寒（paratyphoid fever）。

被摄入的沙门菌突破胃酸屏障到达回肠下段，侵入并穿过黏膜上皮细胞，被回肠集合淋巴结（Peyer's patche）中的单核吞噬细胞吞噬但不能被杀死。细菌在吞噬细胞中繁殖，并随之扩散至肠系膜淋巴结大量繁殖后，经胸导管进入血液循环，形成第一次菌血症。此时，临床上处于潜伏期，持续时间长短不一，通常 7 ~ 14 天。

细菌随血流进入肝、胆囊、脾、肾、骨髓等器官组织，在这些器官组织的单核吞噬细胞中繁殖，并再次入血造成第二次菌血症，此时相当于病程的第 1 ~ 3 周。在未经治疗的病例，该时段症状明显。最早出现的症状是发热，在最初几天到 1 周内，热度呈阶梯型上升达到 39 ~ 40℃ 或更高，若未经有效抗菌治疗，高热可持续至病程第 3 周末。同时，可出现相对缓脉、表情淡漠甚至谵妄、肝大脾大、外周血白细胞数下降和消化系统症状如腹胀、腹痛和便秘等。大约 30% 的肠热症患者在病程第 1 周末或第 2 周期间腹部和（或）胸部可出现玫瑰疹。

菌血症、内毒素、单核吞噬细胞释放的细胞因子等与发热、神经系统中毒症状、相对缓

脉、白细胞数减少等有关。

肾中的细菌可随尿排出。胆囊中的细菌随胆汁进入肠道，一部分随粪便排出体外，另一部分再次侵入肠壁淋巴组织，使已致敏的组织发生超敏反应，导致局部坏死和溃疡，若病变累及血管可发生肠出血，若溃疡侵犯肌层和浆膜层，可引起肠穿孔。这种严重的并发症发生于病程的第 3 周，见于 5% 的肠热症患者。肠穿孔是造成肠热症患者死亡的主要原因。

未经治疗的病例，若无严重并发症，病程第 4 周进入缓解期，第 5 周进入恢复期，体温正常，神经和消化系统症状消失，肝、脾恢复正常。部分患者可出现复发，病情多较初始疾病轻。未经治疗的典型肠热症患者死亡率约为 20%。

约有 1% ~ 5% 的肠热症患者，在症状消失后 1 年仍可在其粪便中检出相应沙门菌，被称为无症状带菌者。隐性感染者也可能成为无症状带菌者。这种带菌状态有可能持续终生。这些细菌留在胆道系统中，有时也可在尿道中，成为肠热症病原菌的储存场所和重要传染源。女性和老人更易成为带菌者。胆道疾病尤其是结石有助于形成带菌状态。

(3) 败血症 病菌以猪霍乱沙门菌、希氏沙门菌、鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌等常见。多见于儿童和免疫力低下的成人。经口感染后，细菌早期侵入血液循环导致败血症，出现高热、寒战、厌食和贫血等症状，并可随血流播散至骨、关节、脑膜（主要是婴儿）、心包、胸膜、肺、心脏瓣膜等部位引起感染。肠道症状常常缺少。

3. 免疫性 沙门菌为兼性胞内寄生菌，因此特异性细胞免疫是主要防御机制。沙门菌也有存在于血流和细胞外的阶段，故特异性体液抗体也有辅助杀菌作用。胃肠炎的恢复与沙门菌刺激肠黏膜局部产生 sIgA 有关。可出现再次感染，但常较第一次感染轻微。

三、微生物学检查法

1. 标本 胃肠炎患者取粪便、呕吐物和可疑食物。败血症患者取血液。肠热症患者因病程不同采集不同标本：第 1 周采集外周血，第 2 周起采集粪便，第 3 周起可采集尿液，全病程可采集骨髓液。胆道带菌者可取十二指肠引流液。

2. 快速诊断 有学者采用胶乳凝集试验、SPA 协同凝集试验、对流免疫电泳、ELISA 等免疫诊断技术检测粪便、血清或尿液中的沙门菌可溶性抗原。也可通过 PCR 等分子生物学技术检测沙门菌核酸。

3. 分离培养与鉴定 将标本划线接种于肠道选择鉴别培养基，如 SS 培养基（Salmonella-Shigella medium）、麦康凯培养基（MacConkey medium）等。粪便可直接接种，血液和骨髓液先增菌再接种，尿液经离心取沉淀物接种。37℃ 培养 24 小时后，挑取无色半透明或中央为黑色的菌落接种至双糖或三糖铁培养基。培养后观察结果，若疑为沙门菌，再继续做系列生化反应，根据反应结果选择沙门菌多价抗血清做玻片凝集试验予以确定。

在流行病学调查和传染源追踪中，Vi 噬菌体分型也是一种常用方法。标准 Vi 噬菌体有 33 个型，其特异性比血清学分型更为专一。

4. 血清学诊断 因很多感染者在发病早期就使用抗生素，导致肠热症的症状不典型，临床标本分离阳性率低，加之肠热症病程较长，故血清学试验仍有辅助诊断意义。目前临床仍然普遍使用的肠热症血清学诊断方法为肥达试验（Widal test）。

肥达试验是用已知伤寒沙门菌 O 抗原和 H 抗原的诊断菌液，以及甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌和希氏沙门菌 H 抗原的诊断菌液与倍比稀释的受检血清做半定量试管或微孔板凝集试验，根据受检血清中有无相应抗体及其效价辅助诊断肠热症。肥达试验结果的解释必须结合临床表现、病程、病史，以及地区流行病学情况。

(1) 结果判断：正常人群因隐性感染或预防接种，血清中可含有一定量的有关抗体，且其效价随地区而有差异。一般具有诊断价值的结果判断标准为：伤寒沙门菌 O 凝集效价 \geq

1:80, H凝集效价 \geq 1:160, 引起副伤寒的沙门菌 H凝集效价 \geq 1:80。

IgM类抗O抗体出现较早, 持续约半年, 消退后不易受非特异性抗原刺激而重新出现。但是, 不同血清型的沙门菌具有共同的O抗原成分, 能刺激机体产生相同的O抗体, 所以伤寒沙门菌O凝集效价高, 只能作为沙门菌现症感染的指标, 不能区分引起肠热症的沙门菌和其他沙门菌, 也不能区分伤寒和副伤寒。

抗H抗体特异性强, 但抗体类型为IgG, 出现较晚, 持续时间长达数年, 消失后易受非特异性抗原刺激而短暂升高。因此, 单独H凝集效价升高, 对肠热症诊断意义不大。

所以, O、H凝集效价均超过正常值, 肠热症的可能性大; 两者均低, 患病可能性小; 若O高H不高, 可能是感染早期, 或感染了有O交叉抗原的其他沙门菌; 若O不高H高, 可能是预防接种或非特异性回忆反应。

(2) 动态观察: 一般5~7天复查1次, 若效价逐次递增或恢复期效价比初次效价 \geq 4倍, 更具有诊断意义。

(3) 其他: 有少数病例, 在整个病程中, 肥达试验始终在正常范围内。原因可能是早期使用抗生素治疗, 或患者免疫功能低下等。

伤寒带菌者的检出 尽管从可疑带菌者的粪便、肛拭、胆汁或尿液中分离出病原菌是最可靠的诊断方法, 但检出率不高。一般先用血清学方法检测可疑者Vi抗体效价, 若效价 \geq 1:10时, 再反复取粪便等标本进行分离培养确定。

四、防治原则

做好水源和食品的卫生管理, 防止被沙门菌感染的人和动物的粪便污染。禁售病畜肉类, 完善肉类加工、运输及卫生、烹饪等的管理措施。及时检出和治疗带菌者。带菌者不能从事食品行业的工作。

目前国际上使用的针对伤寒沙门菌的疫苗主要有适用于5岁及以上人群的胶囊型口服Ty21a减毒活疫苗和适用于2岁及以上人群的注射型Vi多糖疫苗。我国主要使用后者, 该疫苗安全, 较少不良反应, 注射一针即可具有一定的保护力, 免疫持久, 有效期至少3年。

沙门菌引起的急性胃肠炎病程较短, 以对症治疗为主, 一般可不用抗菌药物。临床分离的伤寒沙门菌耐药现象普遍, 甚至出现多重耐药, 所以, 在没有药敏试验结果之前, 肠热症首选药物推荐使用第三代喹诺酮类药物, 如左氧氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星等, 儿童和孕妇患者宜首选第三代头孢菌素, 如头孢噻肟、头孢哌酮、头孢他啶、头孢曲松等。治疗中应密切观察疗效, 并根据药敏试验结果随时调整治疗方案。

第四节 其他菌属

一、克雷伯菌属

克雷伯菌属(*Klebsiella*)共有7个种, 与人类疾病有关的主要有肺炎克雷伯菌(*K. pneumoniae*)、产酸(催娩)克雷伯菌(*K. oxytoca*)和肉芽肿克雷伯菌(*K. granulomatis*)。肺炎克雷伯菌又分为3个亚种, 分别为肺炎克雷伯菌肺炎亚种(*K. pneumoniae subsp. pneumoniae*) (俗称肺炎杆菌)、肺炎克雷伯菌鼻炎亚种(*K. pneumoniae subsp. ozaenae*)和肺炎克雷伯菌鼻硬结亚种(*K. pneumoniae subsp. rhinoscleromatis*)。

1. 生物学性状 为革兰氏阴性杆菌, 大小 $0.5 \sim 0.8 \mu\text{m} \times 1 \sim 2 \mu\text{m}$, 无鞭毛, 不形成芽胞, 多数菌株有菌毛。营养要求不高, 在普通培养基上生长良好。与其他肠杆菌科细菌相比,

最显著特点是有较厚的多糖荚膜，能形成较大的黏液型菌落，延长培养时间后易相互融合，以接种环挑起时有明显拉丝现象。不产生硫化氢，肺炎克雷伯菌可发酵乳糖。

2. 致病性 克雷伯菌主要寄生于人的皮肤、咽部和胃肠道，也可存在于尿道、胆道和伤口中，是最常引起医院感染的细菌之一。菌体周围的厚荚膜（K 抗原）与其致病性有关。

肺炎克雷伯菌肺炎亚种为本属细菌中最常见的条件致病菌，当机体免疫力降低、使用免疫抑制剂或长期大量使用抗生素导致菌群失调时，可引起多种感染，主要包括泌尿道感染、肺炎、败血症和创伤感染。其引起的肺炎病情严重，肺部出现广泛的出血性和坏死性肺实变，痰液特点为黏稠血痰，呈砖红色，有时描述为果酱样痰（currant jelly sputum）。该菌引起的败血症后果较严重，死亡率较高。

肺炎克雷伯菌鼻炎亚种可从萎缩性鼻炎的感染标本中分离到。肺炎克雷伯菌鼻硬结亚种可导致罕见的鼻硬结病，表现为鼻部和咽部形成破坏性的肉芽肿性病变。肉芽肿克雷伯菌可引起生殖器和腹股沟部位的肉芽肿疾病。

二、变形杆菌属

变形杆菌属（*Proteus*）为肠道正常菌群，但也存在于自然环境中，包括长期照护机构和医院。变形杆菌现有 8 个菌种，其中奇异变形杆菌（*P. mirabilis*）和普通变形杆菌（*P. vulgaris*）与临床关系最为密切。

1. 生物学性状 为革兰氏阴性菌，大小 $0.4 \sim 0.6 \mu\text{m} \times 1 \sim 3 \mu\text{m}$ ，形态呈明显的多形性，有菌毛，有周身鞭毛，运动活泼，无荚膜，不形成芽胞。营养要求不高，在湿润的琼脂平板培养基表面呈扩散生长，形成以接种部位为中心的厚薄交替的波纹状菌苔，称为迁徙生长现象（swarming growth phenomenon）。若在培养基中加入 0.1% 的苯酚以抑制鞭毛生长，或提高琼脂浓度至 5% ~ 6%，这种扩散生长现象则被抑制，形成单个菌落。具有尿素酶，能迅速分解尿素产氨，是变形杆菌的一个重要特征。不发酵乳糖，能产生硫化氢，因此在 SS 平板上的菌落特点和在克氏双糖管中的生长现象与某些沙门菌属细菌类似，可用尿素酶试验进行区别。

普通变形杆菌 OX19、OX2 和 OXk 三个菌株的 O 抗原与斑疹伤寒立克次体和恙虫病东方体有共同抗原，故可分别用这三个菌株代替立克次体作为抗原，与待检者血清进行凝集反应，以辅助诊断相应立克次体病，此即外 - 斐试验（Weil-Felix test）。

2. 致病性 变形杆菌所致感染中，90% 由奇异变形杆菌引起。普通变形杆菌是医院感染的重要病原菌。变形杆菌只有离开肠道后才能引起感染，主要引起泌尿道感染，是仅次于大肠埃希菌的引起泌尿道感染的病原菌。其尿素酶可分解尿素产氨，使尿液 pH 增高，有利于变形杆菌的生长。高碱性尿液对尿道上皮的毒性作用，以及菌毛的黏附和鞭毛的活泼运动，均有利于变形杆菌引起肾盂肾炎等上泌尿道感染。碱性尿液环境导致有机和无机复合物的析出和沉积，从而促进泌尿系统形成结石。在免疫力低下的人群，有的变形杆菌菌株还可引起肺炎、脑膜炎、腹膜炎、败血症和食物中毒等疾病。

三、肠杆菌属

肠杆菌属（*Enterobacter*）是肠杆菌科最常见的环境菌群，常见于土壤和水中，不是肠道的常居菌群，偶尔可从粪便和呼吸道中分离到。其中最常引起人类感染的主要有 3 个种，分别为阴沟肠杆菌（*E. cloacae*）、产气肠杆菌（*E. aerogenes*）和阪崎肠杆菌（*E. sakazakii*）。阪崎肠杆菌能产生特有的黄色色素，现归为克罗诺杆菌属（*Cronobacter*）。其他菌种较少在临床分离出，如阿氏肠杆菌（*E. asburiae*）、杰高维肠杆菌（*E. gergoviae*）、河生肠杆菌（*E. amnigenus*）、中间肠杆菌（*E. intermedius*）、溶解肠杆菌（*E. dissolvens*）、泰洛肠杆菌（*E. taylorae*）、霍氏

肠杆菌 (*E. hormaechei*)、致癌肠杆菌 (*E. cancerogenus*)、超压肠杆菌 (*E. nimipressuralis*) 等。

1. 生物学性状 革兰氏阴性粗短杆菌，周身鞭毛，不形成芽胞，有荚膜，在普通琼脂平板上形成灰白色的黏液型大菌落。发酵乳糖，不产生硫化氢。

2. 致病性 肠杆菌属细菌，尤其是阴沟肠杆菌和产气肠杆菌，能引起多种医院感染。易感因素包括长时间住在重症加强护理病房 (intensive care unit, ICU)、长期使用抗生素、进行侵入性诊疗如气管插管、使用支气管镜、放置导尿管等。所引起的感染包括败血症、肺炎、皮肤和软组织感染、泌尿系统感染、心内膜炎、腹腔内感染、化脓性关节炎、骨髓炎、脑膜炎等，在临床表现上与其他细菌引起的感染无法区分。

多数菌株染色体上携带 β -内酰胺酶编码基因 (*ampC*)，因对氨苄西林和第一代、第二代头孢菌素固有耐药。变异株因过量合成 β -内酰胺酶而对第三代头孢菌素耐药。

四、沙雷菌属

沙雷菌属 (*Serratia*) 广泛分布于环境中，如水和土壤，以及多种动物的消化道中，但不是人类粪便中的常见菌。在住院的成人患者中，沙雷菌主要定居于呼吸道和泌尿道，而不是胃肠道。

黏质沙雷菌 (*S. marcescens*) 是住院患者常见的机会致病菌，其他沙雷菌，如普城沙雷菌 (*S. plymuthica*)、液化沙雷菌 (*S. liquefaciens*)、深红沙雷菌 (*S. rubidaea*)、臭味沙雷菌 (*S. odorifera*) 等，引起的感染不多见。

1. 生物学性状 革兰氏阴性小杆菌，周身鞭毛，不形成芽胞，一般不形成荚膜，但在通气好、低氮和磷的培养基上可形成荚膜。黏质沙雷菌能产生一种色素，被称为灵菌红素 (prodigiosin)，使菌落呈现血红色，随培养时间延长，可逐渐褪色至浅粉色。灵菌红素的衍生物具有免疫抑制和抗肿瘤等活性。黏质沙雷菌是细菌中最小的，可用于检查除菌滤器的除菌效果。

2. 致病性 沙雷菌感染主要见于全身或局部免疫力低下、手术或创伤、使用侵入性诊疗器械的住院患者，引起败血症、肺炎、泌尿道感染、伤口感染、皮肤和软组织感染、脑膜炎、心内膜炎、骨髓炎、化脓性关节炎等多种感染。

沙雷菌属中多重耐药菌株常见。

五、枸橼酸杆菌属

枸橼酸杆菌属 (*Citrobacter*) 广泛存在于水、土壤和食物中，也是人和动物肠道中的正常菌群。该属目前有 12 个种，包括弗劳地枸橼酸杆菌 (*C. freundii*)、异型枸橼酸杆菌 (*C. diversus*)、柯赛枸橼酸杆菌 (*C. koseri*)、布拉克枸橼酸杆菌 (*C. braakii*)、杨格枸橼酸杆菌 (*C. youngae*)、沃克曼枸橼酸杆菌 (*C. werkmanii*)、无丙二酸盐枸橼酸杆菌 (*C. amalonaticus*) 和塞氏枸橼酸杆菌 (*C. sedlakii*) 等。

1. 生物学性状 革兰氏阴性杆菌，有周身鞭毛，能形成荚膜。营养要求不高，菌落灰白色、湿润、隆起、边缘整齐。个别菌株发酵乳糖，但极为缓慢。产生硫化氢。

2. 致病性 枸橼酸杆菌主要引起医院感染，易感人群包括新生儿、65 岁以上的老年人、身体虚弱者或免疫力受损者。在新生儿可导致严重脑膜炎、坏死性脑炎和脑脓肿。在其他人群可引起多种感染，以泌尿道感染最多见，其次为腹部感染、皮肤和软组织感染、手术部位感染和肺炎，也可引起败血症及骨组织和心内膜等部位的感染。

六、摩根菌属

摩根菌属 (*Morganella*) 广泛分布于自然界，也是人和动物肠道中的正常菌群。只有

一个种，即摩根摩根菌 (*M. morganii*)，进一步分为 2 个亚种，即摩根摩根菌摩根亚种 (*M. morganii subsp. morganii*) 和摩根摩根菌西伯尼亚种 (*M. morganii subsp. sibonii*)。

1. 生物学性状 形态、染色和培养与变形杆菌类似，但无迁徙生长现象。能分解尿素产氨，不发酵乳糖，这两个生化反应特点与变形杆菌类似，但不能产生硫化氢。

2. 致病性 为机会致病菌，主要引起院内感染，尤其是使用抗生素的患者，主要包括泌尿道感染、伤口感染、败血症、肺炎等。

小结

大肠埃希菌是一类中等大小的革兰氏阴性杆菌，多数菌株有周身鞭毛，能运动。不同种类的普通菌毛与致病性有关。大肠埃希菌抗原主要有 O、H 和 K 三种，是血清学分型的基础。

大肠埃希菌是肠道正常菌群，但部分大肠埃希菌具有致病性，主要有五种类型：肠产毒型大肠埃希菌 (ETEC)、肠致病型大肠埃希菌 (EPEC)、肠出血型大肠埃希菌 (EHEC)、肠侵袭型大肠埃希菌 (EIEC) 和肠聚集型大肠埃希菌 (EAEC)。致病机制是大肠埃希菌黏附素与肠上皮细胞特异受体结合后，依靠Ⅲ型分泌系统把毒力蛋白直接注入到宿主细胞内，导致细胞损伤；各类肠毒素造成严重水样腹泻。所致疾病包括化脓性感染、泌尿系感染、胃肠炎和食物中毒。

志贺菌是无鞭毛、无荚膜、有菌毛的革兰氏阴性杆菌，不分解乳糖。志贺菌有 O 抗原和 K 抗原，O 抗原是分群的依据。致病物质为内、外毒素和侵袭力，所致疾病是细菌性痢疾，经粪-口途径传播。

沙门菌有菌毛和周身鞭毛，无荚膜和芽胞。不发酵乳糖。沙门菌有 O 抗原和 H 抗原。沙门菌属根据 O 抗原分群，根据 H 抗原在群下分为不同血清型。

沙门菌致病物质包括侵袭力和内毒素，个别菌株能产生肠毒素。所致疾病包括胃肠炎（食物中毒）、肠热症和败血症。

肠热症患者因病程不同采集不同标本。除分离培养与鉴定外，临床普遍使用肥达试验辅助诊断肠热症。肥达试验结果判断和解释必须结合临床表现、病程、病史，以及地区流行病学情况。

克雷伯菌属和肠杆菌属有明显荚膜。克雷伯菌属无鞭毛。变形杆菌有迁徙生长现象。肺炎克雷伯菌肺炎亚种引起的肺炎病情严重，痰液特点为黏稠血痰。肠杆菌属主要引起医院感染，多为机会致病性感染。变形杆菌主要引起泌尿道感染。

(方艳辉)

弧菌属 (*Vibrio*) 细菌是一大群菌体短小, 弯曲成弧形、运动活泼的革兰氏阴性菌。弧菌属广泛分布于自然界, 以水中最多, 其中部分菌种可引起人类与动物疾病。弧菌属目前有 36 个种, 其中至少有 12 种与人类感染有关, 尤以霍乱弧菌、副溶血性弧菌和创伤弧菌最为重要。有重要医学意义的弧菌见表 13-1。

表13-1 人类感染有关的主要弧菌

弧菌	人类疾病
霍乱弧菌 O1 和 O139 血清群	霍乱, 可造成大流行甚至世界性大流行
非 O1 和非 O139 霍乱弧菌血清群	霍乱样腹泻, 一般腹泻, 偶见肠道外感染
副溶血性弧菌	胃肠炎, 肠道外感染
其他: 拟态弧菌、创伤弧菌、霍利斯弧菌、河弧菌、耳、伤口、软组织和其他肠道外感染, 但都不常见 少女弧菌、溶藻弧菌、麦契尼可夫弧菌	

第一节 霍乱弧菌

霍乱弧菌 (*V. cholerae*) 是引起烈性传染病霍乱的病原体, 两千多年前已有记载。自 1817 年以来, 已发生过 7 次世界性霍乱大流行。前 6 次由霍乱弧菌古典生物型引起, 均起源于孟加拉盆地。1961 年开始的第 7 次大流行由霍乱弧菌 El Tor 生物型引起。首先由印度尼西亚向远东, 再回扫南亚。20 世纪 70 年代初侵袭非洲, 1991 年达南美。1993 年在南美秘鲁发生第一次流行, 有 82 万病例, 死亡 7000 余人; 2012 年海地霍乱暴发流行, 52 万人感染, 死亡 6000 余人。1992 年一个新的流行株 O139 (Bengal) 在沿孟加拉湾的印度和孟加拉一些城市出现, 并很快传遍亚洲, 于 1993 年 5 月首次传入我国。

一、生物学性状

1. 形态与染色 霍乱弧菌菌体大小为 $0.5 \sim 0.8 \mu\text{m} \times 1.5 \sim 3 \mu\text{m}$ 。从患者新分离出的细菌形态典型, 呈弧形或逗点状。但经人工培养后, 细菌常呈杆状而不易与肠道杆菌区别。革兰氏染色阴性。特殊结构有菌毛, 无芽胞, 有些菌株 (包括 O139) 有荚膜, 在菌体一端有一根单鞭毛。若取患者米泔水样粪便或培养物作悬滴观察, 细菌运动非常活泼, 呈穿梭样或流星状。

2. 培养特性与生化反应 兼性厌氧。但在氧气充分的条件下生长更好。营养要求不高, 可在普通培养基上生长, 形成凸起、光滑、圆形的菌落。生长繁殖的温度范围广 ($18 \sim 37^{\circ}\text{C}$), 故可在自然环境中生存。耐碱不耐酸, 在 $\text{pH}7.4 \sim 9.6$ 的范围内, 能迅速生长, 特别在 $\text{pH}8.5 \sim 9.5$ 的碱性蛋白胨水或碱性琼脂平板上生长良好, 因其他细菌在此 pH 中不易



彩图: 霍乱弧菌 # (革兰氏染色, $\times 1000$)

生长，故初次分离霍乱弧菌常用碱性蛋白胨水增菌。酸能迅速杀死细菌，因此，培养基中不能含有其能发酵的糖类。霍乱弧菌可在无盐环境中生长，而其他致病性弧菌则不能。霍乱弧菌为过氧化氢酶阳性，氧化酶阳性，能发酵很多常见的单糖、双糖和醇糖，如葡萄糖、蔗糖和甘露醇，产酸不产气；不分解阿拉伯胶糖；能还原硝酸盐，吲哚反应阳性。

弧菌属与肠杆菌科细菌的主要不同点是氧化酶试验阳性（麦契尼可夫弧菌除外）和位于菌体一端的单鞭毛。

3. 抗原构造与分型 霍乱弧菌有耐热的 O 抗原和不耐热的 H 抗原。根据 O 抗原不同，现已有 155 个血清群，其中 O1 群、O139 群引起霍乱，其余的血清群分布于地面水中，可引起人类胃肠炎等疾病，但从未引起霍乱的流行。H 抗原无特异性，免疫扩散试验表明所有霍乱弧菌拥有共同的 H 抗原。

O1 群霍乱弧菌菌体抗原由 A、B、C 3 种抗原成分，据此又可分为 3 个血清型：小川型（Ogawa）、稻叶型（Inaba）和彦岛型（Hikojima）（表 13-2）。

表13-2 霍乱弧菌O1群血清型

血清型（抗原组分）	O1多克隆抗体	O1单克隆抗体			出现频率	造成流行
		A	B	C		
小川型 Ogawa（AB）	+	+	+	—	常见	是
稻叶型 Inaba（AC）	+	+	—	+	常见	是
彦岛型 Hikojima（ABC）	+	+	+	+	极少见	未知

+: 凝集；—：不凝集

根据表型差异，O1 群霍乱弧菌的每一个血清型还可分为 2 个生物型，即古典生物型（classical biotype）和 El Tor 生物型（El Tor biotype），后者因在埃及西奈半岛 El Tor 检疫站被分离而得名。古典生物型不溶解羊红细胞，不凝集鸡红细胞，对多粘菌素敏感，可被第Ⅳ群噬菌体裂解，而 El Tor 弧菌则完全相反。

O139 群在抗原性方面与 O1 群之间无交叉，序列分析发现 O139 群失去了 O1 群的 O 抗原基因，出现了一个约 36 kb 的新基因，编码与 O1 群不同的脂多糖抗原和荚膜多糖抗原，但与 O22 和 O155 等群可产生抗原性交叉。在遗传性方面，如核糖型，限制性酶切电泳图谱，外膜蛋白，毒性基因等，O139 群则与 O1 群的古典型和 El Tor 生物型的流行株相似。

4. 抵抗力 El Tor 生物型和其他非 O1 群霍乱弧菌在外环境中的生存力较古典型为强，在河水、井水及海水中可存活 1～3 周，有时还可越冬。本菌不耐酸，在正常胃酸中仅能存活 4 分钟。55℃湿热 15 分钟，100℃煮沸 1～2 分钟，0.5 ppm 氯 15 分钟能杀死霍乱弧菌。以 1：4 比例加漂白粉处理患者排泄物或呕吐物，经 1 小时可达到消毒目的。O1 群 El Tor 型菌株耐药尚不严重，O139 群菌株耐药严重，超过半数的菌株对氯霉素、卡那霉素、萘啶酸、四环素、氨苄西林和复方磺胺甲恶唑（SMZ-TMP）耐药，但这些菌株对环丙沙星仍较为敏感。来自环境水体的非产毒 O1 群菌株具有多耐药特征，其潜在的威胁是这些菌株可能通过基因水平转移的方式将耐药性传递给环境中的产毒株。

二、致病性与免疫性

1. 致病物质 霍乱弧菌的致病物质涉及染色体上多个基因，它们主要包括由 ToxR 蛋白调控的 *ctxA*、*ctxB*、*tcp*、*zot*、*ace* 等基因，另外还有两个不受 ToxR 蛋白调控的毒力因子基因 *hlyA* 和 *hap*。

(1) 霍乱肠毒素 (cholera toxin) 是目前已知的致泻毒素中最为强烈的毒素, 是肠毒素的典型代表。编码霍乱肠毒素的基因由噬菌体携带, 噬菌体以定植于肠黏膜的霍乱弧菌的菌毛为受体, 进入细菌后, 将产毒素基因整合在细菌染色体上, 霍乱肠毒素由一个 A 亚单位和 5 个相同的 B 亚单位构成一个热不稳定性多聚体蛋白, 分别由霍乱毒素 A 基因 (cholera toxin A, *ctxA*) 和 B 基因 (*ctxB*) 编码。B 亚单位可与小肠黏膜上皮细胞 GM1 神经节苷脂受体结合, 然后插入宿主细胞膜, 形成亲水性穿膜孔道。使 A 亚单位通过孔道进入细胞质, A 亚单位在发挥毒性作用前需经蛋白酶作用裂解为 A1 和 A2 两条多肽。A1 作为腺苷二磷酸核糖基转移酶可使 NAD (辅酶 I) 上的腺苷二磷酸核糖 (ADP-ribose, ADP-R) 转移到 G 蛋白上, 此为腺苷酸环化酶的一部分, 其活化可使细胞内 ATP 转变为 cAMP, 使 cAMP 水平升高, 结果肠黏膜细胞过量分泌 Cl^- 和水, 抑制了 Na^+ 的吸收, 肠液大量分泌, 患者因此出现腹泻与呕吐, 严重的水和电解质丧失 (图 13-1)。

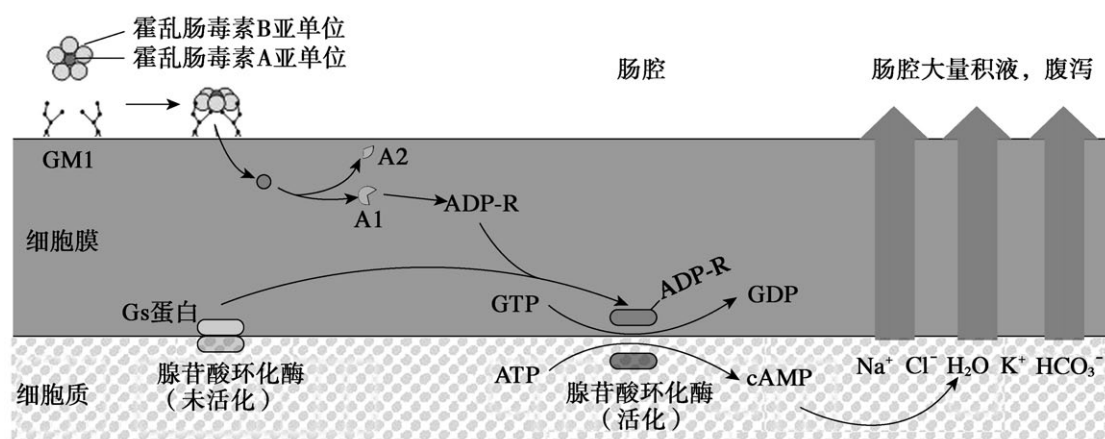


图 13-1 霍乱肠毒素的作用机制

(2) 鞭毛、菌毛及其他毒力因子 霍乱弧菌活泼的鞭毛运动有助于细菌穿过肠黏膜表面黏液层而接近肠壁上皮细胞。细菌的普通菌毛是细菌定居于小肠所必需的因子。只有黏附定居后方可致病。与此相关基因有 *acf* 和 *tcpA*。*acf* 编码辅助定居因子 (accessory colonization factor); *tcpA* 编码毒素协调菌毛蛋白 (toxin coregulated pilus A) 的一个亚单位。实验发现使 *tcpA* 失活后, 变异株即失去定居功能和致泻特性。其他毒力因子还有溶血-溶细胞素 A (hemolytic-cytolytic A) 基因 *hlyA* 编码的具有溶血-细胞毒毒性的蛋白; 血凝素/蛋白酶 (hemagglutinin/protease) 基因 *hap* 编码的血凝素/蛋白酶有助于细菌从死亡细胞上解离。

O139 群除具有上述 O1 群的致病物质和相关基因外, 还存在多糖荚膜和特殊 LPS 毒性决定簇, 其功能是抵抗血清中杀菌物质和能黏附到小肠黏膜上, 不表达 LPS 决定簇和荚膜的 TnphoA 突变株则对血清中的杀菌物质易感。

2. 所致疾病 引起烈性肠道传染病霍乱, 我国定为甲类传染病。

在自然情况下, 人类是霍乱弧菌的唯一易感者。在地方性流行区, 除患者外, 无症状感染者也是重要传染源。高比例的无症状携带者有利于疾病的扩散, 根据卫生状况, 无症状携带者和患者的比率为 10:1 ~ 100:1。

传播途径主要是通过污染的水源或未煮熟的食物如海产品、蔬菜经口摄入。居住拥挤, 卫生状况差, 特别是公用水源是造成暴发流行的重要因素。人与人之间的直接传播不常见。在正常胃酸条件下, 如以水为载体, 需饮入大于 10^{10} 个细菌方能引起感染; 如以食物作为载体, 由于食物高强度的缓冲能力, 感染剂量可减少到 $10^2 \sim 10^4$ 个细菌。任何能降低胃中酸度的药物

或其他原因,都可使人对霍乱弧菌感染的敏感性增加。

病菌到达小肠后,黏附于肠黏膜表面并迅速繁殖,不侵入肠上皮细胞和肠腺,细菌在繁殖过程中产生肠毒素而致病。O1 群霍乱弧菌感染可从无症状或轻型腹泻到严重的致死性腹泻。在古典生物型霍乱弧菌感染中,无症状者可达 60%;在 El Tor 生物型感染中,无症状者可达 75%。霍乱弧菌古典生物型所致疾病较 El Tor 生物型严重。典型病例一般在吞食细菌后 2 ~ 3 天突然出现剧烈腹泻和呕吐,多无腹痛,每天大便数次或数十次。在疾病最严重时,每小时失水量可高达 1 升,排出由黏膜、上皮细胞和大量弧菌构成的如米泔水样的吐泻物。由于大量水分和电解质丧失而导致失水,代谢性酸中毒,低碱血症和低容量性休克及心力不齐和肾衰竭,如未经治疗处理,患者可在 12 ~ 24 小时内死亡,死亡率达 25% ~ 60%,但若及时给患者补充液体及电解质,死亡率可小于 1%。O139 群霍乱弧菌感染比 O1 群严重,表现为严重脱水和高死亡率,且成人病例所占比例较高,大于 70%,而 O1 群霍乱弧菌流行高峰期,儿童病例约占 60%。

康复者维持带菌状态,成为主要的传染源。病菌主要存在于胆囊中。

3. 免疫性 对 O1 群霍乱弧菌感染的研究和历次霍乱流行的观察,表明感染霍乱弧菌后,机体可获得免疫力,再感染少见。患者发病数月后,血液中和肠腔中可出现保护性的抗肠毒素抗体及抗菌抗体,抗肠毒素抗体主要针对霍乱毒素 B 亚单位,抗菌抗体主要针对 O 抗原,抗 H 抗体无保护作用。肠腔中的 sIgA 可凝集黏膜表面的病菌,使其失去动力;可与菌毛等黏附因子结合,阻止霍乱弧菌黏附至肠黏膜上皮细胞;可与霍乱肠毒素 B 亚单位结合,阻断肠毒素与小肠上皮细胞受体作用。霍乱弧菌引起的肠道局部黏膜免疫是霍乱保护性免疫的基础。

感染 O139 群的患者大多为成年人,表明以前感染 O1 群获得的免疫对 O139 群感染无交叉保护作用。O139 群感染后的免疫应答与 O1 群基本一致。家兔肠道结扎实验和小鼠攻击实验证明,O139 群的保护性免疫以针对脂多糖和荚膜多糖的抗菌免疫为主,抗毒素免疫为辅。O1 群的脂多糖 O 抗原与 O139 群存在显著差异,且还缺少荚膜多糖表面抗原,故其引起的免疫不能交叉保护 O139 群的感染。

三、微生物学检查法

霍乱是烈性传染病,对首例患者的病原学诊断应快速、准确,并及时做出疫情报告。在流行期间,典型患者的诊断并不困难;但散在的、轻型病例应与其他原因的腹泻相区别。

标本包括患者的“米泔水”样吐泻物、肛拭,流行病学调查还包括水样。霍乱弧菌不耐酸和干燥。为避免因粪便发酵产酸而使病菌灭活,标本应及时培养或放入碱性保存液中运输;肠道病原菌常用的甘油盐水缓冲保存液不适于该菌的保存。

直接镜检革兰氏染色阴性弧菌,悬滴法观察细菌呈穿梭样运动有助于诊断。

分离培养常将标本首先接种至碱性蛋白胨水增菌,37℃ 孵育 6 ~ 8 小时后直接镜检并做分离培养。在碱性琼脂平板上培养 24 小时后,形成圆形、透明或半透明 S 型、无色扁平菌落。常用 TCBS 选择培养基(thiosulfate citrate bile sucrose medium)分离细菌,该培养基含有硫代硫酸盐(thiosulfate)、枸橼酸盐(citrate)、胆盐(bile salts)及蔗糖(sucrose),培养基呈暗绿色,霍乱弧菌因分解蔗糖呈黄色菌落。挑选可疑菌落进行生化反应及与 O1 群多价和单价血清做玻片凝集反应,还需与 O139 群抗血清做凝集反应。

四、防治原则

改善社区环境,加强水源和粪便管理,培养良好个人卫生习惯,不生食贝壳类海产品等是预防霍乱弧菌感染和流行的重要措施。

长期以来使用 O1 群霍乱弧菌死菌苗肌内注射,虽可增强人群的特异性免疫力,但保护力仅为 50% 左右,且血清抗体持续时间较短,仅为 3 ~ 6 个月。在认识到肠道局部免疫对霍乱预防起主要作用后,目前霍乱疫苗预防的重点已转至研制口服菌苗的方向上,包括 B 亚单位-全菌灭活口服疫苗、基因工程减毒活菌苗(用基因工程技术去除 O1 群霍乱弧菌野生株 DNA 中大部分毒力基因的活疫苗)、带有霍乱弧菌几个主要保护性抗原的基因工程疫苗等。其中前两种疫苗已进行过大规模人群试验,对其有效保护率和保护时间正在进行评估,且在某些国家已获准使用。O139 群霍乱弧菌尚无预防性疫苗,候选菌苗正在研制中,思路是制成包括预防 O1 群和 O139 群霍乱弧菌感染的二价菌苗。

及时补充液体和电解质,预防大量失水导致的低血容量性休克和酸中毒是治疗霍乱的关键;用于霍乱的抗菌药物有四环素、多西环素和复方磺胺甲恶唑(SMZ-TMP)等。但带有多重耐药质粒的菌株在增加;且 O139 群的耐药性强于 O1 群,给治疗带来一定困难。

第二节 副溶血弧菌

副溶血性弧菌(*V. parahaemolyticus*)于 1950 年从日本一次暴发性食物中毒中分离发现。该菌存在于近海的海水、海底沉积物和鱼类、贝壳等海产品中。根据菌体 O 抗原不同,现已有 13 个血清群。主要引起食物中毒,尤以日本、东南亚、美国及我国台北地区多见,也是我国大陆沿海地区食物中毒中最常见的一种病原菌。

一、生物学性状

同其他引起人类感染的弧菌种类一样,该菌与霍乱弧菌的一个显著差别是嗜盐性(halophilic),在培养基中以含 3.5% NaCl 最为适宜,无盐则不能生长,但当 NaCl 浓度高于 8% 时也不能生长。在盐浓度不适宜的培养基中,细菌呈长杆状或球杆状等多种形态。在 TCBS 培养基上,副溶血弧菌形成绿色、不发酵蔗糖的菌落。该菌不耐热,90℃ 1 分钟即被杀死;不耐酸,在 1% 醋酸或 50% 食醋中 1 分钟死亡。

副溶血性弧菌在普通血平板(含羊、兔或马等血液)上不溶血或只产生 α 溶血。但在特定条件下,某些菌株在含高盐(7% NaCl)、人 O 型血或兔血及以 D-甘露醇作为碳源的我妻琼脂(Wagatsuma agar)平板上可产生 β 溶血,称为神奈川现象(Kanagawa phenomenon, KP)。

二、致病性

引起食物中毒的确切致病机制尚待阐明。KP⁺ 菌株基本肯定为致病性菌株,可黏附在肠黏膜上。现已从 KP⁺ 菌株分离出 2 种致病因子,其一为耐热直接溶血素(thermostable direct hemolysin, TDH),动物实验表明具有细胞毒性和心脏毒性两种作用。其基因为双拷贝(*tdh1* 和 *tdh2*),KP 实验中的溶血现象即由 *tdh2* 位点决定。*tdh* 基因家族也广泛存在于人类致病性弧菌中,如大多数霍利斯弧菌菌株(*V. hollisae*),某些拟态弧菌菌株(*V. mimicus*)中,非 O1 群霍乱弧菌中也存在同源性约为 93% ~ 96% 的 *tdh* 相关基因,提示该基因与致病关系密切。另一个致病因子为耐热相关溶血素(thermostable related hemolysin, TRH)生物学功能与 TDH 相似,其基因与 *tdh* 同源性为 68%。

其他致病物质可能还包括黏附素和黏液素酶。

该菌引起的食物中毒经烹饪不当的海产品或盐腌制品传播,常见的为海蜇、海鱼、海虾及各种贝类,因食物容器或砧板生熟不分污染本菌后,也可发生食物中毒。该病常年均可发生,潜伏期 5 ~ 72 小时,平均 24 小时,可从自限性腹泻至中度霍乱样病症,有腹痛、腹泻、呕吐

和低热，粪便多为水样，少数为血水样，恢复较快，病后免疫力不强，可重复感染。
该菌还可引起浅表创伤感染、败血症等。

三、诊断与防治

标本采取患者粪便、肛拭或剩余食物，直接分离培养于 SS 琼脂平板或嗜盐菌选择平板。如出现可疑菌落，进一步做嗜盐性试验与生化反应，最后用诊断血清进行鉴定。可选择使用基因探针杂交及 PCR 快速诊断法，可直接从原始食物标本或腹泻标本中检测耐热毒素基因。
治疗可用抗菌药物，如庆大霉素或复方磺胺甲恶唑（SMZ-TMP），严重病例需输液和补充电解质。

小 结

弧菌属广泛分布，以水中最多，霍乱弧菌、副溶血性弧菌引起人类的感染最为重要。霍乱弧菌是引起烈性传染病霍乱的病原体。人类是霍乱弧菌的唯一易感者。霍乱肠毒素是最为强烈的致泻毒素，编码霍乱肠毒素的基因由噬菌体携带，霍乱肠毒素使肠黏膜细胞过量分泌肠液，导致患者出现腹泻、呕吐、严重的水、电解质的丧失。
副溶血性弧菌存在于近海的海水、海底沉积物和鱼类、贝壳中。主要引起沿海地区食物中毒。副溶血性弧菌的突出特征是嗜盐性，无盐则不能生长。

.....

(刘 新)

临床上有重要意义的螺旋状革兰氏阴性菌主要包括螺杆菌属和弯曲菌属的细菌。

第一节 螺杆菌属

螺杆菌属 (*Helicobacter*) 的细菌形态呈弯曲、细长状, 革兰氏染色阴性。目前, 该属细菌共发现 35 个种, 有 3 种可引起人类疾病, 其中幽门螺杆菌 (*H. pylori*) 与人类疾病关系最为密切 (表 14-1)。

表14-1 引起人类疾病的螺杆菌

菌种	主要储存宿主	所致疾病
幽门螺杆菌 (<i>H. pylori</i>)	人、灵长类动物、猪	胃炎、消化性溃疡、胃腺癌、MALT 淋巴瘤
同型恋螺杆菌 (<i>H. cinaedi</i>)	人、仓鼠	胃肠炎、败血症、直肠结肠炎
芬纳尔螺杆菌 (<i>H. fennelliae</i>)	人	胃肠炎、败血症、直肠结肠炎

澳大利亚学者 Marshall 和 Warren 于 1982 年从慢性胃炎患者的胃黏膜活检组织中分离出幽门螺杆菌, 研究证实该菌是引发慢性胃炎、消化性溃疡的主要致病因子, 与胃癌和胃黏膜相关淋巴组织 (mucosa-associated lymphoid tissue, MALT) 淋巴瘤的发生关系密切。Marshall 和 Warren 因此获得 2005 年诺贝尔生理学或医学奖。

一、生物学性状

1. 形态与染色 呈螺旋状、S 形或海鸥展翅状, 散在排列, 革兰氏染色阴性。大小为 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m} \times 2.5 \sim 4.0 \mu\text{m}$ 。电镜下可看到弯曲的菌体一端或两端有数根带鞘的鞭毛 (图 14-1)。不利环境中可形成球状菌。无芽胞和荚膜。

2. 培养特性 微需氧, 培养时需要在 5% O_2 、10% CO_2 和 85% N_2 且相对湿度 98% 的环境中生长。最适生长温度 $35 \sim 37^\circ\text{C}$ 。对营养要求高, 需要富含营养的哥伦比亚、脑心浸液、布氏琼脂且加入血液或血清的培养基上生长, 培养 3 ~ 5 天可形成针尖大小的半透明菌落。

3. 生化反应 可产生大量高活性的尿素酶, 尿素酶试验阳性; 氧化酶试验和触酶试验阴性; 不分解糖类。

4. 基因组特征 目前已有 89 株幽门螺杆菌有全基因测序数据。以菌株 26 695 为例, 其基因组大小约 $1.67 \times 10^6 \text{ bp}$, 有 1 555 个基因和 65 个假基因, 编码 1 445 种蛋白质。有 36 种 tRNA 和 7 种 rRNA。在幽门螺杆菌的染色体 DNA 上可携带与毒力相关的 cog 致病岛 (cag pathogenicity island, cagPAI)。幽门螺杆菌菌株随人群、地域表现出基因多态性。I 型菌株携带细胞毒素相关基因 A (cytotoxin associated gene A, cagA) 和空泡毒素 A (vacuolating

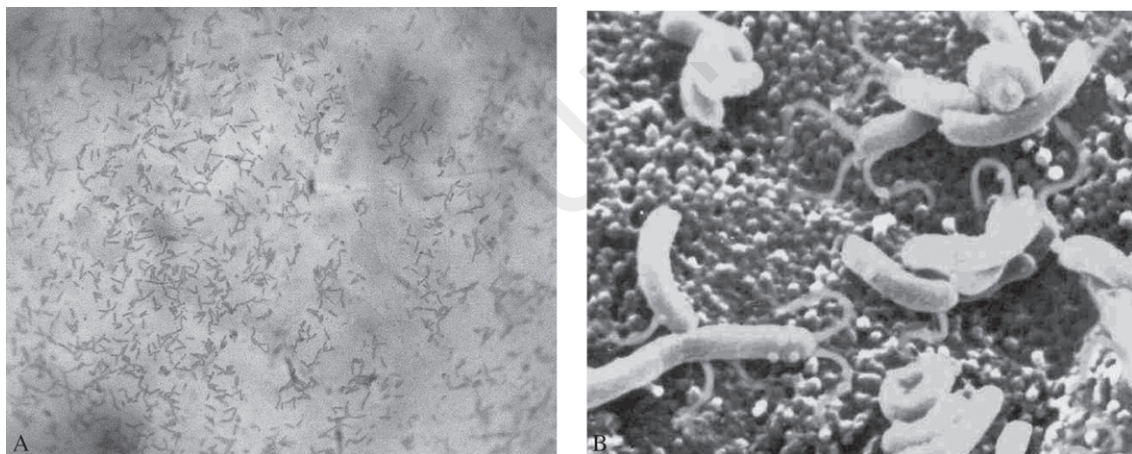


图 14-1 幽门螺杆菌形态

左为革兰氏染色， $\times 1000$ ；右为扫描电镜

cytotoxin A, vacA) 基因，表达 CagA 和 VacA 蛋白，致病性强。II 型菌株为 *cagA* 阴性，致病性弱。东亚地区人群流行菌株主要为 I 型菌株，西方流行菌株只有部分 I 型菌株。

二、致病性与免疫性

1. 致病物质 包括抵抗胃酸和定植的因素、破坏胃黏膜细胞的因素。

(1) 与抵抗胃酸和定植有关的因素包括尿素酶、鞭毛和黏附素等。

1) 尿素酶：幽门螺杆菌可产生大量的高活性尿素酶，分解尿素产 CO_2 和 NH_3 。 NH_3 可中和胃酸，且可以降低黏液中黏蛋白的含量，既有利于该菌抵抗胃酸，同时破坏黏液的离子完整性，削弱屏障功能。尿素酶还可引起上皮细胞的变性和损伤。

2) 与细菌运动有关因素：幽门螺杆菌拥有鞭毛及螺旋状结构，运动活泼，可迅速穿越黏稠的黏液层，逃避胃酸的杀菌作用，扩散至黏膜面。

3) 黏附因素：幽门螺杆菌的 *babA*、*sabA*、*hpaA*、*hopZ*、*napA* 等多种基因编码产物参与与上皮细胞的黏附，有助于细菌定植。如血型抗原结合黏附素 (blood group antigen binding adhesion, BabA) 可与宿主细胞表面的 Lewis^b 血型抗原黏附。唾液酸黏附素 (sialic acid-binding adhesin, SabA) 可与人胃黏膜上皮产生的 sialy-lewis X 结合，介导黏附。

(2) 能够破坏胃黏膜上皮细胞的因素包括毒素、酶和脂多糖。

1) CagA 和 VacA 蛋白：两种外毒素蛋白是主要毒力因子。CagA 分子量为 128 kD，能破坏上皮细胞，诱导上皮细胞产生 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 IL-8 等炎症介质，吸引炎症细胞，释放胞内多种酶类，导致胃组织损伤，并可诱导胃上皮细胞凋亡。VacA 的分子量为 87 kD，它在体外能诱导多种哺乳动物细胞质发生空泡样变性，还可引起细胞凋亡、骨架重排。现已证实，CagA 和 VacA 还与消化性溃疡、胃腺癌等的发生关系密切。

2) 蛋白酶、脂酶和磷脂酶 A：可降解黏液层，破坏上皮细胞膜等。

3) 脂多糖：可模拟 Lewis 抗原，具有黏附功能；可结合细胞表面的 Toll 样受体，刺激细胞释放 IL-8 及 TNF- α 等，引起免疫反应。

2. 所致疾病 人是幽门螺杆菌感染的主要传染源，自然人群总感染率约为 50%，有些地区高达 90%。人群经济状况、教育程度、生活习惯等影响感染率，有家庭聚集性。传播途径可能是粪-口、口-口、医源性传播等。幽门螺杆菌可定居在胃窦和胃体，以胃窦部为最佳部位，甚至在口腔可查到该细菌。幽门螺杆菌的致病机制尚未完全阐明，细菌产生的毒性物质、

宿主的遗传易感性和免疫状态、细菌感染后引发的免疫炎症反应等均发挥重要作用。

感染者大多不出现症状，少数感染者出现以下疾病。

(1) 胃炎：幽门螺杆菌感染可引起浅表性胃炎、弥漫性胃窦胃炎，数年后可进展为多灶性、萎缩性胃炎。功能性消化不良可能也与其感染有关。

(2) 消化性溃疡：几乎所有消化性溃疡患者均有幽门螺杆菌感染性胃炎，根除幽门螺杆菌后，溃疡治愈，复发率也明显降低。

(3) 胃癌与胃 MALT 淋巴瘤：幽门螺杆菌感染使胃中内源性突变原如亚硝胺、亚硝基化合物增多，以及 NO 的合成导致 DNA 亚硝基化脱氨作用，可能使细胞突变，诱导胃癌发生。极少数患者病变涉及胃壁淋巴组织，有导致 MALT 淋巴瘤的危险。

3. 免疫性 感染幽门螺杆菌后，在患者胃液中能检出特异性 sIgA 和 IgG。在血中可持续出现特异性的 IgG 和 IgA，且可持续半年至一年以上。但这些抗体不能清除已感染的幽门螺杆菌。此外，还可产生多种细胞因子，但作用各不相同，有些可能对抗感染有利，而另外一些则可能与致病有关。

三、微生物学检查法

临床检测幽门螺杆菌感染的方法可归为三类。

1. 取材胃黏膜组织进行形态学观察、细菌分离与鉴定、核酸检测。

(1) 形态学观察：胃黏膜的活检组织或固定的标本组织切片，用 Warthin-Starry 银染色、HE 染色、Giemsa 染色或革兰氏染色等，显微镜下可在黏液层下、胃黏膜表面、胃小凹和腺体腔中看到呈弯曲状，分散或聚集的细菌。

(2) 分离培养和鉴定：胃黏膜活检组织接种于幽门螺杆菌选择培养基（含有三甲氧苄胺嘧啶、万古霉素、多黏菌素、两性霉素），在微需氧、高湿度环境中培养 3 ~ 5 天，观察菌落形态。挑取可疑菌落，通过形态观察和生化反应（尿素酶、氧化酶和触酶试验）进行鉴定。

(3) 核酸检查：用 PCR 检测幽门螺杆菌核酸，可快速诊断。

2. 检测尿素酶 常用的方法是：①快速尿素酶试验：将活检胃黏膜组织放入含有尿素和酸碱指示剂的试剂中，幽门螺杆菌的尿素酶分解尿素产生氨，使 pH 升高，指示剂变色，数分钟内可观察到颜色改变。可用于胃镜检查时幽门螺杆菌感染的快速诊断。②CO₂ 呼气试验：让受检者服用 ¹³C 或 ¹⁴C 标记的尿素，胃黏膜表面的幽门螺杆菌产生的高活性尿素酶可分解尿素产生 NH₃ 和 HCO₃⁻，HCO₃⁻ 吸收后在肺部可转换成 CO₂ 呼出，用液体闪烁计数器或气体核素质谱仪检测 ¹³C 或 ¹⁴C 标记的 CO₂，即可用于幽门螺杆菌感染的诊断。该法快速简便和灵敏，广泛应用于临床诊断和流行病学调查。

3. 免疫学方法检测抗原和抗体 方法有：①粪便抗原检查：采用单克隆或多克隆抗体检测粪便中的幽门螺杆菌抗原。标本易收集，阳性标本可反映活动性感染。②血清抗体检测：采集血清标本检测血清中幽门螺杆菌的 IgG，结合胃黏膜标本的形态学观察或快速尿素酶试验等，协助诊断感染。单独检测抗体仅用于幽门螺杆菌感染的流行病学调查，不能够用于现症感染诊断。

四、防治原则

幽门螺杆菌的疫苗正在研制中，由我国学者研制的口服重组幽门螺杆菌疫苗已经获得一类新药证书。临床感染有症状者需要进行根除治疗，常用三联或四联疗法，包括质子泵抑制剂和（或）胶态铋剂和 2 种抗菌药物（阿莫西林、克拉霉素、甲硝唑 / 替硝唑）。目前对甲硝唑和克拉霉素的耐药呈上升趋势。

第二节 弯曲菌属

弯曲菌属 (*Campylobacter*) 是一类革兰氏染色阴性, 菌体弯曲呈 S 形或逗点状的细菌。广泛分布于动物界, 常定居于家禽和野鸟的肠道内。目前已经发现了 33 个种和 14 个亚种。引起人类疾病比较重要的包括空肠弯曲菌 (*C. jejuni*)、结肠弯曲菌 (*C. coli*)、胎儿弯曲菌 (*C. fetus*) 和乌普萨拉弯曲菌 (*C. upsaliensis*), 以空肠弯曲菌的感染最为多见。

弯曲菌属的细菌是引起人类腹泻的常见菌株, 免疫力低下人群可引发全身感染。可诱发格林-巴利综合征 (Guillain-Barre Syndrome, GBS) 和反应性关节炎等自身免疫性疾病。

一、生物学性状

1. 形态与染色 菌体细长弯曲, 呈 S 形、逗点状、海鸥状或螺旋形, 大小为 $0.2 \sim 0.5 \mu\text{m} \times 0.5 \sim 5.0 \mu\text{m}$, 可通过 $0.45 \mu\text{m}$ 的滤器; 一端或两端有无鞘的单鞭毛 (图 14-2), 运动活泼。有荚膜, 不形成芽胞。

2. 培养特性 微需氧, 气体环境要求 5% O_2 、10% CO_2 和 85% N_2 。最适温度 42°C , 37°C 也可生长, 25°C 则不能生长。营养要求高, 需要用含血液或血清的营养培养基培养。初次分离见两种菌落, 一种细小凸起 S 形; 另一种扁平、无色透明、呈毛玻璃状, 边缘不整齐。在半固体培养基上接种孵育后, 呈迁徙生长现象。

3. 生化反应 不能利用糖类, 氧化酶、触酶、马尿酸盐水解试验阳性, 可还原硝酸盐, 可产生 H_2S , 尿素分解阴性。

4. 抗原构造 主要抗原有对热稳定的菌体抗原 (O) 和对热不稳定的表面 (K) 及鞭毛 (H) 抗原。根据 O 抗原不同, 将空肠弯曲菌分为 45 个以上血清型。第 11、12、18 血清型最为常见。

5. 抵抗力 对外界因素抵抗力较弱, 易被干燥、直射阳光及化学消毒剂所杀灭; 在干燥环境中 3 小时内死亡; 加热 56°C 5 分钟即可杀死。

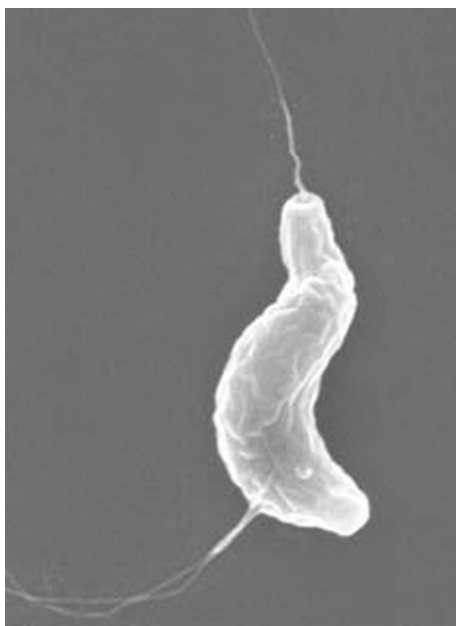


图 14-2 空肠弯曲菌形态 (扫描电镜图)

二、致病性与免疫性

动物是主要传染源, 感染动物的粪便污染水源、食品, 感染的奶牛可从乳汁排菌。人类感染途径以消化道为主, 与感染动物直接接触也可受染。

该菌可产生黏附素、内毒素、细胞毒素和肠毒素, 但毒素在人类感染中的作用不清楚。该菌对胃酸敏感, 经口摄入至少 10^4 个细菌才有可能致病。空肠弯曲菌可迅速地旋转运动穿越肠壁黏液层, 通过菌毛黏附上皮细胞, 大量繁殖, 产生不耐热肠毒素, 引起以腹泻为主的临床症状。胎儿弯曲菌胎儿亚种是机会致病菌。机体虚弱或免疫抑制的人可引起脑膜炎甚至全身感染, 如败血症; 偶尔引起腹泻。

空肠弯曲菌和乌普萨拉弯曲菌感染与 GBS 发病有关, 发生率约为 1/1 000, 最常见的为空肠弯曲菌 O19 血清型。也可引起反应性关节炎。上述疾病均为自身免疫性疾病, 可能与弯曲菌属细菌感染后引发的交叉免疫反应有关。

机体感染该菌后，产生特异性抗体，血清抗体类型有 IgM 和 IgG，能调理吞噬细胞吞噬并激活补体，发挥杀菌作用。肠道局部的 sIgA 有一定的抗感染能力。

三、微生物学检查法

将新鲜粪便标本直接涂片后，进行革兰氏染色，镜下查找革兰氏阴性的弯曲菌，或用暗视野显微镜观察悬滴标本中螺旋式运动细菌，初步做出诊断。可将粪便标本直接接种于选择培养基进行分离培养，置 42℃ 微需氧环境中培养 48 ~ 72 小时，观察菌落特征，根据典型形态结合生化反应和血清学方法做出判定。也可检测粪便中的抗原；用 PCR 检测空肠弯曲菌的核酸进行诊断。

四、防治原则

重点应加强水源、饮食卫生管理，切断传播途径。目前尚无特异性疫苗。及时诊断和治疗患者。本菌对多种抗菌药物敏感，常选用红霉素、阿奇霉素、四环素、喹诺酮类抗菌药物进行治疗。

小 结

幽门螺杆菌为螺旋状革兰氏阴性菌，有端鞭毛。微需氧菌，对营养要求高。尿素酶试验阳性。表达 CagA 和 VacA 的 I 型菌株致病性强。幽门螺杆菌可产生尿素酶、鞭毛以及黏附因子突破宿主胃黏膜防御体系。CagA 和 VacA 是主要毒力因子。主要传播途径是粪-口、口-口、医源性传播。幽门螺杆菌是胃炎、消化性溃疡的主要病原菌，与胃癌、胃 MALT 淋巴瘤发生关系密切。检查方法包括依赖胃黏膜组织的形态学观察、分离培养和鉴定、核酸检查；依赖尿素酶的快速尿素酶、CO₂ 呼气试验；免疫学方法（粪便抗原、血清抗体检测）。临床根除治疗常用三联或四联疗法。

空肠弯曲菌呈细长弯曲革兰氏阴性菌，有端鞭毛，微需氧，最适生长温度 42℃。动物是主要传染源，人类感染经消化道途径和直接接触，可引起腹泻。胎儿弯曲菌可引起免疫抑制人群败血症。空肠弯曲菌和乌普萨拉弯曲菌感染与 GBS 和反应性关节炎有关。

（韩 俭）

分枝杆菌属 (*mycobacterium*) 细菌是一类细长略带弯曲的杆菌, 有分枝生长的趋势。大多数具有抗酸性, 一般染色方法不易着色, 需经加温或延长时间才能着色, 一旦着色后能抵抗盐酸乙醇的脱色作用, 故又称抗酸杆菌 (*acid-fast bacillus*)。抗酸性与细菌细胞壁所含的大量脂质有关。

分枝杆菌属内结核分枝杆菌 (*M. tuberculosis*)、牛分枝杆菌 (*M. bovis*)、非洲分枝杆菌 (*M. africanum*)、田鼠分枝杆菌 (*M. microti*) 和卡氏分枝杆菌 (*M. canettii*) 均可引起典型的结核病, 它们与卡介苗、*M. pinnipedii* (分离于海豹) 等归属于结核分枝杆菌复合群 (*M. tuberculosis complex*, MTC)。其中前两者可使人和动物致病, 人感染以结核分枝杆菌最为常见; 牛分枝杆菌主要侵害牛, 其次是人、其他家畜 (猪、马、绵羊、山羊等) 和野生动物; 这些病原体可通过交叉感染方式 (如人饮用牛奶或动物接触结核病患者等) 在人和动物间相互传播, 因此是人兽共患病原体; 田鼠分枝杆菌可使田鼠发生全身性结核, 在豚鼠、家兔和牛仅引起局限性病变, 对人类基本无致病性。

麻风分枝杆菌引起人类的麻风病。除 MTC 和麻风分枝杆菌之外的分枝杆菌统称为非结核分枝杆菌, 偶尔可机会致病。

第一节 结核分枝杆菌

结核分枝杆菌 (*M. tuberculosis*) 是结核病最重要的病原菌, 俗称结核杆菌。1882 年 3 月 24 日郭霍 (Koch) 发现并证实是结核病的病原菌, 因此获得 1905 年诺贝尔生理学或医学奖。

结核病是一种古老的疾病, 随着卡介苗、链霉素及其他抗结核药物相继应用, 结核病曾在 1950 年以后得到有效控制。但由于卡介苗效果的局限性、耐药结核菌株的不断出现、艾滋病合并结核病感染、人口流动等原因, 结核病又死灰复燃。因此, 1982 年在纪念结核分枝杆菌发现 100 周年时, WHO 倡议将 3 月 24 日作为“世界防治结核病日”。据估计全球 1/3 人口感染了结核分枝杆菌, 其中 5% ~ 10% 可成为结核病患者。据 WHO 数据, 2017 年结核病仍是全球十大死因之一, 新发结核病人 1040 万, 其中 30 个结核病高负担国家占 87.2%, 160 万由于结核病而死亡; 我国在占新发病例 50% 的 4 个国家里排位第二 (8.9%), 也是全球 30 个耐多药结核病流行严重的国家之一。据 2010 年全国第五次结核病流行病学抽样调查结果显示, 我国结核病年发病人数约为 130 万, 占全球发病的 14.3%, 其中每年新发耐多种抗结核药物患者数约为 12 万。结核病是严重的全球性公共卫生问题之一。

一、生物学性状

1. 形态与染色 典型形态为细长略带弯曲的杆菌, $1 \sim 4 \mu\text{m} \times 0.3 \sim 0.6 \mu\text{m}$, 呈单个或分枝状散在分布, 有时呈 V、Y、人字或条索状、短链状排列。菌体两端钝圆, 无芽胞、无鞭毛, 有荚膜。在陈旧病灶和培养物中以及抗结核药物作用下, 形态常不典型, 如颗粒状、串球



彩图: 结核分枝杆菌 # (抗酸染色, $\times 1000$)

状、短棒状和长丝形等。革兰氏染色阳性但不易着色，常用齐-尼（Ziehl-Neelsen）抗酸染色法（acid-fast stain）染色，结核分枝杆菌呈红色，而标本中其他细菌、细胞、杂质等均呈蓝色。结核分枝杆菌的抗酸性与其细胞壁内所含分枝菌酸残基和胞壁固有层的完整性有关。用荧光染料金胺 O 染色，在荧光显微镜下菌体呈橘黄色。在体内可形成 L 型，与细菌的耐药性或疾病复发有关。

2. 培养特性 专性需氧，5% ~ 10% CO₂ 能促进生长。营养要求较高，在含鸡蛋、甘油、马铃薯、孔雀绿和天门冬素等的培养基中生长良好，常用的培养基为罗氏（Lowenstein-Jensen）培养基，还有米氏（Middlebrook）等商品化培养基。最适生长温度为 35 ~ 37℃，pH 6.5 ~ 6.8，生长缓慢，18 小时分裂 1 次，在固体培养基上 2 ~ 5 周才出现肉眼可见的菌落。典型菌落为粗糙型，表面干燥呈颗粒状，不透明，初为乳白色，以后略现黄色或乳酪色，培养较久菌落互相融合似菜花状。在液体培养中生成菌膜，若培养液中加入吐温-80 或震荡培养可使细菌分散呈均匀生长。有毒株在液体培养基中呈索状生长。

3. 抵抗力 因细胞壁含有大量脂类，故对外界环境与理化因素的抵抗力比一般细菌繁殖体强。在阴暗干燥的痰中可存活 6 ~ 8 个月；3℃ 环境可存活 1 年；耐受青霉素、酸、碱及碱性染料等。干热 160 ~ 180℃ 1 ~ 2 小时、湿热 60℃ 30 分钟、煮沸可杀死细菌。日光照射 2 小时、紫外线照射 20 分钟可杀灭物体表面和空气中的细菌。70% ~ 75% 乙醇 5 分钟可将其杀灭。对脂溶剂敏感，过氧乙酸、二氧化氯、苯酚、次氯酸钠、甲醛等消毒剂能有效杀菌。

4. 变异性 结核分枝杆菌易发生菌落、毒力的变异。卡介苗（*M. bovis* Bacille Calmette-Guérin, BCG）是由 Calmette 和 Guérin 医生于 1908 年将有毒的牛分枝杆菌培养于含甘油、胆汁、马铃薯的培养基中，经 13 年 230 次传代而获得的毒力变异株，作为减毒活菌株用于结核病的预防。结核分枝杆菌也易发生耐药性变异。

二、致病性与免疫性

1. 致病物质 结核分枝杆菌不产生内、外毒素以及侵袭性酶类。其致病作用主要与菌体成分，特别是胞壁中所含的大量脂质、蛋白质和多糖等有关。

分枝杆菌细胞壁主要包括有共价连接的分枝菌酸（mycolic acids）、阿拉伯半乳聚糖（arabinogalactan）和肽聚糖复合物结构，构成细胞壁的中心层。其外层包含许多非共价结合的游离脂质，如结核菌醇双分枝醋酸酯（phthiocerol dimycocerosates, PDIM）、酚糖酯（phenolicglycolipids, PGL）、索状因子（cord factor）和硫酸酯等。再往外是葡聚糖、脂阿拉伯甘露聚糖（lipoarabinomannan, LAM）等，最外层是荚膜。细菌细胞壁和细胞膜中镶嵌有多种蛋白质，一些是结核菌素的重要组分，另一些构成细菌各种分泌系统，包括Ⅶ型分泌系统、通用型分泌系统（SecA1）、替代型分泌系统（SecA2）和双精氨酸分泌系统（Tat）等。其中Ⅶ型分泌系统中的 ESX-1 分泌系统能够分泌早期分泌抗原靶位 6（early secretory antigen target 6, ESAT-6）和培养滤过蛋白 10（culture filtrate protein 10, CFP-10）等重要的细菌免疫性蛋白质，在细菌的生长代谢、致病性（包括毒力）和免疫性方面发挥作用。

（1）脂质：占菌体干重的 20% ~ 40%，细胞壁干重的 60%，其含量与细菌毒力呈正相关。脂质主要有磷脂、脂肪酸、硫酸脑苷脂和蜡质等，大多与蛋白质或多糖结合以复合物形式存在于细胞壁中。主要包括：①磷脂：能刺激单核细胞增生，抑制蛋白酶分解作用，使病灶组织溶解不完全，形成结核结节和干酪样坏死。②脂肪酸：包括分枝菌酸和索状因子等。分枝菌酸可与阿拉伯半乳聚糖及肽聚糖一起形成疏水的细胞壁屏障，使细菌对某些药物产生抵抗力，并与分枝杆菌的抗酸性有关；索状因子成分为 6,6- 双分枝菌酸海藻糖（trehalose-6,6-dimycolate），为分枝菌酸和海藻糖结合的糖脂，因与有毒结核分枝杆菌在液体培养基中索状蜿蜒生长有关而得名。索状因子与结核分枝杆菌毒力密切相关。具有高毒力及强佐剂作用，损伤细胞线粒

体和抑制氧化磷酸化,抑制白细胞的游走和引起慢性肉芽肿是其主要毒性。③硫酸脑苷酯(sulfolipids):是有毒菌株细胞壁上的一种成分,能抑制溶酶体与自噬体的结合,减缓溶酶体酶对结核分枝杆菌的分解、杀伤作用,使细菌能在吞噬细胞内长期存活。④蜡质 D (wax D):是分枝菌酸与肽糖脂形成的复合物,能引起迟发型超敏反应,并具有佐剂作用。⑤脂阿拉伯甘露聚糖:是构成胞壁的重要成分,并非单纯存在于细胞的表面,而是被分枝菌酸包绕,可抑制巨噬细胞的吞噬作用及 T 细胞的增殖活化。⑥结核菌醇双分枝蜡酸酯:主要遮蔽被巨噬细胞识别出病原体相关的分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP),参与抵抗巨噬细胞对细菌的早期吞噬作用等有关。⑦酚糖脂:可通过宿主的“趋化因子受体-2”介导的通路促进巨噬细胞的招募而允许细菌在其内长期生存。⑧分枝杆菌生长素(mycobactin):是一种脂溶性的铁螯合物,可将宿主细胞中的铁转运到细菌体内,有利于结核分枝杆菌的生长。

(2) 蛋白质:结核分枝杆菌菌体结构中含有多种蛋白质,同时细菌也能产生多种分泌性蛋白质如 Ag85、ESAT-6、CFP-10、MPT64 蛋白、38 kD 蛋白、热休克蛋白家族等。这些蛋白质可诱导机体产生细胞免疫反应和迟发型超敏反应,在结核分枝杆菌的致病与免疫过程中发挥重要作用。由多种蛋白质组成的结核菌素,其中的一些蛋白质能与脂质(如蜡质 D)结合而使机体产生迟发型超敏反应。

(3) 多糖:菌体所含多糖常与脂质结合存在于胞壁中。其中阿拉伯半乳聚糖(多糖抗原 II),是结核分枝杆菌发生凝聚反应的特异性表面抗原。

(4) 荚膜:主要成分为多糖,部分脂质和蛋白质。荚膜对细菌有一定的保护作用并发挥致病作用,主要包括:①荚膜能与吞噬细胞表面的补体受体 3 (CR3) 结合,有助于细菌在宿主细胞上的黏附与入侵;②荚膜中有多种酶可降解宿主组织中的大分子物质,供入侵的结核分枝杆菌繁殖所需的营养;③荚膜能防止宿主有害的物质进入细菌。

2. 所致疾病 人类疾病主要由结核分枝杆菌感染引起。细菌可经呼吸道、消化道、破损的皮肤黏膜等多种途径进入机体,侵犯多种组织器官,引起相应器官的结核病,以肺结核(pulmonary tuberculosis)最为常见。

(1) 肺部感染:通过吸入含菌的飞沫微粒或尘埃,结核分枝杆菌极易进入肺泡,故结核病以肺部感染最多见。根据感染与发病时间等的不同,肺结核可分为原发感染和继发感染两大类。

1) 原发感染:原发感染是首次感染结核分枝杆菌,常见于儿童。结核分枝杆菌侵入肺泡后可被巨噬细胞吞噬,由于细菌的细胞壁成分 LAM 及细菌分泌的酸性磷酸酶等,能抑制自噬体和溶酶体的结合,使其不能发挥杀菌和溶菌作用,导致细菌在巨噬细胞内大量生长繁殖,最终引起细胞裂解死亡。释出的细菌再被吞噬细胞吞噬而重复上述过程,引起肺泡渗出性炎症反应,称为原发灶。原发灶好发于胸膜下通气较好的部位,一般多见于肺上叶下部和下叶上部。此时,人体缺乏对细菌的特异性免疫力,故病灶局部反应轻微。原发灶内的细菌常沿淋巴管扩散到肺门淋巴结,引起肺门淋巴结肿大和淋巴管炎,三种病灶常使 X 线胸片显示为哑铃状阴影,称为原发复合征。随着特异性免疫的建立,原发感染大多可经纤维化和钙化而自愈。但原发灶内可长期潜伏一定量的结核分枝杆菌,机体处于带菌状态,称为潜伏结核感染(latent tuberculosis infection, LTBI)者。当机体免疫力下降时,潜伏的细菌可大量繁殖,结核复发,成为日后内源性感染的来源。

2) 继发感染:即原发后感染,多发生于成年人。感染多由原发或继发病灶中潜伏的结核分枝杆菌引起。在人体抵抗力下降时,残存的结核分枝杆菌再度大量繁殖而发病;也可由外界的结核分枝杆菌再次侵入而发病;或者由体内其他部位的细菌播散而来。继发感染时机体已建立了对细菌的特异性免疫应答能力,因此病灶多局限,一般不累及邻近淋巴结,主要表现为慢性肉芽肿性炎症,形成结核结节,并易发生干酪样坏死和形成空洞,多见于肺尖部。此时痰中可带大量的结核分枝杆菌。

当人吸入结核分枝杆菌后,约 30% 个体会被感染。感染个体中 90% 处于潜伏期,不到 10% 发展为活动性结核。导致变化的危险因素包括宿主的易感性、艾滋病患者或 HIV 携带者、糖尿病患者、长期应用类固醇激素或免疫抑制剂、年老及其他原因导致的免疫力低下等。

(2) 肺外感染:无论是原发还是继发感染灶,当机体免疫力低下时,除可引起感染灶本身恶化外,结核分枝杆菌还可经血液、淋巴液扩散侵入肺外组织器官,引起相应的脏器感染,常见于淋巴结、脑、肾、骨、关节、胸膜、生殖系统等肺外结核(extrapulmonary tuberculosis)。在少数抵抗力极弱的个体(如原发感染患儿)及免疫功能严重受损者(如艾滋病患者)中,可出现广泛的病变、空洞和播散,甚至导致全身播散性结核如全身粟粒性结核、结核性脑膜炎等。另外,可因肺结核患者痰菌被咽入或正常人饮用带菌奶品而引起肠结核、腹膜结核等。此外,结核分枝杆菌也可通过破损的皮肤伤口感染导致皮肤结核。

3. 免疫性与超敏反应 人体对结核分枝杆菌的感染率较高,但发病率低,表明人体对结核分枝杆菌有较强的抵抗力。机体对结核分枝杆菌可产生抗体,如结核患者血清中抗结核分枝杆菌蛋白的特异性 IgG 水平明显升高,但其对机体的免疫保护作用尚不明确。机体的抗结核免疫主要是细胞免疫,包括致敏的 T 淋巴细胞和被激活的巨噬细胞。结核分枝杆菌的免疫性与致病性均与感染后诱发机体产生的细胞免疫应答和迟发型超敏反应有关。

(1) 免疫性:感染结核分枝杆菌或接种卡介苗后,机体可产生对该菌的特异性免疫力,此种免疫力的维持依赖于结核分枝杆菌在体内的存在,称感染免疫(infection immunity),或称有菌免疫。机体的抗结核免疫主要以细胞免疫为主,一旦体内结核分枝杆菌或其组分全部消失,免疫力也随之消失。人体感染结核分枝杆菌后,靶细胞主要为单核-巨噬细胞,细菌可在细胞内长期生存,在参与炎症反应过程中,巨噬细胞逐步分化为结核结节(慢性肉芽肿)病灶中主要的细胞成分(上皮样细胞和朗格汉斯细胞);同时巨噬细胞又可通过加工处理和提呈 MHC-结核抗原肽,并主要被 $CD4^+$ T 细胞所识别;特别应指出的是,当单核-巨噬细胞对细菌发挥吞噬、凋亡作用或诱导适当炎症反应时,细菌可被清除;而出现坏死、过度炎症(免疫病理)时,则细菌在细胞内长期生存或向周围扩散。

$CD4^+$ T 细胞在抗菌细胞免疫中起重要作用。其可分泌多种细胞因子,激活巨噬细胞,通过活性氮、活性氧介导,杀死胞内的结核分枝杆菌。 $CD4^+$ T 细胞被激活后,由 Th0 细胞在相应细胞因子作用下,分化为 Th1、Th2、Th17、Th22 和适应性调节 T 细胞(Tr1、Th3)等细胞亚群,分别以各自的角色参与结核的免疫反应和致病过程。其中, Th1 细胞分泌 IFN- γ 、IL-2、TNF- α 等,作用于巨噬细胞,使其吞噬能力增强,活化的巨噬细胞能消化并杀死被吞入的结核分枝杆菌,同时后者也能释放 IFN- γ 等细胞因子,因此 Th1 在宿主抗结核免疫中发挥着主要作用。Th2 细胞分泌 IL-4、IL-5、IL-10 和 TGF- β ,抑制 Th1 介导的保护性免疫应答。Th1/Th2 应答失衡是结核病发生、发展的重要机制。此外,细胞毒性 $CD8^+$ T 细胞通过分泌颗粒溶素、穿孔素,在清除靶细胞和杀灭吞噬细胞内外的结核分枝杆菌方面发挥关键作用;还有 $\gamma\delta$ T 细胞、NK 细胞等也发挥一定的抗结核免疫作用。

(2) 免疫与超敏反应:机体获得对结核分枝杆菌免疫力的同时,菌体的一些成分也会共同刺激 T 淋巴细胞,形成致敏状态。当再次感染结核分枝杆菌时,体内致敏的 T 淋巴细胞即会释放出细胞因子,引起强烈的迟发型超敏反应,形成以单核-巨噬细胞浸润为主的炎症反应,并容易发生干酪样坏死和液化形成空洞。因此,在结核分枝杆菌再感染时,细胞免疫与迟发型超敏反应同时存在。此情况可用郭霍现象(Koch's phenomenon)说明,将一定量的结核分枝杆菌初次注入健康易感豚鼠皮下,10~14 天后局部发生坏死溃疡,深而不易愈合,附近淋巴结肿大,结核分枝杆菌扩散至全身,表现为特异性细胞免疫尚未建立的感染特点。若以同种等量的结核分枝杆菌再次对已感染过的豚鼠进行皮下注射,则在 1~2 天内局部迅速发生坏死溃疡,但此溃疡较浅且易愈合,附近淋巴结不肿大,结核分枝杆菌亦很少扩散,表现为原发

后感染的特点。郭霍现象表明,再感染时病灶局限,溃疡浅而易愈合,表明机体对结核分枝杆菌已有一定免疫力;而炎症反应发生迅速,溃疡很快形成,则说明机体在产生抗感染免疫的同时有超敏反应发生。

儿童结核病大多为初次感染,机体尚未建立免疫和超敏反应,可发生急性全身粟粒性结核和结核性脑膜炎。成年人结核大多为复发或再次感染,此时机体已建立了抗结核分枝杆菌的免疫和超敏反应,故病灶常为慢性局限性但局部病症较重,形成结核结节,发生纤维化或干酪样坏死。

因此,结核分枝杆菌的致病性可能与其在宿主体内顽强增殖、菌体成分的毒力作用和机体免疫病理反应之间的综合作用有关。

(3) 结核菌素皮肤试验 (tuberculin skin test, TST): 在结核分枝杆菌自然感染过程中,由于细胞免疫与迟发型超敏反应同时存在,通过测定机体对结核分枝杆菌有无超敏反应即可判断对结核分枝杆菌有无免疫力。结核菌素皮肤试验即是用结核菌素来测定机体对结核分枝杆菌能否引起皮肤迟发型超敏反应的一种试验,可作为临床诊断结核病的参考指征。

结核菌素试剂有两种,一种为旧结核菌素 (old tuberculin, OT), 为含有结核分枝杆菌蛋白的肉汤培养物加热过滤液,主要成分是结核蛋白,也含有培养基成分及细菌代谢物。另一种为纯蛋白衍生物 (purified protein derivative, PPD), 是 OT 经三氯醋酸沉淀后的纯化物。PPD 有两种,即 PPD-C 和 BCG-PPD,前者由人结核分枝杆菌提取,后者由卡介苗制成。目前多采用 PPD-C 法。试验方法是 将 5 单位 PPD 注入前臂皮内,48 ~ 72 小时后观察结果。如果注射部位无红斑硬结或硬结直径 $< 5\text{ mm}$ 者判为阴性,硬结直径 $\geq 5\text{ mm}$ 者为阳性, $\geq 15\text{ mm}$ 为强阳性。

结核菌素阳性反应,表明机体已感染过结核分枝杆菌或卡介苗接种成功,对结核分枝杆菌有迟发型超敏反应及一定的特异性免疫力。强阳性反应则表明可能有活动性结核病,主要用于儿童,成人应结合其他检查。阴性反应表明受试者可能未感染结核分枝杆菌或未接种过卡介苗。此外还应考虑下述几种情况:①受试者处于原发感染的早期,T 淋巴细胞尚未被致敏;②老年体弱者;③患严重结核病或其他传染病(如麻疹、疱疹等)的患者;④获得性免疫功能低下,如艾滋病患者或使用免疫抑制剂治疗者,均可出现阴性反应。

结核菌素试验可作以下应用:①结核菌素试验阴性者的婴幼儿应接种或补种卡介苗,接种后若结核菌素试验转阳,表明已产生免疫力;②对尚未接种卡介苗的婴幼儿,可做结核病诊断的参考;③可在未接种卡介苗的人群中做结核分枝杆菌感染的流行病学调查,了解人群自然感染率;④可用其测定肿瘤患者的细胞免疫功能。

(4) γ -干扰素释放试验 (interferon-gamma release assay, IGRA): 当分离的淋巴细胞或全血与结核分枝杆菌特异性抗原共同孵育后,致敏的淋巴细胞可分泌 IFN- γ ,通过检测外周血标本内结核抗原刺激后所出现的 IFN- γ 或分泌 IFN- γ 的抗原特异性淋巴细胞数目来鉴定是否感染。常用后者即酶联免疫斑点测定 (enzyme-linked immunospot assay, ELISPOT) 检测淋巴细胞数目,该方法是一种基于抗原特异性细胞免疫反应的检测技术,已证明在结核潜伏感染诊断、结核病(特别是肺外结核)辅助检测、治疗效果监测和流行病学调查等方面有价值。由于使用的刺激抗原为结核分枝杆菌特异性抗原肽或蛋白质,特异性明显高于结核菌素试验,可区分结核分枝杆菌自然感染与卡介苗接种及非结核分枝杆菌感染,同时可提高艾滋病合并结核等细胞免疫功能低下患者的阳性检测率。目前,在欧美国家有逐渐替代结核菌素试验的趋势,但由于花费较大,我国仅在大、中型专科和综合性医院,以及结核病防控机构逐步推广。

三、微生物学检查法

1. 标本采集 不同的感染部位应采集不同的标本。肺结核采集痰液(最好取晨痰),当

患者痰少时,可采用高渗盐水超声雾化导痰。肾或膀胱结核采集无菌导尿或中段尿液,肠结核采集粪便,结核性脑膜炎进行腰椎穿刺采集脑脊液,脓胸、肋膜炎、腹膜炎或脊髓结核等穿刺取渗出液或脓液。如果标本含结核分枝杆菌量较少,可先集菌以提高检测的阳性率。无其他杂菌污染的脑脊液、胸腔积液、腹水等标本,可直接离心沉淀集菌。有杂菌的标本如痰、尿、粪等标本,需先经 *N*-乙酰-L-半胱氨酸液化,再用 4% NaOH、3% HCl 或 6% H₂SO₄ 处理 15 分钟,以杀死杂菌并使黏稠性有机物溶解,再离心沉淀集菌。沉淀物可直接涂片镜检。若需进一步培养或动物接种,应先中和酸或碱后再离心沉淀。

2. 涂片镜检法 标本直接涂片或集菌后涂片,用抗酸染色,镜检如发现抗酸阳性细菌,结合临床症状可做出初步诊断。抗酸染色一般用 Ziehl-Neelsen 法。为提高镜检阳性率,可重复 3 次痰涂片检查,也可经金胺染色。染色后用荧光显微镜观察,镜下结核分枝杆菌呈金黄色荧光。涂片染色阳性只能说明抗酸杆菌阳性,不能区分是结核分枝杆菌还是非结核分枝杆菌,也不能区分活菌和死菌。由于我国非结核分枝杆菌感染较少,故检出抗酸杆菌对诊断结核病有极其重要的意义。直接涂片方法简单、快速,但敏感性不高,应作为常规检查方法。

3. 分离培养法 将集菌后的标本接种于改良罗氏培养基或 Bactec 培养基中,37℃ 培养,每周观察一次。3 ~ 4 周后观察菌落特征,并根据染色结果进行鉴定。Bactec 法较常规改良罗氏培养基法具有明显的优越性。能将初代分离率提高 10% 左右,可鉴别非结核分枝杆菌,检测时间也明显缩短。分离培养法灵敏度高于涂片镜检法,可直接获得菌落,便于与非结核分枝杆菌鉴别。

由于药物的治疗,从临床各类型肺结核患者或空洞患者痰中分离出的结核分枝杆菌有一定比例为 L 型。目前,WHO 推荐使用等温恒温扩增 (LAMP) 技术、交叉引物等温扩增技术 (CPA)、Gene-Xpert MTB/RIF 技术和线性探针技术等新型病原学 (核酸) 检测技术。

4. 细菌学基因诊断 PCR 和核酸探针已应用于结核分枝杆菌的基因诊断。PCR 技术具有高度的敏感性和特异性,无需培养,可用于结核病的早期和快速诊断。

5. 病理学检测 活检或手术标本可用组织切片做 Ziehl-Neelsen 抗酸染色或免疫组织化学染色,分别检测抗酸杆菌或其特异性抗原,有助于辅助诊断。

6. 动物实验 将集菌后的材料注入易感动物豚鼠腹股沟皮下,3 ~ 4 周后若局部淋巴结肿大,结核菌素试验阳转,即可进行解剖检查,观察淋巴结、肝、脾、肺等有无结核病变,并可涂片镜检或分离培养进行鉴定。若 6 ~ 8 周不见发病,也应进行解剖检查,以排除结核病变。

四、防治原则

1. 预防接种 卡介苗 (BCG) 是目前唯一可预防结核的疫苗,是我国计划免疫项目之一。接种对象主要是新生儿和结核菌素试验阴性的儿童。接种后 2 个月再做结核菌素试验,若为阴性需再次接种。接种后获得的免疫力可维持 3 ~ 5 年。

自从 1921 年卡介苗应用以来,全球接种卡介苗的人数已超 30 亿,但免疫保护效果并不理想。一般认为卡介苗可预防和减轻儿童严重的结核病,但对成人似很少或没有保护作用。某些免疫功能低下的个体 (如艾滋病) 接种后有可能引起严重的播散性结核病,自 2007 年起 WHO 规定, HIV 阳性婴儿禁止接种卡介苗。目前正在研制的结核病新型候选疫苗有重组疫苗、蛋白质亚单位疫苗、DNA 疫苗和新型减毒活疫苗等。

2. 治疗原则 结核病是一种慢性病,确诊后应合理营养、注意休息,并选用敏感抗结核药物进行治疗。目前治疗结核病的一线用药有异烟肼、利福平、吡嗪酰胺、乙胺丁醇、链霉素、氨硫脲;二线药物包括对氨基水杨酸、丙硫异烟胺、卡那霉素、阿米卡星、卷曲霉素、环丝氨酸、利福喷汀、利福布汀、氟喹诺酮类等。首先采用一线药物联合治疗,出现耐药则加入或改用二线药物。抗结核治疗应坚持早期、规律、全程、适量、联合和使用敏感药物的原则。

治疗过程中应对患者体内分离的结核分枝杆菌作药物敏感试验,以监测耐药性的产生并指导用药。WHO 推荐使用全程督导短程化疗(directly observed treatment of short course, DOTS)策略进行结核病的防控。通过合理加大联合用药剂量,将肺结核病的疗程从过去的 1 年或以上缩短至 6 个月。特别说明的是,WHO 提出了 2016—2035 年全球结核病新战略。即从 2016 年始,将全球结核病防治目标和战略从遏制结核病转向终止结核病(end tuberculosis)全球流行转变,倡导通过全球各国多部门应对,阶段目标式、可持续发展目标式终止结核病。

第二节 牛分枝杆菌

牛分枝杆菌(*M. bovis*)的天然宿主主要为牛和其他动物,人也可被自然感染而致病。牛分枝杆菌在生物学特性等方面与结核分枝杆菌相似。两种细菌在形态上很难区别,但牛分枝杆菌略短而粗。两种细菌均不发酵糖类,能产生过氧化氢酶。牛分枝杆菌与结核分枝杆菌的区别在于前者不能合成烟酸,不能还原硝酸盐,不耐受噻吩-2-羧酸酰肼。两种细菌的有毒株中性红试验均阳性,无毒株则均阴性且失去索状生长现象。

牛分枝杆菌主要引起牛结核。在牛群中主要通过被污染的空气,经呼吸道感染,或通过被污染的饲料、饮水和乳汁,经消化道感染,交配感染亦可能。

牛分枝杆菌也可在人群中传播。在人类,主要由于食入已污染该菌且未经消毒的乳制品及肉类而感染,偶尔也可通过破损的皮肤黏膜(接触病畜)引起感染,相关工种的从业人员是高危人群。我国人类结核病的病原菌中牛分枝杆菌占 3.8%(结核分枝杆菌占 96.2%)。

牛分枝杆菌可引起人的消化系统、泌尿生殖系统、肺部及腹腔感染。各种感染在临床症状上与结核分枝杆菌引起的感染难以区别,鉴别主要依靠病原菌的分离鉴定。对动物及易感人群可用其减毒株卡介苗进行预防接种。对牛奶等奶制品应严格实施巴氏消毒。治疗应根据细菌药敏结果采用敏感药物进行联合治疗。

第三节 麻风分枝杆菌

麻风分枝杆菌(*M. leprae*)简称麻风杆菌,是麻风病(leprosy)的致病菌,1873 年由挪威学者 Armauer Hansen 从患者皮肤结节中发现。麻风病是一种慢性传染病,常累及皮肤、黏膜和周围神经组织,晚期可侵犯深部组织器官,部分患者伴有严重的畸形和残疾。

麻风病是世界最古老的传染病之一,至今已有 3 000 多年的历史。近年来由于化疗药物的发展和卫生条件的改善,全球的麻风病发病率明显降低。但麻风病在一些国家和地区流行,主要是东南亚、非洲、中东国家、中南美洲等地区。根据 WHO 来自 138 个国家和地区的统计数据,2015 年底新发病例数量为 211 973 例(每万人 0.21 例新发病例)。我国 2015 年麻风新病例 678 例,有现症病例 3 230 例,发病率 0.049/10 万,总体处于低流行水平。

一、生物学性状

1. 形态与染色 麻风分枝杆菌的形态、染色与结核分枝杆菌相似。大小约 $2 \sim 7 \mu\text{m} \times 0.3 \sim 0.4 \mu\text{m}$,细长略弯曲,常呈束状排列或呈多形态,无芽胞,无荚膜,无鞭毛,抗酸染色阳性。其中着色均匀者称为充实型菌(solid form),呈现颗粒或断裂状等不均匀着色菌称为非充实型菌(non-solid form),前者多为活菌状态。麻风分枝杆菌是典型的胞内寄生菌。某些型别患者的渗出物标本中可见感染细胞(巨噬细胞等)内有大量的麻风分枝杆菌,这种细胞的胞质呈泡沫状,称为泡沫细胞(foam cell)或麻风细胞,这是有别于结核分枝杆菌感染的重要



彩图:麻风分枝杆菌#(抗酸染色, $\times 1000$)

特点。

2. 培养特性 麻风分枝杆菌目前尚不能在人工培养基中生长，在组织培养中仅能生存几代。将麻风分枝杆菌感染小鼠足垫或注入犰狳（armadillo）的皮内或静脉，可引起动物的进行性麻风感染，是目前研究麻风病的主要动物模型。动物模型主要用于麻风分枝杆菌的药物筛选和免疫防治研究。

3. 抵抗力 麻风分枝杆菌在干燥环境中 7 天以内仍有繁殖能力。低温环境中存活时间较长， $-13^{\circ}\text{C} \sim -60^{\circ}\text{C}$ 可存活数月， 0°C 可存活 3 周。在阳光下照射 3 小时或 60°C 加热 1 小时细菌活性消失。

二、致病性与免疫性

麻风分枝杆菌的传染源主要为麻风患者和带菌者。瘤型麻风患者的鼻黏膜分泌液、皮疹渗出液、痰、汗、泪、乳汁、精液与阴道分泌液都可排出麻风分枝杆菌，故可通过呼吸道、破损的皮肤黏膜密切接触等方式传播，以家庭内传播多见。

人对麻风分枝杆菌有较强的抵抗力，因其是胞内寄生菌，故以细胞免疫为主。流行地区的人群多为隐性感染，仅部分人发病。本病潜伏期长，平均 2 ~ 5 年，甚至可达数十年，以年幼期最为敏感。麻风分枝杆菌沿末梢神经、淋巴、血行扩散至全身，特别是皮肤和眼。根据疾病临床表现、细菌学检查、病理变化、机体的免疫状态等可将患者分四种：瘤型麻风（lepromatous leprosy）、结核样型麻风（tuberculoid leprosy）、界限类麻风（intermediate leprosy）、未定类麻风（indeterminate leprosy）。主要为瘤型麻风及界限类麻风。瘤型麻风为开放性麻风，病情严重且传染性强，早期皮疹主要为红色或黄红色斑疹，局部触觉、痛觉、温度觉减退或消失，鼻黏膜肿胀、充血。泡沫细胞携带大量未被杀死的细菌播散到全身，引起肝、脾等内脏损害。因外周神经的损伤，该神经支配部位有感觉或运动障碍。患者的细胞免疫缺陷而体液免疫正常，血清内有大量自身抗体，与自身暴露组织抗原形成免疫复合物沉淀在皮肤或黏膜下，形成麻风结节，面部的结节可融合呈“狮面状”，是重症瘤型麻风的特征性表现。结核样型麻风为良性麻风，细菌检查常为阴性，传染性低，细胞免疫正常，很少侵犯内脏。界限类麻风兼有瘤型和结核样型特点，病变部位可见含菌的麻风细胞，有传染性，病情加重则向瘤型麻风发展，变轻则转变为结核样型麻风。未定类麻风为麻风病的早期病变，病灶中很少找到致病菌，大多数病例转化为结核样型麻风。

三、微生物学检查法

微生物学诊断主要采用涂片镜检法。将患者鼻黏膜及皮肤损伤处刮取物涂片，进行抗酸染色后镜检。一般瘤型麻风患者标本细胞内找到抗酸染色阳性杆菌有诊断意义，而结核样型患者标本中则很难找到细菌。由于麻风分枝杆菌抗酸性较结核分枝杆菌弱，故脱色时间宜短。

用 PCR 检测麻风分枝杆菌特异性基因，特异性较好，比传统方法更敏感。

四、防治原则

目前尚无有效的麻风病疫苗。早期发现患者、早期隔离和及时予以治疗是麻风病防治的关键。因麻风分枝杆菌与结核分枝杆菌有共同抗原，某些麻风病高发国家和地区采用卡介苗来预防麻风病，可取得一定效果。

治疗麻风病的药物主要有氨苯砒、利福平和氯苯吩嗪（氯法齐明）。单一用药易形成耐药菌株，因此 WHO 建议麻风病的治疗宜采用多种药物联合治疗。

第四节 非结核分枝杆菌

非结核分枝杆菌（nontuberculosis mycobacteria, NTM）又称非典型分枝杆菌（atypical mycobacteria），它不是分类学上的名称，是指结核分枝杆菌复合群和麻风分枝杆菌以外的分枝杆菌。因其在染色反应上具有抗酸性，故又称非典型抗酸菌。热触酶试验对区别结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌有重要意义。结核分枝杆菌大多数触酶试验阳性，而热触酶试验阴性；非结核分枝杆菌则大多数两种试验均阳性，且毒力较弱、生化反应各异，可进行鉴别。此类细菌正常情况下广泛分布于自然界、水及土壤等外界环境、人及动物机体中，因此又称环境分枝杆菌（environmental mycobacteria）。一些菌种可机会引起人类结核样病变、皮肤病等，多以散发形式出现。我国从结核病患者中分离出非结核分枝杆菌阳性率为 5% 左右，随着对其认识增加及检测手段的增强，阳性率有增高的趋势。虽然为机会致病菌，但对一些抗结核药物天然耐药或极易产生耐药性，因此应引起重视。

根据菌落色素、生长速度和生化反应的特点，将非结核分枝杆菌分为 4 组。第 I ~ III 组长出菌落时间需 2 ~ 3 周，为生长迟缓菌；第 IV 组在 1 周内长出，称迅速生长组。①第 I 组光产色菌（photochromogen）：特点是在暗处培养时菌落颜色不明显，在增殖期接触光线 1 小时后菌落呈柠檬黄色。其中堪萨斯分枝杆菌（*M. kansasii*）主要分布于北美，可引起人类肺结核样病变。海分枝杆菌（*M. marinum*）是存在于水中的腐生菌，可在 31℃ 生长，可使擦伤的鼻黏膜及手指、脚趾等皮肤感染，引起皮下脓肿和游泳池肉芽肿，数周至一年后可以自愈；②第 II 组暗产色菌（scotochromogen）：暗处培养时菌落呈橘黄色，S 型。长期曝光培养则呈赤橙色或诸色。对人类致病菌有瘰癧分枝杆菌（*M. scrofulaceum*），常引起儿童的颈部淋巴结炎，症状类似结核分枝杆菌感染。戈登分枝杆菌（*M. goodii*）一般不引起人类疾病，与瘰癧分枝杆菌在生物学特性上很相似，可因实验室污染等而分离，应注意与后者鉴别；③第 III 组不产色菌（non-chromogen）：一般无色素产生，鸟分枝杆菌（*M. avium*）、胞内分枝杆菌（*M. intracellulare*）和蟾蜍分枝杆菌（*M. xenopi*），可引起人类结核样病变。溃疡分枝杆菌（*M. ulcerans*）可产生毒素，引起皮肤无痛性溃疡。鸟分枝杆菌、胞内分枝杆菌以及其他几种分枝杆菌有许多相似之处，故将它们归属为鸟-胞内分枝杆菌复合群（*M. avium-intracellulare* complex, MAIC）或鸟分枝杆菌复合群（*M. avium* complex, MAC），而且前两种菌常合称为鸟-胞内分枝杆菌（*M. avium-intracellulare*, MAI）。MAI 广泛分布于自然环境中，水、土壤、食物、动物（包括鸟）都可分离出此类细菌。在正常人群中很少引起疾病。然而，在许多地区它是导致艾滋病患者机会感染最常见的机会致病菌。尤其是发展到艾滋病晚期 CD4⁺ T 细胞减少到小于 100 个/μL 时，极易发生 MAI 感染。HIV 感染者的性别、种族等对 MAI 的感染、传播影响不大，但如患者有耶氏肺孢子菌（*Pneumocystis jirovecii*）感染、严重贫血、治疗过程的中断等都可增加 MAI 感染的危险性。MAI 感染机体后定植于呼吸道或胃肠道，侵入组织后引发菌血症。MAI 在组织中大量繁殖，引起各种组织发生病变，在肺部主要引起结节、弥散性浸润、空洞、支气管损伤。此外，MAI 感染还可引起心包炎、软组织脓肿、皮肤感染、淋巴结炎以及中枢神经损伤。患者常表现为无特殊症状的发热、盗汗、腹痛、腹泻及体重减轻。诊断主要是通过从血中或组织中分离出 MAI。MAI 对抗结核一线类药物大多耐药。首选治疗为克拉霉素或阿奇霉素联合乙胺丁醇，其他药物可用氯苯吩嗪和阿米卡星。应终身服药，治疗可使血中 MAI 的数量减少，临床症状得以改善；④第 IV 组快速生长菌（rapid growers）：生长迅速，分离培养 5 ~ 7 天、传代培养 3 天可长出菌落。本组细菌多为杂菌，对人致病的有偶发分枝杆菌（*M. fortuitum*）、龟分枝杆菌

(*M. chelonae*) 和脓肿分枝杆菌 (*M. abscessus*)，常存在于水和土壤中，可引起皮肤创伤后脓肿，偶引起淋巴结炎和肺结核样感染。耻垢分枝杆菌 (*M. smegmatis*) 常存在于阴部，不致病，查粪、尿时应与结核分枝杆菌加以区别。

非结核分枝杆菌的致病性可用抗煮沸实验加以鉴别。非致病株煮沸 1 分钟即失去抗酸性，而致病菌可耐 10 分钟，甚至高压灭菌亦不失去抗酸性。除热触酶试验外，烟酸试验、硝酸盐还原试验均可用于结核分枝杆菌和非结核分枝杆菌的鉴别。实验动物中，豚鼠、家兔对非结核分枝杆菌不敏感，而对结核分枝杆菌比较敏感。

非结核分枝杆菌多数呈现耐药性，有的经多年治疗不愈。用利福平、异烟肼、乙胺丁醇联合用药长期治疗有一定效果。目前尚无疫苗预防非结核分枝杆菌感染。

小结

分枝杆菌属是一类细长微弯的杆菌，分枝生长趋势。细胞壁有大量脂质，其中的分枝菌酸与抗酸染色阳性特点有密切关系。营养要求高，需氧，多数生长缓慢。可分为结核分枝杆菌复合群、麻风分枝杆菌以及非结核分枝杆菌。

结核分枝杆菌易发生菌落、毒力和耐药性变异。对外界环境与理化因素抵抗力强。结核分枝杆菌是人类结核病的主要病原菌。致病性与胞壁脂质等成分有关。主要经呼吸道感染，其次为消化道和皮肤感染。侵犯多种组织器官，胞内寄生，引起慢性肉芽肿为主的病变，导致相应器官结核病，以肺结核最常见，分为原发感染和继发感染，其他器官的结核病统称为肺外结核。以细胞免疫为主，和迟发型超敏反应并存。结核的实验室诊断方法有涂片检查、分离培养和核酸检测等。结核菌素试验和 γ -干扰素释放试验可作为潜伏感染辅助检测手段，但 γ -干扰素释放试验的特异性和敏感性更高。卡介苗接种对婴幼儿可有 3～5 年的免疫保护力。抗结核治疗应坚持早期、规律、全程、适量、联合和使用敏感药物的原则。

牛分枝杆菌的生物学性状与结核分枝杆菌相似，区别在于牛分枝杆菌不能合成烟酸，不能还原硝酸盐，不耐受噻吩-2-羧酸酞肼。牛分枝杆菌主要引起牛结核，也可引起其他兽类和人类结核病，与结核分枝杆菌引起的感染难以区别。其治疗也与结核分枝杆菌相似。

麻风分枝杆菌引起人类的麻风病。感染组织中麻风细胞对区分麻风分枝杆菌与结核分枝杆菌具有重要意义。

非结核分枝杆菌正常存在于外界环境中。一些可机会引起人类结核样病变、皮肤病等。可将其分为 I～IV 组。其中鸟-胞内分枝杆菌是导致艾滋病患者机会感染最常见的机会致病菌之一，出现类似结核病变。

(赖小敏)