

细菌的结构

基本结构：细胞壁、细胞膜、细胞质、核体

特殊结构：荚膜、S层、鞭毛、菌毛、芽胞

革兰氏染色原理：

细胞的代谢过程

生长曲线

培养基的分类

微生物之间共存关系

消毒和灭菌的方法

细菌的致病性

科赫法则

细菌的毒力因素

细菌的遗传与变异 质粒

细菌的基因组转移和重组的方法

细菌的命名法则

霉菌：螺旋体、支原体、衣原体、立克次体的定义

病毒的定义，结构特点，与其他微生物不同，命名原则，如何分类

生长周期

致病机理

诊断方法

各论：形态染色，培养特性，致病机理，诊断预防。某些的血清型

巴氏杆菌属

里氏杆菌属

嗜血杆菌属

肠杆菌科

埃希菌属

沙门氏菌属

革兰氏阳性产芽孢杆菌

芽孢杆菌属

梭菌属

革兰氏阳性无芽孢杆菌

李氏杆菌属

丹毒丝菌属

细菌的结构

基本结构：细胞壁、细胞膜、细胞质、核体

特殊结构：荚膜、S层、鞭毛、菌毛、芽胞

革兰氏阳性菌细胞壁：由肽聚糖和磷壁酸组成。阳性菌肽聚糖—聚糖骨架、四肽侧链、五肽交联桥

革兰氏阴性菌外膜(外壁层)：位于肽聚糖层的外部。脂多糖 外膜蛋白 磷脂

内壁层(周质间隙)：紧贴胞膜,仅由1—2层肽聚糖分子构成

革兰氏染色原理：G⁺菌：细胞壁厚，肽聚糖含量高，交联度大，当乙醇脱色时，肽聚糖因脱水而孔径缩小，故结晶紫-碘复合物被阻留在细胞内，细胞不能被酒精脱色，仍呈紫色。

G⁻菌：肽聚糖层薄，交联松散，乙醇脱色不能使其结构收缩，因其含脂量高,乙醇将脂溶解，缝隙加大，结晶紫-碘复合物溶出细胞壁，酒精将细胞脱色，细胞无色，沙黄复染后呈红色。

细菌细胞壁缺陷型或L型(bacterial L form)：细胞壁受损后仍能生长和分裂的细菌。在一般环境中不能耐受菌体内的高渗透压而将会涨破死亡。在高渗环境下，仍可存活。

革兰阳性菌细胞壁缺失后，原生质仅被一层细胞膜包住——原生质体(protoplast)。

革兰阴性菌肽聚糖层受损后尚有外膜保护——原生质球(spheroplast)。

间体：是部分细胞膜内陷、折叠、卷曲形成的囊状物，多见于革兰阳性菌。其功能类似于真核细胞的线粒体，故亦称为线粒体(chondroid)。

荚膜：某些细菌在其细胞壁外包绕一层黏液性物质，用理化方法去除后并不影响细胞的生命活动。荚膜的形成是微生物的遗传特征之一，是“种”的特征。但不是细菌的必要结构，失去荚膜的菌株照样能够生活。

特殊鞭毛染色，在光学显微镜下观察；电子显微镜观；半固体穿刺培养

某些细菌在一定的环境条件下，能在菌体内部形成一个圆形或卵圆形小体，是细菌的休眠形式。芽胞形成后细菌即失去繁殖能力。产生芽胞的都是革兰阳性菌。

细胞的代谢过程 1. 单纯扩散(被动扩散) 特点：(1)靠浓度差转运；(2)不需能量；(3)无选择性；(4)速度慢。2. 促进扩散:某些物质与位于细胞膜的特异性的载体蛋白相结合，而后被转运至细胞内，这一过程具有特异性和选择性，不需要能量。3. 主动运输 与促进扩散一样，需要特异性的载体蛋白，能将特异性溶质逆浓度梯度“泵”入细胞，因此需要能量。4. 基团转位。需要载体蛋白，需要能量。

生长曲线(growth curve)：将细菌接种在液体培养基并置于适宜的温度中，定时取样检查活菌数，可发现其生长过程具有规律性。以时间为横坐标，以活菌数的对数为纵坐标，可得出一条生长曲线。细菌来到新环境的一个适应过程。1.迟缓期特点：(1)代谢活跃，合成并积累所需酶系统；(2)RNA含量明显增多，但DNA的量无变化；(3)细菌数并不增加；2.对数期细菌此时生长迅速，以恒定速度进行分裂繁殖，活菌数以几何级数增长，达到顶峰，生长曲线接近一条斜的直线。一般而言，该期的病原菌致病力最强，其形态、染色特性及生理活性均较典型，对抗菌药物等的作用较为敏感。

3.稳定期(stationary phase)新繁殖的活菌数与死菌数大致平衡，营养的消耗、代谢产物的蓄积等。4.衰亡期(decline phase)死菌数超过活菌数,如不移植到新的培养基，最终可

全部死亡，此期细菌的菌体变形或自溶，染色不典型，难以进行鉴定。

(一)按营养组成的差异 1.基础培养基：基本营养成分 2.营养培养基：在基础培养基中添加一些其它营养物质，如葡萄糖、血液、血清、生长因子等(二)按状态的差异 1.固体培养基：1.5%~2%琼脂，用于细菌分离纯化。 2.半固体培养基: 0.5%琼脂，作穿刺试验。 3.液体培养：扩增纯培养的菌体。(三)按功能的差异 1.鉴别培养基:在培养基中加入特定底物，观察细菌在其生长后分解底物如何，从而鉴别细菌。 2.选择培养基:在培养基中加入某种化学物质，使之抑制一类细菌生长，而有利于另一类细菌生长，从而将后者选择出来。 3.厌氧培养基:专供厌氧菌的分离、培养和鉴别用。将普通培养基放在无氧环境中培养，或者使培养基本身成为无氧的环境。

互生 (synergism) 指两种或两种以上微生物共同生存时，可互相受益。互生双方在自然界均可单独存在，共生时又可使对方受益。

共生 (symbiosis) 两种或多种微生物共同生活在一起，彼此互利，以至分离后单独不能很好地生活。拮抗 (antagonism) 两种或两种以上微生物共同生长时，使双方或一方受害的现象。双方受害叫竞争，一方受害叫偏生 (amensalism)。寄生 (parasitism) 是一种小型生物生活在另一种较大型生物的体内或体表，从中获取营养生长繁殖并使后者蒙受伤害甚至被杀死的现象。

无特定病原体动物 (specific pathogen - free animals, SPF) 是指不存在某些特定的具有病原性或潜在病原性微生物的动物。

灭菌 (sterilization) 指杀灭物体中所有病原微生物和非病原微生物及其芽胞、霉菌孢子的方法。

消毒 (disinfection) 指杀灭物体中的病原微生物的方法。消毒只要求达到消除传染性的目的，而对非病原微生物及其芽胞、孢子并不严格要求全部杀死。

防腐 (antisepsis) 指阻止或抑制微生物生长繁殖的方法。

无菌 (asepsis) 指没有活的微生物的状态。采取防止或杜绝任何微生物进入动物机体或其它物体的方法，称为无菌法。以无菌法进行的操作称为无菌操作。

热力灭菌法：干热灭菌 和湿热灭菌两种方法。二者比较：在同一温度下，后者效力比前者为大。原因：(1) 湿热中细菌菌体蛋白较易凝固；(2) 湿热的穿透力比干热大；(3) 湿热的蒸汽有潜热存在。1.干热灭菌法(1)火焰灭菌法：火焰直接烧灼，如接种环。(2)热空气灭菌法：干热灭菌器适用于高温 不损坏、不变质的物品,如玻璃器皿、瓷器等的灭菌。灭菌温度需 160℃维持 2 h。2.湿热灭菌法(1)煮沸灭菌：煮沸 10~20 min 可杀死所有细菌的繁殖体，芽胞常需煮沸 1~2 h 才被杀死。用于饮水、一般器械如刀剪的消毒。(2)巴氏消毒法：以较低温度杀灭液态食品中的病原菌或特定微生物，而又不致严重损害其营养成分和风味的消毒方法。1.低温维持巴氏消毒法 63~65℃30min 2.高温瞬时巴氏消毒法 71~72℃15s 3.超高温巴氏消毒法 132℃1~2s (3)流通蒸汽灭菌法：是一种常压蒸汽消毒法，细菌繁殖体 15-30 分钟可杀灭，但芽孢不全部被杀灭(4) 间歇灭菌法 (反复多次流通蒸汽)

100℃维持 30min 温箱过夜 100℃维持 30min 温箱过夜 100℃维持 30min 温箱过夜 100℃维持 30min。此法常用于一些不耐高温的培养基，如鸡

蛋培养基、血清培养基、糖培养基的灭菌。(5) 高压蒸汽灭菌法高压蒸汽灭菌器：15磅/平方英寸，121.3℃温度下维持15~20min。应用此法灭菌，一定要充分排除灭菌器内原有的冷空气。用于普通培养基、生理盐水、耐热药品、手术敷料等。

1.致病性 (pathogenicity)

- 一定种类的病原菌在一定的条件下，能在宿主体内引起感染的能力称为致病性。
- 致病性是细菌种的特征之一，质的概念

2.毒力 (virulent)

- 病原菌致病力的强弱程度，是量的概念，同一细菌的不同菌株，其毒力不一样，因此，毒力是菌株的特征。

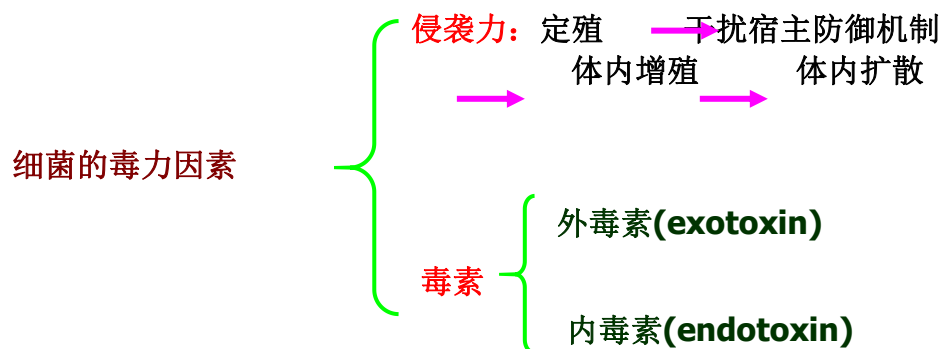
1.经典柯赫法则

- (1) 特殊的病原菌应在同一疾病中查见，在健康者不存在
- (2) 此病原菌能被分离培养而得到纯种
- (3) 此纯培养物接种易感动物，能导致同样病症
- (4) 自实验感染的动物体内能重新获得该病原菌的纯培养

2.基因水平

- 应在致病菌株中检出某些基因或其产物，而无毒力菌株中无。
- 如有毒力菌株的某个基因被损坏，则菌株的毒力应减弱或消除。或者将此基因克隆到无毒菌株内，后者成为有毒力菌株
- 将细菌接种动物时，这个基因应在感染的过程中表达
- 在接种动物检测到这个基因产物的抗体，或产生免疫保护。该法则也适用于细菌以外的微生物，如病毒

数致死量 (median lethal dose, LD50)



(一) 外毒素 (exotoxin)

某些病原菌在生长繁殖过程中所产生的对宿主细胞有毒性的可溶性蛋白质。大多数外毒素在菌体内合成后必须分泌于胞外。

1.化学性质：蛋白质

2.产生：G+、G-均产生，分泌至胞外

特性：(1) 毒性作用极强

- (2) 有高度的特异性
- (3) 不耐热，多数在 6~80℃ 经 10~80min 即可失去毒性
- (4) 无致热作用
- (5) 抗原性强，刺激机体产生中和抗体
 - 抗毒素 (antitoxin) 外毒素刺激机体产生特异性的抗体，可用于紧急治疗和预防。
 - 类毒素 (toxoid) 外毒素在 0.4% 甲醛溶液作用下，经过一段时间可以脱毒，但仍保留原有抗原性。

(二) 内毒素 (endotoxin)

内毒素：指革兰氏阴性菌外膜中的脂多糖 (LPS) 成分，细菌在死亡后破裂或用人工方法裂解菌体后才释放。

1. 化学性质：脂多糖 (LPS)

2. 产生：革兰氏阴性菌

特性(1) 毒性弱，很少致死

(2) 致发热、腹泻、呕吐

(3) 耐热，加热 100℃ 经 1h 仍不被破坏，必须加热 160℃ 经 2~4h，或用强酸、强碱或强氧化剂煮沸 30min 才失活。

(4) 常致宿主发热

(5) 抗原性较弱，免疫应答不足以中和毒性

二. 质粒 (plasmid) 细菌染色体外的遗传物质，编码细菌各种重要的生物学性状。

二) 特点

1. 质粒可以自身复制

2. 质粒编码细菌各种重要的生物学性状

3. 质粒可以自行丢失或经人工处理而消除

4. 质粒的转移不仅可发生在同种、同属的细菌之间，甚至还可在不同种属的细菌间进行

5. 具有相容性和不相容性

毒力岛：指病原菌的某个或某些毒力基因群，分子结构与功能有别于细菌染色体，但位于细菌染色体之内

外源性的遗传物质由供体菌进入受体菌细胞内的过程称为基因转移 (gene transfer)；转移的基因与受体菌 DNA 整合在一起称为重组 (recombination)。细菌基因转移和重组的主要方式有转化、转导、接合等。转化：供体菌游离的 DNA 片段直接进入受体菌，使受体菌获得新的性状。转导：以温和噬菌体为媒介，把供体菌的 DNA 小片段携带到受体菌中，通过交换与整合，使受体菌获得供体菌的部分遗传性状。两种类型：普遍性转导和局限性转导。

1. 普遍性转导：被装入的 DNA 片段可以是供体菌染色体上的任何部分。局限性转导：为噬菌体所介导的供体菌染色体上个别特定基因的转导。溶源转换：指温和噬菌体感染其寄主后，噬菌体基因整合于寄主基因组中，寄主的性状发生变异。(1. 溶源转换中噬菌体离开宿主细胞时，不携带宿主任何基因，而局限性转导的噬菌体转导时，则与宿主可能发生特定的基因交换。2. 溶源转换中的噬菌体均为正常温和噬菌体，而局限性转导的噬菌体为缺陷性转导。) 接合：是两个完整的细菌细胞通过性菌毛直接接触，由供体细菌将质粒 DNA 转移给受体细菌的过程。转化、转导、接合三种方式其本质都是遗传物质从供体细胞向受体细胞转移，但 DNA 转移方式不同：转化是通过受体菌的细胞膜；接合是通过细菌性菌毛；转导是通过噬菌体。

基因工程技术 根据遗传变异中细菌可因基因转移和重组而获得新性状的原理而设计的。首先从供体细胞的 DNA 上切取一段需要表达的基因，即目的基因，将此目的基因结合在一个载体上。通过载体将此目的基因转移到受体菌内，使受体菌表达出目的基因的性状。

细菌的命名依据“国际细菌命名法规”的规定，学名用拉丁文，遵循“双名法”。所谓“双名法”就是每一种细菌的拉丁文名称由属名和种名两部分构成，属名第一个字母必须大写，其余均应小字。整个属名及种名在出版物中应排成斜体。

各论： 形态染色，培养特性，致病机理，诊断预防。某些的血清型

巴氏杆菌属

里氏杆菌属

嗜血杆菌属

肠杆菌科

埃希菌属

沙门氏菌属

革兰氏阳性产芽孢杆菌

芽孢杆菌属

梭菌属

革兰氏阳性无芽孢杆菌

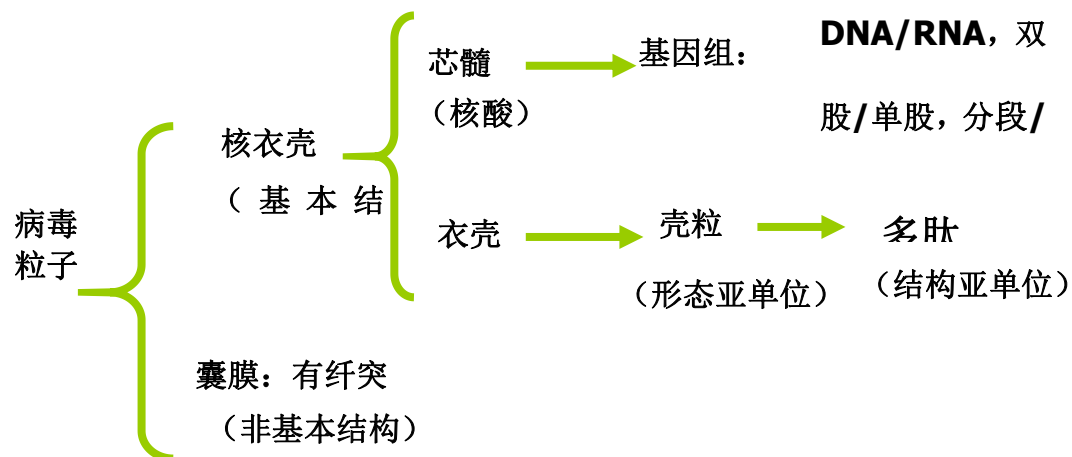
李氏杆菌属

丹毒丝菌属

霉菌：为丝状真菌的统称。**螺旋体**是一类菌体细长、柔软、弯曲呈螺旋状、能活泼运动的原核单细胞微生物。它的基本结构与细菌类似，有细胞壁、核质，以二分裂繁殖，广义上属于细菌。**支原体**又译作霉形体，是一类无细胞壁的微生物，是目前已知能在无生命的培养基中繁殖的最小微生物。**克次体**是一类介于病毒与细菌之间的原核细胞型微生物，在形态结构和繁殖方式等特性上与细菌相似，而在生长要求上又酷似病毒。**衣原体**是一类严格细胞内寄生的原核细胞型微生物，介于立克次体和病毒之间，可引起人和家畜的衣原体病。

形体微小，结构简单，仅含有 1 种核酸 DNA 或 RNA，以复制为其繁殖方式，严格细胞内寄生的一类非细胞形态的微生物。

1. 形体微小，缺乏细胞结构；
2. 只含有一种核酸，DNA 或 RNA ；
3. 以自身的核酸为模板进行复制；
4. 缺乏完整的酶和能量系统；
5. 严格的细胞内寄生（利用宿主细胞的核糖体和转移 RNA 合成病毒的蛋白质）；
6. 对干扰素敏感，而抗菌药物不敏感。



有些病毒去除囊膜和衣壳，裸露的 DNA 或 RNA 也能感染细胞，这样的核酸称为传染性核酸。

命名原则

病毒的名称由 ICTV 认定。其命名与细菌不同，不再采用拉丁文双名法，而是采用英文或英语化的拉丁文，只用单名

复制 (replication) 病毒在活细胞内，以其基因为模板，在酶的作用下，分别合成病毒基因及蛋白质，再组装成完整的病毒颗粒。

复制周期 (replication cycle) 从病毒进入宿主细胞开始，经过基因组复制和病毒蛋白合成，至释放出子代病毒的全过程。

病毒的复制周期主要包括吸附和穿入、脱壳、生物合成、组装和释放四个连续步骤。

感染比 (multiplicity of infection, MOI)

是指在一个系统中感染病毒的细胞数与细胞总数之比
生长曲线

血凝作用 (haemagglutination, HA)，其本质也是病毒与细胞受体的结合 .血凝抑制作用

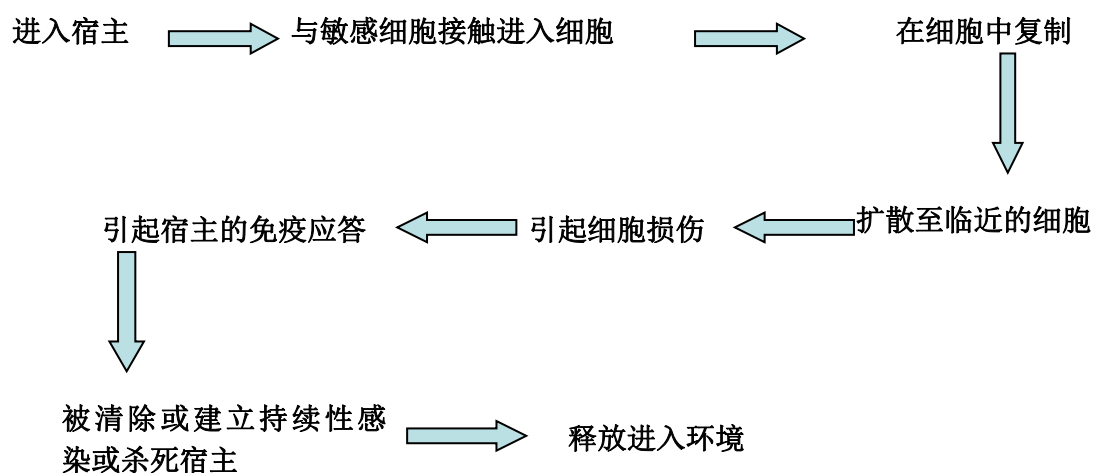
(haemagglutination-inhibition, HI) 病毒的特异抗体可抑制其血凝作用血吸附 (haemadsorption) 是一种特殊形式的血凝作用, 是将红细胞吸附于病毒感染的宿主细胞表面, 也可用于病毒的检测

根据病毒基因组如何转录成 mRNA、如何指令合成蛋白质, 病毒的生物合成过程可基本归为 6 大类: 双股 DNA 病毒、单股 DNA 病毒、单正股 RNA 病毒、单负股 RNA 病毒、逆转录病毒和双股 RNA 病毒。

缺损型干扰(defective interfering,DI)突变株 (DI 颗粒):

自身不能复制, 只有在亲本野生株作为辅助病毒存在时才能复制, 但又干扰亲本病毒的复制, 导致后者数量减少。是一种缺失突变的产物。

重组: 将两个有亲缘关系但生物学性状不同的毒株感染同一个宿主细胞, 从而可发生核酸水平上的互换, 产生兼有两亲本特性的子代, 称为重组。重配: 对于分节段的 RNA 病毒, 通过交换 RNA 节段而进行的重组称为重配。



细胞病变效应(cytopathic effect,CPE) 由病毒感染导致的细胞损伤。CPE 能在光学显微镜下观察。常见的细胞形态学变化为细胞变圆、坏死、溶解、脱落或形成合胞体。有些病毒能形成包涵体。

包涵体: 是某些病毒感染细胞产生的特征性的形态变化, 在普通光学显微镜下可见胞浆或胞核内出现的呈嗜酸性或嗜碱性染色、大小数量不等的圆形或不规则形的团块状结构, 称为包涵体。

合胞体: 感染病毒的宿主细胞内, 由于发生了细胞融合或一系列不完全细胞分裂周期, 形成含有由一层细胞膜包裹的多个核的一团细胞质, 细胞却没有分裂。

干扰素:

定义: 由病毒或诱生剂刺激机体细胞产生的具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节作用的糖蛋白。

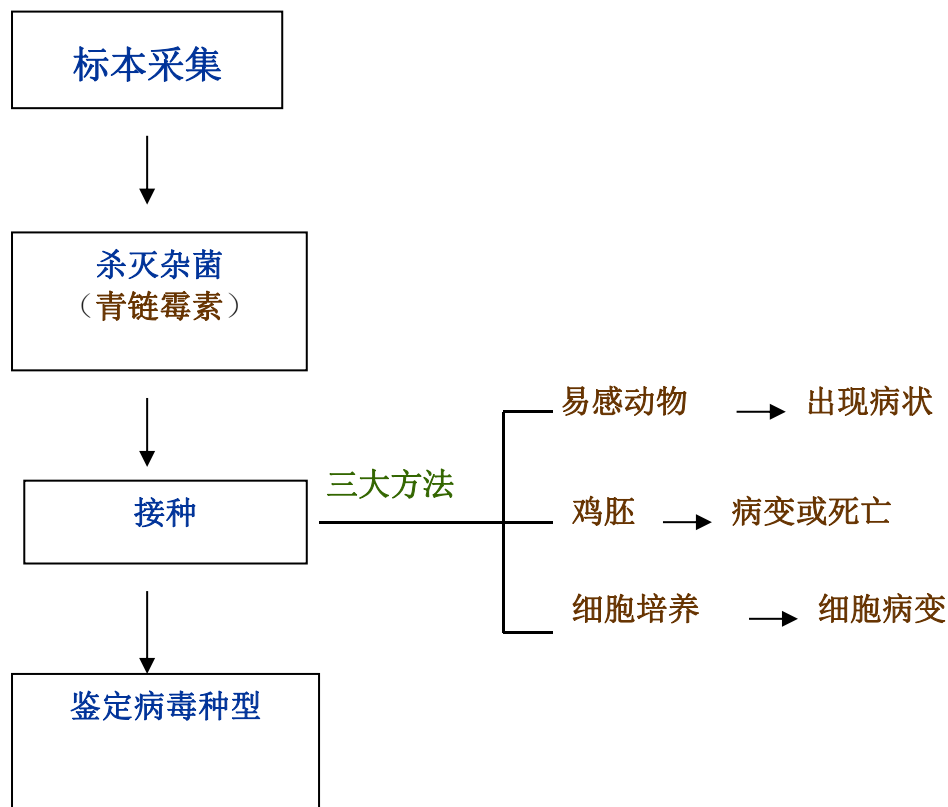
种类： α 、 β 、 γ 干扰素。

抗病毒作用：干扰素不直接作用于病毒，而是作用于邻近的细胞，使其产生抗病毒蛋白，这些抗病毒蛋白降解病毒 mRNA、抑制蛋白合成。

干扰素作用具有宿主特异性，而无病毒特异性。

RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 指细胞利用内源或外源的小分子双股 RNA 片段，特异性地降解同源基因的 mRNA，从而导致靶基因转录后的基因沉默 (post translational gene silence, PTGS) 的现象。

病毒病的诊断方法



原代细胞 (primary cell) 对病毒较易感，尤其是来源于胚胎或幼畜组织的细胞。

二倍体细胞株 (diploid cell strain) 将长成的原代细胞消化分散成单个细胞，继续培养传代，其细胞染色体数与原代细胞一样，仍为二倍体。

传代细胞系 (established cell line) 来源于肿瘤组织或转化的细胞，染色体数目不正常，为异倍体。

病毒中和试验 (Virus neutralization)

针对病毒的一些蛋白质抗原或抗原表位的抗体与病毒结合后可以中和病毒的感染性。终点是以抑制细胞病变 (细胞培养) 或病毒复制 (鸡胚或动物) 的抗体最高稀释度来表示。

补体结合试验 (Complement fixation)

补体结合试验可以用于检测动物血清中的病毒抗体。病毒抗原与抗体的相互反应可以引起补体结合, 最终可导致膜溶解。

酶联免疫吸附试验 (ELISA)

酶联免疫吸附试验可用于样本中病毒的检测和动物血清中病毒特异性抗体的检测, 检测病毒抗原可采用夹心法和双夹心法, 检测抗体可采用间接法。