

7
年制规划教材

全国高等医药教材建设研究会规划教材

QUANGUOGAODENGYIYAOJIAOCAIJIAN SHEYANJIUHUIGUIHUAJIAOCAI

全国高等医药院校教材·供七年制临床医学等专业用

医学微生物学

主 编 贾文祥

 人民卫生出版社

全国高等医药院校教材

供七年制临床医学等专业用

医学微生物学

主 编 贾文祥

编 者 (以姓氏笔画为序)

叶嗣颖 (华中科技大学同济医学院)

江丽芳 (中山医科大学)

刘晶星 (上海第二医科大学)

李 凡 (吉林大学白求恩医学部)

李明远 (四川大学华西医学中心) (兼秘书)

严 杰 (浙江大学医学院)

谷鸿喜 (哈尔滨医科大学)

陈锦英 (天津医科大学)

周正任 (中国医科大学)

贾文祥 (四川大学华西医学中心)

钱利生 (复旦大学医学院)

戚中田 (第二军医大学)

舒明星 (中南大学湘雅医学院)

楚雍烈 (西安交通大学医学院)

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

医学微生物学/贾文祥主编. —北京:
人民卫生出版社, 2001

ISBN 7-117-04071-8

I. 医… II. 贾… III. 医药学: 微生物学

IV. R37

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2001) 第 027913 号

医学微生物学

主 编: 贾文祥

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 67616688)

地 址: (100078) 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: [http://www. pmph. com](http://www.pmph.com)

E-mail: [pmph @ pmph. com](mailto:pmph@pmph.com)

印 刷: 北京市卫顺印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 850×1168 1/16 印张: 27

字 数: 605 千字

版 次: 2001 年 9 月第 1 版 2001 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

印 数: 00 001—10 050

标准书号: ISBN 7-117-04071-8/R·4072

定 价: 35.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

全国高等医药院校七年制临床医学专业教材

出版说明

为了培养我国社会主义现代化建设需要的德、智、体全面发展的高级人才，国家教育部、卫生部经过调查研究和反复论证，决定从1988年起在全国部分高等医药院校试办七年制临床医学专业（以下简称七年制）。经过十几年的探索与实践，通过毕业生质量的评估检查，广大用人单位和专家对这一学制教育作出了充分的肯定。根据教育部的有关精神，为满足医疗卫生机构对高层次医学专门人才的需求，七年制教育的办学规模将进一步扩大，招生人数将逐步增多。

在教学实践中广大师生感到编写一套较规范的七年制教材时机已经成熟，迫切需要组织编写一套能反映我国七年制教育特色的教材。为此，在教育部高教司和卫生部科教司的具体参与和指导下，全国高等医药教材建设研究会决定组织全国办七年制教育学校的有关专家教授共同进行编写，这套教材编写的主要原则和基本要求为：符合七年制的培养目标，适应21世纪教学内容改革的要求，能满足大部分七年制院校的实际需要。教材编写仍然要体现三基（基础理论、基本知识、基本技能）、五性（思想性、科学性、先进性、启发性、适用性）；要在五年制教材的基础上突出“新”、“深”、“精”；要有助于培养学生的临床实践和创新思维；教材编写注重启发式，并注意全套教材的整体优化。

本套教材共有47种，新编29种，全套教材中有26种为五、七年制共用教材。

七年制教材目录

必修课教材

- | | |
|----------------|----------------|
| △1.《医用高等数学》第三版 | 主编 张选群 |
| △2.《医学物理学》第五版 | 主编 胡新珉 |
| △3.《基础化学》第五版 | 主编 魏祖期 副主编 祁嘉义 |
| △4.《有机化学》第五版 | 主编 吕以仙 副主编 陆阳 |
| △5.《医学生物学》第五版 | 主编 左伋 |
| △6.《系统解剖学》第五版 | 主编 柏树令 副主编 应大君 |

- | | |
|------------------|--------------------|
| 7.《局部解剖学》 | 主编 王怀经 |
| 8.《组织学与胚胎学》 | 主编 高英茂 副主编 徐昌芬 |
| △9.《生物化学》第五版 | 主编 周爱儒 副主编 查锡良 |
| 10.《生理学》 | 主编 姚泰 |
| 11.《医学微生物学》 | 主编 贾文祥 |
| △12.《人体寄生虫学》第五版 | 主编 詹希美 |
| △13.《医学免疫学》第三版 | 主编 陈慰峰 |
| 14.《病理学》 | 主编 李甘地 副主编 来茂德 |
| 15.《病理生理学》 | 主编 陈主初 副主编 王树人 |
| 16.《药理学》 | 主编 杨世杰 副主编 王怀良 |
| △17.《医学心理学》第三版 | 主编 姜乾金 |
| △18.《法医学》第三版 | 主编 王保捷 |
| 19.《临床诊断学》 | 主编 欧阳钦 副主编 吕卓人 |
| 20.《实验诊断学》 | 主编 王鸿利 |
| 21.《医学影像学》 | 主编 张雪林 副主编 郭启勇 |
| 22.《内科学》 | 主编 王吉耀 副主编 胡品津 廖二元 |
| 23.《外科学》 | 主编 陈孝平 副主编 石应康 段德生 |
| 24.《妇产科学》 | 主编 丰有吉 副主编 李荷莲 |
| 25.《儿科学》 | 主编 薛辛东 副主编 李永柏 |
| 26.《神经病学》 | 主编 杨期东 |
| 27.《精神病学》 | 主编 王祖承 |
| 28.《传染病学》 | 主编 杨绍基 |
| 29.《眼科学》 | 主编 葛坚 副主编 崔浩 |
| 30.《耳鼻咽喉科学》 | 主编 孔维佳 副主编 王斌全 |
| △31.《口腔科学》第五版 | 主编 张志愿 |
| △32.《皮肤性病学》第五版 | 主编 张学军 |
| △33.《核医学》第五版 | 主编 李少林 副主编 张永学 |
| 34.《预防医学》 | 主编 孙贵范 |
| △35.《中医学》第五版 | 主编 郑守曾 |
| △36.《计算机应用基础》第二版 | 主编 邹赛德 副主编 杨长兴 |
| △37.《体育》第二版 | 主编 裴海泓 |

选修课教材

- | | |
|---------------|--------|
| △38.《细胞生物学》 | 主编 凌谔萍 |
| △39.《医学分子生物学》 | 主编 冯作化 |
| △40.《医学遗传学》 | 主编 陈竺 |

- △41. 《医学伦理学》
- △42. 《康复医学》第二版
- △43. 《医学文献检索》
- △44. 《卫生法》
- △45. 《医学导论》
- △46. 《全科医学概论》
- 47. 《医学统计学》

主编 丘祥兴
主编 南登崑
主编 方 平
主编 赵同刚
主编 文历阳
主编 杨秉辉
主编 余松林

注：画△者为与五、七年制共用教材

序

由贾文祥教授主编，人民卫生出版社出版，供全国高等医药院校七年制临床医学等专业应用的《医学微生物学》教材，简明扼要地对各种病原微生物的总论部分进行了概述，并增加了新的进展。书中对各论部分采用按病原微生物传播途径进行介绍，更符合临床实际。这一安排既有利于学生进行综合性思考，还加强了各种病原微生物之间的联系。

本书中第20章肿瘤相关病毒与第22章医院感染微生物是根据临床需要而增加的章节，具有改革性。相信本书的出版将会裨益于对我国七年制医学生的培养，促进医学教育的改革。

中国工程院院士

复旦大学医学院

卫生部医学分子病毒学重点实验室

闻玉梅

2001年3月22日于上海

前 言

2000年7月,由全国高等医药教材建设研究会在北京召开了七年制临床医学专业教材主编人会议,组织编写包括《医学微生物学》在内的28门教材,以适应我国高等医药院校七年制办学和招生规模扩大的需求。会议提出“面向21世纪的课程体系和教学内容改革,应紧紧围绕医学人才的培养目标,深入研究教材的内容和质量,使教材充分体现出教学改革和研究的成果”,要求这套教材要与五年制教材有所区别,体现出“新一点、精一点、深一点”的特色。

《医学微生物学》是我国高等医药院校学生必修的一门基础课,如何面对21世纪进行《医学微生物学》教材改革,处理好科学性、先进性和适用性之间的关系,是一项新课题。我们根据七年制临床医学专业培养目标是未来高级临床医师这一特点,不追求微生物学学科范围内的系统性面面俱到,尽量结合临床感染性疾病实际,对本教材的编写内容和编排方式进行了大胆改革。其特点主要体现在以下几个方面:

1. 借鉴国外教材的经验,把细菌学、病毒学和真菌学总论提前介绍。在前11章内,主要介绍了病原微生物(细菌、真菌、病毒等)的基本生物学性状和医学微生物学的基本原则。

2. 本教材为密切联系临床医学实际,根据病原微生物的传播途径或致病特点作分类介绍。编写内容有所侧重,并对新现或再现病原微生物及其致病机制作了论述。

3. 为反映学科间交叉和微生物现代化内容,增加了细菌耐药性、微生物生态学概论、肿瘤相关病毒和医院感染等章节。同时,对我国学者在微生物学领域内的成就或著作,给予充分的反映和肯定。

4. 为培养七年制医学生的自学能力,拓展思维空间,本教材增加了展望或有争议问题的介绍、主要参考文献、英汉专业词汇对照以及医学微生物学相关网址。

本教材由国内13所高等医药院校教授精诚合作编写而成,多位编委曾参加过五年制本科教材的编写工作,较好地处理了与五年制本科教材的延续性及其先进性的关系。由于本教材是按新思路、新方法编写,是一次大胆的尝试与探索,加之编写时间紧迫,肯定会有欠缺之处,真诚期望使用本教材的师生们批评指正,提出宝贵意见,以促进本教材的不断完善,把思想性、科学性、先进性、适用性和启发性等更好地融为一体,使本教材能反映出我国七年制医学微生物学的教育特色。建议使用本教材的教学学时宜安排在80~100小时内。

在本教材的编写过程中,各位编委们付出了辛勤的劳动,同时还得到了著名微生物学家兼教育家闻玉梅院士以及陆德源、郭辉玉、关显智、肖晓容等教授的支持和指导,程志、钟照华和杨致邦等教授提供了精美的图片,在此一并致以衷心的感谢!

贾文祥

2001年3月30日

目 录

绪论	1
第一节 微生物与微生物学	1
第二节 医学微生物学发展简史及展望	2
第一章 细菌的生物学性状	8
第一节 细菌的大小与形态	8
第二节 细菌的结构	9
第三节 细菌的理化性状	22
第四节 细菌的营养与生长繁殖	23
第五节 细菌的新陈代谢	27
第六节 细菌的形态检查和人工培养	30
第七节 细菌的分类	33
第二章 细菌的遗传与变异	37
第一节 细菌的变异现象	37
第二节 细菌的遗传物质	38
第三节 细菌变异的机制	44
第四节 细菌遗传变异在医学上的应用	53
第三章 细菌的耐药性	56
第一节 抗菌药物的种类及其作用机制	56
第二节 细菌的耐药性	59
第四章 细菌的感染与致病机制	64
第一节 细菌的感染	64
第二节 细菌的致病机制	67
第五章 病毒的生物学性状	75
第一节 病毒的大小与形态	75
第二节 病毒的结构与化学组成	76

第三节	病毒的增殖	80
第四节	病毒的遗传和变异	85
第五节	理化因素对病毒的影响	89
第六节	病毒的分类	90
第六章	病毒的感染与致病机制	94
第一节	病毒的传播途径	94
第二节	病毒的感染类型	95
第三节	病毒的致病机制	96
第七章	真菌	101
第一节	真菌的生物学特性	101
第二节	真菌的致病性与免疫性	107
第三节	真菌感染的微生物学检查	109
第四节	真菌感染的防治原则	109
第八章	衣原体、支原体、螺旋体、立克次体、放线菌	112
第一节	衣原体	112
第二节	支原体	115
第三节	螺旋体	118
第四节	立克次体	120
第五节	放线菌	124
第九章	抗感染免疫	127
第一节	抗细菌感染免疫	127
第二节	抗病毒感染免疫	133
第十章	病原微生物感染的检查及防治原则	139
第一节	细菌感染的检查	139
第二节	细菌感染的免疫防治	143
第三节	病毒感染的检查	145
第四节	病毒感染的防治	148
第十一章	消毒与灭菌	154
第一节	物理消毒灭菌法	154
第二节	化学消毒灭菌法	157
第三节	影响消毒灭菌效果的因素	160

第十二章	医学微生物生态学概论	162
第一节	正常微生物群	162
第二节	微生态平衡与失调	166
第三节	机会性感染	169
第十三章	呼吸道传播的微生物	172
第一节	结核分枝杆菌	172
第二节	肺炎链球菌	178
第三节	军团菌属	180
第四节	流行性感冒病毒	181
第五节	呼吸道合胞病毒	186
第六节	肺炎支原体	187
第七节	呼吸道途径传播的其他微生物	189
第十四章	消化道途径传播的微生物	202
第一节	埃希菌属	202
第二节	志贺菌属	208
第三节	沙门菌属	212
第四节	幽门螺杆菌	218
第五节	弧菌属	220
第六节	甲型肝炎病毒与戊型肝炎病毒	225
第七节	肠道病毒	230
第八节	急性胃肠炎病毒	234
第九节	消化道途径传播的其他微生物	240
第十五章	创伤感染的微生物	246
第一节	金黄色葡萄球菌	246
第二节	凝固酶阴性葡萄球菌	249
第三节	链球菌	251
第四节	铜绿假单胞菌	255
第五节	破伤风梭菌	256
第六节	产气荚膜梭菌	259
第七节	无芽胞厌氧菌	262
第十六章	性传播疾病的微生物	268
第一节	淋病奈瑟菌	268
第二节	沙眼衣原体	272
第三节	解脲脲原体	276

第四节	梅毒螺旋体	277
第五节	人类免疫缺陷病毒	282
第六节	单纯疱疹病毒	289
第七节	人乳头瘤病毒	292
第十七章	输血及血制品传播的微生物	300
第一节	乙型肝炎病毒	300
第二节	丙型肝炎病毒	308
第三节	丁型肝炎病毒	310
第四节	庚型肝炎病毒与 TT 型肝炎病毒	312
第五节	人巨细胞病毒	314
第十八章	中枢神经系统感染的微生物	319
第一节	脑膜炎奈瑟菌	320
第二节	流行性乙型脑炎病毒	324
第三节	朊粒	327
第四节	中枢神经系统感染的其他微生物	330
第十九章	人兽共患的微生物	333
第一节	汉坦病毒	333
第二节	狂犬病病毒	336
第三节	鼠疫耶氏菌	338
第四节	钩端螺旋体	340
第五节	伯氏疏螺旋体	345
第六节	主要的病原性立克次体	347
第七节	人兽共患的其它微生物	348
第二十章	肿瘤相关病毒	357
第一节	人类嗜 T 细胞病毒	357
第二节	EB 病毒	360
第三节	人疱疹病毒 8 型	363
第二十一章	病原性真菌感染	365
第一节	皮肤及皮下感染真菌	365
第二节	深部感染真菌	368
第三节	真菌毒素与肿瘤	372
第二十二章	医院感染	376

第一节 医院感染的特点	376
第二节 医院感染的监测	385
第三节 医院感染的预防和控制	387
附录一 医学微生物学词汇中英文对照	393
附录二 医学微生物学相关的网址	412

绪 论

第一节 微生物与微生物学

微生物 (microorganism, microbe) 是一类肉眼不能直接看见, 必须借助光学显微镜或电子显微镜放大几百倍或几万倍后才能观察到的微小生物的总称。它们具有形体微小、结构简单; 繁殖迅速、容易变异; 种类繁多、分布广泛等特点。自然界存在的微生物达数十万种以上, 分布在土壤、空气、江河湖海、动物与人的体表及其与外界相通的腔道, 如呼吸道、消化道等部位。

微生物的分类 根据微生物有无细胞基本结构、分化程度、化学组成等特点, 可分为三大类。

1. 非细胞型微生物 无细胞结构, 无产生能量的酶系统, 由单一核 \bar{E} (RNA/DNA) 和蛋白质衣壳组成, 必须在活细胞内增殖。病毒 (virus) 属此类微生物。

2. 原核细胞型微生物 (prokaryote) 细胞核分化程度低, 只有 DNA 盘绕而成的拟核 (nucleoid), 无核仁和核膜。除核糖体外, 无其它细胞器。这类微生物包括细菌、衣原体、支原体、立克次体、螺旋体和放线菌。

在 1994 年出版的《伯杰鉴定细菌学》第 9 版中, 广义的细菌包括真细菌和古细菌。上述各类原核生物, 又称作真细菌 (eubacterium)。古细菌 (archaebacterium) 的细胞结构更简单, 不含有真细菌中所存在的肽聚糖, 此外古细菌还具有独特的新陈代谢方式, 可在极端环境 (如高温、高盐或低 pH 等) 条件下生存。

3. 真核细胞型微生物 (eukaryote) 细胞核的分化程度高, 有核膜、核仁和染色体, 胞浆内有多种细胞器 (如内质网、高尔基体、线粒体等), 行有丝分裂。如真菌、藻类等。

微生物与人类的关系 自然界中的绝大多数微生物对人类和动、植物的生存是有益的, 有些甚至是必要的。只有少数微生物能引起人类及动、植物发生病害, 称为病原微生物 (pathogenic microbes)。

微生物在自然界中氮、碳、硫等元素的循环方面起着重要作用。例如空气中的大量氮气只有依靠固氮菌等作用后, 才能被植物吸收和利用, 土壤中的微生物能将动、植物有机蛋白质转化为无机含氮化合物, 供植物生长的需要, 而植物又是人类和动物的营养来源。可见微生物的代谢作用在保证自然界食物链的形成, 维持人类和动、植物的生存和生命的延续十分重要。

微生物已被广泛应用于人类生活中的各个领域。在农业方面, 利用微生物生产细菌肥料、植物生长激素或生物农药杀虫剂。例如采用苏云金杆菌或基因工程杆状病毒杀虫剂喷洒在田间农作物或茶树上, 可感染害虫并导致其中毒死亡, 为农业增产开辟了新途

径。在工业方面，微生物应用于食品发酵、石油、勘探、化工、制革、垃圾无害化处理、污水处理等行业，特别是在医药工业方面，许多抗生素（如青霉素、四环素、链霉素等）都是微生物的次级代谢产物。

微生物作为遗传学、分子生物学的研究材料或模型被广泛利用。由于细菌具有繁殖速度快，变异频率高，容易纯培养、便于保存等特点，采用微生物作为遗传与变异的研究材料有显著的优越性，有关基因、遗传密码、转录、翻译等都是在微生物中发现和得到证实。目前已经知道的生命规律，基本上都是用微生物作实验获得。此外，在基因工程技术中使用的限制性核酸内切酶、DNA 聚合酶等工具酶来自细菌代谢的产物；质粒、噬菌体和病毒是基因转移的载体系统；而大肠埃希菌、酵母菌等都是常用的工程菌，用以制备出大量的生物活性产物，如基因工程的乙肝疫苗、胰岛素、干扰素等。

人类和动物的腔道（口、鼻、咽部、肠道等）内也存在着微生物，在正常情况下是无害的，称为正常菌群。如寄居在肠道的大肠埃希菌除能合成维生素 B₁₂、维生素 K 和氨基酸等供机体利用外，还能抑制肠道内病原菌和真菌的过度增殖，有利于肠道内生态平衡。但在某些特定的条件下，这类微生物可致病，故又称作机会致病微生物。如大肠埃希菌寄居在肠道不致病，但若移居到腹腔、胆囊、泌尿道后就能引起感染性疾病。

微生物学（microbiology）是生命科学中的一门重要学科，主要研究微生物的基本结构、代谢、遗传与变异及其与人类、动植物、自然界的相互关系。随着微生物领域研究的深入和扩大，又形成了许多分支学科，着重研究微生物学基本问题的有普通微生物学、微生物生理学、微生物遗传学等。按研究和应用领域可分为医学微生物学、兽医微生物学、工业微生物学、农业微生物学、食品微生物学等。此外，由微生物学与细胞生物学融合成的交叉学科细胞微生物学（cellular microbiology），着重研究病原体与宿主细胞之间的相互作用，探讨病原微生物的致病机制。

现在人们已经认同微生物学是生命科学中发展迅速、最富有活力的前沿学科，包括分子生物学、遗传学以及生物医学工程等在内的学科都因使用微生物材料进行研究而获得了飞速发展，这是其它学科所不能替代的。目前，微生物学不仅与生物化学、药理学、遗传学等有着密切的学科交叉和联系，有关微生物生产本身已经成为了一个重要的支柱产业，它包括了生物工程、细胞工程、酶工程和基因工程等在内的高科技领域技术。由此可见微生物学在促进国民经济可持续发展的进程中将会发挥重要的作用，微生物学在 21 世纪仍将是领先的学科之一。

第二节 医学微生物学发展简史及展望

医学微生物学（medical microbiology）主要研究与人类疾病有关的病原微生物的基本生物学特性、致病机制、机体的抗感染免疫、检测方法以及相关感染性疾病的防治措施。可见医学微生物学是一门与临床医学和感染性疾病密切联系的基础学科，掌握了医学微生物学的基础理论、基本知识和基本技能，将为学习临床医学各科的感染性疾病、超敏反应性疾病等奠定基础，在实际工作中有助于控制和消灭感染性疾病。根据临床医学专业的培养方向是未来的临床医师这一特点，本课程的编写内容力求密切联系临床医

学实际，在概要地介绍了病原微生物的基本生物学特性及其微生物学基本原则外，以后的篇幅按微生物传播途径或致病特点来分类，重点介绍病原微生物的致病机制，内容有所侧重，不求本学科范围内面面俱到，只求学生们好学、易掌握、能学以致用，为解决临床上与感染有关的常见病、多发病的诊、防、治问题奠定扎实的临床前基础。

医学微生物学的发展经历了漫长的历史长河。从远古时代起人类就受到各种传染病的困扰，人们对传染病的病因、流行规律、致病机制等不断进行探索，从无知到有知，积累了丰富的经验和教训。回顾医学微生物学的发展历史，我们将受到深思和启发，有助于确立研究方向，培养严谨的思维和创新能力，以促进医学微生物学及其防治感染性疾病技术的发展。

一、微生物学的经验时期

古人在当时落后的条件下，只能凭感性认识进行估计或推论传染病的病因及其流行规律等。在 11 世纪初，我国北宋末年刘真人就曾提出肺癆病是由小虫引起。明隆庆年间（1567 ~ 1572）国人就已采用人痘接种来预防天花，该方法还先后传授到朝鲜、日本、俄国和欧洲。16 世纪意大利人 Fracastoro（1483 ~ 1553）提出了传染生物学说，认为传染病在人群间可以相互传染，其传播方式可分为接触传染、媒介间接传染和空气传染三种方式，这一观点至今仍然符合流行病学规律。18 世纪清乾隆年间，我国师道南在《天愚集》鼠死行篇中就生动描述了当时鼠疫流行的情况，指出了鼠、鼠疫和人之间的关系。

二、实验微生物学时期

人类发现了微生物，开始了微生物的生理学研究进程，促进了病原微生物的研究。

早在 1676 年荷兰人列文虎克（Antony Van Leeuwenhoek，1632 ~ 1723）采用自制的显微镜，从雨水、牙垢等标本中，首次观察并描述了各种形态的微生物，证实了微生物在自然界中的客观存在，奠定了微生物学的发展基础。

法国科学家巴斯德（Louis Pasteur，1822 ~ 1895）开创了微生物的生理学时代。在 19 世纪 60 年代，法国的葡萄酒工业面临酒类变质的危机，经济损失严重。巴斯德在解决葡萄酒变质原因的过程中，发现有机物的发酵与腐败现象均是由微生物引起，他通过著名的“S 型曲颈瓶”实验证实有机物质的发酵是因酵母菌的作用，而酒味变酸是因其污染了除酵母菌以外的其他杂菌的结果。为了防止酒类变质，他将待发酵的基质液预先经 62℃ 处理 30 分钟后，再加入酵母菌，成功解决了杂菌污染的难题。巴斯德用实验结果批驳了当时盛行的微生物是自然生成的“生物自生论”的谬论，人们认识到不同形态的微生物，其代谢产物方面也有所不同，开始了研究细菌代谢产物的生理学阶段。随后他还对当时流行的疾病，如蚕病、鸡霍乱、炭疽以及狂犬病等的病原体进行了研究，还研制了炭疽病疫苗、狂犬病疫苗。可以说巴斯德是微生物学和免疫学的奠基人，至此医学微生物学亦成为一门独立的学科。

英国外科医生李斯特（Lister，1827 ~ 1912）受巴斯德研究工作的启发，认识到伤口感染可能与微生物感染有关，便采用石炭酸喷洒手术室并采用煮沸法处理手术器械，

创立了外科无菌手术，促进了外科学的发展。

德国医生郭霍（Robert Koch，1843~1910）是另一位微生物学的奠基人，在确认引起传染病的病原菌方面做了大量工作。他创用了固体培养基，可从病人排泄物或其它标本中分离出单个菌落，利于对各种纯培养细菌分别研究，以确定细菌与疾病间的关系。同时他还建立了染色方法和实验性动物感染，有利于鉴别各种传染病的病原体。炭疽芽胞杆菌是他分离的第一种细菌，为证实该菌是病原菌，郭霍将该菌接种于健康动物，引起相同的疾病后，再从该动物体内分离出同样的细菌。据此他提出了确定病原微生物的标准，即著名的郭霍法则（Koch' postulate）。在当时对鉴定病原体起到了重要指导作用，奠定了研究微生物致病性的基础。他密切联系临床实际工作，由他和他带动的一大批学者还相继发现了许多对人和动物致病的重要病原菌，如结核分枝杆菌和霍乱弧菌、脑膜炎奈瑟菌、痢疾志贺菌、白喉棒状杆菌等，进入了细菌学研究的“黄金时代”，促进了病原微生物学的发展。

俄国学者伊凡诺夫斯基（Iwanovsky，1864~1920）在1892年发现烟草花叶病的烟叶汁通过除菌滤器后仍具有感染性。1898年荷兰科学家贝杰林克（Beijerinck，1851~1931）重复上述试验后，指出烟叶汁中的确存在一种比细菌更小的传染性病原体，开创了人类对病毒的认识。同时 Loeffler 和 Frosch 发现患口蹄疫动物的淋巴液中也含有能通过除菌滤器的感染性物质，称滤过性病毒。1901年第一个人类病毒——黄热病毒由美国科学家 Walter-Reed 首先分离成功。1951年英国学者 Twort 发现了细菌病毒（噬菌体）。在20世纪早期，植物病毒、动物病毒、人类病毒和细菌病毒相继被分离出来。

随着病原微生物学的发展，人们也在不断探索防治传染性疾病的方法。英国医生琴纳（Edward Jenner，1749~1823）在18世纪末采用牛痘来预防天花，是近代抗感染免疫的开端。随后巴斯德研制成炭疽病疫苗和狂犬病疫苗，德国学者贝林格（Behring）在1891年用白喉抗毒素成功地治疗白喉患儿，推动了预防医学和抗感染免疫的发展。在研制抗病原菌的药物方面，德国化学家欧立希（Ehrlich）首先合成化学治疗剂“606”，这是经过605次实验失败后才获得成功并用于治疗梅毒的砷剂，开创了微生物传染性疾病的化学治疗途径。以后一系列的磺胺类药物相继合成并得到广泛应用。1929年英国细菌学家弗来明（Fleming）意外发现污染的青霉菌在固体培养基上可抑制葡萄球菌生长的现象，由此制备出青霉素滤液作进一步研究。1940年弗洛瑞（Florey）等提取出青霉素G的纯品，经临床验证有抗感染的确切疗效。青霉素的成功研制为抗生素的研究和生产翻开了第一页，由此鼓舞了人们寻找从微生物来源的具有抗菌活性的化合物，如链霉素、氯霉素、四环素、头孢霉素、红霉素、庆大霉素等抗生素相继被发现并广泛应用于临床。抗生素的发现给感染性疾病的治疗带来了新曙光。为此，Fleming 和 Florey 在1945年获得诺贝尔奖。

三、现代微生物学时期

进入20世纪中期，随着物理学、生物化学、遗传学、细胞生物学和分子生物学等学科的发展，许多高新科技和新仪器设备应运而生，如电子显微镜、电子计算机、细胞培养、免疫学技术、分子生物学技术等日新月异，也促进了微生物学的迅速发展，近

20年来,一大批快速、特异的微生物学诊断方法相继建立。如单克隆抗体技术、免疫荧光技术、酶联免疫吸附试验(ELISA)、聚合酶链反应(PCR)以及基因探针杂交技术等,其敏感性高,特异性强,容易操作和普及,为人类提供了新研究方法和手段,加速了人类对病原微生物结构与功能的认识。进而从细胞水平的研究已深入到分子水平,探索病原微生物基因组结构、基因表达、致病机制及其疾病的诊、防、治方法。

由于人类自身的不断努力和卫生条件的迅速改善,某些病原微生物被有效地控制或消灭了,传染病的发病率显著降低。在这一背景下,国外有少数学者当时曾提出“现在是应该关上《传染病学》这门教科书的时候了”,这一论断低估了病原微生物对人类的危害性。此后一些新的病原微生物相继被发现达30多种,例如军团菌、霍乱弧菌O139血清群、幽门螺杆菌、伯氏疏螺旋体、人类免疫缺陷病毒(HIV)、轮状病毒、新型肝炎病毒(HCV、HDV、HEV、HGV等),人类疱疹病毒6、7、8型、埃博拉病毒、西尼罗河病毒等。据世界卫生组织(WHO)报告,全球平均每年有1700多万人死于各类传染病,其中对人类危害最大的HIV,2000年全球新增加HIV/AIDS约530万人(平均每天新增加15000人),在全世界已累计感染3610万人。全世界死于艾滋病的人数为1880万,其中380万是儿童,艾滋病正在全球范围迅速蔓延,尤其以非洲和亚洲地区最为严重。我国HIV感染者已达50多万人,艾滋病患者达2万人。

人类对病原微生物基因组的研究已取得了重要成果。实际上人类基因组的研究工作,就是基于早期病毒基因组研究的工作基础之上而得以发展的。现今人们从发现感染性疾病到确认其病原体的周期已显著缩短,一般只需3年左右。截止2001年5月,已有近600株病毒完成了全基因测序,其中与人类有关的病毒占76株。目前已完成了50种原核微生物基因组测序和注释工作,其中包括16种致病微生物,如流感嗜血杆菌、结核分枝杆菌、幽门螺杆菌、脑膜炎奈瑟菌等,能进一步确定引起免疫应答的抗原基因或致病的毒力基因。预计在近3年内还将完成120种微生物基因组序列及其注释工作。在此基础上,对于病原微生物相关基因的调控、致病的物质基础及其与宿主细胞间的相互作用等致病机制,研究也更加深入,这将有助于人类研制疫苗或开发抗感染药物。

新型疫苗的研制工作发展很快。从过去的全菌体死菌苗,经历了减毒活疫苗、亚单位疫苗、基因工程疫苗以及核酸疫苗(又称DNA疫苗)等发展阶段,传统的疫苗不能有效诱导体内细胞免疫,核酸疫苗则能在体内诱导有效的细胞免疫和体液免疫,这为预防结核病、艾滋病等传染病提供了有效途径。疫苗的种类向多联疫苗(如DTP-HB、DTP-Hib和DTP-IPV等)、粘膜疫苗、缓释疫苗等多样化发展,疫苗的接种途径提倡口服、单剂注射、喷雾吸入或表皮透释等。为了增强疫苗的免疫原性,新的疫苗佐剂也不断被开发,如霍乱毒素B亚单位、大肠杆菌不耐热肠毒素、乙酰胞壁酸等。经过人们的长期努力,1980年5月WHO宣布全球已彻底消灭天花,WHO还计划在2005年全球消灭脊髓灰质炎。随着人类计划免疫的实施,许多严重危害人类健康的感染性疾病都会被征服。

在医学微生物学及其相关学科的发展中,全球有近60位科学家因有突出贡献而荣获诺贝尔奖,可见医学微生物学在生命科学中的重要地位。我国学者也为此作出了重大贡献。在20世纪30年代,我国学者黄桢祥研究马脑炎病毒时,发现有病毒增殖的组织

培养液与无病毒增殖的培养液相比较，其 pH 有显著差别，首创了病毒体外细胞培养新技术，为现代病毒学奠定了基础。在此基础上，美国学者安德斯（Enders）采用非神经组织培养了脊髓灰质炎病毒，并研制成功脊髓灰质炎疫苗。在诺贝尔奖获得者的报告会上，安德斯充分肯定了黄桢祥的有关工作。汤飞凡是我国第一代病毒学家，在病毒学发展的早期他用物理方法研究病毒的本质，证明病毒是存在于宿主细胞内的、能自我复制的颗粒，对推动病毒学的发展作出了重要贡献。他采用鸡胚卵黄囊接种和加链霉素抑菌的技术，在 1955 年首次分离出沙眼衣原体（当时尚称作沙眼病毒——“汤氏病毒”），是世界上发现重要病原体的第一个中国人，也是迄今为止中国医学生物学家被世界所承认的最高成就。朱既明是我国病毒学家、中国科学院院士，在国际上首次将流感病毒裂解为亚单位，提出了流感病毒结构图像，为以后研究亚单位疫苗提供了原理和方法。他发现的流感病毒抑制因子被国际学术界称为“朱氏抑制素”。此外，余贺、谢少文、林飞卿等老一辈微生物学家兼教育家，也为我国医学微生物学与免疫学的发展作出了不可磨灭的贡献。

我国在病原微生物研究和预防医学方面也取得了公认的重大成就，有关流行性出血热的病因、EB 病毒与鼻咽癌的发病机制以及甲、乙、丙、丁、戊、庚型肝炎病毒的研究等已进入世界前列，基因工程生产的乙型肝炎疫苗和干扰素已大量投放市场。我国已控制了包括鼠疫、霍乱等在内的烈性传染病，发病率显著降低。为了赶上 21 世纪医学微生物学发展的先进水平，我们还应该加强以下方面的研究：

1. 新现（emerging）与再现（re-emerging）病原微生物的研究 病原微生物仍然是对人类健康的主要威胁，新出现的传染病（如 AIDS，出血热，丙、戊、庚型肝炎，军团病，克-雅病等）由新病原体引起，而再出现的传染病（如结核、霍乱等）多由病原体变异或多重耐药引起。此外新的人兽共患病的病原体陆续被发现，国际上还存在着生物武器威胁的危险。应从分子水平上研究病原微生物的变异规律、毒力、耐药机制及其致病特点。

由新现或再现病原微生物引起的传染性疾病预防容易暴发、流行或引起医院内感染，因此除加强微生物学诊断、临床治疗工作外，还应重视疾病监测信息网络的建设及临床流行病学调查。

2. 病原微生物致病机制的研究 医学微生物学除了研究病原微生物的基因组与功能基因组结构，寻找病原体的致病基因或致病相关基因外，还要研究病原微生物与宿主细胞之间，特别是与机体整体相互间的作用，才能从分子水平、细胞水平和整体水平来全面分析和揭示致病的机制。在此基础上，从分子水平设计抑制或剔除致病基因的策略，或构建人工突变株供制备无毒力的活疫苗株，有利于临床上防治感染性疾病。

3. 建立标准化的微生物学诊断及方法 实践证明，实验技术或方法的创新或建立在推动学科发展方面有重要作用，科学的进步与技术的发展二者密切相关。目前传统的细菌生化反应鉴别方法已被自动化检测仪器或试剂盒取代，PCR、核酸杂交等微生物基因诊断方法以及血清学检测技术已被广泛采用。但随着新现或再现病原微生物增多，应该不断改进和提高检测方法的敏感性和特异性，尽量与国际标准化接轨，才利于与外界交流和对话。此外，对各项检测技术或方法的利弊应有客观评价，用基因诊断法

(包括基因芯片技术)不能代替一切,要研究病原体的生物学特性,还得更依靠分离和培养出病原体才行。

微生物的耐药菌株和多重耐药菌株的出现,对人类、动物和生态环境等都有直接影响。应加强微生物感染耐药株的监测工作,如规范药物敏感实验中的菌株的选择、测试方法、试剂和标准化等,以避免因采用的技术不同而导致报告耐药方面的差异。可建立跨国的微生物感染耐药监测网,发挥早期预警系统作用。

4. 抗感染免疫的基础理论及其应用的研究 众所周知预防疾病的效果优于临床治疗。因此应提倡疫苗免疫,研制更多的新型抗感染疫苗。有关病原微生物的有效抗原表位、抗原递呈的机理、新型佐剂的开发、免疫应答的调控等基础理论还值得进一步深入研究。重组疫苗、嵌合疫苗、核酸疫苗以及多联疫苗等虽然已显示出优越性,但对其作用机理、稳定性、免疫效应持续时间以及副作用等,还应继续追踪。

5. 抗感染药物的研制与开发 抗微生物的药物主要包括化学治疗剂和抗生素。目前最缺乏的是抗病毒药物,应重点研制和开发。除核苷类、非核苷类和蛋白酶抑制剂外,还可从抑制病毒基因的复制与表达水平入手,筛选出能抑制病毒所特有的某些酶的药物。此外,耐药菌株或耐药病毒株大量出现,应从分子水平研究其耐药变异的机制,才能有针对性地研制出相应药物或改进药物作用的靶点。根据我国的国情,应重点开发抗感染的天然药物(如中草药、微生物次级代谢产物、海洋生物中活性物质等)。

目前利用微生物开发和生产药物引人注目,微生物是自然界的宝库,有取之不尽、用之不竭的药物资源。人们对微生物药物的定义更为广泛,是指微生物在增殖过程中产生的具有生理活性的次级代谢产物及其衍生物,包括抗生素、酶抑制剂、免疫调节剂、抗肿瘤药物等,因此微生物的贡献并不局限于抗感染性疾病,其代谢产物中存在着治疗人类各种疾病的药物。人们可以通过对疾病过程中生化及遗传方面的知识,用细胞酶或受体作为靶点来筛选新药,从放线菌、真菌、海洋细菌或其他微生物代谢产物中筛选出不同种类的新生理活性物质,促进医药工业的发展,使微生物造福于人类。

随着人类社会的进步和医学的发展,我们相信大部分传染病将被控制在较低的发病率,少数传染病将被消灭。微生物将永远伴随人类而存在,还将会出现新的病原微生物及新传染病。因此,医学微生物学工作者及广大医务人员任重而道远,在 21 世纪必将继续为人类作出更大的贡献。

(贾文祥)

第一章 细菌的生物学性状

细菌 (bacterium) 是属原核生物界 (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。狭义则专指其中数量最大、种类最多、具有典型代表性的细菌, 是本章讨论的对象。它们形体微小, 结构简单, 代谢活跃而且多样化, 繁殖迅速是其最显著的特点。了解细菌的形态、结构及生理活动等基本性状, 对研究细菌的致病性和免疫性, 以及鉴别细菌、诊断和防治细菌性感染等具有重要的理论和实际意义。

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, 其大小可以用测微尺在显微镜下进行测量, 一般以微米 (μm) 为单位。细菌按其外形, 主要有球菌、杆菌和螺形菌三大类 (图1-1)。

球菌 多数球菌 (coccus) 直径在 $1\mu\text{m}$ 左右, 外观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粘附程度不一, 可形成不同的排列方式, 这对一些球菌的鉴别颇有意义。

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, 分裂后多个菌体粘连成链状, 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粘连在一起似葡萄状, 如金黄色葡萄球菌。

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

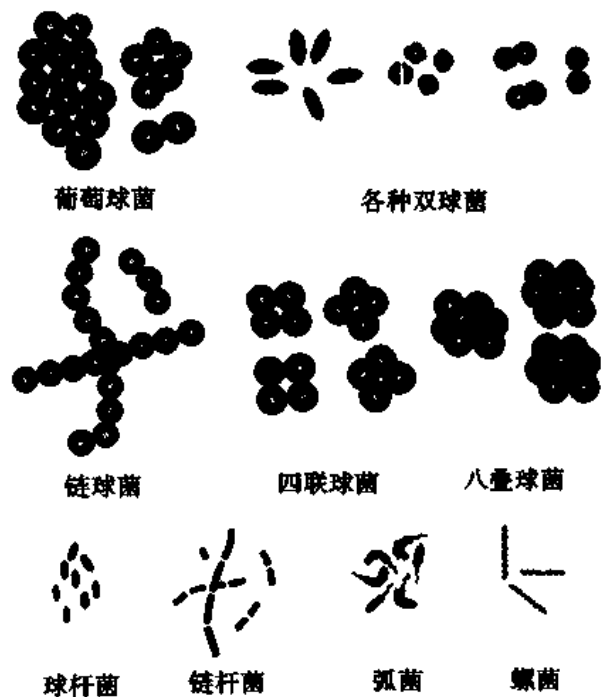


图 1-1 细菌的基本形态

5. 八叠球菌 (*sarcina*) 在三个互相垂直的平面上分裂, 分裂后八个菌体粘附成包裹状立方体, 如藤黄八叠球菌。

各类球菌在标本或培养物中除上述的典型排列方式外, 还可能有分散的单个菌体存在。

杆菌 不同杆菌 (*bacillus*) 的大小、长短、粗细很不一致。大的杆菌如炭疽芽胞杆菌长 $3 \sim 10\mu\text{m}$, 中等的如大肠埃希菌长 $2 \sim 3\mu\text{m}$, 小的如布鲁菌长仅 $0.6 \sim 1.5\mu\text{m}$ 。

杆菌形态多数呈直杆状, 也有的菌体稍弯; 多数呈分散存在, 也有的呈链状排列, 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*)。

螺形菌 螺形菌 (*spiral bacterium*) 菌体弯曲, 有的菌体长 $2 \sim 3\mu\text{m}$, 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 $3 \sim 6\mu\text{m}$, 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。

细菌的形态受温度、pH、培养基成分和培养时间等因素影响很大。一般是细菌在适宜的生长条件下培养 $8 \sim 18\text{h}$ 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 (*polymorphism*), 称为衰退型 (*involution form*)。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期为宜。

第二节 细菌的结构

细菌虽小, 仍具有一定的细胞结构 (图 1-2) 和功能。细胞壁、细胞膜、细胞质和核质等各种细菌都有, 是细菌的基本结构; 荚膜、鞭毛、菌毛、芽胞仅某些细菌具有, 为其特殊结构。

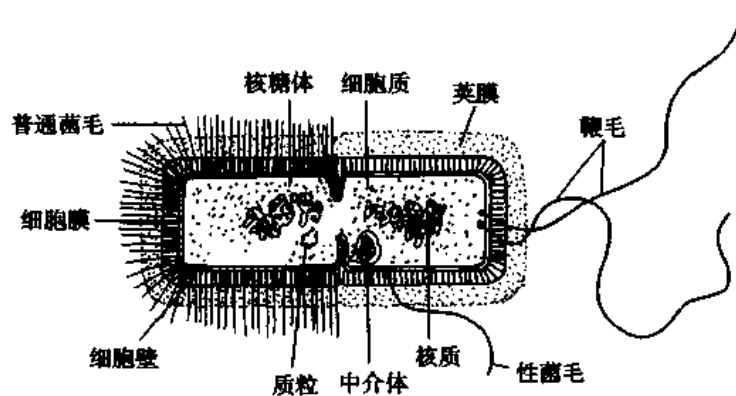


图 1-2 细菌细胞结构模式图

一、细菌的基本结构

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, 并随不同细菌而异。用革兰染色法可将细菌分为两大类, 即革兰阳性菌和革兰阴性菌。两类细菌细胞壁的共有组分为肽聚糖, 但各自有其特殊组分。

1. 肽聚糖 (peptidoglycan) 肽聚糖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, 又称为粘肽 (mucopeptide)、糖肽 (glycopeptide) 或胞壁质 (murein)。革兰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 (图 1-3), 革兰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)。

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。各种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。如葡萄球菌 (革兰阳性菌) 细胞壁的四肽侧链的氨基酸依次为 L-丙氨酸、D-谷氨酸、L-赖氨酸和 D-丙氨酸; 第三位的 L-

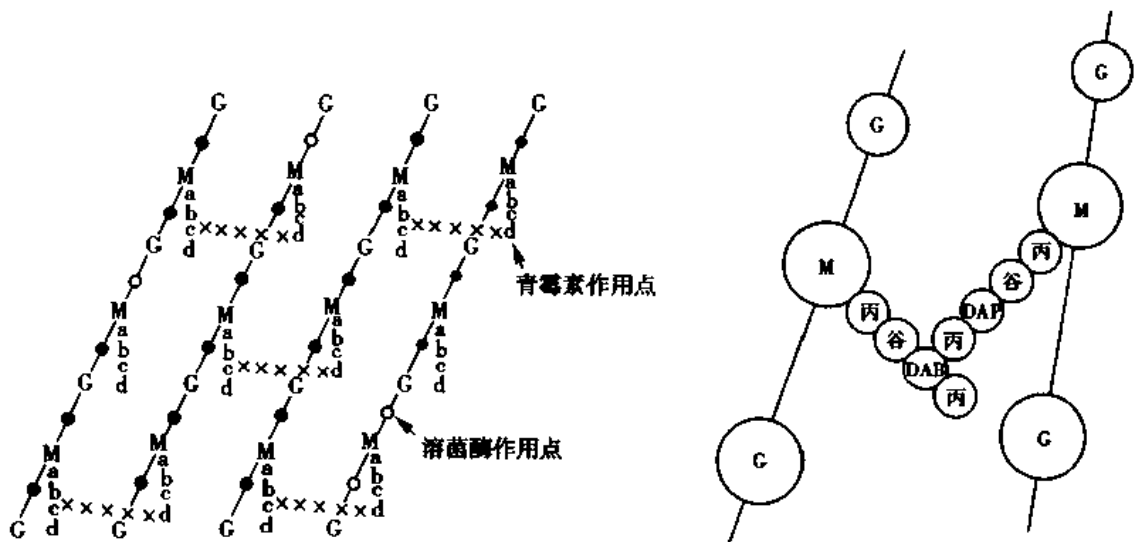


图 1-3 金黄色葡萄球菌细胞壁的肽聚糖结构

M. N-乙酰胞壁酸; G. N-乙酰葡萄糖;
o. β -1,4 糖苷键; a. L-丙氨酸;
b. D-谷氨酸; c. L-赖氨酸;
d. D-丙氨酸; x. 甘氨酸

1-4 大肠埃希菌细胞壁的肽聚糖结构

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 (革兰阴性菌) 的四肽侧链中, 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的 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

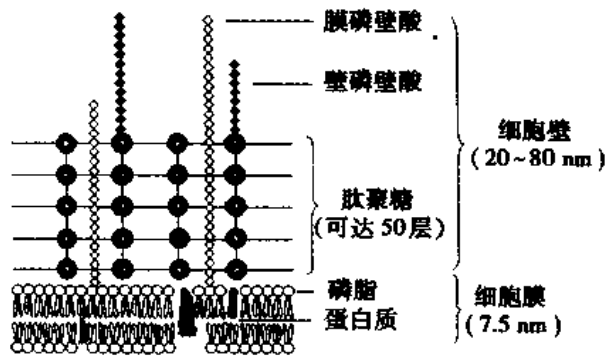


图 1-5 G⁺菌细胞壁结构模式图

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的多聚物, 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。按其结合部位不同, 分为壁磷壁酸 (wall teichoic acid) 和膜磷壁酸 (membrane teichoic acid) 两种。前者的一端通过磷脂与肽聚糖上的胞壁酸共价结合, 另一端伸出细胞壁游离于外。膜磷壁酸, 或称脂磷壁酸 (lipoteichoic acid, LTA), 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。

此外, 某些革兰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。

3. 革兰阴性菌细胞壁特殊组分

革兰阴性菌细胞壁较薄 (10~15nm), 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)。

外膜由脂蛋白、脂质双层和脂多糖三部分组成。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。脂质双层的结构类似细胞膜, 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, 允许水溶性分子 (分子质量 ≤ 600) 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。由脂质双层向细胞外伸出的是脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)。LPS 由脂质 A、核心多糖和特异多糖三部分组成, 即革兰阴性菌的内毒素 (endotoxin)。

(1) 脂质 A (lipid A): 为一种糖磷脂, 由 $\beta-1'$, 6 糖苷键相联的 D-氨基葡萄糖

维结构。其他细菌的四肽侧链中第三位氨基酸变化最大, 大多数革兰阴性菌为 DAP, 而革兰阳性菌可以是 DAP、L-赖氨酸或其他 L-氨基酸。

2. 革兰阳性菌细胞壁特殊组分
革兰阳性菌的细胞壁较厚 (20~80nm), 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 (teichuroic acid), 约占细胞壁干重的 50% (图 1-5)。

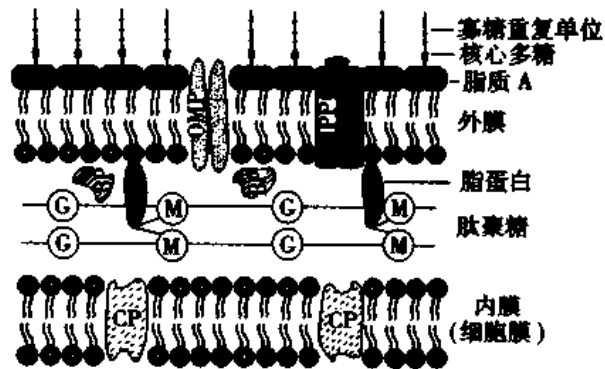


图 1-6 G⁻菌细胞壁结构模式图

CP. 载体蛋白; PP. 孔蛋白; BP. 结合蛋白; OMP. 外膜蛋白

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 (corepolysaccharide): 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-deoxyoctonic 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，由数个至数十个低聚糖 (3~5 个单糖) 重复单位所构成的多糖链。特异多糖即革兰阴性菌的菌体抗原 (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。特异多糖的缺失，细菌从光滑 (smooth, S) 型变为粗糙 (rough, R) 型。

另外，少数革兰阴性菌 (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支状聚糖组分 (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受到关注。

在革兰阴性菌的细胞膜和外膜的脂质双层之间有一空隙，约占细胞体积的 20%~40%，称为周浆间隙 (periplasmic space)。该间隙含有多种蛋白酶、核酸酶、解毒酶及特殊结合蛋白，在细菌获得营养、解除有害物质毒性等方面有重要作用。

革兰阳性和阴性菌细胞壁结构显著不同，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的很大差异。

4. 细胞壁的功能 细菌细胞壁坚韧而富弹性，其主要功能维持菌体固有的形态，并保护细菌抵抗低渗环境。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。由于细胞壁的保护作用，使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。细胞壁上有许多小孔，参与菌体内外的物质交换。菌体表面带有多种抗原表位，可以诱发机体的免疫应答。

革兰阳性菌的磷壁酸是重要表面抗原，与血清型分类有关。它带有较多的负电荷，能与 Mg^{2+} 等双价离子结合，有助于维持菌体内离子的平衡。磷壁酸还可起到稳定和加强细胞壁的作用。乙型溶血性链球菌表面的 M 蛋白与 LTA 结合在细菌表面形成微纤维 (microfibrils)，后者介导菌体与宿主细胞的粘附，是其致病因素之一。

革兰阴性菌的外膜是一种有效的屏障结构，使细菌不易受到机体的体液杀菌物质、肠道的胆盐及消化酶等的作用；还可阻止某些抗生素的进入，成为细菌天然耐药的机制之一。LPS (内毒素) 是革兰阴性菌重要的致病物质，使机体发热，白细胞增多，直至休克死亡。另一方面 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一般在普通环境中不能耐受菌体内的高渗透压而将会胀裂死亡。但在高渗环境下，它们仍可存活。革兰阳性菌细胞壁缺失

后,原生质仅被一层细胞膜包住,称为原生质体 (protoplast);革兰阴性菌肽聚糖层受损后尚有外膜保护,称为原生质球 (spheroplast)。这种细胞壁受损的细菌能够生长和分裂者称为细菌细胞壁缺陷型或 L 型 (bacterial L form),因 1935 年 Klieneberger 首先在 Lister 研究院发现而得名。

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)、青霉素、胆汁、抗体、补体等。

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 (图 1-7)。着色不匀,无论其原为革兰阳性或阴性菌,形成 L 型后大多染成革兰阴性。采用细胞壁染色法细菌型可见周边细胞壁染上紫色而中空无色;L 型无细胞壁,结

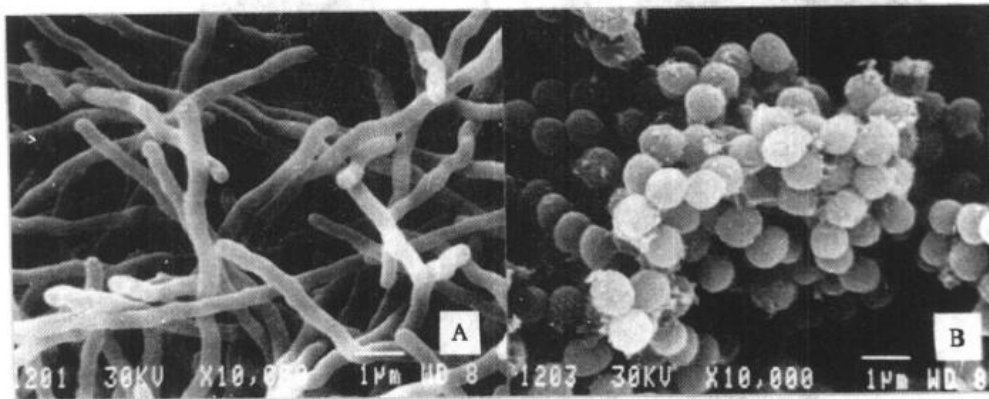


图 1-7 葡萄球菌 L 型

A. 临床标本分出的丝状 L 型菌落 扫描电镜 ×10 000

B. 丝状 L 型菌落回复后扫描电镜 ×10 000

晶紫直接进入细胞,使整个细胞染成紫色。细菌 L 型难以培养,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,即必须补充 3% ~ 5% NaCl、10% ~ 20% 蔗糖或 7% 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 等稳定剂,以提高培养基的渗透压。同时还需加 10% ~ 20% 人或马血清。制备固体培养基时,可在液体培养基中加入 0.8% ~ 1.0% 的少量琼脂,使 L 型在生长时可以琼脂为支架。细菌 L 型生长繁殖较原菌缓慢,一般培养 2 ~ 7d 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 (图 1-8)。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 型是否含有残存的肽聚糖作为自身再合成的引物。

某些 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,宜作 L 型的专门分离培养,并更换抗菌药物。

细胞膜 细胞膜 (cell membrane) 或称胞质膜 (cytoplasmic membrane),位于细胞壁内侧,紧包着细胞质。厚约 7.5nm,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者基本相同,由磷脂和多种蛋白质组成,但不含胆

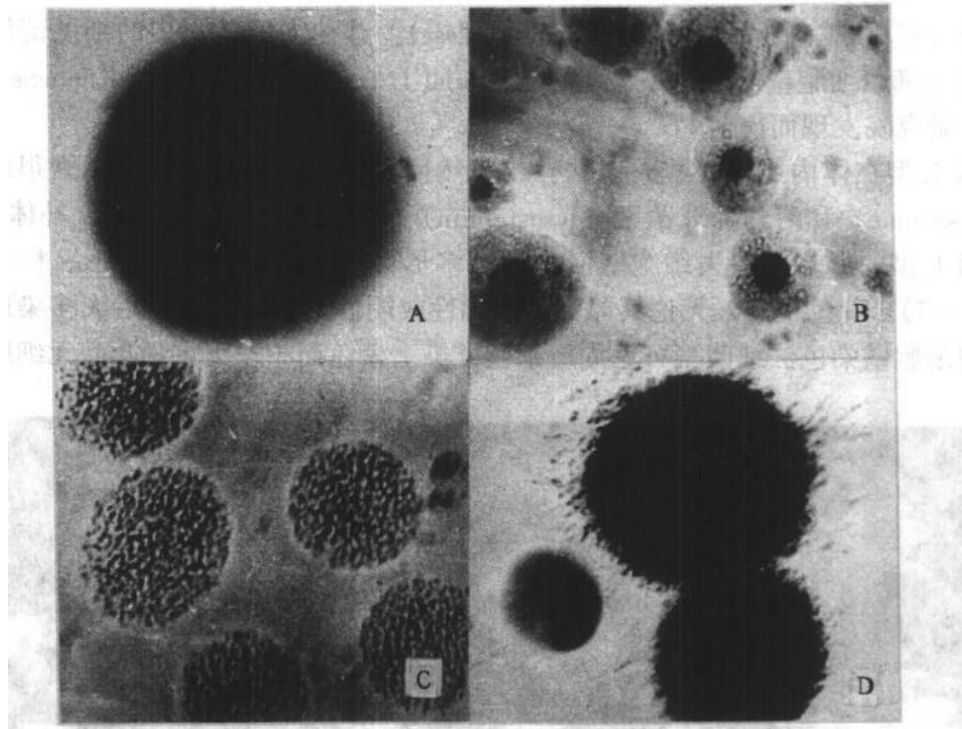


图 1-8 细菌 L 型菌落类型

- A. 原细菌型菌落; B. 荷包蛋样 L 型菌落; C. 颗粒型 L 型菌落;
D. 丝状型 L 型菌落 ×40

固醇。

细菌细胞膜是细菌赖以生存的重要结构之一，其功能也与真核细胞者类似，主要有物质转运、生物合成、分泌和呼吸等作用。在细胞膜上有一组蛋白质，称其为青霉素结合蛋白（penicillin-binding proteins, PBP）。这类蛋白质是参与细胞壁肽聚糖合成的酶类，也是青霉素作用的主要靶位。

细菌细胞膜可形成一种特有的结构，称为中介体（mesosome）。是部分细胞膜内陷、折叠、卷曲形成的囊状物，多见于革兰阳性细菌（图 1-9）。中介体常位于菌体侧面（侧中介体）或靠近中部（横隔中介体），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，细胞分裂时中介体亦一分为二，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

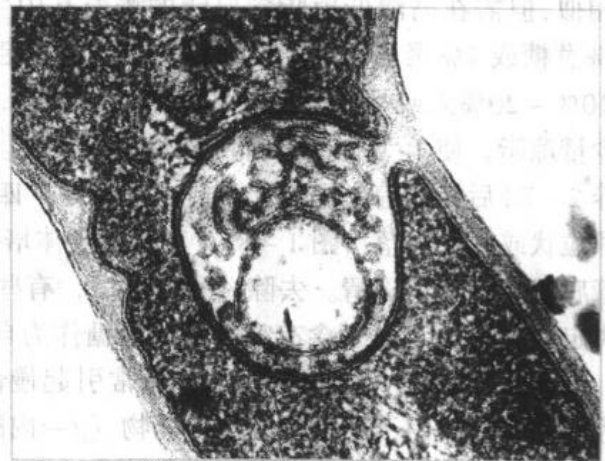


图 1-9 白喉棒状杆菌的中介体
透射电镜 ×130 000 谢念铭提供

类似于真核细胞的线粒体，故亦称为拟线粒体 (chondroid)。

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

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, 称多聚核糖体 (polysome), 使转录和转译偶联在一起。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。

2. **质粒 (plasmid)** 质粒是染色体外的遗传物质, 存在于细胞质中。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。质粒除决定该菌自身的某种性状外, 还可通过接合或转导作用等将有关性状传递给另一细菌。质粒编码的细菌性状有菌毛、细菌素、毒素和耐药性的产生等。

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。当营养充足时, 胞质颗粒较多; 养料和能源短缺时, 动用贮备, 颗粒减少甚至消失。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。

核质 细菌是原核细胞, 不具有成形的核。细菌的遗传物质称为核质 (nuclear material) 或拟核 (nucleoid), 集中于细胞质的某一区域, 多在菌体中央, 无核膜、核仁和有丝分裂器; 因其功能与真核细胞的染色体相似, 故习惯上亦称之为细菌的染色体 (chromosome)。

细菌核质为单倍体, 细胞分裂时可有完全相同的多拷贝。核质由单一密闭环状 DNA 分子反复回旋卷曲盘绕组成松散网状结构。电镜支持膜上直接温和裂菌观察, 显示有类似于真核细胞染色质的串珠样结构。核质的化学组成除 DNA 外, 还有小量的 RNA (以 RNA 多聚酶形式) 和组蛋白样的蛋白质 (histone-like proteins)。细菌经 RNA 酶或酸将 RNA 水解, 再用 Feulgen 法染色, 光学显微镜下可看到着染的核质, 形态多呈球形、棒状或哑铃状。大肠埃希菌的核质分子量约 3×10^9 , 伸展后长度可达 1.1mm, 含 4 639kb, 有 3 000 ~ 5 000 个基因。

细菌的染色体与真核细胞者相比, 有两个显著的不同: 一是前者的 DNA 量要小得多, 其序列的组织性也就简单得多。二是除了 RNA 基因通常是多拷贝, 以便装备大量的核糖体满足细菌的迅速生长繁殖外, 细菌绝大多数的蛋白质基因保持单拷贝形式, 很少有重复序列。

二、细菌的特殊结构

荚膜 某些细菌在其细胞壁外包绕一层粘液性物质，为疏水性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。凡粘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 (capsule) 或大荚膜 (macrocapsule) (图 1-10)。厚度 $< 0.2\mu\text{m}$ 者称为微荚膜 (microcapsule)，伤寒沙门菌的 Vi 抗原，以及大肠埃希菌的 K 抗原等属之。若粘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粘液层 (slime layer)。介于荚膜和粘液层之间的结构称为糖萼 (glycocalyx)，由多糖或糖蛋白组成，是从菌体伸出的疏松纤维网状结构。

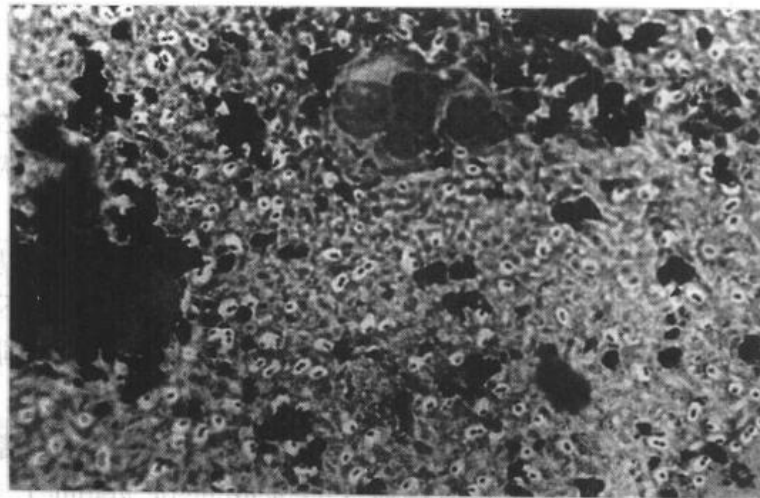


图 1-10 肺炎链球菌荚膜
荚膜染色 $\times 1000$ 杨致邦 李华平提供

1. 荚膜的化学组成 大多数细菌的荚膜是多糖，炭疽芽胞杆菌、鼠疫耶氏菌等少数菌的荚膜为多肽。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，成为血清学分型的基础。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，可藉此将细菌定型。

荚膜的形成需要能量，与环境条件有密切关系。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粘液 (M) 型或光滑 (S) 型菌落，失去荚膜后其菌落变为粗糙 (R) 型。

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。如用墨汁作负染色，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。

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：荚膜具有抵抗宿主吞噬细胞的作用，因而荚膜是病原菌的重要毒力因子。例如肺炎链球菌，有荚膜株数个菌就可使实验小鼠致死，无荚膜株则高达上亿个菌才能使小鼠死亡。

吞噬现象有两种类型，一为表面吞噬 (surface phagocytosis)，另一为调理素介导的吞噬 (opsonin - mediated phagocytosis)。表面吞噬是吞噬细胞直接摄取细菌等颗粒性异物，被吞菌并不被 IgG 抗体和活化的补体组分 C3b 包被。这种吞噬的强弱与被吞颗粒表面的理化性质关系极大。颗粒表面的疏水性与表面吞噬的强度密切相关，菌体表面越疏水，细菌抗吞噬作用越差。荚膜多糖亲水且带负电荷，故能阻滞表面吞噬活性。由调理素介导的吞噬，其吞噬效率大大超过表面吞噬。荚膜在菌细胞表面的空间占位和屏障作用，阻止补体组分 C3b 的沉积，并遮蔽了细菌激活补体旁路途径的表面结构，从而抵抗补体介导的杀伤作用。

此外，大肠埃希菌 K₁ 和 B 群脑膜炎奈瑟菌的荚膜多糖含有 NeuNAc 组分，大肠埃希菌 K₅ 抗原含有脱硫肝素 (desulfoheparin) 组分，而宿主的组织多糖也有与上述结构相似的组分，故这类荚膜的免疫原性低弱，感染后机体产生抗体量亦少，可能是这些细菌具有致病性的重要原因。

(2) 粘附作用：荚膜多糖可使细菌彼此之间粘连，也可粘附于组织细胞或无生命物体表面，形成生物膜 (biofilm)，是引起感染的重要因素。变异链球菌 (S. mutans) 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，导致牙齿珐琅质的破坏，形成龋齿。荚膜菌株在住院病人的各种导管内粘附定居，是院内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、抗菌抗体、抗菌药物等有害物质的损伤作用。

鞭毛 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。这些丝状物称为鞭毛 (flagellum)，是细菌的运动器官。鞭毛长 5~20 μ m，直径 12~30nm，需用电子显微镜观察，或经特殊染色法使鞭毛增粗后才能在普通光学显微镜下看到 (图 1-11)。

根据鞭毛的数量和部位，可将鞭毛菌分成 4 类 (图 1-12)。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。

1. 鞭毛的结构 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 1-13)。

(1) 基础小体 (basal body)：位于鞭毛根部，嵌在细胞壁和细胞膜中。革兰阴性菌鞭毛的基础小体由一根圆柱、两对同心环和输出装置组成。其中，一对是 M (membrane) 环和 S (supramembrane) 环，附着在细胞膜上；另一对是 P (peptidoglycan) 环和 L (lipopolysaccharide) 环，附着在细胞壁的肽聚糖和外膜的脂多糖上。基础小体的

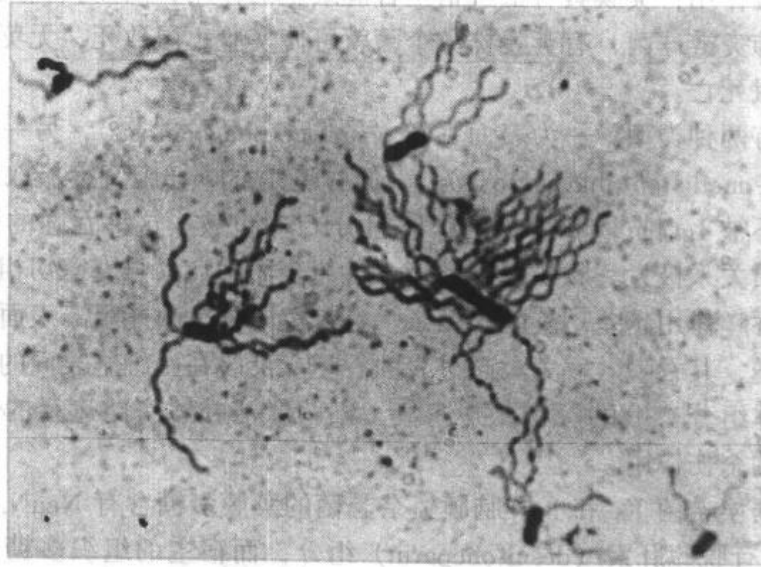


图 1-11 伤寒沙门菌的鞭毛
鞭毛染色 ×1824

基底部是鞭毛的输出装置 (export apparatus), 位于细胞膜内面的细胞质内。基底部圆柱体周围的发动机 (motor) 为鞭毛运动提供能量, 近旁的开关 (switch) 决定鞭毛转动的方向。革兰阳性菌的细胞壁无外膜, 其鞭毛只有 M、S 一对同心环。

(2) 钩状体 (hook): 位于鞭毛伸出菌体之处, 呈约 90°的钩状弯曲。鞭毛由此转弯向外伸出, 成为丝状体。

(3) 丝状体 (filament): 呈纤丝状, 伸出于菌体外, 由鞭毛蛋白 (flagellin) 紧密排列并缠绕而成的中空管状结构。丝状体的作用犹如船舶或飞机的螺旋桨推进器。鞭毛蛋白是一种弹力纤维蛋白, 其氨基酸组成与骨骼肌中的肌动蛋白相似, 可能与鞭毛的运动有关。

鞭毛是从尖端生长, 在菌体内形成的鞭毛蛋白分子不断地添加到鞭毛的末端。若用机械方法去除鞭毛, 新的鞭毛很快合成, 3~6min 内恢复动力。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。

2. 鞭毛的功能 具有鞭毛的细菌在液体环境中能自由游动, 运动迅速, 如单鞭毛的霍乱弧菌每秒移动可达 55 μm , 周毛菌移动较慢, 每秒 25~30 μm 。细菌的运动有化学趋向性, 常向营养物质处前进, 逃离有害物质。

有些细菌的鞭毛与致病性有关。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粘膜表面覆盖的粘液层, 使菌体粘附于肠粘膜上皮细胞, 产生毒性物质导致病

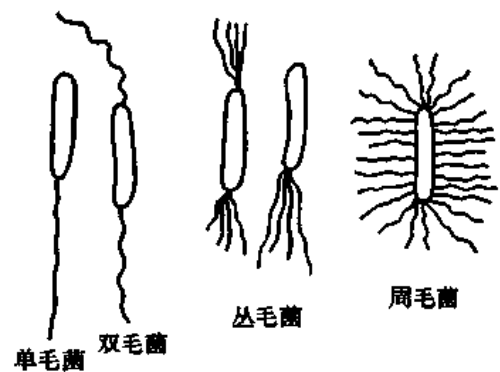


图 1-12 细菌鞭毛的各种类型

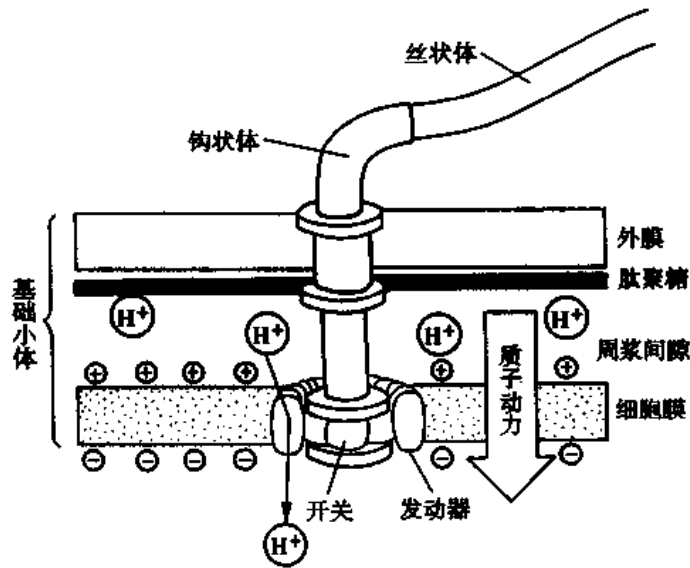


图 1-13 大肠埃希菌鞭毛结构模式图

变的发生。

根据鞭毛菌的动力和鞭毛的抗原性，可用以鉴定细菌和进行细菌分类。

细菌是由鞭毛发动器等将跨膜质子梯度中贮存的化学能转变为鞭毛转动所需的能量，周浆间隙中的质子 (H^+) 通过鞭毛发动器等流入细胞质内。有少数细菌能利用钠离子梯度供给鞭毛转动的能量。在这个过程中，由跨膜质子梯度或钠离子梯度构成质子动力 (proton motive force)。鞭毛发动器等能够顺时针或逆时针方向转动，从而决定细菌游动的方向。当发动器等逆时针方向转动时，鞭毛的丝状体结合成一束拖在菌体后，推动细菌向前进 (run)；若发动器等呈顺时针方向转动，束状丝状体松开，细菌停顿或向相反方向游动 (tumble)。平时，细菌以这两种方式交替游动，称为随意移动 (random walk)。

细菌的运动具有方向性，受环境因素的影响极大。菌细胞膜上有众多的特异信号受体 (signal receptor)，能接受不同的理化和生物学刺激而作出相应反应。例如大肠埃希菌细胞膜上的特异性糖结合受体，既能察觉化学趋化信号，也参与该物质的运输。如果遇到吸引性刺激时，细菌就会暂时性抑制发动等的顺时针方向转动，使菌体向吸引物移动；反之，遇到有害物质时，也会增强发动等的顺时针方向转动，于是细菌背离有害物运动以保存自己。

菌毛 许多革兰阴性菌和少数革兰阳性菌菌体表面存在着一种比鞭毛更细、更短而直硬的丝状物，与细菌的运动无关，称为菌毛 (pilus 或 fimbriae)。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 1-14)。

根据功能不同，菌毛可分为普通菌毛和性菌毛两类。

1. 普通菌毛 (ordinary pilus) 长 $0.2 \sim 2 \mu m$ ，直径 $3 \sim 8 nm$ 。遍布菌细胞表面，每

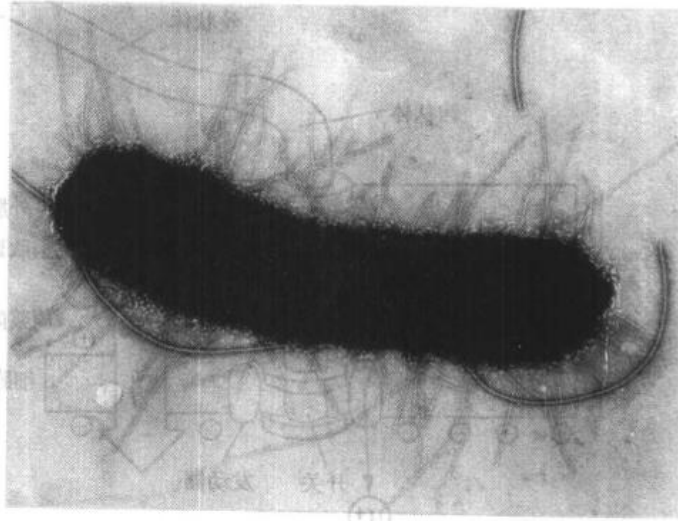


图 1-14 大肠埃希菌的鞭毛和菌毛

透射电镜 ×42,500

菌可达数百根。这类菌毛是细菌的粘附结构，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，菌毛和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感染的易感部位。同样，如果红细胞表面具有菌毛受体的相似成分，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)，藉此可以鉴定菌毛。例如大肠埃希菌的 I 型菌毛 (type I 或 common pili)，粘附于肠道和下尿道粘膜上皮细胞表面；能凝集豚鼠红细胞，可被 D-甘露糖所抑制，称为甘露糖敏感性血凝 (MSHA)。致肾盂肾炎大肠埃希菌 (pyelonephritic E. coli 或 uropathogenic E. coli, UPEC) 的 P 菌毛 (pyelonephritis-associated pili, P pili) 常粘附于肾脏的集合管和肾盏；能凝集 P 血型阳性红细胞，且不被甘露糖所抑制，称为甘露糖抗性血凝 (MRHA)，是上行性尿路感染的重要致病菌。肠产毒性大肠埃希菌 (enterotoxigenic E. coli, ETEC) 的定植因子是一种特殊类型的菌毛 (CFA/I, CFA/II)，粘附于小肠粘膜细胞，编码定植因子和肠毒素的基因均位于可接合传递质粒上，是该菌重要的毒力因子。霍乱弧菌、肠致病性大肠埃希菌 (EPEC) 和淋病奈瑟菌的菌毛都属于 IV 型菌毛，在所致的肠道或泌尿生殖道感染中起到关键作用。有菌毛菌株的粘附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，其致病力亦随之消失。

2. 性菌毛 (sex pilus) 仅见于少数革兰阴性菌。数量少，一个菌只有 1~4 根。比普通菌毛长而粗，中空呈管状。性菌毛由一种致育因子 (fertility factor, F factor, 也称 F plasmid) 编码，故性菌毛又称 F 菌毛，参与 F 质粒的接合传递。此外，性菌毛也是某些噬菌体吸附于菌细胞的受体。

芽胞 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，称为内芽胞 (endospore)，简称芽胞 (spore)，以别于真菌在菌体外部形成的孢子。产生芽胞的细菌都是革兰阳性菌，重要的有芽胞杆菌属 (炭疽芽胞杆

菌等)和梭菌属(破伤风梭菌等)。

1. 芽胞的形成与发芽 细菌形成芽胞的能力是由菌体内的芽胞基因决定的。芽胞一般只是在动物体外才能形成,其形成条件因菌种而异。如炭疽杆菌在有氧下形成,而破伤风梭菌则相反。营养缺乏尤其是C、N、P元素不足时,细菌生长繁殖减速、启动芽胞形成基因。但亦有例外,苏云金杆菌形成芽胞则要求适宜的生长条件。

芽胞带有完整的核质、酶系统和合成菌体组分的结构,能保存细菌的全部生命必需物质。芽胞形成后,菌体即成为空壳,有些芽胞可从菌体脱落游离。

芽胞折光性强,壁厚,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(图1-15)。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;破伤风梭菌芽胞呈圆形,比菌体大,位于顶端,状如鼓槌(图1-16);肉毒梭菌芽胞亦比菌体大,位于次极端。



图1-15 细菌芽胞的形状、大小和位置



图1-16 破伤风梭菌芽胞
透射电镜 ×21 000 (谢念铭提供)

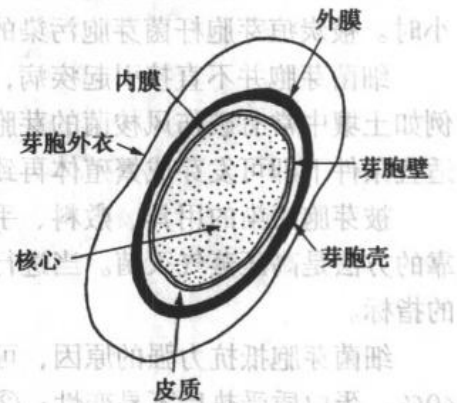


图1-17 细菌芽胞的结构

芽胞形成在形态学上可分I~VII 7个期,全程6~8d。始于对数生长期末,菌细胞膜进行性地内陷性生长,逐渐形成双层膜结构,包被核质成为芽胞的核心。细胞膜又能合成特殊物质,在内膜和外膜间形成细胞壁和皮质。在外膜外围再形成芽胞壳和芽胞外衣。

成熟的芽胞具有多层膜结构(图1-17)。芽胞核心(core)是芽胞的原生质体,含有细菌原有的核质和核糖体、酶类等主要生命基质。核心的外层依次为内膜、芽胞壁、皮质、外膜、芽胞壳和芽胞外衣,将其层层包裹,成为坚实的球体。内膜和外膜由原来的细胞膜形成。芽胞壁(spore wall)含肽聚糖,发芽后成为细菌的细胞壁。皮质(cortex)是芽胞包膜中最厚的一层,由一种特殊的肽聚糖组成。芽胞壳(coat)是一种类似

角蛋白的疏水性蛋白质，致密无通透性，能抗化学药物进入，并增强对紫外线照射的抵抗力。有些细菌芽胞还有一层疏松的芽胞外衣（exosporium），含有脂蛋白和糖类。

芽胞形成后，若由于机械力、热、pH 改变等刺激作用下，破坏其芽胞壳，并供给水分和营养，芽胞可发芽，形成新的菌体。

一个细菌只形成一个芽胞，一个芽胞发芽也只生成一个菌体，细菌数量并未增加，因而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可称为繁殖体（vegetative form）。

细菌的芽胞发芽（germination）成繁殖体的过程，可分为活化（activation）、启动（initiation）和长出（outgrowth）三个连续阶段。整个过程大约需要 90min。热刺激（如 60℃1d 或 85℃5min）和 pH 值降低均可活化芽胞发芽，L-丙氨酸、葡萄糖、肌苷和腺苷均为启动剂。芽胞壳经活化后，其富含二硫键的蛋白构型变化，引起渗透性改变，致使阳离子渗入，细胞膜脂质活性增强，并启动电子传递链。同时，随着水分渗入，芽胞特有成分吡啶二羧酸钙、皮质肽聚糖和芽胞壳物质等大量降解，使芽胞通透性加强，耐热、抗辐射等特性消失。由于代谢活性和呼吸增强，生物合成加速，其顺序为 RNA、蛋白质、脂质，最后是 DNA。继而芽胞核心体积增大、皮质膨松、芽胞壳破裂，芽管长出并逐渐长大、发育成新的繁殖体细胞。

2. 芽胞的功能 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。

细菌芽胞并不直接引起疾病，仅当发芽成为繁殖体后，就能迅速大量繁殖而致病。例如土壤中常有破伤风梭菌的芽胞，一旦外伤深部创口被泥土污染，进入伤口的芽胞在适宜条件下即可发芽成繁殖体再致病。

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气灭菌。当进行消毒灭菌时，应以芽胞是否被杀死作为判断灭菌效果的指标。

细菌芽胞抵抗力强的原因，可能与下列因素有关：①芽胞含水量少，约占繁殖体的 40%，蛋白质受热后不易变性；②芽胞具有多层致密的厚膜，理化因素不易透入；③芽胞的核心和皮质中含有一种特有的化学组分吡啶二羧酸（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，其耐热性亦随之丧失。

第三节 细菌的理化性状

一、细菌的化学组成

细菌和其他生物细胞相似，含有多种化学成分，包括水、无机盐、蛋白质、糖类、脂类和核酸等。水分是菌细胞重要的组成部分，占细胞总重量的 75%~90%。菌细胞去除水分后，主要包括碳、氢、氮、氧、磷和硫等。还有少数的无机离子，如钾、钠、

铁、镁、钙、氯等；用以构成菌细胞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所特有的化学组成，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还未发现。

二、细菌的物理性状

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，故细菌悬液呈混浊状态。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。由于细菌具有这种光学性质，可用相差显微镜观察其形态和结构。

表面积 细菌体积微小，相对表面积大，有利于同外界进行物质交换。如葡萄球菌直径约 $1\mu\text{m}$ ，则 1cm^3 体积的表面积可达 $60\,000\text{cm}^2$ ；直径为 1cm 的生物体，每 cm^3 体积的表面积仅 6cm^2 ，两者相差 1 万倍。因此细菌的代谢旺盛，繁殖迅速。

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。在一定 pH 值溶液内，氨基酸电离的阳离子和阴离子数相等，此时 pH 值即称为细菌的等电点 (pI)。革兰阳性菌 pI 较低，在 pH2 ~ 3；革兰阴性菌 pI 较高，在 pH4 ~ 5。故在生理条件（中性或弱碱性）下，溶液的 pH 值比细菌等电点高，氨基的电离受到抑制，羧基电离，所以细菌均带负电荷。尤以前者所带负电荷更多。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。

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。

渗透压 细菌体内含有高浓度的营养物质和无机盐，一般革兰阳性菌的渗透压高达 20 ~ 25 个大气压，革兰阴性菌为 5 ~ 6 个大气压。细菌所处一般环境相对低渗，但因有坚韧细胞壁的保护而不致崩裂。若处于比菌内渗透压更高的环境中，菌体内水分逸出，胞质浓缩，细菌就不能生长繁殖。

第四节 细菌的营养与生长繁殖

一、细菌的营养类型

各类细菌的酶系统不同，代谢活性各异，因而对营养物质的需要也不同。根据细菌所利用的能源和碳源的不同，将细菌分为两大营养类型。

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。这类细菌所需能量来自无机物的氧化称为化能自养菌 (chemotroph)，或通过光合作用获得能量称为光能自养菌 (phototroph)。

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；寄生菌寄生于活体内，从宿主的有机物获得营养。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须的各种成分，一般包括水、碳源、氮源、无机盐和生长因子等。

水 细菌所需营养物质必须先溶于水，营养的吸收与代谢均需有水才能进行。

碳源 各种碳的无机或有机物都能被细菌吸收和利用，合成菌体组分和作为获得能量的主要来源。病原菌主要从糖类获得碳。

氮源 细菌对氮源的需要量仅次于碳源，其主要功能是作为菌体成分的原料。很多细菌可以利用有机氮化物，病原微生物主要从氨基酸、蛋白胨等有机氮化物中获得氮。少数病原菌如克雷伯菌亦可利用硝酸盐甚至氮气，但利用率较低。

无机盐 细菌需要各种无机盐以提供细菌生长的各种元素，其需要浓度在 $10^{-3} \sim 10^{-4}$ mol/L 的元素为常用元素，其需要浓度在 $10^{-6} \sim 10^{-8}$ mol/L 元素为微量元素。前者如磷、硫、钾、钠、镁、钙、铁等；后者如钴、锌、锰、铜、铝等。各类无机盐的功用如下：①构成有机化合物，成为菌体的成分；②作为酶的组成部分，维持酶的活性；③参与能量的储存和转运；④调节菌体内外的渗透压；⑤某些元素与细菌的生长繁殖和致病作用密切相关。例如白喉棒状杆菌在含铁 0.14mg/L 的培养基中产毒素量最高，铁的浓度达到 0.6mg/L 时则完全不产毒。在人体内，大部分铁均结合在铁蛋白、乳铁蛋白或转铁蛋白中，细菌必须与人体细胞竞争得到铁才能生长繁殖。具有载铁体 (siderophore) 的细菌就有此竞争力，它可与铁螯合和溶解铁，并带入菌体内以供代谢之需。如结核分枝杆菌的有毒株和无毒株的一个重要区别就是前者有一种称为分枝菌素 (mycobactin) 的载铁体，而后者则无。一些微量元素并非所有细菌都需要，不同菌只需其中的一种或数种。

生长因子 许多细菌的生长还需一些自身不能合成的生长因子 (growth factor)，通常为有机化合物，包括维生素、某些氨基酸、嘌呤、嘧啶等。少数细菌还需特殊的生长因子，如流感嗜血杆菌需要 X、V 两种因子，X 因子是高铁血红蛋白，V 因子是辅酶 I 或辅酶 II，两者为细菌呼吸所必需。

三、细菌摄取营养物质的机制

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需经细菌分泌的胞外酶的作用分解成小分子物质才能被吸收。

营养物质进入菌体内的方式有被动扩散和主动转运系统。

被动扩散指营养物质从高浓度向低浓度的一侧扩散，其驱动力是浓度梯度，不需要提供能量。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。如果需要菌细胞的特异性蛋白来帮助或促进营养物的跨膜转运称为易化扩散。如甘油的转运就属于后者，进入细胞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。

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低浓度向高浓度的一侧转运，并需要提供能量。细菌有如下三种主动转运系统：

1. 依赖于周浆间隙结合蛋白的转运系统 (periplasmic - binding protein - dependent transport system) 营养物与周浆间隙内的受体蛋白结合后, 引起后者构型的改变, 继而将营养物转送给细胞膜上的 ATP 结合型载体 (ATP - binding cassette - type carrier), 导致 ATP 水解提供能量和营养物通过细胞膜进入胞质内。革兰阳性菌以膜结合脂蛋白作为该系统的受体蛋白。

2. 化学渗透驱使转运系统 (chemiosmotic - driven transport system) 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 (proton motive force) 或钠动力 (sodium motive force) 作为驱使营养物越膜转移的能量。转运营养物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结合, 而在还原状态时其构象发生变化, 使营养物释放进入胞质内。

3. 基团转移 (group translation) 营养物在转运的过程中被磷酸化, 并将营养物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, 是由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。

需要指出的是各种细菌的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。

四、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。

营养物质 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。

氢离子浓度 (pH) 每种细菌都有一个可生长的 pH 范围, 以及最适生长 pH。多数病原菌最适 pH 为 7.2 ~ 7.6, 在宿主体内极易生存。大多数嗜中性细菌生长的 pH 范围是 6.0 ~ 8.0, 嗜酸性细菌最适生长 pH 可低至 3.0, 嗜碱性细菌最适生长 pH 可高达 10.5。个别细菌如霍乱弧菌在 pH 8.4 ~ 9.2 生长最好, 结核杆菌生长的最适 pH 为 6.5 ~ 6.8。细菌依靠细胞膜上的质子转运系统调节菌体内的 pH, 使其保持稳定, 包括 ATP 驱使的质子泵, Na^+/H^+ 和 K^+/H^+ 交换系统。

温度 各类细菌对温度的要求不一。藉此分为嗜冷菌 (psychrophile), 其生长范围 -5 ~ 30℃, 最适生长为 10 ~ 20℃; 嗜温菌 (mesophile), 生长范围 10 ~ 45℃, 最适 20 ~ 40℃; 嗜热菌 (thermophile), 生长范围 25 ~ 95℃。病原菌在长期进化过程中适应人体环境, 均为嗜温菌, 最适生长温度为人的体温, 即 37℃。

气体 根据细菌代谢时对分子氧的需要与否, 可以分为四类。

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以完成需氧呼吸, 仅能在有氧环境下生长。如结核分枝杆菌、霍乱弧菌。

2. 微需氧菌 (microaerophilic bacterium) 在低氧压 (5% ~ 6%) 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

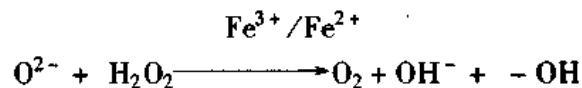
有氧或无氧环境中都能生长，但以有氧时生长较好。大多数病原菌属于此。

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，且还将受其毒害，甚至死亡。如破伤风梭菌、脆弱类杆菌。

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)。在有铁存在条件下，这两种物质还可产生对生物大分子有损害作用的羟基 (-OH)。



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，就不能生长繁殖。

渗透压 一般培养基的盐浓度和渗透压对大多数细菌是安全的，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。

五、细菌的生长繁殖

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 min。个别细菌繁殖速度较慢，如结核分枝杆菌的代时达 18~20h。

细菌群体的生长繁殖 细菌生长速度很快，一般细菌约 20min 分裂一次。若按此速度计算，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，细菌繁殖速度渐减，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) (图 1-18)。

根据生长曲线，细菌的群体生长繁殖可分为四期：

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

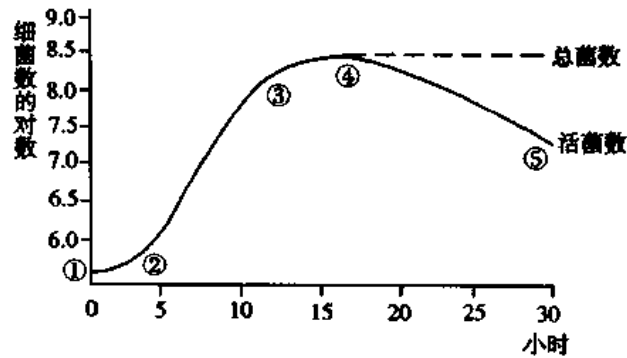


图 1-18 大肠埃希菌的生长曲线

①-② 迟缓期 ②-③ 对数期
③-④ 稳定期 ④-⑤ 衰亡期

殖极少。迟缓期长短不一，按菌种、接种菌的菌龄和菌量，以及营养物等不同而异，一般为 1~4h。

2. 对数期 (logarithmic phase) 又称指数期 (exponential phase)。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，达到顶峰状态。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 8~18h。

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，该期细菌繁殖速度渐减，死亡数逐渐增加，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，不可能出现在培养基中的那种典型的生长曲线。

细菌的生长曲线在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，更有效地利用对人类有益的细菌。例如在培养过程中，不断地更新培养液和对需氧菌进行通气，使细菌长时间地处于生长旺盛的对数期，这种培养称为连续培养。

第五节 细菌的新陈代谢

细菌的新陈代谢是指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的多样化。

细菌的代谢过程以胞外酶水解外环境中的营养物质开始，经主动或被动转运机制进入胞质内。这些分子在一系列酶的催化作用下，经过一种或多种途径转变为共同通用的中间产物丙酮酸；再从丙酮酸进一步分解产生能量或合成新的碳水化合物、氨基酸、脂类和核酸。在上述过程中，将底物分解和转化为能量的过程称为分解代谢；所产生的能量用于细胞组分的合成称为合成代谢；将两者紧密结合在一起称为中间代谢。伴随代谢过程细菌还将产生许多在医学上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；以无机物为受氢体的称为呼吸，其中以分子氧为受氢体的是有氧呼吸，以其他无机物（硝酸盐、硫酸盐等）为受氢体的是厌氧呼吸。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。

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。

发酵

1. EMP (Embden - Meyerhof - Parnas) 途径 又称糖酵解。这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，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 又称磷酸己糖 (hexose monophosphate, HMP) 途径，是 EMP 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 ($\text{NADPH} + \text{H}^+$) 可供进一步利用，产能效果仅为 EMP 途径的一半，所以不是产能的主要途径。

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 38 分子 ATP。需氧呼吸中，葡萄糖经过 EMP 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进行需氧呼吸。

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^-) 作为受氢体的一类产能效率低的特殊呼吸。

二、细菌的代谢产物

(一) 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亦不一致，因而其代谢产物有别。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。常见的有：

糖发酵试验 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；而伤寒沙门菌可发酵葡萄糖，但不能发酵乳糖。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。

VP (Voges - Proskauer) 试验 大肠埃希菌和产气杆菌均能发酵葡萄糖，产酸产气，两者不能区别。但产气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。

甲基红 (methyl red) 试验 产气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，故培养液 $\text{pH} > 5.4$ ，甲基红指示剂呈桔黄色，是为甲基红试验阴性。大肠埃希菌分解葡萄糖产生丙酮酸，培养液 $\text{pH} \leq 4.5$ ，甲基红指示剂呈红色，则为甲基红试验阳性。

枸橼酸盐利用 (citrate utilization) 试验 当某些细菌（如产气杆菌）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，该试验为阳性。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，为枸橼酸盐试验阴性。

吲哚 (indol) 试验 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），经与试剂中的对二甲氨基苯甲醛作用，生成玫瑰吲哚而呈红色，为吲哚试验阳性。

硫化氢试验 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）生成硫化氢，硫化氢遇铅或铁离子生成黑色的硫化物。

尿素酶试验 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，以酚红为指示剂检测为红色，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、革兰染色反应和培养特性相同或相似的细菌更为重要。吲哚 (I)、甲基红 (M)、VP (V)、枸橼酸盐利用 (C) 四种试验常用于鉴定肠道杆菌，合称为 IMViC 试验。例如大肠埃希菌对这四种试验的结果是 “+ - -”，产气杆菌则为 “- - + +”。

(二) 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。

热原质 (pyrogen) 或称致热原，是细菌合成的一种物质，当注入人体或动物体内能引起发热反应，称为热原质。产生热原质的细菌大多是革兰阴性菌，热原质即其细胞壁的脂多糖。

热原质耐高温，经高压蒸气灭菌 (121°C 、20min) 亦不被破坏， 250°C 高温干烤才能破坏热原质。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。因此，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。

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) 是多数革兰阳性菌和少数革兰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，促使细菌侵袭和毒素扩散，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。

色素 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。细菌色素产生需要一定的条件，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。

抗生素 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，称为抗生素。抗生素大多由放线菌和真菌产生，由细菌产生的，只有多粘菌素 (polymyxin)、杆菌肽 (bacitracin) 等。

细菌素 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的是作用范围狭窄，仅对与产生菌有亲缘关系的细菌有杀伤作用。例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。细菌素在治疗上的应用价值已不被重视，但可用于细菌分型和流行病学调查。

维生素 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。例如人体肠道内的大肠埃希菌，能合成 B 族维生素和维生素 K 可被人体吸收利用。

第六节 细菌的形态检查和人工培养

一、细菌的形态检查

细菌形态的检查是重要的鉴别手段之一。由于细菌体积微小、无色半透明，用光学显微镜只能观察到细菌及其动力。对菌体形态、染色特性及特殊结构的观察，必须借助固定和染色。研究细菌的微细结构需用电子显微镜观察。

非染色标本检查法 用悬滴法制备标本，用普通光学显微镜检查细菌有无动力，判断细菌是否具有鞭毛。细菌如有动力则可见自一处游移至另一处，注意勿将布朗氏运动认为是细菌运动。此外，还可以利用相差显微镜观察活菌标本。当光线穿过标本中折光性不同的各个部分时，引起光相的差异，使标本背景变为灰暗色，衬托出具有不同折光性的细菌等，对比鲜明，清晰可见。

染色标本检查法 染色标本检查法又称染色法。细菌体小半透明，经染色后才能观察较清楚。染色法是染色剂与细菌细胞质的结合。最常用的染色剂是盐类。其中，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 (acidic stain) 则相反。菌细胞富含核酸，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，而使背景着色形成反差，故称为负染（negative staining）。

染色法有多种，最常用最重要的分类鉴别染色法是革兰染色法（Gram stain）。该法是丹麦细菌学家革兰（Hans Christian Gram）于1884年创建，至今仍在广泛应用。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；此时不同细菌均被染成深紫色。然后用95%乙醇处理，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阳性菌，被乙醇脱色后复染成红色者为革兰阴性菌。革兰染色法在鉴别细菌、选择抗菌药物、研究细菌致病性等方面都具有极其重要的意义。

革兰染色法的原理尚未完全阐明。但与菌细胞壁结构密切相关，如果在结晶紫-碘染之后，乙醇脱色之前去除革兰阳性菌的细胞壁，革兰阳性菌细胞就能够被脱色。目前，对革兰阳性和革兰阴性菌细胞壁的化学组分已十分清楚，但对革兰阳性菌细胞壁阻止染料被溶出的原因尚不清楚。

细菌染色法中尚有单染色法、抗酸染色法、以及荚膜、芽胞、鞭毛、细胞壁、核质等特殊染色法。

二、细菌的人工培养

了解细菌的生理需要，掌握细菌生长繁殖的规律，可用人工方法提供细菌所需要的条件来培养细菌，以满足感染性疾病的病原学诊断、科学研究及工农业生产等诸多领域的不同需求。

培养细菌的方法 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。

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。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中即可，专性厌氧菌须在无游离氧的环境中培养。

病原菌的人工培养一般采用35~37℃，培养时间多数为18~24h，但有时需根据菌种及培养目的作最佳选择，如细菌的药物敏感试验则应选用对数期的培养物。

培养基 培养基（culture medium）是由人工方法配制而成、专供微生物生长繁殖使用的混合营养物制品。培养基一般pH为7.2~7.6，少数的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** 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）、蛋白胨水等。

2. **增菌培养基** 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（enrichment medium）。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 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 (selective medium)。例如培养肠道致病菌的 SS 琼脂，其中的胆盐能抑制革兰阳性菌，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 用于培养和区分不同细菌种类的培养基称为鉴别培养基 (differential medium)。利用各种细菌分解糖类和蛋白质的能力及其代谢产物不同，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如何，从而鉴别细菌。如常用的糖发酵管、三糖铁培养基、伊红-美蓝琼脂等。

5. 厌氧培养基 专供厌氧菌的分离、培养和鉴别用的培养基，称为厌氧培养基 (anaerobic medium)。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，并加入美蓝作为氧化还原指示剂。其中心、脑浸液和肝块、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、氯化血红素可以促进某些类杆菌的生长。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体石蜡以隔绝空气。

此外，还可根据对培养基成分了解的程度将其分为两大类：化学成分确定的培养基 (defined medium)，又称为合成培养基 (synthetic medium)；和化学成分不确定的培养基 (undefined medium)，又称天然培养基 (complex medium)。也可根据培养基的物理状态的不同分为液体、固体和半固体三大类。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，不具营养意义。液体培养基可用于大量繁殖细菌，但必须种入纯种细菌；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。

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生长繁殖后呈现均匀混浊状态；少数链状的细菌则呈沉淀生长；枯草芽胞杆菌、结核分枝杆菌等专性需氧菌呈表面生长，常形成菌膜。

2. 在固体培养基中生长情况 将标本或培养物划线接种在固体培养基的表面，因划线的分散作用，使许多原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 ~ 24h 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)。当进行样品活菌计数时，以在平板培养基上形成的菌落数来间接确定其活菌数，以菌落形成单位 (colony forming unit, CFU) 来表示。挑取一个菌落，移种到另一培养基中，生长出来的细菌均为纯种，称为纯培养 (pure culture)。这是从临床标本中

检查鉴定细菌很重要的第一步。各种细菌在固体培养基上形成的菌落，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。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。

细菌的菌落一般分为三型：

(1) 光滑型菌落 (smooth colony, S 型菌落)：新分离的细菌大多呈光滑型菌落，表面光滑、湿润、边缘整齐。

(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) 粘液型菌落 (mucoid colony, M 型菌落)：粘稠、有光泽，似水珠样。多见于有厚荚膜或丰富粘液层的细菌，如肺炎克雷伯菌等。

3. 在半固体培养基中生长情况 半固体培养基粘度低，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混浊生长。无鞭毛细菌只能沿穿刺线呈明显的线状生长。

第七节 细菌的分类

一、细菌的分类原则与层次

细菌分类学是一个古老的、传统的学科，又是一个现代化的、发展的学科。细菌的分类原则上分为传统分类和种系分类两种。19 世纪以来，以细菌的形态和生理特征为依据的分类奠定了传统分类的基础，即选择一些较为稳定的生物学性状，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。60 年代将数值分类 (numerical taxonomy) 引入了细菌分类，借助计算机将拟分类的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。由于对分类性状的选择和重视程度有一定的主观性，所以传统分类又称为人为分类 (artificial classification)。

70 年代以来，化学分析和核酸分析方法引入细菌分类，使细菌种群的划分建立在更为客观的基础上。化学分析应用电泳、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，为揭示细菌表型差异提供了有力的手段。核酸分析包括 DNA 碱基组成 (G + C mol%)、核酸分子杂交 (DNA - DNA 同源性、DNA - rRNA 同源性) 和 16S rRNA 同源性分析，比较细菌大分子 (核酸、蛋白质) 结构的同源程度进行分类，揭示了细菌进化的信息。这种以细菌发育关系为基础的细菌分类称为系统分类或种系分类 (phylogenetic classification)，又称为自然分类 (natural classification)，其中 16S rRNA 更为重要，因其在进化过程中保守、稳定，很少发生变异。1987 年 Woese 在大量 16S rRNA 序列分析的基础上，描绘出生物系统发育树，由真细菌 (Eubacteria)、

古细菌 (Archaeobacteria) 和真核生物 (Eukaryotes) 共同构成并列的生物三原界。真细菌指比较常见的细菌 (bacteria)。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, rRNA 基因中有内含子, 含有多种 RNA 多聚酶, 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。目前, 尚未在古细菌中发现病原菌。

国际上最具权威性的细菌分类系统专著《伯杰系统细菌学手册》(1984) 和《伯杰鉴定细菌学手册》第 9 版 (1994) 都已反映了细菌种系分类的研究进展, 但在具体编排上也保留了许多传统分类的安排。目前, 伯杰 (Bergey) 分类将细菌分为四大类目、35 个群, 医学细菌包括在内 (表 1-1)。

表 1-1 与医学有关细菌的分类

类 别	属
I. 革兰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	螺菌属
革兰阴性菌	弯曲菌属 螺杆菌属
需氧/微需氧、革兰阴性杆菌与球菌	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
兼性厌氧革兰阴性杆菌	埃希菌属 (和大肠杆菌状相关细菌) 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

类别	属
厌氧革兰阴性直、弯或螺旋形杆菌	类杆菌属 梭杆菌属
厌氧革兰阴性球菌	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
非光合滑行细菌	二氧化碳嗜纤维菌属
II. 革兰阳性有细胞壁的细菌	
革兰阳性球菌	肠球菌属 葡萄球菌属 链球菌属 消化链球菌属
可形成芽胞的革兰阳性杆菌与球菌	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)

(Bergey, 1994)

细菌的分类层次与其他生物相同，也是界、门、纲、目、科、属、种。在细菌中常用属和种。

种 (species) 是细菌分类的基本单位。生物学性状基本相同的细菌群体构成一个菌种；性状相近关系密切的若干菌种组成一个菌属 (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)。例如按抗原结构不同而分血清型 (serotype)；对噬菌体和细菌素的敏感性不同而分噬菌体型 (phage-type) 和细菌素型 (bacteriocin-type)；生化反应和其他某些生物学性状不同而分为生物型 (biotype)。变种因易与亚种混淆，已不再单独使用，与其他词复合构成代替“型”的术语，如 biovar 就是生物型 (biotype)。

对不同来源的同一菌种的细菌称为该菌的不同菌株 (strain)。具有某种细菌典型特

征的菌株称为该菌的标准菌株 (standard strain) 或模式菌株 (type strain)。

二、细菌的命名法

细菌的命名采用拉丁双名法, 每个菌名由两个拉丁字组成。前一字为属名, 用名词, 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或有贡献者, 种名表明细菌的性状特征、寄居部位或所致疾病等。中文的命名次序恰与拉丁文相反, 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。属名亦可不将全文写出, 只用第一个字母代表, 如 *M. tuberculosis*, *S. typhi* 等。有些常见菌有其习惯通用的俗名, 如 *tubercle bacillus*, 结核杆菌; *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。

展 望

对细菌基本特性的了解, 包括细菌的结构、功能、理化特性和代谢特点等的研究, 犹如人体解剖与生理在医学上的意义, 也是细菌分类学的依据。

随着相关学科的发展与渗透, 如电子显微镜的应用, 电子显微镜与微机图像处理的结合, 生理、生化、免疫学及分子生物学等的飞速发展, 使细菌结构与功能的研究出现了一个崭新的局面。微生物基因组计划研究的不断深入, 探索基因的结构与功能, 伴随细菌细胞内信号传导出现的蛋白磷酸化过程, 揭示细菌的代谢途径的调节机制及其基因调控的分子基础, 进而了解细菌与宿主细胞的关系, 及其致病的机制, 对感染性疾病的诊断、预防和治疗有重要的指导作用。揭示细菌代谢的特点, 探讨多样化和极端环境下生存微生物的本质, 可有助于开发微生物资源, 为人类服务。

(陈锦英)

第二章 细菌的遗传与变异

细菌与其他生物一样，具有遗传性和变异性。细菌的形态结构、新陈代谢、致病性、免疫性和对药物的敏感性等性状都是由细菌的遗传物质所决定。这些性状在子代与亲代中表现相同称为遗传 (heredity)。而子代与亲代之间以及子代与子代之间出现差异则称为变异 (variation)。遗传使细菌的种属性状保持稳定；而变异可使细菌产生变种和新种，有利于物种的发展和进化。

细菌的变异有遗传型变异和非遗传型变异。前者是细菌遗传物质结构发生改变引起的变异，新获得的性状可稳定地传给后代，又称基因型变异 (genotypic variation)。后者是由于外界环境条件的作用引起的变异，遗传物质的结构未改变，又称为表型变异 (phenotypic variation)，表型变异不能遗传。细菌的变异现象涉及面很广，如何区分遗传型和非遗传型变异要根据情况具体分析来确定。

近年来对细菌基因组序列分析将会使细菌基因结构与功能的研究有新的突破。随着对细菌遗传变异本质认识的不断深入，将会大大推动细菌致病机制、耐药机制、细菌感染的快速诊断及其防治新思路的研究。因此，了解细菌的遗传与变异具有十分重要的理论意义和实用价值。

第一节 细菌的变异现象

形态结构的变异 细菌的形态、大小及结构受外界环境条件的影响可发生变异。细菌在 β -内酰胺类抗生素、抗体、补体和溶菌酶等因素影响下，细胞壁合成受阻，失去细胞壁变成 L 型细菌。有些细菌变异后可失去特殊结构。有鞭毛的伤寒沙门菌变异后可失去鞭毛，称为 H-O 变异。由于鞭毛的动力使细菌在固体培养基上呈弥散生长，菌落似薄膜 (德语 hauch，意为薄膜)，称 H 菌落。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。

毒力变异 细菌的毒力变异包括毒力的增强和减弱。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，由无毒株变成有毒株。卡-介 (Calmette - Guérin) 二氏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 230 代，获得毒力减弱而保留其免疫原性的变异株，即卡介苗 (Bacillus of Calmette - Guérin, BCG)，用于结核病的预防。

耐药性变异 细菌对某种抗菌药物由敏感变成耐药的变异，成为耐药菌株。有的细菌表现为同时对多种抗菌药物耐药，称为多重耐药菌株。自抗生素广泛应用以来，细菌对抗菌药物的耐药性不断增长成为世界范围内关注的问题。还有的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)，用于痢疾的预防。

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

第二节 细菌的遗传物质

细菌的遗传物质是 DNA, DNA 分子是基因的载体, 携带各种遗传信息。决定细菌所有特性的遗传信息位于细菌的基因组 (genome) 内, 包括细菌的染色体和染色体外的遗传物质。

细菌染色体 细菌染色体 (chromosome) 是一个环状双螺旋 DNA 长链, 按一定构型反复回旋而成的松散网状结构, 附着在横膈中介体或细胞膜上。大肠埃希菌染色体 DNA 长约 1 000 ~ 1 300 μ m, 分子质量为 3×10^9 道尔顿, 染色体序列分析证实为 4 639kb, 用 Hfr 技术可将其分为 100min, 约含有 5 000 个基因, 编码 2 000 多种酶和其他结构蛋白。

细菌染色体与真核细胞不同, 不编码的 DNA 序列很少, 一般除了 rRNA 基因是多拷贝, 以便装备大量核糖体满足细菌的迅速生长繁殖外, 绝大多数基因保持单拷贝形式, 很少有重复序列, 功能相关的基因高度集中组成操纵子。细菌具有连续的基因结构, 无内含子, 转录后形成的 RNA 分子不必加工剪切, 边转录边翻译成多肽。

自 1995 年流感嗜血杆菌的全基因组 DNA 序列分析宣告完成以来, 已经完成基因组序列测定的细菌已有 23 种 (其中 13 种为病原菌) 正在进行的还有 70 余种。全基因组序列分析的资料表明细菌的种内和种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) 是指病原菌染色体上编码许多毒力相关基因的分子质量较大 (通常为 20 ~ 100kb) 的外源 DNA 片段, 其两侧往往含有重复序列或插入序列。致病岛 DNA 片段的 G + C 百分比和密码使用与宿主菌染色体有明显差异。例如引起婴幼儿腹泻的肠致病性大肠埃希菌 (EPEC) 的染色体与大肠埃希菌模式菌株相比, 在 82min 处具有一个 35kb 的 LEE (locus of enterocyte effacement) 致病岛, 与该菌对肠道上皮细胞所产生的 AE (attaching and effacing) 损伤有关。这个致病岛在肠出血性大肠埃希菌 (EHEC) 中也存在。随着比较基因组学 (comparative genomics) 和基因结构与功能研究的不断深入, 将会越来越深刻地解释细菌致病机制的本质和进化的关系。

细菌染色体 DNA 的复制, 在大肠埃希菌已被证明是双向复制, 即从复制起点开始, 按顺时针和逆时针两个方向进行, 两个复制叉在距起点 180°处汇合, 全过程约需 20min。

染色体外的遗传物质

(一) 质粒

质粒 (plasmid) 是细菌染色体外的遗传物质, 存在于细胞质中, 具有自主复制能力, 是闭合环状的双链 DNA 分子。早期曾称为附加体 (episome), 现在称为质粒。质粒不是细菌生长繁殖所必需的物质, 可自行丢失或人工处理而消除 (curing), 如高温、

紫外线、吖啶橙、溴化乙锭等处理。质粒携带的遗传信息能赋予宿主菌某些生物学性状(如耐药性),有利于细菌在特定的环境条件下生存。

质粒的分类:

1. 根据质粒能否通过细菌的接合作用进行传递,将其分为接合性质粒(conjugative plasmid)和非接合性质粒(nonconjugative plasmid)两大类。接合性质粒带有与接合传递有关的基因(tra基因等),一般来讲分子质量较大,为40~100kb,如F质粒、R质粒。非接合性质粒分子质量较小,一般在15kb以下,但也有例外,如志贺菌的毒力质粒分子质量为220kb。非接合性质粒在一定条件下通过与其共存的接合性质粒的诱动(mobilization)或转导而传递。

2. 根据质粒在宿主菌内拷贝数的多少,将其分为严紧型质粒(stringent plasmid)和松弛型质粒(relaxed plasmid)。拷贝数(copy)是指每个细菌染色体所拥有的平均质粒数。严紧型质粒拷贝数较低,仅为数个,其复制与染色体的复制同步,一般为分子质量较大的质粒。松弛型质粒往往分子质量较小,拷贝数高,为20~60个或更多,其复制与染色体的复制不相关。

3. 根据质粒的不相容性进行分类,常用于流行病学调查。不相容性(incompatibility)指结构相似、密切相关的质粒不能稳定地共存于同一个宿主菌内的现象,反之为相容性(compatibility)。这是由于质粒间具有相同或相似的复制(replication)及分配(partition)调控机制所决定的。迄今已将肠杆菌科的细菌质粒划分为30余个不相容组,假单胞菌属11个,葡萄球菌属7个。

4. 根据质粒基因编码的生物学性状进行分类,种类较多,如:①致育性质粒(fertility plasmid)或称F质粒,编码性菌毛,介导细菌之间的接合传递。②耐药性质粒(resistance plasmid),其中可以通过细菌间的接合进行传递的称为可接合传递的耐药性质粒,又称为R质粒或R因子(R factor),常编码对数种抗菌药物和重金属的抗性,在革兰阴性菌中较多见。另外,不能通过细菌间接合进行传递的称为非接合传递的耐药性质粒,又称r质粒,但可通过噬菌体转导在细菌间进行传递,往往在革兰阳性菌(如葡萄球菌)中较多见。③毒力质粒(virulence plasmid),编码与细菌致病性有关的毒力因子。有大肠埃希菌的溶血素质粒(Hly质粒);编码大肠菌素的Col质粒(colicinogenic plasmid);肠产毒性大肠埃希菌中编码不耐热肠毒素的LT质粒和编码耐热肠毒素的ST质粒,及编码菌毛的CAF I/CAF II质粒等。细菌携带有哪种质粒,则有相应的功能,但也有一种细菌带有几种质粒或一种质粒可以同时决定几种功能,某些耐药性质粒上还带有编码毒力的基因,使宿主菌不仅获得耐药性,而且致病性也得到增强。

(二) 噬菌体

噬菌体(bacteriophage or phage)是侵袭细菌的病毒,也是赋予宿主菌生物学性状的遗传物质。噬菌体必须在活菌内寄生,有严格的宿主特异性,其特异性取决于噬菌体吸附器官和受体菌表面受体的分子结构和互补性(图2-1)。

1. 形态与结构 噬菌体的体积微小,需用电子显微镜观察,其形态有蝌蚪形、微球形和细杆形。大多数噬菌体呈蝌蚪形,由头部和尾部两部分组成(图2-2)。例如大

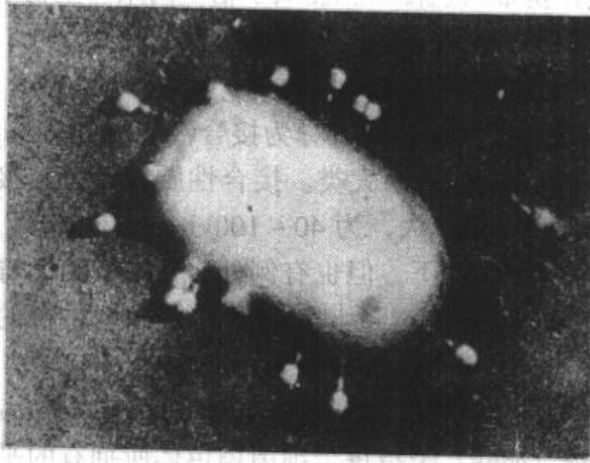


图 2-1 噬菌体吸附于大肠埃希菌
× 20 000

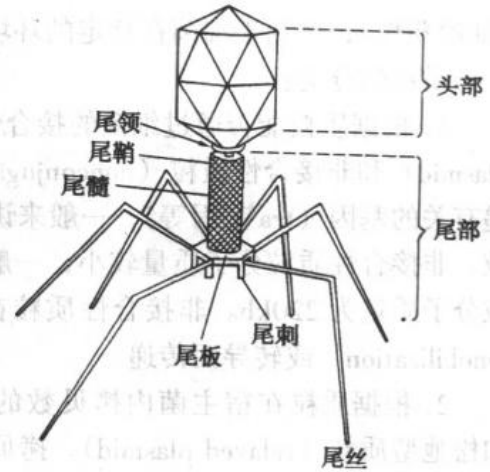


图 2-2 蝌蚪形噬菌体结构模式图

肠埃希菌 T4 噬菌体头部呈六边形，立体对称，大小约 $96\text{nm} \times 65\text{nm}$ ，内含遗传物质核酸；尾部是一个管状结构，长 $95 \sim 125\text{nm}$ ，直径 $13 \sim 20\text{nm}$ ，有一个内径约 2.5nm 中空的尾髓和外面包着的尾鞘组成。尾部末端有尾板、尾刺和尾丝，尾板内可能有使宿主菌细胞壁裂解的溶菌酶。在头尾连接处有尾领结构。

噬菌体由核酸和蛋白质组成。蛋白质构成噬菌体头部的外壳及尾部。蛋白质起着保护核酸的作用，并决定噬菌体的外形和表面特征。噬菌体的核酸仅有一种类型，即 DNA 或 RNA，双链或单链，环状或线状。

2. 噬菌体与细菌的相互关系 噬菌体感染细菌有两种结果，一是噬菌体增殖，细菌被裂解，建立溶菌性周期，这类噬菌体称为毒性噬菌体 (virulent phage)；二是噬菌体核酸与细菌染色体整合，成为前噬菌体 (prophage)，细菌变成溶原性细菌 (lysogenic bacteria)，建立溶原性周期，这类噬菌体称为温和噬菌体 (temperate phage)。

(1) 溶菌性周期：指毒性噬菌体在宿主菌内的增殖过程，包括 3 个阶段，即吸附穿入、生物合成、成熟释放。噬菌体感染细菌时，其尾丝为吸附器官，能识别宿主菌表面的特殊受体，然后分泌酶类溶解细胞壁，使细胞壁出现小孔，尾髓再收缩，将头部的核酸注入宿主菌内，蛋白质外壳留在菌细胞外。继而，进入菌细胞内的噬菌体核酸首先经早期转录产生早期蛋白质（核酸复制所必需的酶类），并复制子代核酸，再进行晚期转录产生噬菌体的结构蛋白（头部外壳和尾部）。蛋白质与核酸分别合成后，按一定程序装配，成熟为完整的子代噬菌体。子代噬菌体达到一定数量时，由于噬菌体合成酶类的溶解作用，菌细胞突然裂解，释放出的噬菌体再感染其他敏感细菌。

(2) 溶原性周期：温和噬菌体感染细菌后不增殖，其核酸整合到细菌染色体上，即前噬菌体，随细菌染色体的复制而复制，并随细菌分裂而分配至子代细菌的染色体中。带有前噬菌体基因组的细菌称为溶原性细菌。温和噬菌体又称为溶原性噬菌体 (lysogenic phage)，它可偶尔自发地或在某些理化或生物因素的诱导下，整合的前噬菌体脱

离宿主菌染色体，进入溶菌性周期导致细菌裂解，并产生新的成熟噬菌体。可见温和噬菌体可有溶原性周期和溶菌性周期（图 2-3），而毒性噬菌体只有一个溶菌性周期。此

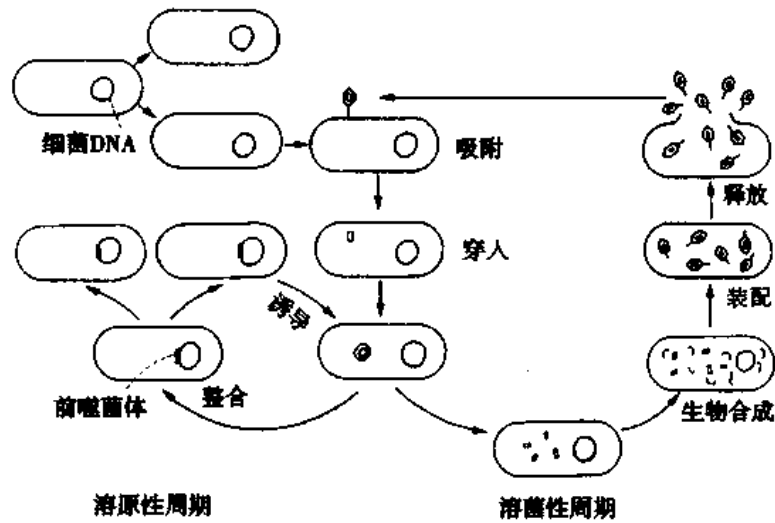


图 2-3 溶原性细菌的溶原性周期和溶菌性周期

外，也有一些温和噬菌体有完全不同的机制维持前噬菌体状态，如大肠埃希菌 P1 噬菌体，这类噬菌体类似于质粒，作为环状 DNA 分子在细胞质中复制。这种质粒前噬菌体与宿主 DNA 并不连接，但噬菌体 DNA 的复制与细胞分裂密切协调，每个宿主染色体仅有一个拷贝前噬菌体。

溶原性细菌可被其他噬菌体感染，但对其本身产生的噬菌体或密切相关的噬菌体具有免疫性，这是由于前噬菌体基因组编码的阻遏物 (repressor) 阻抑了噬菌体大部分基因功能的表达所致。免疫性不同于对噬菌体的抗性突变，后者是使噬菌体不能吸附于细菌的表面受体。

有些前噬菌体可使溶原性细菌的表型发生改变，称为溶原性转换 (lysogenic conversion)。例如白喉棒状杆菌产生白喉毒素、肉毒梭菌产生肉毒毒素、化脓性链球菌产生红疹毒素都与溶原性转换有关，这些毒素基因都是前噬菌体。沙门菌、志贺菌等抗原结构和血清型别也受溶原性噬菌体的控制，若失去前噬菌体则有关性状亦发生改变。

(三) 转位因子

转位因子 (transposable element) 是一类不依赖于同源性重组可以在细菌的基因组 (染色体、质粒、噬菌体) 中从一个位置转移到另一个位置上独特的 DNA 片段，有时也形象地称之为跳跃基因 (jumping genes) 或移动基因 (movable genes)。

转位因子最早是由美国冷泉港实验室的女科学家 B. McClintock 于 20 世纪 40 年代末在玉米中首次发现的，当时叫做控制因子 (controlling element)。它们在染色体上没有固定的位置，似乎可以沿着染色体分子移动，插入玉米染色体后的适当时间内又可以被重新删除下来；由于控制因子本身不稳定，因此与之相关的基因也呈现出高突变率的特性。1951 年，McClintock 公开发表了自己的研究成果。由于当时人们对于

基因的认识没有摆脱传统的观念，她的观点没有被其他学者所接受。直到 1961 年，Jacob 和 Monod 的乳糖操纵子模型和控制基因理论发表之后，McClintock 的“控制因子”假说才重新引起人们的注意。随后在 60 年代末期，J. A. Shapiro 在研究大肠埃希菌高效突变时发现，这是由于一种大片段 DNA 的插入作用造成的，并称这种 DNA 片段为插入序列 (insertion sequence)，这是在细菌中首次发现的转位因子。至此，移动基因的概念才被大家所公认，而 McClintock 也因其在该领域研究工作的超时代发现和卓越贡献，荣获了 1983 年度的诺贝尔生物学医学奖。

可见，转位因子通过位置移动可以改变遗传物质的核苷酸序列，产生插入突变、基因重排或插入位点附近基因表达的改变。因此，转位因子在赋予细菌生物学性状改变和促进细菌进化过程的作用不可忽视。转位因子主要有以下三类，广泛存在与革兰阴性和革兰阳性细菌中。

1. 插入序列 (insertion sequence, IS) IS 是在细菌中首先发现的最简单的一类转位因子，其长度为数百个到一两千个核苷酸对之间，相当于 1~2 个基因的编码量，不携带任何与转座功能无关的已知基因 (表 2-1)。IS 的共同特征是，在它们的末端都具有

表 2-1 大肠埃希菌的插入序列

插入序列名称	分子质量大小(bp)	反向重复序列(bp)
IS1	768	23
IS2	1 327	41
IS4	1 428	18
IS5	1 195	16
IS10R	1 329	22
IS50R	1 531	9
IS903	1 057	18

有一段反向重复序列 (inverted repeat, IR)，但其长度并不一定相等，例如，IS10 的左边 IR 序列是 17bp，右边是 22bp。当 IS 插入序列靶位点后，便会在其两端的外侧产生一段短小的同向重复序列 (图 2-4)。IS 一般只编码一种参与转位作用的转位酶 (transposase)，它能识别反向重复序列，并催化转位因子发生删除作用，进而从基因组分子上解离下来。IS 是细菌染色体、质粒和某些噬

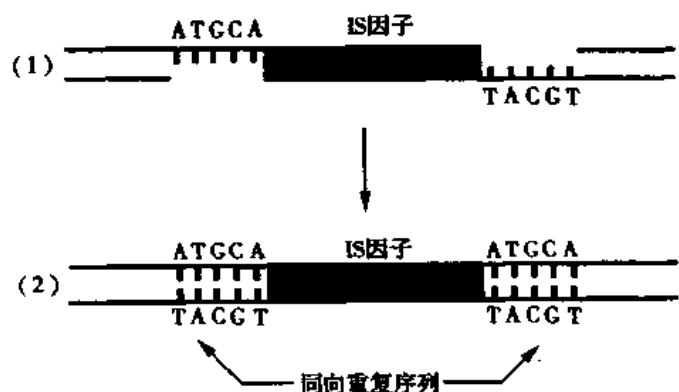


图 2-4 插入序列 (IS) 转位作用形成同向重复序列的机制

(1) IS 因子与插入位点缺口单链末端连接 (2) 插入位点出现的裂口被补齐封闭，形成短小的同向重复序列 ATGCA

菌体的正常组分，其插入作用可以双向进行，既可以正向整合到基因组上，也可以反向整合到基因组上。在 F 质粒和大肠埃希菌的染色体上有一些相同的插入序列，如 IS2、IS3 等，由于这些相同的序列存在，介导 F 质粒通过同源性重组插入到细菌的染色体上，成为高频重组菌 (high frequency recombinant, Hfr)。

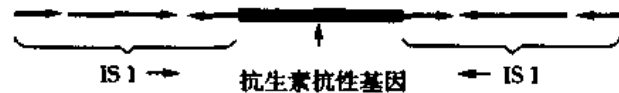
2. 转座子 (transposon, Tn) Tn 是一类除了携带与转座作用有关的基因外，还携带有其他基因 (如耐药性基因、重金属抗性基因、糖发酵基因、肠毒素基因等) 的转位因子，所以易于鉴别 (表 2-2)。

表 2-2 转座子的耐药性基因编码

转座子	耐 药 性
Tn3	氨苄青霉素
Tn4	氨苄青霉素、磺胺、链霉素、Hg ²⁺
Tn5	卡那霉素
Tn7	甲氧苄氨嘧啶
Tn9	氯霉素
Tn10	四环素
Tn551	红霉素

根据结构特征的不同，转座子可以分为复合型转座子、Tn3 系转座子和接合性转座子三类。复合型转座子 (complex transposon) 是由 2 个同样的 IS 连接在抗生素抗性基因的两侧构成的。在复合型转座子中，IS 可以是反向重复的构型，也可以是同向重复的构型。但由于 IS 的两端都带有一段反向重复序列，因此无论复合型转座子中的 IS 是何种取向，都不会改变其末端序列，仍然保持着反向重复的特征 (图 2-5)。复合型转

(1) 反向重复



(2) 同向重复

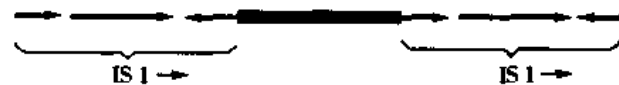


图 2-5 侧翼 IS 取向不同的两种复合型转座子

(1) 两个 IS 呈反向重复排列 (2) 两个 IS 呈同向重复排列，但不论它们如何取向，都不会改变 IR 序列的排列方向

座子很容易将携带的药物抗性基因在细菌的染色体、质粒和噬菌体基因组之间转移，导致耐药性基因的播散，这种转位作用是自然界中细菌耐药性产生的重要原因之一。

Tn3 系转座子与复合型转座子不同的是其两端没有 IS，它们在进化上有着共同的起源，其性质和结构非常相似，均由 3 个部分组成，即 30~40bp 的末端正向或反向的重复序列，与 Tn 功能有关的基因和抗生素抗性基因。在 Tn3 系转座子中研究最多的是 Tn3。Tn3 长度约为 5 000bp，末端有一对 38bp 的 IR 序列，中心区域有 3 个基因：—

个是编码对氨基青霉素耐药的 β -内酰胺酶(β -lactamase)基因,另外2个是与转位作用有关的基因。其中一个为TnpA基因,编码转位酶;另一个为TnpR基因,编码的蛋白质具有两种功能,一种是抑制TnpA基因的合成活性,另一种是促进在中间分离区发生位点特异地切割(图2-6)。

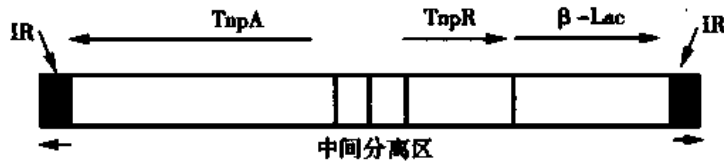


图 2-6 Tn3 模式图

接合性转座子是在革兰阳性球菌(肠球菌)的染色体上发现的一类可以在细菌间通过接合作用进行转移的转座子,其代表是Tn916。它们没有末端IR序列,也不产生同向重复。

3. 作为转位因子的Mu噬菌体 这是一类具有转位作用(transposition)的温和噬菌体,作为转位因子可随机插入宿主DNA中,Mu噬菌体的最初发现是基于其插入大肠埃希菌基因导致突变的能力。它的核酸为线性DNA分子,游离状态和整合状态的Mu噬菌体具有相同的基因序列,但不含末端IR序列。游离Mu噬菌体DNA的两端连接着一段宿主DNA,这两端的宿主DNA序列在不同Mu DNA上各不相同,它们是在噬菌体成熟阶段将整合在宿主DNA中的前噬菌体Mu切割包装时获得的。Mu的溶原性整合和裂解周期的复制均以转座方式进行,借此Mu噬菌体可以作为菌体内基因克隆的工具。

转位因子的移动方式称为转位作用,是一种与同源重组不相同的重组类型,其插入位点为没有同源关系的核苷酸序列。转位因子的转位作用有两种不同的类型,保留型转位(conservative transposition)和复制型转位(replicative transposition)。

当发生复制型转位作用时,转位因子的一个拷贝插入到靶位点,而另一个拷贝则仍然保留在供体原来的位置上。Tn3的转位作用属于这种类型,它编码两种蛋白质,一种是启动转位作用的转位酶,另一种是促使在转位过程中产生的两个转位因子拷贝之间发生位点特异重组作用的解离酶(resolvase)。

当发生保留型转位作用时,转位因子从原来位点上删除下来以后,再转移插入到另一个位点中去。例如复合型转座子Tn10就是按照这种方式转位的。在它编码的转位酶作用下,转座子的末端产生双链切割,从而使转座子从供体分子上删除下来,同时转位酶亦会在靶位点上作交错的单链切割,以使转座子插入进去。

一般来说,转位因子的转位作用或是保留型的,或是复制型的;只有少数的转位因子的转位作用是两种类型兼而有之,例如Mu噬菌体和插入序列IS1。

第三节 细菌变异的机制

细菌表现的性状称为表型(phenotype),由其基因组和环境来决定。表型变异是细

菌在环境因素影响下基因表达的变化，例如大肠埃希菌生长在含有乳糖和其它半乳糖苷的培养基上，可诱导乳糖操纵子的表达；而在含有色氨酸的培养基上生长时，则可阻遏色氨酸操纵子的表达，这些变化并非基因结构发生改变所致。细菌基因型变异是基因结构发生变化，包括突变及基因转移和重组，是本节讨论的内容。

一、突 变

细菌以无性二分裂方式进行繁殖。理论上讲，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。但在少数情况下，子代细胞中会出现可以通过复制而遗传的 DNA 结构的改变，称为突变 (mutation)。如果这一现象是在自然界中发生的，不管是由于自然界中突变剂的作用还是偶然的复制错误而保留下来，称为自发突变 (spontaneous mutation)。细菌生长繁殖过程中经常发生突变，细胞内错配修复酶可减少突变发生的几率，自发突变率约为每一世代 $10^{-10} \sim 10^{-6}$ 。如果这种作用是用诱变剂 (mutagen) 处理细菌后产生的，则称为诱发突变或诱变 (induced mutation)，它在表现型和遗传机制方面与自发突变没有区别。没有发生突变的菌细胞称为野生株 (wild strain)，其表现型称为野生型 (wild type)，携带突变的菌细胞称为突变株 (mutant strain)。

突变的类型 从 DNA 序列改变多少可将突变分为点突变 (point mutation)，即只有一个碱基对的变化；和多点突变 (multiple mutation)，即有两个以上碱基对的变化。点突变可以是碱基置换 (substitution)、碱基插入 (insertion) 或碱基缺失 (deletion)。但是点突变常常指碱基置换，包括转换 (transition) 和颠换 (transversion)，前者是嘌呤到嘌呤或嘧啶到嘧啶的变化，后者是嘌呤到嘧啶或嘧啶到嘌呤的变化。缺失和插入突变通常指较长的碱基序列的缺少或增加。多点突变时往往涉及广泛的染色体重排 (rearrangement)，如倒位 (inversion)、重复 (duplication) 或缺失 (deletion) (图 2-7)。



图 2-7 突变类型的示意图

从遗传信息改变的角度来看，碱基置换后可以出现同义突变 (synonymous mutation)、错义突变 (missense mutation) 和无义突变 (nonsense mutation)。同义突变指没有改变产物氨基酸序列的密码子，这与密码子的简并性有关。错义突变则是碱基序列的改变引起了产

物氨基酸序列的变化。有些错义突变会影响到蛋白质的活性，从而影响了表现型。无义突变是碱基改变导致代表某个氨基酸的密码子变为蛋白质合成的终止密码子，使肽链过早终止，蛋白质产物一般没有活性。碱基的插入或缺失影响三联体密码的阅读框架，引起移码突变 (frameshift mutation)，这类突变不但改变了氨基酸的组成，也会出现无义突变。如果插入或缺失三个碱基则阅读框架不变，其产物常常有活性或有部分活性。

细菌群体中能够存活下来的一些突变体，可以被特定的环境条件所选择。进入病人体内的少量细菌经过生长繁殖也会自发的产生各种突变体，这些突变可以赋予细菌耐药性、增强细菌的毒力或出现表面抗原性的改变，从而提高了细菌在病人体内的生存能力，致使突变菌株迅速过度生长而被选择出来成为优势型。

诱变剂 诱变剂是能显著提高突变率的各种理化因素。常用的物理因素有紫外线 (UV)、高温、辐射等。UV 照射后引起 DNA 分子的多种损伤，其中相邻的胸腺嘧啶形成二聚体是一种严重的损伤，这些损伤诱发了倾向差错的 SOS 修复系统，从而导致很高的突变率。SOS 反应使 DNA 复制时快速读过受损部位，结果掺入许多不正确的碱基，转换和颠换均有发生；并促进了不完全同源的 DNA 序列之间的重组，产生了大量错配碱基，引起突变。除 UV 外，各种电离辐射、丝裂霉素 C (mitomycin C)、黄曲霉素 B1 (aflatoxin B1) 等致癌物质都能诱发 SOS 反应。

常用的化学诱变剂包括各种碱基类似物、亚硝酸盐、烷化剂及吖啶类染料等。5-溴尿嘧啶 (5-BU) 是一种胸腺嘧啶 (T) 类似物，可代替 T 掺入 DNA 分子中。通常情况下，5-BU 以酮式结构存在，称为 T 的类似物，能与腺嘌呤 (A) 配对。但它以少见的烯醇式结构存在时，就不再与 A 配对，只能与鸟嘌呤 (G) 配对。T 也有酮式和烯醇式互变异构现象，但后者的发生率极低。而 5-BU 中溴是电负性很强的原子，故烯醇式结构的发生率要高得多。5-BU 掺入 DNA 后，必须经过两轮复制才能产生稳定的可遗传的突变 (图2-8)。

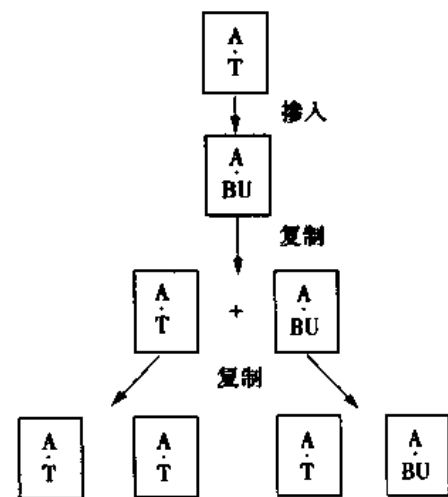


图 2-8 5-溴尿嘧啶引起的碱基替代突变

如上所述，理化因素的诱变作用直接损伤 DNA 分子。当编码 DNA 复制和修复相关酶的基因发生突变时，导致相应的酶性质改变所致的突变称为生物诱变作用 (biologic mutagenesis)。此外，转座子或 Mu 噬菌体插入修复基因导致的突变也属于生物诱变作用。

鉴于诱发突变频率较高，人们有目的地在细胞外制造位点特异性突变，然后再导入菌体内，观察并分析突变的表现型，用于基因的表达和调控机制方面的研究。这种定向诱变的方法与经典遗传学的方法相反，称为反向遗传学 (reverse genetics) 或 DNA 分析遗传学 (genetics by DNA analysis)。

回复突变和抑制突变 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，这种第二次突变称为回复突变 (reverse mutation)。真正的原位

回复突变恢复到野生型的 DNA 序列的几率很少，大多数是第二点突变使得野生型得以恢复或部分恢复。这种第二点突变并没有改变正向突变的 DNA 序列，只是其突变效应被抑制的回复突变称为抑制突变 (suppressor mutation)，发生在正向突变基因中的抑制突变称基因内抑制突变 (intragenic suppressor)，发生在其它基因中的抑制突变称基因外抑制突变 (extragenic suppressor)。回复突变可以自发地发生，其频率一般是正向突变的十分之一，也可以用诱变剂处理增加其频率。

突变体的分离 现代分子生物学技术在 DNA 水平上为基因突变提供了精确和详尽的研究方法。然而，在细菌遗传学的研究中很大程度上还是要对细菌突变体进行分离和生物学特性的鉴定。细菌基因组任何基因都可以出现突变，当突变所影响的基因产物是细菌生长的必需物质，而这种物质又不能被他代偿时则会导致细菌死亡，称为致死性突变 (lethal mutation)。相反，如果突变所影响的基因产物仅在特定培养条件下才是必需的，这种突变体在一定的条件下可以存活。因而设计出促进突变体生长的试验条件，将其从大量的野生型细菌培养物中选择出来，以便进一步研究，常见的突变体如下。

1. 耐药性突变体 细菌突变产生了对抗菌药物的抗性称为耐药性突变体 (drug-resistant mutants)。在培养基中加入能够抑制药物敏感菌 (drug-sensitive strains) 生长的药物浓度下，耐药性突变菌株生长良好。常用这些不同的耐药性突变体的研究来了解抗菌药物的作用机制和细菌的耐药机制。

2. 营养缺陷型突变体 细菌可以合成供其生长所必需的代谢物质，因而在最低营养培养基 (minimum medium, MM) 中能够生长，称为原养型 (prototroph)。细菌编码参与生物合成酶的基因发生突变后，失去合成某种必需代谢物质 (如氨基酸) 的能力，在 MM 培养基上不能生长，必须依赖外界提供自身不能合成的物质才能生长，称为营养缺陷型突变体 (auxotrophic mutants)。若从原养型群体中分离营养缺陷型突变体，则需将天然培养基 (如 LB 培养基) 上生长的菌落，分别接种在含有或不含有特定代谢物质的培养基中，观察其生长能力进行

判断。为方便起见，常用影印培养 (replica plating) 的方法。例如，选择组氨酸营养缺陷型突变体 (his^-)，首先将所有待检的细菌分别点种在天然培养基平板上，长出均匀的菌落作为母平板 (master plate)；然后取一个包有无菌丝绒的压模在母平板表面轻轻按压，使丝绒表面粘有菌落的印迹，再将菌落印迹分别按压到含有和不含有组氨酸成分的 MM 培养基的影印平板 (replica plates) 上，随后将母平板和影印平板上生长的菌落进行比较，挑选出在 MM 培养基上不长而在含有组氨酸的 MM 培养基上生长的菌落即为组氨酸营养缺陷型突变体 (图 2-9)。利用不同

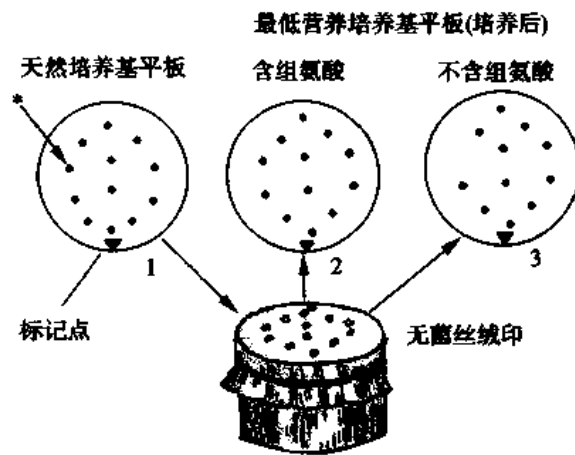


图 2-9 组氨酸营养缺陷型突变体 (his^-) 的分离 (影印培养法示意图)

* 代表 his^- 突变体

生物合成酶突变产生的营养缺陷株来研究生物合成代谢途径很有价值。

3. 条件型突变体 条件型突变体 (conditional mutants) 表现为条件致死, 即在许可条件下细菌生长正常或近乎正常, 而在非许可条件下细菌死亡。从广义上讲, 任何突变体都可以看做是条件型的, 但最常见的还是温度敏感突变体 (temperature-sensitive mutants, ts), 通过提高或降低温度, 可以很快地关闭或开启某一基因产物的活性。一般来说, 细菌温度敏感突变体的许可温度为 30℃ 左右, 非许可温度为 42℃ 左右。这种突变体常被用来研究基因尤其是必需基因在细菌生存和生长中的作用。

二、基因转移与重组

细菌的进化需要不断产生遗传型变异, 变化的根本原因是突变, 但对每一个菌细胞来讲突变发生的几率还是很少的, 如果细菌只有突变而没有菌细胞之间的基因转移, 则难以迅速产生适应环境需要的基因组合。因此, 细菌之间的 DNA 转移 (transfer) 与重组 (recombination) 可以在短期内产生不同基因型的个体, 适应环境条件, 接受自然界的選擇, 这是形成细菌遗传多样性的重要原因。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 (genetic exchange)。成功的遗传重组 (genetic recombination) 则要求进入受体菌的外源 DNA 能够复制, 导致其基因型发生改变成为重组体或重组菌 (recombinant bacteria)。这种复制可以是供体 DNA 整合到受体菌的复制子 (replicon) 上, 也可以是供体 DNA 在受体菌内作为复制子独立进行复制。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等。

(一) 与基因转移和重组有关的因素

限制-修饰系统 20 世纪 50 年代初, 首先在噬菌体中发现其对宿主菌的限制和修饰作用, 不久发现这种现象广泛存在于细菌中。细菌为了防止外源 DNA 的入侵, 演化出限制性内切酶 (restriction endonuclease) 将外源 DNA 分子切割成大小不同的片段, 而同时对自己 DNA 上相应限制性内切酶位点进行甲基化修饰, 这样就不会将自身的 DNA 降解掉, 这两方面的作用结合在一起称为限制-修饰系统 (restriction-modification system)。根据限制-修饰系统的特性, 已经鉴定出三种不同的限制性内切酶, 其中 II 型酶的限制性内切酶活性和甲基化酶活性是分开的, 不属同一个酶分子, 而且核酸内切作用有序列特异性, 故在基因克隆中有特别广泛的用途; I 型酶和 II 型酶的限制性内切酶和甲基化酶都作为亚基包含在同一个酶分子中。由此推测, 限制作用的结果可以使供体菌 DNA 成为重组体复制子组成部分之前有被切割的可能性, 故在基因工程中使用的受体菌多数为限制基因缺陷型 (res^-)。

质粒的不稳定性 质粒参与基因转移时, 它们在宿主菌中的稳定性直接影响基因转移重组的结果。有些质粒只能在密切相关的细菌中进行复制, 成为窄宿主谱质粒 (narrow-host range plasmids); 也有些质粒可以在不同科、属、种的细菌内进行复制, 称广宿主谱质粒 (wide-host range plasmids)。质粒的宿主范围是由质粒复制时对宿主的依赖程度决定的。此外, 质粒的不相容性也会影响其在宿主菌内的稳定性, 即不相容的同一组质粒不能在同一菌细胞内进行复制。

遗传重组的方式 不携带自身复制基因的供体菌 DNA 进入受体菌后, 必须与受体

菌 DNA 进行重组。遗传重组的方式分为两大类，同源重组 (homologous recombination) 和非同源重组 (nonhomologous recombination)。同源重组也称为正统重组 (legitimate recombination)，是发生在 DNA 序列相同或接近相同之间的重组。大肠埃希菌的同源重组需要 RecA 蛋白质，类似的蛋白质也存在于其它细菌中。RecA 是同源重组过程中最重要的蛋白质，又称为重组酶，它具有单链和双链 DNA 结合活性、NTPase 活性和促进互补单链复性的能力。非同源重组也称为异常重组 (illegitimate recombination)，它不需要 DNA 序列同源性和 RecA 蛋白质，而是由整合 DNA 编码的酶催化 DNA 序列之间的重组，例如供体菌的转座子插入受体菌 DNA 的过程。

(二) 基因转移和重组的方式

转化 受体菌直接摄取供体菌 DNA 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。将有荚膜因而毒力强、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，从死鼠心血中分离出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。但若将加热杀死的Ⅲ型光滑型肺炎链球菌 (有荚膜) 和活的Ⅱ型粗糙型肺炎链球菌 (无荚膜) 混合注射至小鼠体内，则小鼠死亡，并从死鼠心血中分离到Ⅲ型光滑型肺炎链球菌。1944 年 Avery 等人用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实验，得到相同的结果。终于证实引起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 2-10)。现在已经知道，在自然界中同样会发生细菌的转化。而且除了肺炎链

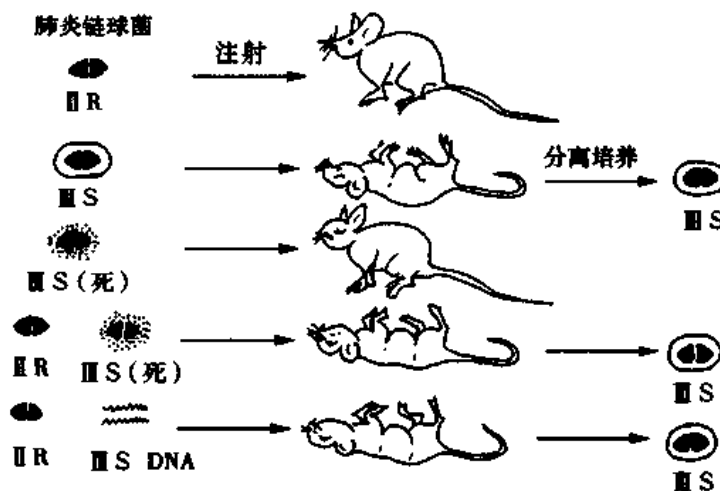


图 2-10 小鼠体内肺炎链球菌的转化试验

球菌以外，在枯草芽胞杆菌、流感嗜血杆菌、嗜热脂肪芽胞杆菌等都能够发生转化作用。在这些天然发生的转化体系中，细菌一般都是进入一种称为感受态 (competence) 的特殊生理状态时，才能够捕获外源的转化 DNA。处于感受态的细胞，某种蛋白质能够同核酸结合形成可以抗御核酸酶作用的复合物。感受态的出现时期、持续时间因菌种而异，肺炎链球菌感受态出现在对数生长期的后期，持续约 40min。

除了上述细菌外，大多数细菌均不能自然摄取外源 DNA。长期以来一直认为大肠

埃希菌缺乏天然的转化机理，Mandel 等人（1970）首先报道在加入转化 DNA 之前，预先用氯化钙处理大肠埃希菌细胞，可诱导其呈现感受态。将正在生长的大肠埃希菌在 0℃ 下加入到低渗的氯化钙溶液中，会使细胞膨胀形成原生质球，同加入的转化 DNA 形成一种粘着在细胞表面的对 DNase 抗性的复合物。转移在 42℃ 下作短暂的热刺激期间，这种复合物便会被细胞所吸收。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。这种转化程序稍加修改已被成功地应用于正常情况下不能吸收外源 DNA 的其它细菌体系。在转化过程中加入 Mg^{++} ，对于维持 DNA 的稳定性也起到重要的作用。

细菌转化频率以每 μg DNA 出现的转化子菌落数表示，它受多种因素的制约，包括转化 DNA 的浓度、纯度和构型，转化细胞的生理状态，以及转化的环境条件，诸如温度、pH 值、离子浓度等。为了克服细菌限制 - 修饰系统对转化频率的影响，用作转化受体大肠埃希菌株，一般都是选用在宿主控制的限制 - 修饰系统上有缺陷的突变体，即 $hsd R^-$ 和 $hsd M^-$ 突变体菌株。由于具有 $hsd R^-$ 表型（无限制作用）的大肠埃希菌突变体，可以使进入的外源 DNA 免遭限制作用，因此可以极大地提高非同源 DNA 的转化频率。此外，1982 年以后发展起来的电转化或称电穿孔技术（electroporation），用于一般转化方法不能成功的细菌，用电转化获得了成功。它在短时间（几微秒）高电压（1~2.5kV 或更高）形成的强电场中，电击细菌的细胞壁发生变化，允许外源 DNA 进入受体细胞。电转化技术的转化频率随细菌的种类，所用 DNA 的种类不同而差异很大。对大肠埃希菌，电转化的转化频率比一般转化方法高 10~100 倍，可达 $10^9 \sim 10^{10}/\mu\text{g}$ DNA 的转化子。

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

迄今为止已发现的许多质粒接合传递体系中，唯有 F 质粒研究得最为详细。F 质粒也称为性因子（sex factor），首先在大肠埃希菌中发现，单拷贝的接合性质粒，其分子质量为 94kb。在宿主菌内，F 质粒有三种不同的存在方式。F 质粒以染色体外质粒 DNA 形式存在，这种细菌称为雄性菌（ 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 $F^+ - F^-$ 配对接。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，两个菌细胞内均形成一双链 F 质粒， F^- 变成 F^+ ，也长出性菌毛（图 2-11）。

F 质粒还可以整合到细菌的染色体上，有可能引发宿主染色体发生高频率转移，故称为高频重组菌株（Hfr）。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 100min。由于细菌间的接合桥并不稳定，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

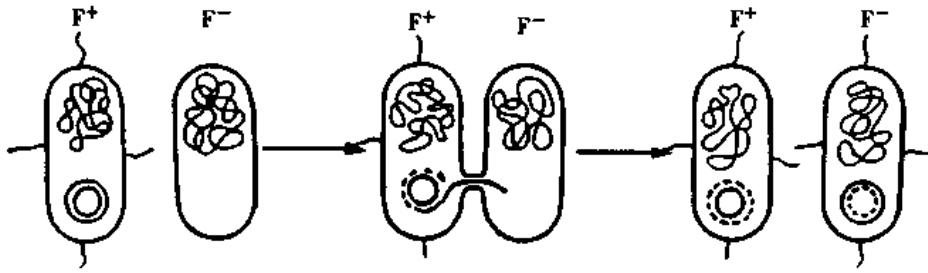


图 2-11 接合时 F 因子的转移与复制

后进入受体菌，故受体菌往往仍然是 F^- 。Jacob 应用间断配接 (interrupted mating) 试验，根据各基因进入受体菌的时间，绘制大肠埃希菌染色体的基因排序图。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。

细菌的接合作用是一个相当复杂的过程，F 质粒至少需要 25 种以上的转移基因编码产物的参与。这些基因成簇地聚集在长约 33kb 的转移区 (transfer region)，其编码产物具有完成 F 质粒接合转移的全部功能：①表面排斥，使质粒不会转移到 F^+ 菌中去；②性菌毛的合成与组装；③维持接合期间细菌配接对的稳定性；④切割解旋 DNA，并促使转移链进入受体菌。

非接合性质粒分子质量较小，不足以编码转移体系所需要的基因，因而不能自我接合传递。但如果在宿主细胞内存在着接合性质粒，那么它们也可以被诱动传递 (mobilization)。例如，大肠菌素质粒 $ColE1$ 从供体菌被诱动传递给受体菌的过程，需要质粒自己编码的两种基因参与。一个是位于 $ColE1$ DNA 上的特异位点 bom (有时也称 nic 位点)；另一个是 $ColE1$ 质粒产生的可以弥散的基因产物，即 $mobA$ 基因编码的核酸酶。当相容性的两种质粒 F 和 $ColE1$ 共存在同一菌细胞时， $ColE1$ 质粒的 mob 基因进行转录，其产物使 bom 位点发生单链断裂而出现缺口，于是 $ColE1$ 的构型由超螺旋型转变为缺口开环型。F 质粒编码性菌毛，为 $ColE1$ 提供它所缺乏的接合功能 (图 2-12)。

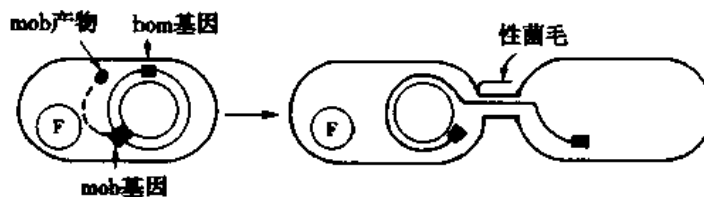


图 2-12 非接合性质粒 ($colE1$) 被 F 质粒诱动传递示意图

接合性耐药质粒一直被人们所关注，以 R100 的研究较详细。R100 为单拷贝，对氯霉素、链霉素、四环素和磺胺耐药。它是由两部分构成，一是耐药性传递因子 (resistance transfer factor, RTF)，能编码性菌毛，使 R100 以接合方式传递，另一是耐药决定子 (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。所以，携带耐药质粒的细菌可同时对多种抗菌药物耐药。接合性耐药质粒 (R 质

粒) 通过接合方式可以在同一种属细菌间或不同菌属间传递, 这在革兰阴性菌中更为突出。同样, R 质粒也可诱动非接合性耐药质粒传递。因此, 细菌耐药性会迅速传播, 使耐药菌株不断增加。

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。转导在革兰阳性菌和革兰阴性菌中均可发生。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) 前噬菌体从溶原菌染色体上脱离, 进行增殖, 装配成新的子代噬菌体时, 大约在 $10^5 \sim 10^7$ 装配中发生一次错误, 将供体菌 DNA 误装入噬菌体头部, 当它感染受体菌时, 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。转导比转化的转移 DNA 片段更大些, 而且包装在噬菌体蛋白质外壳内, 不被 DNA 酶降解, 故比转化的频率高。

转导过程包含着基因转移和基因重组。供体的 DNA 片段必须与受体菌的染色体重组, 并同染色体一起复制成为稳定的转导子, 称为完全转导。如果供体 DNA 片段不能重组到受体菌的染色体上, 那么由于它本身不具有独立复制功能, 随着细胞分裂, 供体 DNA 片段只能沿着单个细胞传递下去, 这种形式被称为流产转导 (abortive transduction) (图 2-13)。

普遍性转导是金黄色葡萄球菌中耐药性传递的主要方式, 在其他细菌中则发生率很低。由于噬菌体有宿主特异性, 故耐药性转导的现象仅能发生在同种细菌内。

2. 局限性转导 (restricted transduction) 局限性转导噬菌体是溶原菌经诱导后, 前噬菌体从宿主菌染色体

体切离时发生偏差交换而形成的。它只能将前噬菌体两旁的基因转移到受体菌, 使受体菌的遗传性状发生改变, 称为局限性转导或称特异性转导 (specialized transduction)。例如, 温和噬菌体 λ 感染大肠埃希菌, 其整合和切离均通过细菌染色体和 λ 噬菌体 DNA 上特定位点之间重组而实现, 这些特定位点称为附着位点, 简称 att, 位于染色体上半乳糖操纵子 (gal) 和生物素操纵子 (bio) 之间。所有 λ 噬菌体的附着位点都具有 3 个不同组分, 其中 O 表示共同核心, 噬菌体的附着位点写成 POP', 细菌附着位点写成 BOB', 在 att 处相互重组导致 λ 噬菌体 DNA 整合进宿主 DNA (图 2-14)。噬菌体溶原状态遭到破坏后, 其切离反应发生在 λ 噬菌体 DNA 两端的 BOP' 和 POB', 由此产生噬菌体环状 DNA 和细菌 DNA。但切离时可能发生偏差, 其几率为 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

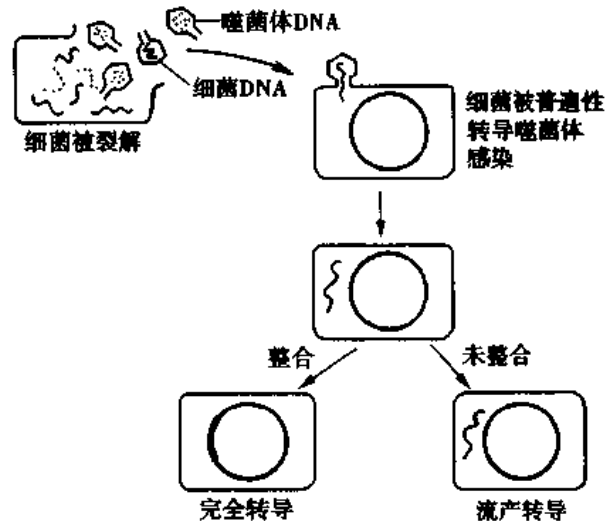


图 2-13 普遍性转导模式图

供体菌 DNA 带入受体菌。

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, 便可产生白喉外毒素。现已证明 β -棒状杆菌噬菌体携带编码白喉毒素的结构基因 *tox*, 但其表达受宿主菌生理代谢的影响和控制。白喉棒状杆菌可能合成一种无活性的阻遏蛋白, 在铁离子影响下成为有活性的共阻遏物。它与

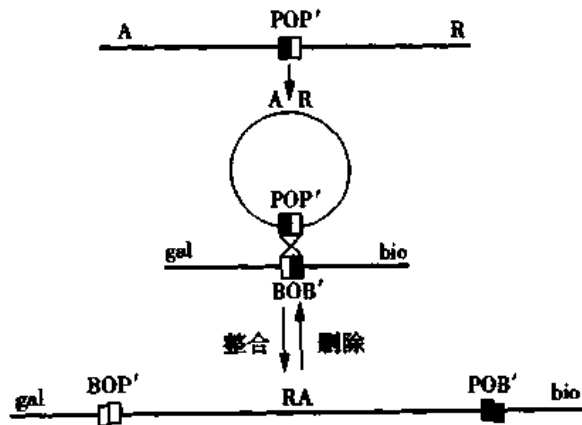


图 2-14 局限性转导模式图
BOB'代表细菌 DNA 的附着位点
POP'代表噬菌体 DNA 的附着位点

噬菌体的 *tox* 操纵子基因结合, 阻止 *tox* 基因的表达, 因而在含有不同铁离子浓度的培养基中毒素产量相差悬殊。此外, A 群链球菌产生红疹毒素, 金黄色葡萄球菌产生 α 溶血素、 δ 溶血素、肠毒素 A、肉毒梭菌产生 C、D 毒素等, 都是溶原性转换。

噬菌体表面抗原的转换在沙门菌属和志贺菌属中发现最多。例如, 噬菌体 ϵ 15 和 ϵ 34 分别与沙门菌属 O 抗原 15 和 34 的合成有关。福氏 4 α 型志贺菌株获得溶原性噬菌体 f28 与型 V 抗原合成有关。在铜绿假单胞菌、分枝杆菌、胎儿弯曲菌中也见到抗原结构的溶原性转换。

原生质体融合 原生质体融合 (protoplast fusion) 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。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, 是一种有价值的实验方法。

第四节 细菌遗传变异在医学上的应用

在诊断、治疗和预防方面的应用 细菌的变异可发生在形态结构、生化反应、抗原性和毒力等方面, 造成性状不典型, 常给细菌鉴定工作带来困难。例如, 细菌失去细胞壁形成的 L 型细菌, 用常规方法分离培养呈阴性, 必须采用含血清的高渗培养基培养 L 型细菌。又如分解乳糖的基因转移到沙门菌, 出现能够分解乳糖的伤寒沙门菌, 按常规细菌鉴定容易忽视。要充分了解细菌的变异现象和规律, 才能正确诊断细菌性感染疾病。

随着分子生物学技术的发展, 快速诊断方法用于细菌的鉴定。例如, 聚合酶链反应

(PCR)方法选择性体外扩增 DNA 片段,简便、敏感、特异性好,是利用核酸作细菌分类鉴定方法中最适用于细菌感染诊断的技术。PCR 方法扩增细菌进化过程中保守、稳定、具有种特异性的片段,可用于不易培养或生长缓慢细菌的鉴定,如结核分枝杆菌、嗜肺军团菌等。

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。此外,布鲁菌和鼠疫耶氏菌的减毒活疫苗均有效地用于布鲁菌感染和鼠疫的预防。

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,比较有待检物诱导的试验平板与无诱导物诱导的对照平板,凡能提高突变率,诱导菌落生长较多者,即有致癌的可能性。

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 (fingerprinting),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,确定某一感染爆发流行菌株或相关基因的来源,或调查医院内耐药质粒在不同细菌中的播散情况。

在基因工程方面的应用 基因工程是 70 年代以来在分子遗传学基础上发展起来的一门生物技术。它包括从复杂的生物体基因组中分离出带有目的基因的 DNA 片段;将其连接到能够自我复制的质粒、噬菌体或其他载体分子上,形成重组 DNA 分子;然后将重组 DNA 分子转移到受体菌 (或其他宿主细胞) 并进行筛选;使之实现功能表达,产生人类所需要的物质。这种技术意义相当重大,解决了一些天然合成或分离纯化十分困难且成本昂贵药物的生产,而在大肠埃希菌或其他生物体内得到有效的表达,例如重组胰岛素、干扰素、生长激素等的生产。此外,还用基因工程方法生产有效的新型疫苗,如乙型肝炎病毒表面抗原疫苗,为传染病的预防开辟新途径。

展 望

微生物遗传学的研究是从研究细菌开始的,并由此发展了分子遗传学和基因工程理论,现在完成的“人类基因组计划”也得益于细菌遗传学的发展。细菌具有生长速度快,便于取得基因型相同的大量细胞和突变型等优点,使其一直处于遗传学研究和发展的热点。

当前开展的微生物基因组序列测定与功能定位,可以从分子水平上了解细菌致病性

和耐药性产生的机制，为感染性疾病的防治和微生物资源的开发奠定了基础。阐明细菌接受外界刺激出现的细胞内信号传导过程及其基因转录调控的机制，还将会对高等生物的相关研究提供有益的借鉴，具有重要的理论价值，将会成为今后细菌遗传学研究的热点和前沿。

(陈锦英)

第三章 细菌的耐药性

抗菌药物 (antibacterial agents) 系指具有杀菌和抑菌活性、供全身应用的各种抗生素和化学合成的药物。其中, 抗生素 (antibiotics) 专指对特异微生物有杀灭和抑制作用的微生物产物; 后来将化学合成的仿制品及抗生素的半合成衍生物也统称为抗生素。显然, 抗菌药物的含义更广一些。

自 1935 年磺胺药作为最早发现的化学药物首次用于临床, 1940 年青霉素作为第一个抗生素问世以来, 各类新的抗菌药物层出不穷, 使许多威胁生命的感染性疾病有了特效的治疗, 同时也出现了细菌的耐药性问题, 日趋严重, 波及全球。如何克服细菌耐药性, 寻找对耐药菌具有高效、低毒、药理性能好的抗菌药物已成为当代医学研究的重点内容。它将涉及基础医学、临床医学、药政管理及抗菌药物的研制等诸多方面的相互配合, 具有重要的理论和实际意义。

第一节 抗菌药物的种类及其作用机制

一、抗菌药物的种类

抗菌药物的分类方法很多, 习惯上常按其化学结构和性质进行分类, 兹介绍如下。

β -内酰胺类 (β -lactams) 所有 β -内酰胺抗生素的化学结构中都含有 β -内酰胺环, 是这类抗生素的抗菌活性必不可少的结构。 β -内酰胺抗生素包括的种类较多, 其侧链的改变形成许多不同抗菌谱及各种临床药理学特性的抗生素。

1. 青霉素类 包括最早使用的青霉素 G, 具有耐酸、口服吸收良好特性的苯氧青霉素, 耐酶青霉素 (甲氧西林、苯唑青霉素), 广谱青霉素 (氨苄西林、阿莫西林、替卡西林等)。

2. 头孢菌素类 根据抗菌谱和对革兰阴性杆菌抗菌活性不同, 头孢菌素可以按“代”进行分类。第一代主要用于产青霉素酶的金黄色葡萄球菌和某些革兰阴性菌的感染, 如头孢唑啉、头孢拉定、头孢氨苄等。第二代对革兰阴性菌的作用较第一代增强, 如头孢孟多、头孢呋新等。第三代对多种 β -内酰胺酶稳定, 对革兰阴性菌和铜绿假单胞菌有良好的作用, 如头孢噻肟、头孢三嗪、头孢他啶、头孢哌酮等。

3. 头霉素 如头孢西丁 (也称头霉甲氧噻吩)。

4. 单环 β -内酰胺类 如氨曲南、卡卢莫南。

5. 碳青霉烯类 如亚胺配能 (也称亚胺硫霉素)。亚胺配能与西司他丁合用称为泰能。

6. β -内酰胺酶抑制剂 如克拉维酸（也称棒酸）、青霉烷砜（也称舒巴坦），它们具有弱的抗菌活性，能与 β -内酰胺酶发生不可逆的反应后使酶失活。

大环内酯类（macrolides）包括红霉素、螺旋霉素、交沙霉素、罗红霉素、阿齐霉素等。

氨基糖甙类（aminoglycosides）包括链霉素、庆大霉素、卡那霉素、妥布霉素、阿米卡星等。

四环素类（tetracyclines）包括四环素、多西环素（也称强力霉素）、二甲胺四环素等。

氯霉素类（chloramphenicol）包括氯霉素、甲砷霉素。

化学合成的抗菌药物 主要有磺胺类和喹诺酮（fluroquinolones）。前者有磺胺嘧啶（SD）、磺胺甲噁唑（SMZ）、甲氧苄胺嘧啶（TMP），复方新诺明（SMZco）等。喹诺酮类包括吡哌酸、氟哌酸、环丙沙星、氧氟沙星、依诺沙星、培氟沙星、洛美沙星等。

其它 抗结核药物包括利福平、异烟肼、乙胺丁醇、吡嗪酰胺等。多肽类抗生素包括多粘菌素类、万古霉素、杆菌肽。林可霉素和克林霉素等。

二、抗菌药物的作用机制

抗菌药物必须对病原菌具有较强的选择性毒性作用，对病人不造成损害。根据对病原菌作用的特殊靶位不同，将抗菌药物的作用机制分为四类（表3-1）。对抗菌药物机制的了解，是临床合理选用抗菌药物和细菌耐药性研究的基础。

表3-1 抗菌药物的主要作用部位

细胞壁	细胞膜渗透性	细胞蛋白质合成	核酸合成
β -内酰胺类	多粘菌素类	氯霉素	磺胺药
万古霉素	两性霉素B	四环素类	甲氧苄胺嘧啶
杆菌肽	制霉菌素	红霉素	利福平
环丝氨酸	酮康唑	林可霉素类	喹诺酮类
		氨基糖甙类	

干扰细菌细胞壁的合成 细菌（除支原体外）具有哺乳动物所没有的细胞壁，革兰阳性和革兰阴性细菌细胞壁的组成不尽相同，其主要组分均有肽聚糖。在革兰阳性菌的肽聚糖层中穿插有大量的磷壁酸，革兰阴性菌肽聚糖层外尚有外膜。

肽聚糖的生物合成是一个复杂的过程，以金黄色葡萄球菌为例，分三步进行：

1. 二磷酸尿嘧啶核苷-N-乙酰葡萄糖胺（UDP-NAG）及二磷酸尿嘧啶核苷-N-乙酰胞壁酸五肽（UDP-NAMA-五肽）的生成 UDP-NAG由糖发酵中间产物果糖-6-磷酸生成，然后与磷酸烯醇丙酮酸结合后形成，UDP-NAMA，再依次加入L-Ala、D-Glu、L-Lys及D-Ala-D-Ala而形成UDP-NAMA-五肽。肽聚糖合成的第一步在细胞质内进行。

2. 线性二糖-十肽的合成 磷脂载体将UDP-NAMA-五肽从细胞质送到细胞膜上，先与UDP-NAG形成二糖-五肽磷脂，然后再与5个甘氨酸连接形成二糖-十

肽-磷脂。磷脂载体将二糖-十肽运送到细胞膜外侧并交联到细胞壁受体的生长点上，插入到预先存在的细胞壁肽聚糖链中，载体重新在膜内进行运载工作。

3. 肽聚糖的交叉连结在细胞膜外完成 在转肽酶的催化下，二糖-十肽中的第5个D-Ala被释放后，第4个D-Ala残基通过羧基端与另一条肽聚糖链Gly末端的氨基结合，使两条肽聚糖链发生交叉连结。

环丝氨酸的结构与D-Ala相似，因而可以作为结构类似物，抑制L-Ala转化为D-Ala的异构酶活性以及D-Ala-D-Ala连结时的D-丙氨酸合成酶的作用。杆菌肽抑制肽聚糖合成的第二步，阻止细胞膜上脂质载体的再生，因而引致UDP-NAMA-五肽在细胞质内堆积，影响细胞壁的合成。万古霉素主要抑制肽聚糖合成的第二步，确切机制尚未完全阐明。

β -内酰胺类抗生素主要抑制肽聚糖合成的第三步，抑制交联中所需的转肽酶反应，阻止肽聚糖链的交叉连结，使细菌无法形成坚韧的细胞壁。细胞失去细胞壁的保护作用，在相对低渗环境中变形、裂解而死亡。

β -内酰胺抗生素可以与细胞膜上的一组蛋白质共价结合，称其为青霉素结合蛋白(penicillin-binding proteins, PBPs)。这类蛋白质参与细胞壁肽聚糖的合成，为青霉素作用的主要靶位。将菌细胞膜提取物与 $[^{14}\text{C}]$ -青霉素一起孵育，然后经过SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳和放射自显影可以检测PBPs，并进行定量。PBPs约占膜蛋白总量的1%。对于某一种细菌，PBPs排列按分子质量从大到小为顺序，分类学上相关的细菌具有相似的PBP谱，无关细菌相应的排列数字的PBPs之间不一定有关。研究表明，PBPs可分为两大类，一类为低分子质量PBPs(4 000~5 000)，主要与DD-羧肽酶活性有关，影响细胞的分裂和形态改变，对细菌生存似乎不是必需的。另一类为高分子质量PBPs(60 000~140 000)，具有转肽酶(transpeptidase)和转糖基酶(transglycosylase)活性，对细菌的生存是必需的。大肠埃希菌有7种PBP，青霉素与PBPIa和PBPIb结合造成细菌迅速溶解，而与PBP2和PBP3结合使细菌分别变成不稳定的球形体和丝状体，最终引起细菌死亡。PBP4~6与抗生素结合后没有任何形态改变，不会导致细菌死亡。金黄色葡萄球菌有4种PBP，主要功能在PBP1~3。

影响细胞膜的功能 多粘菌素类的分子有两极性，亲水性端与细胞膜的蛋白质部分结合，亲脂性端与细胞膜内磷脂相结合，使细胞膜裂开，导致细胞内成分外漏，细菌死亡。两性霉素B和制霉菌素与真菌细胞膜上的固醇类结合，酮康唑抑制真菌细胞膜中固醇类的生物合成，使细胞膜通透性增加。细菌细胞膜缺乏固醇类，故作用于真菌的药物对细菌无效。

影响蛋白质的合成 细菌与哺乳动物细胞合成蛋白质的过程基本相同，两者最大的区别是核糖体的结构和组成不同，这就为抗生素的选择性毒性作用提供了条件。许多抗生素均可影响细菌蛋白质的合成，但作用部位及作用阶段不完全相同。氨基糖甙类及四环素类主要作用于30S亚单位，氯霉素、红霉素和林可霉素类则主要作用于50S亚单位。

影响核酸代谢的药物 利福平可与依赖于DNA的RNA多聚酶结合，从而抑制mRNA的转录。喹诺酮类药物主要作用于细菌DNA复制过程中的DNA旋转酶(gy-

rase) 而抑制细菌繁殖。哺乳动物细胞的 DNA 旋转酶的结构功能与细菌的 DNA 旋转酶不同, 因此不受喹诺酮类药物的影响。磺胺类药物与对氨基苯甲酸 (PABA) 的化学结构相似, 二者竞争二氢叶酸合成酶, 使二氢叶酸合成减少; 或磺胺药代替 PABA 后形成无效化合物, 影响核酸的合成, 抑制细菌生长繁殖。甲氧苄胺嘧啶 (TMP) 与二氢叶酸分子中的蝶啶相似, 能竞争抑制二氢叶酸还原酶, 使四氢叶酸的生成受到抑制。因此, TMP 与磺胺药合用 (如复方新诺明) 有协同作用。

第二节 细菌的耐药性

一、药物敏感试验

细菌对抗菌药物的敏感程度可以通过测定抗菌药物在体外对某种细菌有无抑制作用的方法称为药物敏感试验 (药敏)。

药敏测定方法

1. 稀释法 以一定浓度的抗菌药物与含有被测菌株的培养基进行一系列的不同倍数稀释。经培养后观察其最低抑菌浓度, 包括试管稀释法、微量稀释法、琼脂稀释法。

2. 扩散法 (纸片法) 将浸有抗菌药物的纸片贴在涂有细菌的琼脂平板上, 抗菌药物在琼脂内向四周扩散, 其浓度呈梯度递减, 因此在纸片周围一定距离内的细菌生长受到抑制, 经培养后形成一个抑菌圈, 其直径大小与药物浓度的对数成线性关系。世界卫生组织推荐以 Kirby - Bauer (K - B) 法作为标准化的纸片法。

药敏结果的判断 稀释法药敏结果的判断有的以抑制细菌生长为标准, 常用最低抑菌浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC) 表示; 有的以杀灭细菌为评定标准, 使活菌总数减少 99.9% 以上, 称为最低杀菌浓度 (minimal bactericidal concentration, MBC)。在一批试验中能抑制 50% 或 90% 受试菌所需 MIC 分别称为 MIC₅₀ 和 MIC₉₀。通常根据抗菌药物抑制细菌生长所需 MIC, 结合药物常用剂量所能达到的血药浓度, 判定细菌对各种抗菌药物敏感或耐药的界限, 称为“临界浓度 (break points)”。

采用 K - B 法测定时, 结果的判断依照美国国家临床实验室标准委员会 (NCCLS) 推荐的标准, 以三级划分法。

1. 敏感 (susceptibility) 指被测菌株所引起的感染可以用常用剂量的该抗菌药物治疗有效。

2. 中介 (intermediate) 指被测菌株的 MIC 与该抗菌药物常用剂量所能达到的血液和组织浓度相近, 故用于该菌株所致药物能够被生理性浓集部位 (如泌尿道、胆囊) 的感染或提高药物剂量 (如 β -内酰胺类) 治疗有效。另外, 中介也包括被测菌株抑菌圈的直径介于敏感和耐药之间的“缓冲域 (buffer zone)”, 以防止由于微小的技术因素失控引起较大的结果解释错误。中介结果意义不明确, 应慎重处理。

3. 耐药 (resistance) 指被测菌株不能被该抗菌药物常用剂量达到的血药浓度所抑制, 临床治疗无效。

二、细菌耐药性的遗传机制

从遗传学的角度，细菌耐药性可分为固有耐药性 (intrinsic resistance) 和获得耐药性 (acquired resistance)。前者指细菌对某些抗菌药物的天然不敏感，故也称为天然耐药性；后者指由于细菌 DNA 的改变导致其获得了耐药性的表型。

固有耐药性 细菌对某种抗菌药物的固有耐药性是始终如一的，是细菌的种属特性所决定的。抗菌药物对细菌能够起作用首要的条件是细菌必须具有药物的靶位。例如，两性霉素 B 能够与真菌细胞膜的固醇类结合，改变其通透性，而起到抗真菌的作用。细菌细胞膜缺乏固醇类，故对两性霉素 B 属于固有耐药性。同样，革兰阴性菌具有外膜通透性屏障，决定了这类细菌对多种药物不敏感。固有耐药性是可以推测可行的。

获得耐药性 正常情况下对药物敏感的细菌群体中出现了对抗菌药物的耐药性是获得耐药性与固有耐药性的重要区别。影响获得耐药性发生率的三个因素：药物使用的剂量、细菌耐药的自发突变率和质粒介导耐药性的优劣地位。

1. 染色体突变 (chromosomal mutation) 所有的细菌群体都会经常发生自发的随机突变，只是频率很低，其中有些突变赋予细菌耐药性。突变的频率与抗菌药物的使用无关，但药物存在形成的选择性压力则有利于耐药突变株的存活，最终成为优势群体。例如，链霉素的作用靶位是细菌核糖体 30S 亚基上的 P12 蛋白，当细菌染色体上的 *str* 基因突变后，P12 蛋白的构型发生改变，使药物不能与其结合产生了耐药性。上述情况在临床上并不多见，然而染色体突变在结核病的治疗过程中就显得非常重要。病人治疗前就存在对链霉素、利福平或异烟肼单一药物耐药的突变株，但对 3 种药物同时耐药的几率极小。因此，如果只使用一种药物治疗，少数的耐药株会很快繁殖，导致结核病的治疗失败。然而，联合用药时，每种药物都可以杀死对其它药物耐药的突变株。

2. 质粒介导的耐药性 (plasmid-mediated resistance) 1955 年日本首先分离出对磺胺、氯霉素、链霉素和四环素同时耐药的志贺菌。之后在短短的几年内，从病人分离的菌株绝大多数是这种多重耐药菌株，这种现象难以用自发突变来解释。1959 年 Akiba 和 Ochiai 分别试验，将具有多重耐药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，首次证实了 R 质粒的接合传递。此后，在世界各地都报道了耐药质粒的普遍存在和广泛传播。

耐药质粒广泛存在于革兰阳性和革兰阴性细菌中，几乎所有致病菌均可有耐药质粒。它们在菌细胞之间可以通过接合、转导和转化的方式进行传递。环境中抗生素形成的选择性压力有利于耐药质粒的播散和耐药菌株的存活。R 质粒在肠道菌中更为常见，推测其演变过程可能是耐药传递因子 (RTF) 与耐药性基因或非接合性耐药质粒结合形成多重耐药的接合性质粒。转座子的参与加速了 R 质粒的进化过程。由多重耐药菌株所致的感染给临床治疗带来极大的困难。

三、细菌耐药性的生化机制

细菌对于药物产生抗性的过程也就是染色体或质粒上基因的表达过程。细菌获得耐

药性可以通过产生钝化酶、改变药物的作用靶位、改变细胞壁的屏障功能或主动外排机制来实现。

钝化酶的产生 耐药菌株通过合成某种钝化酶 (modified enzyme) 作用于抗菌药物, 使其失去抗菌活性。重要的钝化酶有以下几种:

1. β -内酰胺酶 (β -lactamase) 对青霉素类和头孢菌素类耐药的菌株产生 β -内酰胺酶, 可以特异性的打开药物分子结构中的 β -内酰胺环, 使其完全失去抗菌活性, 有人也称其为灭活酶 (inactivated enzyme)。根据水解底物的不同, 有时也将 β -内酰胺酶分为青霉素酶 (penicillinase) 和头孢菌素酶 (cephalosporinase)。一般来讲, 革兰阳性菌的 β -内酰胺酶为胞外酶, 革兰阴性的 β -内酰胺酶位于周浆间隙内。 β -内酰胺酶可以是细菌染色体编码, 也可以是质粒编码。自 1940 年首次发现水解青霉素的 β -内酰胺酶以来至今已报道 β -内酰胺酶达 190 多种, 其分类方法也在不断改进。1970 年 Jack 和 Richmond 首次将肠道菌产生的 β -内酰胺酶分为 8 个类型。1973 年 Richmond 和 Sykes 在此基础上修改后将其分为 V 类, 每类又进一步分型。1980 年 Ambler 首次提出根据 β -内酰胺酶的氨基酸结构序列同源性的新分类系统, 将所有来源的 β -内酰胺酶分为四类。A 类酶活性部位为丝氨酸残基; B 类酶其活性需要金属辅助因子 (Zn^{++}); C 类酶是肠道菌染色体编码的头孢菌素酶, 活性部位也为丝氨酸; D 类酶为 OXA 型邻氯青霉素酶。90 年代以来应用的 Bush - Jacoby - Medeiros 分类法 (简称 Bush 法), 即在底物特异性和抑制物敏感性的基础上, 结合 Ambler 分类法建立的, 将 β -内酰胺酶分为四类, 其中 I、II 型最为常见, III、IV 类较为少见 (表 3-2)。

表 3-2 β -内酰胺酶分类

功能分类 (Bush 法)	结构分类 (Ambler 法)	名称	来源	代表酶
1	C	头孢菌素类	染色体	AmpC
2a	A	青霉素酶	质粒	PC1
2b	A	广谱酶	质粒	TEM-1,2,SHV-1
2be	A	超广谱酶(ESBLs)	质粒	TEM3-29, SHV2-6
2br	A	耐酶抑制剂广谱酶	质粒	TEM30-61,TRC-1
2c	A	羧苄青霉素酶	质粒	PSE-1,CARB-3
2d	D	邻氯青霉素酶	质粒	OXA-1,PSE-2
2e	A	头孢菌素酶	染色体	Cxase
2f	A	非金属碳青霉烯酶	染色体	IMI-1,NMC-A,Sme-1
3	B	金属酶	染色体	L1
4	?	青霉素酶	染色体	SAR-2

2. 氨基糖甙类钝化酶 (aminoglycoside - modified enzymes) 对氨基糖甙类药物质粒介导的耐药机制是通过羧基磷酸化 (磷酸转移酶, phosphotransferase)、氨基乙酰化 (乙酰转移酶, acetyl transferase) 或羧基腺苷酰化 (腺苷转移酶, adenylyl transferase) 的

作用，而使这类药物的分子结构发生改变，失去抗菌作用。根据药物的种类不同和作用的部位不同，每类钝化酶又可分为许多种。一种氨基糖甙类抗生素可被多种钝化酶所作用，同一种酶又可作用于几种结构相似的药物。已发现的氨基糖甙类钝化酶有 22 种之多，由于氨基糖甙类抗生素结构相似，故常出现明显的交叉耐药现象。

3. 氯霉素乙酰转移酶 (chloramphenicol acetyl transferase) 该酶由质粒编码，使氯霉素乙酰化而失去抗菌活性。

药物作用靶位的改变 红霉素的作用靶位是细菌核糖体上 50S 亚基的 L4 和 L12 蛋白，当染色体上的 *ery* 基因突变使该蛋白改变，便影响了红霉素的结合而出现耐药性。金黄色葡萄球菌携带的耐药性质粒编码产生一种甲基化酶，可使 50S 亚基中的 23S rRNA 上的嘌呤甲基化，从而产生对红霉素的耐药性。有的细菌可使靶位酶发生改变，使其不易为抗菌药物所作用，如细菌可改变其体内的二氢叶酸合成酶，使该酶与磺胺药的亲和力大为降低而引起对磺胺药耐药。细菌还可以复制靶位而获得对某些抗菌药物的耐药性，例如青霉素结合蛋白 (PBPs) 具有酶活性，参与细胞壁的合成，是 β -内酰胺类抗生素的作用靶位，细菌能够改变 PBPs 的结构或产生一种新的低亲和力的 PBP，导致耐药。这种 PBPs 介导的耐药性在肺炎链球菌、淋病奈瑟菌、葡萄球菌等均有报道，其中最常见的是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)。MRSA 菌株除了正常存在的 PBP1~4 外，尚有一种新的 PBP 称为 PBP2' 或 PBP2a，由染色体 *mecA* 基因编码，具有转肽酶和转糖基酶活性。PBP2a 与 β -内酰胺类抗生素的亲和力低，在高浓度抗生素存在时，正常 PBPs 失活，此时 PBP2a 可代替正常 PBPs 的功能，参与细胞壁肽聚糖的合成，从而使细菌表现出对甲氧西林的耐药性。

DNA 旋转酶是喹诺酮类药物作用的靶位。细菌的 DNA 旋转酶是一种 II 型拓扑异构酶，由 2 个 A 亚基和 2 个 B 亚基组成四聚体，分别由 *gyrA* 和 *gyrB* 编码。大肠埃希菌 *gyrA* 基因发生突变引起酶结构的改变，阻止喹诺酮类药物进入靶位，可以造成喹诺酮类所有药物的交叉耐药。

细胞壁通透性的改变和主动外排机制 某些革兰阴性菌对一些结构互不相同的药物 (如 β -内酰胺类抗生素、喹诺酮类药物、氯霉素、四环素等) 产生非特异性低水平的耐药，而主动外排系统可因基因突变而进一步提高耐药水平。

革兰阴性菌细胞壁外膜屏障作用是由一类孔蛋白 (porin) 所决定的。大肠埃希菌有两个主要的孔蛋白，OmpF 和 OmpC，正常情况下的孔径分别为 1.16nm 和 1.08nm，排斥限度 (exclusion limit) 为 ≤ 600 道尔顿，每个菌细胞外膜约含 105 个孔蛋白通道。细菌的突变可以造成孔蛋白的丢失或降低其表达均会影响药物从细胞外向细胞内的运输。铜绿假单胞菌对抗生素的通透性比其它革兰阴性菌差是该菌对多种抗生素固有耐药的主要原因之一。在铜绿假单胞菌中存在着能将四环素、 β -内酰胺类抗生素和喹诺酮类药物从胞内排出胞外的主动外排机制，也是该菌固有耐药的另一重要原因。已发现铜绿假单胞菌存在三种不同的外排系统，nalB 型、nfxB 型和 nfxC 型，各型的耐药谱有一定的差异，野生株中仅发现 nalB 系统呈低水平表达。另外，在大肠埃希菌中最早发现的是四环素主动外排系统，由质粒编码一种细胞膜 Tet 蛋白，其合成受四环素诱导，能量

抑制剂能增加耐药菌对四环素的摄取。还发现在大肠埃希菌和其他革兰阴性菌的染色体上有多重耐药 (multiple antibiotic resistance, mar) 操纵子。在敏感的大肠埃希菌中就存在 mar, 某些药物可导致染色体发生突变使 mar 基因受阻遏, 表现出对多种结构无关的抗菌药物的高度耐药。mar 耐药机制为外膜对药物通透性下降, 同时主动外排活动加强, 但对 mar 基因调控的研究有待进一步深入。

四、细菌耐药性的防治

合理使用抗菌药物 加强细菌耐药性的监测, 掌握重要致病菌对抗菌药物敏感性的资料, 供临床选用抗菌药物参考。病人用药前应尽可能进行病原学检测, 并进行药敏试验, 作为调整用药的参考。用药疗程应尽量缩短, 一种抗菌药物可以控制的感染则不任意采用多种药物联合。严格掌握抗菌药物的局部应用、预防应用和联合用药, 避免滥用。

严格执行消毒隔离制度 对耐药菌感染的患者应予隔离, 防止耐药菌的交叉感染。医院中医务人员应定期检查带菌情况, 以免传播医院内感染。

加强药政管理 必须规定抗菌药物凭处方供应。农牧业应尽量避免供临床应用的抗菌药物作为动物生长促进剂或用于牲畜的治疗, 以避免对医用抗菌药物产生耐药性。细菌耐药性一旦产生后, 在停用有关药物一段时期后敏感性有可能逐步恢复。因此, 根据细菌耐药性的变迁, 有计划地将抗菌药物分期分批交替使用, 可能对细菌耐药性的控制有一定作用。

新抗菌药物和质粒消除剂的研制 根据细菌耐药性的机制及其与抗菌药物结构的关系, 寻找和研制具有抗菌活性, 尤其对耐药菌有活性的新抗菌药物; 同时针对耐药菌产生的钝化酶, 寻找有效的酶抑制剂。耐药性质粒在细菌耐药性的产生和传播方面占有重要的地位, 筛选可用于人体的质粒消除剂或防止耐药性转移的药物也是努力的方面。总之, 控制细菌耐药性是一项综合性较强、涉及面较广、难度较大的工作, 需要长期不懈地努力。

展 望

实践证明, 抗菌药物的发展和细菌耐药性的研究在感染性疾病的治疗和控制中是一个永恒的课题。细菌耐药机制的研究涉及细菌的结构、生理代谢、遗传学、药理学等多个学科, 随着这些学科的发展, 使耐药性的研究深入到分子水平, 藉此作为抗菌药物筛选和改造的依据。对细菌耐药性本质和规律的认识, 有利于细菌耐药性防治措施的制定, 这是一项长期、复杂、艰巨的工作。

(陈锦英)

第四章 细菌的感染与致病机制

细菌等微生物在宿主体内与宿主防御机制相互作用并引起不同程度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。来自宿主体外的微生物的感染则为传染。传染主要指有毒力的细菌或其他微生物,通过一定方式从一宿主个体到另一宿主的感染。细菌、病毒等微生物有的只对人有致病性,有的只对动植物有致病性,有的则对人和动物均可感染。但微生物的致病性或感染是否发生是相对宿主机体而言,反映了复杂的微生物与宿主的相互关系,并与多种因素有关,因此病原微生物或病原体 (pathogens) 是一个相对的概念。

事实上,微生物与人类及动物等宿主机体之间在漫长的进化历史中从来没有停止过斗争,并已形成了相互适应、相互依存又相互斗争的关系,感染是微生物同宿主相互斗争的一种生命现象。宿主机体的免疫防御机制是在同微生物的斗争中逐步形成的,感染的发生、发展与结局主要取决于宿主的免疫防御功能。20世纪70年代以来,许多传染病在得到有效的治疗和控制的同,微生物的感染又不断出现新的变化,例如以前认为不致病的或毒力弱的细菌现已逐渐成为常见的致病菌,这些细菌往往来自宿主体内的正常菌群;新现与再现感染 (emerging and re-emerging infection);以细菌为突出的微生物耐药性问题等。这些新的变化已被认为与人类行为直接或间接相关。快速发展的人类文明亦影响着微生物与宿主个体的自然结构关系的变迁。

随着现代免疫学、生物化学、细胞生物学等相关生命科学领域的发展,特别是分子生物学技术在医学微生物学中的广泛应用,细菌等原核细胞型微生物的致病机制不断被揭示和了解,从而为临床感染的诊断和防治奠定了基础。

第一节 细菌的感染

一、感染的来源

来源于宿主体外的感染称外源性感染 (exogenous infection),主要见于较强或强毒力的病原菌引起的传染病;来自病人自身体内或体表的细菌引起的感染称内源性感染 (endogenous infection)。

(一) 外源性感染

传染源 ①病人:是传染病的主要来源,通过多种方式在人与人之间传播。病人感染后从潜伏期一直到病后的一段恢复期均可通过接触或受染的环境传给周围正常人。及早对患者作出诊断并采取防治措施对控制外源性感染有重要意义。②带菌者:恢复期传染病患者、携带有某致病菌但未出现临床症状的健康人,其体内病原菌可停留一定时

间，与人体免疫力处于相对平衡状态，这些处于带菌状态的人称为带菌者（carrier）。由于带菌者没有临床症状，既不易被周围人注意，又不被自身察觉，因此是重要的传染源，其危害性高于病人。因此，及时检出带菌者并进行治疗或隔离，对控制和消灭传染病的流行有重要意义，如流行性脑膜炎、伤寒、细菌性痢疾等。③患病及带菌动物：某些细菌可引起人兽共患病，因而患病或带菌动物的病原菌可传染给人，例如鼠疫耶氏菌、炭疽杆菌、布鲁菌、牛型结核杆菌及引起食物中毒的沙门菌等。

传播方式与途径 ①经粘膜感染：病原菌从病人、带菌者可经痰液、唾液等分泌物，通过接触或气溶胶、空气飞沫及沾有病原菌的尘埃等方式进入呼吸道引起感染。呼吸道感染引起的疾病有肺结核、白喉、百日咳、军团菌等；某些病原菌以消化道为入侵门户引起感染，如伤寒、霍乱、细菌性痢疾、食物中毒等胃肠感染，大多因食物、饮料被患者及带菌者的粪便等排泄物污染后摄入消化道引起。水、手指和苍蝇等昆虫是消化道传播的重要媒介。泌尿生殖道粘膜也是易于被某些细菌感染的途径。如大肠埃希菌某些型、淋病奈瑟菌、梅毒螺旋体、解脲脲原体等。粘膜感染有两种情况，有的病原菌一般只在局部表面引起感染，不进入组织内部；另一些则先在局部轻微感染，再进入宿主粘膜以内的生理环境中到达其他组织器官，引起感染。主要通过血流扩散到体内其他部位。②创伤感染：任何原因引起的皮肤、粘膜的创伤或破损，即使轻微的损伤均可引起感染，如致病性葡萄球菌、链球菌等常可引起化脓性感染。泥土、人和动物粪便中可有破伤风梭菌、气性坏疽病原菌等的芽胞，当芽胞进入深部伤口、微环境适宜时发芽、繁殖、产生毒素而致病。此外节肢动物叮咬也是一种创伤感染，如鼠疫由鼠蚤传播，恙虫病由恙螨虫传播等。现今许多先进的诊疗技术的操作也可因创伤而导致感染。③多途径感染：某些细菌可经多途径感染如结核分枝杆菌、炭疽杆菌等细菌可经皮肤、呼吸道、消化道感染。

（二）内源性感染

主要指来自于体内正常菌群及少数曾感染过而潜伏下来的细菌又重新感染，例如结核分枝杆菌。内源性感染已逐步成为现今临床细菌感染中的多发病、常见病，是细菌感染的新动向，其感染具有条件依赖性。当大量使用抗生素导致菌群失调以及各种原因导致机体免疫防御功能下降时常引起感染，如婴幼儿、老年人、晚期癌症患者、艾滋病患者、器官移植等使用免疫抑制剂者均易发生内源性感染。内源性感染也是医院内感染的常见现象之一。

二、感染的类型

感染的发生、发展与结局或转归，是宿主机体同病原菌在一定条件下相互作用的错综复杂的过程，是病原菌以其毒力和宿主免疫力双方面对压力的自我保护性矛盾冲突。这也是微生物引起宏生物（人和动物等）感染的普遍规律。在宿主免疫力相对恒定情况下，感染的发生与细菌的毒力、侵入的数量和门户三大因素均密切相关，但毒力是关键。根据两者力量的对比，临床上有不同类型的感染。

隐性感染 当机体抗感染免疫力较强或入侵的细菌数量不多、毒力较弱，感染后损害较轻，使机体不出现或出现不明显的临床症状，称为隐性感染（inapparent infection）

或亚临床感染 (subclinical infection)。隐性感染和正常微生物群在体内的寄生与宿主体免疫力有重要关系。一般在一次传染病的流行中, 感染的人群 90% 以上为隐性感染, 如结核等。有的细菌在感染恢复后又潜伏下来, 一旦免疫力下降又重新感染, 这种情况在细菌感染极少, 不如病毒潜伏感染多见, 如疱疹病毒感染。

显性感染 当病原菌毒力强, 数量多且宿主体抗感染免疫力相对较弱, 或因感染强毒性新的细菌克隆而机体缺乏特异性免疫力时, 病原菌在入侵后会生长繁殖并引起不同程度的组织细胞损伤, 导致病理生理变化出现临床症状或体征, 为显性感染 (apparent infection)。显性感染如果是由宿主体外具有传染性的病原菌引起, 并具有一定临床症状候则为传染病 (infectious disease)。而内源性感染引起的疾病一般不属于传染病。

由于不同人的免疫力及病原菌毒力及菌种、菌型等的差异, 以及细菌与宿主之间复杂的关系, 显性感染又有轻重缓急之分。据此临床上又分为急性感染 (acute infection) 和慢性感染。急性感染表现为发作突然, 症状明显, 但一般病程较短, 一般持续数日至数周。病愈后, 传染的病原菌从体内消失, 而内源性急性感染的细菌则不一定消失。急性感染所致疾病有流行性脑膜炎、霍乱、产毒性大肠杆菌及痢疾志贺菌所致的腹泻、A 群链球菌所致急性咽喉炎、大肠埃希菌引起的急性尿路感染等。细菌性感染大多为急性感染并见于胞外菌。慢性感染病情缓慢、病程长, 可持续数月至数年。少数胞内寄生菌通常引起慢性感染, 例如结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌等。

临床上按感染的不同部位又有局部感染 (local infection) 和全身感染 (generalized or systemic infection) 之分。病原菌感染局限于某一部位, 如化脓性球菌所致的疖、痈等。全身感染多见于胞外菌急性感染。感染发生后, 病原菌及其毒性代谢产物通过血液向全身播散引起全身急性症状。临床上全身感染常见有下列几种情况:

毒血症 (toxemia): 产外毒素的病原菌在局部组织中生长繁殖, 只有外毒素进入血循环, 并损害特定靶器官、组织所出现的特征性的毒性症状。例如白喉、破伤风等。

败血症 (septicemia): 病原菌侵入血液并在其中大量生长繁殖、产生的毒性代谢产物包括外毒素或内毒素等毒力因子所引起的全身性严重中毒的症状。革兰阳性和革兰阴性菌群均可引起。症状主要有高热、皮肤和粘膜淤血、肝脾肿大、甚至肾衰竭等。

菌血症 (bacteremia): 病原菌由局部侵入血流, 未在其中生长繁殖或极少量繁殖, 引起的症状轻微。此种情况见于某些细菌在体内的播散过程, 细菌只短暂出现于血流中, 如脑膜炎奈瑟菌、伤寒杆菌第一次进入血流。

脓毒血症 (pyemia): 化脓性细菌侵入血流后, 在其中大量繁殖, 并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所引起的症状, 例如金黄色葡萄球菌脓毒血症, 常引起多发性肝脓肿、皮下脓肿、肾脓肿、肺脓肿等。

内毒素血症 (endotoxemia): 革兰阴性细菌在宿主体内感染使血液中出现内毒素引起的症状。其症状可轻可重, 因血液中内毒素量的不同而异, 轻则仅发热或伴轻微不适, 重则出现严重症状, DIC、休克、甚至死亡。重症产生于血液中急剧出现大量内毒素, 如革兰阴性细菌在血液中大量繁殖、死亡分解释放大量内毒素, 或革兰阴性菌在局部生长繁殖后, 分解释放大量内毒素进入血液, 如小儿急性中毒性菌痢。

上述细菌的全身感染，除菌血症外几乎都是重症，其危害性极大。

第二节 细菌的致病机制

一、细菌的致病性

能感染或引起宿主疾病的细菌称致病菌或病原菌 (pathogen)，其致病的性质为致病性或病原性 (pathogenicity)。细菌的致病性相对宿主而存在，只有在感染或致病时才表现出来，且具有种的特征，如伤寒沙门菌引起伤寒，痢疾志贺菌引起痢疾；细菌的致病性有强弱之分。在一定的宿主免疫防御机能状态中，细菌感染的发生、发展与结局可以不同，反映了细菌的致病能力。不同种类的细菌、同种不同型或株其致病力可有差异。这种致病能力的强弱程度称为细菌的毒力 (virulence)，是细菌致病性量的概念。

细菌的毒力主要表现为两个方面，一是细菌是否具有突破宿主机体的免疫防御机制，并在宿主生理环境中定居、生长繁殖和扩散的能力，称为侵袭力 (invasiveness)。二是损伤宿主机体组织细胞或器官、引起生理病理变化的致病物质，包括菌细胞的特殊结构和有关生物大分子成分。这些致病物质统称为毒力因子 (toxic factor)。毒力因子是细菌致病性的物质基础。

二、细菌的毒力因子

细菌的毒力因子包括与细菌侵袭力有关的菌细胞表层结构物质、侵袭性酶蛋白和细菌毒素。

(一) 菌体结构物质

1. 表层粘附性结构及物质 粘附是微生物与宿主发生关系的初始阶段带有普遍性的生物学现象，是与宿主接触和感染的第一步，与致病性密切相关。具有粘附作用的细菌特殊结构及有关物质又称为粘附因子 (adhesive factor) 或粘附素 (adhesin)。细菌的粘附素可分两种，即菌毛 (pili, fimbriae) 和非菌毛粘附物质 (afimbrial adhesin)。

菌毛 菌毛主要存在于革兰阴性菌。通过菌毛与宿主细胞表面受体相互作用使细菌吸附而立足，获得定居的机会，因此菌毛又称为定居因子 (colonization factor)，例如人类和牛羊、人志贺菌、霍乱弧菌、脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌等均有菌毛。不同的细菌有不同的菌毛，例如大肠杆菌肾盂肾炎相关性 P 菌毛 (pyelonephritis - associated pili)。所有菌毛都是由菌毛蛋白亚单位组成，且装配机制相似。编码产生菌毛蛋白的基因存在于菌细胞染色体或质粒中。

菌毛的粘附作用具有组织选择性。这种选择性决定于宿主易感细胞表面的相应受体 (receptor)。革兰阴性菌菌毛受体一般是糖类成分，例如沙门菌、志贺菌、克雷伯菌等为 D-甘露糖，霍乱弧菌为岩藻糖和甘露糖，幽门螺杆菌为 Lewis^b 血型抗原物质。革兰阳性的 A 群链球菌受体是类蛋白和糖蛋白。与受体结合的菌毛部位在近末端的区域。

非菌毛粘附物质 主要见于革兰阳性菌，如 A 群链球菌膜磷壁酸 (LTA)、糖萼或

多糖包被 (glycocalyx), 以及近年发现的多种表面成分, 如血纤维蛋白原结合蛋白 (fibrinogen-binding protein, FBP)、胶原粘附素 (collagen adhesin)、纤维连接素结合蛋白 (fibronectin-binding protein)。FBP 和胶原粘附素存在于葡萄球菌、链球菌乃至白色念珠菌等多种病原体表层。革兰阴性菌除菌毛外, 某些外膜蛋白 (outer membrane protein) 亦具有粘附作用。除 LTA 外, 这些粘附因子主要与血液成分及细胞基质 (matrix) 相互作用, 使细菌在扩散入血液及其他部位时可进一步定植。

2. 侵袭性结构及酶等物质 包括荚膜、微荚膜和侵袭性酶类。荚膜主要为多糖成分。不同的细菌微荚膜成分不同, 有蛋白, 也有多糖。链球菌 M 蛋白、伤寒杆菌 Vi 抗原、大肠埃希菌 K 抗原等都是微荚膜成分。荚膜和微荚膜都具有抗吞噬和体液中有毒物质 (如补体) 的损伤作用, 使细菌能抵抗和突破宿主的防御功能, 并迅速繁殖。某些细菌可释放侵袭性胞外酶, 这些物质本身并不损伤组织细胞, 但可协助病原菌的抗吞噬作用并扩散, 如致病性葡萄球菌产生的血浆凝固酶促进细菌抗吞噬, A 群链球菌的透明质酸酶可分解细胞间质透明质酸, 有利于细菌扩散。淋病奈瑟菌、脑膜炎奈瑟菌、流杆嗜血杆菌等可产生分解 IgA 的蛋白酶, 从而抵消宿主的特异性免疫功能。细菌的侵袭力是通过侵袭性毒力因子的作用和抵抗宿主的防御机能而实现的。

(二) 细菌的毒素

细菌在立足、定居并生长繁殖过程中可合成和释放多种毒性物质, 即毒素 (toxin)。一种细菌可同时释放多种毒素, 但在引起某种疾病时一般以一种或少数几种毒素为主。根据毒素产生的来源、性质和作用的不同, 细菌毒素可分为外毒素 (exotoxin) 和内毒素 (endotoxin) 两种。外毒素和内毒素都是细菌致病的重要毒力因子。

外毒素 主要由革兰阳性菌和部分革兰阴性菌产生并释放到菌体外的毒性蛋白质。厌氧芽胞梭菌、A 群溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌、炭疽杆菌等革兰阳性菌等均可产生外毒素。某些革兰阴性菌, 如痢疾志贺菌 A 群 I 型、霍乱弧菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌等亦能产生外毒素。大多数外毒素在菌细胞内合成后分泌至胞外, 且分泌机制相似。但也有存在于菌体内, 当菌细胞破裂后释放出来, 如痢疾志贺菌和产毒性大肠杆菌。

与内毒素相比较, 除上述产生来源外, 外毒素在性质、致病性和免疫性等还具有显著不同的特征。

(1) 都是蛋白质: 大多数外毒素蛋白由 A、B 两个亚单位组成, 故亦称 A-B 毒素。A 亚单位是毒素的毒性部分, 决定毒素的致病作用。B 亚单位无致病作用, 是介导外毒素分子与宿主细胞结合的部分, 具有对靶细胞的亲和性。但外毒素亚单位单独无致病性, 其致病作用需要毒素分子结构的完整。

(2) 毒性作用强, 具有选择性: 如肉毒梭菌外毒素纯品 1mg 可杀死 2 亿只小鼠, 毒性比氰化钾强 1 万倍, 是目前已知的最剧毒物。外毒素对组织器官具有选择作用, 通过与特定靶组织器官的受体结合, 直接或进入细胞后引起特征性的病变。

(3) 具有一般蛋白质的理化特性: 绝大多数外毒素不耐热。对化学因素也不稳定。

(4) 抗原性强: 保护性抗原在 B 亚单位。外毒素可用人工方法 (使用 0.3% ~

0.4%甲醛)脱去毒性(改变A亚单位活性)但保留其抗原性(B亚单位不变)。这样可制成无毒的外毒素生物制品,用于人工主动免疫预防相应疾病。这种用人工方法脱去外毒素毒性而保留抗原性的外毒素生物制品称为类毒素(toxoid)。

(5)种类繁多,在功能或作用机制上复杂多样;按其结构及作用的分子机制不同可分为A-B毒素、溶蛋白毒素(proteolytic toxins)、孔形成毒素(pore-forming toxins)、其他毒素如幽门螺杆菌空泡形成细胞毒素(vacuolating cytotoxin)。根据外毒素对宿主靶细胞的亲和性及作用机制不同,可分为神经毒素(neurotoxins)、细胞毒素(cytotoxins)和肠毒素(enterotoxins)三大类(见表4-1,表中只列出部分外毒素)。

表4-1 外毒素的种类及作用特点

类型	细菌	外毒素	疾病	作用机制	症状和体征
神经毒素	破伤风梭菌	痉挛毒素	破伤风	阻断上下神经元间正常抑制性神经冲动传递	骨骼肌强直性痉挛
	肉毒梭菌	肉毒毒素	肉毒中毒	抑制胆碱能运动神经释放乙酰胆碱	肌肉松弛性麻痹
细胞毒素	白喉杆菌	白喉毒素	白喉	抑制细胞蛋白质合成	肾上腺出血、心肌损伤、外周神经麻痹
	葡萄球菌	TSST-1	TSS	增强对内毒素休克的敏感性	发热、皮疹、休克
		表皮剥脱毒素	烫伤样皮肤综合征	表皮与真皮脱离	表皮剥脱性病变
	A群链球菌	致热外毒素	猩红热	破坏毛细血管内皮细胞	猩红热皮疹
肠毒素	霍乱毒素	肠毒素	霍乱	激活肠粘膜腺苷环化酶,增高细胞内cAMP水平	小肠上皮细胞内水分和Na ⁺ 大量丢失、腹泻、呕吐
	产毒性大肠杆菌	肠毒素	腹泻	不耐热肠毒素同霍乱肠毒素,耐热肠毒素使细胞内cGMP增高	同霍乱肠毒素
	产气荚膜梭菌	肠毒素	食物中毒	同霍乱毒素	呕吐、腹泻
	金黄色葡萄球菌	肠毒素	食物中毒	作用于呕吐中枢	呕吐为主、腹泻

内毒素 是革兰阴性细菌细胞壁中的结构组分,在菌细胞破裂后才释放出的毒性脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)。螺旋体、衣原体、立克次体亦有LPS。内毒素是革兰阴性细菌的主要毒力因子。(图4-1)

内毒素显著不同于外毒素:①产生于革兰阴性菌,革兰阳性菌不存在。但个别致病菌既不产生外毒素亦无内毒素,如结核分枝杆菌;②化学性质是LPS。对理化因素稳定,可耐热100℃1h不失活性,加热160℃2~4h或用强酸、强碱、强氧化剂煮沸30min才被灭活,这一性质具有重要的临床实践意义,如防止内毒素污染;③毒性作用相对较弱,致病需要的量相对较大,且无选择性。各种革兰阴性菌产生的内毒素的致病作用大致相似,其致病作用机制复杂,其中与细胞因子及补体等体液成分的协同作用密

切相关。主要毒性组分是类脂 A；④抗原性弱。虽可刺激机体产生中和抗体,但无保护作用。

⑤不能人工处理成为类毒素。

内毒素的生物学作用:

1. 致热反应 (pyrogenicity)

1ng 水平的 LPS 足以引起健康成人产生发热反应。引起发热的机制是, LPS 激活单核-巨噬细胞,使其释放 IL-1、TNF- α , 被 LPS 激活的致敏淋巴细胞亦释放 IFN- β_2 。这些细胞因子作为内源性热原质 (endogenous pyrogen) 通过下丘脑释放的介质,作用于体温调节中枢最终引起发热反应。

2. 白细胞反应 当血循环中急剧进入内毒素时,白细胞先急剧减少,系与其大量移行并粘附于组织毛细血管床有关。数小时后骨髓中的中性粒细胞大量释放入血,使血循环中白细胞数增高。

3. Shwartzman 现象与 DIC (disseminated intravascular coagulation) Shwartzman 氏观察细菌内毒素致病作用的一种动物实验反应。分局部和全身两种:将革兰阴性菌培养物上清或杀死的菌体注入家兔皮内,18~24h 后再以同样的注射物进行静脉注射,约 10h 后第一次注射处局部皮肤出现出血和坏死,此为局部反应。全身 Shwartzman 现象:两次均由静脉注射次休克剂量的 LPS,10h 后出现全身广泛出血、坏死,尤以肾为著,动物死亡。

4. 内毒素血症与休克 当血液有革兰阴性细菌大量繁殖(败血症)或病灶释放大量内毒素或输入被大量内毒素污染的液体,宿主机体会出现内毒素血症,并可引起休克的严重病理变化。以全身小血管舒缩功能紊乱而出现微循环衰竭和低血压为特征,表现为血液淤滞于微循环,有效循环血量减少,血压下降,组织器官毛细血管灌注不足、缺氧、酸中毒等,严重者可致休克。此种内毒素所致的重症感染死亡率高。

5. 小量内毒素有免疫调节作用 可激活 B 细胞产生多克隆抗体,激活巨噬细胞和 NK 细胞,诱生 IFN、TNF、IL 等多种细胞因子的产生,增强非特异性免疫功能,如单核吞噬细胞、粒细胞等。

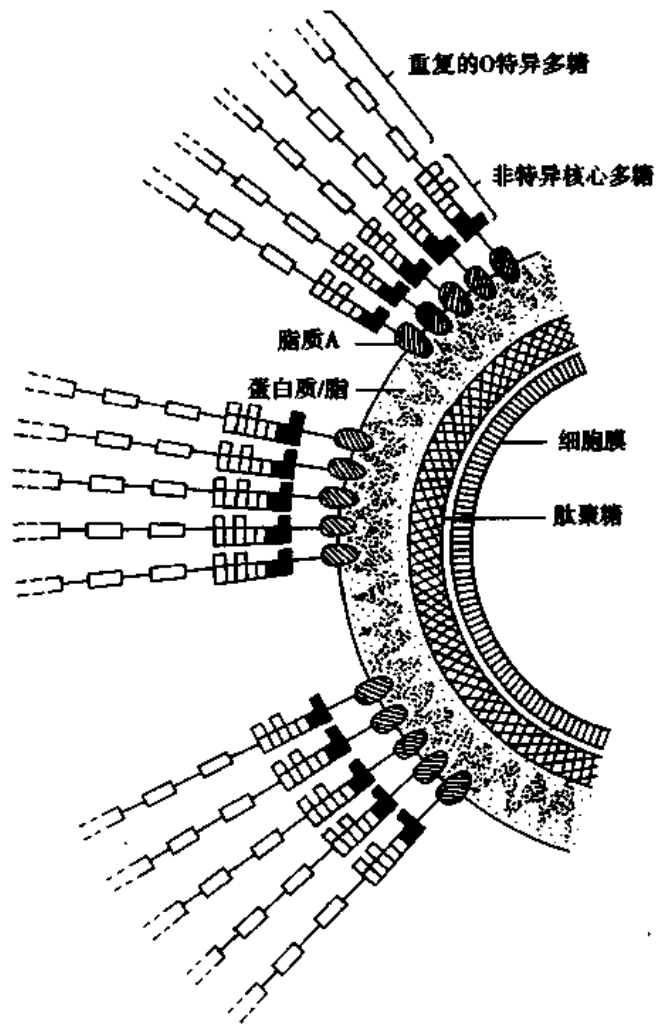


图 4-1 革兰阴性菌细胞壁内毒素

三、细菌毒力因子的致病作用

(一) 粘附性结构物质的致病作用

菌毛、粘附性蛋白及其他成分不仅使细菌在进入呼吸道、消化道、泌尿生殖道等发生感染的第一步中获得立足定植和扩散的机会，病原菌的粘附一经形成，致病作用就开始（正常菌群在正常部位没有致病作用）。一般情况下，在感染的早期阶段，毒力强的病原菌能克服机体的防御功能，并占优势而进行生长繁殖，在生长繁殖中主要以毒素致病。在粘附性结构物质与细胞受体相互作用时，细胞和宿主机体就开始有反应。无论与粘膜上皮细胞还是内环境中血管内皮细胞以及单核吞噬细胞粘附，这些细胞的信号系统被激活，均能不同程度释放不同种类的细胞因子引起炎性细胞聚集，例如中性粒细胞，导致炎症反应性损伤。大多数细菌的化脓性感染均属此机制。某些粘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）。细胞凋亡是一种由基因控制的程序性细胞死亡（programed cell death）。炎症损伤和细胞凋亡又有利于细菌生长繁殖并进一步扩散。

(二) 毒素的致病作用

A-B 结构外毒素与细胞相互作用的机制有毒素与细胞的结合、跨膜及与内靶点作用和致细胞病变几个步骤。致细胞病变有多种不同的机制：①与受体结合，通过跨膜控制装置作用于胞浆内信号系统，引起胞内 cGMP 第二信使的作用，改变细胞内外离子平衡，如大肠埃希菌 ST、耶尔森菌肠菌素等。②与受体结合后进入胞浆，抑制细胞蛋白质合成而致细胞死亡，或诱发细胞内 cAMP、cGMP、Ca²⁺ 等第二信使作用，影响糖类或氨基酸的吸收，改变细胞内外离子平衡，如白喉毒素、炭疽毒素、痢疾志贺菌外毒素、大肠埃希菌 LT、霍乱毒素、铜绿假单胞菌外毒素 A 等。③与受体结合后直接改变细胞膜结构形成通道，使细胞裂解，如金葡菌 α -毒素、大肠埃希菌溶血素（HlyA）等。④与受体结合后直接破坏细胞，如链球菌溶血素，蜡样芽胞杆菌溶细胞素等。⑤毒素本身具有酶活性，如葡萄球菌 β 毒素为磷脂酶 C，可分解膜神经鞘磷脂使细胞溶解。破伤风神经毒素和肉毒梭菌毒素引起两种不同的疾病，前者封闭运动神经抑制性冲动，引起痉挛性肌麻痹，后者抑制胆碱能运动神经释放乙酰胆碱，引起弛缓性肌麻痹，但现发现两种神经毒素封闭神经递质的机制是相同的，即分解突触小泡中的突触短杆菌素（synaptobrevins）。

内毒素的致病机制极为复杂。内毒素所引起的 Shwartzman 现象与 DIC 以及内毒素血症与休克，是临床上革兰阴性细菌的重症感染，如败血症。如在血液中出现或进入大量内毒素，可引起宿主机体多器官、多系统的广泛性损伤。现知 LPS 的包括这些重症感染在内的多种生物学作用，并非是由其直接作用于靶细胞的结果。LPS 实际上作为始动毒力因子引起复杂的病理生理变化。Shwartzman 现象和 DIC 与白细胞反应、激肽系统、补体系统、凝血系统的激活密切相关，特别是 XII 因子的激活，最终使血细胞产生凝血酶，在激肽的活化作用下，导致 DIC 发生。内毒素血症与休克主要与 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 密切相关。LPS 首先作用于单核吞噬细胞，使其分泌多种细胞因子。某些细胞因子可来自于淋巴细胞和血管内皮细胞。

TNF- α 是 LPS 引起的感染性休克病理生理反应机制中起关键作用的细胞因子。注射 LPS 的动物或受革兰阴性菌感染的病人与病情的发展及预后有明显的关系，体内 TNF- α 水平的升高和死亡数的增加相一致。体外实验证实，TNF- α 可直接产生致细胞病变作用。TNF 和 IL-1 可协同作用引起血管扩张和白细胞介导的组织坏死，从而导致器官衰竭。TNF- α 和 IL-1 又可激活其他炎性细胞因子的产生，例如 IL-6、IL-8、血小板激活因子和前列腺素，并有激活补体的作用。

超抗原 许多细菌、某些病毒及关节炎支原体等微生物能产生不同于常规抗原的蛋白质，是一类高活性蛋白分子。这些蛋白质能激发过量的以大量 T 细胞和细胞因子为特征的免疫反应，主要表现为致病作用，此种毒素蛋白称超抗原 (superantigen)。例如葡萄球菌肠毒素和毒性休克综合征毒素 1 (TSST-1)、链球菌致热外毒素 (streptococcus pyrogenic exotoxin, SPE) 等。超抗原具有三个特征：①激活具有特异性 T 细胞受体 V β 链的 T 细胞；②不需要抗原递呈细胞的胞内加工；③一个超抗原分子可以不同的部位同时与 TCR 和 MHC II 类分子的外侧结合。这些特征均不同于常规抗原。超抗原可一端与 T 细胞抗原受体的 V β 或 V γ 外侧结合，另一端与抗原递呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 上的 MHC II 类分子外侧结合 (图 4-2)。

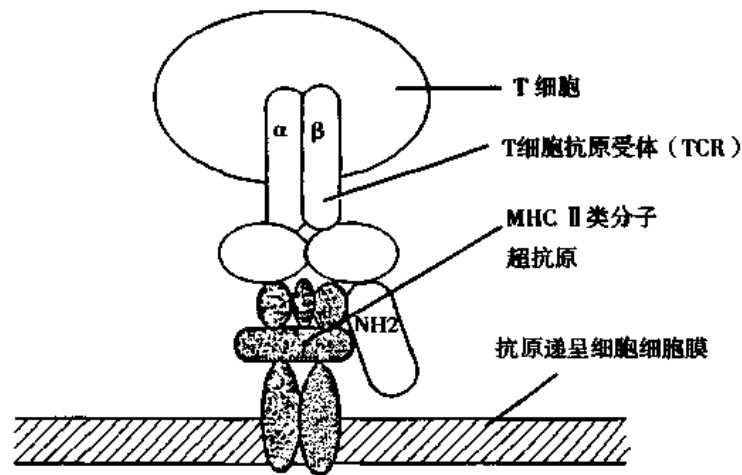


图 4-2 超抗原 - MHC II 分子 - TCR 相互作用模式图

由于多种 T 细胞 TCR 外侧结构相似，故一种超抗原可引起多种 T 细胞反应。超抗原极微量 (10^{-12} mol) 就能激发大量 T 细胞活化增殖，并大量释放 IL-2、INF- γ 和 TNF 等细胞因子，造成类似内毒素引起休克的严重后果。超抗原与许多急性和慢性疾病有关，如葡萄球菌毒素性休克综合征、链球菌所致风湿热、肾小球肾炎，牛皮癣、风湿性及类风湿性关节炎、多发性硬化症、川崎综合征 (Kawasaki syndrome) 等。在超抗原引起的疾病中，有的与超抗原引起的自身免疫有关。

(三) 毒力的基因调控

几乎所有细菌的毒力因子包括侵袭性毒力因子和毒素均受遗传控制。表达或不表达毒力因子与环境信号作用密切相关。此环境指病原菌在宿主体内 (细胞外或细胞内) 的

微环境，称微生境（niche or microbial niche）。微生境中的作用因素包括温度、pH、离子浓度、渗透压、铁质水平、碳源、氧水平等，病原菌可根据其中一种或一种以上的微生境参数，通过菌细胞膜中的感应蛋白（sensor protein）的信号传递，最终控制毒力基因是否表达。一种毒力因子可同时受几种调节子控制及信号系统的传感作用。近年来发现革兰阴性菌存在双成分调控系统（two-component regulatory system），此系统不仅与细菌的正常生命活动有关，亦与细菌的致病性有关。双成分调控系统包括传感蛋白和调节蛋白。传感蛋白是菌细胞膜的跨膜蛋白，其胞外区感应细胞外信号的作用，胞内区是组氨酸激酶，具有作用其他信号分子的序列或表型。调控蛋白是基因转录的激活子（activator）或抑制子（suppressor）。传感蛋白和调控蛋白的协同作用，决定细菌毒力基因是否表达。

细菌的毒力基因可存在于染色体、质粒、转座子或前噬菌体中，并且可同耐药基因一样自行相互间、同种菌不同株间，不同菌种间发生转移。靠近结构基因有调控序列，在调控基因和结构基因的两端具有插入活性但不编码蛋白质的重复序列。这种可移动的决定细菌毒力的完整 DNA 序列称为致病岛（pathogenicity island）。致病岛主要见于决定侵袭力和外毒素的基因。例如伤寒沙门菌染色体有一个 4kb 的 DNA 序列，决定该菌能否侵入肠上皮细胞和巨噬细胞，而大肠埃希菌则不存在。已知细菌染色体和质粒广泛存在插入序列。致病岛可完整地通过转化、转导、接合和溶原性转换转移至无毒的菌株中，使其成为毒力菌株。不同的菌株、菌型、菌种之间可存在相同的致病岛。当无致病岛的细菌获得致病岛后，此菌通过基因复制和菌体繁殖成为一个新的有毒力的克隆。当宿主体来不及产生特异性免疫力时，感染就会发生。

病原菌还可通过基因突变及基因重排等机制改变毒力因子的抗原性，从而逃避宿主的特异性免疫压力，增强细菌自身的侵袭力或毒力。

（四）免疫病理

某些细菌在感染的同时或感染康复后诱发免疫病理，从而损伤宿主正常的生理结构及功能，这也是某些细菌致病机制的一个方面。例如 A 群乙型溶血性链球菌可在感染后引起急性风湿热和急性肾小球肾炎。反复风湿热的发生又导致风湿性心脏病。超抗原的致病作用实质上也是一种免疫病理。

展 望

对细菌毒力因子及其基因调控的研究，是揭示细菌感染及致病机制的关键。理解细菌的致病机制是临床诊断和防治策略的重要基础。尽管许多细菌的致病机制仍不十分清楚，但自 20 世纪 70 年代以来随着分子生物学技术的发展，对细菌侵袭机制和毒素分子生物学的研究在不断取得成果。随着蛋白质分离纯化技术、核酸杂交、PCR 技术和基因克隆技术的问世和发展，已在核酸和蛋白质水平上不断揭示细菌毒力因子与疾病的关系，并推动了生理、生化、神经、免疫和细胞学等生命科学的发展。已知有 50 种以上的外毒素基因克隆于大肠埃希菌中，并已得到表达，研究细菌外毒素的结构及功能，不仅可弄清致病机制，亦可制备疫苗，同时又可利用外毒素作为研究细菌致病性的工具，

用作同其他疾病作斗争的武器，例如免疫毒素和重组毒素等。LPS 的研究已持续一个世纪，不仅在致病性上深入到类脂 A 的分子结构活性与疾病的关系，而且发现不断的小量 LPS 与机体免疫系统的发育和成熟有重要作用，人类生活在充满 LPS 的环境中。在阐明 LPS 化学结构的基础上，对其致病机制的深入了解，是近年来的进展，但革兰阴性菌重症感染（内毒素休克）及其防治仍然是困扰基础与临床的一个重要问题。细菌等微生物的感染涉及到微生物同宿主的自然结构关系的改变是近 10 多年来认识的进展。

（叶嗣颖）

第五章 病毒的生物学性状

病毒 (virus) 属非细胞型微生物, 在自然界分布非常广泛, 可在人、动物、植物、昆虫、真菌和细菌中寄居并引起感染。病毒是体积最小、结构最简单的微生物, 它仅有一种核酸 (DNA 或 RNA) 作其遗传物质。病毒必须在宿主活细胞内寄生, 依靠细胞提供的能量、营养物质及生物大分子合成机制, 完成病毒的复制过程。与细菌不同, 病毒不能进行二分裂繁殖, 对常用抗生素也不敏感。由于病毒无完整细胞结构; 只有一种遗传物质; 以及严格活细胞内寄生的特性; 病毒被列为一个独立的生物类型 (表 5-1)。

表 5-1 病毒与其他微生物的比较

种类	病毒	细菌	支原体	立克次体	衣原体	真菌
结构	非细胞	原核细胞	类似细菌	近似细菌	介细菌与病毒之间	真核细胞
大小(μm)	0.01~0.3	0.5~3.0	0.2~0.3	0.2~0.5	0.3~0.5	5~可见
细胞壁	—	+	—	+	+	+
细胞器	—	+	+	+	+	+
核酸	DNA/RNA	DNR+RNA	DNA+RNA	DNA+RNA	DNA+RNA	DNA+RNA
繁殖方式	复制	二分裂	二分裂	二分裂	二分裂	无性+有性
人工培养基生长	—	+	+	—	—	+
抗生素敏感	—	+	+	+	+	+
干扰素敏感	+	—	—	—	—	—

病毒与人类疾病的关系极为密切, 人类的传染病约 75% 是由病毒引起的。有些病毒传染性强, 可引起世界大流行 (如流感、艾滋病等)。除急性感染外, 病毒还可引起持续性感染, 有的病毒还与肿瘤和自身免疫病的发生密切相关, 因此病毒的防治已成为人类关注的热点。医学病毒学 (medical virology) 是研究病毒与人类疾病关系的一门科学, 承担研究人类病毒的生物学特性、致病性、免疫性和诊断、防治方法的重要任务, 目的是控制、消灭病毒性疾病, 保障人类健康。

第一节 病毒的大小与形态

完整的成熟病毒颗粒称为病毒体 (virion), 是细胞外的结构形式, 具有典型的形态、结构并具有感染性。

病毒体微小, 可通过除菌滤器, 大多数病毒只有采用电子显微镜将其放大数千、数万倍才能看见。用以测量病毒大小的单位为纳米 (nanometer, nm, 为 $1/1000\mu\text{m}$, 亦

称毫微米)。不同病毒体大小差别悬殊,如最大的痘病毒约 300nm,最小的脊髓灰质炎病毒、鼻病毒等只有 20~30nm(图 5-1)。可以通过电子显微镜(超薄切片和磷钨酸盐负染技术),超速离心,分级超过滤术和 X 线晶体衍射等技术来研究病毒的大小和形态。

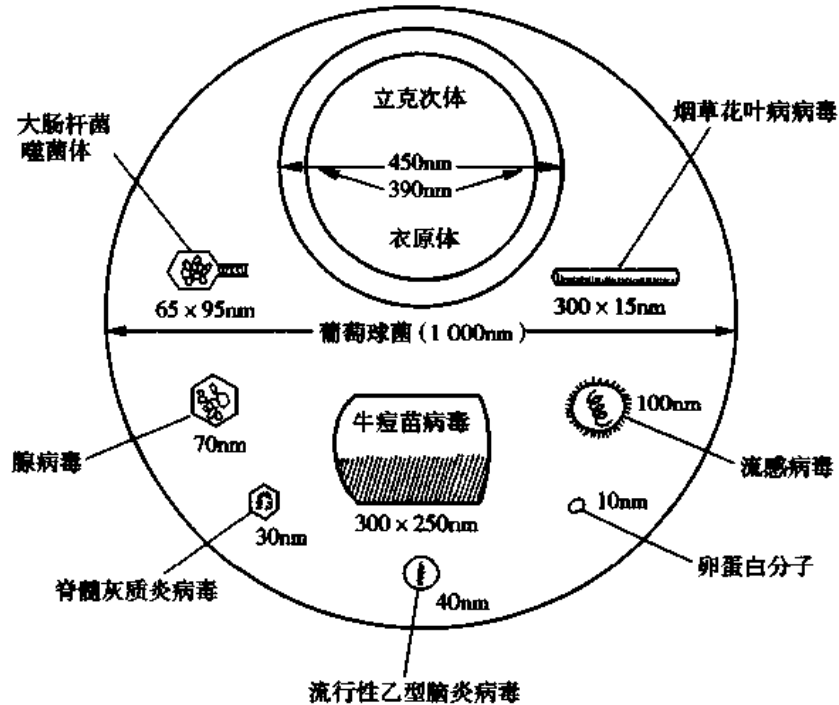


图 5-1 微生物大小的比较

病毒形态不一,多数呈球形和近似球形,少数为子弹形、砖块形。噬菌体(细菌病毒)呈蝌蚪形,而植物病毒多数为杆状(图 5-2)。

第二节 病毒的结构与化学组成

一、病毒的结构与功能

病毒体的主要结构由核心(core)和衣壳(capsid)构成核衣壳(nucleocapsid),有些病毒的核衣壳外有包膜(envelope)包裹。无包膜的病毒,核心和衣壳组成的核衣壳就是病毒体。

病毒体核心成分主要为核酸,构成病毒基因组(genome),为病毒的增殖、遗传和变异提供遗传信息物质。核酸外围蛋白衣壳的主要功能是保护核心内的核酸免受破坏,并能介导病毒核酸进入宿主细胞。衣壳具有抗原性,是病毒体的主要抗原成分。

衣壳由一定数量的壳粒(capsomere)组成,在电子显微镜下可见壳粒的形态。每个壳粒称为一个形态亚单位(morphologic subunit)。每个壳粒是由一些多肽分子组成,多肽分子又称结构亚单位(structural subunit)或化学亚单位。不同病毒体衣壳所含壳

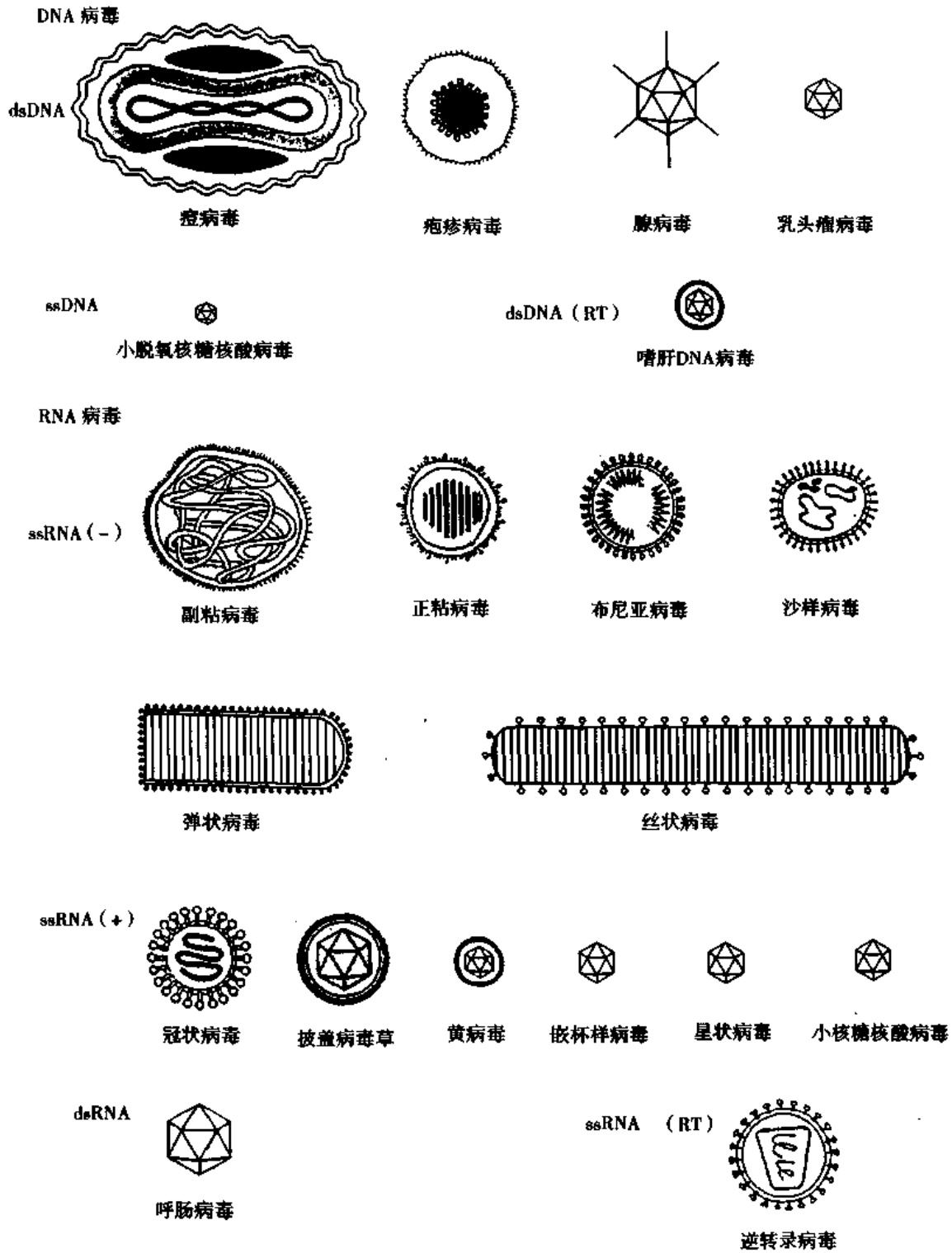


图 5-2 人类病毒形态、大小、结构示意图

粒数目和排列方式不同，可作为病毒鉴别和分类的依据。根据壳粒排列方式的不同，病毒结构有以下几种对称型：

1. 螺旋对称型 (helical symmetry) 壳粒沿着螺旋形的病毒核酸链对称排列, 见于大多数杆状病毒、弹状病毒、正粘和副粘病毒。

2. 20 面体立体对称型 (icosahedral symmetry), 核酸浓集成球形或近似球形结构, 外周壳粒排列成 20 面体对称型, 构成 20 个面、12 个顶、30 个棱的立体结构, 20 面体每个面呈等边三角形, 由许多壳粒镶嵌组成。多数顶角由 5 个相同壳粒组成, 称五邻体。多数病毒三角形面由 6 个壳粒组成, 称之为六邻体。球状病毒多数呈这种对称型 (图 5-3)。

3. 复合对称 (complex symmetry) 在结构复杂的病毒体, 壳粒排列既有螺旋对称, 又有立体对称形式, 如痘病毒和噬菌体。

有些病毒在核衣壳外边有包膜围绕。包膜是病毒在成熟过程中穿过宿主细胞膜以出芽方式向细胞外释放时获得的, 含有宿主细胞的膜成分包括脂类、蛋白质和多糖, 但包膜蛋白则多为病毒基因组编码。包膜表面常有突起, 称为包膜子粒或刺突 (spike)。有包膜的病毒体称为包膜病毒 (enveloped virus), 无包膜病毒体称裸露病毒 (naked

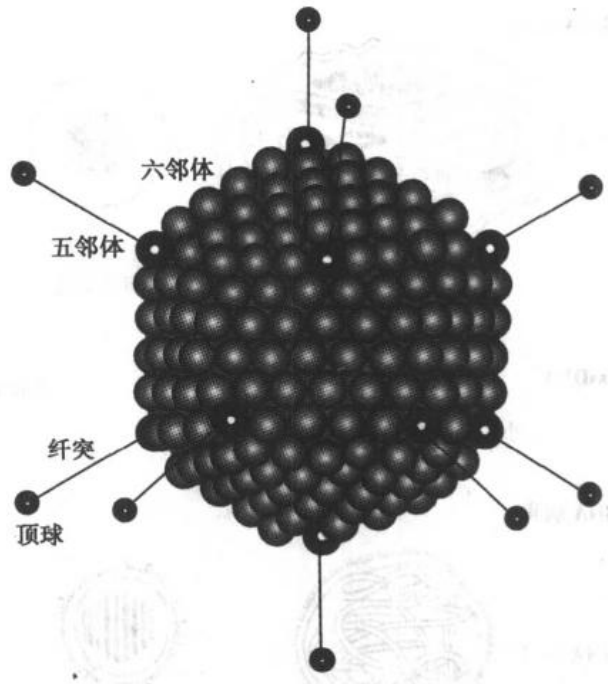


图 5-3 腺病毒表面结构结构示意图
(衣壳二十面体立体对称结构)

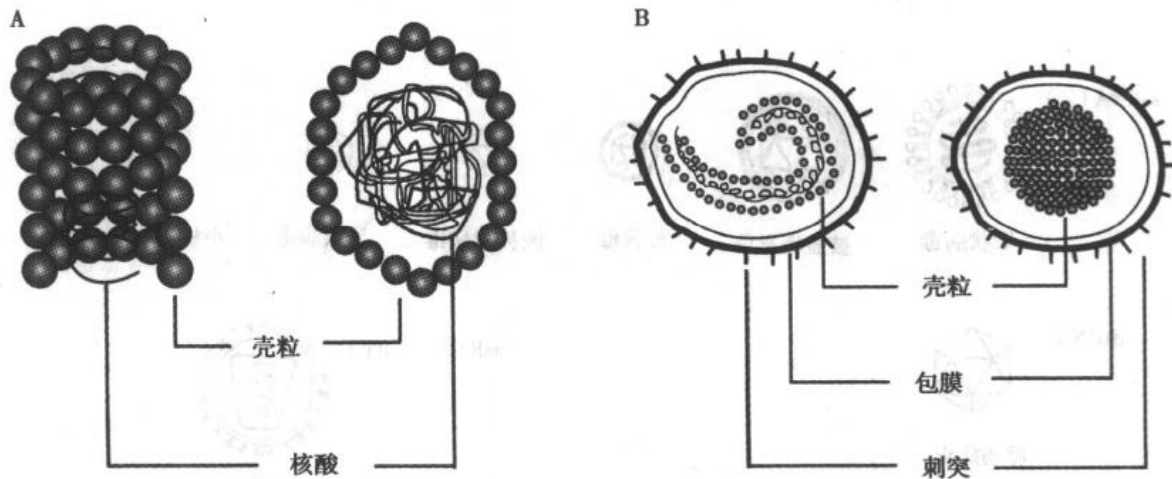


图 5-4 病毒结构示意图
A. 无包膜病毒体 B. 有包膜病毒体

virus)。包膜构成病毒的表面抗原, 具抗原性, 可诱发机体免疫应答。包膜还与病毒入侵细胞和感染性有关。包膜对干、热、酸和脂溶剂敏感, 乙醚因能破坏包膜而灭活病

毒，故常用来鉴定病毒有无包膜。某些有包膜病毒在核衣壳外层和包膜内层之间有基质蛋白存在（图 5-4）。

病毒的大小、形态和结构在病毒分类学中有重要价值，也能在诊断病毒感染中得到应用。我国洪涛教授在成人腹泻标本中观察到一定大小病毒体，据形态初步认定为轮状病毒，经基因组分析予以确定，从而首次在国际上发现了成人轮状病毒。

二、病毒核酸

病毒核酸位于病毒体的核心，病毒体仅含一种核酸，即 DNA 或 RNA，藉此把病毒分为 DNA 病毒和 RNA 病毒两大类。病毒核酸的存在形式具有多样性。形状上有线型和环型；构成上有双链、单链和分节段核酸（如双链 DNA、单链 DNA、双链 RNA、单链 RNA 和分节段 RNA）。病毒核酸大小差别悬殊，最小的微小病毒（parvovirus）为单链 RNA 病毒，仅 5 千个碱基对（5kb），最大的痘病毒则有 400kb。单链 RNA 病毒依据核酸能否起 mRNA 的作用，又分正链和负链 RNA。正链 RNA 本身就是 mRNA（如脊髓灰质炎等小 RNA 病毒），负链 RNA 则需合成具有 mRNA 功能的互补链（如流感病毒等）。

病毒核酸携带了病毒的全部遗传信息，决定了病毒基因组的复制和子代病毒的增殖及生物性状。有的病毒核酸在除去衣壳蛋白后，可进入易感宿主细胞并能增殖，具有感染性，故称为感染性核酸。

病毒基因组相对较小，为充分利用核酸扩大信息量，病毒基因组中基因的排列常互相重叠，有重叠基因存在，即其开放读框（open reading frame, ORF）间有重叠。由于人类病毒严格寄生于真核细胞中，其基因结构具有真核基因的特点，如有内含子存在，也有转录后的剪接和后加工过程。

病毒基因组小、相对简单的特点，使其早就成为分子遗传学的研究材料，也被选为基因组计划中的模式生物进行研究。同时，为了加快对病毒致病性的研究，为制备和发展疫苗以控制病毒性疾病的需要，近十年来几乎对所有病毒科的代表毒株进行了基因克隆和表达，有的还测定了病毒基因组的全部核苷酸序列。病毒学也就成为运用分子生物学技术受益颇丰的领域，并诞生了分子病毒学（molecular virology）。

三、病毒蛋白质

病毒蛋白约占病毒体总重量的 70%，均由病毒的基因组编码。可以分为结构蛋白和非结构蛋白两大类。

结构蛋白 结构蛋白指构成全部衣壳、包膜和基质的蛋白质。通过差速离心或密度梯度离心技术可分离到病毒体，再用蛋白分离技术（如 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳等）进行分离纯化，即可获得病毒结构蛋白的多肽成分。利用基因克隆、基因表达技术也可以确定、研究病毒的结构蛋白。衣壳蛋白一般由多个多肽亚单位组成，具有良好抗原性。包膜蛋白为病毒基因组编码，多突出在病毒体外且是糖蛋白。基质蛋白是连接衣壳蛋白和包膜蛋白的部分，多具有跨膜和锚定（anchor）的功能。如正粘、副粘病毒的 M 基质蛋白（matrix protein）能促进包膜相互作用有利于病毒装配；疱疹病毒的基质蛋白称被膜（tegument），含病毒蛋白，有助起始病毒蛋白复制。

非结构蛋白 非结构蛋白是指由病毒基因组编码，但不参与病毒体构成部分的病毒蛋白多肽。它可以存在于病毒体内，也可以不存在于病毒体内而只存在于感染细胞中。非结构蛋白包括病毒编码的酶类，如蛋白水解酶、DNA 多聚酶、胸腺嘧啶核苷激酶和逆转录酶等。还包括特殊功能的蛋白，如抑制宿主细胞、生化合成的蛋白、抑制病毒抗原经 MHC 递呈的蛋白等，这类病毒蛋白仅存在于被感染细胞中。非结构病毒蛋白的研究已取得不少成就，如可针对具有酶功能蛋白质设计抗病毒药物，发现某些非结构病毒蛋白具有转化宿主细胞作用，有些还具有抗细胞因子或抗细胞凋亡作用。因此，深入对非结构病毒蛋白的研究，在阐明病毒本质、揭示其致病机制和防治病毒性疾病诸方面均有重要意义。

第三节 病毒的增殖

病毒严格的寄生性决定了它必须在活细胞内进行生命活动和增殖。病毒的增殖不是二分裂方式，它是以其基因组为模板，藉 DNA 多聚酶或 RNA 多聚酶以及其他必要因素，经过复杂的生化合成过程，复制出病毒的基因组。此时宿主细胞的生化合成受到抑制，病毒基因组则经过转录、翻译过程，产生大量病毒蛋白质，再经过装配，最终释放出子代病毒。病毒这种以核酸分子为模板进行增殖的方式称为自我复制 (self replication)。

一、病毒的复制周期

从病毒进入细胞开始，经基因组复制到子代病毒的释出，称为一个复制周期 (replication cycle)。复制周期是个连续过程，它包括吸附及穿入、脱壳、生物合成、组装成熟和释放四个步骤 (图 5-5)。

1. 吸附和穿入 病毒需先吸附于易感细胞膜上才能与之相互作用启动增殖过程。吸附 (absorption) 首先是病毒体在各种力的作用下与细胞接触，然后病毒体表面的配体位点与易感细胞表面的特异受体结合。这种特异性的结合决定了病毒嗜组织特征，不同病毒的受体不同，有各自的易感细胞。如艾滋病病毒 (HIV) 包膜糖蛋白 gp120 的受体是人辅助 T 细胞表面的 CD₄受体，故不感染无 CD₄受体细胞。流感病毒包膜上血凝素可与多种细胞上唾液酸受体分子结合，病毒可在人和多种动物间传播。每种病毒也不只一种细胞受体，有些尚未被确定。吸附过程可在数分钟到几十分钟内完成。

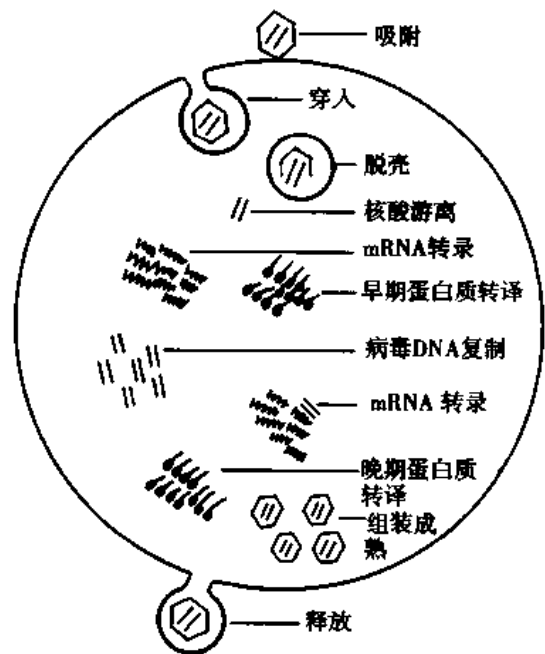


图 5-5 病毒复制图解

病毒体吸附易感细胞膜之后，可通过数种方式穿入（penetration）细胞。有包膜的病毒多数通过包膜与细胞膜的融合，病毒核衣壳进入胞质中。无包膜病毒一般以胞饮（virophagocytosis）方式，由细胞吞入细胞质中。

2. 脱壳 进入易感细胞的病毒体必须脱去蛋白衣壳，使病毒基因组发挥指令作用。不同病毒的脱壳（uncoating）方式不同，多数病毒在穿入时已在细胞溶酶体酶作用下脱去衣壳，释出病毒核酸。少数病毒的脱壳过程复杂，如痘病毒溶酶体酶只能脱去部分衣壳，尚须病毒特有脱壳酶作用使病毒核酸完全释放出来。有些病毒（如流感病毒和痘病毒等）在脱壳前，病毒基因组就开始 mRNA 的转录。

3. 生物合成 病毒基因组一旦释放到细胞中，就开始病毒的生物合成（biosynthesis）。生物合成一般分两个阶段，首先病毒基因组中的早期基因开始转录、翻译，产生必须的复制酶、抑制或阻断细胞生物合成和正常代谢的非结构蛋白。然后再依据病毒基因组指令，开始病毒核酸的复制，进行病毒基因的转录、翻译以产生病毒结构蛋白。在生物合成阶段，因病毒基因组的类型不同，其基因组复制，mRNA 转录和蛋白质合成方式也不同。基本上按核酸类型将病毒生物合成分为六大类型：双链 DNA 病毒、单链 DNA 病毒、正单链 RNA 病毒、负单链 RNA 病毒、双链 RNA 病毒和逆转录病毒（表 5-2）。

表 5-2 病毒生物合成类型

病毒核酸类型	病毒举例	复制中间体 形 成	基因组复制 部 位	蛋白质合 成 处	衣壳装 配 处	病毒成 熟 处
1. ds DNA	多数 DNA 病毒	没有	N	C	N	N/M
	痘病毒	没有	C	C	C	M
2. ss DNA	微小病毒 B ₁₉ , TTV	± ds DNA	N	C	N	C
3. + ss RNA	小 RNA 病毒	± ds RNA	C	C	C	C
4. - ss RNA	正粘病毒	± ds RNA	N	C	C	M
	副粘病毒		N	C	N	M
5. ds RNA	轮状病毒	没有	C	C	C	C
6. 逆转录病毒		- DNA				
+ ss RNA 双倍体	HIV	± DNA	N	C	C	M

注：N：细胞核内，C：细胞浆，M：细胞膜

(1) 双链 DNA 病毒：人和动物 DNA 病毒的基因组多数为双链 DNA (dsDNA)，除痘病毒外，dsDNA 都在细胞核内合成和转录 mRNA，在细胞质内合成病毒蛋白。

双链 DNA 病毒的生物合成分三个阶段：①早期转录和翻译：dsDNA 利用细胞核内 RNA 多聚酶，转录出早期 mRNA，再在细胞质中的核糖体上翻译出早期蛋白质。早期蛋白主要为非结构蛋白，为病毒核酸复制提供 DNA 多聚酶和调节蛋白。②dsDNA 复制：此时在解链酶的作用下 dsDNA 解链，按 DNA 半保留复制方式，以亲代单链 DNA 为模板，复制出子代双链 DNA，两个子代 dsDNA 与亲代 dsDNA 结构完全相同。③晚期转录和翻译：以大量子代病毒 DNA 为模板，转录晚期 mRNA，再经翻译合成晚期蛋白。晚期蛋白主要是病毒结构蛋白，为病毒装配作好准备。从这一生物合成过程可见，

不同阶段需要不同类型的酶和调控蛋白，特别是病毒 DNA 本身编码的酶起着关键作用，因而成为设计抗病毒药的“靶点”。

(2) 单链 DNA 病毒：单链 DNA (ssDNA) 病毒种类很少，人类输血传染病毒 (TTV) 即为单链 DNA 病毒。其生物合成先以亲代 ssDNA 为模板，合成一个互补链形成中间型 dsDNA，然后解链，由新合成互补链为模板复制出子代 ssDNA，转录 mRNA 和翻译合成病毒蛋白质。

(3) 正单链 RNA 病毒：人和动物的 RNA 病毒多为单链 RNA 病毒，绝大多数都在细胞质中进行生物合成，但正粘病毒和个别副粘病毒例外。单链 RNA 病毒又依是否具有 mRNA 功能分为正链、负链 RNA 病毒。单正链 RNA 病毒 (+ ssRNA) 包括小 RNA 病毒、黄病毒和某些出血热病毒。+ ssRNA 不但是复制子代病毒的模板，而且本身就具 mRNA 功能。病毒进入细胞脱壳后，+ ssRNA 可直接与细胞核糖体结合进行翻译，产生病毒 RNA 多聚酶等早期蛋白和结构蛋白。RNA 复制是以 + ssRNA 为模板，在病毒 RNA 多聚酶作用下合成一条互补负链形成双链 RNA 复制中间体 (replicative intermediate, RI)，以负链 RNA 为模板，复制出子代病毒的 RNA (图 5-6)。

(4) 负单链 RNA 病毒：多数有包膜的 RNA 病毒 (如流感、腮腺炎及狂犬病毒等) 属此类型，负单链 RNA (- ssRNA) 病毒本身虽可作为复制子代模板，但不具有 mRNA 的功能，病毒自身含有依赖 RNA 的 RNA 多聚酶。病毒进入细胞脱壳后，首先依赖病毒的 RNA 多聚酶，转录出互补正链 RNA，形成复制中间体，然后以正链 RNA 为模板，既合成子代负单链 RNA，又翻译出病毒的结构蛋白和非结构蛋白 (图 5-6)。

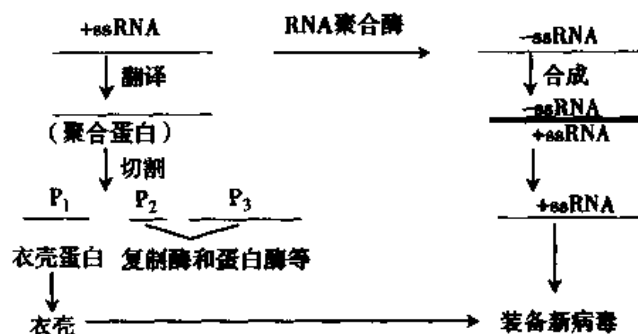


图 5-6 + ssRNA 病毒 (脊髓灰质炎病毒) 复制周期示意图

(5) 双链 RNA 病毒：人类病毒中只有呼肠病毒属双链 RNA (dsRNA) 病毒，基因组由 10~12 个非重叠的 dsRNA 节段组成。每个节段均可由病毒自身的 RNA 多聚酶转录出不同的 mRNA。双链 RNA 病毒只有其负链 RNA 复制出正链 RNA，再由正链 RNA 复制出新负链 RNA。所以其复制不遵循 DNA 半保留复制的原则，子代 RNA 全部为新合成的 RNA。

(6) 逆转录病毒：逆转录病毒 (retroviruses) 基因组非常独特，其 RNA 也以单链 RNA 形式存在，但含有两个相同的正链 RNA 分子，称正单链双体 RNA。病毒体以含有逆转录酶为特征 (依赖 RNA 的 DNA 聚合酶)，其复制过程较复杂。在细胞质中，先以亲代 RNA 为模板，在逆转录酶作用下合成互补 DNA 链，形成 RNA:DNA 杂交中间体，再由病毒的 RNA 酶 H 水解去除 RNA，负单链 DNA 进入细胞核内，进而合成另一 DNA 互补链形成双链 DNA 分子，dsDNA 通过整合到细胞染色体 DNA 上，形成前病毒 (provirus)。前病毒在细胞核内转录出病毒的 mRNA 和子代病毒 RNA。病毒 mRNA 在

胞质中翻译合成子代病毒结构蛋白和非结构蛋白（图 5-7）。艾滋病病毒（HIV）和人白血病病毒均属于逆转录病毒。

RNA 病毒基因组的构成形式多样，生物合成也各具特点。特别是除双链 RNA 病毒外都有中间体形成，在形成中间体时均需病毒特有的聚合酶（依赖 RNA 的 RNA 聚合酶或依赖 RNA 的 DNA 聚合酶），这就为设计针对这些特有酶的抗病毒药物提供了靶。此外，在生物合成中，RNA 病毒形成了复制中间体可高效地大量复制，因此 RNA 病毒复制周期要快于 DNA 病毒。

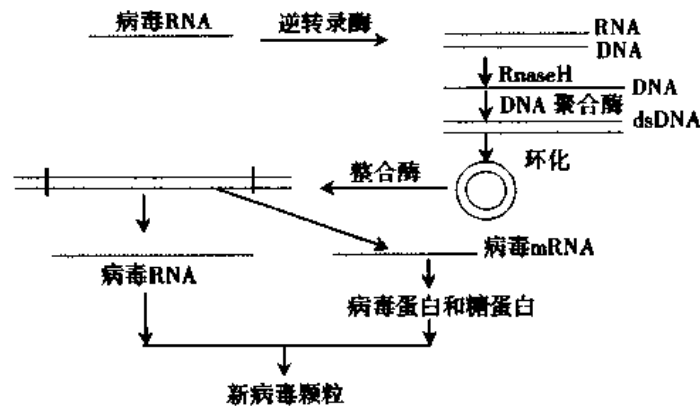


图 5-7 逆转录病毒复制周期示意图

4. 装配与释放 病毒的装配（assembly）是指将生物合成的蛋白和核酸，组装成子代核衣壳的过程。病毒的种类不同，其装配的部位也不同。除痘病毒外，DNA 病毒的核衣壳都在核内装配，绝大多数 RNA 病毒在胞质内装配。装配时发生蛋白质与蛋白质、蛋白质与核酸的相互作用，蛋白分子先形成结构亚单位，继而组成形态亚单位和衣壳。无包膜病毒和疱疹病毒先形成 20 面体的空心衣壳，病毒核酸从衣壳的裂缝中进入壳内最后形成核衣壳。螺旋对称病毒的核衣壳装配，则是衣壳围绕病毒基因组装配成核衣壳，如流感病毒、逆转录病毒。

病毒核衣壳装配好后，无包膜病毒的核衣壳即为成熟病毒体。有包膜的病毒，装配好的核衣壳尚须获得包膜才能成熟为完整的病毒体。成熟的病毒体以不同方式从宿主细胞中释放（release）出去。有包膜病毒多通过芽生方式，从细胞膜系统（核膜或细胞膜）获得包膜而释放。包膜上的脂类来自细胞，而蛋白则是由病毒自己编码的，故具有病毒的抗原性和特异性。有包膜病毒的出芽释放并不直接引起细胞死亡，细胞膜在出芽后可以修复。无包膜病毒在复制，装配过程中严重影响和破坏细胞，多通过溶解细胞释放出大量子代病毒，如腺病毒和脊髓灰质炎病毒。

二、病毒的生长曲线

病毒必须在活的细胞中才能进行生命活动。病毒复制周期指病毒从进入细胞到子代病毒产生，包括粘附和穿入、脱壳、生物合成、装配、成熟和释放整个过程。病毒复制周期长短与病毒的种类有关，多数病毒复制周期至少要 24 小时以上。利用细胞培养研究病毒复制周期时，在病毒感染细胞后不同时期内，分别测定感染性病毒，直到细胞死亡。若以时间为坐标、病毒数量的对数值为纵坐标，即获得病毒复制周期的生长曲线（图 5-8）。

依据病毒数量有无和多少把生长曲线分为三期：接种病毒后数小时内，有一段时间

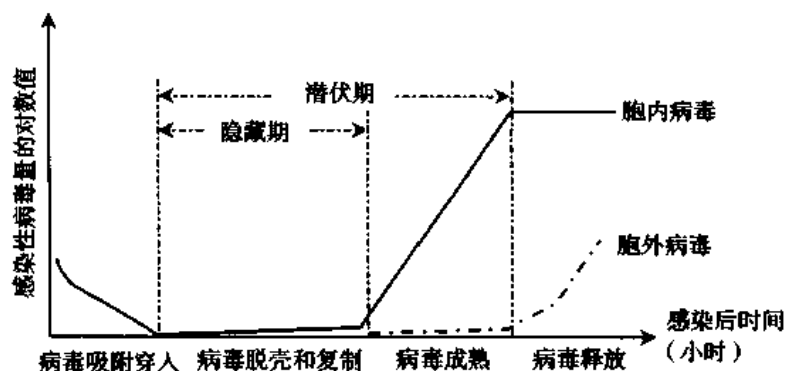


图 5-8 病毒生长一步曲线

不能在细胞中测出病毒，称此段时间为隐蔽期 (eclipse)。隐蔽期发生在病毒感染早期，包括粘附、穿入、脱壳和生物合成阶段。对数生长期，病毒数量的对数与时间成比例增加，产生大量子代病毒，包括病毒装配和释放发生在感染后期，最后为细胞死亡期。

三、病毒的异常增殖和干扰现象

病毒进入细胞并在细胞内复制其实质是病毒和细胞相互作用的过程，并非所有的病毒成分均能组装成完整的子代病毒，可因病毒自身和宿主细胞两方面的原因导致病毒不能完成复制。此外，若两种或两种以上病毒感染同一细胞时，也会发生病毒之间的相互影响。

(一) 病毒的异常增殖

1. 顿挫感染 能支持病毒完成正常增殖的细胞称为该病毒的容纳细胞 (permissive cell)。病毒进入细胞后，因细胞不能为病毒提供复制的必要条件 (如酶类、能量及必要成分)，故没有完整病毒体的产生，此类细胞称为非容纳细胞 (non-permissive cell)。病毒进入非容纳细胞的感染过程称之为顿挫感染 (亦称流产感染, abortive infection)。在非容纳细胞中，病毒的成分可以存在，但不能装配和释放出完整的子代病毒。如人腺病毒可在人胚肾细胞 (容纳细胞) 中正常增殖，但在猴肾细胞 (非容纳细胞) 中不能正常增殖，发生顿挫感染。

2. 缺陷干扰颗粒 因病毒基因组不完整或发生严重改变，导致病毒不能复制出完整的子代病毒称之为缺陷病毒 (defective virus)。缺陷病毒与其他病毒共同感染细胞时，若其他病毒能弥补缺陷病毒不足，使之增殖出完整病毒，则称这种有辅助作用的病毒为辅助病毒 (helper virus)。缺陷病毒虽不能复制，但却具有干扰同种成熟病毒体进入细胞的作用，又称为缺陷干扰颗粒 (defective interfering particle, DIP)。DIP 具有正常病毒形态 (衣壳或包膜)，内含缺损的病毒基因组。DIP 不但能干扰非缺陷病毒的复制，也能影响细胞的生物合成。当 DIP 和辅助病毒共感染时，可产生成熟病毒，如腺伴随病毒与腺病毒，丁型肝炎病毒与乙型肝炎病毒。此时，腺伴随病毒和乙型肝炎病毒是辅助病毒。DIP 具有双重作用，因为它不但干扰同种病毒复制，还从同种成熟病毒基因组那里弥补自己的不足。此外，有动物实验表明，DIP 和完整病毒共同感染时，可产生持续性感染。

(二) 病毒的干扰现象

当两种病毒同时感染同一细胞时,可发生一种病毒的增殖抑制了另一种病毒的增殖现象称为干扰现象(interference)。干扰现象多发生于人和动物病毒之间,有时同种病毒不同型、不同株之间也可发生干扰现象。病毒间干扰现象的机制有多个方面,主要是某一病毒作用宿主细胞、诱导其产生抑制病毒复制的蛋白质,被称为干扰素(interferon, IFN)。此外,第一种病毒破坏了宿主细胞表面受体或改变了宿主细胞代谢途径等,均可影响另一种病毒的复制过程。干扰现象不只发生在两种成熟病毒体之间,成熟病毒和缺陷病毒 DIP 之间也可发生。病毒之间干扰现象能使感染终止、宿主不发病。在使用疫苗预防病毒性疾病时,则应注意合理使用,避免干扰现象发生。

第四节 病毒的遗传和变异

病毒与细菌一样,有遗传性和变异性。由于病毒体结构简单,基因组单一且容量小,因此最早成为遗传学特别是分子遗传学的研究对象和工具。对病毒遗传和变异的研究不但有助于揭示病毒的实质和致病分子机制,而且利于人类控制病毒的流行和发生,乃至利用病毒为人类造福。最早发现的病毒变异是病毒性状的变异如毒性、抗原性、抵抗性、依赖性和空斑变异等。传统遗传学就是利用不同表型的病毒株之间遗传物质交换来分析病毒基因的生物学功能。随着分子遗传学的兴起,对病毒的遗传和变异有了更深入的认识。病毒基因组的差异决定了病毒的生物学性状不同,也决定了病毒遗传变异的机制。

一、病毒变异的类型

(一) 病毒株基因组碱基序列的变异

突变(mutation)株是指病毒基因组碱基序列发生改变,而导致病毒表型性状改变的毒株(表型混合例外)。突变可以是自然产生,也可以是诱导出现。一般情况下,环境因素对突变只起选择作用而不起诱导作用。病毒在增殖过程中可发生自发突变,突变率为 $10^{-4} \sim 10^{-8}$ 。主要是因病毒复制速度快,如单个腺病毒在一个细胞内可产生17代约25万个子代病毒DNA分子。因DNA多聚酶忠实性不高,导致碱基错配发生突变。在RNA病毒因不存在复制后的校正机制,其突变率比DNA病毒更高。用核酸测序等分子遗传学方法和表型分析鉴定技术,可以确定出突变株,常见的突变株多具有容易检测和识别的生物学特性,其基因组序列可有点突变,缺失突变和插入突变等。若这些突变发生在基因结构内,则称为基因突变。基因突变产生的突变株(mutant)可导致特定表型改变,如病毒空斑大小、形态改变、宿主范围、细胞病变及致病性改变。未引起表型改变的基因突变称静默突变(silent mutation)。常见的、有意义的突变株有以下几种:

1. 温度敏感株 温度敏感株(temperature sensitive mutant, ts 突变株)在28~35℃条件下可在细胞中增殖,但在36~40℃条件下则不能增殖,这与野毒株(wild type virus)能在20~39.5℃下增殖特性完全不同。ts株多为减毒株,具有较高的回复突变率,经多次诱变后,能获得稳定的病毒突变株。这种能稳定存在、并在相应宿主细胞中

传代与存活的突变株称为变异株 (variant), 脊髓灰质炎疫苗就是这种变异株。ts 突变株为条件性致死突变株, 受温度条件影响而决定能否增殖。其原因在于高温下, ts 变异株基因编码的蛋白质或酶失去功能, 病毒不能增殖。

2. 宿主范围突变株 (host - range mutant, hr 突变株) 是指病毒基因组改变影响了对宿主细胞的吸附或相互作用, 该 hr 突变株可以感染野生型毒株不能感染的细胞, 利用此特性可用于制备减毒疫苗 (如狂犬疫苗和麻风疫苗)。

3. 耐药突变株 (drug - resistant mutant) 多因病毒酶基因突变使得药物作用的靶酶特性改变, 病毒对药物不敏感, 继续增殖。另外还有酶缺损突变株、空斑大小突变株等。突变株是某一种病毒自身基因组序列上碱基变化引起的病毒突变。

(二) 病毒基因组之间的重组与重配

在两种或两种以上有亲缘关系但生物学性状不同的毒株 (如同种病毒) 感染同一种细胞时, 两者相互作用发生核酸水平上的互换和重新组合, 形成了兼有两亲代病毒特性的子代病毒。把这种两个病毒基因组间核酸序列互换、组合过程称重组 (recombination)。重组可以在多种类型的病毒基因组之间发生, 如不论基因组是 DNA 或 RNA 分子, 基因组不分节段等。重组时病毒核酸分子断裂、交叉连接, 引起核酸分子内部重新排列。在分节段的 RNA 病毒基因组之间 (如流感病毒, 轮状病毒等), 两个病毒株可通过基因片段的交换使子代基因组发生突变, 这种过程被称之为重配 (reassortment)。流感病毒不同株之间基因片段的重新分配, 是引起该病毒抗原性改变的主要原因。重组和重配是发生在两种以上病毒基因组之间的交换组合所产生的突变 (图 5-9)。

(三) 病毒基因产物的互补与表型混合

一般情况下, 某些病毒不能在细胞培养中产生子代病毒, 但当用不同毒株混合感染时, 通过两种病毒基因产物之间相互作用则有感染性子代病毒产生, 称此过程为互补作用 (complementation)。

互补作用在缺陷病毒之间可以发生。例如两个缺陷病毒, 一个只缺失包膜蛋白基因, 另一个只缺失多聚酶基因, 两者均不能产生完整子代病毒体。在混合感染时, 两者

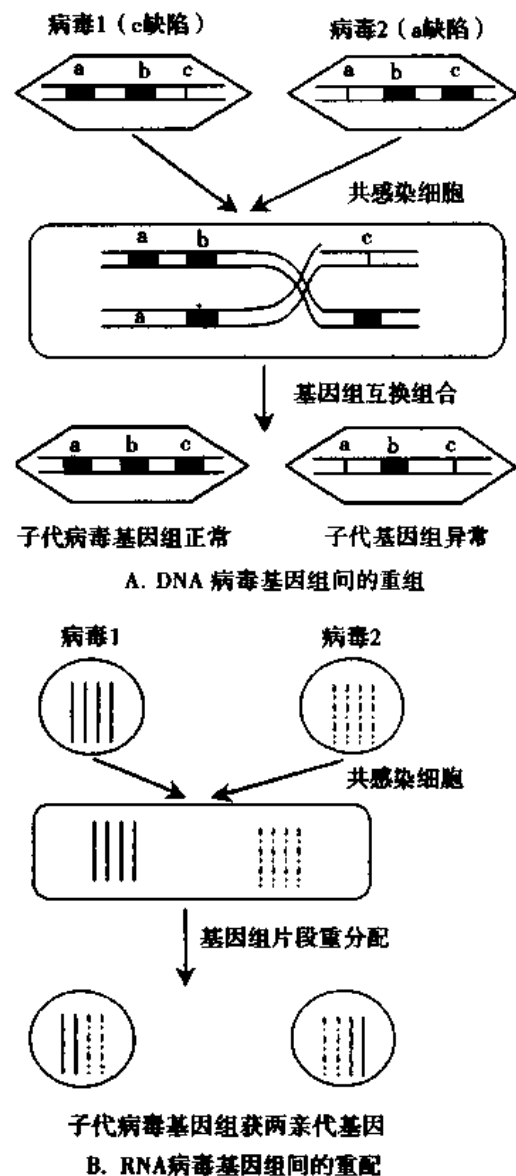


图 5-9 病毒基因组间的重组 (A) 和重配 (B)

基因产物互为补充，产生了两种子代病毒。当然在正常和缺陷病毒之间也可发生基因产物的互补作用。

当两种病毒感染细胞时，各自产生不同的结构蛋白和非结构蛋白产物，在子代病毒装配时，会出现各种产物之间的组合。当出现互相交换衣壳蛋白和包膜糖蛋白时，由于混合形成两种镶嵌的衣壳和包膜称之为表型混合。若只是一种病毒的衣壳或包膜包裹了另一种病毒的基因组的组合称表型交换，这在肠道病毒中常可见到（图 5-10）。

需要强调的是，互补作用，表型混合和表型交换并未发生核酸遗传物质的改变，只是在蛋白质水平上的变化而引起一些生物特性的改变。这种变异是不稳定的，经传代后会失去改变的性状，由基因组决定的遗传性状又恢复原有表型。

（四）病毒基因组与细胞基因组的整合

病毒基因组自身序列改变，两种以上病毒基因组之间的重组和重配以及两种病毒基因产物之间的互补、交

换和混合均可导致病毒发生遗传性变异。在病毒感染细胞的过程中，有时病毒基因组或基因组中某些片段可插入到宿主细胞染色体 DNA 分子中，把这种病毒基因组与细胞基因组之间的重组过程称为整合（integration）。乳头瘤病毒、腺病毒、疱疹病毒都能将 DNA 全部或部分插入细胞基因组中去，逆转录病毒也具有此整合特性。肿瘤病毒基因组的整合作用，可引起宿主细胞基因组产生变异、使细胞发生恶性转化等改变。整合也可导致病毒基因组发生变异，包括基因组部分序列的缺失等。

二、病毒的分子遗传学研究

分子遗传学兴起于 20 世纪 70 年代，病毒基因组一开始就被作为研究材料和模式生物遗传物质。因而，分子病毒学也是从分子遗传学研究中受益最多，发展最快的一个领域。当前，对病毒遗传和变异的研究主要在分子水平上进行，并取得了令人瞩目的成就。

1. 病毒基因组研究 随着人类基因组计划、微生物基因组计划的实施，作为模式生物的病毒基因组研究也加快步伐。由于病毒基因组小、与人类疾病的关系密切，目前与人类疾病密切相关的病毒基因组多已被测定。我国学者也已完成了天坛株痘苗病毒和我国甲、乙、丙、戊、庚型肝炎病毒的全基因组测序。主要病毒基因组序列的测定，为破译病毒遗传密码，了解其致病机制和控制病毒感染打下了坚实基础。

2. 病毒基因组结构和功能的研究 与人类基因组计划完成之后实施的后基因组计

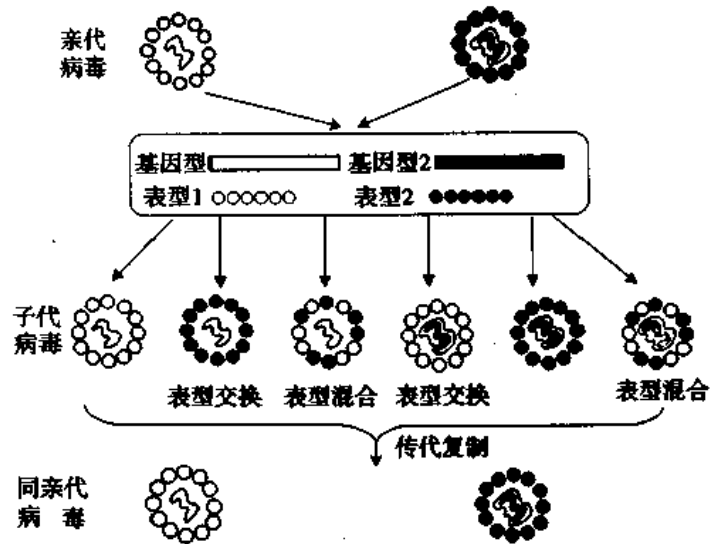


图 5-10 病毒的表型混合和表型交换

划（蛋白质组学，功能基因组学等）一样，在获得病毒基因组全序列资料后，必须针对某一种病毒基因组的结构进行详尽研究，包括其开放读码框架（ORF），调控元件及各病毒株之间的序列突变情况等。更重要的是利用基因重组、基因突变（点突变及缺失突变）等技术可以研究病毒基因的功能，进而全面地、精确地了解病毒基因组的功能。

3. 比较病毒基因组学的研究 采用核酸多态性研究技术，对病毒不同科、种、属和株之间进行比较分析研究，寻找其遗传学上保守序列和多态性、对于了解病毒起源、进化、分类和进行流行病学分析很有帮助。同时也为病毒性疾病的诊断、治疗和疫苗研制提供线索。

4. 病毒抗原性表位研究 依据基因组核苷酸序列，分析资料，运用多肽展示技术，经免疫原性研究，可以确定出保护性抗原位点。也可据基因分析，寻找抗原的高变区。这些若只在蛋白质水平上进行研究是难以很快得到的。

5. 病毒毒力相关基因研究 利用基因分析，基因表达及其产物生物活性研究，可以了解与病毒致病、致畸形、致转化和致癌作用密切相关基因，通过突变技术可以确定这些基因功能。

总之，利用病毒分子遗传学技术，对病毒基因组的遗传与变异已展开全方位、多层次研究。如通过分析病毒酶基因变异，对病毒耐药性的研究。针对细胞的一些蛋白多肽与病毒基因组调控元件的结合，了解病毒与细胞的相互作用等。

三、病毒遗传变异的生物学意义

病毒的遗传稳定性保证了病毒物种的稳定和病毒的延续存在。病毒的变异又可以使其适应环境的变化，逃避宿主的免疫监视作用，所以病毒的遗传变异有着重要的生物学意义。在医学病毒学中，研究病毒遗传变异有以下几方面实际意义。

（一）在研究病毒致病性中的应用

病毒的致病性与其致病基因有直接关系，确定病毒的毒力基因，转化基因和与持续感染相关基因在研究病毒致病性中占有重要位置。找到病毒基因组中遗传学上最保守的核酸序列，进而了解其在病毒复制和致病性中的作用，也具有重要意义。特别值得指出的是某些病毒的基因突变，直接影响着致病作用，如流感病毒，HIV 病毒的变异容易造成感染的流行。

（二）在诊断病毒性疾病中的应用

病毒的表型改变和基因组变异严重影响着病毒性疾病的诊断和流行情况的监测。现实要求采用更加特异、敏感性的诊断新技术来替代现有的检测方法。其前提是必须确定出病毒核酸的高度保守序列，以便应用于核酸杂交、PCR 等基因诊断技术中；必须寻找到病毒特异的保守性的抗原表位，以便采用特异的单克隆抗体建立免疫学检测方法。对于高突变率的病毒感染（如流感）的诊断和流行情况的监测及预报，同样需要该病毒遗传变异的基础资料。当前，用于病毒性疾病诊断的生物芯片技术，无论基因芯片或是蛋白芯片的设计与制造，都是在充分了解病毒遗传和变异的背景资料基础上进行的。

（三）在治疗病毒性疾病中的应用

只有在充分了解病毒遗传和变异的基础上，才能设计出针对病毒复制、致病过程关

键部位、关键酶的靶向药物（如针对 HIV 逆转录酶和针对 HBV 多聚酶的药物），才能依据突变改变药物设计方案以解决病毒耐药性问题。当前病毒性疾病的基因治疗也已提上日程，而利用核酸分子药物（反义核酸、核酶）、自杀基因和基因打靶技术治疗病毒性疾病，其先决条件也是要充分了解病毒基因组的结构、功能和遗传变异情况。

（四）在预防病毒感染中的应用

疫苗的应用是控制病毒性疾病最有效的办法。虽然利用病毒各种变异株（减毒株）可以制备疫苗去预防病毒病，但如何获得无毒，无回复突变及免疫效果更好的疫苗一直是学者们的理想目标。基因工程疫苗、多肽疫苗及核酸疫苗的应用，利用病毒作载体制备预防多种病毒性疾病的多价疫苗，都是应用遗传变异的原理，通过选择和基因工程技术获得的。

（五）在基因工程中的应用

利用病毒专一性寄生和整合特性，对病毒基因组进行分子遗传学改造，设计出了基因工程病毒载体。当前广泛应用的有逆转录病毒载体、痘苗病毒载体，多角体病毒载体、腺病毒及腺伴随病毒载体，疱疹病毒载体和脊髓灰质炎病毒载体等。利用病毒载体容量大，繁殖快等优势，可以把目的基因带入到靶细胞中去表达目的产物。当前病毒载体已成功运用于：①在真核细胞基因工程中大量表达外源目的基因获得基因工程产品；②用于人类遗传病、肿瘤及某些代谢性疾病的基因治疗；③用于基因转移工具，进行基因功能、基因调控的理论研究。

第五节 理化因素对病毒的影响

从细胞中释放出来的病毒体，受到外界物理、化学作用后，会失去感染性，称为灭活（inactivation）。灭活的病毒仍可保留其抗原性、红细胞吸附、血凝及细胞融合等特性。不同病毒对理化因素的敏感性存在差异。理化因素可以通过：①破坏有包膜病毒的包膜（冻融或脂溶剂）；②使病毒蛋白变性（酸、碱、温度等）；③损伤病毒核酸（变性剂、射线等）灭活病毒。了解理化因素对病毒的影响，在分离病毒、疫苗制备和预防病毒感染等方面具有意义。

一、物理因素

1. 温度 多数病毒耐冷不耐热，病毒标本的保存应尽快低温冷冻。在干冰温度（ -70°C ）和液氮温度（ -196°C ）条件下，病毒感染性可保持数月至数年。多数病毒在 $50\sim 60^{\circ}\text{C}$ 30min， 100°C 数秒钟可被灭活。包膜病毒比无包膜病毒更不耐热， 37°C 以上可迅速灭活。反复冻融也能使病毒灭活。热对病毒灭活作用主要是破坏病毒衣壳蛋白、糖蛋白刺突而阻止病毒吸附，也能破坏某些酶活性影响病毒的复制。

2. pH 多数病毒在 pH5~9 范围内稳定，强碱或强酸条件下可被灭活。但有些病毒如肠道病毒在 pH2 时感染性可保持 24h，披膜病毒在 pH8 时也可保持稳定，所以对 pH 的稳定性可用来鉴别病毒。也可利用酸性、碱性消毒剂消毒实验室污染器具及用于防疫。

3. 射线 X射线、 γ 射线和紫外线都能灭活病毒。射线可以使病毒核酸链发生断裂；而紫外线则使病毒基因组中核苷酸结构形式变化或形成胸苷——尿苷二聚体，影响核酸复制。有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，激活酶可去除二聚体，灭活病毒又复活（光复活 photoreactivation），故不宜用紫外线灭活制备疫苗。

二、化学因素

1. 脂溶剂 乙醚、氯仿、去氧胆酸盐、阴离子去污剂等脂溶剂能使包膜病毒的包膜破坏溶解，病毒失去吸附能力而灭活。因脂溶剂对无包膜病毒（如肠道病毒）几乎无作用，故常用乙醚灭活实验鉴别病毒有无包膜。

2. 化学消毒剂 除强酸、强碱消毒剂外，酚类、氧化剂、卤类、醇类等对病毒均有灭活作用。常用的有1%~5%苯酚、70%甲醇、乙醇、碘及碘化物、漂白粉等均有效。消毒剂灭活病毒的效果不如细菌，而且不同病毒敏感性不同，无包膜的小病毒抵抗力较强。对肝炎病毒过氧乙酸、次氯酸盐较敏感，而醛类消毒剂由于破坏病毒感染性但可保持抗原性，故常用来制备灭活病毒疫苗。

3. 抗生素与中草药 现有抗生素对病毒无抑制作用，在病毒分离时，加抗生素主要是抑制细菌生长，以利分离病毒。中草药如板蓝根、大青叶、大黄、贯仲等对病毒增殖有一定抑制作用，值得深入研究。

4. 其他 有些病毒（正粘、疱疹、小核糖核酸病毒）在有 Mg^{++} 、 Ca^{++} 等盐类存在时，常提高对热的抵抗力。如用1mol/L $MgSO_4$ 保存这些病毒可耐受50℃ 1h。

第六节 病毒的分类

分类学的目的在于从整体上对病毒的起源、进化、共性和个性特点进行归纳和研究，以便更好地揭示病毒的本质、生物遗传特性和控制病毒感染。病毒分类的原则是：①宿主种类：动物病毒、植物病毒和细菌病毒（噬菌体）。②病毒形态与大小：病毒体呈球形、砖型、杆状或多形性。③核衣壳的对称型，立体、螺旋或复合对称。④有无病毒包膜及对乙醚等脂溶剂的敏感性。⑤核酸类型：基因组是DNA或RNA分子；核酸是线状、环状或是分节段；分子量大小及G+C含量等。⑥抗原性。⑦病毒在宿主细胞中的增殖部位、过程及生长特性。⑧人类病毒还考虑传播方式、媒介种类、流行病学特征及病理学特点等。1995年国际病毒分类委员会对病毒的分类做了重新修订。把病毒与细胞的相互作用，特别是对病毒的复制、转录、翻译和生物合成予以重视。第一次把病毒分为三大组：DNA病毒、RNA病毒和DNA或RNA逆转录病毒（包括DNA病毒中的嗜肝病毒科）。

依据分类原则，将病毒分为科、亚科和属。①病毒科（Virus families），由结构、性状相关和有亲缘关系的病毒属组成，科名后用后缀 -viridae表示，如picornaviridae（小RNA病毒科）。②属（virus genera），由结构、性状相关并亲缘关系相近的病毒成员组成，属名后用后缀 -virus，如小RNA病毒科中的肠道病毒属（enterovirus）。整个病毒被分为71个科，11个亚科，164个属和4000多种病毒，但有些病毒仍无法归类。

表 5-3 和表 5-4 是与人类疾病相关的重要病毒科。临床上常以传播途径来划分病毒类型，这有利于诊断、治疗和预防病毒性疾病（表 5-5）。

表 5-3 病毒分类表

核酸	病毒科	病毒体大小(nm)	包膜	乙醚敏感否	衣壳对称型	衣壳装配	基因组类型	大小(kb)	人类有关病毒
DNA	微小 DNA	18~26	无	否	立体	核内	ssDNA	5.6	B ₁₉
	乳多空	40~55	无	否	立体	核内	环状 dsDNA	4.5~7.8	HPV
	腺病毒	70~90	无	否	立体	核内	dsDNA	70~90	人腺病毒
	疱疹病毒	120~200	有	敏	立体	核内	dsDNA	120~225	HSV, VZV CMV, EBV
	痘病毒	230×300	有,复杂	敏	复合	胞浆	dsDNA	130~370	疫苗病毒
	嗜肝病毒	42	有,复杂	敏	立体	胞浆	dsDNA 部分环状	3.2	HBV
RNA	小核糖核酸	20~30	无	否	立体	胞浆	+ ssRNA	7~9	肠道病毒
	杯状病毒	30~39	无	否	立体	胞浆	+ ssRNA	5	HEV
	黄病毒	30~50	无	否	立体	胞浆	+ ssRNA	9~10	HCV 乙脑
	披膜病毒	50~70	有	敏	立体	胞浆	+ ssRNA	12	风疹病毒
	呼肠病毒	60~80	有	敏	立体	胞浆	dsRNA 分阶段	30	轮状病毒
	正粘病毒	80~120	有	敏	螺旋	胞浆	- ssRNA 分阶段	14	流感病毒
	副粘病毒	100~300	有	敏	螺旋	核内	- ssRNA 分阶段	16~20	麻疹病毒
	布尼雅病毒	90~100	有	敏	螺旋	胞浆	- ssRNA 分阶段	16~30	出血热病毒
	冠状病毒	80~160	有	敏	螺旋	胞浆	+ - ssRNA	20	冠状病毒
	沙粒病毒	50~300	有	敏	未知/ 复合	胞浆	- ssRNA 分阶段	10~14	
	弹状病毒	75×80	有	敏	螺旋	胞浆	- ssRNA	11	狂犬病毒
	丝状病毒	80×13~ 2000	有	敏	螺旋	胞浆	- ssRNA	?	马堡、埃博拉 病毒
	逆转录病毒	80~110	有	敏	未知/ 复合	胞浆	+ ssRNA 双倍体	5~8	HIV

注：+：正链；-：负链；s：单链；ds：双链；?：未知

表 5-4 依据病毒核酸特性病毒分类

病毒组和类	核酸特征	病毒举例	核酸节段数	备注
DNA 病毒				
I 类	双链,线状	腺病毒、疱疹、痘病毒科	—	
II 类	双链,环状	乳多空病毒科	—	
III 类	负单链,线状	微小病毒科	—	

续表

病毒组和类	核酸特征	病毒举例	核酸节段数	备注
IV类* RNA病毒	部分双链,环状	嗜肝病毒科	—	含逆转录酶
I类	正单链,不分节	星状、杯状、冠状病毒科 小RNA、披盖、黄病毒科	—	
II类	负单链,不分节	HDV和弹状丝状副粘病毒科	—	
III类	负单链,分节段	沙粒病毒科	2	
		布尼雅病毒科	3	
		正粘病毒科	6~8	
IV类	双链,分节段	呼肠病毒科	10~12	
V类*	正单链,不分节、 双倍体	HIV、HTLV		含逆转录酶

* 现把含逆转录酶的病毒归为一类,即病毒有三大组:DNA病毒、RNA病毒和DNA/RNA逆转录病毒组

表 5-5 按病毒传播方式和感染部位把人类病毒分类

病毒组	特征	举例
1. 虫媒病毒 (arboviruses)	借助昆虫(蚊、蝉、螨等) 叮咬传播	布尼雅病毒科、黄病毒、披 盖病毒及部分呼肠病毒
2. 肠道病毒 (enteric viruses)	经胃肠道感染人体,可引 起/不引起胃肠道系统症 状,亦可引起全身感染	小RNA病毒、杯状病毒、 星状病毒、轮状病毒和部分 腺病毒
3. 呼吸道病毒 (respiratory viruses)	一般引起上呼吸道疾病 有些引起肺部感染	正粘病毒,副粘病毒、鼻病 毒,某些腺病毒和冠状病毒
4. 肝炎病毒 (hepatitis viruses)	感染肝脏	甲、乙、丙、丁、戊、庚肝 炎病毒,TTV等
5. 性传播病毒 (sexually transmitted viruses)	通过性接触传播,可引起 局部或全身感染	HPV、HIV 某些疱疹病毒和 某些肝炎病毒

非寻常病毒致病因子

近来发现一些比一般病毒更小的传染因子,被归入亚病毒(subvirus),包括卫星病毒、类病毒和分类学上尚未确定归属的朊粒。

1. 卫星病毒(satellites virus) 多数与植物病毒有关,少数与噬菌体和动物病毒有关。如人类腺病毒卫星病毒(dependovirus)。卫星病毒分两大类,一类卫星病毒是RNA分子(曾被称为拟病毒:virusoid),必须靠辅助病毒的蛋白衣壳。另一类则可编码自己的衣壳蛋白。卫星病毒共同特点是:基因组为500~2000核苷酸的单链RNA,它们与辅助病毒基因组之间没有同源序列,复制时常干扰辅助病毒的增殖,这是与缺陷病毒明显不同之处。

2. 类病毒(viroid) 均为植物病毒,仅由200~400个核苷酸组成,为单链环状

RNA, 有二级结构, 不含蛋白质, 无包膜和衣壳。病毒 RNA 在植物细胞核内复制, 主要依赖宿主细胞 RNA 多聚酶 II 进行 RNA 合成。目前认为人类的丁型肝炎病毒 (HDV) 具有部分卫星病毒和类病毒的特征, 是一种特殊的嵌合 RNA 分子。

3. 朊粒 (prion) 结构仅由一种耐蛋白酶 K 的蛋白分子组成, 具有传染性, prion 名称来自 proteinaceous infectious particles, 译为蛋白侵染颗粒, 简称朊粒。由于它仅含朊粒蛋白 (PrP), 不少学者认为不宜列入病毒范畴, 译为朊病毒欠妥。近来发现, 动物和人类中枢神经系统慢性进行性传染病与朊粒感染有关。如动物羊搔痒病、疯牛病, 人类的库鲁 (Kuru) 病、克雅病 (Creutzfeld - Jakob disease, CJD) 与其有关。

展 望

病毒是体积微小、结构简单、遗传物质单一并只能严格在敏感活细胞中复制的非细胞型微生物。在自然界已知有 1 000 多种病毒, 其中有许多与人类疾病和健康密切相关。随着科学技术的发展, 一些新的病毒不断被发现并引起全人类密切关注。类病毒和蛋白质侵染颗粒 (亦称朊粒) 的出现, 动摇了原来的病毒概念, 乃至重新启动了蛋白质是否能够复制、它是否是最早的生命大分子这一重大课题的研究。

研究病毒的增殖是揭示病毒与细胞相互作用的重要途径。病毒增殖具有超级寄生、自我复制增殖和遗传性变异三大特征。不同类型的 DNA 病毒和 RNA 病毒的生物合成过程各异, 研究病毒的复制过程不但能揭示病毒增殖规律, 还有助于设计抗病毒药物 (如酶抑制剂), 了解病毒和细胞的基因调控以及病毒的致病性, 从而为控制病毒感染和利用病毒为人类谋福利打下基础。

病毒基因组具有相对简单、基因数目少和复制形式多样的特点, 加之病毒严格寄生, 受细胞影响大, 故病毒较其他微生物更具有遗传不稳定性即变异性。病毒的变异性在病毒演化、分类及病毒机制等理论研究领域具有重要意义。在应用方面, 可依照人类需要, 利用病毒基因工程研制出众多的基因工程药物、诊断试剂, 创造出更有效的新型疫苗和病毒载体, 为防治人类疾病作出贡献。

(楚雍烈)

第六章 病毒的感染与致病机制

人类病毒是指能感染人体或对人具有致病作用的病毒。病毒侵入机体，并在体内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机体、病毒与易感细胞相互作用的过程。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或产生病毒性疾病 (viral disease)，病毒性疾病与病毒感染是两个相关但又不同的概念。病毒引起人机体感染和疾病的能力称为病毒的致病作用，病毒致病是由侵入宿主、感染细胞开始的，其致病作用表现在人整体和细胞两个层次上。

第一节 病毒的传播途径

病毒侵入机体的方式和途径常决定感染的发生和发展。机体与外界相通的皮肤、口腔、鼻咽腔及泌尿生殖道等是病毒入侵机体的门户，所以病毒主要通过皮肤和粘膜（呼吸道、消化道或泌尿生殖道）传播。但在特定条件下，病毒可直接进入血循环而感染机体，如输血、注射、器官移植和昆虫叮咬等，人类病毒的感染途径及方式如表6-1所示。

表 6-1 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、唾液或皮屑	正粘病毒(流感病毒)、副粘病毒、小 RNA 病毒(鼻病毒)及水痘病毒等
消化道	污染的水或食物	脊髓灰质炎病毒、其他肠道病毒、轮状病毒、HAV 及 HEV
眼及泌尿生殖道	接触(直接或间接)、游泳池、性交	HIV、HSV-1、HSV-2、CMV、HPV、腺病毒及肠道病毒 70 型
破损皮肤	吸血昆虫、狂犬	脑炎病毒、狂犬病病毒等
血液	输血、注射、器官移植	HIV、HBV、HCV、CMV
经胎盘或产道	宫内、分娩产道、哺乳	风疹病毒、HIV、HBV、CMV 等

流行病学上把病毒在人群中的传播方式分为水平传播 (horizontal transmission) 和垂直传播 (vertical transmission) 两类。水平传播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)，主要通过呼吸道、消化道或皮肤粘膜等途径进入人体，产生水平感染 (horizontal infection)。垂直传播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，这种方式产生的感染称垂直感染 (vertical infection)，这在其他微生物少见，已知有十多种病毒可引起垂直感染，其中以 HBV、CMV、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。

病毒侵入机体后，有些病毒只在入侵部位感染细胞，称为局部感染（local infection）或表面感染（superficial infection）。有些病毒则从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）。病毒进入机体血液系统称病毒血症（viremia）。经血行播散的病毒首先在入侵机体的局部及其所属淋巴结增殖，随后进入静脉引起第一次病毒血症。此时如果病毒未受到中和抗体等的作用，则在肝脏、脾脏细胞内进一步增殖，再进入动脉引起第二次病毒血症，播散全身到达靶器官并引起感染，各种病毒因其最终靶器官不同而表现出不同的临床症状。

第二节 病毒的感染类型

机体感染病毒后，可表现出不同的临床类型。依据有无症状，可分为显性感染和隐性感染；依病毒在机体内感染过程、滞留的时间及出现临床症状的长短，病毒感染又分为急性感染和持续性感染。

一、隐性感染

病毒进入机体后，不引起临床症状的感染称隐性病毒感染（inapparent viral infection），又称亚临床感染（subclinical infection）。这可能与病毒的种类不同、毒力较弱和机体免疫力较强有关，结果病毒在体内不能大量增殖，对细胞和组织造成的损伤不明显。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。病毒隐性感染十分常见，容易造成漏诊和误诊。隐性感染者虽不出现临床症状，但病毒仍可在体内增殖并向外界播散病毒，成为重要的传染源。这种隐性感染者也称病毒携带者（viral carrier），所以隐性感染在流行病学上具有十分重要意义。相当部分的隐性感染者也可获得对该病毒的免疫力，从而终止感染。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0.1%。

二、显性感染

病毒显性感染（apparent infection）指病毒进入机体，到达靶细胞后大量增殖，使细胞损伤，致使机体出现临床症状的感染类型。病毒显性感染按症状出现早晚和持续时间长短又分急性感染和持续性感染。

（一）急性病毒感染

在急性病毒感染（acute viral infection）中，机体感染病毒后，潜伏期短、发病急，病程数日或数周，恢复后机体内不再有病毒并常获得特异性免疫。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，例如普通和流行性感胃等。

（二）持续性病毒感染

在持续性病毒感染（persistent viral infection）中，病毒在机体内可持续存在数月、

数年甚至数十年。可出现症状也可不出现症状，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。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，依据患者疾病过程，病毒在细胞或实验动物中的表现，大致分为：慢性感染、潜伏感染和慢发病毒感染三种情况。

1. 慢性感染 (chronic infection) 经显性或隐性感染后，病毒持续存在于机体血液或组织中，病毒不断排出体外，经血液传播。病程长达数月或数十年，患者临床症状轻微或无症状病毒携带者。如乙型肝炎病毒、巨细胞病毒和 EB 病毒等常形成慢性感染。

2. 潜伏性感染 (latent infection) 经急性或隐性感染后，病毒基因组潜伏在特定组织或细胞内，但并不能产生有感染性的病毒体，此时用常规方法不能分离出病毒，在某些条件下病毒可被激活而急性发作，并可检测出病毒的存在。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，以后由于机体受环境因素影响，劳累或免疫功能低下时，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，此时机体无症状也分离不出病毒。但以后出现慢性、进行性疾病、常导致死亡，此类感染又称迟发病毒感染。慢发病毒感染有些是由寻常的病毒引起，如免疫缺陷病毒引起的 AIDS。麻疹缺陷病毒引起的亚急性硬化性脑炎 (SSPE)；有些是由非寻常病毒引起的，如朊粒等特定生物因子引起的人克雅病 (CJD)、库鲁病 (Kuru) 也属慢发感染。近来研究发现还有一些病因未知的疾病如多发性硬化症、动脉硬化症和糖尿病等也可能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，无论是局部或全身感染、显性或隐性感染、急性或持续性感染均是如此，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。

第三节 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。病毒致病性是指某一病毒感染特定宿主并引起疾病；病毒毒力则是反映其引起产生症状和病理变化的强弱，有定量和比较的含意。如流感病毒可感染人群，具有致病性，但人群中个体症状轻重程度不一。而同是流感病毒其流行株和减毒疫苗株相比，则明显因毒力强弱不同，前者引起疾病，后者并不引起疾病。病毒的致病作用是从入侵细胞开始，并

扩延到多数细胞，最终影响组织器官的损伤、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。

一、病毒感染对宿主细胞的致病作用

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理提供了可能。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。除进入非容纳细胞后产生顿挫感染而终止感染过程外，在容纳细胞中可表现为：溶细胞性感染、稳定状态感染、细胞凋亡、细胞增殖和转化、病毒基因的整合及包涵体的形成。

（一）溶细胞性感染

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，这种作用称病毒的杀细胞效应（cytotoxic effect）。溶细胞型感染主要见于无包膜、杀伤性强的病毒，如脊髓灰质炎病毒、腺病毒。发生溶细胞型感染的病毒多数引起急性感染。

溶细胞性感染的主要机制：①阻断细胞大分子合成：由病毒编码早期蛋白（酶类等），通过各种途径抑制、阻断（或降解）细胞核酸或蛋白质合成。②细胞溶酶体结构和通透性的改变：病毒感染除造成宿主细胞的细胞骨架、各种细胞器的损伤外，特别是由于溶酶体膜通透性增加或破坏，溶酶体中的酶类可致细胞自溶，产生溶细胞感染（cytolytic infection）。③病毒抗原成分也可插入细胞膜表面，引起抗原改变，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，如腺病毒表面的蛋白纤维突起，即有毒性作用。⑤病毒感染对细胞器的损伤，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，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，称病毒的致细胞病变作用（cytopathic effect, CPE），一般体外 CPE 的产生与体内感染产生溶细胞作用相一致。

（二）稳定状态感染

有些病毒（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，由于以出芽方式释放病毒，其过程缓慢、病变较轻、细胞暂时也不会出现细胞溶解和死亡，称为病毒的稳定状态感染（steady state infection）。病毒的稳定状态感染常造成细胞膜成分改变和细胞膜受体的破坏。如麻疹病毒、副流感病毒感染细胞的膜成分发生改变，导致与邻近细胞融合，利于病毒扩散。又如流感病毒抗原出现在细胞膜上后，除引起抗原决定簇改变外，还因有病毒的血凝素存在，使细胞具有吸附红细胞的功能。稳定状态感染的细胞，经病毒长期增殖释放多次后，细胞最终仍要死亡。

（三）细胞凋亡

细胞凋亡（cell apoptosis）是由细胞基因自身指令发生的一种生物学过程。在一定条件下，细胞受到诱导因子作用，激发的信号传到细胞核内，激活细胞凋亡基因，从而

导致细胞出现细胞膜鼓泡、细胞核浓缩并可出现凋亡小体。由于染色体 DNA 降解，在凝胶电泳时出现阶梯式 DNA 条带。研究证实，有些病毒感染细胞后（如腺病毒，HPV 和 HIV 等），病毒可直接或由病毒编码蛋白间接作为诱导因子诱发细胞凋亡。病毒感染诱发宿主细胞凋亡的作用引起学者关注，了解其机制减少病毒感染细胞的损伤有重要价值。

（四）病毒基因组的整合

分子遗传学研究发现，病毒的遗传物质核酸可以结合到宿主细胞染色体 DNA 中，称为整合（integration）。病毒基因组整合有两种方式：一种是全基因组整合，如逆转录病毒复制过程中前病毒 DNA 整合入细胞 DNA 中。另一种是称失常式整合（aberration），即病毒基因组中部分基因，或 DNA 片段随机整合入细胞 DNA 中，这多见于 DNA 病毒。整合的病毒 DNA 可随细胞分裂而带入子代细胞中。病毒基因组的整合必然造成宿主细胞基因组的损伤，病毒若在细胞中增殖（如 HIV），其损害与一般病毒致细胞病理作用相似。有些病毒 DNA 整合后并无病毒的增殖现象。此时整合的病毒 DNA 片段，可造成细胞染色体整合处基因的失活、附近基因的激活等现象。有些整合病毒基因也可表达，编码出对细胞有特殊作用的蛋白（如 SV₄₀病毒的 T 蛋白引起细胞转化）。

（五）细胞的增殖与转化

有少数病毒感染细胞后不但不抑制宿主细胞 DNA 的合成，反而促进细胞 DNA 的合成，如体外细胞培养证实，SV₄₀病毒可促进细胞增殖，并使细胞形态发生变化，失去细胞间接触性抑制，而成堆生长。这些细胞生物学行为的改变，称为细胞转化（cell transformation）。人类病毒中的 HSV、CMV、EBV、HPV 和腺病毒中某些型可转化体外培养细胞，这些具细胞转化能力的病毒和病毒的致瘤潜能有密切联系，因部分转化细胞在动物实验中可以变成肿瘤细胞（参见肿瘤病毒章节）。病毒转化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。

（六）包涵体的形成

细胞被病毒感染后，在细胞浆或细胞核内出现光镜下可见的斑块状结构，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。包涵体破坏细胞的正常结构和功能，有时引起细胞死亡。

二、病毒感染对机体的致病作用

（一）病毒对组织器官的亲嗜性与组织器官的损伤

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，称之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粘膜有亲嗜性，脑炎病毒和脊髓灰质炎病毒对神经组织有亲嗜性，肝炎病毒对肝脏组织有亲嗜性等。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的损伤和功能障碍。病毒感染的过程，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症反应。与细菌性感染不同，病毒感染的炎症细胞主要是单核细胞。

(二) 免疫病理损伤

病毒具有很强的抗原性，感染细胞后还会出现自身抗原，从而诱发机体的免疫应答，机体免疫应答所产生的变态反应和炎症反应是主要的病理反应。

1. 体液免疫病理作用 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，在补体参与下引起细胞的破坏。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。

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，激活补体引起Ⅲ型变态反应，造成局部损伤和炎症。如沉积在肾毛细血管基底膜所致肾损伤（蛋白尿、血尿），沉积在关节滑膜上所致关节炎等。

2. 细胞免疫病理作用 细胞免疫在其发挥抗病毒感染同时，特异性细胞毒性 T 细胞（CTL）也对病毒感染细胞（出现了新抗原）造成损伤。此外，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。例如：麻疹病毒引起的脑炎及乙肝病毒引起的慢性肝炎，就有自身免疫病的因素。

总之，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。由于某些病毒可引起免疫病理损伤，因此，临床上应慎用免疫功能增强剂治疗这类疾病。

(三) 病毒对免疫系统的致病作用

病毒感染可对机体的免疫系统产生影响，包括：

1. 病毒感染引起免疫抑制 业已发现，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。如麻疹病毒感染患儿对结核菌素皮肤试验应答低下或阳性转为阴性。这种免疫抑制使得病毒性疾病加重、持续，并可能使疾病进程复杂化。免疫应答低下可能与病毒直接侵犯免疫细胞有关，如麻疹、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，使病毒难以清除，而且病毒存在这些细胞中受到保护，可逃避抗体、补体等作用，并随免疫细胞播散至全身。

2. 病毒对免疫活性细胞的杀伤 与上述病毒不同，人类免疫缺陷病毒（HIV）侵犯巨噬细胞和 T 辅助细胞（CD₄⁺）后，由于 HIV 对 CD₄⁺ 细胞具有强的亲和性和杀伤性，使其数量大量减少，细胞免疫功能低下，发生艾滋病，极易发生机会性感染或并发肿瘤。

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，免疫细胞和免疫因子对这些靶细胞发挥作用，从而发生自身免疫病。

展 望

病毒的感染是病毒在宿生细胞内复制和基因表达的过程，同时也引起细胞的病理损伤和子代病毒在宿主体内的传播。病毒感染多为隐性感染，显性感染中除急性感染外，持续性病毒感染受到重视。在持续感染中，病毒长期存在，不仅成为重要传染源，还与肿瘤及某些免疫性疾病的发生有关。预计今后将从分子病毒学和抗病毒免疫学两个方面对其进行深入研究。

病毒与细胞相互作用的研究始终是病毒学基础理论研究的重要内容，近年来由于分子生物学技术及细胞生物学技术的发展，使该领域的研究进入了新的水平，取得了丰硕成果。如除了解病毒致细胞病变作用外，还发现病毒与细胞在生化合成过程（包括复制、转录、RNA加工、翻译和后加工各个环节）中的相互作用。

今后，对病毒与宿主细胞相互作用的研究将向分子水平及整体水平两个方向深入发展。可以预料，在这两方面所取得的成果将为揭示已知病毒致病、致瘤、致畸机制方面做出重大贡献；有助于阐明更微小的亚病毒（类病毒、朊粒等）的致病作用；将使一些病因不明但与病毒相关的神经系统、自身免疫性疾病（如精神分裂、慢性疲劳综合征、SLE及类风湿等）的研究取得突破性进展。

（楚雍烈）

第七章 真 菌

真菌 (fungus) 是一类有细胞壁, 无叶绿素, 以寄生或腐生方式生存, 少数为单细胞, 多数为多细胞, 能进行无性或有性繁殖的一类真核细胞型微生物。真菌的结构比较完整, 有典型的细胞核 (有核膜、核仁), 并有由 DNA 和组蛋白组成的线状染色体。除部分真菌为单细胞外, 大多数真菌为多细胞并有发达的菌丝体。胞浆内有多种细胞器, 如线粒体、内质网、高尔基体等。繁殖方式除无性繁殖外, 还有有性繁殖方式。但真菌无叶绿素, 营化能异养生活, 多数腐生, 少数寄生或共生, 故真菌在物质循环中起着重要作用。

真菌在自然界分布极广, 与人类的关系非常密切。许多真菌已广泛应用于医药工业、食品、化工和农业生产, 有重要的经济价值。但也有些真菌可使食品、衣物、药材、药物制剂及农副产品霉变, 少数真菌还可导致人类疾病, 甚至与肿瘤发生有关。近年来真菌感染呈上升趋势, 这可能与滥用抗生素引起菌群失调, 以及滥用激素、免疫抑制剂、抗癌药物和 HIV 感染引起的免疫功能下降有关。在人类基因组研究中, 有一些人类基因也是从酵母菌中寻找新基因入手而获得的。

真菌种类繁多, 有 10 余万种。在分类学上真菌已与植物界和动物界并列成为真菌界 (Kingdom Fungi)。按 Ainsworth (1973) 分类系统, 真菌界分为两个门, 即真菌门和粘菌门。真菌门 (Eumycota) 再根据真菌的菌丝有无横隔, 有性孢子类型, 又划分为五个亚门, 即①鞭毛菌亚门 (Mastigomycotina): 少数单细胞, 多数为分支的菌丝体。无性孢子为产生能游动的孢子, 有性孢子为卵孢子。这类真菌的医学意义不大。②接合菌亚门 (Zygomycotina): 菌丝无隔, 无性孢子为孢囊孢子, 有性孢子为接合孢子。如毛霉菌属、根霉菌属。多属条件致病性真菌。③子囊菌亚门 (Ascomycotina): 原始子囊菌呈单细胞, 菌丝有隔。无性孢子为分生孢子, 有性孢子为子囊孢子。如酵母菌属、赤霉菌属。大多为腐生性真菌, 少数为机会致病性真菌。④担子菌亚门 (Basidiomycotina): 菌丝分隔, 有性孢子为担孢子。这类真菌包括食用菌和药用真菌, 如银耳、木耳、香菇、灵芝、猪苓、马勃等, 但也有部分可引起超敏反应性疾患。⑤半知菌亚门 (Deuteromycotina): 对此类真菌生活史了解不完全, 未发现其有性阶段, 故称为半知菌。菌丝有隔, 无性孢子为分生孢子。如青霉菌属、曲霉菌属、各种皮肤癣菌、假丝酵母菌等。医学上具有重要意义的真菌大多属于此亚门, 可引起人类的各种皮肤癣病和深部真菌感染等。

第一节 真菌的生物学特性

真菌比细菌大几倍至几十倍, 用普通光学显微镜放大数百倍就可观察到。真菌包括

单细胞与多细胞两类。单细胞真菌呈圆形或卵圆形，称酵母菌 (yeast)。多细胞真菌由菌丝和孢子组成，并交织成团，称丝状菌 (filamentous fungus) 或霉菌 (mold)。少数真菌可因环境条件 (如营养、温度、氧气等) 的改变而产生两种形态的互变，称为二相真菌 (dimorphic fungus)，如球形孢子菌、组织胞浆菌等，当它们在宿主体内时呈酵母菌，在普通培养基上、25°C 条件下培养时则呈丝状菌。

一、真菌的形态与结构

真菌在生长发育过程中，表现有多种形态特征。而且真菌拥有与一般真核细胞相似的细胞结构，因而其形态和结构都比较复杂。

(一) 真菌的形态

1. 酵母菌 酵母菌 (yeast) 为单细胞真菌，一般都呈圆形、卵圆形或圆柱形，长 5~30 μm ，宽 3~5 μm 。

2. 真菌 霉菌 (mold) 是多细胞真菌，由菌丝 (hypha) 和孢子 (spore) 组成。许多菌丝交织在一起被称为菌丝体 (mycelium)。

(1) 菌丝：菌丝 (hypha) 是一种管状结构，其横径一般为 5~6 μm 。由成熟的孢子在基质上萌发产生芽管，芽管进一步伸长并产生分支而且不断生长形成，或由一段菌丝细胞增长而形成。各种丝状菌长出的菌丝形态不同，是鉴别真菌的重要标志。

菌丝按结构分为有隔菌丝和无隔菌丝两类 (图 7-1)。①有隔菌丝 (septate hypha)：菌丝间隔一定距离由横隔或隔膜 (septum) 将其分隔成多个细胞，每一个细胞含有一个至数个核。横隔中有小孔，可允许细胞质和核互相流通，如皮肤癣菌、曲霉菌等。②无隔菌丝 (non-septate hypha)：菌丝中无横隔将其分段，内有许多核，整条菌丝就是一个多核单细胞，如毛霉菌和根霉菌。

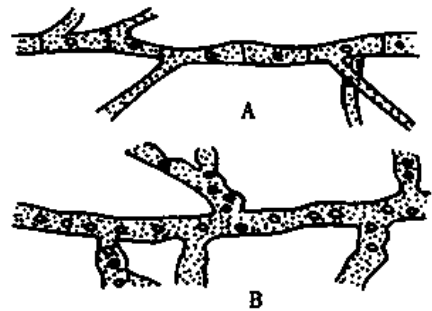


图 7-1 真菌的有隔菌丝与无隔菌丝
A. 有隔菌丝；B. 无隔菌丝

菌丝按功能分为：①营养菌丝体 (vegetative mycelium)：指伸入到培养基或被寄生的组织中吸取营养物质的那部分菌丝体。②气生菌丝体

(aerial mycelium)：指向空气中生长的那部分菌丝体。气生菌丝体中有部分菌丝发育到一定阶段可产生孢子，则称之为生殖菌丝体 (reproductive mycelium)。

此外，菌丝还可按其形态进行分类，如球拍状、螺旋状、结节状、梳状和鹿角状菌丝等 (图 7-2)。不同的真菌其菌丝形态也不同，故菌丝形态可帮助鉴别真菌。但相似形态的菌丝也可出现在不同的真菌中，这在真菌的鉴定中必须注意区别。

(2) 孢子：孢子 (spore) 是真菌的繁殖器官，它是真菌在不适宜生长的条件下所形成的一种特殊的细胞形态。一条菌丝可形成多个孢子，在环境条件适宜生长时，孢子又发芽长出芽管，发育成菌丝体。真菌的孢子与细菌的芽胞不同，其抵抗力不强，两者的区别见表 7-1。

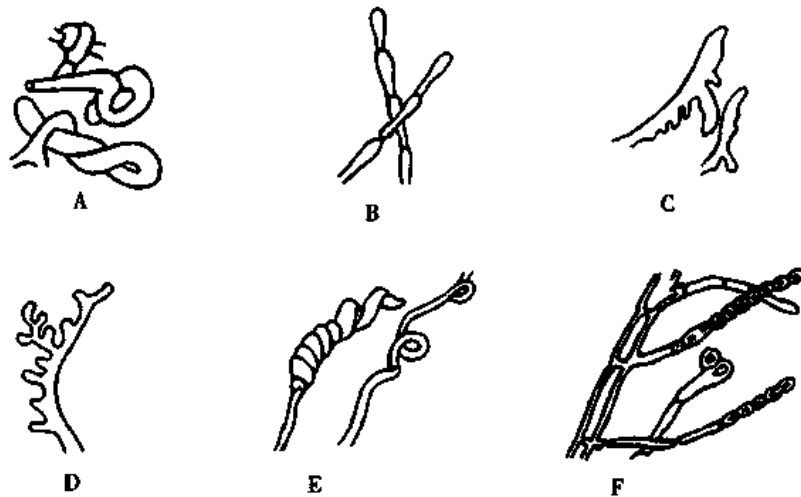


图 7-2 各种形态的真菌菌丝

A. 结节状菌丝; B. 球拍状菌丝; C. 梳状菌丝; D. 鹿角状菌丝;
E. 螺旋状菌丝; F. 关节状菌丝

表 7-1 真菌孢子与细菌芽胞的区别

真菌孢子	细菌芽胞
1. 抵抗力不强, 60~70℃短时即死	抵抗力强, 短时间煮沸不死
2. 一条菌丝可形成多个孢子	一个细菌只形成一个芽胞
3. 是一种繁殖方式	不是繁殖方式

真菌的孢子分为有性孢子和无性孢子两大类。有性孢子 (sexual spore) 是经过不同性细胞或性器官配合后产生的孢子, 主要有卵孢子 (oospore)、接合孢子 (zygospore)、子囊孢子 (ascospore) 和担孢子 (basidiospore) 四种类型。无性孢子 (asexual spore) 是菌丝上的细胞分化形成的, 不发生细胞融合。无性孢子主要有分生孢子、叶状孢子和孢子囊孢子。大部分真菌既能形成有性孢子, 又能形成无性孢子, 但半知菌亚门的真菌一般只能产生无性孢子。虽然目前已观察到半知菌亚门中有些菌也有有性生殖阶段, 但为数不多。由于半知菌亚门与医学关系密切, 故这里主要介绍无性孢子。真菌无性孢子的形态见图 7-3。

1) 分生孢子 (conidium): 在生殖菌丝末端或侧缘形成的单个、成簇或链状的孢子, 称为分生孢子, 是真菌中最常见的无性孢子。根据分生孢子的大小、组成和细胞的多少, 分生孢子又分为大分生孢子和小分生孢子。①大分生孢子 (macroconidium): 体积较大, 由多个细胞组成, 常呈梭状或梨形。大分生孢子的大小、细胞数和颜色是鉴定半知菌类真菌的重要依据。②小分生孢子 (microconidium): 孢子较小, 一个孢子即为一个细胞。真菌都能产生小分生孢子, 故小分生孢子对真菌的鉴别意义不大。

2) 叶状孢子 (thallospore): 是由菌丝内直接形成的孢子。叶状孢子又分为: ①芽

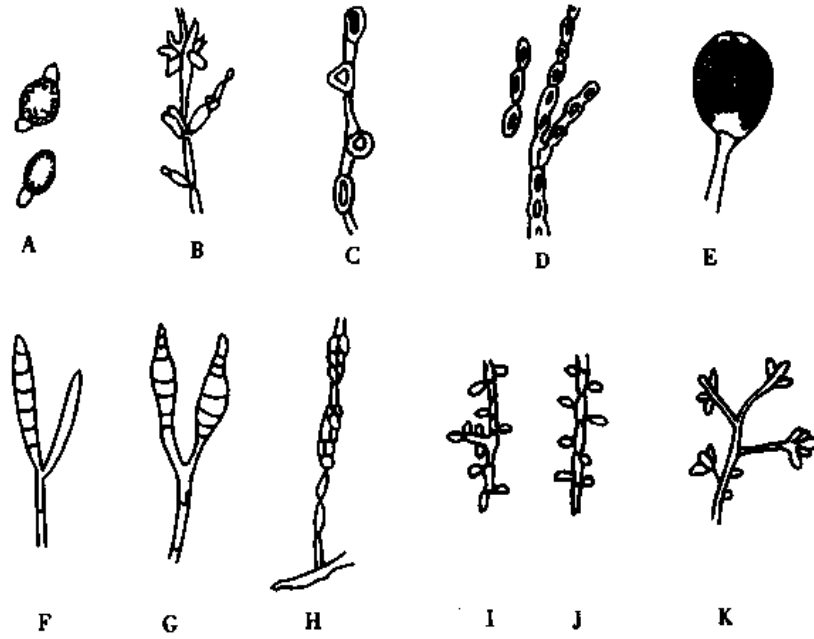


图 7-3 真菌无性孢子的形态

A、B. 芽生孢子；C. 厚膜孢子；D. 关节孢子；E. 孢囊孢子；
F、G、H. 大分生孢子；I、J、K. 小分生孢子

生孢子 (blastospore): 由细胞出芽形成的孢子称为芽生孢子。当芽生孢子长到一定大小即与母细胞体脱离, 若不脱离而相互连接形成链状, 被称为假菌丝 (pseudohypha)。酵母菌和白假丝酵母菌都以芽生孢子的方式繁殖, 但白假丝酵母菌易形成假菌丝。②厚膜孢子 (chlamydospore): 由菌丝顶端或中间部分变圆, 细胞浆浓缩, 细胞壁加厚所形成的孢子称为厚膜孢子。大多数真菌在不利的环境中都能形成厚膜孢子, 并使其代谢降低和抵抗力增强; 当环境有利其生长时, 厚膜孢子又可出芽繁殖。③关节孢子 (arthrospore): 在陈旧的培养物中, 菌丝细胞壁增厚, 出现许多隔膜, 然后从隔膜处断裂, 形成长方形节段, 呈链状排列的孢子称为关节孢子。

3) 孢子囊孢子 (sporangiospore): 即生在孢子囊内的孢子。气生菌丝或孢子囊梗顶端膨大, 并在下方生出横隔与菌丝分开而形成孢子囊, 囊内含有许多孢子, 孢子成熟后破囊散出。如毛霉菌、根霉菌等均形成孢子囊孢子。

(二) 真菌的结构

真菌的细胞结构比细菌复杂, 具有典型的真核细胞结构。但真菌也有一些有别于其他真核细胞的特征性结构, 如含有特殊成分和结构的细胞壁, 以及结构特殊的隔膜等。真菌结构的阐明有助于了解真菌的致病机制, 并为真菌病的诊断、预防和治疗提供重要的依据。

1. 细胞壁外的成分 部分真菌在细胞壁外有一层低电子密度的粘液, 其化学成分和功能与细胞壁完全不同。如新生隐球菌的荚膜层, 在电镜下可见到直径 3~4nm 的细微纤维, 呈放射状伸出细胞壁, 由甘露醇、木糖及尿苷酸等酸性多糖组成。该成分与新生隐球菌的毒力、致病性均有密切关系。

2. 细胞壁 位于细胞膜外层, 具有保持真菌营养, 使气体及酶能通透而不被代谢, 维持真菌形态和保护真菌细胞免受外界渗透压的影响, 组成真菌重要的抗原成分等多种功能, 因而目前对真菌细胞壁的研究越来越深入。

(1) 化学组成: 真菌细胞壁不同于细菌细胞壁, 它不含肽聚糖, 其主要成分是多糖(占干重的80%~90%), 也有少量蛋白质(2%~13%)、脂质(2%~8%)及无机盐类。多糖以组成细胞壁骨架的微细纤维和填入骨架缝隙的基质两种形式存在。微细纤维的骨架以几丁质(chitin)和葡聚糖为主。几丁质的基本成分是N-乙酰葡糖胺残基的直链多聚体, 不同的真菌几丁质含量差别很大, 其中以丝状真菌的含量最高, 其作用与菌丝生长和芽管形成有关。葡聚糖广泛存在于各类真菌的细胞壁内, 但以酵母样真菌的含量最高, 是真菌细胞外形坚硬性的分子基础。基质由很多种多糖组成, 大多与蛋白质形成复合物, 其中以甘露聚糖蛋白复合物含量最高, 其作用可能与维持真菌的形态有关。脂质中以磷脂为主, 不饱和脂肪酸也较多。脂质可保持真菌的水分不被蒸发。无机盐中以磷为主, 并含有少许钙、镁等元素。

(2) 结构: 真菌细胞壁一般可分为四层结构, 最外层是不定型的葡聚糖层, 厚度达87nm。第二层为糖蛋白形成的粗糙网, 厚49nm。第三层是蛋白质层, 厚9nm。最内层为几丁质微纤维层, 厚18nm。不同真菌其细胞壁结构不完全相同, 但均可用蜗牛酶消化脱壁制成真菌原生质体。

3. 隔膜 隔膜(septa)位于菌丝或细胞间, 是真菌进化过程中适应陆地环境的异种进化表现。不同真菌其隔膜各异, 低等真菌的隔膜完整, 但随着真菌的进化, 其隔膜出现不同大小的小孔, 可调节两侧细胞质的流动; 而担子菌纲真菌的隔膜还形成特殊的桶状结构。不同结构的隔膜也是真菌分类的依据之一。

4. 其它 与其它真核细胞相比, 真菌的细胞核小(仅1~5nm)而圆, 一个细胞或菌丝节段可含有1~2个、甚至20~30个细胞核。核仁位于中心, 核仁与核膜在细胞分裂期仍然存在。真菌的核蛋白体沉降系数为80S, 由60S和40S两个亚基组成。此外, 真菌细胞内还有线粒体和内质网系统等多种细胞器。

二、真菌的培养特性与菌落特征

(一) 真菌的培养条件

真菌对营养的要求较低, 故容易培养。一般来说, 单糖、双糖、糊精和淀粉等都可作碳源, 多数真菌都能利用无机氮源或有机氮源。真菌在生长过程中还需要无机盐类, 个别真菌需要微量元素和生长因子。实验室培养真菌常用沙保培养基(Sabouraud medium), 其成分简单, 主要由葡萄糖或麦芽糖、蛋白胨、琼脂等组成。由于真菌在不同的培养基上形成的菌落形态差别很大, 故鉴定真菌时均以沙保培养基上形成的菌落形态为准。由于真菌生长缓慢, 培养时间较长, 故可在培养基中加入抑制污染真菌生长的放线菌酮和抑制细菌生长的氯霉素。如果要观察真菌自然状态下的形态和结构, 宜做玻片小培养。所谓玻片小培养就是以无菌操作技术切取一小块沙保培养基, 置于无菌玻片上; 挑取小片真菌菌落接种在小块培养基的周边, 盖上灭菌盖玻片后置湿盒中培养一周, 再用乳酚棉蓝(lactophenol cotton-blue)染色, 在显微镜下可观察到菌丝和孢子的结构与

排列情况。

虽然大多数真菌在 pH2 ~ 9 范围内均可生长，但培养真菌的最适 pH 值为 4 ~ 6。真菌生长的最适温度为 22 ~ 28℃，但有的病原性真菌在 37℃ 时才生长良好。还有的真菌可在 0℃ 以下生长，从而引起冷藏物品的腐败。培养真菌需要较高的湿度与氧气。

(二) 真菌的繁殖方式

真菌的繁殖方式多样，可归纳为无性繁殖和有性繁殖两类。

1. 无性繁殖 无性繁殖 (asexual reproduction) 是指不经过两个异性细胞融合便能形成新个体的繁殖方式。无性繁殖方式的特点是简单、快速、产生的新个体多，是真菌的主要繁殖方式。具体表现为：①芽生 (budding)：先由真菌细胞或菌丝出芽，然后逐渐长大到一定大小时即与母体脱离，是真菌较常见的繁殖方式，如酵母菌和酵母样真菌多以此方式繁殖。②裂殖 (binary fission)：即真菌细胞以二分裂法直接形成两个子细胞。这种方式不多见，仅少数双相真菌在宿主机体内才以此方式繁殖。③隔殖 (septa)：先在分生孢子梗某一段形成一隔膜，然后原生质浓缩形成一个新的孢子。④菌丝断裂：即菌丝断裂成许多小片段，每一片段在适宜的环境条件下又发育成新的菌丝体。

2. 有性繁殖 有性繁殖 (sexual reproduction) 是指经过两个性别不同的细胞融合而产生新个体的繁殖过程。有性繁殖分为三个不同的阶段，即两个细胞的原生质结合的质配阶段、两个细胞核融合在一起的核配阶段和二倍体的核通过减数分裂成单倍体的减数分裂阶段。

(三) 真菌的菌落特征

真菌的繁殖能力强，但生长速度比细菌慢，常需 1 ~ 4w 才能形成菌落。真菌的菌落有以下三种类型。

1. 酵母型菌落 (yeast type colony) 菌落特征类似细菌菌落，但较细菌菌落大而厚，不透明，一般为圆形，表面光滑，湿润呈蜡状，柔软而致密，多为乳白色，少数呈红色。长时间培养后，菌落表面呈皱纹状，颜色变暗。多数单细胞真菌培养后都形成酵母型菌落。

2. 类酵母菌落 (yeast-like type colony) 菌落外观性状与酵母型菌落相似，但由于有芽生孢子与母细胞连接形成的假菌丝伸入到培养基中，故称类酵母菌落。如白假丝酵母菌的菌落。

3. 丝状菌落 (filamentous colony) 菌落比细菌、放线菌菌落都大，质地较疏松，呈绒毛状、毡状和棉絮状等；菌落和培养基连接紧密，不易挑起。接近菌落中心的气生菌丝因其生长时间较长，分化成熟较早，颜色一般也较深，故菌落中心与边缘的颜色常不一致，这些均可作为鉴别真菌的依据。多细胞真菌培养后都形成丝状菌落。

三、真菌的抵抗力与变异性

真菌的菌丝和孢子对热的抵抗力都不强，加热 60 ~ 70℃ 1h 均可被杀死。而对于干燥、

阳光、紫外线和一些化学消毒剂有抵抗力，但对 2.5% 碘酒、2% 结晶紫和 10% 甲醛则较敏感。真菌对常用的抗生素如青霉素、链霉素及磺胺类药物不敏感，但制霉菌素、两性霉素 B、5-氟胞嘧啶和酮康唑等对某些真菌有抑制作用。

真菌容易发生变异，培养时间过长或在培养基上传代次数较多时，其形态、菌落特征、孢子数目及色素、甚至毒力都可能发生改变。

第二节 真菌的致病性与免疫性

一般来说真菌的致病力比细菌弱，但真菌也可以通过多种方式致病，就其详细的致病机制而言，目前尚不完全清楚。由致病性真菌和机会致病性真菌所引起的疾病统称为真菌病 (mycosis)。根据感染部位可把真菌病分为浅部真菌感染和深部真菌感染，前者多与病原性真菌感染有关，后者多与机会致病性真菌有关。此外，真菌引起的超敏反应和中毒，以及真菌毒素引起的肿瘤也是不容忽视的。在真菌的免疫中，机体的天然免疫力具有重要作用，而获得性免疫也具有一定的保护作用。

一、致病性

1. 致病性真菌感染 这类真菌感染属于外源性感染，由于其侵入机体而致病。根据感染部位可分为深部和浅部的致病性真菌感染。深部的致病性真菌感染后症状多不明显，并有自愈倾向，如荚膜组织胞浆菌 (*H. capsulatum*)、粗球孢子菌 (*C. immitis*) 所致的感染。浅部的致病性真菌感染多有传染性，如皮肤癣菌 (*Dermatophytes*)。致病性真菌可引起皮肤、皮下和全身性真菌感染，其致病机制尚不完全明了。如皮肤及角层癣菌感染，是由于这些真菌有嗜角质性，其中部分菌可产生酯酶 (lipase) 分解细胞的脂质作为真菌生长的营养物质，以及通过其在局部繁殖后的机械刺激和代谢产物的作用，从而引起局部的炎症和病变。而深部感染的真菌可在吞噬细胞内繁殖，抑制机体的免疫反应，引起组织慢性肉芽肿和形成组织坏死溃疡。

2. 机会致病性真菌感染 机会致病性真菌多属于非致病的腐生性真菌和寄居在人体的正常菌群，其感染多发生在机体免疫力降低时，常见于接受放疗或化疗的肿瘤患者、免疫抑制剂使用者、艾滋病患者、免疫缺陷患者及糖尿病患者等。这些人的免疫力本已低下，如果再继发机会真菌感染，给治疗带来很大的困难，其预后一般都较差。机会致病性真菌在我国最常见的是白假丝酵母菌 (*S. albicans*)，其次是新生隐球菌 (*C. neoformans*)，以及卡氏肺孢菌 (*Pneumocystis carinii*，过去称为卡氏肺孢子虫)、曲霉菌 (*Aspergillus*)、毛霉菌 (*Mucor*) 等。

3. 真菌超敏反应性疾病 即由真菌引起的超敏反应，是临床上超敏反应性疾病的重要组成部分之一。这些真菌本身可能不具致病性，但由于他们污染空气环境，从而导致超敏反应的发生，所以呼吸道是其主要的侵入门户。可引起超敏反应的真菌有曲霉菌 (*Aspergillus*)、青霉菌 (*Penicillium*)、镰刀菌 (*Fusarium*)、交链孢菌 (*Alternaria*) 和着色真菌等，常引起哮喘、超敏性鼻炎、荨麻疹及接触性皮炎等疾病。

4. 真菌性中毒 是由于某些真菌污染粮食和油料作物、以及发酵的食品后产生真菌毒素 (mycotoxins), 人食入后导致急性或慢性中毒, 称为真菌中毒症 (mycotoxicosis)。根据真菌毒素作用的靶器官, 可将其主要分为肝脏毒、肾脏毒、神经毒、造血器官毒及过敏性皮炎毒等。如我国东北地区食用的“臭米面”, 它是由玉米等粮食经水浸泡后磨面制成, 由于水浸泡后粮食霉变, 人食用后即引起中毒。又如长江流域等地因产毒的镰刀菌引起赤霉病麦, 人食入后引起肝、肾、心肌、脑等重要器官的病变。还有河北、河南的霉甘蔗中毒, 主要由节菱孢菌 (*Arthrrium*) 等产生的 3-硝基丙酸引起, 脑是主要的靶器官, 可引起抽搐、昏迷, 死亡率达 20% 左右。另外, 由于食入了有毒的蘑菇也可引起急性真菌中毒, 这也是应该注意的。

真菌中毒与一般的细菌性或病毒性感染不同, 因为真菌是在污染的粮食或食品中产生毒素, 容易受到环境条件的影响, 所以有明显的地区性和季节性, 但不具传染性, 也不引起流行。通过多次搓洗污染的粮食可以减少毒素, 从而减低其毒性, 起到一定的预防作用。

5. 真菌毒素与肿瘤 随着对真菌代谢产物研究的深入, 不断发现有些真菌毒素与肿瘤的发生有关, 其中研究最多的是黄曲霉毒素 (aflatoxin), 目前研究已经表明黄曲霉毒素 B₁ 的致癌作用最强, 如果饲料中含 0.015ppm 黄曲霉毒素 B₁, 喂养大鼠后即可诱发产生肝癌。此外, 赭曲霉 (*A. ochraceus*) 产生的黄褐毒素也可诱发肝脏肿瘤, 镰刀菌产生的 T-2 毒素可使试验大鼠产生胃癌、胰腺癌、垂体和脑肿瘤, 青霉菌产生的灰黄霉素可诱发试验小鼠的肝脏和甲状腺瘤, 展青霉素可引起肉瘤等, 已经引起了医学界的广泛重视和深入研究。

二、免 疫 性

抗真菌感染的免疫与抗其它病原菌感染的免疫既有相似性, 也有其特殊性。其中机体的天然免疫在阻止真菌病的发生上起重要作用, 而获得性免疫与真菌病的恢复密切相关。在天然免疫方面, 皮肤粘膜屏障发挥着重要作用。如儿童易患头癣, 是因为其皮肤的皮脂腺发育不完善, 具有杀真菌作用的不饱和脂肪酸分泌量不足, 影响其抗真菌作用。成人易患手足癣, 是因为成人手足的汗较多, 有利真菌生长所致。其次, 人体中还发现了一些天然具有抗真菌作用的物质。如促癣吞噬肽 (tuftsin) 可结合到中性粒细胞膜上, 提高其吞噬和杀灭真菌的活性, 并具有趋化作用。血浆中还有一种由淋巴细胞合成的转铁蛋白, 可扩散至皮肤角质层, 具有抑制真菌和细菌的作用。此外, 由于长期应用广谱抗生素后导致菌群失调, 或因患肿瘤、服用免疫抑制剂、HIV 感染等多种原因导致机体免疫力低下均可引起机会致病性真菌感染, 这也说明人体天然免疫在抗真菌免疫中的重要作用。

真菌感染机体后也可诱发产生特异的细胞免疫和体液免疫, 但以细胞免疫为主。真菌感染常引起迟发型超敏反应, 临床上真菌感染所致的癣菌疹可能与此有关, 这也是真菌感染者皮肤试验阳性的原因所在。真菌感染诱生的特异性抗体可以提高吞噬细胞对真菌的吞噬率, 并阻止真菌与宿主细胞或组织的粘附, 从而降低其致病作用。

第三节 真菌感染的微生物学检查

真菌病的微生物学检查原则与细菌感染的检查大致相同，但更强调真菌的分离和鉴定。由于皮肤癣菌与腐生性真菌之间在抗原性上有交叉，故浅部真菌感染一般不做血清学检查。

一、标本的采集

浅部真菌感染一般取病变部位的皮屑、毛发、指（趾）甲屑等，皮肤癣病宜取病变区与健康皮肤交界部位的材料。深部真菌感染则应根据病情取痰液、血液或脑脊液等。

二、病原性真菌的检查和鉴定

1. 直接镜检 皮肤、毛发等标本先经 10% KOH 微加温处理，使标本软化和透明，然后加盖玻片并在低倍或高倍镜下观察，如果看到菌丝和成串的孢子即可初步诊断为真菌病。若为液状标本，一般须离心后取沉渣直接镜检或染色后镜检。如疑为新生隐球菌感染，则取脑脊液沉淀物做墨汁负性染色后镜检。

2. 分离培养 常用于直接镜检不能确定真菌感染时。皮肤、毛发标本先经 70% 乙醇或 2% 石炭酸浸泡 2~3min 以杀死杂菌，再接种于含抗生素的沙保培养基。先经 37℃ 培养 2d 后转至 25℃ 继续培养 2~4w，观察菌落特点后再做真菌小培养，根据显微镜下菌丝和孢子的特征进行鉴定，必要时可加做动物试验。如果标本为血液，则需先进行增菌后再分离；如果标本为脑脊液，则应离心取沉淀物进行分离培养。

3. 血清学试验 多用于深部真菌感染的辅助检查。方法上可选用免疫学的凝集试验、沉淀试验、免疫标记技术等，既可检测真菌的抗原，也可检测机体感染后所产生的抗体。

随着医学科学的发展和新技术的不断涌现，对真菌感染的微生物学检查的要求也越来越高，并引进了不少新技术，诸如真菌 DNA 中 G + C mol% 测定、随机扩增多态性 DNA (RAPD)、PCR 限制性酶切片段长度多态性分析 (PCR-RFLP) 等，这些新技术的应用对提高真菌病的诊断水平起了积极的推动作用。

第四节 真菌感染的防治原则

对于真菌病目前尚无特异性预防方法，故强调一般性预防。皮肤癣菌感染的预防主要是注意皮肤卫生，避免与患者污染的物品直接接触，保持鞋袜干燥，消除皮肤癣菌增殖的条件。深部真菌感染的预防，首先要去除各种诱发因素，提高机体正常防御能力，增强细胞免疫功能，对免疫抑制剂使用者、肿瘤及糖尿病患者、HIV 感染者、年老体弱者更应注意防止真菌感染。

对于真菌病的治疗，目前对浅部真菌感染可选用达克宁霜剂、斯皮仁诺、癣药水及克霉唑等。对深部真菌感染，常用的药物有两性霉素 B (amphotericin B)、制霉菌素

(nystain)、5-氟胞嘧啶 (flucytosine)、密康唑 (miconazole) 及酮康唑 (ketoconazole) 等。这些药物的毒副作用较大, 其有效剂量与中毒剂量极为接近, 而且认为目前的抗真菌药物都不具有杀灭真菌的作用, 故需寻找疗效好、副作用小新的抗真菌药物。

展 望

真菌种类繁多, 与人类关系密切, “只要是真菌就有可能与人类有关”这一观点已逐步被实践证实, 而且目前临床上真菌感染所致的疾病逐渐增多, 越来越显示出真菌在医学上的重要意义。随着医学科学和技术的进步, 对医学真菌的研究将会不断地深入和发展, 以满足临床对真菌病诊断、预防和治疗的需要。

首先, 在真菌病的致病机制研究方面应该进行深入的研究。到目前为止, 人们并没有发现有真菌产生的内毒素或外毒素, 尽管近年报道某些真菌产生的酯酶具有致病作用, 但其详细机制仍不很清楚。为逐步阐明这些问题, 应该进一步深入研究真菌的超微结构, 因为生物医学的研究过程总是从结构向功能或作用方面深入的。真菌是医学八大类微生物中唯一属于真核细胞型的微生物, 其结构复杂, 这当中尤其值得研究的是真菌细胞壁及其壁外结构。一方面它们位于真菌最外层; 与真菌的粘附和致病关系密切, 如新生隐球菌的荚膜层; 其次是真菌细胞壁组成复杂, 有以几丁质或葡聚糖为主的细胞壁微细纤维和以蛋白质多糖复合物为主的骨架间基质。这些物质既具有重要的生理意义, 也可能在真菌的分类学和致病性上都具有重要作用, 目前还观察到很多真菌的多糖类物质具有明显的免疫调节作用。随着真菌超微结构研究的不断深入, 将为真菌病的预防和治疗带来新的突破。

其次, 在真菌病的诊断方面, 目前已经不能局限于传统的用显微镜来观察真菌菌丝和孢子的形态学诊断方法, 而是逐步向分子水平深入。这当中首先强调临床标本中真菌的分离培养, 然后用各种方法对其进行鉴定到种和型。目前在鉴定方面已引用了不少新技术, 如利用对真菌组成成分的血清学分析, 可将白假丝酵母菌分为 A、B 血清型, 将新生隐球菌的荚膜分 A、B、C、D 四型等。通过对真菌 DNA 中 G+C mol% 测定, 进一步了解真菌系统的发育和进化理论, 以及其分类鉴定等的意义。其它新方法还包括对真菌 DNA-DNA 或 DNA-rRNA 间同源性分析、随机扩增多态性 DNA (RAPD)、PCR 限制性酶切片长度多态性分析 (PCR-RFLP) 等, 这些新技术的应用既提高了真菌病的分子诊断水平, 也对真菌的分类学研究起了积极的推动作用, 如过去一直认为是原虫的卡氏肺孢子虫现已明确归入真菌。

在真菌病的治疗学方面也有了很大进展, 主要体现在以下两个方面。一是新的抗真菌药物不断出现, 而且毒副作用明显降低, 治疗效果不断提高。可以肯定地说, 疗效好而毒副作用小的新的抗真菌药物将会不断被发掘出来。二是抗真菌物的药敏测定方法学上有所突破, 如将集激光、射流、电子和计算机综合为一体的流式细胞术 (FCM) 应用于真菌的药敏测定, 可从亚细胞水平和分子水平以多种参数反映该菌对药物的敏感情况。近年来, 人们还利用计算机图像处理技术和自动分析系统来研究单个真菌菌丝的生

长动力过程，即 automatic antifungal activity analyzing system，简称 AAS，可清楚地反映药物对真菌生长的抑制情况，精确计算出该药物对该菌的最小抑菌浓度（MIC），具有良好的应用前景。

（李明远）

第八章 衣原体、支原体、螺旋体、立克次体、放线菌

医学微生物除了前述的细菌、病毒和真菌外，还有其他五类微生物，即衣原体、支原体、螺旋体、立克次体和放线菌。虽然他们在医学上的地位不如细菌、病毒和真菌等微生物重要，但他们在医学实践中仍具有一定意义，甚至在我国某些地方还具有重要意义，故也必须重视。

第一节 衣 原 体

衣原体 (chlamydia) 是一类专性活细胞内寄生、有独特发育周期、且能通过细菌滤器的原核细胞型微生物。过去曾被认为是病毒，现归属于广义的细菌范畴。与病毒相比，衣原体具有以下特征：①同时含有 DNA 和 RNA 两类核酸；②具有细胞壁，其组成成分与革兰阴性菌相似；③以二分裂方式繁殖，并有独特的发育周期；④有核糖体，在宿主细胞提供能量的情况下能进行多种代谢；⑤革兰阴性，大小为 0.2 ~ 0.5 μm ；⑥对多种抗生素敏感。我国学者汤飞凡等在衣原体研究方面作出了卓越贡献，他们在 1956 年首先用鸡胚分离到沙眼衣原体，并很快引起全世界的重视，由此展开了对衣原体的广泛而深入的研究。

衣原体广泛寄生于人类、鸟类及哺乳动物体内。根据衣原体的抗原构造、包涵体糖原的有无和对磺胺类药物的敏感性，可将衣原体分为沙眼衣原体 (*C. trachomatis*)，肺炎衣原体 (*C. pneumoniae*)，鹦鹉热衣原体 (*C. psittaci*) 和家畜衣原体 (*C. pecorum*) 四种，表 8-1 列举了四种衣原体的主要特性。对人致病的主要是前三种衣原体，其中以沙眼衣原体最多见。沙眼衣原体又分沙眼生物变种 (*Biovar trachoma*)、性病淋巴肉芽肿生物变种 (*Biovar lymphogranuloma venereum*, LGV) 和鼠生物变种 (*Biovar mouse*)。其中沙眼生物变种有 14 个血清型，LGV 生物变种有 4 个血清型。

表 8-1 四种衣原体的主要特性

性 状	沙眼衣原体	肺炎衣原体	鹦鹉热衣原体	家畜衣原体
自然宿主	人、小鼠	人	鸟类、低等哺乳动物	牛、羊
引起的主要疾病	沙眼 性传播疾病 幼儿肺炎	肺炎 呼吸道感染	肺炎 呼吸道感染	呼吸道感染
原体形态	圆形、椭圆形	梨形	圆形、椭圆形	圆形
包涵体糖原	+	-	-	-

续表

性 状	沙眼衣原体	肺炎衣原体	鹦鹉热衣原体	家畜衣原体
对磺胺的敏感性	敏感	不敏感	多数不敏感	不敏感
血清型	22	1(TWAR株)	不明	3
DNA 同源性				
与相同衣原体种	> 90%	> 90%	14% ~ 95%	88% ~ 100%
与不同衣原体种	< 10%	< 10%	< 10%	

注: TWAR 即 Taiwan acute respiratory

一、生物学性状

1. 发育周期与形态染色 衣原体在宿主细胞内繁殖有独特的发育周期, 呈现两种形态, 也就代表发育的两个时期。①原体 (elementary body, EB): 小球形, 直径 $0.2 \sim 0.4 \mu\text{m}$ 。电镜下可见到致密的核质和少量核糖体, 外周有坚韧的细胞壁。Giemsa 染色呈紫色, Macchavello 染色呈红色。原体在细胞外较稳定, 无繁殖能力, 但具有感染性。原体通过吸附和吞饮进入宿主细胞, 并逐渐增大、发育成为始体。②始体 (initial body): 大球形, 直径 $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$ 。无致密核质, 但有纤细网状结构, 故又称为网状体 (reticulate body, RB)。始体没有细胞壁, 但代谢活泼, Giemsa 和 Macchavello 染色均呈蓝色。始体在细胞外很快死亡, 故不具感染性。始体经二分裂繁殖后形成众多的子代原体, 成熟的子代原体从宿主细胞中释放, 再感染新的易感细胞, 开始新的发育周期, 每个发育周期约需 $48 \sim 72\text{h}$ 。原体与始体的主要性状比较见表 8-2。

表 8-2 衣原体原体和始体的性状比较

性 状	原 体	始 体
大小(直径, μm)	$0.2 \sim 0.4$	$0.8 \sim 1.0$
细胞壁	+	-
代谢活性	-	+
胞外稳定性	+	-
感染性	+	-
繁殖能力	-	+
RNA:DNA 比值	1	3~4
毒性	+	-

衣原体在宿主细胞内增殖后所形成的网状体和子代原体的空泡, 经染色后可在光镜下观察到, 被称之为包涵体 (inclusion body)。包涵体经 Giemsa 染色后呈深蓝色, 经碘染色则呈褐色 (因包涵体含有糖原)。由于衣原体的种类和发育时期的不同, 可形成各种形态的包涵体, 这有助于衣原体的检测。

2. 培养特性 沙眼衣原体专性活细胞内寄生, 用 $6 \sim 8\text{d}$ 龄鸡胚卵黄囊及各种传代细胞均可培养。一般培养 $48 \sim 72\text{h}$ 后可在细胞内查到包涵体及原体和始体颗粒。近年多采用细胞培养法培养衣原体, 常用的细胞株为 Hela-299 和 McCoy。为了提高分离培养

时的成功率，可在培养基中加入二乙氨基葡聚糖 (DEAE - dextrane)，并通过离心或用 X 光照射等方法，使更多的衣原体吸附到易感细胞表面。此外，部分衣原体也可动物接种进行培养，如性病淋巴肉芽肿衣原体可接种至小鼠脑内，鹦鹉热衣原体可作小鼠腹腔接种。

3. 抗原构造与分类 衣原体抗原有属特异性、种特异性和型特异性抗原三种。①属特异性抗原：位于细胞壁，化学本质为脂多糖，可用补体结合试验 (CF) 和免疫荧光 (IF) 的方法检测。②种特异性抗原：位于主要外膜蛋白 (MOMP)，可用 CF 和中和试验检测。③型特异性抗原：也存在于 MOMP，须用单克隆抗体微量免疫荧光试验检测。据此可将沙眼生物变种分 14 个血清型，LGV 分 4 个血清型，鼠生物变种分 4 个血清型。

4. 抵抗力 衣原体对热敏感，55 ~ 60℃ 仅存活 5 ~ 10 min。衣原体耐冷，在 -50℃ 可保存数年。常用的消毒剂也能迅速杀灭衣原体，如 0.5% 石炭酸 24h 可将其杀死，75% 乙醇半分钟即有效。衣原体对利福平、四环素、红霉素和磺胺类药物均敏感。

二、致病性与免疫性

1. 致病性 不同种属的衣原体其致病特性也不相同，如鼠生物变种只引起动物患病，肺炎衣原体、沙眼生物变种和 LGV 等则只引起人体患病，而鹦鹉热衣原体中的部分菌株则为人兽共患病原体。

衣原体的致病机制尚不完全清楚。它首先借助表面脂多糖和蛋白质吸附于易感细胞，使受染细胞的代谢被抑制，宿主细胞最终被破坏；衣原体还能产生类似革兰阴性细菌的内毒素样物质；受染机体所产生炎症反应和迟发型超敏反应，以及形成的肉芽肿等，都可能与其致病机制有关。

不同衣原体的传播途径也不同，其主要的传播途径有眼 - 眼、眼 - 手 - 眼、性接触传播、产道感染和呼吸道感染等。衣原体所致的疾病主要有沙眼、包涵体结膜炎、泌尿生殖道感染、性病淋巴肉芽肿和呼吸道感染（以肺炎为主）。

2. 免疫性 机体的天然免疫力在抗衣原体免疫中具有一定作用，而衣原体感染机体后可诱发产生特异性的体液免疫和细胞免疫，但保护性都不强，维持时间也短，故常造成衣原体的持续感染、反复感染和隐性感染。同时，免疫应答还可能造成免疫病理损伤。

三、微生物学检查

衣原体感染引起的疾病大多数都以临床诊断为主，无需做实验室检查。但对于感染早期和轻型感染者，可进行微生物学检查以辅助诊断。

1. 直接涂片镜检 根据不同的疾病采取不同部位的标本，如取痰液，呼吸道粘膜，眼、尿道和宫颈等刮取物或分泌物作涂片，经 Giemsa 染色后检查病变部位细胞内的包涵体。此法的敏感性较差，阳性率仅 40% 左右。

2. 衣原体抗原的检测 可根据免疫血清学试验的原理，用多种免疫学的方法检测标本中的衣原体抗原，但目前较推崇的方法是直接免疫荧光法。现已有商品化的衣原体检测酶标试剂盒，此法既简单、敏感性也好。

3. 衣原体的分离 将待检查的标本经链霉素处理后, 可采用小鼠腹腔、鸡胚卵黄囊或细胞培养的方法分离衣原体, 根据阳性病变需再做血清学方法鉴定。此法费时, 且设备条件和技术条件要求均高。

4. 血清学诊断 一般衣原体感染不需做此试验, 主要用于鹦鹉热衣原体和 LGV 感染的诊断。方法上常选用 CF, 早晚期血清抗体效价增高 4 倍或 4 倍以上者, 具有诊断意义。

5. 衣原体核酸的检查 可采用 DNA 探针和 PCR 技术检测衣原体核酸。本法的敏感性和特异性都好, 但费用高, 故未能普遍开展。

四、防治原则

对于衣原体感染的预防, 特别是对沙眼的预防, 主要是改善卫生状况和普及卫生知识。泌尿生殖道衣原体感染的预防原则与其他性传播疾病 (STD) 的预防原则相同。鹦鹉热衣原体感染的预防则着重于控制禽畜的感染和减少与病禽的接触。

衣原体感染的治疗常选用利福平、四环素和强力霉素等药物。

第二节 支原体

支原体 (*Mycoplasma*) 是一类无细胞壁, 形态上呈多形性, 可通过除菌滤器, 能在无生命的培养基中生长繁殖的最小的原核细胞型微生物。首先由法国 Nocard 在 1898 年从患胸膜肺炎的病牛中发现, 被命名为胸膜肺炎微生物 (*pleuropneumonia organism*, PPO); 以后在其他动物疾病中也发现, 又被称为类胸膜肺炎微生物 (*pleuro-pneumonia-like organism*, PPLO)。1937 年从人体中分离到此类微生物, 此后分离到的这类微生物愈来愈多。由于它们能形成有分支的长丝, 故称之为支原体。

支原体在自然界中广泛分布, 迄今已分离到 150 余种, 其中寄生性的有 90 多种, 而人体支原体至少有 15 种。支原体归属于柔膜体纲 (*Mollicute*)、支原体目 (*Mycoplasmatales*)。支原体目下再分三科, ①支原体科 (*Mycoplasmaceae*), 本科菌种生长时需从外界环境中摄取胆固醇。②无胆甾原体科 (*Acholeplasmataceae*), 即生长时不需摄取外源性胆固醇。③螺原体科 (*Spiroplasmataceae*), 也需外源性胆固醇, 主要特点是生长至一定阶段呈螺形。支原体科又分两个属, 即支原体属 (*Mycoplasma*) 和脲原体属 (*Ureaplasma*)。对人已明确有致病作用的主要有 3 种, 即肺炎支原体 (*M. pneumoniae*)、人型支原体 (*M. hominis*) 和溶脲脲原体 (*U. urealyticum*), 前二者属于支原体属, 后者属于脲原体属。除此之外, 支原体还经常污染细胞培养, 这已经成为世界性问题, 给病毒分离、单克隆抗体制备和其它细胞工程都带来一定困难。

一、生物学性状

1. 形态与结构 支原体没有细胞壁, 具高度多形态性, 但有球形、双球形和丝状三种基本形态, 也可呈环状、星状和哑铃状等。大小一般在 $0.2 \sim 0.3 \mu\text{m}$, 在加压情况下可通过一般除菌滤器。革兰染色阴性, 但不易着色。Giemsa 染色着色较好, 呈淡紫

色。

电子显微镜下支原体细胞膜的超微结构分三层，内、外层含蛋白质及糖类，中间层含脂质，其中胆固醇含量较多，约占36%，所以凡能作用于胆固醇的物质如两性霉素B和皂素等均可引起支原体细胞膜破裂而死亡。细胞质内含核糖体和双股DNA，其DNA分子量较小，约只有大肠杆菌的1/6左右，故支原体的代谢活动很有限。

有的支原体在细胞膜外还有一层由多糖组成的荚膜，具有毒性，参与支原体的致病。肺炎支原体和生殖器支原体（*M. genitalium*）有一种特殊的顶端结构，与支原体同宿主上皮细胞的粘附有关。

2. 培养特性 支原体主要以二分裂繁殖，由于基因组小，代谢能力有限，故繁殖较慢，生长周期平均为1~3h。支原体营养要求较高，一般都以牛心浸液作基础，再添加10%~20%的动物血清及10%新鲜酵母浸液（无胆甾原体除外）。血清用于提供胆固醇和脂肪酸，酵母浸液提供核苷前体及维生素等。支原体对pH要求较严格，一般为pH7.8~8.0，低于7.0则死亡。溶脲脲原体因其分解尿素产氨，可使培养基pH升高，故它的最适pH为6.0~6.5。支原体一般在有氧和无氧情况下都生长良好。

支原体生长缓慢，在固体培养基上培养2~3d后形成特殊的油煎蛋样的菌落。菌落中心较厚，向下长入培养基，周边为一层较薄而透明的颗粒区。肺炎支原体的菌落直径为100~150 μ m，溶脲脲原体的菌落直径仅10~40 μ m，故原称为“T株”（tiny strain）。在液体培养基中支原体的生长量较少，加之菌体小，故一般不易见到混浊，这既不便于观察支原体的生长情况，也给细胞培养中支原体污染的判断带来困难。

3. 生化反应 多数支原体在生长、繁殖过程中能利用葡萄糖或精氨酸作为主要能源，溶脲脲原体的能源可能是尿素。表8-3列举了主要的支原体及其生化反应。

表8-3 人类主要的支原体及生化反应

支原体	葡萄糖	精氨酸	尿素	吸附血细胞
肺炎支原体	+	-	-	+
人型支原体	-	+	-	-
生殖器支原体	+	-	-	+
溶脲脲原体	-	-	+	-

4. 抗原构造 支原体的抗原主要有蛋白质和糖脂两类，且各种支原体的抗原特异性好，很少有交叉，这对支原体鉴定有重要意义。蛋白质抗原的测定常用ELISA，糖脂类抗原常用补体结合试验。由于支原体的抗血清可抑制相应的支原体生长，由此建立了生长抑制试验（growth inhibition test, GIT）和代谢抑制试验（metabolic inhibition test, MIT）。GIT的操作与药敏试验的纸片法相似，只不过纸片上含的是抗血清。如果纸片周围的抑菌圈大于2mm，则表示两者是对应的。MIT是在含酚红的葡萄糖培养基中加入抗血清后再接种支原体，若支原体与抗体相应，则支原体的生长、代谢受到抑制，酚红颜色不改变。应用这两种方法可将支原体进行分型。

5. 抵抗力 支原体对热、干燥的抵抗力弱，对一般化学消毒剂敏感，但对醋酸铊、结晶紫有一定抵抗力。支原体对干扰蛋白质合成的抗生素，如红霉素、林可霉素、螺旋

霉素、链霉素等敏感。

二、致病性与免疫性

1. 致病性 对人致病的主要是肺炎支原体，可引起原发性非典型肺炎，约占非细菌性肺炎的 1/2。溶脲脲原体、人型支原体和生殖器支原体在一定条件下可引起泌尿生殖系统感染，甚至造成不育症。致病的支原体一般通过顶端结构的表面蛋白质（其中以分子量 170kD 的 P1 蛋白质为主）紧密粘附在宿主细胞表面，很少侵入血液。其致病机制可能是通过吸取宿主细胞膜的胆固醇与脂质作为营养物质，并产生一些有毒的代谢产物，如神经毒素、超氧离子等，使宿主细胞受损。此外，溶脲脲原体可通过粘附在精子表面而影响精子运动，引起不育；并可分解尿素产生大量氨，既具有细胞毒作用，也可促使结石的形成。

2. 免疫性 支原体感染后的免疫机制比较复杂，目前的资料多来源于对肺炎支原体感染的研究。肺炎支原体感染后可诱发机体产生体液免疫和细胞免疫，一般认为糖脂抗原主要引起体液免疫，蛋白质抗原主要引起细胞免疫。体液免疫所产生的特异性抗体包括补体结合抗体、沉淀抗体及生长抑制抗体等，呼吸道的 sIgA 在防止再感染上有重要作用。病人血清中还可产生一种冷凝集素，其本质为 IgM 型的自身抗体。目前认为可能是肺炎支原体感染引起宿主细胞膜抗原结构改变产生的自身抗体，或是肺炎支原体与宿主组织共同的糖脂抗原引起的交叉反应。冷凝集素针对的是红细胞膜的 I 型血型抗原，可与患者自身的红细胞或 O 型人红细胞在 4℃ 条件下凝集，这种凝集在 37℃ 条件下消失，故称为冷凝集试验（cold agglutination reaction），可用于肺炎支原体感染的辅助诊断。细胞免疫方面，肺炎支原体感染后可使淋巴细胞转化率增高，诱导产生 IL-2 等。

三、微生物学检查和防治原则

支原体的微生物学诊断主要靠病原体分离和血清学试验。在支原体分离中一定要注意培养条件，标本要尽快接种。分离到支原体后应做毛地黄皂甙敏感试验、红细胞吸附试验、GIT、MIT、生化反应等进一步鉴定。血清学试验主要有利用提取的肺炎支原体糖脂抗原做补体结合试验和非特异的冷凝集试验。目前研究的早期诊断方法有测定 P1 蛋白的 ELISA 和检测支原体 DNA 的 PCR 方法。

预防上肺炎支原体减毒活疫苗尚在动物试验阶段。治疗上多选用红霉素、四环素类药物。

表 8-4 支原体与细菌 L 型比较

性 状	支 原 体	细 菌 L 型
细胞壁	无	无
荷包蛋状菌落	形成,直径 0.1~0.3mm	形成,直径 0.5~1.0mm
对胆固醇的需要	生长需要	不一定需要
对青霉素敏感性	不敏感	不敏感
来源	自然界、人与动物体内	由细菌在一定条件下诱导形成

性 状	支 原 体	细菌 L 型
遗传性	与细菌无关	与原细菌相同
回复变成细菌	不能	能
通过滤菌器	能	能

四、支原体与细菌 L 型的区别

当细菌细胞壁中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，就形成细菌 L 型。由于支原体和细菌 L 型均无细胞壁，两者在生物学性状、致病性等诸多方面具有某些共同特点，但也有一些差异性，故须将两者严格区别。表 8-4 将两者的主要特性进行了比较。

第三节 螺旋体

螺旋体 (spirochete) 是一类细长、柔软、弯曲呈螺旋状、运动活泼的原核细胞型微生物。螺旋体在生物学上的地位介于细菌与原虫之间。其与细菌相似的方面包括有细胞壁和原始核，行二分裂法繁殖，对抗生素敏感；与原虫相似的方面在于其运动有赖于菌体内鞭毛 (endoflagellum) 的屈曲与收缩。

螺旋体在自然界中分布广泛，常见于水、土壤及腐败的有机物上，亦有的存在于人体口腔或动物体内。螺旋体种类较多，分类的主要依据是螺旋体的大小、螺旋数目、螺旋规则程度和螺旋间距等。《伯杰细菌学分类手册》第 9 版 (1994) 已将螺旋体分为 8 个属，详见表 8-5。在致病性螺旋体中，医学意义比较重要的有梅毒螺旋体和钩端螺旋体两类。

表 8-5 螺旋体的分类及致病性螺旋体种类

属	致病性螺旋体种类	所致疾病	传播方式或媒介
螺旋体 (<i>Spirochaeta</i>)			
脊螺旋体 (<i>Crisitispira</i>)			
密螺旋体 (<i>Treponema</i>)	梅毒螺旋体	梅毒	性传播
	雅司螺旋体	雅司病	皮肤损伤
	品他螺旋体	品他病	皮肤损伤
	地方性螺旋体	地方性梅毒	粘膜损伤
疏螺旋体 (<i>Borrelia</i>)	伯氏疏螺旋体	莱姆病	硬蜱
	回归热螺旋体	流行性回归热	体虱
	赫姆疏螺旋体	地方性回热	软蜱
	奋森疏螺旋体	多种口腔感染	机会感染
钩端螺旋体 (<i>Leptospira</i>)	问号钩端螺旋体	钩端螺旋体病	接触疫水
细丝体 (<i>Leptonema</i>)			
短螺旋体 (<i>Brachyspira</i>)			
小蛇形螺旋体 (<i>Serpulina</i>)			

一、生物学性状

1. 形态与结构 螺旋体较细，直径一般为 $0.1\sim 0.3\mu\text{m}$ ；长短不等，为 $5\sim 250\mu\text{m}$ 。形态特点是呈螺旋状，但钩端螺旋体常呈C或S形。螺旋体革兰染色阴性，但不易着色，故常用Fontana镀银染色法。镀银染色后菌体呈棕褐色，背景呈淡黄色。结构上螺旋体均由螺旋形的柱形原生质体（protoplasmic cylinder）、内鞭毛和外膜（outer envelope）构成。柱形原生质体由细胞质和包被在其外的细胞膜-细胞壁复合物组成。内鞭毛紧紧缠绕在柱形原生质体表面呈螺旋状，是螺旋体的运动器官，可使菌体作旋转、弯曲及前后移位运动。内鞭毛的数量因菌而异，少的2根，多的可达100根以上。内鞭毛的一端在柱形原生质体末端并插入其内，另一端伸向柱形原生质体的中部，但不重叠。内鞭毛含有6种不同的蛋白质，具有良好的免疫原性。外膜位于最外层，有人认为它相当于细菌的荚膜。超薄切片显示外膜分层，与螺旋体的毒力有关，并具有良好的抗原性。

2. 培养特性 由于各种螺旋体在生理上的要求不一，从需氧、厌氧到兼性厌氧，能量可来源于糖类、氨基酸和长链脂肪酸类等。所以有的螺旋体易人工培养，如钩端螺旋体可在加有10%兔血清和蛋白胨的Korthof培养基中生长， 28°C 培养1~2w，液体培养基呈半透明云雾状；而有些螺旋体则很难培养、甚至不能在无生命的培养基上生长，如梅毒螺旋体。

3. 抗原成分 螺旋体比较共同的抗原成分有主要外膜蛋白（major outer membrane protein, MOMP）和内鞭毛抗原，其他抗原成分则因菌而异。如梅毒螺旋体还有一组分子量从14kD到47kD的多种抗原成分，其中15kD、17kD和47kD的抗原性具有较高的特异性。而钩端螺旋体表面的糖蛋白复合物具有型特异性，内部的脂类多糖复合物具有属特异性。

4. 抵抗力 总的说来螺旋体的抵抗力较弱，但钩端螺旋体的抵抗力强于梅毒螺旋体。钩端螺旋体 60°C 1min即死亡， 4°C 冰箱可存活1~2w；梅毒螺旋体离开机体后很快死亡，加热 50°C 5min死亡， 4°C 冰箱放3d即失去感染性。两种螺旋体对青霉素类抗生素都敏感。

二、致病性与免疫性

有关螺旋体感染的致病机制比较复杂，迄今也未完全明了，不同的螺旋体通过不同的致病物质和机制而致病，但其中有一点是共同的，那就是由螺旋体成分诱发的超敏反应，其中较重要的是IV型超敏反应。钩端螺旋体的特异性毒素至今未获肯定，一致的看法是其具有溶解红细胞的溶血素（hemolysin），细胞毒因子（cytotoxicity factor, CTF）及内毒素样物质等。而梅毒螺旋体的致病中很重要的一点就是其表面荚膜样物质的粘附作用，其次是该螺旋体所分泌粘多糖酶，可破坏组织和血管支架，引起血管塌陷、炎症、坏死、溃疡等特征性病变。

对螺旋体病的免疫性研究，多认为以体液免疫为主，如钩端螺旋体病痊愈后可获得对同型钩体的持久的体液免疫。梅毒的免疫是传染性免疫，受染机体产生的特异性抗体可介导杀死或溶解梅毒螺旋体；产生的抗心磷脂抗体、即反应素（reagin）虽无保护作

用,但可供血清学诊断用。近年研究表明细胞免疫在抗螺旋体感染中也具有重要意义。

三、微生物学检查

螺旋体的微生物学检查包括病原体检查和血清学试验。病原体检查可用暗视野显微镜观察螺旋体运动,螺旋体在暗视野显微镜下呈明亮细小的串珠,运动活泼。也可用PCR方法检测螺旋体的DNA,本法对梅毒螺旋体检测的意义更重要。此外,钩端螺旋体可人工培养,并可进行敏感的幼龄豚鼠及金地鼠等动物接种。

在血清学诊断方面,试验方法较多。钩端螺旋体感染可用显微镜凝集试验、补体结合试验及间接凝集试验测定患者体内的特异性抗体。梅毒螺旋体感染的特异性抗体检测则较常用荧光密螺旋体抗体结合试验(FTA-ABS)、梅毒螺旋体制动试验(TPI)等;而梅毒螺旋体感染的非特异性抗体检测方法是利用牛心脂质(cardiolipin)作抗原来测定病人血清中反应素,故在结果分析时应加以注意排除其他疾病引起的假阳性反应。

四、防治原则

对螺旋体感染的预防方面,有的用疫苗进行特异性预防,有的则靠加强教育和管理。对钩端螺旋体病预防的根本措施是对易感人群进行钩体疫苗的预防接种,并作好防鼠、灭鼠,管好家畜,保护好水源,排出积水等工作。对梅毒病的预防则应加强性卫生教育并严格社会管理。

螺旋体感染的治疗原则是选用敏感的抗生素,首选青霉素类抗生素。

第四节 立克次体

立克次体(rickettsia)是一类专性活细胞内寄生、革兰阴性的原核细胞型微生物。立克次体是由美国青年医师Howard Taylor Ricketts首先发现,并在研究斑疹伤寒立克次体时受染而奉献了他的生命,故以其名字命名。历史上曾有多次立克次体病的大流行,多与战争、饥荒等有关,如在第二次世界大战时期就有斑疹伤寒、Q热和恙虫病的大流行。

立克次体的共同特点是:①大多是人畜共患病原体,引起人类发热出疹性疾病;②以节肢动物为传播媒介或为储存宿主;③大小介于细菌与病毒之间,光镜下呈多形态性,主要为微小的杆状或球杆状,革兰阴性;④专性活细胞内寄生;⑤菌体内同时含有DNA和RNA两类核酸;⑥以二分裂方式进行繁殖;⑦对抗生素敏感。综上所述,分类学上将立克次体归入广义的细菌范畴。

立克次体的分类情况正处于不断变化之中,尤其是近年随着立克次体分子生物学研究的迅速发展(如16S rRNA序列分析,全DNA或基因片段分析等),出现了根据基因组对立克次体进行分类的新方法。目前,根据16S rRNA序列分析结果,将立克次体分为 α 和 γ 两个亚群。 α 亚群包括立克次体(*Rickettsia*)、巴尔通体(*Bartonella*)、埃立克体(*Ehrlichia*)、埃菲比体(*Afibia*)和考德里体(*Cowdria*); γ 亚群包括柯克斯体(*Coxiella burnetii*)和活巴哈体(*Wolbachia persica*)。还有许多新的种属被陆续发现,

如近年发现的日本立克次体 (*R. japonica*)、查非埃立体 (*E. chaffeensis*) 等。

对人致病的立克次体包括五个属，分别是立克次体属 (*Rickettsia*)，柯克斯体属 (*Coxiella*)，东方体属 (*Orientia*)、埃立克体属 (*Ehrlichia*) 和巴通体属 (*Bartonella*)。其中立克次体属又分成二个生物型，即斑疹伤寒群和斑点热群。原有的恙虫病群已列入东方体属，罗沙利马体已并入巴通体属 (详见表 8-6)。立克次体病多数是自然疫源性疾病，我国发现的立克次体病主要为斑疹伤寒、恙虫病和热。

表 8-6 致病性立克次体及其所引起的疾病特点

属	群	种	所致疾病	媒介昆虫	传播方式	地理分布	
立克次体属 (<i>Rickettsia</i>)	斑疹伤寒群	普氏立克次体 (<i>R. prowazekii</i>)	流行性斑疹伤寒	人虱	虱粪擦入 损伤皮肤	世界各地	
		莫氏立克次体 (<i>R. typhi or mooseri</i>)	地方性斑疹伤寒	鼠蚤	蚤粪擦入 损伤皮肤	世界各地	
		加拿大立克次体 (<i>R. canada</i>)	加拿大斑疹伤寒	蜱	蜱叮咬	加拿大 东部	
	斑点热群	立氏立克次体 (<i>R. rickettsii</i>)	落矶山斑点热	蜱	8 蜱叮咬	西半球	
		西伯利亚立克次体 (<i>R. sibirica</i>)	北亚蜱传斑 疹伤寒	蜱	蜱叮咬	西北利亚 中国	
		康氏立克次体 (<i>R. conorii</i>)	纽扣热	蜱	蜱叮咬	地中海沿 岸	
		澳大利亚立克次体 (<i>R. australis</i>)	昆士兰热	蜱	蜱叮咬	澳大利亚	
		小株立克次体 (<i>R. akari</i>)	立克次体痘	革蜱	蜱叮咬	美国、前 苏联	
		柯克斯体属 (<i>Coxiella</i>)	贝纳柯克斯体 (<i>C. burnetii</i>)	Q 热	蜱	接触、 呼吸道等	世界各地
		东方体属 (<i>Orientia</i>)	恙虫病立克次体 (<i>R. tsutsugamushi</i>)	恙虫病	恙螨	恙螨幼虫 叮咬	东南亚、 日本
埃立克体属 (<i>Ehrlichia</i>)	腺热埃立克体 (<i>E. sennetsu</i>)	腺热埃立克体病	蜱	蜱叮咬	日本、马 来西亚		
	查非埃立克体 (<i>E. chaffeensis</i>)	人单核细胞埃 立克体病	蜱	蜱叮咬	美国、南 美		
	人粒细胞埃立克体 (<i>HE</i>)	人粒细胞埃立 克体病	蜱	蜱叮咬	北美、欧洲		
巴通体属 (<i>Bartonella</i>)	杆菌状巴通体 (<i>B. bacilliformis</i>)	Oroya 热、秘鲁疣	白蛉	白蛉叮咬	秘鲁、厄 瓜多尔		
	五日热巴通体 (<i>B. quintana</i>)	战壕热、杆菌性血	人虱	虱粪擦入	可能世界 性		

续表

属	群	种	所致疾病	媒介昆虫	传播方式	地理分布
		汉赛巴通体 (<i>B. henselae</i>)	管瘤 猫抓病、杆菌性血	-	损伤皮肤 猫抓、狗咬伤	世界性
		伊丽莎白巴通体 (<i>B. elizabethae</i>)	管瘤 心内膜炎等	不明	不明	美国

一、生物学性状

1. 形态与染色 呈多形态性，以微小的杆状、球杆状多见。大小为 $0.3 \sim 0.6 \mu\text{m} \times 0.8 \sim 2.0 \mu\text{m}$ 。革兰阴性但不易着色，常用 Giemsa 染色，立克次体被染为紫色或蓝色，也可用 Macchiavello 染色，立克次体被染为红色。立克次体的结构和化学组成与革兰阴性细菌相似。不同种类立克次体在细胞内存在的部位不同，普氏立克次体分散在细胞质中，恙虫病立克次体分布在细胞质靠近细胞核处，贝纳柯克斯体多位于细胞浆空泡中，斑点热群立克次体则在细胞浆或细胞核内均可见到，五日热巴通体则仅粘附于细胞外表面。

2. 培养特性 专性活细胞内寄生，二分裂法繁殖，生长速度较慢，9~12h 分裂一次。培养方法有动物接种、鸡胚卵黄囊接种和细胞培养，孵育最适温度为 $32 \sim 35^\circ\text{C}$ 。一般在宿主细胞代谢较低时立克次体繁殖才较好，常用的动物有豚鼠、小鼠、大鼠及家兔等。鸡胚接种培养多用于立克次体的传代培养，常用的接种部位是卵黄囊。细胞培养则多用单核细胞、中性粒细胞或骨髓细胞等。

3. 抗原构造 立克次体有两种特异性抗原，一为群特异性抗原，与粘液层的脂多糖有关；另一为种特异性抗原，与细胞壁外膜的表面蛋白成分有关。大部分立克次体与普通变形杆菌某些 X 菌株的菌体抗原有共同的耐热多糖抗原，故可用这些 X 菌株代替立克次体抗原进行非特异性凝集反应去检测抗体，这种交叉凝集试验被称为外斐反应 (Weil-Felix reaction)，可供立克次体病的辅助诊断(表8-7)。

表 8-7 外斐反应的结果及其意义

立克次体病	普通变形杆菌菌珠		
	OX ₁₉	OX ₂	OX _k
流行性斑疹伤寒	+++	+	-
地方性斑疹伤寒	+++	+	-
恙 虫 病	-	-	+++
Q 热	-	-	-

4. 抵抗力 除贝纳柯克斯体外，立克次体抵抗力都弱。离开宿主细胞后迅速死亡，对理化因素也敏感，一般 56°C 数分钟即可被灭活，在 0.5% 石炭酸、0.5% 来苏尔和 75% 乙醇中数分钟也可被杀死。但 -20°C 或冷冻干燥可保存半年左右，在媒介昆虫的粪便中可保存一年以上。对氯霉素和四环素类抗生素敏感，但磺胺类药物不仅无抑制立克

次体生长的作用，反而能促进其生长繁殖，在选择用药时须加以注意。

二、致病性与免疫性

立克次体的致病物质主要有内毒素和磷脂酶 A。内毒素为脂多糖，与肠道杆菌的内毒素有相似的生物学活性。磷脂酶 A 可破坏红细胞膜而引起溶血，并有助于吞噬体内的立克次体释放入细胞浆中进行繁殖。因此立克次体是生物战剂之一。

多数立克次体经节肢动物，如人虱、鼠蚤、蜱或螨传播，柯克斯体可经呼吸道或消化道传播。立克次体侵入人体后，先在局部血管内皮细胞中繁殖，引起血管内皮肿胀、浸润，造成微循环障碍及血栓形成，引起血管炎。立克次体随血流带到全身脏器小血管内皮细胞中增殖，再次释放入血引起第二次菌血症，出现皮疹及脏器功能失调。早期病变主要由内毒素引起，晚期病变主要由免疫病理造成。所致的主要疾病如下：

1. 流行性斑疹伤寒 (epidemic typhus) 由普氏立克次体 (*R. prowazekii*) 引起，人虱为媒介，在人与人之间传播，流行于冬春季节。除高热、头痛、皮疹外，可伴有神经系统、心血管系统的损伤。

2. 地方性斑疹伤寒 (endemic typhus) 由莫氏立克次体 (*R. mooseri*) 引起，以鼠蚤为媒介从鼠传给人。很少累及神经系统和心血管系统。

3. 恙虫病 (scrub typhus) 由恙虫病立克次体 (*R. tsutsugamushi*) 引起，以恙螨为媒介传播。恙虫病的特征是先为红色血疹，再变成水疱并破裂，溃疡中央呈黑色焦痂。

4. Q 热 (Q fever) 由贝纳柯克斯体 (*C. burnetii*) 引起，在动物间传播媒介是蜱，而感染动物的尿及粪便污染环境后，可经呼吸道或消化道使人受染，出现发热、头痛、腰痛等临床症状。

人患立克次体病后，体内可产生中和立克次体及其毒素的抗体，还能诱发细胞免疫。由于立克次体严格的活细胞内寄生，故其免疫以细胞免疫为主，且多数患者在病后获得的免疫力较强而持久。

三、微生物学检查

由于立克次体特别容易引起实验室感染，所以在进行立克次体的微生物学检查时必须严格遵守实验室操作规程，以防止感染事故的发生。

1. 标本的采集 主要采集病人血液，既可供立克次体的分离用，也可收集血清作血清学试验用。作病原体分离的标本应在发病的早期或用药前采集，而血清学诊断的标本宜采集急性期和恢复期双份血清，以观察抗体效价的动态变化。

2. 血清学试验 主要是检测患者体内的抗立克次体抗体，方法多用非特异的外斐反应和特异的补体结合试验。也可用间接凝集试验、免疫荧光技术和 ELISA 等方法检测。

(1) 外斐反应：外斐反应是立克次体病常用的血清学检测方法。一般单份标本的抗体效价在 1:160 以上，或恢复期效价比急性期增高达 4 倍以上时有诊断意义，但要注意

排除变形杆菌感染的可能性。

(2) 补体结合试验：用立克次体的群特异和种特异抗原进行试验，可用于斑疹伤寒群、斑点热群、恙虫病及 Q 热患者的诊断。

3. 立克次体的分离和鉴定 取患者的血液、血块或组织悬液接种敏感动物（多为雄性豚鼠和小鼠）腹腔，观察动物发病情况。如果动物体温升高或阴囊红肿，表明可能有立克次体感染。再取睾丸鞘膜、脑或脾作涂片，直接染色镜检或用免疫荧光方法进一步鉴定。

四、防治原则

立克次体病的预防重点是控制和消灭其中间宿主及储存宿主，即灭虱、灭蚤和灭鼠，并改进环境和注意个人卫生。特异性预防方面为接种灭活疫苗，如针对斑疹伤寒的精制鼠肺死疫苗。减毒活疫苗尚处于试验阶段。

治疗上多选用氯霉素、四环素及强力霉素类抗生素。

第五节 放 线 菌

放线菌 (actinomycetes) 是一类丝状、呈分支生长的单细胞原核细胞型微生物。由于在感染的组织中菌丝呈放射状排列，因此称为放线菌。1877 年，Harz 首先发现一种寄生于牛体的厌氧性牛型放线菌 (*Actinomyces bovis*)，由此便引用了放线菌属这个属名。后来又在自然界发现了需氧的腐生性放线菌。放线菌在自然界分布广泛，主要以孢子或菌丝状态存在于土壤、空气和水中，尤其以中性偏碱、含水量低、有机质丰富的土壤中最多。

一、放线菌的形态及微生物分类学地位

放线菌有发育良好的菌丝 (filament)，菌丝宽为 $0.2 \sim 1.2 \mu\text{m}$ ，亦分作基内菌丝和气生菌丝，大量菌丝交织缠绕成为菌丝体 (mycelium)。多数放线菌可在气生菌丝中分化出孢子丝 (sporebearing filament) 并产生孢子 (spore)，孢子成熟后又萌发出菌丝，故放线菌在培养基上的生长状态很像真菌，所以过去长期被列入真菌。放线菌经革兰染色为阳性，多数腐生、需氧，易于人工培养；少数寄生、厌氧，人工培养则较为困难。

随着放线菌分类学的深入研究，越来越多的证据表明，放线菌无非是一类具有分支状细胞的原核细胞型微生物。主要的依据是：①有原始的核结构，即无核膜和核仁，其核由缠绕的 DNA 组成；②细胞壁主要成分为肽聚糖，并含有二氨基庚二酸 (DAP)；③核蛋白体为 70S；④对常用的抗生素敏感；⑤DNA 重组方式与细菌相同。

二、放线菌的分类

对于放线菌分类的研究起源于 40 年代发现放线菌是抗生素主要产生菌，经过半个多世纪的研究，其分类方法已有了很大进展，分类依据有细胞形态、细胞壁化学组成，还有细胞膜上的磷脂类、细胞中的脂肪酸、G + C mol%、核酸杂交以及 16S rRNA 序列

分析等。目前已把放线菌分为 53 个属，并已收藏数千个菌种。为统一放线菌的分类标准，国际放线菌分类委员会确定在放线菌目 (order) 以下取消科 (family) 这一分类单元，而用群 (section) 把一些比较相关的属 (genus) 暂时归在一起。将在医学上有重要意义的几个放线菌各属的主要生物学特点简述如下。

1. 放线菌属 (*Actinomyces*) 形成菌丝体但不形成孢子，菌丝体为基内菌丝体，为非抗酸性的丝状菌。多数为厌氧菌，细胞壁含赖氨酸与鸟氨酸。

2. 诺卡菌属 (*Nocardia*) 形成基内菌丝和气生菌丝，菌丝有横隔并断裂，为抗酸染色呈阳性的丝状菌。多为需氧菌，细胞壁含有内消旋 DAP、阿拉伯糖与半乳糖。

3. 小单孢菌属 (*Micromonospora*) 在基内菌丝上只形成一个孢子。细胞壁含甘氨酸、内消旋 DAP，阿拉伯糖和木糖。

4. 链霉菌属 (*Streptomyces*) 有基内菌丝和气生菌丝，在气生菌丝上形成孢子链。细胞壁含甘氨酸与 L-2, 6-DAP。

三、放线菌的医学意义

1. 抗生素及药物生产 放线菌是抗生素的主要产生菌，迄今报道的 9 000 多种抗生素中约 80% 是由放线菌产生的，其中最主要的是链霉菌属。此外，放线菌还可用于甾体转化、酶制剂和维生素的生产等，因而具有重要的医学意义。

2. 病原性放线菌 在已知的放线菌中，有部分放线菌对人体具有致病作用，其中主要集中在放线菌属和诺卡菌属。放线菌属在自然界分布广泛，人和动物的口腔、上呼吸道、胃肠道和泌尿生殖道都有放线菌寄居，常见的有衣氏放线菌 (*A. israelii*)、内氏放线菌 (*A. naeslundii*) 和牛型放线菌 (*A. bovis*) 等。对人致病的主要是衣氏放线菌，该菌为机会致病菌，多引起慢性化脓性炎症。近年由于大量使用广谱抗生素、肾上腺皮质激素、免疫抑制剂和进行大剂量的放疗，放线菌所引起机会性感染发病率明显上升。内氏放线菌主要与龋齿及牙周炎有关，牛型放线菌主要引起牛的放线菌病 (Actinomycosis)。诺卡菌属广泛分布于土壤，对人致病的主要有星形诺卡菌 (*N. asteroides*) 和巴西诺卡菌 (*N. brasiliensis*)，引起诺卡菌病 (Nocardiosis)。我国以星形诺卡菌感染多见，其感染为外源性，常侵入肺部引起化脓性炎症与坏死，重者可扩散引起脑膜炎及脑脓肿。

3. 病原性放线菌的微生物学检查 对于放线菌病和诺卡菌病的微生物学检查，主要取脓液或痰等标本，并在标本中寻找硫磺样颗粒 (sulfur granule)，其直径一般都小于 1mm，但星形诺卡菌病有时查不到此颗粒。将该颗粒压片后镜下可见到分支的菌丝。在分离培养方面，放线菌属需作厌氧培养，1w 左右可形成白色、边缘不规则的粗糙型菌落。诺卡菌属则作需氧培养，生长缓慢，一般 5~7d 可见到菌落。菌落表面干燥、皱褶或呈颗粒状，并产生不同色素。观察菌落后可作涂片，经革兰染色后镜检，也可做抗酸染色以区别放线菌和诺卡菌。

4. 病原性放线菌的防治原则 预防上尚无特异性预防方法。治疗上均可采用手术清创，以及药物治疗，放线菌属可选用青霉素、磺胺、红霉素类药物，诺卡菌属则选用环丝氨酸和磺胺类药物。

展 望

上述五类医学微生物虽然属非常见的病原体，但它包括了通过呼吸道感染、泌尿生殖道感染、机会感染和人兽共患疾病的病原体，因而其涉及的领域非常广泛。此外，这五类微生物中的某些病原体感染不仅其发病率非常高，而且危害严重。如沙眼衣原体引起的泌尿生殖道感染（CGI），其发病率在发达国家已超过淋病奈瑟菌感染，成为最常见的性传播疾病的病原体。通过性传播的衣原体、支原体和梅毒螺旋体不仅影响患者本人，而且还严重影响下一代新生儿的健康，并已成为一个严重的社会问题。近年，在这五类微生物中还出现了一些新的病原体，如引起莱姆病的伯氏疏螺旋体，而且可以肯定地说今后仍将会在这五类微生物中发现新的病原体。综上所述，可见这五类医学微生物仍具有重要的医学意义。

从我国的实际情况出发，目前有关这五类微生物研究的重点应该放在它们的微生物学检查上。如上所述沙眼衣原体在发达国家发病率高，这绝不意味着我国的感染率就低，其中很重要的一个因素是我们的检测方法或手段跟不上临床实际发展的需要。不可否认近年这方面已经有了长足的进步，但还远达不到普及的需要，故尚须研究出简便易行、易于推广应用的可靠的检测方法。

（李明远）

第九章 抗感染免疫

抗感染免疫是宿主机体在与病原微生物长期斗争的过程中逐步形成的免疫防御机制。面对病原微生物感染的压力，人体自胚胎形成至出生后的全部生命过程始终受到免疫系统防御机制的保护作用。

人体免疫系统由免疫器官、免疫细胞和免疫分子组成。免疫器官有骨髓、胸腺、脾、分布于全身的淋巴结、扁桃体、粘膜免疫系统等。免疫细胞主要有淋巴细胞、单核吞噬细胞、中性粒细胞等。免疫分子有免疫球蛋白(Ig)、补体和细胞因子(cytokines)、细胞表面CD分子等。根据免疫的特点和作用的性质不同，机体的免疫防御机制可分为天然免疫(innate immunity)和获得性免疫(acquired immunity)。天然免疫的特点是作用范围广，没有对特定病原体的针对性和记忆性，故亦称为非特异性免疫(nonspecific immunity)，个体出生时就具备，且代代相传，作用迅速。再次接触相同的病原体，其功能不会增强；获得性免疫作用范围窄，对病原体及成分有针对性和记忆性，其识别或针对的物质是抗原(antigen)，故亦称为特异性免疫(specific immunity)。机体再次接触相同抗原后，其免疫力可增强(特殊条件下也可减弱)，此特性使得人体能有效地抵抗和控制病原微生物的再次感染。免疫系统的形成及抗感染免疫的能力或不同的功能均与遗传有关，但获得性免疫的产生却不能遗传给后代，需要后天抗原的接触(exposure)或刺激(stimulation)，并需要一定时间，一般在抗原接触后10~14d。在特异性免疫应答过程中，免疫细胞之间、免疫分子之间以及细胞与分子之间的相互作用一般通过接触蛋白分子的表位(epitope)引起信号传导起作用。表位是指蛋白质分子表面相互接触的特定立体结构域，例如抗原决定簇。

在抗感染免疫过程中，免疫防御机制是复杂的，存在整体、细胞和分子水平的多层次、多方面的、交叉网络性相互作用、协调和制约，天然免疫与获得性免疫也是在不同层次上的相互密切配合，不是单方面孤立起作用。免疫防御的这种既有分工、又有协作的整体效应机制存在于感染的发生、发展到最后结局的始终，使机体能够阻止、抑制和杀灭病原体、清除其毒力因子或成分，终止感染并恢复和维持机体生理结构及功能于正常状态。免疫防御机制的抗感染作用并非绝对是保护性的，相反在一定条件下可参与或起致病作用，即免疫病理。

第一节 抗细菌感染免疫

一、免疫屏障

(一) 上皮层与微生物屏障

人体的皮肤以及与外界相通腔道的粘膜层（呼吸道、消化道、泌尿生殖道等）是体内无菌环境与外环境的分界，是抗感染的第一道天然屏障。

皮肤与粘膜可通过机械阻挡、分泌化学物质和表面正常菌的生物拮抗等机制构成第一道非特异性屏障。①机械阻挡：皮肤由机械强度高的多层致密的扁平上皮细胞组成，可非特异性地阻挡菌细胞的穿透。粘膜由单层上皮细胞和固有层组成。上皮细胞排列致密，其机械阻挡作用不如皮肤，但有其他有效的生理性防御功能，例如分泌液体及运动作用，例如呼吸道粘膜上皮细胞的纤毛能有规则地波浪型运动，肠道的蠕动外排作用可排除菌细胞等异物。任何原因导致皮肤和粘膜的破损或局部功能降低均可引起感染。②分泌化学物质：皮肤和粘膜可分泌数百种化学物质，其中部分对细菌、真菌等微生物有杀灭或抑制作用，例如皮肤汗腺分泌的乳酸、皮脂腺分泌的脂肪酸、胃液中的胃酸、肠液中的蛋白酶、泪液中的溶菌酶等。粘膜上皮细胞分泌的粘蛋白（mucin, mucoprotein）形成的粘液层及其中的多种非特异性杀菌物质对保护粘膜有重要作用。③生物拮抗：皮肤与粘膜是正常微生物群定植的部位，其中主要是正常菌群。一般情况下，正常菌群与宿主机体之间保持动态性平衡的关系，对机体有益而且必需，并构成相互间、菌群与机体间的自然结构关系，即微生态关系，对致病菌及菌群都有抑制作用。例如肠道中的双歧杆菌（bifidobacterium）对多种致病菌有抑制作用，称为生理性细菌。大肠埃希菌可产生大肠菌素（colicin）抑制志贺菌、金黄色葡萄球菌、白假丝酵母菌。口腔中的唾液链球菌可产生 H_2O_2 等杀死脑膜炎奈瑟菌、大肠埃希菌等。

（二）粘膜免疫系统

成年人粘膜表面积约为 $300 \sim 400m^2$ 构成了人体与外界接触的最大面积。粘膜组织不仅具有保护、吸收、分泌和排泄等生理功能，也是接触微生物最多的部位，是病原微生物入侵的主要门户。除昆虫媒介及其他方式通过皮肤进入的病原体外，大多数细菌、病毒等病原微生物的感染起自粘膜，或在粘膜局部感染，或通过粘膜进入内环境中，引起感染扩散。人体在同微生物漫长的相互斗争中已进化形成了具有非特异性和特异性免疫功能的局部粘膜防御系统，称为粘膜免疫系统（mucosal immune system, MIS）。粘膜免疫系统是机体整体免疫防御机制的重要组成部分，既是抗感染又是与微生物抗衡的第一道免疫屏障，同时与机体整体免疫功能密切相关。

MIS 由分布在呼吸道、消化道、泌尿生殖道以及外泌腺粘膜组织内的淋巴组织、免疫细胞和免疫分子组成。人体出生后随年龄的增长，在骨髓、胸腺的影响及微生物抗原的刺激下，MIS 逐步发育完善。粘膜淋巴组织由上皮层和固有层集合的和弥散的相关淋巴组织组成。①集合粘膜淋巴组织：大部分单个分散在呼吸道和肠道，在结肠和直肠的数量最多。在集合淋巴组织中，有 B 细胞、树突状细胞，巨噬细胞（MΦ）和 CD4 T 细胞、CD8 T 细胞。肠道中的派伊尔结（Payer patch）在诱导粘膜免疫应答中起重要作用。Payer patch 有间插于上皮层的 M 细胞，即抗原捕获细胞（microfold cell）。M 细胞是许多病原微生物进入体内环境的通道，又是捕获抗原、介导粘膜免疫系统发动免疫应答、控制疾病进程和预防再次感染的重要关卡。②弥散粘膜淋巴组织：包括分散在固有层和腺体间质中的淋巴细胞、浆细胞以及上皮内淋巴细胞。固有层内的淋巴细胞主要是 B 细胞和 T 细胞，还含有 MΦ、中性粒细胞、酸性粒细胞和肥大细胞。上皮内

淋巴细胞不仅可杀伤被病原体感染的细胞，还可将损伤的上皮细胞及病原体清除出上皮，保证上皮的完整性。

在抗细菌感染免疫中，MIS 可通过 M 细胞及树状突细胞对抗原的递呈，引起以 SIgA 为主的特异性体液免疫应答。集合淋巴组织和固有层弥散的淋巴组织是产生 SIgA 的主要场所。MIS 亦可通过吞噬细胞、T 细胞发挥细胞免疫功能。此外，粘膜上皮细胞在接触细菌等病原体后，可分泌 IL-1、IL-8、IL-6、粒细胞-巨噬细胞克隆刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 等细胞因子，介导免疫细胞于局部，引起炎症反应，与 MIS 共同抵抗感染。

(三) 内屏障

1. 血脑屏障 一般认为由软脑膜、脉络丛、脑毛细血管和星状胶质细胞等组成。主要通过脑毛细血管内皮细胞层的紧密连接和微弱的吞噬作用阻挡病原体及其毒性产物从血流进入脑组织或脑脊液，对中枢神经系统有保护作用。婴幼儿的血脑屏障发育尚未完善，故易发生中枢神经系统感染。

2. 胎盘屏障 由母体子宫内膜的基蜕膜和胎儿绒毛膜组成。胎盘免疫屏障功能是保护宿主生物种系的天然防御机制，其功能不全会导致先天性感染，干扰胎儿正常的发育，特别是神经系统，引起先天畸形、早产、甚至死胎。一般在妊娠 3 个月内胎盘屏障发育尚不完善，此时若母体血液中有病原体且无特异性免疫力，病原体则易于通过胎盘感染胎儿。微生物毒素、药物或污染的环境化学毒物被母体吸收均可通过不完善的胎盘影响胎儿。因此，在妊娠期间尤其是早期，应尽量防止母体感染并尽可能不用或少用副作用大的药物。随着近年环境污染增加，先天畸形发生率增高。

二、吞噬细胞

1. 来源、种类及分布 人类吞噬细胞有大、小两种，均来自于骨髓。小吞噬细胞是外周血中的中性粒细胞。中性粒细胞在血液中存留 10d 左右进入组织，一般寿命 1~3d。大吞噬细胞指血液中的单核细胞 (monocytes) 和各种组织或器官中的巨噬细胞。单核细胞在血流中存留 2~3d 后进入组织器官，进一步分化发育成为游走的或固定的巨噬细胞。不同组织器官中的巨噬细胞常有不同的名称，例如肝内的枯否细胞、肺中的尘细胞、结缔组织中的组织细胞等。血液中的单核细胞和各种组织器官中的巨噬细胞统称为单核吞噬细胞系统 (mononuclear phagocyte system)。单核吞噬细胞系统不仅是天然免疫的重要部分，也是获得性免疫必不可少的因素。

2. 吞噬作用 当病原菌突破皮肤或粘膜屏障进入组织、体液或血液中，会遇到吞噬细胞的吞噬作用 (phagocytosis)。细菌在生长繁殖中释放的产物或损伤的组织成分可诱导吞噬细胞、内皮细胞、皮肤角质细胞、成纤维细胞等产生和释放趋化因子 (chemokine)，例如 IL-8、中性粒细胞激活蛋白 2 (neutrophil activating protein 2, NAP2)、巨噬细胞炎性蛋白 (macrophage inflammatory protein, MIP) 等，吸引中性粒细胞和单核吞噬细胞至感染部位，多数情况下，病原菌被吞噬杀灭。逃逸的或未被杀死的细菌则经淋巴管到邻近的淋巴结，会再遇淋巴结内吞噬细胞的抵抗。淋巴结的免疫过

滤对一般细菌感染的防御起重要作用。若细菌毒力强、数量多，进一步突破扩散进入血液，通过血流到达其他器官组织，会受到沿途和器官的吞噬细胞的吞噬杀灭作用。吞噬作用是指吞噬细胞与细菌接触、摄入、杀灭和消化细菌的连续过程，见图 9-1。

吞噬细胞可直接接触捕获细菌，但通过抗体等免疫分子间接介导作用使吞噬效力更强。人血清中存在脂多糖结合蛋白 (lipopolysaccharide binding protein, LBP)。LBP 可与革兰阴性菌胞壁上的 LPS 结合形成复合物。中性粒细胞可通过胞膜上的 CD14 分子与该复合物中的 LBP 结合，从而捕获细菌。中性粒细胞和单核吞噬细胞均有抗体的 FC 受体和补体 C3b 受体，借此产生免疫调理和免疫粘连，促进吞噬作用。吞噬细胞在捕获细菌后，细胞膜内陷同时伸出伪足包围细菌，并向胞质方向移行，部分胞膜分离、形成包围细菌的吞噬体 (phagosome)，此为吞入或摄入 (ingestion)。

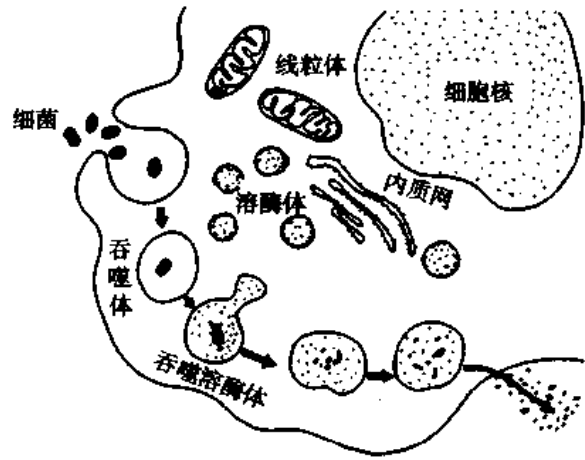


图 9-1 吞噬细胞对细菌的吞噬和消化过程示意图

在吞噬细胞胞质中含有杀菌物质和酶类的溶酶体 (lysosome)。与吞噬体融合后，形成吞噬溶酶体 (phagolysosome)。在吞噬溶酶体中，来自溶酶体的多种杀菌物质和酶即杀伤和消化细菌，最终将细菌杀死、降解，不能彻底降解的残渣排出吞噬细胞外。

杀菌机制 来自于溶酶体中的杀菌及降解物质主要有：活性氧中介物 (reactive oxygen intermediate, ROI)、活性氮中介物 (reactive nitrogen intermediate, RNI)、乳铁蛋白 (lactoferrin)、防御素 (defensin)、溶菌酶 (lysozyme)、髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO)、蛋白酶、多糖酶、酯酶、核酸酶等。吞噬细胞的杀菌机制有依氧和非依氧两类。在依氧机制中细菌被摄入后，糖的分解、蛋白质的合成和膜磷酸化加强，酶活性加强，分子氧被还原成多种 ROI，例如超氧阴离子 (O_2^-)、游离羟基 (OH^-)、过氧化氢 (H_2O_2)、次氯酸、单氯胺等，这一现象称为呼吸爆发 (respiratory burst)。 O_2 和 OH^- 是具有高效杀菌活性的强氧化剂，可严重破坏细菌 DNA、蛋白质和膜脂质。活性氮中介物有一氧化氮 (NO)、 NO_2^- 和 NO_3^- 等，这些分子具有强大的抗细菌以及抗真菌和蠕虫的作用。参与非依氧杀菌机制的有溶菌酶、弹性蛋白酶、防御素、乳铁蛋白、吞噬溶酶体中的酸性产物等。

吞噬细胞的吞噬作用在抗细菌等病原体感染中起重要作用，但这一天然免疫机制亦受不同因素的影响。细菌的种类、毒力、人体整体免疫功能可影响吞噬细胞的功能或杀菌能力。正常情况下，大多数细菌会被吞噬杀死和消灭，称为完全吞噬。但某些胞内寄生菌在免疫力缺乏或低下的机体中，虽被吞噬却不能杀死，称为不完全吞噬。不完全吞噬反而使病原菌在吞噬细胞内得到保护，免受体液中非特异性抗菌物质、抗体和抗菌药物等的作用而存活下来，并通过游走的吞噬细胞经淋巴液或血流扩散到人体其他部位。

引起感染转移或扩散。许多由粘膜侵入体内的细菌、病毒等往往通过这一方式引起体内感染。

三、抗胞外菌感染免疫

人类多数致病菌在侵入体内时寄生在细胞外的组织间隙、血液、淋巴液或组织液等体液中，称为胞外菌 (extracellular bacteria)。例如葡萄球菌、链球菌、脑膜炎，淋病奈瑟菌、志贺菌、霍乱弧菌、破伤风梭菌以及常引起感染的铜绿假单胞菌、流感嗜血杆菌和肠道中的厌氧性无芽胞菌等条件致病菌。胞外菌的致病机制主要是①引起感染部位的组织病理，包括引起炎症反应和全身系统性损伤；②通过毒素等毒力因子致病，包括外毒素和内毒素。机体抗胞外菌感染免疫在于抵抗细菌的入侵、抑制细菌生长繁殖、杀灭破坏菌细胞、中和毒素作用，并最终清除菌细胞和毒素。其主要保护性免疫机制是以特异抗体的作用为中心的多种免疫功能共同参加的防御过程。抗体、补体和吞噬细胞是关键因素，任何一项的缺陷均易引起感染。

(一) 抗体与补体

人类 Ig 有 IgG、IgM、IgA、IgD 和 IgE 五类。抗菌抗体是 IgG、IgM 和 IgA。胞外菌的胞壁和荚膜等多糖属 T 细胞非依赖抗原 (TI - Ag)，能直接激发 B 细胞产生 IgM 抗体应答。胞外菌大多数蛋白属 T 细胞依赖抗原 (TD - Ag)，需抗原递呈细胞 (APC) 和 CD4 Th2 细胞的辅助。CD4 Th2 细胞通过产生 IL - 4 和 IL - 5 起辅助作用。产生的抗体先为 IgM，后转换为 IgG 为主，并有 IgA 等。粘膜免疫系统产生的抗体主要是 SIgA。一个菌细胞可具有多种不同的抗原表位 (epitope)。一种抗体针对一种抗原表位，一种菌细胞含有多种抗原表位，因此产生的抗菌抗体都是多克隆的。具有抗感染或保护作用的是能阻止细菌感染、限制细菌生长繁殖和扩散、杀灭菌细胞和中和毒素的那些抗体。这是人工免疫研究的理论基础之一。

正常体液中多种杀灭或抑制病原菌的天然成分。例如补体，溶菌酶、防御素、乙型溶素、白细胞素、乳素、吞噬细胞杀菌等，其中补体 (complement) 在抗细菌及有包膜病毒等病原体中起重要作用。补体是由巨噬细胞，肠上皮细胞、肝、脾等细胞产生的存在于正常人血清中的一组蛋白质，即补体系统 (complement system)。补体可通过经典途径由抗原抗体复合物活化，亦可通过旁路途径由内毒素、聚合 IgG、IgA 等活化。补体系统活化后产生的多种生物学活性分子，可通过多种不同的机制发挥抗感染免疫作用。例如活化的终末成分破坏菌细胞及有包膜病毒，趋化作用 (C3a、C5a) 介导炎症反应、免疫调理参与抗体免疫，免疫粘连介导吞噬作用等。在抗体产生之前，补体系统可通过旁路激活途径进行杀菌和促进吞噬。补体的作用无特异性，但与特异性免疫密切相关。

(二) 抵抗细菌的入侵及杀灭清除细菌

1. 阻止细菌粘附 对粘膜上皮细胞的粘附是许多细菌等微生物入侵的第一步。除天然屏障结构外，粘膜免疫系统分泌的 SIgA 对阻止致病菌的粘附起重要作用。SIgA 可与细菌菌毛等粘附因子结合，封闭粘附因子与上皮细胞受体的相互作用。缺乏 SIgA 的人易于发生鼻窦炎、气管炎和支气管炎等上呼吸道和胃肠道、泌尿生殖道感染。例如链

球菌、致病性大肠埃希菌、霍乱弧菌、淋病奈瑟菌等的感染。乳儿可从乳汁获得 SIgA 特异性免疫力。

2. 调理吞噬作用 抗体与菌细胞或抗原成分的特异结合和补体的免疫粘连可大大加强吞噬细胞的吞噬作用，对化脓性细菌的清除尤为重要。①通过 IgG Fc 段的结合：中性粒细胞和单核吞噬细胞表面有 IgG1 和 IgG3 的 Fc 受体，IgG Fab 段与细菌表面抗原结合，其 Fc 段则与吞噬细胞 Fc 受体结合，结合后产生信号作用，促进吞噬和杀灭清除作用。②免疫粘连：吞噬细胞还具有 C3b 受体。IgG、IgM 与菌细胞或抗原结合成复合物，通过激活 C3b 与吞噬细胞结合发生调理吞噬。IgM 的调理更强。在抗体产生之前，革兰阴性细菌 LPS 激活补体旁路途径也可起调理吞噬作用。IgM 及补体旁路作用对细菌感染的早期尤为重要。血循环中的红细胞有 C3b 受体，固定有 C3b 的抗原抗体复合物可吸附红细胞，吞噬细胞可将其一起吞噬。这一调理吞噬对限制和清除血流的革兰阴性细菌感染至关重要。

3. 溶菌作用 补体是膜损伤性免疫分子，在 IgG、IgM 与细菌结合时，通过经典途径破坏菌细胞，使细菌裂解死亡。

(三) 抗毒素免疫

细菌在生长繁殖中释放的外毒素或人工制成的类毒素刺激机体产生的抗体称为抗毒素 (antitoxin)。抗毒素主要为 IgG，肠毒素刺激产生的为 SIgA。抗毒素的作用机制是与相应外毒素结合，使外毒素失去毒性作用，称中和作用。细菌外毒素多数为 A-B 结构的毒素，其 B 亚单位有与靶细胞相应受体结合的表位。抗毒素与外毒素 B 亚单位结合后改变毒素分子的构型，使毒性部位 A 亚单位不能发挥作用。抗毒素与外毒素结合成的免疫复合物随血流的循环，最终被吞噬细胞清除。肠毒素被抗毒素 SIgA 结合后则被排出体外。

外毒素一旦与靶细胞结合便为不可逆性，故抗毒素只有与游离的外毒素结合才有中和作用。用抗毒素人工被动免疫应尽可能早期、足量。

细胞免疫在某些胞外菌感染的防御中亦起一定作用。其机制是 CD4T 细胞通过分泌细胞因子产生辅助 B 细胞抗体，诱导局部炎症反应，激活 MΦ 的吞噬杀菌功能。

四、抗胞内菌感染免疫

某些致病菌主要寄生于细胞内，称为胞内菌 (intracellular bacteria)。这些细菌也可在细胞外生存，又称兼性胞内菌 (facultative intracellular bacteria)。对人类致病的兼性胞内菌有结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌、伤寒沙门菌、布鲁菌、肺炎军团菌、产单核细胞李氏菌等。立克次体、衣原体等属专性胞内菌 (obligate intracellular bacteria)。

胞内菌感染具有与胞外菌不同的特点：主要为胞内寄生、多呈慢性疾病过程、往往有肉芽肿形成并多伴有迟发型超敏反应。由于抗体不能进入胞内发挥作用以及这些特点，宿主机体抗胞内菌感染免疫主要依靠获得性细胞免疫功能，即 T 细胞介导的特异性细胞免疫应答，其应答的主要机制是被抗原激活的 T 细胞、细胞因子、单核吞噬细胞的相互作用，最终使胞内菌被杀死和清除。起杀死和清除作用的主要是 MΦ 和 CTL。

胞内菌侵入机体后，大多被单核吞噬细胞系统捕获。但在特异性细胞免疫产生之

前,单核吞噬细胞往往难以杀死吞入的细菌。首先感染的细胞表面及释出的抗原被APC处理和递呈,激活T细胞。在T细胞中CD4 T细胞起主要作用。CD4 T细胞按其分泌细胞因子的不同分成Th1和Th2,其前体细胞为Th0。介导细胞免疫应答的主要是Th1。Th1细胞通过分泌IFN- γ 、TNF- β 等多种细胞因子活化M Φ ,包括感染和未感染的单核-M Φ 和CTL,使之发挥杀伤效应。Th1释放的多种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。IFN- γ 是活化M Φ 效力最强的细胞因子。CTL主要为CD8 $\alpha\beta$ T细胞。CTL可通过穿孔素(perforin)和粒酶(granzyme)杀伤和破坏感染细菌的靶细胞,使细菌散出,再经抗体或补体的调理作用被吞噬细胞消灭。

在抗胞内菌免疫机制中,NK细胞、中性粒细胞亦可参与。NK细胞可直接杀伤感染的靶细胞,并可释放INF- γ 参与激活细胞免疫应答。

免疫与疾病 免疫防御机制的抗细菌感染一般情况下是对机体有利的,这是对总结局而言。免疫细胞和免疫分子均有利与害的双重性。不同种类的细菌、感染致病不同过程,其免疫的作用可有差异,在一定条件下可以是保护性的,亦可为致病的。例如链球菌引起的风湿热和急性肾小球肾炎,与抗体介导的免疫损伤有关。脑膜炎奈瑟菌感染所致的急性化脓性脑膜炎,主要由内毒素引起的中性粒细胞的免疫损伤。革兰阴性菌败血症是临床的一种重症感染,发病机制主要是由大量内毒素的致病作用,与补体系统和细胞因子密切相关。细菌性超抗原所致的多种急性和慢性疾病均与细胞因子和T细胞有关。结核分枝杆菌引起的迟发型超敏反应也是致病机制之一。

第二节 抗病毒感染免疫

抗病毒感染的防御机制,有天然的非特异性免疫和获得的特异性免疫。病毒是专性细胞内寄生的非细胞型微生物,亦有“分子生物”之称。由于病毒的生物学特点、感染及治病机制等不同于其他微生物,并与宿主细胞的关系极为密切,故抗病毒免疫机制亦具有特征性。

一、天然免疫

在抗病毒感染的天然免疫中宿主机体的屏障结构、吞噬细胞、补体系统等非特异性免疫机制均有作用,但干扰素(interferon, IFN)和自然杀伤细胞(natural killer cells, NK细胞)起主要作用。

干扰素 是机体受病毒或其他干扰素诱生剂刺激巨噬细胞、淋巴细胞以及体细胞产生的具有多种生物学活性的糖蛋白。1957年Isaac在研究灭活病毒对活病毒的干扰现象时发现干扰素。病毒、细菌内毒素、原虫、人工合成的双链RNA等诱生剂均可诱导干扰素的产生。干扰素特性:①分子量小,4 $^{\circ}$ C可保存较长时间,-20 $^{\circ}$ C可长期保存活性,56 $^{\circ}$ C被灭活,可被蛋白酶破坏。②具有多种生物学活性,包括广谱抗病毒、抗肿瘤和免疫调节作用。干扰素系统在脊椎动物普遍存在,是细胞功能调节系统的重要细胞因子。③对病毒只有抑制作用而无杀灭作用,对已整合的病毒无作用。④抗病毒作用具有相对的种属性,一般在同种细胞中活性最高。

1. 种类 根据抗原性的不同，人类细胞诱生的干扰素分为 IFN- α 、IFN- β 和 IFN- γ 。每种又可再分为亚型。IFN- α 主要由人白细胞产生，IFN- β 主要由人成纤维母细胞产生，抗病毒作用强于免疫调节作用。IFN- γ 由 T 细胞产生，主要起免疫调节作用，可作用于机体的多种免疫细胞。

2. 抗病毒作用机制 干扰素不能直接进行抗病毒作用，而是作用于宿主细胞的干扰素受体，经信号传导等一系列的生物化学过程，启动基因合成抗病毒蛋白 (antiviral proteins)，通过这些干扰素诱导产生的蛋白实现对病毒的抑制作用。抗病毒蛋白主要有 2'-5'腺嘌呤核苷合成酶 (简称 2-5A 合成酶) 和蛋白激酶 (protein kinase R, PKR) 等。其作用机制有 2-5A 合成酶途径和 PKR 途径。前者降解病毒 mRNA，后者抑制病毒多肽链的合成，通过对转录和翻译的阻断抑制病毒蛋白质的合成，使病毒复制终止 (图 9-2)。

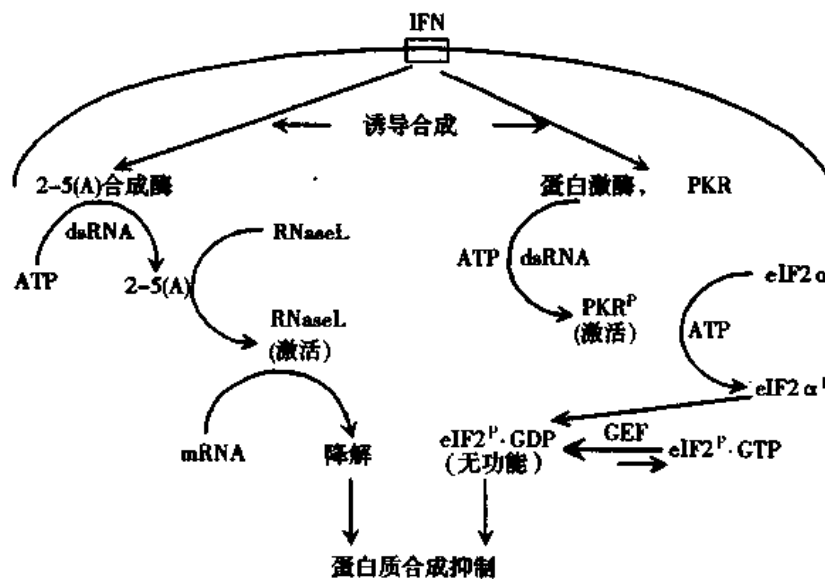


图 9-2 干扰素抑制病毒蛋白翻译的两种途径

① 2-5A 合成酶途径: 2-5A 合成酶被激活后使 ATP 多聚化, 形成长度不等的寡腺苷酸 (2-5A)。2-5A 再活化 RNA 酶 L (RNaseL), 活化的 RNaseL 则切断病毒 mRNA。干扰素抑制小 RNA 病毒的复制主要通过这一机制。② PKR 途径: 蛋白激酶的唯一底物是翻译起始因子 eIF-2 α 亚基。eIF-2 α 受蛋白激酶作用而磷酸化, 磷酸化的 eIF-2 α 不能再被循环用于蛋白质翻译起始。受病毒感染的细胞在病毒复制的同时即产生和释放干扰素, 并很快渗入邻近细胞使之产生干扰素。因此干扰素既能中断受染细胞的感染, 又能限制病毒的扩散。INF- α , β 可活化 M Φ 及 NK 细胞, 促进多数细胞 MHC I 类抗原的表达, 有利于 CTL 发挥抗病毒作用。INF- γ 作为一重要细胞因子可诱导多种细胞表达 MHC II 类抗原, 使之参与抗原递呈和特异性免疫的识别, 促进 M Φ 表达 Fc 受体, 并协同诱导产生 TNF, 促进 M Φ 抗病毒效应。

NK 细胞 NK 细胞是来源于骨髓、存在于人外周血及淋巴组织中的一种淋巴细胞亚群。在病毒特异性抗原诱导特异性免疫应答之前, NK 细胞对早期感染细胞的杀伤起

重要作用。NK 细胞免疫作用的特点有：①杀伤过程不受 MHC 限制，也不依赖抗体。②膜表面 CD2、CD3 分子和多种细胞因子可激活 NK 细胞。细胞因子中主要为 $INF-\gamma$ 。③对靶细胞无特异性，凡被病毒感染的细胞均能杀伤。NK 细胞亦能杀伤肿瘤细胞和机体某些自身细胞。NK 细胞的作用机制一是直接与靶细胞接触，通过穿孔素裂解靶细胞；二是可释放 $TNF-\alpha$ 、 $TNF-\beta$ ， TNF 又有多种作用，例如改变靶细胞溶酶体的稳定性，导致水解酶释出而破坏细胞以及引起细胞凋亡等。

二、获得性免疫

从病毒感染所获得的特异性免疫，包括由病毒抗原刺激产生的体液免疫和细胞免疫。病毒的衣壳蛋白和包膜糖蛋白是刺激特异性免疫的主要抗原。特异性病毒抗体、CTL、 $INF-\gamma$ 和 TNF 等细胞因子在获得的特异性免疫机制中起主要作用。清除体内的病毒、使感染的机体康复主要依靠特异性 CTL，而预防机体的再次感染及病毒在体内的扩散主要依靠抗体。对病毒抗原的应答几乎全是 T 细胞依赖性的。

(一) 病毒抗原的加工与递呈

不同来源的病毒抗原，对其加工与递呈方式不同，受不同的 MHC 分子限制，由此引起的特异性免疫应答也有区分。这一机制对免疫应答效应作用的分工有重要意义。

内源性抗原递呈 病毒在细胞内复制或增殖过程中，所合成的蛋白质经细胞器中的蛋白酶体降解成短肽，再被转运至内质上，被 MHC I 类分子所选择，结合成复合物后，经分泌泡传递至细胞膜表面，这种与 MHC I 类分子结合的由感染细胞表达病毒抗原表位的方式称内源性抗原递呈。MHC I 类分子一般只选择有效的 8~10 个氨基酸片段。经此方式递呈的抗原主要作用于 CD8T 细胞，使之活化成为 CTL。

外源性抗原递呈 细胞外的游离病毒或抗原抗体复合物经吞噬细胞吞饮，病毒蛋白被吞噬体的酶水解为许多小片段后，被 MHC II 类分子选择而结合，并传递至细胞膜表面，又与 CD4 T 细胞相互作用，使之获得抗原特异性。具有特异性的 CD4 T 细胞则辅助 B 细胞产生抗体。CD4 T 细胞在传递抗原信息的同时，可释放 $INF-\gamma$ 、 $INF-\alpha$ 和 $IL-2$ 等细胞因子，辅助 B 细胞成熟为浆细胞合成抗体。B 细胞也可吞饮有包膜的病毒体，加工处理后，将衣壳抗原与 MHC II 类分子结合而递呈于胞膜表面。一个 B 细胞可同时递呈一个病毒衣壳含有的不同的抗原表位，接受对该衣壳

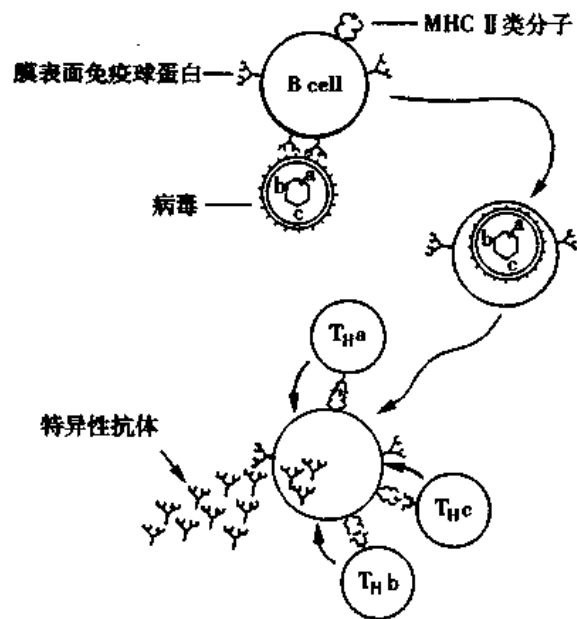


图 9-3 B 细胞抗原递呈与 Th 细胞相互作用模式
 $T_{H a}$ 、 $T_{H b}$ 、 $T_{H c}$ 分别为对不同衣壳抗原表位特异的辅助 T 细胞

不同抗原表位特异性的 Th 细胞的辅助，从而促进抗体的产生（图 9-3）。

这种 MCH II 类分子限制的由吞噬细胞或 B 细胞执行的抗原递呈方式称外源性抗原递呈。

病毒抗原递呈的两种不同方式可因病毒种类不同而分别或同时存在或不同时间存在不同方式，形成交叉互补。感染的细胞被 CTL 杀伤后，病毒体或抗原释放转入外源性抗原递呈方式。CD4 T 细胞释放的细胞因子不仅辅助 B 细胞，亦可辅助激活 CD8T 细胞的 CTL 功能。

（二）体液免疫

抗病毒体液免疫主要依赖于抗体的作用，并发生于感染的细胞外。抗体可通过与病毒抗原的特异性结合，阻止病毒的入侵、扩散和抑制病毒的复制，并在其他免疫功能配合下清除病毒。病毒抗体主要是免疫球蛋白 IgG、IgM、IgA。三种不同种类的免疫球蛋白抗体可以具有对同一抗原表位的特异性，但各自又有不同的生物学特性，因而可具有不同的免疫作用。

病毒感染后最先产生的是 IgM 类，一般在感染后 2~3d 血清中开始出现。IgM 分子量大，从淋巴液进入血液中，不能透过毛细血管壁，在血液循环中可阻止病毒扩散和清除病毒。IgM 不能通过胎盘，故新生儿检测到 IgM 类病毒抗体可诊断为宫内感染。病人感染后出现 IgM 抗体早，故检查 IgM 抗体可作早期诊断。以后出现 IgG 类抗体，并随病毒种类的不同而持续时间长短不等。IgG 分子量小，可通过毛细血管进入细胞外体液中，是体内分布最广的免疫球蛋白。IgG 可通过胎盘，使新生儿获得来自母体的抗体，一般在 6 个月内可维持有效保护作用。IgA 类抗体主要在粘膜表面或粘膜腔起作用，为 SIgA，由粘膜免疫系统产生，在局部特异性免疫中起重要屏障作用。

包膜病毒可通过胞膜蛋白、无包膜病毒则通过衣壳蛋白与敏感的靶细胞受体结合而吸附，这是病毒感染细胞和复制过程的第一步。抗体可与这些结构蛋白抗原结合后，病毒则失去感染的能力，被抗体结合的病毒则被清除。能与病毒结合消除病毒的感染能力、阻止病毒扩散并介导病毒被杀灭和清除的抗体，称为中和抗体（neutralizing antibody）。刺激产生中和抗体的病毒抗原称中和抗原。中和抗体具有保护作用，主要由病毒体表面抗原刺激产生。某些针对包膜病毒基质蛋白、核蛋白、病毒复制酶的抗体为非中和抗体，既不能阻止病毒入侵，亦不能介导破坏和清除病毒，故无保护作用，但某些具有诊断价值。对有保护作用的中和抗体和抗原的分子生物学研究，可提供作为人工免疫防治实践研究的理论基础。

中和抗体的作用机制：①封闭与敏感细胞受体结合的抗原表位，并改变病毒表面构型，使病毒不能吸附易感细胞。②抗体可通过 Fab 段交叉与病毒体结合使病毒聚集，限制病毒的扩散。聚集物或抗原抗体复合物被单核吞噬细胞系统吞噬清除。③有包膜病毒被中和抗体结合后，除被吞噬细胞清除外，易于激活补体的经典途径致病毒体裂解。补体亦可在无抗体存在时单独破坏有包膜病毒。④无包膜病毒被中和抗体结合并覆盖后可阻断病毒在进入细胞时的脱壳，从而抑制病毒的复制环节。

在体外实验中，抗体可通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC）裂解破坏病毒感染的靶细胞。

(三) 细胞免疫

抗体只能在细胞外对游离的病毒或抗原起作用，对感染细胞内病毒的清除，主要依靠特异性 CTL 及 Th 细胞释放细胞因子发挥抗病毒作用。多数 CTL 的杀伤作用受 MHC I 类分子的限制，也有少数受 MHC II 类分子限制。在病毒感染细胞的早期 MHC I 类分子尚未出现之前，NK 细胞发挥杀伤感染细胞的作用。随后病毒抗原与 MHC I 类分子表达，CD8T 细胞通过不同受体同时识别病毒抗原 MHC I 类分子、CD3、CD2 分子的表位，被活化成为特异性 CTL，并释放穿孔素和细胞毒素。两种毒素都是酶蛋白，其作用类似补体 C9，使靶细胞出现许多小孔而致细胞裂解。细胞毒素可激活靶细胞自身的酶，使细胞 DNA 降解，并引起凋亡。一个 CTL 在完成杀伤一个靶细胞后，可继续再杀其他靶细胞而自身不受损。病毒在复制中产生的抗原可出现于装配成熟之前，因此 CTL 此时将细胞破坏则可阻断病毒的复制。靶细胞杀伤破坏后释出的病毒体或蛋白，可在抗体作用下由吞噬细胞清除。某些有包膜的病毒通过细胞到细胞之间扩散，例如疱疹病毒，CTL 可对表达疱疹病毒抗原的靶细胞发挥杀伤作用，限制其感染扩散。CTL 的作用被认为是机体感染病毒后恢复的主要机制。然而某些病毒可替代入细胞中，或以基因形式存在于细胞染色体中，既不合成病毒蛋白，感染的宿主细胞也不表达 MHC I 类分子，这样就会逃避 CTL 的杀伤。

在特异性细胞免疫应答中，被活化的 Th 细胞除辅助抗体产生外，还可分泌多种细胞因子活化 CTL 和 MΦ。在小鼠中不同的 Th 细胞分泌不同的细胞因子，Th1 分泌 IL-2、IFN-γ，Th2 分泌 IL-4、IL-5、IL-10。Th1 细胞与激活细胞免疫有关。Th1 细胞功能降低可影响 CTL 的效应。

在某些病毒感染中，发现 CTL 有抗病毒作用却无杀细胞现象，例如神经系统的病毒感染和乙型肝炎病毒的持续性感染。在人类免疫缺陷病毒感染中亦存在这一现象。已证实其抗病毒作用的机制是通过释放 IFN-γ、TNF 与细胞因子所致。这些细胞因子可进一步激活 CTL、Th、MΦ 和 NK 细胞，使之发挥抗病毒作用。

(四) 免疫病理

病毒感染引起的免疫应答正常情况下起保护作用。但由于病毒与细胞关系的密切性，许多情况下由病毒引起的免疫损伤较其他微生物引起的多见，且复杂。CTL、抗体、细胞因子等免疫因子在其中起主要作用。已知病毒感染性疾病免疫病理可有几个方面：①抗体应答：某些病毒循环抗体与抗原形成的复合物可沉积血管壁引起Ⅲ型超敏反应，某些病毒感染者发生肾小球肾炎与此病理有关。免疫促进也是抗体引起的免疫损伤，如登革病毒、呼吸道合胞病毒感染。②CTL 应答：CTL 对感染的靶细胞如果杀伤过强，可导致细胞、组织或器官的病理损伤，引起疾病。③自身免疫：病毒在感染中，病毒成分、免疫因子与组织细胞相互作用可改变宿主自身蛋白成为自身抗原，或使隐蔽的抗原暴露，激活针对自身抗原 B 细胞克隆产生自身抗体或 T 细胞克隆的识别引起。从感染者检测出自身抗体的病毒有：水痘病毒、甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒、EB 病毒、柯萨奇 B 组病毒、流感病毒、腮腺炎病毒、麻疹病毒、呼肠病毒、风疹病毒等。麻疹病毒、腮腺炎病毒感染后期发生的脑炎可能与共同抗原引起的交叉免疫有关，因从脑组织中分离不到病毒。④免疫抑制：人类免疫缺陷病毒主要损伤

CD4Th 细胞引起免疫功能缺陷。疱疹病毒、风疹病毒等可感染免疫细胞，损伤免疫功能。

展 望

现代免疫学起源于抗感染免疫。病原微生物与人类疾病及健康的关系问题，一个多世纪以来一直是科学家努力探索或研究的重大课题。传统的抗感染免疫实践在全球消灭了天花，并控制或基本控制了许多重要传染病，这是医学微生物学与免疫学所取得的巨大成就。然而近 20 多年来，由于感染规律的演变以及新现与再现微生物的感染，使微生物学家和免疫学家一方面从分子水平上，另一方面从微生物与宿主的内外环境因素等多因素的关联，去思考和理解微生物与宿主相互作用机制和相互关系的本质问题。

随着分子生物学技术的发展，利用基因与蛋白质的分离与测序、核酸杂交、分子克隆、转基因、基因敲除 (knock out)、单克隆抗体等各种技术手段，研究基因结构及其功能、蛋白质分子的表位，包括抗原表位、细菌毒力因子表位，细胞因子在致病与免疫中的作用、活性分子信号传导的过程和分子遗传机制等，对深入揭示病原体与免疫系统相互作用，加深认识宿主机体抗感染免疫的本质和自然规律有重要意义，并涉及分子生物学、免疫生物学与分子免疫学、细胞生物学、分子遗传学和生物化学等相关生命科学领域。抗感染免疫理论是微生物病免疫防治和免疫诊断理论与实践的重要基础，亦与人类保健医学密切相关。

在抗病毒免疫方面，由于病毒基因组小、结构简单，编码的蛋白种类不多，易于进行分子生物学和免疫学研究。但目前对细胞免疫研究的进展仍不如体液免疫。细胞免疫应答对清除病毒恢复健康十分重要。目前应用的特异性抗原刺激的淋巴细胞增殖和 CTL 实验在技术方法上有待改进，使其更简便和有可比性。测定 $INF-\gamma$ 、 $IL-2$ 、 $IL-4$ 、 $IL-5$ 、 $IL-10$ 等可作为研究细胞免疫的一个方面。对淋巴细胞的 mRNA 水平的测定可作为细胞免疫的量化指标之一。在抗菌免疫方面，胞内菌的致病与免疫需深入研究。目前对胞内菌的治疗和预防接种都不如胞外菌的效果理想。

在病原微生物与免疫防御机制的相互关系中，免疫逃避或抗原变异问题是与抗感染免疫密切相关的重要领域。理解和掌握微生物免疫逃避机制以及感染与抗感染免疫相互作用机制对设计疫苗、发展免疫防治策略都有重要意义。

近年来发展的 DNA 免疫的理论和技术在抗感染免疫中应用前景广阔。

(叶嗣颖)

第十章 病原微生物感染的检查及防治原则

对病原微生物引起的各种感染或传染病的诊断，除可根据临床症状、体征和一般检查外，重要的是如何确立微生物与感染的因果关系并对病原体进行区分。基于这一目的，应用各种技术方法对微生物进行实验室检查，称为微生物学诊断（microbiological diagnosis）。微生物学诊断是确诊生物病因的根本措施，关系到对感染的正确及时的治疗、控制和预防。

根据病原微生物的生物学特性、感染规律、致病机制和宿主抗感染免疫的特点，可检查病原体及其成分作为直接依据，亦可检查相应抗体作为间接依据。在技术上有形态学、免疫学和分子生物学方法等。

对三大类病原微生物感染疾病的治疗，有不同的特点。细菌等原核型一般应用抗生素，病毒可应用抗病毒药物，真菌只对抗真菌药敏感。

预防、控制感染或传染病除一般措施外，使人体获得特异性免疫力是主要方法。获得性免疫的产生可有不同的方式，有主动免疫（active immunization）和被动免疫（passive immunization）。其中分自然的和人工的方法（表 10-1）。

表 10-1 获得性免疫产生方式

主动免疫	自然主动免疫：隐性或显性感染
	人工主动免疫：接种疫苗、类毒素等
被动免疫	自然被动免疫：通过胎盘、初乳
	人工被动免疫：注射抗毒素、免疫球蛋白、免疫细胞、转移因子等

人工主动免疫是模拟自然的人工方法，将疫苗、类毒素等免疫原接种于人体，使人体产生特异性免疫力。人工被动免疫是指使人体直接获得免疫分子（抗毒素等抗体）或免疫细胞的方法，主要用于紧急预防和治疗。人工制备的主动免疫制剂（免疫原）、被动免疫制剂（抗毒素等）、诊断制剂（诊断血清、诊断抗原等）等统称为生物制品（bioproduct）。

第一节 细菌感染的检查

标本采集与送检是微生物学诊断的第一步，直接关系到检验结果的正确性或可靠性。标本采集与送检必须遵循几个原则：①区别取材：根据不同的感染部位，或不同的病程，以及要进行的不同检验技术和检测目标选取不同的标本。例如流行性脑膜炎病人取脑脊液、血液或血瘀斑液；细菌性痢疾取脓血或粘液性粪便；空洞型肺结核取咳出的痰液；伤寒患者在病程 1~2 周内取血液，2~3 周时取粪便。查抗体应取合适病程的血

液。区别不同情况是正确取材的关键。②妥善处理：检查活菌常进行分离培养，取标本应在使用抗菌药物之前，病变局部不可用消毒剂。③尽快送检：某些细菌对环境因素敏感，易于死亡，应及时送检。例如脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、幽门螺杆菌等，标本应尽可能保持新鲜。可采取保护措施维护细菌活性或床边接种。④无菌操作：所有取材应注意无菌操作，尽可能避免无关菌或其成分的污染。

一、细菌学诊断

细菌学诊断指通过形态学及生化方法、免疫学和分子生物学等技术对活菌或其成分的生物学特性进行检查与分析。

(一) 检测病原菌

直接涂片镜检 凡在形态和染色性上具有特征的来自正确部位的病原菌，直接涂片染色后显微镜观察均有初步诊断意义。例如痰中查见抗酸染色阳性细长的、有分枝状的细菌可初步诊断为结核分枝杆菌；生殖器官病变部位的脓液标本涂片查见革兰阴性的双球菌，结合临床症状可诊断为淋病奈瑟菌感染；脓液中发现葡萄串状革兰阳性菌则为葡萄球菌特征。直接涂片进行形态观察还可用免疫荧光技术，特异性荧光抗体与细菌结合，出现有荧光的菌体可作出快速诊断。例如检测粪便中的霍乱弧菌、志贺菌等。一般情况下，直接涂片镜检只能提供初步诊断或参考，要确诊病原菌需要进一步鉴定。

分离培养 利用固体平板培养基进行分区划线，可将混杂的标本分离出单个菌落，以利于进行鉴定。原则上所有标本均应进行分离培养，以获得纯培养。只有用纯培养才能检验细菌的菌种生物学特性、免疫性、致病性、对药物的敏感性等，以做出精确的诊断。对某些病原菌直接涂片染色镜检无意义，例如肠道杆菌。无菌部位的标本如血液、脑脊液可直接接种至营养丰富的液体或固体培养基。有菌部位的标本可接种至选择或鉴别培养基。大多数细菌能在 37℃ 中的人工培养基上生长，一般经 16 ~ 20 h 长成可见的菌落。布鲁菌、结核分枝杆菌等少数细菌生长缓慢，分别需要经过 3 ~ 4 周和 4 ~ 8 周才长成菌落。分离培养的阳性率高于直接镜检，缺点是需时较长。分离培养可作为基础，利于用其他技术对分离到的细菌进行鉴定。因此分离培养是细菌学诊断的基本的、有效的方法，其可靠性目前尚无其他方法可替代。

生化试验 不同的病原菌可具有不同的分解代谢能力，即酶系统。在纯培养的基础上，检测细菌分解糖或蛋白质的产物，可用于鉴定不同的生物学性状，从而辅助区分不同的病原菌。例如肠道杆菌种类很多，形态、染色性基本相同，分离培养获得的菌落也相似，因此借助生化试验有鉴定意义。由于生化试验需要纯培养，此前某些细菌要先进行分离培养，故需时长而繁杂。现已有多种微量、快速、半自动或全自动的细菌自动鉴定系统，即程序控制的自动分析仪。这些自动鉴定系统在进样后的微量培养过程中，自动监测、记录和分析，显示并打出量化结果，可在 24 h 准确鉴定一般医院常见的病原菌。某些先进的自动分析仪适用范围广，包括需氧菌、厌氧菌，甚至可做药敏试验。

血清学试验 采用含有已知特异抗体的免疫血清，不仅可对分离培养出的未知纯种细菌进行鉴定，亦可区分同一菌种的不同群和型。常用的简便易行的方法是玻片凝集试

验，在数分钟内即可出结果。

动物试验 选择符合一定条件的动物进行试验，对分离鉴定病原菌、测定细菌的毒力或致病性有重要意义。但动物试验一般不作常规细菌学实验室诊断，主要用于某些需要做的、或疑难的、新的病原菌的分离鉴定以及微生物学科学研究。常用于微生物学实验的动物有小鼠、豚鼠和家兔等。按实验要求，选用一定体重、年龄和高度易感的健康动物。接种途径有皮内、皮下、腹腔、肌肉、静脉、脑内和灌胃等。接种后可观察一般情况，测定有关指标，检查病变及死亡情况等，并可进一步分离培养和鉴定病原菌。正常动物一般有抗细菌感染的免疫力，对含有杂菌的标本，可对某种细菌的易感性而将之选择下来，因此可借动物宿主机体分离病原菌。测定细菌的毒力或致病性有毒素抗毒素等中和试验，例如破伤风梭菌神经毒素作用的测定、大肠埃希菌的耐热肠毒素的测定等。动物试验还可用于测定细菌的半数致死量（median lethal dose, LD₅₀）来测定一种细菌的毒力。即在一定时间内，通过一定接种途径，能使一定体重或年龄的某种动物半数死亡或感染的最小细菌数或毒素量。检测细菌内毒素或热原质可用鲎（limulus）试验。

药物敏感试验 药敏试验不属于病因诊断范畴，但在分离出病原菌和鉴定后，对指导临床选择用药、及时治疗和控制耐药菌感染有重要意义。方法有纸碟法、打孔法、小杯法和试管法等多种，以纸碟法和试管稀释法常用。前者以测量抑菌圈有无、大小，后者依据抗菌药物的稀释度来判定该菌的对药物的敏感度或耐药性及其程度。药敏试验需严格的质量控制和统一的评判标准。

（二）检测病原菌成分

病原菌的感染诊断除检查标本中的活菌外，通过检测病原菌的特异成分也是一有效手段。由于不需活菌培养，故可直接检查标本的成分，作出快速诊断。

检测抗原 用免疫技术。常用于细菌学诊断的免疫技术有免疫荧光、协同凝集、酶免疫、间接血凝、对流免疫电泳、乳胶凝集等试验技术。其原理是用已知特异抗体检测未知抗原。例如脑膜炎奈瑟菌感染引起的急性化脓性脑膜炎可用已知抗体作对流免疫电泳，检测脑脊液中的抗原，1 h内可出结果。免疫技术检测抗原的优点是快速、灵敏，可检测标本中的微量抗原。即使患者经抗生素治疗，标本中的细菌被抑制或杀死而培养不出，其特异抗原仍可检出，有助于确定病因。免疫技术也可检测分离培养细菌所获的抗原，用于鉴定和分析，以辅助诊断。

检测核酸 检测核酸的方法是近年发展的分子生物学技术，是鉴定和区分病原微生物从生物学性状（表型）到基因型方法学上的重大进展。微生物基因相对稳定、保守，没有表型性状的变化大。不同种的细菌具有不同的基因或碱基序列，可通过检测微生物的特异基因序列存在与否，称为微生物的基因诊断。主要技术有核酸杂交（nucleotide hybridization）和多聚酶链反应（polymerase chain reaction, PCR）等。这些分子生物技术比免疫技术更特异、敏感、快速。

1. 核酸杂交 原理是应用已知序列的核酸单链作为探针（probe），在一定条件下按照碱基互补规律与经处理的标本中未知的单链核酸杂交。探针是事先用放射性同位素或生物素地高辛苷原、辣根过氧化物酶等非放射性物质标记的，故可通过这些标记物的反

应信号或杂交信号作用（放射自显影等），得知是否有特异序列与已知的探针结合。核酸杂交技术有液相与固相之分。固相较常用，有原位杂交（in situ hybridization）、斑点杂交（dot blot）、Southern 印迹、Northern 印迹等。用核酸杂交技术可直接从标本中检出病原体核酸，对尚不能或难分离培养的病原体尤为适用。目前用于诊断的有结核分枝杆菌、幽门螺杆菌、空肠弯曲菌、致病性大肠埃希菌、钩端螺旋体等多种细菌。

2. PCR 技术 是一种选择性体外扩增 DNA 或 RNA 片段的无细胞分子克隆技术。可在数小时内将标本中含有的某段基因序列扩增上百万个同一基因片段。

PCR 的基本原理相当于体外基因复制：在 DNA 模板（含被检测的基因序列）、引物、耐热 DNA 多聚酶、脱氧核苷酸 4 种主要材料存在情况下，经加温变性（模板解链）、降温复性（退火）、延伸等几个步骤，再重复多次循环，即可扩增出被检的基因片段。扩增的产物作溴乙锭染色的凝胶电泳，在紫外线下可观察到由大量大小相同的 DNA 片段聚集的条带，即为阳性，否则为阴性。若需进一步鉴定和分析，可回收产物，再用特异探针杂交确定。

PCR 技术快速、特异性强、敏感性极高、简便，已用于生物医学的多种领域。PCR 技术、分子克隆技术、单克隆抗体技术，由于其应用的广泛性和作用，被称为当代生物高科技。在细菌等原核型微生物方面已用于结核分枝杆菌、淋病奈瑟菌、产毒性大肠埃希菌、沙门菌、军团菌、钩端螺旋体、支原体等微生物的检测。由于 PCR 敏感性极高，易于出现假阳性，故需严格控制条件和操作。PCR 技术在基本原理不变的情况下，已发展多种类型的 PCR 技术，用于不同的目的。

3. DNA 指纹 包括细菌染色体 DNA 和质粒 DNA 指纹（fingerprinting），或图谱（profile）。主要用于流行病学调查、追踪鉴定传染源和有关方面的研究。

检测其他成分 用气-液相色谱法（chromatography）可检测细菌在代谢过程中产生的挥发性脂肪酸谱诊断厌氧菌感染。气、液相色谱技术主要用于分析微生物研究。

二、血清学诊断

细菌、病毒等微生物感染人体后，免疫系统受抗原的刺激可发生免疫应答，产生特异性抗体。基于抗原与抗体特异性结合的基本原理，用已知的菌细胞、病毒体或无菌细胞、无病毒体的抗原，检测病人血清有无相应抗体及其抗体的量，可作为某些传染病的辅助诊断。因一般采取病人的血清进行试验，故这类方法通常称为血清学诊断（serological diagnosis）。不同的病原体，不同的病程，初次感染和再次感染，抗体产生的量均可不同，并存在动态变化。在试验中，通过稀释血清为不同的比例，与一定量的已知抗原相互作用，可测知抗体的量。通常以明显观察到抗原抗体反应出现的最高血清稀释度数为单位，称为效价（titer）。由于隐性感染，近期预防接种或回忆反应等，正常人一般存在一定水平的抗体，即为正常效价。一般情况下感染后抗体量会随病程延长而增高，抗体效价明显高于正常值或随病程递增有诊断价值。测定抗体量的递增可取早期和恢复期双份血清进行检测，后期的血清效价高于早期的 4 倍或以上有意义。

常用于细菌感染的血清学诊断有：直接凝集试验（诊断伤寒、副伤寒的肥达试验、立克次体的外斐试验、钩端螺旋体的显微凝集试验等）；补体结合试验（诊断 Q 热柯克

斯体等)；中和试验(诊断链球菌性风湿病的抗O试验等)；乳胶凝集试验(诊断流感嗜血杆菌、脑膜炎奈瑟菌等)和ELLSA。ELLSA技术简便、特异、快速、灵敏且可自动检测大量标本，已广泛应用于细菌、病毒等多种病原体的微生物学诊断和流行病学调查。

第二节 细菌感染的免疫防治

根据宿主机体抗感染免疫的一般规律，用人工免疫方法使机体产生获得性免疫力是预防细菌感染或细菌传染病的有效措施，包括应用疫苗(vaccine)或类毒素进行人工主动免疫(artificial active immunization)和应用抗毒素等进行人工被动免疫(artificial passive immunization)。人工主动免疫是防治细菌感染的根本措施。

一、人工主动免疫

(一) 疫苗

疫苗接种(vaccination)可使机体产生特异性抗体应答和细胞免疫应答。若机体未接触过或感染过某病原菌，疫苗接种相当于初次感染所起的作用，并使机体获得特异性免疫记忆的能力。产生的抗体可维持一定时间，以IgG最久。被免疫接种的机体，当初次感染某病原菌时，产生的免疫应答相当于再次感染引起的免疫效应。疫苗刺激机体产生的免疫应答类型和免疫效应可因不同的菌种、不同的抗原性质而有差异。大多数预防胞外菌感染的疫苗主要引起体液免疫应答，而胞内菌疫苗主要刺激和增强细胞免疫功能。多糖类免疫原属T细胞非依赖性抗原，主要引起抗体的产生，而蛋白质类免疫原属T细胞依赖性抗原，既可引起体液免疫，又可引起细胞免疫。2岁以下婴幼儿对T细胞非依赖性免疫原的免疫应答功能发育尚不成熟，故多糖类疫苗效果不佳，可采用偶联等方式以弥补此不足。

用于人工主动免疫的疫苗有菌细胞死疫苗、活疫苗、亚单位疫苗，重组疫苗和核酸疫苗。

常用疫苗：

1. 死疫苗 经人工大量培养后，应用理化方法处理制成。常用的有霍乱、流行性脑膜炎、伤寒、斑疹伤寒、钩端螺旋体病等疫苗。死疫苗的优点是易于保存，一般4℃可保存1年，且无感染的危险性。但需要剂量大，接种次数多，全身副反应较大。死疫苗因经理化方法处理，对抗原有一定的损伤，免疫效果不如活疫苗，且只能引起体液免疫应答。

2. 活疫苗 经人工培养筛选、诱变而成，使有毒力的细菌变为弱毒或无毒但保留有抗原性且遗传性稳定的活菌。例如用于免疫预防的鼠疫耶氏菌低毒株和预防结核病的卡介苗(BCG)。卡介苗是由卡氏和介氏两位科学家用牛分枝杆菌经人工培养13年230次转种传代后获得。迄今世界各地使用的BCG菌种均来自法国巴斯德研究院。活疫苗的优点是免疫效果好，一般只需接种一次，剂量较小，副反应小，可刺激机体同时产生细胞免疫和体液免疫。口服可刺激粘膜免疫系统产生SIgA。

活疫苗的最大优点是模拟自然感染的过程，可保留抗原的天然构型，同时活的菌体具有良好的天然载体效应。

3. 亚单位疫苗 用化学方法裂解和提取而制成的细菌保护性抗原组分，称亚单位疫苗 (subunit vaccine)。例如肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌、流感嗜血杆菌等的荚膜多糖，钩端螺旋体外膜蛋白等。

新型疫苗：

1. 偶联疫苗：偶联疫苗 (conjugated vaccine) 指用化学方法偶联不同性质的抗原物质，小分子抗原与大分子抗原结合，从而可弥补免疫功能的不足，并可增加不同特异性和免疫效应的多价疫苗。例如荚膜多糖免疫原性较弱，可与破伤风类毒素、白喉类毒素等偶联。用蛋白质作为载体与多糖结合，可使偶联物同时具有抗原的 T 细胞依赖性和 T 细胞非依赖性，促进完整的免疫应答和免疫记忆性。偶联疫苗可同时预防不同种、同种不同型的细菌感染。

2. 重组疫苗 用 DNA 重组技术制备的疫苗。例如福氏志贺菌 2a 株与大肠埃希菌 MH 株的杂交株疫苗、可表达志贺菌表面抗原的沙门菌减毒株疫苗等。

近年来在噬菌体表面展示技术 (phage surface display) 基础上发展起来的细菌表面展示技术 (surface display in bacteria) 对研制新型活疫苗有良好的应用前景。此技术的原理是用基因重组的方法利用细菌表层蛋白表达系统，将外源性抗原肽或蛋白与细菌表面的细胞壁蛋白或外膜蛋白融合，以正确的构象和方向插入并锚定在细菌外膜或胞壁表面，使该展示的蛋白发挥功能。细菌表面展示技术可应用于分子生物学多种领域，在微生物学方面可用于重组疫苗、表位分析等方面的研究。

3. 核酸疫苗 亦称 DNA 疫苗、基因疫苗。其原理是利用分子克隆技术获得病原体保护性抗原基因，将抗原基因与质粒重组，重组体直接注射入宿主机体，使体内持续表达该抗原，并能诱导体液免疫应答和细胞免疫应答。自 1993 年首次报道流感病毒核酸疫苗以来，已对细菌、病毒、原虫等的核酸疫苗研究获得快速进展，并显示了广阔的应用前景。作为一种新型的新一代分子疫苗，核酸疫苗的问世被称为疫苗学上的一次革命，预示着人类抗感染免疫和预防医学将进入新纪元。核酸疫苗克服了基因工程疫苗后处理问题，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尤其是细胞免疫应答。同时具有易于保存和运输、可大量制备、成本低等优点。但目前其确切机制及有关应用问题正在深入研究中。

(二) 类毒素

类毒素是大量培养产外毒素的细菌后，收集外毒素并用 0.3% ~ 0.4% 甲醛处理，使其失去毒性而仍保留抗原性的免疫原生物制品。在类毒素中加佐剂，可使类毒素在体内的吸收速度减慢，能较长时间刺激诱生抗体的产生。常用的有白喉、破伤风等。儿童用的白百破三联疫苗是由百日咳鲍特菌、白喉类毒素和破伤风类毒素混合制成。此种疫苗可同时预防三种疾病，其中百日咳鲍特菌尚有佐剂作用。

二、人工被动免疫

人工被动免疫是使用制备的特异性免疫物质，使宿主机体即刻获得免疫力的方法。

由于被动输入的免疫物质不是病人自身产生，故维持时间短，随时间的延长会被代谢消失。常使用的制剂主要有抗毒素、丙种球蛋白、胎盘球蛋白和细胞因子等。抗菌血清有效，但易引起超敏反应，只在少数情况下可考虑抗菌血清抗感染。人工被动免疫主要用于治疗或紧急预防（表 10-2）。

表 10-2 两种人工免疫的比较

内 容	人工主动免疫	人工被动免疫
免疫物质	抗原	抗体、细胞因子等
免疫出现时间	慢,2~4周	快,即刻
免疫维持时间	长,数月~数年	短,2~3周
主要用途	预防	治疗或紧急预防

抗毒素 一般用细菌类毒素或外毒素免疫动物，取动物血清分离纯化而制成。所使用动物主要是马匹。提取的血清免疫球蛋白可再精制成抗毒素制剂。抗毒素注入人体可与外毒素结合，阻止其扩散和与靶细胞结合，主要用于紧急预防。目前我国生产的白喉抗毒素和破伤风抗毒素主要来自马，对人是异种蛋白质，有时可引起 I 型超敏反应。

丙种球蛋白 正常人一般都有病原微生物隐性感染经历，有的曾患过传染病，因而机体有一定水平的多种抗细菌、抗病毒抗体。产妇的胎盘和婴儿脐带血中可含有多种抗体（丙种球蛋白）。从胎盘和脐带血中提取的丙种球蛋白称胎盘球蛋白。从正常人血清中提取的为人血清丙种球蛋白。丙种球蛋白可用于丙种球蛋白缺乏者的常见细菌感染的防治及某些病毒感染高危人群，例如麻疹、甲型肝炎、脊髓灰质炎等。

免疫细胞、免疫分子 输入免疫细胞在动物实验中证实有抗感染作用，称过继免疫，例如 LAK 细胞（lymphokine activated cell）。选择适当的免疫激活剂及细胞因子组合治疗有助于疾病向有利的方向发展，例如转移因子（transfer factor, TF）、IL-2、干扰素等。

第三节 病毒感染的检查

病毒不仅可引起各种感染及传染病，亦与自身免疫性疾病或相关免疫病理以及许多人类癌症密切相关。因此在人类疾病中，病毒病占有十分重要的地位。由于病毒病在治疗原则上完全不同于其他微生物，一个临床医生在面对感染的病人时，区分是病毒感染还是细菌等其他微生物感染十分重要。对病毒感染及时做出诊断和分离鉴定以确定病原，不仅对正确及时进行抗病毒治疗，亦在监测病毒的流行病学和发现新病毒（如新型流感病毒、肺出血型汉坦病毒的发现等）方面具有重要意义。现代生物技术已使病毒检测方法快速发展到分子水平，使病毒诊断技术水平显著提高。但根据临床不同情况、不同种类的病毒特征和现有的检测技术条件，目前常用的病毒检测技术方法包括分离培养、免疫技术和分子生物学技术。在检测病毒时，首先应注意标本采集与送检。病毒标本的采集与送检方法原则基本与细菌的相似。但病毒有一定的特殊性。除根据不同部

位、不同病程，区别取材以及无菌操作外，还应注意以下原则：①用于分离培养的标本应加抗生素抗菌处理；②病毒在室温中易于灭活，应在采集和运送标本中注意冷藏；③欲获得病毒或抗原，一般取急性期标本；欲检查血清抗体，应取早期及恢复期双份血清以观察抗体效价的变化。

一、检测活病毒

病毒只能在敏感的活细胞中存活。用易感活细胞分离培养和鉴定病毒，是传统的基本方法，有细胞培养、鸡胚接种和动物试验。

细胞培养 细胞培养技术在病毒学发展史上曾起了巨大的推动作用。其重要意义在于：①分离与鉴定病毒；②病毒学实验研究；③生产疫苗。病毒标本在细胞培养过程中，以及在大量增殖获得纯种病毒后，均可应用传统的或现代的技术方法对病毒生物学特性进行鉴定分析，并可区分病毒种和型，其信息资源多，依据性强，因而确定病毒种类准确可靠。与细菌培养的意义相似，病毒的分离培养和鉴定亦被称为金标准。例如我国台湾省对肠道病毒 71 型引起多数患儿致死性脑膜炎的病因诊断，就是通过分离培养和鉴定技术确立的。以细胞培养作为技术基础，不仅可用于病毒诊断，亦可用于研究病毒的致病性与免疫性，以及病毒防治的基础研究。可用于病毒分离培养的细胞主要有原代细胞和传代细胞系。原代细胞来源于动物、鸡胚或引产的人胚组织细胞（如肾细胞），对多种病毒敏感性高。传代细胞是能在体外持续传代的细胞，大多是癌细胞或突变的二倍体细胞，例如 HeLa 细胞（人宫颈癌细胞）。传代细胞系便于在实验室保存。

对细胞培养的病毒，可根据不同的病毒特征选择不同的方法进行鉴定。①形态观察：某些病毒在细胞培养中可引起细胞变性坏死、脱落或死亡，称为致细胞病变作用（cytopathic effect, CPE）。具有血凝素的病毒（流感病毒等）可吸附脊椎动物红细胞，借此观察血细胞吸附现象以检测是否有某些病毒在细胞中增殖。亦可用电镜观察病毒结构。②免疫技术：可用特异荧光抗体染色、抗体中和试验等。③病毒数量和毒力测定：测定病毒数量可用空斑形成单位（plaque forming unit, PFU）。一个空斑是标本中的一个病毒大量复制引起的，有感染性的病毒经适当浓度接种单层细胞并培养后，由于散在的单个病毒的复制使局部单层细胞脱落，染色后能清楚显示出来，此即空斑（plaque），肉眼可观察。一个空斑类似于一个菌落，为故计数空斑数借此可以计算出病毒的数量。病毒毒力测定传统方法用 TCID₅₀法，即 50% 组织细胞感染量（tissue culture infected dose of 50%）测定。PFU 和 TCID₅₀ 与病毒诊断没有直接的关系，是测定活病毒感染性和毒力较准确的定量或定性方法。

细胞培养分离和鉴定病毒的缺点是需时长，不能用于快速诊断。且细胞培养技术要求严格的无菌操作、实验室条件和合格的技术人员。

鸡胚接种 鸡胚对多种病毒敏感，但最敏感的是流感病毒，可应用血凝和血凝抑制试验对培养液进行鉴定。鸡胚价格低，对分离流感病毒变异株、鉴定及监测有重要价值。

动物接种 接种动物分离病毒现很少用，但对嗜神经性狂犬病毒、乙型脑炎病毒和

柯萨奇病毒等的分离鉴定需要动物试验，并结合抗体中和试验或免疫荧光技术鉴定病毒种类。

二、检测病毒抗原及抗体

检测抗原 用免疫学技术。用已知特异性抗体直接检查未知抗原可省去分离与鉴定病毒所需的时间，因而可做出快速诊断，且操作简便、敏感、特异，是有效而适用的方法，对某些型别不多，不能或难于在一般细胞培养系统中培养的病毒尤为适用。但检测抗原的免疫诊断方法要求标本中有一定的抗原量和高质量的抗体。现常用的诊断试剂大多是单克隆抗体，只对抗原的某个特征性表位因而精确率高，且可区分不同的病毒型。常用的技术有 ELISA、免疫荧光技术。检测的标本中可以是病毒体或无病毒体的抗原成分。免疫荧光法或免疫酶标记抗体可检测感染脱落的细胞或分泌物中的抗原。

检测抗体 用已知病毒抗原检测病人血清中的相应抗体有辅助诊断价值，属血清学方法。检测血清抗体有不同的要求、不同的适用范围和诊断评价：①抗原的质量：抗原的质量和覆盖抗原表位的幅度可影响检测结果。现今应用的病毒抗原，除分离培养病毒后经鉴定和纯化的抗原外，大多是基因工程表达的重组抗原。②抗体的类型：检测血清中的病毒抗体主要是 IgM 和 IgG 两类。IgM 抗体出现于病毒感染的早期，检查出 IgM 抗体表明病人有近期感染。例如乙型肝炎病毒的核心抗体（抗 HBc），可有 IgG 和 IgM 类型，查出 IgM 类的核心抗体阳性，表明近期有病毒复制。IgG 类抗体必须有感染早期和恢复期的效价对比，一般有 4 倍或以上的升高或降低方有诊断价值。IgG 抗体的检测在某些地区人群中的病毒感染很有价值，可用于流行病学调查。③常用方法：现今一般多用 ELISA 法，也可用 Western 印迹法（蛋白电泳与酶标抗体染色相结合），可检测血清中针对某种病毒抗原亚单位的抗体，例如人类免疫缺陷病毒抗体。

检测抗体的免疫诊断或血清学试验一般不能快速诊断，但对一些不能或难以培养的病毒，仍可选用以辅助诊断。例如肝炎病毒、麻疹病毒、EB 病毒、风疹病毒、人类免疫缺陷病毒等。

三、检测病毒核酸

迄今多数病毒基因已成功地通过分子克隆技术被明确了核苷酸序列，为核酸杂交和 PCR 奠定了良好基础。核酸检测技术在病毒诊断上应用越来越广泛，可作出快速诊断，已发展到既可定性又可定量，可根据分子量大小分辨标本中病毒核酸是整合型还是游离型。

检测病毒核酸的缺点是，病毒核酸阳性并不等于标本中或感染的病变部位有感染性活病毒。对未知病毒及新病毒则因不了解病毒核苷酸序列因而不能采用这些方法。病毒核酸检测的技术包括核酸杂交和 PCR，其原理意义及优缺点见“细菌感染的检查章”。不同的是，病毒有 DNA 病毒和 RNA 病毒两大类。对 RNA 病毒的 PCR 检测采用逆转录 PCR（reverse transcription PCR，RT-PCR）。根据待测病毒 RNA 的已知序列设计引物。在 PCR 反应体系中，先加标本中提取的病毒 RNA 分子作为模板，合成与病毒 RNA 互补的 DNA（cDNA），再加耐热 DNA 酶，在一定温度和条件下作 PCR。

基因芯片技术 基因芯片又称 DNA 芯片、生物芯片（biochip），是继分子克隆、单

克隆抗体和 PCR 之后出现的又一生物高科技技术。人类基因组计划 (human genome project) 的实施, 带动了微生物等生物基因组测序的快速进展, 生物信息的利用与自动化技术相结合, 产生了基因芯片技术, 是第三代遗传单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms) 标记技术与自动化连锁微量分析技术的结合产物。其原理是: 在一小块硅片上将已知的生物分子探针或基因探针, 以大规模阵列或有序排布, 与待检样品中的生物分子或基因序列相互作用和并行反应, 在激光的顺序激发下, 产生的荧光信号被接收器收集, 计算机自动分析处理数据并出结果。这样, 一次性可完成对大量样品 DNA 序列进行检测和分析, 解决了传统核酸杂交技术的许多不足。基因芯片技术在病毒、细菌等微生物学诊断和流行病学调查方面的应用有广阔的前景。

第四节 病毒感染的防治

病毒感染后用药物杀灭或抑制细胞中的病毒, 是使机体康复的重要手段。但由于病毒与细胞关系的密切性, 其生命活性几乎与细胞同在, 体外实验证实有抗病毒作用的化学药物不一定能在体内适用, 往往因同时损伤人体或组织器官和细胞的功能, 包括细胞的结构和代谢系统, 因此抗病毒的特异药物治疗一直是医学上的重要问题。抗病毒治疗在理论和实践上已取得不少进展。

病毒感染的预防主要依靠人工主动免疫方法。

一、病毒感染的治疗

药物治疗

根据病毒的复制规律, 设计不同的药物中断或抑制复制过程中的不同环节, 是抗病毒药物设计的主要策略。一种安全、有效的抗病毒药物必须具备的特性是药物能到达靶器官, 在细胞内外均有活性, 且代谢过程稳定, 抑制病毒增殖时不损伤宿主细胞功能。但因病毒与细胞功能的密切性和依赖性, 使药物有效而无副作用相当困难。由于副作用原因, 过去研制的许多药物大部分难以广泛应用。对抑制病毒基因复制和转录及蛋白转译的药物研制是开发抗病毒药物的热点, 并已取得不少进展。

(一) 核苷类药物

核苷类化合物是最早应用于临床的抗病毒药物。1959 年 Prusoff 合成 5'-碘 2-脱氧尿苷 (idoxuridine, IDU, 疱疹净), 1962 年 Kaufman 报道局部应用 IDU 治疗疱疹病毒引起的角膜炎获得成功, 并沿用至今, 被誉为抗病毒发展史上的里程碑。核苷类药物的作用机制有:

1. 抑制病毒基因复制 ①模拟核苷成分掺入病毒基因组: 合成的异常嘧啶取代病毒 DNA 前体的胸腺嘧啶, 病毒在复制过程中, 这种异常的嘧啶分子掺入子代 DNA 中, 使子代病毒结构基因的合成和表达无法进行, 从而抑制病毒的复制, 或复制出的病毒是有缺损的感染性病毒。IDU 属此类机制的抗病毒药。IDU 除掺入病毒的 DNA 外, 也可掺入细胞的 DNA, 抑制细胞 DNA 的合成, 故有一定副作用。②竞争病毒复制酶: 新一代的核苷类药物如无环鸟苷 (acyclovir, 阿昔洛韦) 及丙氧鸟苷 (ganciclovir, DHPG)。

是目前最有效的抗疱疹病毒药物之一，广泛用于治疗疱疹病毒感染，特别是单纯疱疹病毒。其作用机制是：药物进入细胞后，被疱疹病毒特异性胸苷激酶磷酸化成三磷酸型。此三磷酸型药物分子与 dGTP 有类似活性，但与疱疹病毒聚合酶有较高的亲和力，而与 dGTP 竞争，以代替合成病毒 DNA 所需的 dGTP，因而抑制病毒 DNA 的复制。由于在正常细胞中无环鸟苷基本无作用，仅在有病毒感染的细胞中有作用，对病毒复制有高度选择性，而对宿主细胞 DNA 的合成影响小，无环鸟苷抑制单纯疱疹病毒 I 型复制与抑制宿主细胞生长的浓度相差约 3 000 倍。因此除局部使用外，亦可用于注射，可减少疱疹病毒脑炎的死亡率和延长生存期。

2. 抑制病毒基因转录 在病毒复制的转录阶段有抑制作用的核苷类化合物有 2', 3' 二脱氧嘧啶核苷 (ddt), 2', 3' 二脱氧次黄嘌呤核苷 (ggI) 等。这类核苷类衍生物对人免疫缺陷病毒有明显的抑制作用。其作用机制是，药物分子模拟天然二脱氧核苷底物，经一系列磷酸化成为 5' - 三磷酸后，作为相似的底物竞争性抑制病毒逆转录酶活性。被磷酸化的药物分子与核苷酸分子相似，在 RNA 为模板合成 DNA 过程中被嵌入 DNA 中。此 DNA 再转录时，由于其中的药物分子不是正常核苷酸，因而转录酶不能识别，从而使转录受阻。3' - 叠氮 - 2', 3' 二脱氧胸腺嘧啶核苷 (AZT) 有抑制逆转录病毒作用，是最早用于治疗艾滋病的药物，但因有抑制骨髓作用和形成病毒的耐药性而面临被淘汰。此外，3 - 氮唑核苷 (ribavarin, 病毒唑) 对多种 RNA 和 DNA 病毒的复制有抑制作用，主要用于 RNA 病毒感染的治疗，但对细胞的核酸也有抑制作用。最近出现一种新的核苷类药物，简称 3TC，在临床应用中能成功地抑制艾滋病毒的复制。

(二) 蛋白酶抑制剂

尽管病毒的复制依赖于宿主细胞的酶系统，但有些病毒含有自身复制酶或转录酶以及后剪接加工修饰酶，例如乙型肝炎病毒含有 DNA 聚合酶，人类免疫缺陷病毒含有逆转录酶。现发现有的病毒还具有降解大分子病毒蛋白的酶。寻找抑制或阻断这些酶功能的药物，是抗病毒药物设计研究的一个方面。病毒自身的酶蛋白作为特异靶分子，有利于减少药物副作用，而增加药物的特异性和效力。通过基因工程技术表达获得的蛋白酶结晶，应用 X 线衍射技术和电脑模拟技术可寻找酶的活性位点 (靶位)，再设计药物与此靶位作用可实现抑制酶活性的作用。根据酶的结构已设计研制出针对逆转录酶和蛋白酶活性位点的抑制剂，证实有抑制病毒蛋白酶的作用，并已开发出产品和获准进行临床试验。华裔美国科学家用 3TC 加蛋白酶抑制剂联合治疗艾滋病，可较长期抑制病毒复制，这一方法称为“鸡尾酒”治疗方案，受到普遍重视。

(三) 天然药物

中医中药是世界医学的宝藏，中草药等天然药物的抗感染作用受到国内外的重视。在祖国医学中对有关病毒感染性疾病的治疗早有记载。迄今从中药内筛选出有抗病毒作用的天然药物多达 200 多种。例如黄芪、板蓝根、大青叶以及从天然花粉蛋白、甘草、大蒜等的提取物，其中甘草酸对多种病毒的 DNA 和 RNA 合成有抑制作用。天然药物的作用机制主要是调整或增强机体的免疫功能，其低毒性是重要特点。

基因治疗

抗病毒基因治疗主要有反义寡核苷酸和核酶基因治疗 (gene therapy)。

反义寡核苷酸 (antisense oligonucleotide, asON) 根据病毒基因组的已知序列, 设计能与病毒基因的某段序列互补的寡核苷酸 (oligonucleotide), 称为反义寡核苷酸 (antisense oligonucleotide, asON), 或反义核酸。反义寡核苷酸被介入感染的细胞内, 通过与病毒基因的某序列特异性结合, 从而抑制病毒的复制。反义寡核苷酸可在基因的复制、转录和转译阶段起抑制病毒的复制作用。寡核苷酸一般为 15 ~ 30 核苷酸序列的片段。用于与病毒核酸互补的这种寡核苷酸, 是 RNA 则为反义 RNA, 是 DNA 则为反义寡脱氧核苷酸 (antisense deoxyribonucleotide, asODN), 即反义 DNA。只要某病毒的基因组序列已知晓, 便可依据某区段序列设计出反义 RNA 或反义 DNA, 一般设计的寡核苷酸都是针对病毒基因中的某关键序列。例如 mRNA 的核糖体结合点 (ribosome binding site, RBS)。反义 RNA 与病毒靶基因的 mRNA 互补结合后, 可阻断病毒 mRNA 与核糖体结合, 从而抑制病毒蛋白的转译。反义 DNA 可与病毒 DNA 关键序列结合, 阻抑病毒 DNA 的复制和 RNA 转录。

核酶 (ribozyme) 核酶是继反义 RNA 之后的又一种抑制病毒基因的基因治疗剂, 是既能与靶基因序列结合又具酶活性的一类 RNA 分子。核酶一方面能识别特异的靶 RNA 序列, 并为之互补结合, 类似于反义核酸的特性。另一方面具有酶活性, 能通过特异性位点切割降解靶 RNA。因此设计核酶不仅要按照靶分子的序列, 还要按照结构特征。核酶通过切割病毒的基因组、mRNA, 减少或消除病毒的转录物, 从而抑制病毒的复制。(图 10-1)

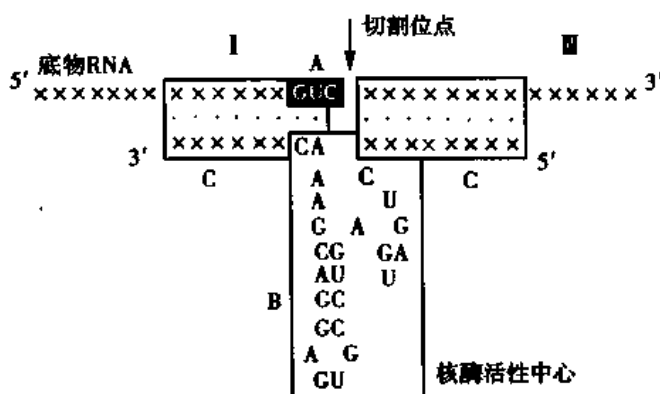


图 10-1 核酶结构示意图

基因治疗存在的主要问题是, 合成成本高, 分子易于被污染的核酸酶降解以及如何有效地到达和进入靶细胞。现今被批准进入临床研究的只有针对巨细胞病毒的反义核酸, 用于局部治疗巨细胞病毒性脉络膜炎及视网膜炎。

免疫治疗

免疫治疗病毒感染可应用特异性抗体、非特异性免疫调节剂和治疗性疫苗等。根据不同的病程, 早期应用中抗体, 可阻断病毒在体内血液中的扩散, 控制病情的发展。我国已用针对乙脑病毒包膜抗原的单克隆抗体, 治疗乙脑患者有效。鼠源单克隆抗体在体内存留时间不长, 并可引起超敏反应, 现国外均致力于研制人源单克隆抗体, 或研制重组表达人源抗病毒单克隆抗体。干扰素、干扰素诱生剂以及 IL-2、TNF 等细胞因子都具有抑制病毒的作用, 其中干扰素的临床作用较肯定。

二、病毒感染的预防

对病毒感染的药物治疗效果至今远不如对细菌感染的抗生素等的疗效, 因此对病毒

感染的预防十分重要。

(一) 人工主动免疫预防

人类在抗病毒感染的免疫预防实践中,应用疫苗接种对预防许多传染病起了重要作用。研究和发 展疫苗进行人工主动免疫一直是科学家们努力的主要方向。常用的病毒疫苗有死疫苗、减毒活疫苗、基因工程疫苗等。(表 10-3)

表 10-3 我国常用的病毒疫苗

疫苗名称	疫苗种类(培养细胞种类)	毒株来源
脊髓灰质炎疫苗	减毒活疫苗(人二倍体, Vero 细胞)	美国 Sabin I, II 型中 II ₁₇ , 中 II ₂ 株
麻疹疫苗	减毒活疫苗(鸡胚细胞)	沪 191, 长 ₄₇ 株
流行性腮腺炎疫苗	减毒活疫苗(鸡胚细胞)	上海 S ₇₉ 株
风疹疫苗	减毒活疫苗(人二倍体细胞)	北京 BRD II 株
甲型肝炎疫苗	减毒活疫苗(人二倍体细胞)	杭州 H ₂ 株, 上海-长春 L-A-1 株
人用狂犬病疫苗	灭活疫苗(地鼠肾细胞)	北京 aG 株
乙型脑炎疫苗	灭活疫苗(地鼠肾细胞)	北京 P ₃ 株
森林脑炎疫苗	灭活疫苗(地鼠肾细胞)	森长株
乙型肝炎疫苗	基因工程疫苗(酵母菌表达)	由美国 Merck 公司引进

这些疫苗中各有优缺点,其中减毒活疫苗和基因工程疫苗一直被重视。例如预防脊髓灰质炎病毒感染的温度敏感突变株减毒活疫苗的应用,已取得临床上的重大进展。

随着分子病毒学、分子免疫学和分子疫苗学的发展,利用各种不断快速发展和出现的生物新技术,通过研究保护性抗原表位及分子的空间构型及其与体液免疫应答和细胞免疫的关系,以力求发展新型疫苗。不断出现的一些新的疫苗,有模拟病毒表位合成肽疫苗、抗独特型疫苗、表达多种不同病毒中和抗原表位的联合多肽疫苗等。但这些疫苗免疫原性较低,还需要进行数种表位免疫原位之间的干扰或协同作用的研究,目前离商品化产品尚有一定距离。利用与人类病毒有交叉免疫性的动物病毒作为减毒活疫苗也是一个研究方向。我国学者白植生等研究的羊轮状病毒株与人轮状病毒杂交的减毒活疫苗已获准进行现场保护性试验。

基因工程疫苗 基因工程疫苗是现代生物工程的研究热点之一。其实质是体外基因的无性繁殖和表达过程。在明确病毒保护性抗原表位及其相应编码基因基础上,将保护性抗原基因片段克隆入表达载体,再转染原核微生物细胞或真核生物细胞(酵母菌等),使其表达病毒抗原蛋白。目前,已被广泛应用的只有乙型肝炎基因工程疫苗。在基因工程疫苗中,基于基因的重组技术,还产生了遗传重组疫苗和基因重组活疫苗。遗传重组疫苗是通过生物重组将野毒株的表面抗原基因与弱毒株的其他基因重组而产生的减毒活疫苗,例如处于研制中的流感病毒活疫苗、轮状病毒和汉坦病毒重组疫苗。重组活疫苗是以病毒或细菌为载体的活疫苗,即通过重组技术,使某些无害或弱毒病毒或细菌表达某种病毒抗原。这种重组活疫苗既可使机体获得与目的基因相关病毒的保护性免疫,载体病毒或细菌本身亦可刺激产生相应的免疫力。

近年出现的噬菌体表面展示技术(phage surface display techniques)对研究病毒等

微生物疫苗有重要价值。其原理是以噬菌体为载体，将外源目的基因插入噬菌体外壳基因中，利用噬菌体的复制增殖，使目的蛋白显露于噬菌体表面。此技术可用于分析蛋白质折叠的立体结构、氨基酸序列和分子识别，不仅在疫苗设计，在病毒药物设计、病原检测等多种生物技术方面都有重要意义。

核酸疫苗 包括 DNA 疫苗和 RNA 疫苗。核酸疫苗是将编码某种抗原蛋白的外源基因，即抗原的 cDNA 或 mRNA 与载体（如质粒 DNA）重组直接注入机体，使体细胞编码病毒抗原，并通过细胞 MHC 分子结合共同递呈后，在辅助因子的协同下诱导细胞免疫（Th 细胞和 CTL）和抗体应答，且维持应答的时间持久。由于核酸疫苗可诱导 CTL 产生，CTL 被认为是清除感染细胞的主要机制，故是一种具有重要前景的疫苗。某些病毒的核酸疫苗已进行了预防性疫苗的临床研究。在动物模型中已证实核酸疫苗具有预防效果，例如乙型肝炎和丙型肝炎核酸疫苗。核酸疫苗仍有某些方面待研究，例如安全性，是否会导致自身免疫病理，能否与宿主细胞基因组发生整合，以及应用于人体需要的核酸疫苗量极大等问题。

（二）人工被动免疫预防

在人群中，大多数人均受过不同种类的病毒的感染，因而含有较高效价的病毒抗体。从正常人血清中提取的免疫球蛋白可用于进行短期或紧急预防。例如怀孕的母体或诊断出有乙肝病毒感染的妇女在怀孕前，注射高效价的含乙肝病毒表面抗体的人免疫球蛋白有保护作用。血液中的乙肝病毒被抗体结合，则不能通过胎盘，因而可预防母婴传播，若与疫苗联合应用，效果更好。人血清免疫球蛋白可用于紧急预防甲肝、麻疹、脊髓灰质炎等疾病。

展 望

近 10 年来，细菌、病毒等病原体的微生物学诊断技术正在快速发展。微生物学诊断技术在很大程度上依赖于分子生物学、免疫学、生物化学和计算机科学的发展和渗透。随着微生物基因组测序的展开，分子生物学技术使微生物学检测手段出现重大进展。许多高质量的诊断试剂快速进入商品化，例如单克隆抗体、核酸杂交探针、PCR 引物等。但在细菌学诊断领域，对条件致病菌或正常微生物群引起的多种内源性感染的诊断方法有待于研究和探索。在病毒方面，对许多病毒和新发现病毒的分离培养与鉴定是一项重要任务。根据分子生物学技术的检测结果，据估计，在迄今人类细菌等微生物感染中，有 70% 以上未能诊断出，其中主要是由于无法分离培养。分子生物学诊断技术在应用上有待加强。

在微生物感染的防治上，迄今已取得不少进展，但在当今社会文明发展的高速进程中，人类仍面临着病原微生物的危害和挑战。在细菌方面，古老的结核、霍乱、痢疾等细菌性传染病至今未找到有效的疫苗。在发展中国家全球每年仅死于细菌性疾病的患者近 1 000 万。自 1929 年英国科学家 Fleming 发现青霉素以后，医学从此进入新纪元。然而细菌的耐药性问题愈来愈严重，使临床医生面对许多耐药细菌的感染举步维艰。在病毒方面，药物的特异治疗始终是科学家们艰苦探索的问题。对微生物感染性疾病的防治

实践依赖于理论的发展。现知微生物几乎均具有耐药、逃避免疫机制和抵抗环境毒力因子的能力。在进一步研究感染与免疫机制基础上，深入揭示微生物与人类宿主关系的本质，是防治微生物感染性疾病的关键。

(叶嗣颖)

第十一章 消毒与灭菌

微生物极易受外界条件的影响。若环境适宜，生长繁殖极为迅速；若环境变化过剧，微生物则因代谢障碍而生长受到抑制，甚至死亡。根据此现象，可采用多种物理、化学或生物学的方法来抑制或杀灭环境中的病原微生物，以切断传播途径，从而控制污染、感染或消灭传染病。另外，微生物学实验室和外科手术室等为防止微生物的污染或医院内获得性感染（hospital acquired infection，或 nosocomial infection），也需杀灭物品或器械上的微生物。以下术语常用于表示物理或化学方法对微生物的杀灭程度。

消毒（disinfection） 杀死物体上病原微生物的方法，并不一定能杀死细菌的芽胞。消毒所用的试剂称为消毒剂（disinfectant）。一般消毒剂在常用浓度下，只对细菌的繁殖体有效，对其芽胞则需提高消毒剂浓度及延长作用时间。

灭菌（sterilization） 杀灭物体上所有微生物的方法。灭菌比消毒要求高，包括杀灭细菌芽胞在内的全部病原微生物和非病原微生物。

抑菌（bacteriostasis） 抑制体内或体外细菌的生长繁殖。常用抑菌剂（bacteriostat）为各种抗生素，可在体内抑制细菌的繁殖，或在体外用于抑菌试验以检测细菌对抗生素的敏感性。

防腐（antisepsis） 防止或抑制体外细菌生长繁殖的方法，细菌一般不死亡。同一种化学药品在高浓度时为消毒剂，低浓度时常为防腐剂。

无菌（asepsis） 意为不存在活的微生物。防止细菌进入人体或其他物品的操作技术，称为无菌操作。例如外科手术时需防止细菌进入创口，微生物学实验中要注意防止污染和感染。

第一节 物理消毒灭菌法

消毒与灭菌的方法一般可分为物理学方法和化学方法两大类。用于消毒灭菌的物理因素有热力、紫外线、电离辐射、超声波、过滤、干燥和低温等。

一、热力灭菌法

高温对细菌具有明显的致死作用，因此最常用于消毒与灭菌。多数无芽胞细菌经 55~60℃作用 30~60min 后死亡。经 80℃湿热 5~10min 可杀死所有细菌繁殖体、真菌和酵母菌。细菌芽胞对高温有很强的抵抗力，例如炭疽芽胞杆菌的芽胞，耐受 5~15min 的煮沸，而肉毒梭菌的芽胞则需煮沸 3~5h 才死亡。

热力灭菌法分干热灭菌和湿热灭菌两大类，相同温度下，后者效力较前者大。这是

因为：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湿热的蒸气有潜热存在，水由气态变为液态时释放的潜热，可迅速提高被灭菌物体的温度。

(一) 干热灭菌法

干热的杀菌作用是通过脱水干燥和大分子变性而实现的。一般细菌繁殖体在干燥状态下，80~100℃经1h即被杀死；芽胞则需经160~170℃ 2h才死亡。

1. 焚烧 直接点燃或在焚烧炉内焚烧，是一种彻底的灭菌方法，但仅适用于废弃物或动物尸体等。

2. 烧灼 直接以火焰灭菌，适用于微生物学实验室的接种环、试管口等的灭菌。

3. 干烤 利用干烤箱灭菌，一般加热至160~170℃经2h。适用于高温下不变质、不损坏、不蒸发的物品，例如玻璃器皿、瓷器、玻璃注射器等的灭菌。

4. 红外线 是一种波长为0.77~1 000 μm 的电磁波，可因产生高热而发挥灭菌作用，其中1~10 μm 波长的热效应最强。但热效应只在照射表面产生，因此不能使物体均匀加热。红外线的杀菌作用与干热相似，利用红外线烤箱灭菌所需的温度和时间亦同于干烤。此法多用于医疗器械的灭菌。

(二) 湿热灭菌法

1. 巴氏消毒法 (pasteurization) 用较低温度杀灭液体中的病原菌或特定微生物，而仍保持物品中所需的不耐热成分不被破坏的消毒方法。此法由巴斯德创用以消毒酒类，故名。目前主要用于牛乳等消毒，有两种方法：一是62℃加热30min；另一为71.7℃经15~30秒，今广泛采用后者。

2. 煮沸法 在1个大气压下，水的煮沸温度为100℃，一般细菌的繁殖体煮沸5min被杀死，而其芽胞常需煮沸1~2h才被杀灭。此法常用于消毒食具、刀剪、注射器等。水中加2%碳酸钠，既可提高沸点达105℃，促进芽胞的杀灭，又可防止金属器皿生锈。

3. 流动蒸气消毒法 又称常压蒸气消毒法，是利用一个大气压下100℃的水蒸气进行消毒。细菌繁殖体经15~30min可被杀灭，但芽胞常不被全部杀灭。该法常用的器具是Arnold消毒器，我国的蒸笼具有相同的原理。

4. 间歇蒸气灭菌法 (fractional sterilization) 反复多次利用流动蒸气间歇加热以达到灭菌的目的。将需灭菌物置于流通蒸气灭菌器内，100℃加热15~30min，杀死细菌繁殖体；但芽胞尚残存。取出后置37℃孵箱过夜，使芽胞发育成繁殖体，次日再加热一次，如此连续3次以上，可达到灭菌效果。该法适用于一些不耐高热的含糖、牛奶等培养基。若有些物质不耐100℃，则可将温度降至75~80℃，每次加热时间延长至30~60min，次数增加至3次以上，也可达到灭菌目的。

5. 高压蒸气灭菌法 是一种最有效的灭菌方法。灭菌的温度取决于蒸气的压力。在一个大气压下，蒸气的温度是100℃。如果蒸气被限制在密闭容器中，随着压力的升高，蒸气的温度也相应升高。在103.4kPa (1.05kg/cm²) 蒸气压力下，温度达到121.3℃，维持15~20min，可杀灭包括细菌芽胞在内的所有微生物。高压蒸气灭菌器 (autoclave) 就是根据这一原理制成的，常用于一般培养基、生理盐水、手术敷料等耐高温、耐湿物品的灭菌。

二、辐射杀菌法

(一) 紫外线

波长 200 ~ 300nm 的紫外线（包括日光中的紫外线）具有杀菌作用，其中以 265 ~ 266nm 的杀菌作用最强，这与 DNA 的吸收光谱范围一致。紫外线主要作用于 DNA，使一条 DNA 链上相邻的两个胸腺嘧啶共价结合而形成二聚体，从而干扰 DNA 的复制与转录，导致细菌变异或死亡。紫外线穿透力较弱，普通玻璃、纸张、尘埃、水蒸气等均能阻挡紫外线，故只能用于手术室、传染病房、细菌实验室的空气消毒，或用于不耐热物品的表面消毒。杀菌波长的紫外线对人体皮肤、眼睛有损伤作用，使用时应注意防护。

(二) 电离辐射

包括高速电子、X 射线和 γ 射线等。在足够剂量时，对各种细菌均有致死作用。其机制在于产生游离基，破坏 DNA。电离辐射常用于大量一次性医用塑料制品的消毒；亦可用于食品的消毒，且不破坏其营养成分。

(三) 微波

是一种波长为 1mm ~ 1m 的电磁波，可穿透玻璃、塑料薄膜与陶瓷等物质，但不能穿透金属表面。消毒中常用的两种微波为 2 450MHz 与 915MHz，多用于检验室用品、非金属器械、无菌病室的食品食具、药杯及其他用品的消毒。

三、滤过除菌法

滤过 (filtration) 除菌法是用物理阻留的方法将液体或空气中的细菌除去，以达到无菌目的。所用器具是滤菌器 (filter)，滤菌器有微细小孔，只允许液体或气体通过，大于孔径的细菌等颗粒则不能通过。滤过法主要用于一些不耐高温灭菌的血清、毒素、抗生素以及超净工作台与层流室空气等的除菌。滤菌器的除菌性能，与滤器材料的特性、滤孔大小、静电作用等因素有关。滤菌器的种类很多，目前常用的有薄膜滤菌器、素陶瓷滤菌器、石棉滤菌器（亦称 Seitz 滤菌器）、烧结玻璃滤菌器等。

四、超声波杀菌法

不被人耳感受的、高于 20 千赫兹/秒的声波称为超声波。超声波可裂解多数细菌，尤其是革兰阴性菌更为敏感，但往往有残存活菌。目前超声波主要用于粉碎细胞，以提取细胞组分或制备抗原等。超声波裂解细菌的主要机制是它通过水时发生的空（腔）化作用，在液体中造成压力改变，应力薄弱区形成许多小空腔，逐渐增大，最后崩裂。崩裂时的压力可达 1 000 个大气压。

五、干燥及低温抑菌法

(一) 干燥

有些细菌的繁殖体在空气中干燥会很快死亡，例如脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、霍乱弧菌、苍白密螺旋体等。但有些细菌的繁殖体抗干燥能力较强，如溶血性链球菌在尘埃中存活 25d，结核分枝杆菌在干痰中数月不死。芽胞的抵抗力更强，如炭疽芽胞杆菌

的芽胞耐干燥 20 余年。干燥法主要用于保存食物，浓盐或糖渍食品可使细菌体内水分逸出，造成生理性干燥，使细菌的生命活动停止，因而可防止食物变质。

(二) 低温

低温状态下细菌的新陈代谢减慢，而当温度回升至适宜范围时，又能恢复生长繁殖，故低温常用作保存细菌菌种。低温保存细菌时，温度必须迅速降低，否则可致细菌死亡。冷冻时加入甘油、血清等保护剂可使细菌存活数增多。冷冻保存的细菌在解冻时，对其亦有损伤作用，为避免解冻时对细菌的损伤，可在低温状态下真空抽去水分，此法称为冷冻真空干燥法 (lyophilization)。该法是目前保存菌种的最好方法，一般可保存微生物数年至数十年。

第二节 化学消毒灭菌法

许多化学药物能影响微生物的化学组成、物理结构和生理活动，从而发挥防腐、消毒甚至灭菌的作用。消毒防腐剂对人体组织与病原微生物无选择性，吸收后对人体有害，只能外用或用于环境的消毒。

一、消毒剂的主要种类

(一) 根据消毒剂杀灭微生物作用的强弱分类

可分为高效、中效、低效 3 类。

1. 高效消毒剂 可以杀灭一切微生物，包括细菌芽胞。这类消毒剂有戊二醛、甲醛、环氧乙烷、过氧乙酸等。
2. 中效消毒剂 能杀灭除细菌芽胞以外的微生物，这类消毒剂有乙醇、含氯消毒剂、碘伏等。
3. 低效消毒剂 能杀灭细菌繁殖体和亲脂性病毒，对真菌也有一定作用，但不能杀灭细菌芽胞、结核杆菌和亲水性病毒。这类消毒剂有新洁而灭、洗必泰等。

(二) 根据化学消毒剂的杀菌机制不同分类

可分为以下 3 类。

1. 促进菌体蛋白质变性或凝固，例如酚类（高浓度）、醇类、重金属盐类（高浓度）、酸碱类、醛类；
2. 干扰细菌的酶系统和代谢，例如某些氧化剂、重金属盐类（低浓度）与细菌的—SH 基结合使有关酶失去活性；
3. 损伤细菌细胞膜，例如酚类（低浓度）、表面活性剂、脂溶剂等，能降低细菌细胞的表面张力并增加通透性，胞外液体内渗，致使细菌破裂。

(三) 根据消毒剂的化学结构与性质的不同分类

又可分为以下几类。

1. 酚类 石炭酸、来苏、洗必泰等酚类化合物，低浓度时破坏细菌细胞膜，使胞质内容物漏出；高浓度时使菌体蛋白质凝固。也有抑制细菌脱氢酶、氧化酶的作用。
2. 醇类 杀菌机制在于去除细菌胞膜中的脂类，并使菌体蛋白质变性。乙醇最常用，浓度为 70% ~ 75% 时杀菌力最强，更高浓度因能使菌体表面蛋白质迅速凝固影响

其继续渗入，杀菌效力反而减弱。异丙醇的杀菌作用比乙醇强，且挥发性低，但毒性较高。两者主要用于皮肤消毒和浸泡体温计等。

3. 重金属盐类 高浓度时易与带负电荷的菌体蛋白质结合，使之发生变性或沉淀，又可与细菌酶蛋白的—SH基结合，使其丧失酶活性。

4. 氧化剂 常用的有过氧化氢、过氧乙酸、高锰酸钾与卤素等。它们的杀菌作用是依靠其氧化能力，可与酶蛋白中的—SH基结合，转变为—SS—基，导致酶活性的丧失。过氧化氢在水中可形成氧化能力很强的自由羟基，破坏蛋白质的分子结构。过氧乙酸为强氧化剂，易溶于水，对细菌繁殖体和芽胞、真菌、病毒等都有杀灭作用，应用广泛；但稳定性差，易分解并有刺激性与腐蚀性，不适用于金属器具等的消毒。用于消毒的卤素有碘和氯两类，碘多用于皮肤消毒；氯多用于水的消毒。氯化物有漂白粉、次氯酸钙、次氯酸钠等。

5. 表面活性剂 又称去污剂，易溶于水，能降低液体的表面张力，使物品表面油脂乳化易于除去，故具清洁作用。并能吸附于细菌表面，改变胞壁通透性，使菌体内的酶、辅酶、代谢中间产物逸出，呈现杀菌作用。表面活性剂有阳离子型、阴离子型和非离子型三类。因细菌带负电，故阳离子型杀菌作用较强。阴离子型如烷基磺酸盐与十二烷基硫酸钠解离后带负电，对革兰阳性菌也有杀菌作用。非离子型对细菌无毒性，有些反而有利于细菌的生长，例如吐温 80 (tween 80) 对结核分枝杆菌具有刺激生长及使菌分散的作用。常用于消毒的表面活性剂有新洁尔灭、杜灭芬等。

6. 烷化剂 杀菌机制在于对细菌蛋白质和核酸的烷化作用，杀菌谱广，杀菌力强。常用的有甲醛、环氧乙烷和戊二醛等。甲醛与环氧乙烷的杀菌作用主要是取代细菌酶蛋白中氨基、羧基、巯基或羟基上的氢原子，使酶失去活性。戊二醛主要是取代氨基上的氢原子。环氧乙烷能穿透包裹物，对分枝杆菌、病毒、真菌和细菌芽胞均有较强的杀灭作用。缺点是对人体有一定毒性，且有些烷化剂如 β -丙脂等可能有致癌作用。

二、消毒剂的应用

(一) 患者排泄物与分泌物

粪、尿、脓、痰等，一般多以等量的 20% 漂白粉、5% 石炭酸或 2% 来苏，搅拌均匀，作用 2h 后倾去。

(二) 皮肤(手)

一般用 2% 来苏，当疑有肝炎病毒污染时，用 0.2% ~ 0.4% 过氧乙酸浸泡 1 ~ 2min 后，流水冲洗。此外，2.5% 碘酒、70% 乙醇、2% 红汞均可应用。

(三) 粘膜

新生儿预防淋病奈瑟菌性眼结膜炎可用 1% 硝酸银或 2% 蛋白银滴眼；口腔粘膜消毒可用 3% 过氧化氢；冲洗尿道、阴道、膀胱等可用 0.01% ~ 0.1% 洗必泰或 0.1% 高锰酸钾。

(四) 饮水

自来水用氯气，少量的饮用水可用漂白粉。

(五) 厕所、阴沟

可用生石灰，其有效成分是氢氧化钙。

(六) 空气

常用福尔马林（甲醛溶液）加热法：12.5~25ml/m³熏蒸 12~24h；或福尔马林混合高锰酸钾法：福尔马林 40ml 加高锰酸钾 30g/m³，熏蒸 12~24h；肝炎病房可用过氧乙酸 3g/m³熏蒸 90min。

(七) 玻璃、搪瓷、橡胶及金属器械

常用 1:200 稀释的“84”消毒液浸泡 30min，也可根据情况选用 0.5% 碘伏或 0.2%~1% 过氧乙酸浸泡。

常用消毒剂的选用参见表 11-1。

表 11-1 常用消毒剂的种类、使用浓度与用途

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% 石炭酸	地面、器具表面的消毒， 皮肤消毒
		2% 来苏	
		0.01%~0.05% 洗必泰	
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
		50%~70% 异丙醇	
重金属盐类	氧化作用、蛋白质 变性与沉淀、灭活 酶类	0.05%~0.1% 升汞	非金属器皿的消毒
		2% 红汞	
		0.1% 硫柳汞	皮肤消毒、手术部位消毒
		1% 硝酸银	
1%~5% 蛋白银	新生儿滴眼、预防淋病奈瑟 菌感染		
氧化剂	氧化作用、蛋白质 沉淀	0.1% 高锰酸钾	皮肤、尿道、蔬菜、水果 消毒
		3% 过氧化氢	创口、皮肤粘膜消毒
		0.2%~1% 过氧乙酸	塑料、玻璃器材消毒
		2.0%~2.5% 碘酒	皮肤消毒
		0.2~0.5ppm 氯	饮水及游泳池消毒
		10%~20% 漂白粉	地面、厕所与排泄物消毒
		0.5%~1.5% 漂粉精	地面、墙壁、家具消毒，饮水消 毒：0.3%~0.4%/kg
		0.2%~0.5% 氯胺	室内空气及表面消毒， 0.1%~1.2% 浸泡衣服
表面活性剂	损伤细胞膜、灭活 氧化酶等酶活性、 蛋白质沉淀	4ppm 二氯异氰尿酸钠	水消毒
		3% 二氯异氰尿酸钠	空气及排泄物消毒
		0.05%~0.1% 新洁尔灭	外科手术洗手，皮肤粘膜 消毒，浸泡手术器械
		0.05%~0.1% 杜灭芬	皮肤创伤冲洗，金属器械、 塑料、橡皮类消毒

续表

类别	作用机制	常用消毒剂	用途
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
		50mg/L 环氧乙烷	手术器械、敷料等消毒
		2%戊二醛	精密仪器、内窥镜等消毒
染料	抑制细菌繁殖,干 扰氧化过程	2%~4%龙胆紫	浅表创伤消毒
酸碱类	破坏细胞膜和细胞 壁,蛋白质凝固	5~10ml/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

第三节 影响消毒灭菌效果的因素

一、影响因素

绝大多数消毒剂浓度越高,越易杀死微生物;作用时间越长,杀灭微生物的机率也越大。浓度与作用时间是有关联的,浓度降低可用延长时间来补偿,但当浓度减低到一定限度后,即使再延长作用时间,也无杀菌作用。因此,消毒灭菌的效果受环境、微生物种类及消毒剂本身等多种因素的影响。

(一) 消毒剂的性质、浓度和作用时间

各种消毒剂的理化性质不同,对微生物作用的大小也有差异。例如表面活性剂对革兰阳性菌的杀灭效果比对革兰阴性菌好;龙胆紫对葡萄球菌作用较强。同一种消毒剂的浓度不同,其消毒效果也不同。绝大多数消毒剂在高浓度时杀菌作用大,当降至一定浓度时只有抑菌作用,但醇类例外,70%乙醇或50%~80%异丙醇的消毒效果最好。消毒剂在一定浓度下,对细菌的作用时间愈长,消毒效果也愈好。

(二) 微生物的种类与数量

同一消毒剂对不同微生物的杀菌效果不同,例如一般消毒剂对结核分枝杆菌的作用要比对其他细菌繁殖体的作用差;70%乙醇可杀死一般细菌繁殖体,但不能杀灭细菌的芽胞;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,消毒所需的时间就越长。消毒严重污染的物品时,必须增加消毒剂浓度和延长消毒时间。

(三) 温度与湿度

温度升高可提高消毒效果。例如2%戊二醛杀灭每毫升含 10^4 个炭疽芽胞杆菌的芽胞,20℃时需15min,40℃时为2min,56℃时仅1min即可。各种气体消毒剂都有其适宜的相对湿度范围,过高或过低都会降低杀菌效果。

(四) 酸碱度

消毒剂的杀菌作用受酸碱度的影响。例如戊二醛本身呈中性,其水溶液呈弱酸性,不具有杀芽胞的作用,只有在加入碳酸氢钠(呈碱性环境)后才发挥杀菌作用。而次氯

酸盐类在酸性条件下杀菌效果好。新洁尔灭的杀菌作用是 pH 愈低所需杀菌浓度愈高，在 pH 3 时所需的杀菌浓度，较 pH 9 时要高 10 倍左右。

(五) 有机物

环境中有机物的存在，如血液、痰液、食物残渣、粪便等，可以降低消毒剂杀灭微生物的作用。因有机物阻碍消毒剂与微生物的接触，也可中和或吸收一部分消毒剂，降低消毒剂杀菌功效。病原菌常随同排泄物、分泌物一起存在，这些物质对消毒灭菌的效果有影响。

(六) 化学拮抗物质

阴离子表面活性剂可以降低季胺盐类和洗必泰的消毒作用，因此不能将新洁尔灭等消毒剂与肥皂、阴离子洗涤剂合用。过氧乙酸、次氯酸盐会被硫代硫酸钠中和。金属离子存在时，消毒效果也有一定影响，可增强或减弱消毒作用。

二、注意事项

1. 根据待消毒物品的性能及病原微生物的特性，选择适当的消毒剂。
2. 严格掌握所用消毒剂的浓度、消毒时间与使用方法。
3. 使用新鲜配制的消毒液。因为许多消毒剂性质不稳定，贮存过程中浓度会逐渐降低，影响消毒效力。
4. 消毒液应于消毒过的清洁容器内贮放备用。
5. 待消毒物品须洗刷干净，去除油脂及血、脓等有机物后方可消毒。
6. 挥发性消毒液应贮放在有盖容器内，并定期测量比重。

展 望

在过去 20 年里，消毒与灭菌方法有了较快的进展，新型消毒剂与灭菌的方法不断问世。但由于新病原体及耐消毒剂菌株的出现，加上目前的医院感染也由过去的以革兰阳性球菌为主转变为以革兰阴性杆菌为主，机会致病菌感染的比例增大，消毒与灭菌工作仍要进一步重视。

(戚中田)

第十二章 医学微生物学概论

医学微生物学是一门与临床各科联系都非常密切的医学基础课程，是研究与人类生存有关的微生物的组成、性状、功能及其与人体相互关系的学科。具体地说，医学微生物学是研究寄居在人体体表和腔道粘膜表面的微生物与微生物、微生物与人体，以及微生物和人体与外界环境的相互依存和相互制约的学科；是研究微生态平衡（eubiosis）、生态失调（dysbiosis）和生态调整（ecological adjustment）的一门新兴学科。本章重点阐述的是寄居在人体体表与腔道粘膜表面的微生物群，其中在机体健康时无致病性者称为正常微生物群。他们既能拮抗病原菌生长，又对人体免疫系统有激活作用。但是，由于使用抗生素等因素使他们生长受抑，则出现微生态失调，甚至引起微生态失调症（二重感染）。另外，在使用激素类药物、病毒感染、外科手术等多种因素影响下，造成机体免疫功能下降时，会导致感染，故将其称为机会致病菌。机会致病菌引起的感染，目前有日益增多的趋势，是当前临床医疗实践中必须引起重视的课题。

第一节 正常微生物群

一、生物种群之间的关系

自然界中的生物极少单独存在，常以种群形式出现。各种不同的生物种群与周围环境共同形成生态系统。在长期演化过程中，形成以下不同的关系。

1. 共生（symbiosis）指两种或两种以上的生物处于同一环境生存，按生物间的得失关系，分为下列几种：

（1）中生（neuralism）：亦称无关共栖，指两种生物间不发生任何相互影响。常见于对营养要求根本不同的微生物，如人体上呼吸道各种微生物形成的正常微生物群之间就是中生关系。

（2）栖生（commensalism）：亦称偏利共栖，指两种生物共同生长时，一方受益，另一方不受任何影响。兼性厌氧菌在生长过程中消耗氧，使氧气压力下降，从而为专性厌氧菌的生长提供了理想的生活环境，专性厌氧菌从对方受益。专性厌氧菌在氧占优势的地方如口腔，就是靠这种栖生关系得以生存的。

（3）互生（synergism）：是指两种或两种以上共同生长的生物互相受益的专性关系。互生是有选择的。

（4）拮抗共生（antagonistic symbiosis）：是指两种生物共同生存时为获得能源、空间或有限的生长因子而发生的争夺现象。

（5）偏生（amensalism）：指两种生物共同生长时，一方产生抑制对方生长的因子，

前者本身不受不利的影响或反而受益。某些真菌能产生抗生素，抗生素能抑制或杀死其它微生物如细菌，但真菌的生长不受影响。

2. 寄生 (parasitism) 由宿主和寄生物两方面组成。一般说来，寄生物比宿主小，寄生物从宿主体内摄取营养成分。有的寄生物完全依赖宿主提供营养来源，称专性寄生，如病毒。病原生物中的寄生现象非常多见。

婴儿从母体分娩 1~2h 后即可从其体内分离出细菌。在成人，凡与外界接触或相通的部位皆有微生物或寄生虫存在，形成了人体的微生态环境。人体内生物群中多数形成对人体无害的共生关系，有的只在机体内短暂停留，有的则伴随人的终生。

二、正常微生物群及其分布

1. 正常微生物群 一个健康成人机体约由 10^{13} 个细胞组成，而人体体表及胃肠道，呼吸道等与外界相通的腔道粘膜表面栖居的细菌则达 10^{14} 个，即人体携带的细菌相当于人体细胞的 10 倍。这些微生物在长期的进化过程中和人形成共生关系。许多微生物对人不仅无害，而且有益。通常把这些在人体各部位经常寄居而对人体无害的微生物称为正常微生物群 (normal flora of microbe) 或正常菌群 (normal flora of bacteria)。

2. 分布 机体的多数组织器官在正常情况下是无菌的。正常微生物群中的细菌偶尔少量侵入血流和器官组织，可由机体天然防御机能如吞噬作用迅速消灭。人体的正常微生物群分布见表 12-1。人体各部分的正常菌群均各有特点，肠道内微生物生长最多的地方是盲肠，其 pH 一般在 5.0~7.5。耐酸的乳杆菌可分布在胃的没有腺体分泌的区域。在人的肠道内，厌氧菌占总数的 95% 以上，厌氧菌大约较需氧菌或兼性厌氧菌多一千倍。

表 12-1 人体各部位的正常菌群

部位	细菌种类
皮肤	葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、丙酸杆菌等
外耳道	葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、铜绿假单胞菌等
眼结膜	葡萄球菌、结膜干燥杆菌等
鼻咽腔	葡萄球菌、甲型链球菌、卡他摩拉球菌、流感嗜血杆菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、拟杆菌等
口腔	葡萄球菌、甲型链球菌、卡他摩拉球菌、大肠埃希菌、类白喉棒状杆菌、乳杆菌、梭菌、拟杆菌、消化球菌、消化链球菌等
肠道	大肠埃希菌、产气杆菌、变形杆菌、铜绿假单胞菌、肠球菌、葡萄球菌、产气荚膜梭菌、破伤风梭菌、拟杆菌、双歧杆菌、消化球菌、消化链球菌等
尿道	表皮葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、耻垢分枝杆菌等
阴道	乳杆菌、大肠埃希菌、类白喉棒状杆菌等

三、正常微生物群的生理作用

(一) 拮抗作用

正常微生物群，特别是在正常菌群中占绝对优势的厌氧菌对来自人体以外的致病菌

有明显的生物拮抗作用，阻止其在机体内定植 (colonization)，从而构成一道生物屏障。这种拮抗作用的机制主要是：①改变 pH：厌氧菌产生的脂肪酸降低环境中的 pH 与氧化还原电势，从而抑制外来菌的生长繁殖；②占位性保护作用：大多数正常微生物群的细菌与粘膜上皮细胞紧密接触，形成一层生物膜。如果这种生物膜受抗生素或辐射因素的损伤而被破坏，外来的病原菌就容易定植；③争夺营养：正常菌群由于数量大，在营养的争夺中处于优势；④抗生素与细菌素的作用：如大肠埃希菌产生的大肠菌素可抑制志贺菌的生长。

(二) 营养作用

正常微生物群影响人体物质代谢、营养转化与合成。除参与蛋白质、碳水化合物及脂肪的代谢及维生素的合成外，还参加胆汁代谢、胆固醇代谢及激素转化等过程。

(三) 免疫作用

机体的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。正常微生物群作为一种抗原刺激，使宿主产生免疫，从而限制了他们本身的危害性。乳杆菌和双歧杆菌对胃肠道粘膜抗感染免疫的激活作用具有重要意义。双歧杆菌诱导分泌型 IgA (sIgA) 的产生，双歧杆菌的可溶性物质或整个细菌能通过 M 细胞进入集合淋巴结，激活 Th2 细胞，产生大量的 IL-5，能活化集合淋巴结生发中心的 B 细胞，使其转化为浆细胞产生 sIgA，排列到肠道粘膜上。由于双歧杆菌含有肠道寄生菌共同抗原，因此 sIgA 能与大肠埃希菌为代表的肠内细菌反应，阻断了它们对肠道粘膜上皮的吸附和穿透。双歧杆菌能使单核巨噬细胞活性增强，双歧杆菌对固有层的 CD₄⁺ T 细胞有激活作用，进入集合淋巴结后使其增殖活化，产生 IFN_γ，激活巨噬细胞增强其吞噬作用，杀伤细胞内寄生菌和病毒。

(四) 抑癌作用

将等量亚硝氨基胍 (MNNG) 分别滴入无菌大鼠和普通大鼠结肠内，癌症的诱发率前者比后者高 2 倍。说明肠内菌群有抑制肿瘤发生的作用。至于究竟是哪些细菌具有抑癌作用，目前尚不十分清楚。但多数报告认为双歧杆菌和乳杆菌有抑制肿瘤的作用。这些细菌的抑癌作用机理，一方面与其能降解亚硝酸胺为仲胺和亚硝酸盐有关；另一方面可能与其能激活巨噬细胞、提高其吞噬能力也有重要关系。

四、人体各部位的微生态系

(一) 口腔微生态系

人的口腔有一个完整的生态系。它有适宜各种微生物定植的温度 (35℃ ~ 36℃)、湿度和营养源 (宿主的食物、唾液和龈液等)，给口腔内各种微生物生长繁殖和定居提供了非常适宜的环境和条件。

口腔链球菌 (*Oral streptococcus*) 是颊、硬鄂粘膜最常见的正常菌群成分，约占该部位可培养菌总数的 60%。缓症链球菌 (*S. mitis*) 又是口腔链球菌的主要菌群。唾液链球菌 (*S. salivarius*) 和革兰阳性丝状菌是舌背的优势菌。龈沟优势菌群是革兰阳性球菌和杆菌，约占可培养菌总数 70% 以上，也常从龈沟分离出厌氧韦荣球菌和口腔类杆菌。

唾液可培养菌总数为 $6 \times 10^9/\text{ml}$ ，唾液链球菌、口腔链球菌是唾液的优势菌群，约占 50% 左右，其中以唾液链球菌和缓症链球菌最多见。

口腔菌群的组成不仅在不同个体间有差异，在同一个体或同一部位相邻位点的差异也是明显的。所以口腔菌群组成的复杂性和多变性是成年期口腔的重要特征。

(二) 食管与胃微生态系

在人类，尚未发现食管上皮细胞上有原籍菌群。整个胃肠道菌群都存在膜菌群与腔菌群的区分。胃液的 pH 是控制胃中细菌生长的主要因素，胃内的微生物群落大部分是外籍菌。近年发现螺旋体和幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*)，因与上皮细胞保持密切的联系，可认为是原籍菌群，但与溃疡病等疾病的关系密切，故不属于正常菌群。

(三) 肠道微生态系

肠道是一组庞大的微生态系，不但层次复杂，微生物群生物量也相当庞大。人体携带的微生物主要在肠道，占人体总微生物量的 78.68%，粪便重量的 1/3 ~ 2/5 是微生物，见表 12-2。

表 12-2 健康人胃肠道微生物群的分布

部 位	微 生 物 群
咽、喉	链球菌、乳杆菌、奈瑟菌、其它
胃、十二指肠	乳杆菌、酵母菌
空肠、回肠	乳杆菌、链球菌、大肠埃希菌、其它
盲肠、结肠	双歧杆菌、拟杆菌、棒状杆菌、大肠埃希菌、其它

1. 小肠 哺乳动物的小肠可分为上、中、下三个生态环境，上部为十二指肠，中部为空肠、下部为回肠。这三个生态环境分别具有不同微生物群落，总菌数与各种群的活菌数都不同。小肠内容物的定量检测证明，从十二指肠到回肠末端，即回盲瓣以近，总菌数和活菌数是逐渐增加的。在回肠末端 pH 低，Eh 为阴性，利于专性厌氧菌生长，此处微生物最多，95% 以上是厌氧菌。

2. 大肠 大肠微生态系包括盲肠与结肠，两个生态环境比较接近，微生物群落也比较接近。粪便是肠道大生态系中的一个生态环境，有一个最大的微生物群落。粪便重量的 40% 是微生物，而且 90% 以上是活的。

肠道正常微生物群可分为三类：①致病性类型 菌数 $0 \sim 10^{4n}/\text{g}$ ，包括葡萄球菌、变形杆菌和假单胞菌等。在生态平衡时，这些菌数量小，不会致病，是必要组成部分。如果数量超出正常水平则可引起宿主发病。②共生性类型 菌数 $10^9 \sim 10^{11n}/\text{g}$ ，包括双歧杆菌、拟杆菌、优杆菌和消化球菌等。肠道正常菌群对宿主有益而无害的菌主要是专性厌氧菌，它们是生理性微生物，数量大，恒定存在。共生性微生物具有合成维生素、蛋白质，消化吸收，生物拮抗及免疫等生理作用，有保持宿主健康的作用。③中间性类型 菌数 $10^5 \sim 10^{8n}/\text{g}$ ，包括乳杆菌、大肠埃希菌、链球菌和韦荣球菌 (*veillonella*) 等。能产生毒素，促进老化，有生理作用和致病作用两方面，即具有潜在的有害性。

(四) 阴道微生态系

人的阴道有一个完整的微生态系。主要的常住菌有乳杆菌、表皮葡萄球菌、大肠埃希菌、梭状杆菌、粪链球菌等。主要的过路菌有金黄色葡萄球菌、肠杆菌、丙酸杆菌、消化链球菌、韦荣球菌等。健康妇女阴道排出物中，厌氧菌与需氧菌的比例为 5:1，活菌数为 $10^2 \sim 10^9/\text{ml}$ ，菌数可达 $8 \times 10^7/\text{ml}$ ，可分离出 16 种乳杆菌和 8 种真菌，其中常住真菌是白假丝酵母菌和可变拟杆菌。阴道毛滴虫属于过路原虫。常分离出疱疹病毒 - 2 型 (HSV - 2) 和巨细胞病毒。

乳杆菌细胞壁的多糖体或脂蛋白等，粘附在无腺体的阴道粘膜上皮细胞上。乳杆菌检出率高的个体，白假丝酵母菌、丙酸杆菌、棒状杆菌检出率也高，提示它们之间有共生关系。孕妇阴道菌群中大肠埃希菌、消化球菌、拟杆菌的检出率低，这有利于孕妇和胎儿在妊娠期间的卫生。孕妇中乳杆菌、白色念珠菌、丙酸杆菌等分离率都高于健康妇女，提示在分解糖原、保持阴道低 pH 环境中，它们起协同作用。乳杆菌与 B 族链球菌、大肠埃希菌、拟杆菌、金黄色葡萄球菌间有拮抗作用。乳杆菌能产生酸性生存环境和免疫激活作用。

(五) 呼吸道微生态系

在鼻中经常可分离到类白喉棒状杆菌与葡萄球菌，而不溶血链球菌与奈瑟球菌属、卡他摩拉球菌在健康人的鼻咽和扁桃腺上则很少检出。肺炎链球菌、溶血性链球菌及流感嗜血杆菌等具有致病潜能的细菌，在鼻咽和扁桃腺部位则较常发现。人的鼻窦是无菌的。气管和支气管在无感染存在时，只有少量的细菌。在健康人的呼吸道，尤其是细小支气管以下的部分，肺内和胸腔中是无菌存在的。上呼吸道、下呼吸道及其粘膜上皮细胞的菌量，存在有量的区别。在健康人的鼻液中平均存在着葡萄球菌 $1.6 \times 10^6/\text{ml}$ 、厌氧性乳杆菌类 $6.3 \times 10^6/\text{ml}$ ；而在健康人气管、支气管粘膜上则没有永久的细菌定居。

(六) 皮肤微生态系

在皮肤上主要常住微生物有葡萄球菌（包括表皮葡萄球菌）、丙酸杆菌、类白喉棒状杆菌 (diphtheroid bacilli) 和铜绿假单胞菌等。皮肤微生态系中优势种群是丙酸杆菌和表皮葡萄球菌，是最重要的常住菌。皮脂腺内寄生的丙酸杆菌可将皮脂中三酰甘油分解成游离脂肪酸，对皮肤表面的金黄色葡萄球菌、链球菌和白假丝酵母菌和皮肤癣菌有一定抑制作用。表皮葡萄球菌能分泌自溶酶，常住菌对此不敏感，但能溶解一些潜在致病菌与过路菌，它对保持常住菌的稳定性，维持微生态平衡起重要作用。皮肤表面微生物群落形成的生物屏障是第一道极其主要的保护屏障，有营养作用、参与皮肤细胞代谢、资助皮肤生理功能和自净作用。

第二节 微生态平衡与失调

一、微生态平衡

1. 微生态平衡 (microecubiosis) 是指在长期进化过程中形成的正常微生物群与其宿主生态环境的生理性动态平衡，也就是说正常微生物群的组成是变化的，宿主的生态

环境随着年龄、生理状态（如哺乳妊娠）等因素也发生变化，但是，当这些因素相对稳定时，正常微生物群的组成（包括种类与数量）都是稳定的。

微生态平衡包括正常微生物群在某一特定的生态环境中的定位、定性和定量等三个方面内容。

(1) 定位：是指某种正常微生物群存在的生态环境。在某一生态环境经常寄居的称为原籍菌，对人体多为有益的正常微生物群，如果转移向另一生态环境则变成外籍菌，就可能是有害的，如肠道中的大肠埃希菌侵入到腹腔就会引起化脓性炎症。

(2) 定性：是指正常微生物群的种类。在某一生态环境中正常微生物群的种类是相对稳定的，其组成包括细菌、支原体、螺旋体和真菌等所有的微生物群落的成员。

(3) 定量：是指正常微生物群的总菌数和各种群落成员的活菌数。优势菌（predominant bacteria）常常是决定微生态平衡的核心因素。肠道中厌氧菌占优势，如果下降或消失，就会导致微生态平衡的破坏。如在呼吸道查到少量大肠埃希菌是正常的，但如果占优势就会引起宿主发生疾病。

2. 评价 评价微生态是否平衡必须要考虑到综合性因素。

(1) 宿主因素：要参考人体发育阶段和生理功能的变化。如肠道微生物群在婴儿、青少年、成人和老年存在着有规律的动态变化。小儿在出牙时口腔链球菌的种类和数量都有改变。妊娠7~9个月口腔厌氧菌明显增加，与雌二酮分泌有关。

(2) 微生物因素：微生物的定量、定性与定位指标都是动态的平衡。生理性波动与病理性波动是交叉的。在分析所取得的指标时，要从宿主、外环境与微生物三者的相互作用综合考虑。如尿中查到大肠埃希菌，其数量达到 $10^5/\text{ml}$ 方有病理意义。

二、微生态失调

1. 微生态失调（microdysbiosis）是指正常微生物群与宿主之间、各种群落成员之间的平衡，在外界环境影响下，由生理性组合转变为病理性组合的状态称为微生态失调（microdysbiosis）。从医学微生物学的理论和实际出发，微生态失调可分为以下四类：

(1) 菌群失调：菌群失调是指在原生态环境内正常微生物群发生定量或定性的异常变化。其中正常菌群在组成上和数量上的异常变化则称为菌群失调。按其轻重程度分为：①一度失调只能从细菌定量检查上发现有变化，在临床上往往没有表现或只有轻微反应，不加治疗，即可自然恢复。②二度失调是不可逆的。在临床上多有慢性病的表现，例如慢性肠炎、慢性肾盂肾炎、慢性口腔炎或咽峡炎等。③三度失调表现为原来的正常菌群大部分被抑制，只有少数原来占劣势的菌种演变成优势菌，进而引起疾病。例如葡萄球菌及艰难梭菌（*Clostridium difficile*）引起的伪膜性肠炎（pseudomembranous colitis）等，其它如变形杆菌、铜绿假单胞菌、白假丝酵母菌、肺炎克雷伯菌及大肠埃希菌等，都可引起三度失调。三度失调引起的疾病亦称菌群交替症或二重感染。

(2) 定位转移：正常菌群由原定位的生态环境向周围转移，也称为横向转移。例如下消化道菌向上消化道的转移。小肠污染综合征就是明显的下消化道菌向上转移的一个例证。上呼吸道菌转移到下呼吸道，下泌尿道菌转移到肾盂，阴道菌转移到子宫输卵管

等，也是常见的定位转移。除横向转移外，许多正常菌群还可从表层向深层转移，侵犯粘膜上皮细胞、淋巴组织和网状内皮细胞系统。正常菌群寄居部位的改变称为异位寄生 (abnormal habitation)，进而可引起疾病。

(3) 血行感染：血行感染可出现在定位转移之前，也可出现在定位转移之后。血行感染可作为易位菌传播的一种途径，而血行感染本身又是一种易位感染。完全健康的人群中，大约有 4%~10% 的人有一过性菌血症。正常菌群的定位转移，血行途径具有重要意义，正常菌群进入血行虽然常见，但在正常情况下并不能形成感染，只有在身体衰弱免疫功能下降时才能发生感染。

(4) 易位病灶：正常微生物群在远隔的脏器或组织形成病灶。这样病例多与脓毒败血症连续发生或同时发生有关。

2. 微生态失调的诱发因素 主要有以下几个方面：

(1) 射线照射：人或动物在接受一定量放射物质与放射线照射后，吞噬细胞的功能与数量均下降，淋巴细胞功能减弱，血清的非特异性杀菌作用减少或消失，免疫应答能力明显遭到破坏，此时易发生微生态失调。微生物对照射的抵抗力明显大于其宿主，人或动物只要有数个 GY 就可产生病理作用，而细菌则需几百个 GY 才能损伤结构，而且微生物在照射后对抗生素耐药性提高，毒性亦增强。

(2) 使用抗生素：抗生素使用可以引起菌群失调。Ⅰ度失调是可逆的，Ⅱ度失调是慢性失调，临床表现为慢性炎症，如慢性结肠炎、慢性肾盂肾炎及慢性支气管炎等。Ⅲ度失调是急性失调或菌群交替症，临床表现为急性炎症，如白假丝酵母菌、铜绿假单胞菌等引起的局部炎症和全身感染。在抗生素的选择作用下，能提高正常微生物群对抗生素的耐药性。在肠道正常菌群中，耐药性传递是相当频繁的。如耐药性葡萄球菌、铜绿假单胞菌等正常微生物群常导致医院内感染。

(3) 外科手术：包括手术、整形、插管以及一切不利于宿主生理解剖结构的方法与措施，都有利于正常菌群的易位转移，因此在微生态失调的诱发因素中，外科治疗措施占有重要位置。

(4) 其他因素：包括医源性因素、使用免疫抑制剂、细胞毒性药物和激素等所有的能使机体免疫功能下降的因素。正常菌群突破机体免疫功能引起的感染称为内源性感染 (endogenous infection) 或自身感染 (autogenic infection)，例如肠道正常菌群中的脆弱拟杆菌 (*B. fragilis*) 和消化球菌等厌氧菌在微生态失调时，常可成为机会致病菌而引起内源性感染。

三、微生态失调的防治

根据微生态学的理论，在微生态失调的防治中必须采取综合性措施，主要应该注意以下的几个方面：

1. 保护好微生态环境，矫正微生态失调 首先应努力治疗宿主的疾病，如胃酸缺乏症和消化功能紊乱，治愈这些疾病，调整微生态失调才能奏效。

2. 增强机体免疫力 除改善营养不良状态外，对微生态失调的机体应科学地应用一些有免疫激活作用的调节剂。近年来应用卡介苗的胞壁酰二肽、奴卡氏放线菌的细胞

壁骨架都有提高机体非特异性免疫功能的作用。此外，双歧杆菌的免疫赋活作用最值得重视，双歧杆菌是一类无任何毒性的固有菌群，除了其活菌所具有的一系列生理作用外，其菌体成分还具有明显的免疫赋活作用。

3. 抗生素在微生态失调防治中的作用 在临床应用抗生素时应尽量维护和保持生态平衡。①抗生素要用药适量。能用小剂量抗生素解决问题就不用大剂量，往往大剂量抗生素会使耐药菌株形成或导致菌群失调。②有针对性的应用窄谱抗生素。能用窄谱抗生素治疗就不必用广谱抗生素。要根据药敏试验的结果选择用药，避免盲目使用抗生素。③尽量非经口用药。对全身感染或肠道外的局部感染最好非经口用药，这样可避免伤害肠道的正常菌群。④尽量保护厌氧菌。因为厌氧菌的数量占正常菌群的绝对优势，厌氧菌的存在常是维护微生态平衡的重要因素。

4. 生态防治 在发生肠道菌群失调后，在应用抗生素治疗的同时，应该及时用微生态制剂（microecological preparation）调整和恢复正常菌群。使用双歧杆菌、乳杆菌、肠球菌等活菌制剂，能恢复肠道正常菌群。近年来发现某些中药亦能增加或促进肠道正常菌群的生长。

微生态制剂包括正常微生物的优势种群和促进正常微生物群生长繁殖的物质。自从 MeЦHIKOB 提倡饮用酸牛奶以来，微生态制剂已被愈来愈多地用于菌群失调的预防和治疗。自 80 年代以来已相继研制了双歧杆菌（bifidobacterial）、乳杆菌（lactobacilli）以及肠球菌（enterococci）等一批活菌制剂投放市场，收到了较好的效果。新近的研究表明，某些寡糖（oligosaccharide）如乳糖、蔗糖及麦芽糖等和某些中药可以选择性地促进双歧杆菌、乳杆菌等有益的正常菌群生长而不被大部分其他肠道菌群利用，应用这些寡糖和某些中药作为微生态制剂比活菌制剂有更多优点。

第三节 机会性感染

传染性疾病的类型在近半个世纪发生了很大变化。传统感染类型通常是由于外源性的致病菌感染易感宿主（compromised host）而引起的，即传染病（infectious disease）。传染病尤其是烈性传染病现今大多数已得到控制。而现今的感染类型常由正常微生物群或生活环境中的机会性致病菌（opportunistic bacterium）所致，通称为机会性感染（opportunistic infection），主要因宿主的抗感染能力降低而发生，并随宿主抵抗力的改善而消失。所以，也可把机会感染理解为宿主依赖性感染（host dependent infection）。近年来，机会性感染已成为临床医学的一个新课题。

一、机会性致病菌及其主要特点

机会性致病菌是泛指能引起机会性感染的一类细菌，通常是正常微生物群和非致病性细菌。在细菌中以革兰氏阴性杆菌为多，尤以大肠埃希菌、克雷伯菌属、假单胞菌属等最常见。真菌中以白假丝酵母菌为最常见，也可见曲霉菌和毛霉菌。

（一）大肠埃希菌属（*E. coli*）

大肠埃希菌是肠道正常微生物群的主要成员，常为尿路、胆道、创伤和腹膜等处感

染的病因。对常用的新霉素、磺胺类、氯霉素、庆大霉素等抗生素易产生耐药性，对新近使用的合成青霉素类及头孢菌素类也出现了耐药菌株，值得密切注意。

(二) 克雷伯菌属 (*Klebsiella*)

从临床标本分离的克雷伯菌中，有产气克雷伯菌、爱氏克雷伯菌和肺炎克雷伯菌等。肺炎克雷伯菌除能引起肺炎外，也经常从血液、胆汁、脓、尿等检材中分离出来，对氨基苄青霉素等广谱合成青霉素有耐药性，这与它引起机会感染有一定关系。

(三) 铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*)

铜绿假单胞菌也是肠道微生物群之一，对多种抗生素有天然耐药性，是机会感染中仅次于大肠埃希菌和克雷伯菌属的重要细菌。

(四) 变形杆菌属 (*Proteus*)

变形杆菌自然界中分布广泛，为肠道中常居细菌，多从尿、脓汁、渗出液及痰液中检出。本属细菌中的普通变形杆菌、奇异变形杆菌对链霉素、氯霉素、四环素、头孢菌素类抗药性较强。

(五) 肠杆菌属 (*Enterobactera*)

肠杆菌是肠道和口腔常居微生物群中的成员，作为机会性致病菌常从尿路、胆道、呼吸道及其他部位分离出来，对氨基苄青霉素、头孢菌素类有耐药性。

(六) 洋葱假单胞菌 (*P. cepacia*)

此菌在自然界广泛存在，并且有以下两个特点，值得注意：①在较低营养环境（如蒸馏水、静注用生理盐水等）中生存或繁殖。由于菌体小，含菌量达 10^7 /ml 液体亦不混浊，故易被忽视；②对常用消毒剂洗必泰有抵抗力。如果用这类药物消毒器材或处理创伤局部，可因达不到消毒效果而发生感染。

(七) 沙雷菌属 (*Serratia*)

本菌对头孢菌素、广谱青霉素、红霉素、粘菌素等多种抗生素耐药，在自然界分布广，其致病多发生在有基础疾病的患者。

二、机会性感染与易感染性宿主

(一) 基础疾病与所致易感性宿主

1. 恶性肿瘤 使宿主易患机会性感染，尤以急性白血病时发病率最高。其次为恶性淋巴瘤和实体瘤。其原因是功能正常的白细胞数减少。

2. 胶原病 此病本身虽致免疫异常，但机会性感染主要因长期使用激素所致。

3. 代谢不全 肾和肝脏功能衰竭末期发生的感染是由于营养不良、贫血、粘膜抵抗力低下，以及免疫球蛋白的产生受到抑制所致。糖尿病时的易感染性增高与营养不良、酸中毒和中性粒细胞功能下降有关。

4. 移植术后 主要在肾脏移植术后发生，与术后应用免疫抑制剂有关。

5. 烧伤 烧伤合并感染的频率很高，因为烧伤可使局部和全身的抵抗力降低以及发生代谢紊乱。烧伤局部的感染可由多种机会性致病菌引起，并且导致败血症的机会也多。

(二) 医源性因素与所致易感染性宿主

1. 治疗基础疾病而进行的药物和射线治疗。其中以抗癌药、激素类药和射线治疗三者最为重要，这些因素均可造成宿主的免疫抑制。长期大量使用抗生素则可改变正常菌群的生理平衡而发生菌群交替症。

2. 外科手术可使局部和全身的抗感染能力低下，各种留置导管及人工呼吸机的使用等均能增加机会性感染的机会。

3. 各种临床诊查技术如内窥镜、活检、导管插入等均可增加细菌侵袭的机会。这些检查对健康机体虽无大影响，但对易感宿主则可成为诱发机会性感染的直接原因。

4. 老龄化人群，也可成为机会性感染的高危因素。

展 望

本章最重要的是肠道正常微生物群，近年来已经认识到它分为致病性类型、共生性类型、中间性类型三部分。其中双歧杆菌是无致病性的共生性类型中的代表性正常微生物群，而大肠杆菌则是介于致病与非致病的中间性类型的代表性正常微生物群。在数量上双歧杆菌是大肠杆菌的1000倍以上。促进双歧杆菌的生长，保持其肠道微生物群中优势菌的地位，对维护机体健康有重要意义。总之，和基因工程一样，医学微生物生态学也是现代生命科学的重要组成部分。在人类的生态防治中，已出现一批为调整生态平衡而设计和研制的活菌制剂和促进生长物质，并且已取得较好的效果。如何使机体保持最佳生态平衡，是学习医学微生物生态学的重要任务。

宿主的正常微生物群多了或少了也同样会引起疾病，这就是生态病。怎样防治人类生态病，使人类健康长寿也是微生物生态学的重要任务。在抗生素和免疫抑制剂应用日益普遍的今天，人们已认识到抗生素在恢复人体健康的同时，也带来菌群失调的阴影，而医用生态调节剂的出现给医学科学带来了又一次革命，应引起医药学的高度重视。它与其它药物不同，健康人也可应用，既能提高人类健康水平又能克服菌群失调的弊端。纵观现有的各种药物尚无能够替代抗生素作用的，但微生物调节剂却有此可能性。随着医学微生物生态学的发展，将会研制出更多的新型生态调节剂。21世纪是生物科学的世纪，也将是生态制剂的辉煌时代。

(周正任)

第十三章 呼吸道传播的微生物

经呼吸道传播的微生物是指一大类能侵犯呼吸道、引起呼吸道局部病变或仅以呼吸道为侵入门户、主要引起呼吸道以外组织器官病变的病原体。呼吸系统的常见病、多发病种类很多，但以微生物感染为最常见，占各系统之首。致病微生物包括病毒、细菌、支原体、衣原体等。本章将重点介绍发病率高、危害性大、经呼吸道传播的结核分枝杆菌、肺炎链球菌、流行性感胃病毒、呼吸道合胞病毒、肺炎支原体、肺炎衣原体等；简要介绍由于成功的计划免疫而基本得到控制的白喉棒状杆菌、百日咳鲍特菌、麻疹病毒等。着重介绍新现与再现经呼吸道传播的病原微生物的致病性及常用实验室检查方法。

第一节 结核分枝杆菌

结核分枝杆菌 (*M. tuberculosis*)，属分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)，是结核病的病原菌。分枝杆菌种类较多，可分为结核分枝杆菌、非结核分枝杆菌与麻风分枝杆菌三类。对人有致病性的结核分枝杆菌有人型、牛型、非洲型。可侵犯全身各器官，以肺结核最常见。结核病至今仍为重要的传染病之一，估计世界人口中有 1/3 感染结核分枝杆菌。据 WHO 报道，目前全球每年发现结核病病人约 800 万，其中 95% 的病人分布在发展中国家。亚洲每年约有 500 万新发现结核病人，至少有 300 万人死于该病。我国建国前结核病死亡率达 200 ~ 300 人/10 万，居各种疾病死亡原因之首。建国后人民生活水平提高，卫生状态改善，特别是开展了群防群治，儿童普遍接种卡介苗，结核病的发病率和死亡率大为降低。但应注意，近年来因 AIDS、吸毒、免疫抑制剂的应用、酗酒和贫困等原因，全球结核病疫情呈急剧上升趋势，结核病再次成为社会的严重公共卫生问题以及危害人民健康的疾病。

一、生物学性状

形态与染色 典型的结核分枝杆菌菌体细长、微弯，约 $1 \sim 4\mu\text{m} \times 0.4\mu\text{m}$ ，分枝状排列或聚集成团 (图 13-1A)。牛分枝杆菌则比较粗短。分枝杆菌属的细菌细胞壁脂质含量较高，约占干重的 60%，特别是有大量分枝菌酸 (mycolic acid) 包围在肽聚糖层的外面，可影响染料的穿入。革兰染色呈阳性，但不易着色，常用齐尼 (Ziehl - Neelsen) 染色法染色，即以 5% 石炭酸复红加温染色后可以着色，且用 3% 盐酸乙醇不易脱色，故又称抗酸杆菌 (acid-fast bacilli)。经美蓝复染后，分枝杆菌呈红色，而其他细菌和背景中的物质为蓝色。

近年在电镜下发现结核分枝杆菌在细胞壁外有一层较厚的透明区，即荚膜，常因制片而遭受破坏不易看到，若在制备电镜标本固定前用明胶处理，可防止荚膜脱水收缩。

荚膜对结核分枝杆菌有一定的保护作用。

结核分枝杆菌在体内、外经青霉素、环丝氨酸或溶菌酶诱导可影响细胞壁中肽聚糖的合成，异烟肼影响分枝菌酸的合成，巨噬细胞吞噬结核分枝杆菌后溶菌酶可破坏肽聚糖。上述因素均可导致其变为L型，呈颗粒状或丝状（图13-1B与C）。异烟肼影响分枝菌酸的合成，可变为抗酸染色阴性。这种多形态、多染色性在肺内外结核感染标本中常能见到。结核性脓肿和痰标本中甚至还可见到非抗酸性革兰阳性颗粒，过去称为Much颗粒。该颗粒在体内或细胞培养中能回复为抗酸性杆菌，故亦为L型。

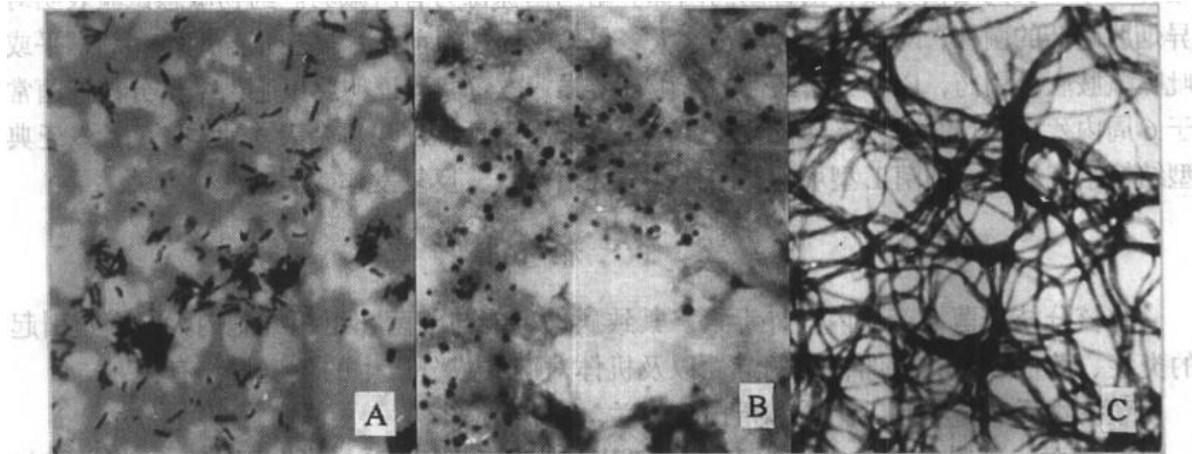


图13-1 结核杆菌

A. 结核分枝杆菌；B. 颗粒状；C. 丝状

×1000

培养特性 专性需氧。最适生长温度为37℃，低于30℃不生长。结核分枝杆菌细胞壁的脂质含量较高，影响营养物质的吸收，故生长缓慢。在一般培养基中每分裂1代需时18~24h，营养丰富时只需5h。初次分离需要营养丰富的培养基。常用的有罗氏（Lowenstein-Jensen）固体培养基，一般2~4周后出现肉眼可见菌落。菌落呈颗粒、结节或菜花状，乳白色或米黄色，不透明。在液体培养基中可能由于接触营养面大，细菌生长较为迅速，一般1~2周即可生长。临床标本检查液体培养比固体培养的阳性率高数倍。

抵抗力 结核分枝杆菌细胞壁中含有脂质，故对乙醇敏感，在70%乙醇中2min死亡。此外，脂质可防止菌体水分丢失，故对干燥的抵抗力特别强。粘附在尘埃上的细菌可保持传染性8~10d，在干燥痰内可存活6~8个月。结核分枝杆菌对湿热敏感，在液体中加热62~63℃15min或煮沸即被杀死。结核分枝杆菌对紫外线敏感，直接日光照数小时可被杀死，可用于结核患者衣服、书籍等的消毒。结核分枝杆菌的抵抗力与环境中有机物的存在有密切关系，如痰液可增强结核分枝杆菌的抵抗力。因大多数消毒剂可使痰中的蛋白质凝固，包在细菌周围，使细菌不易被杀死。

结核分枝杆菌对酸（3% HCl 或 6% H₂SO₄）或碱（4% NaOH）有抵抗力，15min 不受影响。可在分离培养时用于处理有杂菌污染的标本和消化标本中的粘稠物质。结核分枝杆菌对1:3000孔雀绿有抵抗力，加在培养基中可抑制杂菌生长。结核分枝杆菌对链

霉素、异烟肼、利福平、环丝氨酸、乙胺丁醇、卡那霉素、对氨基水杨酸等敏感，但长期用药容易出现耐药性；而吡嗪酰胺因能进入细胞内杀死胞内寄生的结核分枝杆菌，故其耐药性低于5%。

变异性 结核分枝杆菌可发生形态、菌落、毒力、免疫原性和耐药性等变异。卡介苗（BCG）就是 Calmette 和 Guerin 2 人（1908）将牛结核分枝杆菌在含甘油、胆汁、马铃薯的培养基中经 13 年 230 次传代而获得的减毒活疫苗株，现广泛用于预防接种。

结核分枝杆菌易产生耐药性。能在含 1 μ g 异烟肼、10 μ g 链霉素、50 μ g 利福平的固体培养基中生长的结核分枝杆菌称耐药菌株。耐药菌株毒力有所减弱。药物敏感试验表明对异烟肼耐药的菌株，对利福平和链霉素大多仍敏感。故目前治疗多主张异烟肼和利福平或吡嗪酰胺联合用药，以减少耐药性的产生，增强疗效。实验证明豚鼠感染结核分枝杆菌常于 6 周内死亡，且肝内见有粟粒性病灶；而感染 L 型后往往要百余天才死亡，病灶缺乏典型结核结节病变。细菌 L 型可能与结核病的久治不愈、反复发作或病情恶化有关。

二、致病性

结核分枝杆菌不产生内、外毒素。其致病性可能与细菌在组织细胞内大量繁殖引起的炎症、菌体成分和代谢物质的毒性以及机体对菌体成分产生的免疫损伤有关。

致病物质 与荚膜、脂质和蛋白质有关。

1. 荚膜 荚膜的主要成分为多糖，部分为脂质和蛋白质。其作用有：①荚膜能与吞噬细胞表面的补体受体结合，有助于结核分枝杆菌的粘附与入侵；②荚膜中有多种酶可降解宿主组织中的大分子物质，为入侵的结核分枝杆菌繁殖提供所需的营养；③荚膜能防止宿主的有害物质进入结核分枝杆菌，甚至如小分子 NaOH 也不易进入。故结核标本用 4% NaOH 消化时，一般细菌很快杀死，但结核分枝杆菌可耐受数十分钟；④结核分枝杆菌入侵后荚膜还可抑制吞噬体与溶酶体的融合。

2. 脂质 细菌毒力可能与其所含复杂的脂质成分有关，特别是糖脂更为重要。①索状因子：是分枝菌酸和海藻糖结合的一种糖脂。能使细菌在液体培养基中呈蜿蜒索状排列（图 13-2）。此因子与结核分枝杆菌毒力密切相关。它能破坏细胞线粒体膜，影响细胞呼吸，抑制白细胞游走和引起慢性肉芽肿。若将其从细菌中提出，则细菌丧失毒力；②磷脂：能促使单核细胞增生，并使炎症灶中的巨噬细胞转变为类上皮细胞，从而形成结核



图 13-2 结核分枝杆菌索状生长 $\times 1000$

结节；③硫酸脑苷脂（sulfatides）：可抑制吞噬细胞中吞噬体与溶酶体的结合，使结核分枝杆菌能在吞噬细胞中长期存活；④蜡质 D：是一种肽糖脂和分枝菌酸的复合物，可从有毒株或卡介苗中用甲醇提出，具有佐剂作用，可激发机体产生迟发型超敏反应。

3. 蛋白质 有抗原性，和蜡质 D 结合后能使机体发生超敏反应，引起组织坏死和全身中毒症状，并在形成结核结节中发挥一定作用。

所致疾病 传染源主要是排菌的肺结核病人（尤其是痰涂片阳性、未经治疗者的痰）。健康人吸入病人咳嗽、打喷嚏时喷出的带菌飞沫，结核分枝杆菌可通过呼吸道引起肺部感染。传播的次要途径是经消化道或皮肤损伤侵入易感机体，引起多种组织器官的结核病。肠道中因有大量正常菌群寄居，结核分枝杆菌必须通过竞争才能生存并和易感细胞粘附。肺泡中无正常菌群，故通过呼吸道引起肺结核较为多见。AIDS 患者因免疫力低下，致病力较差的鸟 - 胞内分枝杆菌（*M. avium - intracellulare*）感染常成为主要致死原因。

1. 肺部感染 由于感染菌的毒力、数量、机体的免疫状态不同，肺结核可有以下两类表现。

(1) 原发感染：多发生于儿童及未受过感染的成人。结核分枝杆菌进入肺泡后即被巨噬细胞吞噬，由于该菌有大量脂质，可抵抗溶酶体酶而在其中生长繁殖，导致巨噬细胞裂解，释放出大量的细菌引起炎症，称为原发灶。初次感染的机体因缺乏特异性免疫，结核分枝杆菌常经淋巴管到达肺门淋巴结，引起肺门淋巴结肿大，称原发综合征。此时，可有少量结核分枝杆菌进入血液，向全身扩散，但不一定有明显症状（称隐性菌血症）；与此同时灶内巨噬细胞将特异性抗原递呈给周围淋巴细胞。感染 3~6 周，机体产生特异性细胞免疫，同时也出现超敏反应。病灶中结核分枝杆菌的细胞壁磷脂，一方面刺激巨噬细胞转化为上皮样细胞，另一方面抑制蛋白酶对组织的溶解，使病灶组织溶解不完全，产生干酪样坏死，进一步形成结核结节。感染后约 5% 可发展为活动性肺结核。其中少数患者因免疫低下，可经血和淋巴系统，播散至骨、关节、肾、脑膜及其他部位引起相应的结核病。90% 以上的原发感染形成纤维化或钙化，不治而愈。但病灶内常仍有一定量的结核分枝杆菌长期潜伏，不但能刺激机体产生免疫，也可成为日后内源性感染的来源。

(2) 原发后感染：病灶亦以肺部为多见。病菌可以是外来的（外源性感染）或原来潜伏在病灶内（内源性感染）。由于机体已有特异性细胞免疫，因此原发后感染的特点是病灶多局限，一般不累及邻近的淋巴结，也不易发生全身性播散，而在感染局部发生剧烈组织反应，纤维素可包围干酪样坏死灶，可钙化而痊愈。如干酪样结节破溃，排入邻近支气管，则可形成空洞并释放大量结核分枝杆菌至痰中。

典型肺结核起病缓慢，病程经过较长，有低热、乏力、盗汗、食欲不振、体重减轻、咳嗽和少量咯血。但多数患者病灶轻微，常无明显症状，经 X 线健康检查时被发现，但在病程中可追溯到轻微的毒性症状。

近年来报道“无反应性结核”，即病灶中可见有形态不典型的抗酸菌却未见典型结核结节情况，这是由于结核分枝杆菌 L 型缺少细胞壁脂质成分，不能刺激结节形成，而仅有淋巴结肿大和干酪样坏死。临床上对此应予注意，以防漏诊与误诊。

2. 肺外感染 部分患者结核分枝杆菌可进入血液循环引起肺内、外播散，如脑、肾结核；痰菌被咽入消化道也可引起肠结核、结核性腹膜炎等。大量实验证明，血中播散的结核分枝杆菌的性状大多不典型，而是一种不易生长的 L 型。

三、免疫性

免疫机制 人类对结核分枝杆菌感染率很高，但发病率较低，这表明人群对结核分枝杆菌有相当强的免疫力。结核分枝杆菌是兼性胞内寄生菌 (facultative intracellular parasite)，其免疫主要是以 T 细胞为主的细胞免疫。机体对结核分枝杆菌虽能产生抗体，但抗体无明显保护作用，只能起一定辅助作用。肺泡中未活化的巨噬细胞抗菌活性弱，不能杀死所吞噬的结核分枝杆菌，反可将结核分枝杆菌带到他处，但可递呈抗原，使周围 T 淋巴细胞致敏。致敏淋巴细胞可产生多种细胞因子，如 IL-2、IL-6、IFN- γ ，他们与 TNF- α 的共同作用可杀死病灶中的结核分枝杆菌。细胞因子中 IFN- γ 是主要的，有多种细胞能产生 IFN- γ ，浸润的先后为 NK、 γ/δ T 和 CD4⁺ 或 CD8⁺ α/β T 细胞，其中 γ/δ T 细胞在感染早期即大量增殖。上述细胞有的可直接杀伤靶细胞，有的产生淋巴因子激活巨噬细胞，使吞噬作用加强引起呼吸暴发，导致活性氧中介物和活性氮中介物的产生而将病菌杀死。近年来注意到 γ/δ T 细胞攻击的主要是分枝杆菌中的一种热休克蛋白 (heat shock protein, HSP)。

结核的免疫属于感染免疫 (infectious immunity)，又称有菌免疫，即只有当结核分枝杆菌或其组分存在体内时才有免疫力。一旦体内的结核分枝杆菌或其组分全部消失，免疫也随之不存在。

免疫与超敏反应 随着机体对结核分枝杆菌产生保护作用的同时，也可以看到有迟发型超敏反应的产生，二者均为 T 细胞介导的结果。从郭霍现象 (Koch phenomenon) 可以看到，将结核分枝杆菌初次注入健康豚鼠皮下，10~14d 后局部溃烂不愈，附近淋巴结肿大，细菌扩散至全身，表现为原发感染的特点。若以结核分枝杆菌对以前曾感染过结核的豚鼠进行再感染，则于 1~2d 内局部迅速产生溃烂，易愈合，附近淋巴结不肿大，细菌亦很少扩散，表现为原发后感染的特点。可见再感染时溃疡浅、易愈合、不扩散，表明机体已有一定免疫力。但再感染时溃疡发生快，说明在产生免疫的同时有超敏反应的参与。近年来研究表明结核分枝杆菌诱导机体产生免疫和超敏反应的物质不同。超敏反应主要由结核菌素蛋白和蜡质 D 共同引起，而免疫则由结核分枝杆菌核糖体 RNA (rRNA) 引起。二种不同抗原成分激活不同的 T 细胞亚群释放出不同的细胞因子所致。

结核菌素试验 在结核分枝杆菌的感染中，感染、免疫、超敏反应三者同时存在，因而可以通过检测机体对结核菌素的超敏反应来了解机体对结核分枝杆菌的细胞免疫水平。结核菌素试验是应用结核菌素进行皮肤试验来测定机体对结核分枝杆菌是否存在第 IV 型超敏反应的一种体内试验。

1. 结核菌素试剂 一种为旧结核菌素 (old tuberculin, OT)。系将结核分枝杆菌接种于甘油肉汤培养基，培养 4~8 周后加热浓缩过滤制成。其中主要成分是结核菌蛋白，稀释 2 000 倍，每 0.1ml 含 5 单位。另一种为纯蛋白衍化物 (purified protein derivative, PPD)，是 OT 经三氯醋酸沉淀后的纯化物。目前主要采用 PPD。PPD 有两种：人结核分枝杆菌制成的 PPD-C 和卡介苗制成的 BCG-PPD。每 0.1ml 含 5 单位。

2. 试验方法与意义 常规试验分别取 2 种 PPD 5 个单位注射两前臂掌侧皮内，

48~72h后红肿硬结超过5mm者为阳性， $\geq 15\text{mm}$ 为强阳性，对临床诊断有意义。若PPD-C侧红肿大于BCG-PPD侧为感染。反之，BCG-PPD侧大于PPD-C侧，可能系卡介苗接种所致。

阴性反应表明未感染过结核分枝杆菌，但应考虑以下情况：①感染初期，因结核分枝杆菌感染后需4周以上才能出现超敏反应；②老年人；③严重结核患者或正患有其他传染病，如麻疹导致的细胞免疫低下；④获得性细胞免疫低下，如AIDS或肿瘤等用过免疫抑制剂者。为排除假阴性，国内有的单位加用无菌植物血凝素（PHA）针剂，0.1ml含 $10\mu\text{g}$ 作皮试。若24h红肿大于PHA皮丘者可考虑为细胞免疫正常，若无反应或反应不超过PHA皮丘者为免疫低下。

3. 实际应用 ①选择卡介苗接种对象和测定卡介苗接种的免疫效果。结核菌素试验阴性者应接种或补种卡介苗；②婴幼儿（尚未接种卡介苗者）结核病诊断的参考；③测定肿瘤病人的细胞免疫功能；④对未接种卡介苗的人群作结核分枝杆菌感染的流行病学调查。

四、微生物学检查法

结核病的症状和体征往往不典型，虽可借助X线摄片诊断，但确诊仍有赖于细菌学检查。

标本 标本的选择根据感染部位而定。可取痰、支气管灌洗液、尿、粪、脑脊液（CSF）或胸、腹水。其他肺外感染可取血或相应部位分泌液或组织细胞。

直接涂片镜检 标本直接涂片或集菌后涂片，用抗酸染色。若找到抗酸阳性菌即可初步诊断。为加强染色，可将标本用石炭酸复红染色过夜，用0.5%盐酸乙醇脱色30秒，则包括大多结核分枝杆菌L型也可着色。为提高镜检敏感性，也可用金胺染色，在荧光显微镜下结核分枝杆菌呈显金黄色荧光。

浓缩集菌 先集菌后检查，可提高检出率。培养与动物试验也必须经集菌过程以除去杂菌。CSF和胸、腹水无杂菌，可直接离心沉淀集菌。痰、支气管灌洗液、尿、粪等污染标本需经4% NaOH（痰和碱的比例为1:4，尿、支气管灌洗液和碱的比例为1:1）处理15min，时间过长易使结核分枝杆菌L型与非结核分枝杆菌死亡。尿标本先加5%鞣酸、5%乙酸各0.5ml于锥形量筒内静置，取沉淀物处理。处理后的材料再离心沉淀。取沉淀物作涂片染色镜检。若需进一步作培养或动物接种，应先用酸中和后再离心沉淀。

分离培养 将经中和集菌材料接种于固体培养基，器皿口加橡皮塞于 37°C 培养。结核分枝杆菌生长缓慢，一般需2~4周长成肉眼可见的菌落。液体培养可将集菌材料滴加于含血清的培养液，则可于1~2周在管底见有颗粒生长。取沉淀物作涂片，能快速获得结果，并可进一步作生化、药敏等测定和区分结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌。国内学者已证明结核分枝杆菌L型可存在于血细胞内或粘附于细胞表面。这种患者往往血沉加快，用低渗盐水溶血后立即接种高渗结核分枝杆菌L型培养基能提高培养阳性率。

动物试验 可用于结核分枝杆菌的分离和毒力测定。此法敏感可靠，但手续繁琐，不能列为常规检查。常用的动物为豚鼠，易感性高。将集菌后的材料注射于豚鼠腹股沟

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。观察肺、肝、淋巴结等器官有无结核病变，并作形态、培养等检查。若6~8周仍不见发病，也应进行解剖检查。

快速诊断 一般涂片检查菌数需 $5 \times 10^3 \sim 4$ /ml，培养需 1×10^2 /ml，标本中菌数少于此数时不易获得阳性结果，且培养需时较长。目前已将 PCR 技术应用于结核分枝杆菌 DNA 鉴定，每 ml 中只需含几个细菌即可获得阳性，且 1~2d 得出结果。操作中既要注意实验器材的污染，以免出现假阳性，又要解决 L 型细菌细胞膜代偿性增厚，常用的溶菌酶不能使细胞膜破裂释出 DNA，以致造成假阴性的问题。结核分枝杆菌抗体检测试剂已应用。有条件的单位可使用 BACTEC 法，以含 ^{14}C 棕榈酸作碳源底物的 7H₁₂ 培养基，测量在细菌代谢过程中所产生的 ^{14}C 量推算出标本中是否有抗酸杆菌，5~7d 就可出报告。芯片技术已应用于结核分枝杆菌耐药性的检测。

近年来国内外研究证明临床各种类型的肺结核患者中 40% 左右分离出 L 型。经治疗的结核病人细菌型消失，L 型常持续存在。空洞患者痰中已不排细菌型者，8% 左右仍可检出 L 型。故有学者建议将多次检出 L 型亦作为结核病活动判断标准之一，需细菌型与 L 型均转阴才能作为痰阴性。

五、防治原则

预防 近 20 年国际组织提出控制结核病主要方法有：①发现和治理痰菌阳性者；②新生儿接种卡介苗，约 80% 获得保护力。较大儿童接种前需作结核菌素试验，阴性者接种。一般在接种后 6~8 周结核菌素试验转为阳性，表示接种者已产生免疫力，阴性者应复种。阳性反应可维持 5 年左右。目前我国结核病死亡率为 19/10 万，为其他传染病之和的 2 倍。卫生部要求 2000 年新生儿卡介苗接种率达 90%，以减少发病。卡介苗在我国的免疫效果较好，但在美国等西方国家已不对儿童进行普遍接种。

卡介苗是活疫苗，疫苗内活菌数直接影响免疫效果，故目前已有冻干疫苗供应。新的核糖体 RNA (rRNA) 疫苗已引起关注，但尚处在试验阶段。

治疗 利福平、异烟肼、乙胺丁醇、链霉素为第一线药物。联合应用抗结核药物能发挥协同作用，降低耐药性的产生。常把利福平与异烟肼合用，对严重感染，将吡嗪酰胺与利福平及异烟肼合用。1g 干酪灶或空洞约含结核分枝杆菌 $10^6 \sim 10^{10}$ ，每 $10^5 \sim 10^6$ 菌可有 1 种耐药突变产生，对 2 种耐药需要 10^{11} 菌，故以 2 药联合应用为宜。使用前应参考药敏试验结果。

第二节 肺炎链球菌

肺炎链球菌 (*S. pneumoniae*) 在自然界广泛分布，常寄居于正常人的鼻咽腔中，形成带菌状态，在机体抵抗力下降时引起疾病。此菌主要引起大叶性肺炎，约占细菌性肺炎的 80%。

一、生物学形状

形态与染色 本菌为革兰阳性球菌，菌体呈矛头状，宽端相对，尖端向外，常成双

排列，在患者痰或脓汁中可见短链排列。无鞭毛，也不形成芽胞。毒力菌株在机体内形成较厚的荚膜，人工培养后荚膜消失。

培养特性及生化反应 兼性厌氧，营养要求高，在含有血液或血清的培养基上才能生长，血平板上肺炎链球菌菌落与甲型溶血性链球菌菌落相似，即菌落细小、圆形、较扁平、表面光滑，菌落周围有草绿色（ α ）溶血环。培养时间稍久因细菌产生自溶酶，菌体溶解，故血平板上的菌落中间下陷呈“脐形”。在血清肉汤中呈混浊生长，培养稍长时也因细菌自溶而使培养液又变澄清。自溶酶可被胆盐或胆汁等物质激活，加速细菌溶解，故可用胆汁溶菌试验与甲型链球菌相区别；肺炎链球菌能分解菊糖这点也可作为与甲型链球菌相区别的依据。

抗原构造 肺炎链球菌除含有非特异菌体核蛋白抗原之外，还有：

1. 荚膜多糖抗原 该抗原是一种可溶性物质，存在于细菌荚膜中，具有型特异性。用凝集反应、沉淀反应或荚膜肿胀试验可将肺炎链球菌分为 90 个型别，其中 1~3 型致病力较强。

2. 其他抗原 肺炎链球菌含有 M 蛋白和 C 多糖。M 蛋白质各型彼此不同，而 C 多糖则为各型肺炎链球菌所共有，可与血清中一种正常蛋白质出现沉淀反应。此种正常蛋白质称为 C 反应蛋白（C reactive protein, CRP），在炎症的活动期（如风湿病）含量增多。

二、致病性和免疫性

肺炎链球菌的致病物质主要是荚膜。荚膜有抗吞噬作用，是肺炎链球菌的主要侵袭力。有荚膜的菌株才能引起人和实验动物致病，无荚膜菌株均为无毒株。此外蛋白粘附素、SIgA 蛋白酶和肺炎链球菌溶血素与肺炎链球菌在鼻咽部和支气管粘膜上的定居、繁殖和扩散有关。正常情况下，机体对寄居于上呼吸道的肺炎链球菌具有强大的自然抵抗力而不致病。但当机体抵抗力低下，特别是伴有病毒感染、吸入麻醉、肺水肿、胸部外伤及受凉等因素使局部抵抗力低下时，肺炎链球菌由上呼吸道侵入，经支气管到达肺组织，在肺泡内大量繁殖，引起中性粒细胞浸润、红细胞和纤维素渗出而导致大叶性肺炎（lobar pneumonia）。

肺炎链球菌除主要引起人的大叶性肺炎外，还可继发胸膜炎、脓胸、急性或慢性支气管炎、鼻窦炎、中耳炎和儿童的化脓性脑膜炎等。

肺炎链球菌感染后机体产生荚膜多糖抗体，有调理作用，建立较牢固的型特异性免疫。

三、微生物学检查法

直接涂片染色镜检 除血液外，痰液、脓汁、脑脊液等其他标本可直接涂片、革兰染色镜检。如发现典型带有荚膜的革兰阳性双球菌，结合临床症状可作出初步诊断。

分离培养与鉴定 将标本接种于血琼脂平板上分离培养后，挑取草绿色溶血菌落，则可进一步作胆汁溶菌试验与菊糖发酵试验，以便与甲型链球菌相区别。血液、脑脊液标本须先用血清肉汤增菌后再分离。

动物试验 小鼠对肺炎链球菌敏感，必要时可将标本接种小鼠腹腔，待其濒死时剖

检,取心血或腹腔液涂片、染色、镜检,并做分离培养与鉴定;也可用鼠腹腔液做荚膜肿胀试验。

四、防治原则

肺炎链球菌多价荚膜多糖疫苗可预防肺炎链球菌所致的肺部感染,对预防儿童中耳炎及一些高危人群感染也有一定的效果。治疗常用磺胺类药物及青霉素。

第三节 军团菌属

1976年在美国费城召开全美退伍军人会议,期间暴发流行一种严重肺炎,与会者149人,有34人死亡。从死者肺组织中分离到一种新菌,命名为军团菌。经研究确认其病原体来自空调器冷却水中,所致疾病称为军团病(legionellosis)。军团菌属(*Legionella*)包括39个种和61个血清型,从人体分离的已有19种,其中主要致病菌为嗜肺军团菌(*L. pneumophila*)。此节主要介绍嗜肺军团菌。

一、生物学形状

形态与染色 大小为 $0.5 \sim 1.0\mu\text{m} \times 2.0 \sim 5.0\mu\text{m}$ 的革兰阴性杆菌,常规染色不易着色,多用镀银法或Giemsa法染色,分别染成黑褐色和红色。有端生或侧生鞭毛和菌毛,无芽胞,有微荚膜。

培养特性 专性需氧,多数菌株在 $2.5\% \sim 5\% \text{CO}_2$ 环境中生长良好,最适生长温度为 36°C ,营养要求较特殊,且生长缓慢,初次分离需L-半胱氨酸,培养基中含铁盐可促进生长。在活性炭-酵母浸出液琼脂(BCYE)培养基中,3~5d形成1~2mm,圆形凸起,灰白色有光泽的菌落。在F-G(Feeley-Garman)琼脂培养基中,3~5d培养可见针尖大小菌落,在紫外线照射下可发出黄色荧光。并有特殊臭味。在富含L-酪氨酸-苯丙氨酸琼脂平板上产生棕色水溶性色素。触酶阳性,氧化酶阳性,能分解马尿酸盐。

抗原构造与分型 嗜肺军团菌含O和H抗原,根据O抗原不同分15个血清型,其中1型就是1976年军团病的病原菌。在我国较多见的为1型(L_{p1})和6型(L_{p6})。 $L_{p1} \sim 10$ 血清型都具有29kDa外膜蛋白成分,此成分是机体应答反应的主要免疫原。

抵抗力 嗜肺军团菌在自然界的水体中广泛存在,如潮水、溪水、空调、制冷水塔、淋浴头等供水系统中及辅助呼吸机所产生的气溶胶颗粒中均存在此菌。在蒸馏水中可存活100d以上,在下水道污水中可存活1年,对热和常用化学消毒剂敏感,1%来苏处理数分钟即可杀死,但对氯作用的抵抗力比肠道菌大,于 21°C 时水中含 0.1mg/L 游离氯,杀死90%嗜肺军团菌需40min,而杀死大肠埃希菌则不到1min。

二、致病性与免疫性

微荚膜、菌毛、毒素和多种酶类可能是嗜肺军团菌的致病物质。军团菌产生的吞噬

细胞活化抑制因子有磷酸酶、核酸酶和细胞毒素等，能抑制吞噬体与溶酶体融合，故不仅不被杀死，反而可在细胞内生长繁殖导致细胞的死亡。

嗜肺军团菌是当前流行的主要菌种，可引起军团病。由空气传播，主要通过呼吸道吸入带菌飞沫、气溶胶而感染，多流行于夏秋季，为全身性疾病。有流感样型（轻症型）、肺炎型（重症型）和肺外感染三种临床类型。

流感样型可出现发热、不适、头痛和肌肉疼痛，预后良好；肺炎型起病骤然，出现以肺部感染为主的多器官损害、寒战高热、咳嗽、胸痛，全身症状明显，最终导致呼吸衰竭，如不及时治疗，死亡率可达15%以上，多发生于50岁以上男性。肺外感染型为继发性感染，当重症军团病发生菌血症时细菌可散布至全身多部位，如脑、肠、肾、肝、脾等，出现多脏器感染的症状。军团菌是当前医院感染的病原菌之一，常由于中央空调冷却塔用水被军团菌污染所致。中老年、吸烟者、慢性疾病患者及接受免疫抑制剂治疗者易感。

嗜肺军团菌为兼性胞内寄生菌，细胞免疫在抗感染中起主要作用。

三、微生物学检查法

标本可采集下呼吸道分泌物、胸水、活检肺组织及血液等。因痰中的正常菌群对军团菌有影响，故痰标本检出困难。

涂片作革兰染色检查意义不大。直接法荧光抗体染色镜检有诊断意义。活检组织标本用镀银法染色。分离培养用含半胱氨酸和铁盐的BCYE培养基，接种后置2.5% CO₂的孵箱中培养，根据菌落特征、生化反应等作出鉴定；或用免疫荧光染色法可快速诊断出培养的细菌。检查病人血清中抗军团菌IgM、IgG抗体有助于特异性诊断，常用方法为IF和ELISA法。

四、防 治

至今尚无有效的军团菌疫苗。预防应强调水源的管理，包括对人工管道系统的消毒处理，室内空调系统及饮水的卫生管理。治疗首选红霉素，对治疗反应迟缓者可合用利福平及其他药物。

第四节 流行性感冒病毒

流行性感冒病毒 (*influenza virus*)，简称流感病毒，分类上属正粘病毒科 (*Orthomyxoviridae*)，包括甲 (A)、乙 (B)、丙 (C) 3个型。可引起人和动物 (猪、马、海洋哺乳动物和禽类等) 流行性感冒 (简称流感)。1934年分离出的甲型流感病毒在引起人类流感流行上最重要，是流行最为频繁和播及全球的重要病原体。其中最著名的是发生于1918~1919年的流感世界大流行，世界人口 (当时20亿) 的50%被感染，死亡人数至少有2000万，平均死亡率3%，高于第一次世界大战死亡总人数。在1998年初春日本中小學生就有88万人患流感，死亡16人；乙型流感病毒对人类致病性较低，常局部爆发；丙型流感病毒主要侵犯婴幼儿或只引起人类轻微的上呼吸道感染，很少流行。

一、生物学性状

形态 呈球形或丝状，球形直径 80 ~ 120nm，新分离株丝状多于球形，可长达 4 000nm 左右（图 13-3）。

结构 流感病毒的核衣壳呈螺旋对称，有包膜，核酸为单链片段 RNA（图 13-4）。

1. 核心 病毒核酸为分片段的单链负股 RNA (-ssRNA)，如甲型、乙型流感病毒分 8 个片段，1~6 个片段编码单个蛋白，分别为 PB₁、PB₂、PA、HA、NP 和 NA；第 7 和第 8 个片段都编码 2 个蛋白，分别为 M₁、M₂ 和 NS₁、NS₂。丙型分 7 个片段。病毒核酸在细胞核内分节段复制，病

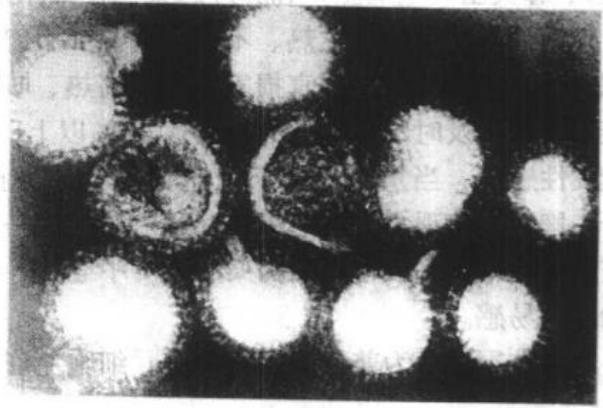


图 13-3 甲型流感病毒

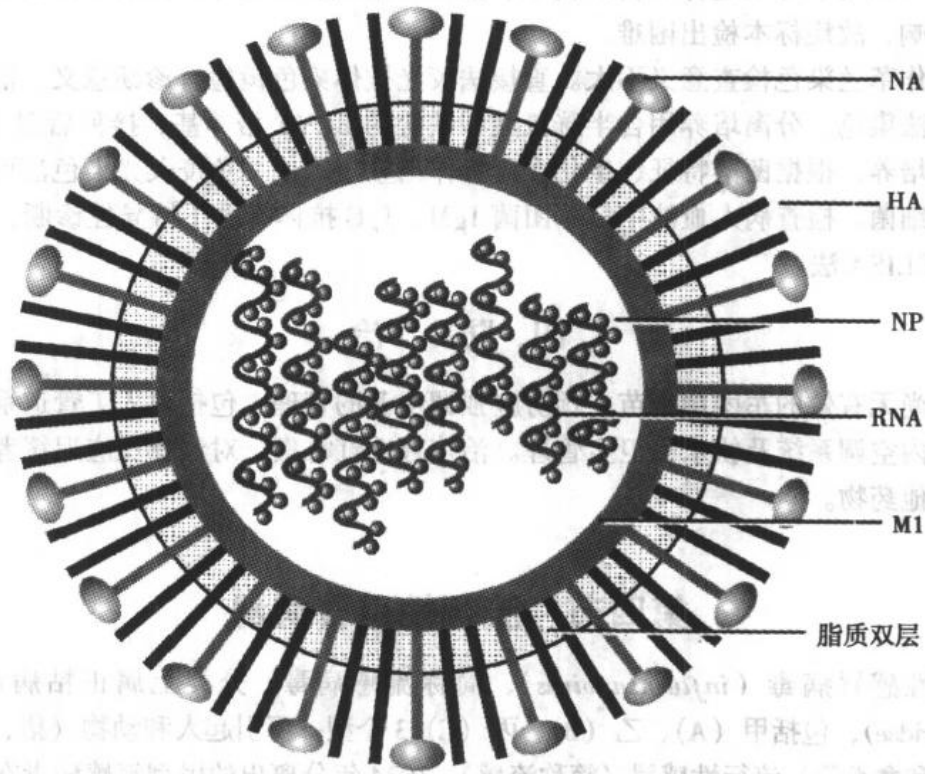


图 13-4 甲型流感病毒结构模式图

毒成熟时再重新装配于子代衣壳中，这一特点使病毒在复制中易发生基因重组，导致新病毒株的出现。流感病毒基因组总长度为 13 600 个核苷酸，片段长度范围在 890 ~ 2 340。甲型流感病毒基因节段及功能详见表 13-1。病毒核蛋白 (nucleoprotein,

NP) 呈螺旋对称, 为可溶性抗原, 抗原性稳定, 未发现变异, 具有型特异性。

2. 包膜 流感病毒包膜有两层结构, 内层为病毒基因编码的基质蛋白 (M_1), 它的存在增加了包膜的硬度和厚度, 并可促进病毒装配。M 蛋白抗原性稳定, 亦具有型特异性。包膜外层为来自宿主细胞的脂质双层膜, 甲型和乙型流感病毒包膜上面镶嵌两种由病毒基因编码的糖蛋白刺突: 血凝素 (hemagglutinin, HA) 和神经氨酸酶 (neuraminidase, NA), 两者数量之比为 3~5:1。它们是划分流感病毒亚型的依据, 抗原性极易变异。

表 13-1 甲型流感病毒基因片段及功能

编号	基因片段	核苷酸数目	编码产物
1	PB2	2 341	
2	PB1	2 341	RNA 转录酶
3	PA	2 233	
4	HA	1 778	HA
5	NP	1 565	NP
6	NA	1 413	NA
7	M1		MP
	M2	1 072	LP, 离子通道
8	NS1		抑制 mRNA 从核内释出
	NS2	890	功能不详

(1) HA: 与病毒吸附和穿入宿主细胞有关。呈柱状, 为三聚体, 每个单体的原始肽链 HA_0 必需经细胞蛋白酶裂解活化, 形成二硫键连接的 HA_1 和 HA_2 两个亚单位, 病毒才具有感染性。 HA_1 可与上皮细胞表面寡聚糖末端的唾液酸受体结合; HA_2 疏水端具有膜融合活性, 因而病毒经 HA_1 吸附被吞饮后, HA_2 可促进病毒包膜与细胞质膜的融合释放核衣壳。HA 能与人、鸡、豚鼠等多种红细胞表面的 N-乙酰神经氨酸 (唾液酸) 受体结合引起红细胞凝集, (简称血凝)。HA 具有免疫原性, 诱导的相应抗体称血凝抑制抗体, 能抑制血凝现象和中和病毒感染性, 为保护性抗体。

(2) NA: 是四聚体糖蛋白, 呈蘑菇状, 具有酶活性。可作用于宿主细胞表面糖蛋白末端神经氨酸与相邻糖基的连结链, 使其断裂, 破坏细胞膜上病毒特异性受体, 使病毒从感染细胞膜上解离, 有利于成熟病毒的释放和集聚病毒的扩散, 但不能中和病毒的感染性。NA 具有抗原性, 其相应抗体能抑制酶的水解作用。

分型、命名与变异 根据 NP 和 M 蛋白抗原性的不同可将流感病毒分为甲、乙、丙三型。甲型又可根据 HA 和 NA 抗原性不同, 再区分为若干亚型, 目前从禽类已鉴定出 15 个 H 亚型 ($H_1 \sim H_{15}$), 9 个 NA 亚型 ($N_1 \sim N_9$)。近一个世纪, 在人间流行的只有 H_1 、 H_2 、 H_3 和 N_1 、 N_2 几个亚型, 乙型、丙型流感病毒至今尚未发现亚型。根据 1980 年 WHO 公布的流感病毒命名法, 一个新分离株完整的命名应包括: 型别/宿主 (人则省略)/分离地点/病毒株/序号/分离年代 (HA 与 NA 亚型号), 如 A/Hong Kong/1/68 (H_3N_2)。甲型流感病毒 HA 和 NA 易发生变异, HA 变得更快。流感病毒抗原变异有两种形式: ①抗原漂移 (antigenic drift), 其变异幅度小, HA、NA 氨基酸的变异率小于 1%, 属量变, 由点突变所造成, 并与人群选择力有关, 每 2~5 年出现一个新的变异株, 引起中、小型流行; ②抗原转换 (antigenic shift), 变异幅度大, HA 氨基酸

的变异率为 20% ~ 50%，属质变，导致新亚型的出现。由于人群完全失去免疫力，每次新亚型出现都曾引起世界性的流感暴发流行，随后该亚型进入抗原漂移阶段，直至新亚型出现。近一个世纪，甲型流感病毒已经历过数次重大变异（表 13-2）。

表 13-2 甲型流感病毒抗原转换引起的世界性流行

流行年代	抗原结构	亚型名称	代表株
1918	Hsw ₁ N ₁		可能为猪流感病毒
1947	H ₁ N ₁	亚甲型	A/FM/1/47
1957	H ₂ N ₂	亚洲甲型	A/Singapore/1/57
1968	H ₃ N ₂	香港甲型	A/HongKong/1/68
1977	H ₁ N ₁ H ₃ N ₂	香港甲型与新甲型	

1977 年，H₁N₁ 又重新出现，感染者都是 30 岁以下青年人，表明过去的感染具有保护作用。与以前新亚型出现不一样，这次 H₁N₁ 没有完全取代 H₃N₂，而是与其共同流行，加之乙型，三型交替流行至今。1998 年由于甲 3 亚型（A₃, H₃N₂）国际代表株发生变异，由武汉株变为悉尼株，人群普遍对该株缺乏免疫力，造成该株在亚洲部分地区和次年在西欧等地区的暴发流行。乙型流感病毒不发生抗原转换。

种系变异的研究表明，所有哺乳动物的流感病毒均来源于禽类（如鸭）。而猪和某些哺乳动物在新亚型的出现中起关键作用，猪对人、某些哺乳动物和禽类流感病毒均敏感，这给各种亚型流感病毒在猪中进行基因重组创造了条件。抗原转换可以是人流感病毒与动物流感病毒的基因重组；也可以是动物、禽类流感病毒之间的基因重组，产生了对人的致病性，由动物、禽类直接传给人。回顾性血清学调查表明，1918 年流行的流感病毒与猪流感相关。另有记载表明在人流感暴发流行之前有马、鸽流感的爆发。1997 年，香港发生禽流感，为 H₅N₁，波及大批鸡群，同时发生 20 例禽流感病人，死亡 6 例。虽 H₅ 毒株不能在人间直接传播，但感染的鸡经鸭可传给猪，在猪中进行病毒重组则可传给人，再引起人间流行。

培养特性 流感病毒可在鸡胚和细胞中增殖。初次分离接种羊膜腔阳性率较高，传代适应后可移种于尿囊腔。细胞培养一般可用原代猴肾细胞（PMK）或狗肾传代细胞（MDCK）。病毒在鸡胚和细胞中均不引起明显的病变，需用红细胞凝集试验或红细胞吸附试验以及免疫学方法证实病毒的存在。

抵抗力 不耐热，56℃ 30min 可灭活，0 ~ 4℃ 能存活数周，-70℃ 以下可长期保存；对干燥、紫外线、乙醚、甲醛、乳酸等敏感。

二、致病性与免疫性

传染源主要为患者和隐性感染者，被感染的动物也可能是一种传染源。主要经飞沫在人与人之间直接传播，也有通过病人的握手、共用毛巾等密切接触而感染的实例。传染性强，临床特征为呼吸道症状较轻而发热与乏力等症状较重，最严重者可致病毒性肺炎，但 50% 感染后无症状。单纯流感病变主要在上中呼吸道，以气管粘膜为主。病毒在呼吸道上皮细胞内增殖，引起细胞空泡变性，纤毛丧失，最终坏死脱落。潜伏期一般

1~4d, 长短取决于侵入的病毒量和机体的免疫状态。流感发病突然, 有畏寒、发热、头痛、肌痛、厌食、乏力、鼻塞、流涕、咽痛和咳嗽等症状。热度可高达 38~40℃, 持续 1~5d, 平均 3d。在症状出现 1~2d 内随分泌物排出的病毒量较多, 可达 $10^4 \sim 10^7/\text{ml}$, 以后迅速减少。病毒仅在局部增殖, 一般不入血。全身症状与病毒感染刺激机体产生的干扰素和免疫细胞释放的细胞因子有关。小儿温度比成人高, 可发生抽搐或谵妄, 呕吐、腹痛、腹泻较常见。年老体弱、免疫或心肺功能不全者和婴幼儿在感染后 5~10d, 易发生细菌性继发感染, 特别是肺炎, 常危及生命。无并发症患者发病后 3~4d 开始恢复。

温带冬天为流行季节, 常沿交通线迅速传播, 先集体后散居, 先城市后农村, 患者年龄多在 30 岁以下, 但新亚型流行则无显著年龄差别。

流感患者排毒后 1d 就可在呼吸道分泌物中检出 IFN。IFN 对疾病的恢复起一定作用, 但维持时间短。感染可引起针对 HA、NA、NP、M₁ 的病毒特异性细胞和体液免疫。特异性的 CD4⁺ 或 CD8⁺ T 细胞可产生广泛的亚型间交叉免疫, 决定病毒的清除和疾病的恢复; 特异性抗体中只有抗-HA 为中和抗体, 包括 IgG、IgM 和 sIgA。局部中和抗体 sIgA 和血清中和抗体在预防感染和阻止疾病发生中有重要作用。血清抗-HA 中和抗体可持续几十年, 对同型病毒有牢固免疫力; 对型内变异株的交叉免疫可持续 4~7 年, 但亚型间无交叉免疫。

三、微生物学检查法

在流感暴发流行时, 根据典型症状即可作出临床诊断。实验室检查主要用于鉴别诊断和分型, 特别是监测新变异株的出现、预测流行趋势和提出疫苗预防建议。检查方法包括:

1. 病毒分离 取急性期患者咽漱液或鼻咽拭, 加抗生素后接种培养细胞或鸡胚。
2. 血清学诊断 如恢复期抗体效价较急性期增高 4 倍或以上, 即有诊断价值。血清学试验包括亚型和株特异的血凝抑制试验和中和试验, 型特异的补体结合试验和抗原特异性确定的酶免疫试验。血凝抑制试验在流感病毒血清学诊断中最为常用。
3. 用免疫荧光法或酶免疫测定法直接从病人呼吸道分泌物、脱落细胞中检测抗原。
4. 用核酸杂交、PCR 或序列分析检测病毒核酸和进行分型测定。

四、防治原则

流行期间应尽量避免人群聚集, 公共场所每 100m³空间可用 2~4ml 乳酸加 10 倍水混匀, 加热熏蒸, 能灭活空气中的流感病毒。免疫接种是预防流感最有效的方法, 但必须与当前流行株的型别基本相同。

1941 年美国首先批准使用鸡胚培养的流感病毒灭活疫苗。目前较多使用的为三价灭活疫苗 (甲型两个亚型和一个乙型); 20 世纪 60 年代出现裂解疫苗; 70~80 年代研

制成毒粒亚单位和表面抗原 (HA 和 NA) 疫苗, 并于 1980 年在英国首次批准使用。减毒活疫苗迄今仍处于研制阶段。国内生产应用的为灭活疫苗。

流感尚无特效疗法, 主要是对症治疗和预防继发性细菌感染。盐酸金刚烷胺及其衍生物甲基金刚烷胺可用于预防甲型流感, 其作用机制主要是抑制病毒的穿入和脱壳。此外, IFN- α 局部气雾吸入、滴鼻及中药板蓝根、大青叶等有一定疗效。

第五节 呼吸道合胞病毒

呼吸道合胞病毒 (*respiratory syncytial virus, RSV*) 简称合胞病毒, 分类上属副粘病毒科。是在婴幼儿中引起严重呼吸道感染最重要的病原生物, 典型的是细支气管炎和细支气管肺炎, 但在较大儿童和成人主要引起鼻炎、感冒等上呼吸道感染。

一、生物学性状

病毒为球形, 直径 120 ~ 200nm, 基因组为不分节段 - ssRNA, 有十个基因片段。这些基因编码 10 个蛋白, 既 7 种结构蛋白 (G、F、M、22K、N、P、L) 和 3 种非结构蛋白 (NS₁、NS₂、NS₃)。G、F、M、22K 均为包膜蛋白。G 蛋白能与宿主细胞膜受体结合, 介导病毒进入细胞内; F 蛋白经裂解后能使病毒包膜与宿主细胞膜融合形成多核巨细胞。病毒包膜上有刺突, 长 12 ~ 16nm, 由糖蛋白组成, 无 HA、NA。在鸡胚中不生长, 但可在多种细胞中缓慢增殖, 约 2 ~ 3 周出现 CPE。病变特点是多数细胞融合为合胞体, 胞浆内有嗜酸性包涵体。RSV 只有 1 个血清型。

合胞病毒抵抗力弱, 对弱酸、胆汁及冻融均很敏感, 因此标本不经冻存宜直接接种培养细胞。

二、致病性与免疫性

RSV 经飞沫传播, 也能经手和污染物品播散。每年冬季、早春均有流行, 传染性较强, 也是医院内交叉感染的主要病原之一。

病毒感染局限于呼吸道, 不产生病毒血症, 潜伏期 4 ~ 5d, 排毒可持续 1 ~ 3 周。RSV 侵入呼吸道上皮细胞内增殖, 引起细胞融合。病毒致病机制尚未完全清楚, 一般认为除病毒直接引起破坏作用外, 可能与婴儿呼吸道组织学特性、免疫功能不完善及免疫病理造成细胞损伤有关。支气管和细支气管坏死物与粘液、纤维等聚集在一起, 很易阻塞婴幼儿狭窄的气道, 导致严重的细支气管炎和肺炎, 造成死亡。从患儿鼻分泌物中检出组织胺和特异性 IgG 可以证明, 严重 RSV 感染时的免疫病理损伤系由特异性 IgE 与 RSV 相互作用导致 I 型超敏反应所致。

呼吸道合胞病毒感染后, 免疫力不强, 自然感染后不能防止再感染。母体通过胎盘传给胎儿的抗体亦不能防止婴儿感染。

三、微生物学检查法

呼吸道合胞病毒所致疾病在临床上与其他病毒和细菌所致类似疾病难以区别, 因此

需要进行病毒分离和抗体检测，但需相当长时间才能获得结果。快速诊断常用荧光抗体技术、免疫酶技术等，检查咽脱落细胞内 RSV 抗原，数小时即可得出结果。

四、防治原则

利巴韦林气溶胶作为特异对症治疗是较理想的一种合成核苷酸类药物，主要干扰 mRNA 表达和抑制病毒蛋白质合成。IFN - α 局部气雾吸入和滴鼻效果较好。

至今未有安全有效的预防疫苗，灭活疫苗接种反而会使感染更加严重。在没有理想的呼吸道合胞病毒疫苗提供对婴幼儿的保护之前，对呼吸道合胞病毒感染的高危人群接种呼吸道合胞病毒免疫球蛋白是有效的措施。

第六节 肺炎支原体

肺炎支原体 (*M. pneumoniae*) 是急性呼吸道感染的常见病原之一。从正常人和动物呼吸道粘膜中可分离出多种支原体，其中肯定能引起人类肺炎的只有肺炎支原体一种，引起的肺炎占非细菌性肺炎的 50% 左右。支原体肺炎 (mycoplasmal pneumonia) 的病理变化以间质性肺炎为主，故又称原发性非典型肺炎 (primary atypical pneumonia)。与肺炎链球菌引起的典型肺炎不同，其临床表现和胸部 X 线所见与病毒性肺炎类似。

一、生物学性状

肺炎支原体大小为 125 ~ 300nm，与本属其它支原体一样，菌体最外层为细胞膜，含胆固醇为其特点之一。无细胞壁，故呈球形、分支状或颗粒状等多形态。加压可通过除菌滤器。主要以二分裂方式繁殖，生长缓慢，1 ~ 6h 分裂一代，绝对需氧 (其它支原体为兼性厌氧菌)，在含血清、胆固醇及酵母浸膏的培养基上培养 2 ~ 9d 后形成微小菌落。典型菌落呈油煎蛋样，菌落中央部分较厚，向下长入培养基内，四周为一层透明颗粒区。

肺炎支原体对理化因素的抵抗力较细菌弱，对常用消毒剂敏感，对醋酸铊、结晶紫抵抗力较细菌强。对干扰蛋白质合成及作用于胆固醇的抗菌药敏感，对干扰细胞壁合成的抗生素耐药。

二、致病性与免疫性

肺炎支原体感染在世界各地均有发生，常在家庭、学校、托儿所或军队密集人群中小规模流行，秋冬季发病率高。但一年中任何时间都有散发。发病年龄以儿童及青少年多见 (5 ~ 15 岁)。

肺炎支原体的致病作用与其尖端特殊结构牢固地粘附于宿主细胞神经氨酸酶受体上，将微管插入，释放过氧化氢、核酸酶等有关。这些物质不仅溶解红细胞，而且使上皮细胞出现肿胀、坏死、脱落，微绒毛运动变慢，结构变形，停止摆动。同时出现淋巴

细胞、浆细胞以及单核细胞的浸润、脓性粘液渗出、细支气管壁肥厚、管腔变小等，影响肺清除功能，造成临床上长期持久咳嗽。如用神经氨酸酶或特异性抗血清处理宿主细胞，可阻止肺炎支原体吸附和病变的发生。

肺炎支原体的致病性不仅与其吸附、代谢产物和酶类的直接毒性作用有关，也和它引起迟发型超敏反应有关。有人认为肺炎支原体的脂质、多糖抗原与人体组织细胞膜有共同抗原，可引起肺内、肺外多种病变。

传染源为病人或带菌者，主要经飞沫传播，潜伏期 2~3 周。首先引起上呼吸道感染，然后下行引起气管炎、支气管炎、毛细支气管炎和肺炎，感染后症状轻重不一，可表现为头痛、发热、咳嗽等呼吸道症状。还可同时或相继引起肺外器官或组织病变，如心血管症状（心肌炎、心包炎）、神经症状（脑膜炎、脑炎）、消化道症状（食欲不振、恶心、呕吐等）和皮疹等。支原体肺炎与一般肺炎不同，有特殊的临床表现，起病缓和，咳嗽剧烈而持久，病程长，预后好，不用抗生素大多可以自愈，但使用抗生素后可缩短病程，减少并发症的发生。

机体感染肺炎支原体后，血清中可检出多种抗支原体抗体，但抗体不能终止机体向外继续排出支原体。呼吸道 sIgA 对再感染有一定防御作用，但仍可再感染。病人血清中还可诱发一种非特异冷凝集素，它可能是支原体作用于红细胞的 I 型血型抗原，使其变性后产生的自身抗体，是某些病人由支原体感染引起的一种自身免疫现象。肺炎支原体感染者冷凝集素的阳性率为 50%，常用于辅助诊断。

三、微生物学检查法

肺炎支原体的诊断方法靠分离培养和血清学检查。肺炎支原体生长缓慢，早期诊断有赖于寻找抗原。

1. 分离培养 取可疑患者的痰或咽拭子接种在含有血清和酵母浸膏的培养基中，用青霉素、醋酸铊抑制杂菌生长。初分离时生长缓慢，需要观察较长时间，长出的菌落没有明显周边。多次传代后生长加快，菌落成典型油煎蛋样。分离的支原体可经形态、血细胞吸附、生化反应以及特异性抗血清作生长抑制试验（GIT）进行鉴定。培养阳性率差，血清学诊断阳性者而培养阳性率仅为 64%。

2. 血清学检查 临床上常用冷凝集试验，用病人血清与人 O 型红细胞或自身红细胞混合，4℃ 过夜，观察红细胞凝集现象，放 37℃ 时其凝集又分开，即冷凝集试验。但仅 50% 左右患者出现阳性。此反应为非特异性，呼吸道合胞病毒感染、腮腺炎、流感等也可出现冷凝集素效价的升高。补体结合试验和间接血凝等抗体测定方法仅在初次感染时出现阳性，再感染时则不出现，原因是该试验主要检测的是 IgM 抗体，再感染时 IgM 不升高。

3. 快速早期寻找抗原的方法有：①应用单克隆抗体通过 ELISA 试验从患者痰、鼻洗液或支气管洗液中检测分子量为 43kD 多肽或 190kD 的 P1 肺炎支原体蛋白；②通过 PCR 技术从患者痰中检测肺炎支原体 DNA，并可验证治疗效果。

肺炎支原体无细胞壁，对青霉素类、头孢菌素类不敏感，红霉素、氯霉素或螺旋霉素敏感。肺炎支原体灭活或减毒活疫苗的应用效果尚不理想。

第七节 呼吸道途径传播的其他微生物

一、流感嗜血杆菌

流感嗜血杆菌 (*H. influenzae*) 是嗜血杆菌属中最常见的对人有致病性的细菌, 流感嗜血杆菌可引起原发性化脓性感染和呼吸道继发感染。人工培养时由于必须提供新鲜血液或血液成分才能生长, 故名嗜血杆菌。

生物学性状 流感嗜血杆菌在急性感染的标本中为革兰阴性小杆菌, 在恢复期病灶或陈旧培养物中可呈长杆状、丝状等多形态。无鞭毛或芽胞, 多数菌株有菌毛, 毒力株有荚膜。本菌需氧, 最适生长温度为 37℃, 生长要求特殊, 需 X 因子和 V 因子。因血液中 V 因子需经加热后才能从红细胞中释放, 故流感嗜血杆菌在巧克力色平板上生长良好, 培养 18~24h 后出现无色透明露滴状小菌落, 48h 后可形成灰白色、光滑、边缘整齐的较大菌落。金黄色葡萄球菌能合成 V 因子, 可促进流感嗜血杆菌生长。将流感嗜血杆菌与金黄色葡萄球菌在血琼脂平板上共同培养时, 可出现离葡萄球菌菌落越近的流感嗜血杆菌菌落越大的现象, 把这些菌落称为“卫星菌落”(satellite colonies), 这一特征称“卫星现象”(satellite phenomenon), 可用于流感嗜血杆菌的鉴定。

流感嗜血杆菌荚膜多糖抗原具有型特异性, 可将有荚膜的流感嗜血杆菌分为 a~f 6 个血清型, 其中 b 型的致病率最高。

流感嗜血杆菌的抵抗力较弱, 对热、干燥及常用消毒剂敏感。加热 50~55℃, 30min 即被杀死, 在干痰中生存时间不超过 48h。

致病性与免疫性 流感嗜血杆菌的主要致病物质是内毒素、荚膜、菌毛和某些酶类。荚膜有抗吞噬作用。菌毛能粘附于人类口咽部细胞。致病力强的流感嗜血杆菌菌株具有 IgA 蛋白酶, 能水解 SIgA。流感嗜血杆菌广泛寄居人上呼吸道, 冬季带菌率高, 易发病。

流感嗜血杆菌所致疾病有:

1. 原发性感染 多为 b 型菌株引起急性化脓性感染, 易感者主要是儿童。常见的有脑膜炎、咽喉会厌炎、化脓性关节炎及心包炎等。对美国 5 岁以内儿童化脓性脑膜炎病原菌分析结果表明, 前 3 位分别是流感嗜血杆菌 (75%), 脑膜炎奈瑟菌 (19%) 和肺炎链球菌 (6%), 其他细菌不到 1%。

2. 继发性感染 多为正常寄生于上呼吸道的无荚膜菌株引起, 多见于成年人。常在流感、肺结核等感染后发生。主要引起慢性支气管炎、中耳炎、鼻窦炎等。

流感嗜血杆菌感染后形成的免疫以体液免疫为主。抗荚膜多糖的特异性抗体能增强吞噬细胞的吞噬作用及在有补体存在时的溶菌作用。

微生物学检查法 根据疾病不同, 采取不同的标本。常取痰液、鼻咽分泌物、脓液、脑脊液等。

1. 直接涂片镜检 对流感嗜血杆菌引起的脑膜炎、关节炎和下呼吸道感染有快速诊断的价值。

2. 培养与鉴定 将标本接种于巧克力色培养基上, 培养后根据可疑菌落的形态特

征、卫星现象、生化反应及荚膜肿胀试验予以鉴定。

此外，对 b 型流感嗜血杆菌的感染还可采用免疫学方法检测其多糖抗原。

防治原则 原 b 型流感嗜血杆菌的荚膜多糖疫苗，对 18 个月以下的婴儿预防效果欠佳，18 个月以上的儿童接种后一年内保护率可达 90% 以上。目前采用的纯化多糖与蛋白载体偶联制备的疫苗可引起 2 个月龄小儿产生保护性抗体。特异性免疫血清与磺胺合并使用疗效较好。治疗可用氨苄青霉素、氯霉素等。

二、肺炎衣原体

肺炎衣原体 (*Chlamydia pneumoniae*) 是衣原体属中的第三个新种。只有一个血清型，即 TWAR 组衣原体。这是根据最初分离的两株病原体，即 1965 年自 1 名台湾小学生眼结膜分离的一株衣原体 (Taiwan-183, TW-183)，和 1983 年自美国大学生急性呼吸道感染者咽部分离的另一株衣原体 (acute respiratory-39, AR-39)，因两株衣原体的抗原性相同，以这两株的字头合并后，称作 TWAR。1989 年，由 Grayston 等正式将 TWAR 命名为肺炎衣原体。目前已新分离出 10 多株肺炎衣原体。

肺炎衣原体是以引起人肺炎为主的病原体，临床表现多样化。最常见的是无症状或轻微症状感染，重者出现支气管炎或肺炎。此外还发现肺炎衣原体所致的慢性感染可能通过直接或 (和) 间接机制与动脉粥样硬化的发生有关。

生物学性状 其原体结构、DNA 序列、培养特性、血清学分析以及致病性与沙眼衣原体和鹦鹉热衣原体均有不同：

1. 肺炎衣原体的原体平均直径为 $0.38\mu\text{m}$ ，在电镜下典型者呈梨形，并有清晰的周浆间隙，原体中无质粒 DNA。

2. 肺炎衣原体株全基因组测序已于 1998 年完成，全基因组含 1 230 230 碱基对，推测其含蛋白基因 1 052 个，RNA 基因 43 个。与鹦鹉热衣原体、沙眼衣原体的 DNA 同源性 $< 10\%$ ，而不同来源的肺炎衣原体株都具有 94% 以上的 DNA 同源性，其限制性内切酶的图谱相同。

3. 肺炎衣原体只有一个血清型。主要外膜蛋白 (MOMP) 为 39.5kD，存在于肺炎衣原体的原体和网状体，占外膜蛋白的 60% 以上，具属特异性，是主要的免疫原。98kD 蛋白为种特异性抗原，分布在肺炎衣原体外膜表面。76kD 蛋白和 53kD 蛋白是肺炎衣原体的种特异性蛋白，在刺激机体免疫应答或作为诊断指标方面有一定意义。

4. 肺炎衣原体的组织培养较其它衣原体困难，用 HEp-2 和 HL 细胞系较易分离和传代，但在第一代细胞内很少能形成包涵体。

5. 肺炎衣原体对高温敏感，在 SPG 保存液中的原体置室温 24h 仅存活 1%。在 70℃ 条件下，10% 小牛血清可增加原体在培养基中的稳定性。原体可耐受一定程度的高渗环境，在失水的高渗环境中原体对宿主细胞的吸附和穿入能力基本不受影响。

致病性与免疫性 肺炎衣原体寄生于人类，过去认为人类是肺炎衣原体的唯一宿主，但近来从马和考拉树熊体内分离出肺炎衣原体株。肺炎衣原体感染系人与人之间经飞沫或呼吸道分泌物传播，亦可在家庭或医院等集体场所相互传染。其扩散较为缓慢，潜伏期平均 30d 左右。TWAR 感染具散发和流行交替出现的特点。在感染人群中流行

可持续 6 个月左右。

肺炎衣原体是呼吸道疾病重要的病原体，主要引起青少年急性呼吸道感染，可引起肺炎、支气管炎、咽炎和鼻窦炎等。起病缓慢，临床常表现有咽痛、声音嘶哑等症状，还可引起心包炎、心肌炎和心内膜炎。1994 年 6 月，在日本一所初中校园里曾经暴发了一次百日咳样疾病流行，波及 136 名中学生发生上呼吸道或并发下呼吸道感染。流行病学调查研究后，确认由肺炎衣原体感染所引起。

近年来还发现肺炎衣原体与冠状动脉硬化和心脏病的发生有关。研究证实，在冠状动脉粥样硬化病灶中不仅有肺炎衣原体类似的梨形结构，而且其病理切片用抗肺炎衣原体特异性单克隆抗体处理后呈阳性，病变标本 PCR 产物的序列与肺炎衣原体 DNA 完全一致。慢性肺炎衣原体感染及其形成的免疫复合物，可引发自身免疫应答而损伤内皮细胞，还可诱导许多炎症介质如 TNF、IL-1、IL-2 等产生，这可能是冠心病发病的一个重要因素，但还需要进一步研究。

微生物学检查法

1. 病原学检查 用 HL 和 HEp-2 细胞培养肺炎衣原体较易生长，用 McCoy 细胞及其它传代细胞分离培养肺炎衣原体较困难。痰标本对细胞有毒性作用，通常取咽拭标本或支气管肺泡灌洗液较好，标本最好用膜式滤菌器除去杂菌，不加抗生素。痰液、咽拭子和肺炎衣原体培养物的鉴定，主要靠 McAb 免疫酶标法或种特异性 McAb 间接免疫荧光法检测肺炎衣原体的存在。

2. 血清学诊断 较敏感的方法是以肺炎衣原体原虫作为抗原，用微量免疫荧光试验检测血清中的抗体。分别检测肺炎衣原体的特异性 IgM 和 IgG 抗体，有助于区别近期感染和既往感染，也有利于区别原发感染和再感染；凡双份血清抗体滴度增高 4 倍以上，或单份血清 IgM 抗体滴度 $\geq 1:16$ ，或 IgG 抗体滴度 $\geq 1:512$ 时，可确定为急性感染。

3. 特异性核酸检测 采用限制酶 Pst I 对肺炎衣原体 DNA 酶切后，可以获得一 474bp 的核酸片段，这是其它种衣原体没有的 DNA 片段。采用扩增 DNA 的 PCR 技术，可以进行肺炎衣原体特异性核酸片段的检测。Kubota 等以 53kD 蛋白基因序列为模板设计了一对引物，对来自不同地域的 24 株肺炎衣原体进行 PCR 扩增后获得特异的 499bp 片段，该引物与其它三种衣原体及呼吸道常见病原菌无扩增反应，表明该引物可用于 PCR 检测肺炎衣原体。

防治原则 尚无有效的疫苗进行特异预防。肺炎衣原体对红霉素、阿齐霉素、四环素类抗生素敏感，对磺胺类药物无效。

三、白喉棒状杆菌

白喉棒状杆菌 (*C. diphtheriae*)，俗称白喉杆菌，是白喉的病原菌。白喉是一种急性呼吸道传染病，患者咽喉部出现灰白色的假膜。该菌能产生强烈外毒素，进入血液可引起全身中毒症状。

生物学性状 菌体细长微弯，一端或两端膨大呈棒状。细菌常排列呈 V、L 等文字形。革兰染色阳性。用美蓝短时间染色菌体着色不均匀，出现有深染的颗粒。用 Neiss-

er 染色法或 Albert 染色法，这些颗粒与菌体着色颜色不同，称为异染颗粒。颗粒的主要成分是核糖核酸和多磷酸盐，有鉴定意义。但当细菌衰老时异染颗粒被消耗而不明显，且细胞壁变薄易被脱色，常造成革兰染色性不定。需氧或兼性厌氧。营养要求较高，在含有凝固血清的吕氏血清斜面上生长迅速，10~18h 培养可见 1~3mm 菌落，涂片染色异染颗粒明显。分离培养时常用鉴别选择培养基，即含 0.03%~0.04% 亚硝酸钾的血平板。亚硝酸钾能抑制杂菌，且白喉棒状杆菌能吸收亚硝酸盐使其还原为元素硫，菌落呈黑色。

白喉棒状杆菌对湿热抵抗力不强，煮沸 1min 死亡。但对寒冷和干燥抵抗力强。在衣服、床单、玩具上可存活数天至数周。5% 石炭酸中 1min、3% 来苏尔中 10min 死亡。对青霉素、氯霉素、红霉素敏感。对磺胺、卡那霉素、庆大霉素不敏感。

致病物质 白喉棒状杆菌的主要致病物质是白喉外毒素。此毒素由 β -棒状杆菌噬菌体的毒素基因 (*tox+*) 编码，因此只有带该噬菌体的溶原性菌才能产生。无毒的白喉棒状杆菌本身无此基因。当这种噬菌体侵入白喉棒状杆菌，在溶原阶段 *tox* 基因即可整合到宿主染色体上，使之产生毒素。白喉毒素含有 A 和 B 2 个亚单位。B 亚单位上有 1 个受体结合区和 1 个转位区，A 亚单位上有 1 个催化区，许多真核细胞，特别是心肌和神经细胞上都有这种毒素的受体。因此严重的白喉患者可有中毒性心肌炎和神经症状。当毒素与宿主细胞结合而被吞入细胞的内泡中后，通过 B 亚单位转位区的介导，使 A 亚单位释放到宿主胞质内。A 亚单位有毒性，可灭活肽链合成中必需的延伸因子 2 (elongation factor-2, EF-2)，影响蛋白质的合成。白喉毒素有剧毒，1~2 个毒素分子即可杀死宿主细胞，可用来制备生物导弹治疗肿瘤。

所致疾病 白喉棒状杆菌存在于患者及带菌者的鼻咽腔中，随飞沫或污染的物品传播。感染后细菌在鼻咽部粘膜上繁殖并分泌外毒素，引起局部炎症及全身中毒症状。细菌和外毒素可使局部粘膜上皮细胞产生炎性渗出与坏死，渗出物中含有纤维蛋白，能将炎性细胞、粘膜坏死组织和白喉棒状杆菌凝聚在一起，形成灰白色点状或片状假膜。此假膜在咽部与粘膜下组织紧密粘连不易拭去。若假膜扩展至气管、支气管粘膜，由于其上具有纤毛，假膜容易脱落而引起呼吸道阻塞，成为白喉早期致死的主要原因。有报道从喉、气管镜检中取出气管、支气管铸型膜管。白喉棒状杆菌本身一般不侵入血流，但被吸收的外毒素则可通过血液与易感的组织结合，在临床上引起各种表现，如心肌炎、软腭麻痹、声嘶、肾上腺功能障碍等症状。约 2/3 患者的心肌受损，多发生在病后 2~3 周，成为白喉晚期致死的主要原因。此外，该菌偶可侵害眼结膜、外耳道、阴道和皮肤创口等处，亦能形成假膜。

免疫性 白喉的免疫主要靠抗毒素中和外毒素的作用。人对白喉棒状杆菌普遍易感。近年来由于婴幼儿及学龄前儿童普遍进行预防接种，儿童与少年发病率有所降低，白喉在人群中的传播日益减少，隐性感染的机会也随之减少。调查人群对白喉的免疫力可用白喉毒素作皮内试验，称为锡克试验 (Schick test)。试验是根据毒素抗毒素中和原理，除用于检查对白喉有无免疫力外，尚可检查接种后的免疫力。因观察时间长，现已很少采用。

微生物学检查法 从患者病变部位假膜及其边缘用棉拭直接作涂片，若找到有白喉

棒状杆菌典型形态、排列，并有异染颗粒者，结合临床即可作初步诊断。毒力鉴定是鉴别白喉棒状杆菌与其他棒状杆菌的重要试验。检测方法分体外与体内两类，体外法可用 SPA 协同凝集试验或 Elek 平板试验；体内法可用豚鼠作体内中和试验。

防治原则 白喉的特异性预防有人工主动免疫和人工被动免疫两种。注射白喉类毒素是预防白喉的主要措施，目前国内外均应用白喉类毒素、百日咳疫苗和破伤风类毒素混合制剂（简称白百破三联疫苗）用于人工自动免疫。对密切接触过白喉病人的易感儿童，应肌肉注射白喉抗毒素作紧急预防。为避免用马血清制备的白喉抗毒素引起速发型超敏反应，一般主张立即给密切接触且鼻咽部培养阳性者进行药物预防，治疗可注射青霉素或口服红霉素，而不轻易使用抗毒素。对白喉患者的治疗除使用抗生素外应尽早注射足量白喉抗毒素。

四、百日咳鲍特菌

百日咳鲍特菌 (*B. pertussis*) 是百日咳的病原菌，人是唯一宿主，其传染性极强，人群普遍易感，但发病仍以婴幼儿多见，是威胁儿童健康的主要传染病之一。据 WHO 报告，81 个发展中国家（不包括中国）在实施扩大免疫计划前每年大约有 300 万儿童死于百日咳，我国发病最高峰也有近万例儿童死亡。在 WHO 倡导免疫计划后，发病率和死亡率都大幅下降，降至 1/10 万以下。

生物学特性 革兰阴性小杆菌，大小为 $0.5 \sim 2.0 \mu\text{m} \times 0.2 \sim 0.5 \mu\text{m}$ 。无芽胞，无鞭毛，毒力菌株有荚膜和菌毛。营养要求很高，初次分离培养需用含甘油、马铃薯、血液的鲍-金 (Bordet - Gengou) 培养基。35 ~ 37℃ 培养 3 ~ 5d 后形成细小、光滑、隆起、有珠光色泽的珍珠样菌落，周围有不明显的溶血环。不发酵糖类。新分离菌株为光滑型，称 I 相菌，具有菌体 (O) 和表面 (K) 抗原。I 相菌有毒力，人工培养后可发生变异，表现为荚膜和菌毛的逐渐消失，形态、菌落、溶血性、抗原结构、致病力等也全面变异，II、III 相为过渡相，IV 相即为粗糙型菌落的无毒株。百日咳鲍特菌对干燥、消毒剂敏感，青霉素不敏感，对多粘菌素、氯霉素、红霉素及氨基青霉素敏感。

致病性与免疫性 细菌一般不侵入血液，致病物质包括荚膜、菌毛、内毒素及多种生物活性物质。①百日咳毒素：为外毒素，是百日咳的主要毒力因子，与细菌附着纤毛上皮细胞及引起阵发性咳嗽有关；②腺苷酸环化酶毒素 (adenylcyclase toxin)：可致吞噬细胞内 cAMP 水平提高而抑制巨噬细胞的氧化活性，抑制中性粒细胞的趋化、吞噬及杀伤作用，抑制 NK 细胞的溶细胞作用；③丝状红细胞凝集毒素：促进细菌对纤毛上皮细胞的粘附；④气管细胞毒素：对气管纤毛上皮细胞有特殊亲和力，低浓度时抑制纤毛的摆动，高浓度时使之细胞坏死脱落；⑤皮肤坏死毒素：不耐热，能引起外周血管收缩，白细胞渗出血管外或出血，致局部组织缺血、坏死等。

传染源主要是早期病人和带菌者，病原菌通过飞沫经呼吸道传播。百日咳典型的临床症状为持续性阵发性痉挛性咳嗽，带有吸气尾声及呕吐。病程分为三期：①卡他期：类似普通感冒，如低热、咳嗽、打喷嚏等，此期维持 1 ~ 2 周，传染性最强。②痉挛期：出现阵发性剧咳，由于支气管痉挛可伴有吸气吼声、呕吐、呼吸困难、发绀，这种剧烈的阵咳一天中可出现 10 ~ 20 次。此期有 1 ~ 6 周，并可出现肺炎、中耳炎、出血及中樞

神经系统症状。③恢复期：阵咳减轻，完全恢复需数周到数月。由于整个病程较长，故名百日咳。易并发肺炎、脑病。

病后有较持久的免疫力，再次感染少见。由于新生儿对百日咳也易感；提示母体血清 IgG 抗体未能提供对新生儿的保护，故认为抗百日咳感染的免疫主要是局部粘膜免疫。

微生物学检查法 以分离百日咳鲍特菌为主。卡他期取鼻咽拭或咳碟法接种于鲍-金培养基分离培养，出现典型菌落时，经涂片染色镜检、生化反应、或与 I 相免疫血清作凝集试验进行鉴定。

防治原则 我国选用 I 相百日咳鲍特菌死菌苗与白喉、破伤风的类毒素混合，制成“白百破”（DPT）三联疫苗进行主动免疫，效果较好。治疗首选红霉素，也可选用其他广谱抗生素。由于全球实行计划免疫，百日咳已基本得到控制。无细胞百日咳疫苗已问世，必将为进一步控制和消灭百日咳提供有力的武器。

五、水痘 - 带状疱疹病毒

水痘 - 带状疱疹病毒 (*Varicella - Zoster virus, VZV*) 在儿童初次感染引起水痘 (varicella)。恢复后病毒潜伏在体内，少数人在青春期或成年后病毒再引发起带状疱疹 (zoster)，故称为水痘 - 带状疱疹病毒。只有一个血清型。

致病性和免疫性 传染源主要是患者，水痘患者急性期水痘内容物及上呼吸道分泌物、或带状疱疹患者水疱内容物都含有病毒。小儿水痘好发年龄 3~9 岁，多在冬春季流行。人是 VZV 的唯一自然宿主，皮肤上皮细胞是主要靶细胞。病毒借飞沫经呼吸道或接触传染。入侵病毒先在局部淋巴结增殖后，进入血流到达网状内皮系统内大量增殖，病毒再次入血形成第 2 次毒血症，随血流散布到全身。约经两周潜伏期全身皮肤出现丘疹、水疱，并可发展为疱疹。水痘一般病情较轻，但在细胞免疫缺陷、白血病或长期使用免疫抑制剂的儿童可表现为重症，甚至危及生命。成人患水痘时，20%~30% 并发肺炎。一般病情重，病死率亦高。孕妇患水痘的表现亦较严重，并可引起胎儿畸形、流产或死产。

带状疱疹仅发生于过去有水痘病史的人。儿童期患水痘康复后，病毒没能全部被清除，少量病毒可潜伏于脊髓后根神经节或颅神经的感觉神经节中。中年以后机体免疫力下降时，在冷、热、药物等因素刺激下，潜伏的病毒被激活，病毒沿神经轴突到达所支配的皮肤细胞内增殖，发生疱疹，因排列呈带状，故称带状疱疹。带状疱疹常发生于身体的一侧，以躯干中线为界，好发部位为胸、腹和面部。如侵犯三叉神经眼侧支，可波及角膜引起角膜溃疡甚至失明。偶尔也有发生脑炎者。在肿瘤晚期或免疫抑制病人，有时可见到播散性带状疱疹。由于感觉神经受刺激，发病 1~4 周内局部痛觉非常敏感，疼痛剧烈。本病多见于成年人，特别是 40 岁以上的成年人，发病率约 10%~20%，随年龄的增高而增高。一年四季皆可发生，呈散发，不引起流行。

儿童患水痘后，机体产生持久的特异性细胞免疫和体液免疫，极少再患水痘。但体内所产生的病毒中和抗体，不能有效地清除神经节中的病毒，故不能阻止带状疱疹的发生。

微生物检查法 水痘-带状疱疹的临床表现较典型，故很少借助于微生物学检查进行诊断，必要时可用刮取病损皮肤基底部细胞涂片，H-E染色，检查嗜酸性核内包涵体和多核细胞。亦可用单克隆抗体免疫荧光染色法检查VZV抗原，有助于快速诊断。

防治原则 对免疫功能低下儿童接种VZV的减毒活疫苗，认为有助于防止或限制水痘感染的作用。带状疱疹免疫球蛋白(VZIg)可用于预防高危病人水痘的感染。于接触72h内注射VZIg可降低水痘的显性感染率及并发症发生率。无环鸟苷、阿糖腺苷及IFN可缓解水痘和带状疱疹的局部症状。

六、腮腺炎病毒

腮腺炎病毒(*mumps virus*)是流行性腮腺炎的病原体。腮腺炎是以腮腺肿胀、疼痛为主要症状的儿童常见病。呈世界性分布。只有一个血清型，人是其唯一宿主。腮腺炎病毒属副粘病毒科。核酸为-ssRNA，衣壳为螺旋对称，包膜上有HA、NA和HL刺突。

病毒主要通过飞沫或人与人直接传播。学龄儿童为易感者，好发于冬春季节。潜伏期2~3周，病毒侵入呼吸道上皮细胞和面部局部淋巴结内增殖后，进入血流再通过血液侵入腮腺及其它器官，如睾丸、卵巢、胰腺、肾脏、和中枢神经系统等。主要症状为一侧或双侧腮腺肿大，有发热、肌痛和乏力等。病程1~2周。30%感染后无症状。青春期感染者，男性易合并睾丸炎(25%)，女性易合并卵巢炎，病毒性脑炎亦常见。

病后可获得牢固的免疫力。

典型病例无需实验室检查即可作出诊断。

预防腮腺炎应隔离患者，防止传播。疫苗接种是唯一有效的预防措施，目前使用的为减毒活疫苗，可产生长期免疫效果。在美国等国家已将腮腺炎病毒、麻疹病毒、风疹病毒组成了三联疫苗(MMR)。我国目前使用的是S97株生产的单价减毒活疫苗，三联疫苗正在研制中。

七、麻疹病毒

麻疹病毒(*measles virus*)是麻疹的病原体，分类上属副粘病毒科。麻疹是儿童时期最为常见的急性传染病，但可感染任何年龄段的易感人群，感染率约85%，但发病率几乎达100%。常因并发症的发生导致死亡。近年来由于疫苗的普遍应用，发病率下降，发病年龄出现推迟的现象。

生物学性状 麻疹病毒为有包膜的-ssRNA病毒，核酸不分节段，核衣壳呈螺旋对称。麻疹病毒只有一个血清型，但80年代以来，各国都有关于麻疹病毒抗原性变异的报道。核苷酸序列分析表明，麻疹病毒存在着基因漂移。

致病性与免疫性 人是麻疹病毒的自然宿主，急性期患者为传染源，通过飞沫直接或间接或鼻腔分泌物污染玩具、用具等感染易感人群。冬春季发病率最高。潜伏期约10~14d，病毒先在呼吸道上皮细胞内增殖，然后进入血流，出现第一次病毒血症，在全身淋巴组织和单核吞噬细胞内增殖后，再次入血形成第二次病毒血症，此时眼结膜、口腔粘膜、皮肤、呼吸道、消化道、泌尿道、小血管受染产生病变，表现为细胞融合成多核

巨细胞，核内和胞浆内形成嗜酸性包涵体等。少数病例病毒尚可侵犯中枢神经系统。临床表现除高热、畏光，还有鼻炎、眼结膜炎、咳嗽三个主要前驱症状，此时病人传染性最强。发病 2d 后，口颊粘膜出现 Koplik 斑，为周围绕有红晕的灰白色小点，对临床早期诊断有一定意义。随后 1~2d，全身皮肤相继出现红色斑丘疹，先是颈部，然后为躯干，最后到四肢，出疹期病情最严重。4d 后消退、脱屑。麻疹一般可治愈。但患者抵抗力低下，护理不当，死亡率亦可高至 25% 以上。最严重的并发症为脑炎，发病率为 0.5%~1.0%，其中死亡率为 5%~30%。最常见的并发症为肺炎，占麻疹死亡率的 60%。

亚急性硬化性全脑炎 (subacute sclerosing panencephalitis, SSPE) 是麻疹晚期中枢神经系统并发症，发生率为 0.6~2.2/10 万。从麻疹发展到 SSPE 平均 7 年，患者大脑功能发生渐进性衰退，表现为反应迟钝、精神异常、运动障碍，病程 6~9 个月，最后导致昏迷死亡。SSPE 患者血液和脑脊液中有异常高水平的麻疹病毒抗体，但病毒分离困难。现认为患者脑组织中麻疹病毒为缺陷病毒，特别是 M 基因突变，M 蛋白功能异常。

麻疹自然感染后一般可获牢固免疫力，抗体可持续终生，母亲抗体能保护新生儿。麻疹的恢复主要靠细胞免疫，T-细胞缺陷者可导致麻疹病毒持续感染，导致死亡。但细胞免疫也是引起麻疹出疹、麻疹后脑炎的原因。此外，麻疹感染 (包括麻疹减毒活疫苗) 还可引起暂时性免疫抑制，如 IV 型超敏反应、OT 试验的阴转和对新抗原免疫应答的减弱。

微生物学检查法 临床诊断，一般无需进行实验室检查。

防治原则 鸡胚细胞麻疹病毒减毒活疫苗是当前最有效疫苗之一。为此，WHO 已将消灭麻疹列入继消灭脊髓灰质炎后的主要目标。我国多年来已将麻疹病毒减毒活疫苗应用于计划免疫中，初次免疫我国定在 8 月龄，接种后，抗体阳转率达 90% 以上，但免疫力仅维持 10~15 年，因此 7 岁时必须进行再次免疫。自实施常规免疫接种以来，麻疹发病率大幅度下降，全国已降至 10/10 万左右，有的地区连续多年小于 1/10 万。

对接触麻疹的易感者，可紧急用丙种球蛋白或胎盘球蛋白进行人工被动免疫，防止发病或减轻症状。

八、腺病毒

腺病毒 (adenovirus) 是一群分布十分广泛，能在呼吸道、肠粘膜上皮细胞中引起溶解性感染；在淋巴样和腺样细胞中引起潜伏感染和在啮齿动物细胞中引起转化感染的病原体。目前约有 100 个血清型，其中能感染人类的至少有 42 个型别，分 A~F 6 个亚组。

生物学性状 为 dsDNA 无包膜病毒。核衣壳呈二十面体立体对称，直径 70~90nm，12 个顶角的五邻体 (penton) 由基底和一根纤维突起组成，对细胞有毒性。纤维突起含有病毒吸附蛋白和型特异性抗原，还具有血凝性。其早期基因产物 E1A 能与抑癌基因 P53 结合，阻断细胞凋亡，促进细胞转化。腺病毒对理化因素的抵抗力较强，

耐酸、耐蛋白酶和胆汁的作用。

致病性与免疫性 主要通过呼吸道、胃肠道和密切接触从人传播到人，可通过手将病毒传播到眼，消毒不充分的游泳池还能引起腺病毒感染的暴发流行。腺病毒主要感染儿童，大多无症状，成人感染不常见。与腺病毒感染相关的临床病症主要是3岁以下小儿的急性咽炎热和较大儿童的咽结膜炎热，多见于暴发流行；急性呼吸道感染和病毒性肺炎；滤泡性结膜炎及与职业有关的流行性角膜结膜炎；胃肠炎与腹泻。15%急性胃肠炎住院病人是由腺病毒引起的。40、41、42三型腺病毒主要引起婴儿腹泻，称肠道腺病毒。此外，还能导致其它一些临床疾病，如小儿的急性出血性膀胱炎。

腺病毒能编码产生几种早期蛋白以逃避宿主的防御机制，这可能与病毒潜在的致癌能力有关，已经证明有少数腺病毒（12、18型等）可引起细胞转化和动物肿瘤。

病后机体产生的相应抗体对同型病毒具有保护作用。

微生物学检查法 常用病毒分离法。取急性期患者咽拭、眼结膜分泌物，接种原代人胚胎肾细胞或传代 HeLa 细胞等上皮样细胞，根据细胞肿胀、变圆、聚集成葡萄串状等典型病变再进行鉴定。此外，亦可采用血清学方法、免疫学方法或分子生物学试验进行诊断。

因腺病毒对新生地鼠有致癌作用，人们对灭活和减毒的完整病毒疫苗有疑虑，亚单位疫苗可解决腺病毒的安全问题，目前尚无理想疫苗问世。

九、风疹病毒

风疹病毒 (*rubella virus*) 分类上属披膜病毒科 (*Togaviridae*)，是风疹 (又名德国麻疹) 的病原体。1962 年首次分离成功。风疹病毒只有一个血清型，人是该病毒唯一的自然宿主。

病毒经呼吸道传播，在局部淋巴结增殖后，经病毒血症播散全身。儿童是主要易感者，表现为发热，麻疹样出疹，但较轻，伴耳后和枕下淋巴结肿大。成人感染症状较严重，除出疹外，还有关节炎和关节疼痛，血小板减少，出疹后脑炎等。风疹病毒感染最严重的问题是能垂直传播导致胎儿先天性感染。我国约 5% 育龄妇女在儿童期未感染过风疹病毒，仍为易感者。孕妇在孕期 20 周内感染风疹病毒对胎儿危害最大，胎儿细胞的正常生长、有丝分裂和染色体结构可因感染而发生变化，引起胎儿畸形或先天性风疹综合征 (congenital rubella syndrome, CRS)。婴儿出生后表现为先天性心脏病、先天性耳聋、白内障等三大主症及其他风疹综合征，如黄疸性肝炎、肝肿大、肺炎、脑膜脑炎等。风疹病毒自然感染后可获得持久免疫力，孕妇血清抗体有保护胎儿免受风疹病毒感染的作用。风疹减毒活疫苗接种是预防风疹的有效措施，常与麻疹、腮腺炎组合成三联疫苗 (MMR) 使用。我国自己研制的风疹减毒活疫苗 BRD II 免疫原性良好，现已市售。

十、副流感病毒

副流感病毒 (*parainfluenza virus*) 为引起轻型流感样症状的呼吸道病毒，但在婴幼儿也可引起严重的下呼吸道感染。

病毒通过飞沫或人与人接触传播。初次感染多发生在5岁以下，病毒在上呼吸道上皮细胞内增殖，约有25%的病例病毒可扩散到下呼吸道，引起细支气管炎和肺炎，2%~3%可引起严重的哮喘（急性喉气管支气管炎）。2岁以下婴幼儿易引起下呼吸道感染，成人则以上呼吸道感染多见。哮喘常由1型、2型引起，3型引起的下呼吸道感染发病率仅次于呼吸道合胞病毒，4型一般不引起严重疾病。1型和3型亦是医院内感染的重要病原体。保护性免疫包括细胞免疫和sIgA，但持续时间短，再感染常见。尚无理想的防治措施。

十一、鼻病毒和冠状病毒

鼻病毒 (*rhinovirus*) 为小RNA病毒科成员之一，球形，直径28~30nm，为+ssRNA病毒，核衣壳为二十面体立体对称，无包膜。至少100多个血清型。能在人二倍体成纤维细胞中生长，最适温度为33℃。对酸敏感，pH3.0迅速灭活，该特性可用于区别鼻病毒与肠道病毒。

鼻病毒是普通感冒重要的病原体，引起至少50%的上呼吸道感染，具有自限性。婴幼儿和有慢性呼吸道疾患者，常导致支气管炎和支气管肺炎。手是最主要的传播媒介，其次为飞沫传播。病毒经鼻、口、眼进入体内，主要在鼻咽腔中复制。早秋和晚春为发病季节。由于病毒型别多和存在抗原漂移现象，鼻病毒的免疫非常短暂，再感染极为常见。IFN干扰素有一定防治作用。

冠状病毒 (*coronavirus*) 因包膜上有排列间隔较宽的突起，使整个病毒颗粒外形如日冕或冠状，故名。冠状病毒引起10%~30%普通感冒，其重要性仅次于鼻病毒，居第二位，各年龄组均可发病，婴幼儿为主。冬季为流行高峰，飞沫传播，病毒仅侵犯上呼吸道，引起轻型感染，但可使原有呼吸道感染急性加重，甚至引起肺炎。病后免疫力不强，尽管血清抗体存在，再感染仍可发生。冠状病毒还与人类腹泻和胃肠炎有关。

展 望

结核分枝杆菌 历经一个多世纪的探索和反复实践，人们对致病性分枝杆菌进行了详尽、系统的研究，使结核病和麻风病曾经或正在世界许多地区得到有效控制，特别是结核病的分子流行病学研究进展较快，主要表现在：

1. 基因组研究 1998年，全球第一个结核分枝杆菌标准株H37Rv的全基因组图谱已完成，是结核病研究的重要进展。H37Rv基因组包含4 411 529个碱基对，4 000个基因。全基因序列的完成，为该病原的遗传进化、分型、基因功能和疫苗研制、发病机制、诊治和预防等众多研究提供了重要基础。

2. 耐药性 自90年代初以来，结核分枝杆菌的耐药机制的研究已深入到分子水平。几种主要化疗药物耐药性的分子机制已得到初步阐明，都涉及到相关基因的突变，其中涉及利福平耐药性的基因为RNA聚合酶 β 亚单位基因 (*rpoB* 基因)，异烟肼的耐药基因为过氧化氢-过氧化物酶基因 (*KatG* 基因) 和异烟肼靶蛋白基因 (*inhA* 基因)。二线抗结核药物喹诺酮类的耐药性与螺旋酶A亚单位基因 (*gyrA* 基因) 突变有关。尼

克酰胺酶基因 (pncA 基因) 的突变涉及结核分枝杆菌对吡嗪酰胺的耐药性。研究认为, 结核分枝杆菌多重耐药性的分子机制是各相应基因突变的积累造成的。

3. 结核分枝杆菌易感性 目前认为至少有以下几种基因与结核病的个体易感性有关: ① *nramp1* 基因: 可影响巨噬细胞的激活途径, 也影响 MHC - II 等涉及巨噬细胞重要基因的表达; ② 甘露醇结合蛋白 (mbp) 基因: 在感染结核杆菌的个体中, 该蛋白可以协助细菌在巨噬细胞中扩散; ③ 一氧化氮合成酶 (*nos2*) 基因: 许多抗结核免疫途径最终都涉及到 *nos2*。*nos2* 基因失活的纯合子小鼠 *nos2* (-/-) 对结核分枝杆菌高度易感, 而且这种易感性并不依赖 *nramp1* 基因, 说明 *nos2* 基因是结核病的一个关键的易感基因。但易感性是由众多宿主基因共同决定的, 涉及病原与宿主的相互作用, 单个基因的出现或变化并不能完全决定个体对结核病的易感性。现有的研究大多数是基于单个或数个基因, 因此对多个基因进行综合研究来阐明遗传因素的作用将十分重要。

4. 结核病研究中的问题

(1) 分枝杆菌菌苗: 1921 年 BCG 首次用于人抗结核菌苗以来, 是迄今广泛使用的一种最古老的菌苗, 对结核病的控制作出了历史性的贡献。但是, BCG 在不同人群, 其保护性差异较大, 波动于 0~80% 之间。存在着两个不足: ① 不能防止结核分枝杆菌感染, 只是减少重症结核病的发病率; ② 同时诱发两种反应: 即保护性反应和超敏反应; ③ AIDS 病人或 HIV 携带者接种 BCG 发生全身性感染。这些问题促进人们寻找新的替代疫苗。核酸疫苗是继传统疫苗及基因工程亚单位疫苗之后的第三代疫苗。核酸疫苗不仅具有预防疾病的作用, 同时还具有治疗疾病的作用。因此, 人们期望, 在 21 世纪分枝杆菌核酸疫苗将成为生物高技术产业中的重要组成部分, 它必将给人类带来巨大的社会效益和经济效益。

(2) 治疗存在的困难: 由于发达国家和发展中国家结核病再次肆虐, 作为全球性的卫生问题, 最近再次引起了对结核病的关注。据美国疾病控制中心 (CDC) 预测, 1990 年至 2005 年间新诊断为活动性结核的患者每年增加数将从 750 万上升到 1 180 万人, 结核病发病率将从每年 143/10 万人口增至 176/10 万人口, 而结核病的死亡人数每年从 250 万人升至 350 万人。HIV 的全球流行是近年来结核病再次流行的主要原因。与此同时, 多重耐药对化学药物治疗和控制结核病的有效性也是一大威胁。不幸的是, 在发展中国家的卫生规划中结核病往往不被重视, 而许多工业化国家对结核病的公共卫生和临床机构的拨款也已减少。造成了全世界死于结核病的人数超过其他任何一种微生物病原体所引起的死亡数。

肺炎链球菌 越来越多的研究表明肺炎链球菌的毒力因子与肺炎链球菌的某些蛋白质可作为炎症介质或与直接攻击宿主细胞有关, 其可能的致病机制是:

1. 溶血素 溶血素是肺炎链球菌产生的破坏细胞膜的巯基激活毒素, 位于细胞内, 经自溶释放出来, 能溶解真核细胞, 妨碍细胞和免疫系统可溶分子的功能, 对宿主造成损害。有趣的是, 溶血素与 C-反应蛋白 (CRP) 有一些序列同源。CRP 是急性时期的反应蛋白, 能部分保护小鼠免受肺炎链球菌的攻击。与肺炎链球菌细胞壁多糖的磷酸胆碱残基结合后, CRP 通过与 C1q 结合激活补体来增强炎症过程。因溶血素可以通过与 CRP 竞争性结合 C1q, 从而抵消 CRP 的保护作用。

2. 自溶酶 肺炎链球菌的自溶酶 (autolysin) 是 36kDa 的 N-乙酰胞壁酸-L 丙氨酸酰胺酶, 位于肺炎链球菌细胞壁, 与 LTA 的胆碱分子相连。LTA 与肺炎链球菌细胞壁上糖脂相连时自溶酶无活性, 原因可能是自溶酶没有接近它的底物, 因此 LTA 是体内调节自溶酶活性的重要物质。当肺炎链球菌细胞壁合成停止或营养物质缺乏或用抗生素如青霉素治疗时, LTA 与自溶酶间的关系被破坏, 此时自溶酶就水解聚糖链和细胞壁含胆碱的肽链间的共价结合, 导致细胞自溶和炎症反应, 并促使溶血素从细胞浆中释放出来, 对宿主造成损害。

3. 神经氨酸酶 肺炎链球菌产生的神经氨酸酶 (neuraminidase) 能增强肺炎链球菌对宿主细胞的粘附, 破坏宿主细胞表面或体液中糖脂、糖蛋白末端的唾液酸残基, 暴露出肺炎链球菌粘附素的受体, 从而增强肺炎链球菌对宿主细胞的粘附。

军团菌属 军团菌属是一个新发现的菌属, 各种天然水源 (河水、湖水、溪水等) 及冷、热水管道系统 (如自来水、空调系统冷却塔水) 是本菌的贮存场所。可以说这种细菌在自然界普遍存在。军团菌病呈世界范围分布, 但以工业发达国家多见, 发展中国家的工业发达地区亦多见。

军团菌病除暴发流行外, 多半引起散发性社区获得性肺炎。在旅游人员中有军团病的暴发和散发病例, 此外, 还存在着医院内感染等问题。我国自从改革开放以来, 空调系统冷却塔、加湿器和热水器的使用逐渐普及。因此, 如果管道系统的水源被军团菌污染, 亦增加军团病流行的危险性。军团菌造成空气、土壤及水源的污染也是发展中国家城市内的公共卫生问题。深入开展军团菌病各个领域的研究, 包括其分子流行病学、分子细菌学、微生物学、诊断学等, 加强对本病的监测和防治是很有必要的。

流行性感胃病毒

1. 流感病毒监测 流感是国际上第一个于 1948 年就实行全球监测的一种传染性疾病。自人流感病毒发现至今已经有 60 余年, 在此期间人流感病毒曾出现过 3 次 (如 H₁N₂ 也计算在内, 共 4 次) 大流行, 均首发于我国, 而且近年来研究表明绝大多数亚型内变种也均首发于我国, 其原因至今仍是谜。因此监测流感病毒在我国显得尤为重要。流感监测包括疾病监测和病毒学监测。疾病监测主要是确定疾病流行程度和严重性, 区分流感和流感相似疾病, 而病毒学监测为研制新疫苗提供依据。WHO 根据以下三种数据确定每年推荐的流感疫苗株: ①世界范围内分离的流行病毒株基因和抗原分析资料; ②流行病学和病毒学数据确定是否有新的毒株在疾病暴发中出现; ③已有的疫苗株是否可诱导机体产生针对新发现毒株的抗体反应。

2. 流感病毒研究现状 因流感病毒易获得培养, 同时也比较安全, 而且其抗原性千变万化, 故人们多用它作模型进行各方面的基础研究, 使得流感病毒成为病毒中结构与功能研究比较彻底的病毒之一。目前, 流感病毒基因研究从个别、零散走向系统和全面, 至今已经进入流感病毒基因进化、发生学的研究阶段。

3. 抗流感病毒药物 由于流感病毒抗原变异, 常规疫苗目前尚不能有效预防流感暴发与流行, 因此抗流感病毒药物研究在流感治疗中具有重要意义。已应用和正在研究的抗流感病毒药物有金刚烷胺类药物, 流感病毒神经氨酸酶抑制剂、流感病毒受体阻断剂和抗流感病毒反义寡核酸等。金刚烷胺和金刚乙胺是常用临床治疗药物, 但对乙型流

感无效，易产生耐药性并具有神经毒性；流感病毒神经氨酸酶抑制剂研究已进入临床试验阶段，显示了诱人的前景；流感病毒受体阻滞剂具有明显的抗病毒作用；抗流感病毒反义寡核苷酸体外实验证明能特异性抑制病毒复制，有可能成为新一代抗流感特效药。

肺炎衣原体 关于肺炎衣原体感染的报道日渐增多，无显著的地区性和性别差异。从健康人可分离出肺炎衣原体，表明存在着隐性感染者和无症状携带者。除引起呼吸道感染外，近年来大量研究结果表明肺炎衣原体慢性感染与体内动脉粥样硬化的形成及发展有较密切关系。如在南非 36 例冠状动脉硬化者的尸检结果中，有 20 例在硬化斑内检测到肺炎衣原体并在电镜下观测到硬化斑中的梨形小体。但有些问题还值得进一步探索，诸如肺炎衣原体感染与动脉粥样硬化是何因果关系？肺炎衣原体是单独起作用还是与其它因素共同发挥协同作用而致血管内皮病变？肺炎衣原体如何进入血管内皮细胞？其在局部的病理作用机制如何？以及从感染病灶能否分离培养出肺炎衣原体等都还需要研究。

到目前为止，世界各地的肺炎衣原体临床分离株的 DNA 同源性在 90% 以上，故都是 TWAR 株，属同一血清型。但最近根据 MOMP 基因的同源性和单克隆抗体检测结果，发现肺炎衣原体种内增加了两个新的、非人源的衣原体株，即从考拉树熊眼结膜分离的 KC 株和从马呼吸道分离的 N16 株。在 1999 年 4 月发表的衣原体目分类学资料，把肺炎衣原体列入衣原体科，嗜肺炎衣原体新复合群属。其中包括 TWAR 生物型、考拉树熊生物型和马生物型。随着实验技术的发展，将会发现更多的新的肺炎衣原体临床分离株。

流感嗜血杆菌 B 型流感嗜血杆菌 (*haemophilus influenzae* type B) 是引起小儿脑膜炎的主要病原菌之一。由于抗体可直接作用于细菌的多糖荚膜和磷酸多核糖核醇 (polyribosylribitol phosphate, PRP)，故疫苗对抗这种病原体非常重要。但是，纯化的 B 型流感嗜血杆菌多糖荚膜对于免疫系统尚未完全成熟的婴儿来说是不具备免疫原作用的，若将这种多糖荚膜与一种蛋白携带物结合，例如与 B 组脑膜炎双球菌外膜蛋白复合体结合 (PRP-OMP) 或与破伤风类毒素蛋白结合 (PRP-T)，或与白喉类毒素蛋白结合 (PRP-D)，或与 B 型流感嗜血杆菌其他毒素蛋白 CRM19 结合 (PRP-HbOC) 就可在婴儿体内表现免疫原性，即 B 型流感嗜血杆菌混合疫苗，从而可作为一种理想疫苗来应用。主要应用对象为：健康婴幼儿、早产儿、HIV 感染的儿童、患镰状红细胞病婴幼儿、骨髓移植者等容易患细菌感染性疾病者。

(李 凡)

第十四章 消化道途径传播的微生物

消化道途径传播指病原微生物在肠道中增殖，经粪便排出污染环境，再通过各种媒介，如水、手、食物、器皿等经口进入，即粪-口传播途径。很多细菌、病毒主要以这种、或只有以这种途径传播才可引发疾病。这类微生物所致疾病的临床症状可分为两大类，一类以胃肠道症状为主；另一类主要引起肠道外疾病。前者如致病性大肠埃希菌、沙门菌属、志贺菌属、霍乱弧菌、幽门螺杆菌、空肠弯曲菌、轮状病毒、急性胃肠炎病毒等；后者如肠道病毒、甲型肝炎病毒、戊型肝炎病毒等。另有一些病原微生物，他们有多种传播途径，包括经唾液传播，病原体从口腔粘膜等侵入机体，如单纯疱疹病毒Ⅰ型、巨细胞病毒、EB病毒、人疱疹病毒6型、7型、甚至HIV等，但都不在本章讨论范围之列。

本章还将介绍几种以食物中毒为主要危害的病原微生物，如副溶血性弧菌、肉毒梭菌、蜡样芽胞杆菌等。对一些既可引起食物中毒，又可引起其他疾病的病原微生物，请详见相关章节。这类微生物有金黄色葡萄球菌、某些致病性大肠埃希菌、沙门菌、产气荚膜梭菌、星状病毒等。真菌毒素引起的食物中毒与细菌、病毒性食物中毒有显著区别，本章也将不涉及。

第一节 埃希菌属

埃希菌属 (*Escherichia*) 有5个种，其中大肠埃希菌 (*E. coli*) 是最常见的临床分离菌。

大肠埃希菌自婴儿出生后数小时就进入肠道，并终生伴随。当宿主免疫力下降或菌侵入肠外组织器官，可引起肠外感染。有些特殊菌株具有毒力因子能导致腹泻及肠道外、特别是尿道的感染。

大肠埃希菌在环境卫生和食品卫生学中，常用作被粪便污染的检测指标。在分子生物学和基因工程研究中，大肠埃希菌是重要的实验材料。

一、生物学性状

为 $0.4 \sim 0.7 \mu\text{m} \times 1 \sim 3 \mu\text{m}$ 中等大小的革兰阴性杆菌(14-1)。无芽胞，多数菌株有周身鞭毛。有普通菌毛和性菌毛。肠外感染菌株常有多糖包膜(微荚膜)。

兼性厌氧，营养要求不高，在普通琼脂平板培养 37°C 24h后，形成直径 $2 \sim 3\text{mm}$ 的圆形凸起灰白色S型菌落。有些菌株在血琼脂平板上呈 β 溶血。在液体培养基中呈均匀浑浊生长。其生长温度范围广($15 \sim 45^\circ\text{C}$)。有些菌株对热的抗性较强，在 60°C 15min或 55°C 60min仍可存活。

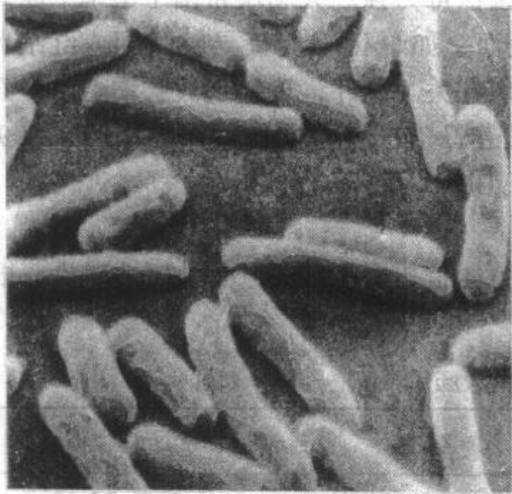


图 14-1 大肠埃希菌
扫描电镜 ×10 000

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，可与沙门菌、志贺菌等区别。吲哚、甲基红、VP、枸橼酸盐（IMViC）试验结果为“++--”。凡 IMViC 试验为此结果，则判为典型的大肠埃希菌，表明被检物已有粪便污染，有传播肠道传染病的危险。

DNA-DNA 重组试验表明大肠埃希菌和志贺菌属于同一种遗传类型，因此可能有介于这两种细菌的中间株存在。某些无动力、厌氧、迟缓发酵或不发酵乳糖的菌株可能为这类菌中的一部分，它们易引起分类上的困难，现认为其系非典型大肠埃希菌。

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。通常使用的分型方法为凝集试验。大肠埃希菌的 O 抗原超过 170 种。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 K 抗原的存在而造成的不凝集现象。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中的细菌在 O 抗原上存在很多交叉反应。H 抗原超过 56 种，大多为单相，但亦存在双相菌株。H 抗原基本无交叉反应。检测 H 抗原必须采用半固体培养物。K 抗原在 100 种以上。根据温度对凝集性、抗原性的效应以及细菌菌株与抗体的结合力的不同影响可将 K 抗原分为 L、A、B 三型。一个菌株中，一般只含一个型别的 K 抗原。表示大肠埃希菌血清型的方式是按 O:K:H 排列，例如 O111:K58 (B4):H2。

二、致病性

（一）肠道外感染

肠道外感染以泌尿系统和化脓性感染最为常见，如腹膜炎、阑尾炎、手术创口等化脓性感染；在婴儿、老人或免疫力低下者大肠埃希菌可引起败血症；在新生儿，还可引起脑膜炎。80%以上引起新生儿脑膜炎的大肠埃希菌具有 K1 抗原。在泌尿系统感染中，尿道炎、膀胱炎、肾盂肾炎常见。大肠埃希菌常来源于病人肠道，细菌逆向上行引起感染。女性尿道较短、较宽，不能完全有效防止细菌上行，故女性泌尿道感染比男性高；性交、怀孕亦为危险因素。在男性，前列腺肥大也是最常见的诱因。此外，因尿道阻塞、尿道结石、先天畸形、神经功能紊乱等引起的尿潴留在两性均易发生尿道感染。插管和膀胱镜也有可能带进细菌，造成感染的危险。这些引起泌尿系统感染的血清型统称为尿路致病性大肠埃希菌（uropathogenic *E. coli*, UPEC）。

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则引起肠外感染。O 和 K 抗原的多糖在无特异性抗体存在的情况下，能保护细菌对抗补体和吞噬细胞的杀菌作用。绝大多数从人类肠道外感染中分离的大肠埃希菌能产生溶血素，动物实

验证明,产生溶血素的菌株比不产生溶血素的菌株毒力强。大肠埃希菌 I 型菌毛能介导细菌粘附到人和动物带有甘露糖残基的细胞表面。如 P 菌毛能特异粘附到人红细胞 P 血型抗原上和尿道上皮细胞上。这种粘附与致病有关。此外,还发现大肠埃希菌表面还存在类似菌毛样的纤维蛋白,在引起腹泻、尿道感染中有重要作用。如 K88、K99 抗原、定植因子抗原 (colonization factor antigen, CFA)。

(二) 腹泻

某些血清型可引起人类腹泻,与食入污染的食品和饮水有关,为外源性感染。根据其致病机制不同,主要有五种类型(表 14-1)。

表 14-1 引起腹泻的大肠埃希菌

菌株	作用部位	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
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粘膜上皮细胞	28ac、29、112ac、124、 136、143、144、152、 164、167
EPEC	小肠	婴儿腹泻;水样便,恶心,呕吐,发热	质粒介导粘附和破坏上皮细胞	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 SLT - I 或 SLT - II,中断蛋白质合成	157、26、111
EAggEC	小肠	婴儿腹泻;持续性水样便,呕吐,脱水,低热	质粒介导集聚性粘附上皮细胞,阻止液体吸收	42、44、3、86 等

肠产毒素型大肠埃希菌 (enterotoxigenic *E. coli*, ETEC) 是 5 岁以下婴幼儿和旅游者腹泻的重要病原菌。污染的水源在疾病传播中有重要作用。临床症状可从轻度腹泻至严重的霍乱样腹泻。致病物质主要是肠毒素和定植因子,后者可使细菌粘附到小肠上皮细胞上。

ETEC 的肠毒素有不耐热和耐热两种,均由质粒介导。不耐热肠毒素 (heat labile enterotoxin, LT) 与霍乱弧菌产生的肠毒素密切相关,对热不稳定,65℃30min 可被破坏。LT 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 亚单位与肠粘膜上皮细胞表面的 GM1 神经节苷脂结合后,使 A 亚单位穿越细胞膜与腺苷环化酶作用,令胞内 ATP 转化为 cAMP。胞质内 cAMP 水平增高后,导致肠粘膜细胞内水、

钠、氯、碳酸氢钾等过度分泌至肠腔，导致腹泻。LT 一般不引起肠粘膜的炎症或组织病变。LT 与霍乱肠毒素两者间的氨基酸组成同源性达 75% 左右；它们的抗原性高度交叉；两者 B 亚单位的肠粘膜结合受体都是同一个 GM1 神经节苷脂。

ETEC 的耐热肠毒素 (heat stable enterotoxin, ST) 为低分子量多肽，对热稳定，100℃ 加热 20 min 仍不失活性。免疫原性差。ST 的作用机制与 LT 的不同，其引起腹泻是通过激活肠粘膜细胞上的鸟苷环化酶，使胞内 cGMP 量增多而导致腹泻。ST 活性发挥迅速，而 LT 的作用较滞后。

LT 又可分 LT-I 和 LT-II 两型，ST 亦可分 STa 和 STb。LT-I 型和 STa 型由人源株产生，而 LT-II 型 STb 型则源自动物菌株。

菌毛是 ETEC 致病的另一重要因素。能形成肠毒素而无菌毛的菌株，不会引起腹泻。ETEC 菌毛的粘附作用具有高度专一性，这类粘附素 (adhesin) 常被称之为定植因子 (colonization factor)。例如 I 型菌毛、CFA/I (colonization factor antigen type I) 和 CFA/II 等；CFA 与 I 型菌毛不同的是其作用不被甘露糖所抑制。大肠埃希菌第一个被认识的定植因子是猪大肠埃希菌的表面抗原 K88，菌毛性质由转移性质粒控制。K88 在小猪肠炎中具有重要的致病作用，实验表明大肠埃希菌 O141 失去 K88 质粒，其引起小猪腹泻的能力即随之消失；倘若从其它大肠埃希菌重新导入 K88 质粒，则毒力又重新恢复。猪有一基因编码小肠上皮细胞的 K88 受体，失去该受体，带有 K88 抗原的大肠埃希菌则不能在小肠上定植。定植因子除 K88 还有 K99、987P、F41、F107 等，K99 是猪、羊、牛 ETEC 所共有。定植因子具有很强的抗原性，能刺激宿主产生特异性抗体。在兽医界已制成口饲菌毛疫苗，在猪群中人工免疫后，可抵抗猪 ETEC 的侵袭。

CFA/I 和 CFA/II 均由质粒介导，这些质粒也可同时编码 LT 和 (或) ST。

与 ETEC 致病有关的物质尚有其内毒素 LPS，以及具有抗吞噬作用的 K 抗原等。

肠侵袭型大肠埃希菌 (enteroinvasive *E. coli*, EIEC) 较少见，主要侵犯较大儿童和成人。所致疾病很像菌痢，腹泻呈脓血便，有里急后重，故曾称志贺样大肠埃希菌 (shigelloid *E. coli*)。EIEC 不产生肠毒素，能侵袭结肠粘膜上皮细胞并在其中生长繁殖。细菌经消化道进入大肠后，穿过粘液层，粘附到肠上皮细胞，引起细胞内吞，被带入细胞内空泡中。其毒力主要表现在能使空泡破坏，细菌进入上皮细胞的胞浆中增殖，最后杀死细胞，再扩散到邻近细胞，导致组织破坏和随后的炎症发生。EIEC 的侵袭与一种大质粒 (120 ~ 140MD) 有关，其携带有编码与侵袭有关的外膜蛋白的基因，以及这些蛋白插入细胞膜所必须的基因。质粒基因还与细菌从胞浆空泡中逃逸及侵入邻近宿主细胞有关。带有该质粒的菌株可引起豚鼠角膜 Sereny 试验阳性，并可侵袭 HeLa 细胞。EIEC 的大质粒与志贺菌编码侵袭性基因的大质粒高度同源，用侵袭性基因作探针，EIEC 和志贺菌中的有毒株均能与之发生特异性反应。

EIEC 无动力、生化反应和抗原结构也近似志贺菌。因此，若不注意，容易误诊为志贺菌。

肠致病型大肠埃希菌 (enteropathogenic *E. coli*, EPEC) 是在流行病学研究中最

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，特别在热带国家。在医院中常引起暴发流行，但在发达国家已不常见。该菌成人感染少见。EPEC 不产生肠毒素及其它外毒素，无侵袭力。病菌在十二指肠、空肠和回肠上段粘膜表面大量繁殖，粘附于微绒毛，导致刷状缘被破坏、微绒毛萎缩、上皮细胞排列紊乱和功能受损，造成严重腹泻。

EPEC 粘附和破坏肠粘膜结构的步骤有三：①Bfp (bundle forming pili) 介导菌与细胞的疏松粘附，Bfp 由 EAF (EPEC adherence factor) 质粒上的 *bfpA* 基因编码和受 *dsbA* 基因的调控使之活化；②信号传递，由染色体上的 *eaeB* (*E. coli* attachment B) 基因介导，*eaeB* 基因受 *per* (plasmid encoded regulator) 基因产物作用而活化，紧密粘附素 (intimin) 介导菌与细胞的紧密结合。③紧密粘附素由染色体上 *eaeA* 基因编码，它是一种外膜蛋白。在此最后阶段，细胞内肌动蛋白重排，导致微绒毛的破坏，严重干扰对肠道中液体等的吸收功能。

EPEC 对细胞的粘附有两种类型。局限性粘附指病菌呈块状粘附在肠粘膜细胞表面的某一部分；弥散性粘附是指病菌主要以单个分散粘附在细胞表面。由于两者在生物学特征、致病特点等方面存在较大差异，有学者建议称弥散粘附的 EPEC 为 EPEC II 型或弥散粘附型大肠埃希菌 (diffusely adherent *E. coli*, DAEC)。

肠出血型大肠埃希菌 (enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC) 亦称为 vero 毒素大肠埃希菌 (verotoxigenic *E. coli*, VTEC)。为出血性结肠炎和溶血性尿毒综合征的病原体。1982 年首先在美国发现，其血清型为 O157:H7。以后在世界各地有散发或地方小流行。1996 年日本大阪地区发生流行，患者逾万，死亡 11 人。5 岁以下儿童易感染，感染菌量可低于 100 个。症状轻重不一，可为轻度水泻至伴剧烈腹痛的血便。约 10% < 10 岁患儿可并发有急性肾衰竭、血小板减少、溶血性贫血的溶血性尿毒综合征 (hemolytic uremic syndrome, HUS)，死亡率达 10% 左右。污染食品是 EHEC 感染的重要传染源，牛可能是 O157:H7 的主要储存宿主。

EHEC 的致病因子主要有菌毛和毒素。病菌进入消化道后，由紧密粘附素介导与宿主末端回肠、盲肠和结肠上皮细胞结合，然后释放毒素，引起血性腹泻。该毒素能使 vero 细胞产生病变，故称 vero 毒素；又因同志贺菌的毒素在生物学特性、物理特性和抗原性等方面相似，亦称志贺样毒素 (shiga-like toxin, SLT)；实则 vero 毒素和 SLT 之间仅 1 个氨基酸不同，有学者认为 EHEC 的 vero 毒素即志贺毒素 (shiga toxin, ST)。EHEC 的 VT 分两型，VT-I 与痢疾志贺菌的 ST 基本相同，可被抗志贺菌的抗毒素中和。VT-II 则与 ST 有 60% 的同源。两型毒素均由溶原性噬菌体介导。VT 由 1 个 A 亚单位和 5 个 B 亚单位组成。B 亚单位与宿主细胞特异糖脂结合；A 亚单位内在化后裂解成两个分子，其中 A1 片段与 28SrRNA 的 4 324 位腺嘌呤作用，使核糖体灭活，终止蛋白质合成。HUS 在产生 VT-II 的 EHEC 中较多，实验表明 VT-II 能选择性地破坏肾内皮细胞。与 EHEC 致病有关的尚有内毒素和溶血素。

EaeA 基因编码紧密粘附素，它与 EPEC 的 *eaeA* 高度相似。*stx* 基因编码 VT 毒素。溶血素 *hlyA* 基因与大肠埃希菌 α 溶血素基因 (*hlyA*、*hlyC*) 约有 60% 的同源

性。

能产生 VT 的大肠杆菌血清型至少有 160 种，可从人、动物，特别是牛和猪中分离，另发现非大肠杆菌中亦有产 VT 的菌株，如枸橼酸菌属中的某些种。产 VT 的大肠杆菌血清型以 O157:H7 为主，但不同国家的流行株不一定相同。例如美国、日本为 O157:H7；意大利为 O111:H11；澳大利亚为 O111:H⁻；德国为弗劳地枸橼酸杆菌 (*Citrobacter freundii*) 等。

肠集聚型大肠埃希菌 (enteroaggregative *E. coli*, EaggEC) 引起婴儿持续性腹泻，脱水，偶有血便。不侵袭细胞，可产生毒素和粘附素。毒素为肠集聚耐热毒素 (enteroaggregative heat-stable toxin, EAST)，抗原与 ETEC 的 ST 有关，可导致大量液体分泌。另一毒素似大肠埃希菌的 α 溶血素。有 4 种不同形态的菌毛，其中集聚性粘附菌毛 I (aggregative adherence fimbriae I, AAF/I) 与 EPEC 中 *bfp* 基因编码的菌毛很相似。细菌通过菌毛粘附于肠粘膜上皮细胞，在细胞表面聚集，形成砖状排列，并产生毒素。

三、微生物学检查法

(一) 临床标本的检查

标本 肠外感染采取中段尿、血液、脓液、脑脊液等；腹泻则取粪便。

分离培养与鉴定

1. 肠外感染

(1) 涂片染色检查：除血液标本外，均需作涂片染色检查。脓、痰、分泌物可直接涂片，革兰染色后镜检。尿液和其它液体先低速离心，再取沉淀物作涂片。

(2) 分离培养：血液接种肉汤增菌，待生长后再移种血琼脂平板。体液标本的离心沉淀物和其它标本直接划线分离于血琼脂平板。35 ~ 37℃ 孵育 18 ~ 24h 后观察菌落形态。

(3) 鉴定：初步鉴定根据 IMViC (+ + - -) 试验，最后鉴定靠系列生化反应。尿路感染尚需计数菌落量，每毫升 ≥ 10 万才有诊断价值。

2. 肠内感染 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杆菌后，再分别检测不同类型致腹泻大肠杆菌的肠毒素、毒力因子和血清型等特征。

(1) ETEC：过去用动物或细胞培养测定 LT 或 ST，较为复杂；现可用 ELISA 法、RIA 法或基因探针检测这些肠毒素。

(2) EIEC：与志贺菌相似，多数 EIEC 无动力，乳糖不发酵或迟缓发酵。毒力试验可将被检菌液接种于豚鼠眼结膜囊内，可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，是为 Sereny 试验阳性。毒力试验亦可在组织培养中进行。

(3) 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 ELISA、细胞培养法和 DNA 探针来检测粘附因子。

(4) EHEC：O157:H7 血清型多数对山梨醇不发酵或缓慢发酵。VT 毒素可用 ELISA 法测定，灵敏度达 60pg/ml，亦可用 PCR 法结合基因探针检测 VT 基因。

(5) EAggEC：用液体培养 - 集聚试验 (liquid-culture clump aggregation) 检测受

检菌的粘附性，或用探针技术测定 EAST 基因。

(二) 卫生细菌学检查

寄居于肠道中的大肠埃希菌不断随粪便排除，可污染周围环境、水源、饮料及食品。样品中检出此菌愈多，表示被粪便污染愈严重，也间接表明可能有肠道致病菌污染。因此，卫生细菌学以“大肠菌群指数”作为饮水、食品等粪便污染的指标之一。

大肠菌群指数指每升样品中的大肠菌群数。大肠菌群系指在 37°C24h 内发酵乳糖产酸产气的肠道杆菌，包括埃希菌属、枸橼酸杆菌属、克雷伯菌属及肠杆菌属等。我国卫生标准规定，大肠菌群在每升饮水中不得超过 3 个；每 100ml 瓶装汽水、果汁中不得超过 5 个。

四、防治原则

疫苗免疫预防已在畜牧业领域中开展了广泛研究。在家畜中，用菌毛疫苗防治新生畜患腹泻已获得成功。例如在孕牛产前 6 个月接种大肠杆菌 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而受到同型菌毛型大肠杆菌感染的免疫保护。一种使用 ST 与 LT B 亚单位交联的人用疫苗正在研究中。

大肠埃希菌很多菌株都已获得耐一种或几种抗生素的质粒，耐药性非常普遍。因此抗生素治疗应在药物敏感试验的指导下进行，特别是细菌性脑膜炎。尿道插管和膀胱镜检查应严格无菌操作。对腹泻病人应及时校正水和电解质平衡。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。

(刘晶星)

第二节 志贺菌属

志贺菌属 (*Shigella*) 是人类细菌性痢疾最为常见的病原菌，通称痢疾杆菌 (*dysentery bacterium*)。

一、生物学性状

大小为 $0.5 \sim 0.7 \mu\text{m} \times 2 \sim 3 \mu\text{m}$ 革兰阴性的短小杆菌。无芽胞，无鞭毛，无荚膜，有菌毛。

营养要求不高，在普通琼脂平板上生长形成中等大小、半透明的光滑型菌落。志贺菌属中的宋内菌常出现扁平的粗糙型菌落。

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 3~4d）外，均不分解乳糖。

志贺菌属细菌有 O 和 K 两种抗原。O 抗原是分类的依据，分群特异抗原和型特异抗原，藉以将志贺菌属分为 4 群（种）40 余血清型（包括亚型）（表 14-2）。K 抗原在分类上无意义，但可阻止 O 抗原与 O 抗体的结合。

表 14-2 志贺菌属的抗原分类

菌种	群型	亚型
痢疾志贺菌	A 1~10	8a, 8b, 8c
福氏志贺菌	B 1~6, x, y 变型	1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b
鲍氏志贺菌	C 1~18	
宋内志贺菌	D 1	

A 群：即痢疾志贺菌 (*S. dysenteriae*)。有 10 个血清型，其中 8 型尚可分 3 个亚型。是唯一不能发酵甘露醇的一群志贺菌。

B 群：即福氏志贺菌 (*S. flexneri*)。有 13 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。

D 群：即宋内志贺菌 (*S. sonnei*)。抗原单一，只有一个血清型。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，多自急性期感染病人标本中分离得。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 140MD 的大质粒，若质粒丢失，I 相抗原不能合成，菌则从有毒的 I 相转变为无毒的 II 相。

志贺菌的抵抗力比其它肠道杆菌弱，加热 60°C 10min 可被杀死。对酸和一般消毒剂敏感。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，故粪便标本应迅速送检。由于磺胺及抗生素的广泛运用，志贺菌的耐药性日益增高，即使在边远地区分离的志贺菌也常见 4~8 种耐药谱，严重影响临床疗效。

二、致病性

致病物质 主要是侵袭力和内毒素，有的菌株尚产生外毒素。

1. 侵袭力 志贺菌有菌毛，能粘附于回肠末端和结肠粘膜的上皮细胞，诱导细胞内吞。继而穿入上皮细胞内生长繁殖，再向两侧扩散到毗邻细胞和向深部扩散到粘膜固有层。在粘膜固有层内繁殖形成感染灶，造成上皮细胞死亡，毛细血管血栓形成，引起炎症反应。导致坏死上皮斑块状脱落，溃疡形成，多形核白细胞浸润等。细菌侵入血流罕见。

志贺菌穿透上皮细胞的能力由质粒编码的 *ipaB*、*ipaC* 和 *ipaD* 基因介导。其编码的侵袭性质粒蛋白 IpaB、IpaC 能与宿主细胞膜相结合，可触发吞噬和溶泡，故称 IpaB 为溶膜毒素，IpaC 与粘附相关。病菌在邻近细胞的扩散则由质粒编码的 *icsA* 和 *icsB* 基因控制，其产物可使细菌产生以肌动蛋白为基础的运动动力，完成细胞内外传播。志贺菌只有侵入肠粘膜后才能致病。否则，即使菌量再大也不引起疾病。

志贺菌的粘附、侵袭、胞内繁殖、细胞间扩散等活性编码基因均存在于一个 140MD 的大质粒上。这个大质粒一旦丢失，有毒株就成无毒株。

2. 内毒素 志贺菌所有菌株都有强烈的内毒素。内毒素作用于肠粘膜，使其通透性增高，进一步促进对内毒素的吸收，引起发热、神志障碍，甚至中毒性休克等一系列

症状。内毒素破坏肠粘膜，可形成炎症、溃疡，呈现典型的脓血粘液便。内毒素尚能作用于肠壁植物神经系统，使肠功能发生紊乱，肠蠕动失调和痉挛。尤其是直肠括约肌痉挛最明显，因而出现腹痛、里急后重等症状。

3. 外毒素 A 群志贺菌 I 型和 II 型能产生一种外毒素，称为志贺毒素 (shiga toxin, ST)。ST 能引起 vero 细胞病变，故亦称 vero 毒素 (vero toxin, VT)。VT 分 VT-I 和 VT-II 两种，A 群志贺菌产生的 ST 属 VT-I 型。ST 具有 3 种生物学活性：①肠毒素性。具有类似大肠杆菌、霍乱弧菌肠毒素的作用，此可解释疾病早期出现的水样腹泻；②细胞毒性。对人肝细胞、HeLa 细胞、绿猴 vero 细胞均有毒性，以 HeLa 细胞最为敏感；③神经毒性。注射于家兔或小鼠，引起动物麻痹、死亡。

ST 由位于染色体上的 *stxA* 和 *stxB* 基因编码。与 EHEC 产生的毒素相同，ST 亦由 1 个 A 亚单位和 5 个 B 亚单位组成。B 亚单位与宿主细胞糖脂 (Gb3) 结合，导入细胞内的 A 亚单位作用于 60S 核糖体亚单位的 28S rRNA，阻止与氨酰 tRNA 的结合，致使蛋白质合成中断。

此外，志贺菌侵入宿主后，机体内的 IL-1、IL-6、TNF- α 和 IFN- γ 等细胞因子将增多。IL-1 和 TNF- α 可提高 ST 受体在内皮细胞表面的表达，因而内皮细胞成为 ST 攻击的主要靶细胞。ST 和内毒素有协同作用，两者在体外可加重对人血管内皮细胞的损伤。在志贺菌感染的溶血性尿毒综合征 (HUS) 等并发症中，ST 和内毒素持续存在的联合作用可能与之有关。

所致疾病 志贺菌引起细菌性痢疾。传染源是病人和带菌者，无动物宿主。主要通过粪-口传播。急性患者排菌量大，每克粪便可有 $10^5 \sim 10^8$ 个菌体，传染性强；慢性病例排菌时间长，可长期储存病原体；恢复期病人带菌可达 2~3 周，有的可达数月。人类对志贺菌较易感，少至 200 个菌就可发病。

志贺菌随饮食进入肠道，潜伏期一般 1~3d。痢疾志贺菌感染患者病情较重，宋内志贺菌多引起轻型感染，福氏志贺菌感染易转变为慢性，病程迁延。我国常见的流行型别以 B 群福氏志贺菌为主。

志贺菌感染有急性和慢性两种类型，病程在两个月以上者属慢性。急性细菌性痢疾常有发热、腹痛、里急后重等症状，并脓血粘液便。志贺菌感染还可产生虚脱，在儿童可伴有高热和惊厥。在不少病例中还可引起溶血性尿毒综合征。若及时治疗，预后良好。如治疗不彻底，有 10%~20% 的病人可转为慢性。症状不典型者，易被误诊，影响治疗而造成慢性和带菌。急性感染中有一种中毒性痢疾，以小儿为多见。无明显的消化道症状，主要表现为全身中毒症状。此因其内毒素致使微血管痉挛、缺血和缺氧，导致 DIC、多器官功能衰竭、脑水肿，死亡率高。各型志贺菌都有可能引起。

三、免疫性

志贺菌感染局限于肠粘膜层，一般不入血，故其抗感染免疫主要是消化道粘膜表面的分泌型 IgA (SIgA)。病后免疫期短，也不巩固，其原因除菌仅停留在肠壁局部外，志贺菌的型别多也是原因之一。

四、微生物学检查法

标本 取材应挑取粪便的脓血或粘液部分。若不能及时送检，宜将标本保存于30%甘油缓冲盐水或专门运送的培养基内。中毒性痢疾患者可取肛拭。

分离培养与鉴定 标本接种于肠道鉴别或选择培养基上，37℃孵育18~24h。挑取无色半透明可疑菌落，作生化反应和血清学试验，以确定其菌群（种）和菌型。

毒力试验 测定志贺菌的侵袭力可用 Senery 试验。系将受试菌18~24h的固体培养物，以生理盐水制成9亿/ml菌悬液，接种于豚鼠眼结膜囊内。若发生角膜结膜炎，则 Senery 试验阳性，表明受试菌有侵袭力。志贺菌ST的测定，可用 HeLa 细胞或 vero 细胞，也可用 PCR 技术直接检测其产毒基因 *stxA*、*stxB*。

快速诊断法

1. 免疫染色法 将粪便标本与志贺菌抗血清混匀，在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免疫血清液体培养基中，37℃孵育4~8h。若标本中含有相应型别的志贺菌存在，则生长繁殖后与荧光抗体凝集成小球，在荧光显微镜下易被检出。
3. 协同凝集试验 是以志贺菌 IgG 抗体与 CowanI 葡萄球菌结合成为试剂，用来检测病人粪便中是否有志贺菌可溶性抗原。
4. 胶乳凝集试验 用志贺菌抗血清致敏胶乳，使与粪便中的志贺菌抗原起凝集反应。也可用志贺菌抗原致敏胶乳，来诊断粪便中是否有志贺菌抗体。
5. 分子生物学方法 PCR 技术、基因探针检测 140MD 的大质粒等。

五、防治原则

鉴于志贺菌的免疫防御机制主要是分泌至肠粘膜表面的 SIgA，而 SIgA 需由活菌作用于粘膜局部才能诱发。因此，接种死疫苗防御志贺菌感染的试验已经放弃，现致力于活疫苗的研究。主要分为3类，即减毒突变株，用不同载体菌构建的杂交株以及营养缺陷减毒株。例如链霉素依赖株（streptomycin dependent strain, Sd）活疫苗是一种变异株，环境中存在有链霉素时始能生长繁殖。将其制成活疫苗给志愿者口服后因正常人体内不存在链霉素，该 Sd 株不能生长繁殖，但也不立即死亡，尚可有一定程度的侵袭志愿者肠粘膜而激发局部免疫应答，产生 SIgA。同时，血清中的 IgM、IgG 特异抗体也增多。Sd 活疫苗的免疫保护具有特异性。目前已能产生多价志贺菌 Sd 活疫苗，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。曾被选为研究对象的有宋内志贺菌与伤寒杆菌 Ty21a 的杂交疫苗等。

治疗志贺菌感染的药物颇多，但此菌很易出现多重耐药菌株。同一菌株可对5~6种甚至更多药物耐药，给防治工作带来很大困难。

（刘晶星）

第三节 沙 门 菌 属

沙门菌属 (*Salmonella*) 是一群寄生在人类和动物肠道中, 生化反应和抗原结构相关的革兰阴性杆菌。根据生化反应, DNA 同源性等, 沙门菌属分为肠道沙门菌 (*S. enterica*) 和邦戈沙门菌 (*S. bongori*) 两个种。肠道沙门菌又分为 6 个亚种, 即肠道亚种 (Subsp. *enterica*)、萨拉姆亚种 (Subsp. *salamae*)、亚利桑那亚种 (Subsp. *enterica*)、双亚利桑那亚种 (Subsp. *diarizonae*)、豪顿亚种 (Subsp. *houtenae*)、和英迪加亚种 (Subsp. *indica*)。

沙门菌属细菌的血清型在 2 000 种以上, 广泛分布于自然界, 包括所有脊椎动物的肠道和很多种类的节肢动物中, 大多动物感染无症状或为自限性胃肠炎。沙门菌属细菌绝大多数血清型宿主范围广泛, 如鼠伤寒沙门菌。但少数血清型有严格的宿主特异性, 即所谓“宿主适应株”。如引起肠热症的伤寒沙门菌、甲型副伤寒的沙门菌、肖氏沙门菌和希氏沙门菌主要是人的病原菌, 极少能从动物中分离到。另有一些沙门菌有特殊的动物宿主, 如猪霍乱沙门菌为猪, 都柏林沙门菌 (*S. dublin*) 为牛等。这种以家畜家禽为特殊宿主的沙门菌, 偶尔也可感染人, 引起人类食物中毒或败血症, 但这决定于动物中沙门菌流行时可能发生的偶然事件, 如污染其可以生长繁殖食物以及宿主的免疫状况, 这类细菌常见的有鼠伤寒沙门菌、猪霍乱沙门菌、肠炎沙门菌、鸭沙门菌等十余种。

一、生物学性状

革兰阴性杆菌, 大小 $0.6 \sim 1.0\mu\text{m} \times 2 \sim 4\mu\text{m}$ 。有菌毛, 除鸡沙门菌和雏沙门菌 (*S. pullorum*) 等个别外, 都有周身鞭毛, 一般无荚膜, 均无芽胞。

兼性厌氧, 营养要求不高, 在普通琼脂平板上形成中等大小、无色半透明的 S 型菌落。

不发酵乳糖或蔗糖。对葡萄糖、麦芽糖和甘露糖发酵, 除伤寒沙门菌不产气外, 其它沙门菌均产酸产气。生化反应对沙门菌属各菌的鉴定有重要意义 (表 14-3)。

表 14-3 主要沙门菌的生化特性

菌 名	葡萄糖	乳糖	甘露醇	H ₂ S	靛基质	VP	甲基红	枸橼酸盐	动力
甲型副伤寒沙门菌	⊕	-	⊕	-/+	-	-	+	+	+
肖氏沙门菌	⊕	-	⊕	+++	-	-	+	±	+
鼠伤寒沙门菌	⊕	-	⊕	+++	-	-	++	+	+
希氏沙门菌	⊕	-	⊕	+	-	-	+	+	+
猪霍乱沙门菌	⊕	-	⊕	+/-	-	-	+	+	+
伤寒沙门菌	+	-	+	-/+	-	-	+	-	+
肠炎沙门菌	⊕	-	⊕	+++	-	-	+	-	+

+: 阳性或产酸; ⊕: 产酸产气; -: 阴性

沙门菌属细菌的抗原主要有 O 和 H 两种抗原, 少数菌中尚有一种表面抗原, 功能上与大肠埃希菌的 K 抗原类同。因一般认为它与毒力 (virulence) 有关, 故称 Vi 抗原。

沙门菌 O 抗原为细菌细胞壁脂多糖中多糖部分, 100°C 不被破坏。O 抗原至少有

58种，以阿拉伯数字顺序排列，现已排至67（其中有9种被删除）。每个沙门菌的血清型含一种或多种O抗原。凡含有相同抗原组分的归为一个组，则可将沙门菌属分成A~Z、051~063、065~067 42个组。引起人类疾病的沙门菌大多数在A~E组。

据Popoff等报道，1995年时，沙门菌属血清型已有2399个，其中绝大部分分布在肠道沙门菌各亚种：计肠道亚种1416。萨拉姆亚种477、亚利桑那亚种94、双亚利桑那亚种371、豪顿亚种66和英迪加亚种10个血清型。至于邦戈沙门菌，仅19个血清型。

沙门菌H抗原存在于鞭毛蛋白，不耐热，60°C30 min即被破坏。H抗原分第I相和第II相两种。第I相特异性高，又称特异相，以a、b、c……表示。第II相特异性低，可为多种沙门菌共有，故亦称非特异相，以1、2、3……表示。一个菌株同时有第I相和第II相H抗原的称双相菌，仅有一相者为单相菌。每一组沙门菌根据H抗原不同，可进一步将组内沙门菌分成不同菌型。

沙门菌的表面抗原主要是Vi抗原，新分离的伤寒沙门菌和希氏沙门菌（原称丙型副伤寒沙门菌，*S. paratyphi C*）有Vi抗原。Vi抗原由聚-N-乙酸-D-半乳糖胺糖醛酸组成，不稳定，经60°C加热、石炭酸处理或传代培养后易消失。Vi抗原存在于菌表面，可阻止O抗原与其相应抗体的凝集反应。

常见沙门菌的抗原组成见表14-4。

表14-4 常见沙门菌的抗原组分

组	菌名	O抗原	H抗原	
			第I相	第II相
A组	甲型副伤寒沙门菌(<i>S. paratyphi A</i>)	1,2,12	a	-
B组	肖氏沙门菌(<i>S. schottmuelleri</i>)	1,4,5,12	b	1,2
	斯坦利沙门菌(<i>S. stanley</i>)	4,5,12	d	1,2
	德尔卑沙门菌(<i>S. derby</i>)	1,4,12	f,g	-
	鼠伤寒沙门菌(<i>S. typhimurium</i>)	1,4,5,12	i	1,2
	海登堡沙门菌(<i>S. heidelberg</i>)	4,5,12	r	1,2
C1组	希氏沙门菌(<i>S. hirschfeldii</i>)	6,7,Vi	c	1,5
	猪霍乱沙门菌(<i>S. cholerae - suis</i>)	6,7	c	1,5
	孔成道夫沙门菌(<i>S. kunzondolf</i>)	6,7	-	1,5
	汤卜逊沙门菌(<i>S. thompson</i>)	6,7	k	1,5
	波斯坦沙门菌(<i>S. potsdam</i>)	6,7	l,v	e,n,z15
C2组	纽波特沙门菌(<i>S. newport</i>)	6,8	e,h	1,5
	病牛沙门菌(<i>S. bovis - morbificans</i>)	6,8	r	1,5
D组	仙台沙门菌(<i>S. sandai</i>)	1,9,12	a	1,5
	伤寒沙门菌(<i>S. typhi</i>)	9,12,Vi	d	-
	肠炎沙门菌(<i>S. enteritidis</i>)	1,9,12	g,m	-
	都柏林沙门菌(<i>S. dublin</i>)	1,9,12	g,p	-
	鸡沙门菌(<i>S. gallinarum</i>)	1,9,12	-	-
E1组	鸭沙门菌(<i>S. anatum</i>)	3,10	e,h	1,6

续表

组	菌名	O 抗原	H 抗原	
			第 1 相	第 2 相
	火鸡沙门菌 (<i>S. meleagridis</i>)	3, 10	e, h	1
E2 组	纽因顿沙门菌 (<i>S. newington</i>)	3, 15	e, h	1, 6
E3 组	山夫顿堡沙门菌 (<i>S. senftenberg</i>)	1, 3, 19	g, s, t	-
F 组	阿伯丁沙门菌 (<i>S. aberdeen</i>)	11	i	1, 2

二、致病性

致病物质

沙门菌感染须经口进入足够量的细菌，以克服机体防护屏障，特别是胃酸的作用，定位于小肠才能引发疾病的产生。根据志愿者研究结果，大多血清型，包括伤寒沙门菌，半数感染量在 $10^6 \sim 10^9$ Cfu 之间。但暴发流行时，自然感染中感染剂量一般都低于 10^3 Cfu，有时甚至少于 100 个 Cfu。

沙门菌有较强的内毒素，并有一定的侵袭力。个别菌尚能产生肠毒素。

1. 侵袭力 沙门菌有毒株能侵袭小肠粘膜。细菌经回肠粘膜上一类称为 M (microfold, 微皱褶) 细胞的特殊上皮细胞进入机体。其步骤是菌经含有甘露醇的细胞受体先粘附至 M 细胞表面；引发细胞肌动蛋白重排、内在化，菌于吞噬泡内繁殖，并释放至上皮下区，被固有层中的巨噬细胞吞噬。沙门菌的粘附和穿入宿主细胞，由染色体上的侵袭素基因 *inv* 介导。

伤寒沙门菌和希氏沙门菌在宿主体内可以形成 Vi 抗原。该抗原具有微荚膜功能，能抗御吞噬细胞的吞噬和杀伤，并阻挡抗体、补体等破坏菌体作用。

2. 内毒素 沙门菌死亡后释放出的内毒素，可引起宿主体温升高、白细胞数下降，大剂量时导致中毒症状和休克。这些与内毒素的激活补体替代途径产生 C3a、C5a 等，以及诱发免疫细胞分泌 TNF- α 、IL-1、IFN- γ 等细胞因子有关。

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 ETEC 产生的肠毒素。

所致疾病 沙门菌中仅有引起伤寒和副伤寒的沙门菌对人类致病。有不少沙门菌是人畜共患病的病原菌。动物宿主范围很广。家畜有猪、牛、马、羊、猫、狗等，家禽有鸡、鸭等；野生动物如狮、熊、鼠类，以及冷血动物、软体动物、环形动物、节肢动物等均可带菌。人类因食用患病或带菌动物的肉、乳、蛋或被病鼠尿污染的食物等而罹患。

人类沙门菌感染有 4 种类型：

1. 肠热症 包括伤寒沙门菌引起的伤寒，以及甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌 (原称乙型副伤寒沙门菌, *S. paratyphi B*)、希氏沙门菌引起的副伤寒。伤寒和副伤寒的致病机制和临床症状基本相似，只是副伤寒的病情较轻，病程较短。沙门菌是胞内寄生菌。被巨噬细胞吞噬后，由耐酸应答基因 (acid tolerance response gene, *atr*) 介导使菌能在吞噬体的酸性环境中生存和繁殖，同时菌产生过氧化氢酶和超氧化物歧化酶等保

护菌不受胞内杀菌机制的杀伤。部分菌通过淋巴液到达肠系膜淋巴结大量繁殖后，经胸导管进入血流引起第一次菌血症，菌随血流进入肝、脾、肾、胆囊等器官。病人出现发热、不适、全身疼痛等前驱症状。从病菌经口进入到疾病发作的时间与感染剂量有关。短则 3d，长者则可达 50d，通常潜伏期为 2 周。病菌在上述器官繁殖后，再次入血造成第二次菌血症。在未经治疗病例，此时症状明显，体温先呈阶梯式上升，持续一周，然后高热（39~40℃）保持 7~10d，同时出现相对缓脉，肝脾肿大，全身中毒症状显著，皮肤出现玫瑰疹，外周血白细胞明显下降。胆囊内细菌通过胆汁进入肠道，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，严重的有出血或肠穿孔并发症。肾脏中的病菌可随尿排出。以上病变在疾病的第 2~3 周出现。若无并发症，自第 3~4 周后病情开始好转。

5%~10% 未经治疗的病人，可出现复发。与初始疾病相比，病程一般较短，病情较轻，但也有严重病例，甚至死亡者。未经治疗的典型伤寒病人死亡率约为 20%，轻型和无症状感染并非不常见。在地方性流行区，特别是同时存在血吸虫的地区，可出现伴随慢性菌血症，发热长达数月的慢性感染。

2. 胃肠炎（食物中毒）是最常见的沙门菌感染，约占 70%。由摄入大量（ $> 10^8$ ）被鼠伤寒沙门菌、猪霍乱沙门菌、肠炎沙门菌等污染的食物引起。常见的食物主要为畜、禽肉类食品，其次为蛋类，系动物生前感染或加工处理过程污染所致。细菌对肠粘膜的侵袭以及细菌释放的内毒素可能是主要致病机制。该病潜伏期为 6~24h。起病急，主要临床症状为发热、恶寒、呕吐、腹痛、水样腹泻，偶有粘液或脓性腹泻。严重者可有迅速脱水，导致休克、肾功能衰竭而死亡。死亡率可达 2%，多见于老人、婴儿和体弱者。一般沙门菌胃肠炎多在 2~3d 自愈。

3. 败血症 多见于儿童和免疫力低下的成人。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。症状严重，有高热、寒战、厌食和贫血等。败血症因病菌侵入血循环引起，因而菌可随血流导致脑膜炎、骨髓炎、胆囊炎、心内膜炎等发生。

4. 无症状带菌者 指在症状消失后 1 年或更长的时间内仍可在其粪便中检出有相应沙门菌。约有 1%~5% 伤寒或副伤寒患者可转变为无症状带菌者。这些菌留在胆囊内，有时也可在尿道内，成为人类伤寒和副伤寒病原菌的储存场所。年龄和性别与无症状带菌关系密切。20 岁以下，无症状带菌率常小于 1%，而 50 岁以上者，可达 10% 以上。女性转变为无症状带菌状态是男性的 2 倍。其他沙门菌感染，50% 患者在 5 周内停止排菌，90% 在感染后 9 周培养阴性，转变为无症状带菌者很少，不到 1%，故在人类的感染中不是主要的传染源。

三、免疫性

肠热症沙门菌侵入宿主之后，主要在细胞内生长繁殖，因而要彻底杀灭这类胞内寄生菌，特异性细胞免疫是主要防御机制。在致病过程中，沙门菌亦可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。胃肠炎的恢复与肠道局部生成 SIgA 有关。

四、微生物学检查法

标本 肠热症因病程不同采取不同标本。第1周取外周血，第1~3周取骨髓液，第2周起取粪便和第3周起还可取尿液。副伤寒病程较短，因此采样时间可相对提前。胃肠炎取粪便、呕吐物和可疑食物。败血症取血液。

分离培养和鉴定 血液和骨髓液需要增菌，然后再划种于肠道选择鉴别培养基；粪便和经离心的尿沉淀物等直接接种于肠道鉴别培养基或SS (Salmonella - Shigella) 选择培养基。37℃孵育24h后，挑取无色半透明的乳糖不发酵菌落接种至双糖或三糖铁培养基。若疑为沙门菌，再继续作系列生化反应，并用沙门菌多价抗血清作玻片凝集试验予以确定。

近有学者采用SPA协同凝集试验、对流免疫电泳、胶乳凝集试验和ELISA法等，来快速早期诊断粪便、血清或尿液中的沙门菌等可溶性抗原。

分子生物学技术也可用于沙门菌感染中。基因探针可检出标本中的伤寒沙门菌量为1000个；而PCR法对10个伤寒沙门菌就可检出。

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。

血清学诊断 肠热症由伤寒沙门菌和甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌、希氏沙门菌所引起，病程长。因目前使用抗生素普遍，肠热症的症状常不典型，临床标本阳性分离率低，故血清学试验仍有其协助诊断意义。用于肠热症的血清学试验有肥达(Widal)试验、间接凝集法、ELISA法等，其中肥达试验仍较普及。

肥达试验是用已知伤寒沙门菌菌体(O)抗原和鞭毛(H)抗原，以及引起副伤寒的甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌和希氏沙门菌H抗原的诊断菌液与受检血清作试管或微孔板凝集试验，测定受检血清中有无相应抗体及其效价的试验。

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. 正常值 人们因沙门菌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。一般是伤寒沙门菌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 $\geq 1:80$ 时才有诊断价值。

2. 动态观察 有时单次效价增高不能定论，可在病程中逐周复查。若效价逐次递增或恢复期效价比初次 ≥ 4 倍者始有意义。

3. O与H抗体的诊断意义 患伤寒或副伤寒后，O与H在体内的消长情况不同。IgM类O抗体出现较早，持续约半年，消退后不易受非伤寒沙门菌等病原体的非特异刺激而重现。IgG类H抗体则出现较晚，持续时间长达数年，消失后易受非特异性病原刺激而能短暂地重新出现。因此，O、H凝集效价均超过正常值，则肠热症的可能性大；如两者均低，患病可能性小；若O不高而H高，有可能是预防接种或非特异性回忆反应；如O高H不高，则可能是感染早期或与伤寒沙门菌O抗原有交叉反应的其他沙门菌(如肠炎沙门菌)感染。

4. 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。其原因可能由于早期使用抗生素治疗，或患者免疫功能低下等所致。

伤寒不同病期血、粪、尿中的病原菌和特异性 O 凝集素的检出阳性率见图 14-2。

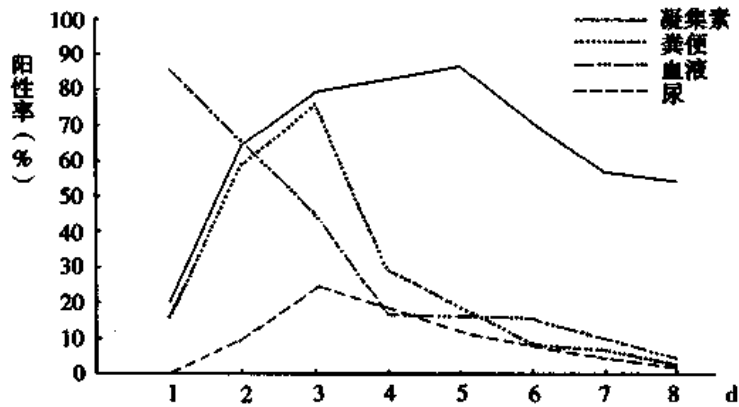


图 14-2 伤寒病人不同病期血、粪、尿中病原菌和特异凝集素的检出阳性率

伤寒带菌者的检出 分离出病原菌是最可靠的方法。标本采取可疑者粪便、肛拭、胆汁或尿液，但检出率不高。一般可先用血清学方法检测可疑者 Vi 抗体效价，若 $\geq 1:10$ 时，再反复取粪便等标本进行分离培养，以确定是否为伤寒带菌者。

五、防治原则

伤寒、副伤寒的免疫预防，过去一直沿用皮下接种死疫苗。虽有一定的保护作用，但效果低、副反应大，不够理想。

70 年代末曾报道口服伤寒沙门菌 Ty21a 活菌苗，在埃及进行流行病学效果观察，其保护率约为 96%，且已正式投产。但随后在智利和印度尼西亚进行了大规模的现场考核，结果却令人失望。1980~1986 年我国就 Ty21a 的生物学和免疫学特性也作了研究，其菌苗先后在云南、贵州、江苏等省进行现场考核，其结果几乎与在智利所获结果一样，难以令人满意。加之 Ty21a 菌株营养要求苛刻，生产工艺复杂，不易在发展中国家推广，我国亦终止其研究。但在一些国家仍然使用 Ty21a 疫苗。目前国际上公认的新一代疫苗是伤寒 Vi 荚膜多糖疫苗，已有很多资料表明 Vi 抗原是一种保护性抗原。在法国、墨西哥已获准生产，我国也已正式批准使用。与注射灭活疫苗相比，该疫苗安全，较少不良反应，但免疫预防效果却大致相同；且易于制造保存，运输方便；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。

肠热症的治疗早期使用的是氯霉素。1948 年即开始使用，使原死亡率达 20%、持续几周危及生命的严重疾病成为短期的热性疾病，死亡率不足 2%。但由于氯霉素对骨髓的毒性作用，同时，70 年代在世界各地也广泛出现了质粒介导的氯霉素耐药菌株，开始使用其他替代药物，主要是功效与氯霉素相当的氨苄青和 co-trimoxazole。然而自 1989 年起，多重耐上述药物的菌株在世界很多地方又出现。目前使用的有效药物主要是环丙氟哌酸 (ciprofloxacin)。

(刘晶星)

第四节 幽门螺杆菌

早在 100 年前有人已观察到胃内细菌的存在，但直至 1983 年，Warren 和 Marshall 利用空肠弯曲菌的培养方法才真正分离出幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, HP)。1992 年正式命名。该菌的发现完全革新了人们对胃，十二指肠疾病的传统观点。

一、生物学特性

革兰阴性。菌体细长弯曲呈螺形、S 型或海鸥状，大小为 $0.5 \sim 1.0\mu\text{m} \times 2.0 \sim 5.0\mu\text{m}$ (图 14-3)。在胃粘膜粘液层中常呈鱼群样排列，传代培养后或在不利环境下可变成杆状或球形。菌体一端或两端可有多根带鞘鞭毛，运动活泼。

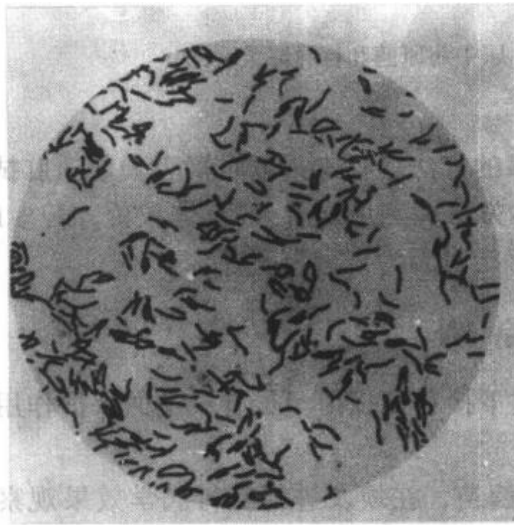


图 14-3 幽门螺杆菌
 $\times 1300$

微需氧。最适生长温度为 $35 \sim 37^\circ\text{C}$ 。营养要求高，需血液或血清，生长时还需要一定湿度 (相对湿度 98%)。培养 3d 可见细小、针尖状、半透明的菌落。

生化反应不活泼，不分解糖类，氧化酶和过氧化氢酶均阳性，脲酶丰富，比普通变形杆菌脲酶活性高 100 倍，快速脲酶试验强阳性。幽门螺杆菌菌株具有共同抗原，其表面蛋白在不同株之间相似，电泳时出现 4 条主要区带。用免疫印迹分析证明幽门螺杆菌与空肠弯曲菌等的菌体外膜蛋白不出现交叉反应，但其鞭毛蛋白具有明显的交叉反应。

幽门螺杆菌基因组较小，约 1.67×10^6 bp，其全序列已有报道。研究显示，菌株间随环境及感染人群的不同，表现出高度的基因多态性。与基因多态性相反，HP 的表型大多则相对保守。根据表型空泡毒素 (vacuolating cytotoxin, vac A) 和细胞毒相关基因编码蛋白 (cytotoxin-associated gene A, cag A) 的差别，HP 可分为 I 型和 II 型两大类，I 型 cag A 基因，cag A 蛋白和空泡毒素至少有一个是阳性，而 II 型则三者均阴性。I 型和 II 型之间的差异主要是毒力的差异。此外还有根据生化反应、抗原特性，分子生物学测定等多种分型方法。

二、致病性

幽门螺杆菌感染非常普遍，平均世界人口的 50% 被感染，传播途径尚不明确，推测经口感染。该菌为一高度适应只能生活于胃粘膜的细菌，其存在于覆盖胃粘膜的粘液内层，菌体周围微环境的 pH 值为 7.0。胃窦为其定植的最佳部位。感染者大多无症状，少数人感染后经几天潜伏期，患者可出现急性胃酸缺乏性胃炎，同时伴有腹痛、恶心、胀气和呼吸不适等症状，持续约 2 周，但胃酸缺乏可持续一年。尽管产生显著的抗体反

应，但感染和由感染引发的慢性胃炎、浅表性胃炎、弥漫性胃窦胃炎却可长期存在。几十年后可进展为多灶性、萎缩性胃炎，增加了导致胃癌的危险。特别是胃淋巴瘤，虽然少见，但与幽门螺杆菌的相关性却极为显著。此外，还有小部分人可发展为胃溃疡。在胃炎和胃溃疡患者的胃粘膜中，本菌的检出率高达 80%~100%。尽管胃溃疡的发生还与其他因素有关，但幽门螺杆菌为最重要的因素。幽门螺杆菌的感染是溃疡形成的先决条件，感染的清除可以使溃疡治愈，阻止复发。溃疡的复发是感染复发的结果。幽门螺杆菌阳性的宿主常出现胃上皮细胞肠腺增生和异型增生，幽门螺杆菌感染时胃内亚硝酸盐、亚硝基化合物增多；一氧化氮的合成可致 DNA 亚硝化脱氨作用，从而有可能使细胞发生突变，诱发胃癌的发生。有报道在 *cag A* 基因阳性菌株感染的患者中，有 62% 出现萎缩性胃炎，2% 发展为胃癌，故认为 *cag A* 基因与胃癌发生相关。在极少数情况下，致病不是发生在患者胃壁的体细胞，而是胃壁的免疫活性细胞，特别是淋巴细胞，引起淋巴性胃炎，开始为淋巴细胞浸润，继之淋巴组织增生，形成淋巴结和淋巴滤泡，构成粘膜相关淋巴组织（mucosa-associated lymphoid tissue, MALT），它的进一步恶化，导致形成 MALT 淋巴瘤。

幽门螺杆菌致病的确切机制尚未完全阐明，可能是多种因子的协同作用：

1. 细胞毒素相关蛋白（*Cag A*）和空泡毒素（*Vac A*）是幽门螺杆菌毒力的主要表现。*Vac A* 在体外能诱导多种哺乳动物细胞胞浆发生空泡变性，体内导致小鼠胃粘膜上皮细胞损伤和溃疡形成。*Cag A* 大约存在于 60%~70% 的幽门螺杆菌菌株中，位于致病岛的一端。最近研究显示，*Cag A* 与致病岛中的 *pic B* 紧密相连，协同作用，诱导胃粘膜上皮细胞产生 IL-1B、IL-6、TNF α 及 IL-8 等，吸引炎症细胞，释放多种酶类，导致胃组织损伤。

2. 脂多糖在幽门螺杆菌的致病上亦有重要作用。

3. 鞭毛和尿素酶，幽门螺杆菌的动力是其定植所必须，菌体螺旋状结构与鞭毛旋转推动共同作用，使其能穿过浓稠的粘液层，扩散至胃上皮细胞表面。尿素酶分解尿素，产生氨，中和菌体周围胃酸，有助于细菌定植。此外，氨的产生使粘液层离子发生变化，最后导致粘膜中的氢离子反向扩散。

4. 粘附素：使幽门螺杆菌能粘附到胃上皮细胞，此为致病所不可缺少的因素。

三、免疫性

感染幽门螺杆菌后，在病人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。亦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。

四、微生物学检查法

用胃镜采集的组织活检标本可用于组织学检查或将活检组织磨碎用于分离培养；血液用于测抗体含量。

分离培养时，采集的标本最好立即接种于幽门螺杆菌选择培养基，最长不要超过 2h，接种后在微需氧和湿润的环境中，37℃ 孵育 3d 观察菌落。再以氧化酶、过氧化氢

酶及脲酶试验进行鉴定。

快速诊断方法有：①直接涂片镜检：为革兰阴性，细长弯曲呈海鸥状细菌。②快速脲酶分解试验：常在活检采样后立即进行，将组织块放入一定量尿素溶液中，如培养基由黄变红为阳性。结果常在几分钟至24h内得到。但轻微感染者可能不适用。③血清学诊断：常用ELISA法检测血清中抗幽门螺杆菌菌体抗体与抗脲酶抗体，但容易产生假阳性。④分子生物学技术：用16S rDNA寡核苷酸探针或用PCR检测幽门螺杆菌。⑤尿素呼吸试验：给病人服用含同位素¹³C或¹⁴C的尿素，尿素酶分解尿素释放CO₂，因此可从呼吸中测量带有同位素的CO₂量，幽门螺杆菌感染者同位素读数增高。该方法敏感性和特异性均很好，只是需要特殊的同位素测定仪。

五、防治原则

目前正在试用重组脲酶幽门螺杆菌疫苗，并证明疫苗不仅有预防作用，同时还具有治疗作用，治疗可用抗菌疗法，多采用以胶体次枸橼酸铋或抑酸剂为基础，再加两种抗生素如四环素、阿莫西林、甲硝唑、克拉霉素等的三联疗法，疗程二周。

(刘晶星)

第五节 弧菌属

弧菌属 (*Vibrio*) 细菌是一大群菌体短小，弯曲成弧形、运动活泼的革兰阴性菌，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)和有一根位于菌体一端的单鞭毛。弧菌属广泛分布于自然界，以水中最多，其中有些种既可引起人类疾病也可引起水中脊椎动物和无脊椎动物疾病。弧菌属目前有36个种，其中至少有12个种与人类感染有关，尤以霍乱弧菌，副溶血性弧菌和创伤弧菌最为重要。

一、霍乱弧菌

霍乱弧菌 (*V. cholerae*) 是引起烈性传染病霍乱的病原体，二千多年前已有记载。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。首先由印度尼西亚传向远东，再回扫南亚，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。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。这是首次由非O1群霍乱弧菌引起的流行。

(一) 生物学性状

形态与染色 霍乱弧菌菌体大小为0.5~0.8 μ m×1.5~3 μ m。从病人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。若取病人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。

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。生长繁殖的温度范围广（18~37℃），故可在外环境中生存。耐碱不耐酸，在 pH7.4~9.6 的范围内，能迅速生长。特别在 pH8.8~9.0 的碱性蛋白胨水或碱性琼脂平板上生长良好，因其它细菌在此 pH 中不易生长，故初次分离霍乱弧菌常用碱性蛋白胨水增菌。霍乱弧菌可在无盐环境中生长，而其它致病性弧菌则不能。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。

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相同的 H 抗原。

O1 群霍乱弧菌根据其菌体抗原由 3 种抗原因子 A、B、C 组成，又可分为 3 个血清型：小川型（Ogawa）、稻叶型（Inaba）、和彦岛型（Hikojima）（表 14-5）。

表 14-5 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(AB)	+	+	+	-	常见	是
稻叶型(AC)	+	+	-	+	常见	是
彦岛型(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）。古典生物型不溶解羊红细胞，不凝集鸡红细胞，对 50IU 的多粘菌素敏感，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，毒性基因等则与 O1 群的古典型和 El Tor 生物型的流行株相似。也有可能它最终被归结为一个与小川型、稻叶型并列的亚型。

抵抗力 El Tor 生物型和其它非 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 4min。55℃ 湿热 15min，100℃ 煮沸 1~2min，0.5ppm 氯 15min 能杀死霍乱弧菌。以 1:4 比例加漂白粉处理病人排泄物或呕吐物，经 1h 可达到消毒目的。

(二) 致病性

致病物质 霍乱弧菌的致病物质涉及到染色体上多个基因，它们主要包括由 ToxR 蛋白调控的 *ctxA*、*ctxB*、*tcp*、*zot*、*ace* 等基因，另外还有二个不受 ToxR 蛋白调控的毒力因子基因 *hlyA* 和 *hap*。

1. 霍乱肠毒素 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。由一个 A 亚单位（分子量为 27.2kD）和 5 个相同的 B 亚单位（每个亚单位分子量为 11.7kD）构成的一个热不稳定性多聚体蛋白，分别由结构基因 *ctx* (*cholera toxin*) A 和 *ctxB* 编码。*ctxAB* 操纵子位于染色体上称作核心区的部位，核心区的两端为重复序列 (RS1)。霍乱弧菌古典生物型染色体上广泛散布着以 2 拷贝 *ctx* 为一组的 CTX 单元。El Tor 生物型染色体上 CTX 则为多拷贝随机分布。B 亚单位可与小肠粘膜上皮细胞 GM1 神经节苷脂受体结合，然后插入宿主细胞膜，形成一亲水性穿膜孔道。使 A 亚单位通过孔道进入细胞浆，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转移到 G 蛋白上，称 G_s ，此为腺苷环化酶的一部。 G_s 的活化可使细胞内 ATP 转变为 cAMP，使 cAMP 水平升高，抑制内皮细胞对 Na^+ 和 Cl^- 的吸收，并主动大量分泌 Cl^- 、 HCO_3^- ，使水被动地通过粘膜细胞向外流出，导致严重的水和电解质的丧失，产生腹泻与呕吐。

此外，在 *ctx* 操纵子上游还存在两个编码毒性相关的 *zot* (*zonula occludens toxin*，小带联结毒素)、*ace* (*accessory cholera enterotoxin*，附属霍乱肠毒素) 基因。在实验兔中，其编码产物 *Zot* 为一种作用于小肠粘膜细胞之间紧密联结的毒素，能增加肠粘膜的通透性，这种毒素广泛分布于 O1 群霍乱弧菌流行株中；*Ace* 可使结扎的回肠段中液体聚积。志愿者口服 *ctxAB* 缺失的基因工程变异株产生的轻度腹泻可能与这两个毒性基因有关。

2. 鞭毛、菌毛及其它毒力因子 霍乱弧菌活泼的鞭毛运动有助于细菌穿过肠粘膜表面粘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须的因子。只有粘附定居后方可致病。与此相关基因有 *acf* 和 *tcpA*。*acf* (*accessory colonization factor*) 编码辅助定居因子；*tcpA* (*toxin coregulated pilus A*) 编码毒素协调菌毛蛋白中一个分子量为 20.5kDa 的重要亚单位。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 *hlyA* (*hemolytic-cytolytic A*) 基因编码的具有溶血-细胞毒性的蛋白；*hap* (*hemagglutinin/protease*) 基因编码的有助于细菌从死亡细胞上解离的血凝素/蛋白酶。

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粘附到小肠粘膜上；不表达 LPS 决定簇和荚膜的 T_{phoA} 突变株则对血清易感。

所致疾病 引起烈性肠道传染病霍乱，为我国的甲类法定传染病。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，除病人外，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，无症状携带者和病人的比率波动在 10:1 ~ 100:1 之间。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，需要进入大量的细菌 (10^8) 方能引起感染，但当胃酸低时，感染剂量可减少到 $10^3 \sim 10^5$ 个细菌。病菌到达小肠后，粘附于肠粘膜表面并迅速繁殖，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，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 2~3d 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 1L，排出如米泔水样腹泻物。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，病人可在 12~24h 内死亡，死亡率高达 60%，但若及时给病人补充液体及电解质，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%。

病愈后一些患者可短期带菌，一般不超过 2 周，个别 El Tor 型病例病后可带菌长达数月或数年之久。病菌主要存在于胆囊中。

(三) 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，机体可获得牢固免疫力，再感染少见。病人发病数月后，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。肠腔中的 sIgA 可凝集粘膜表面的病菌，使其失去动力；可与菌毛等粘附因子结合，阻止霍乱弧菌粘附至肠粘膜上皮细胞；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粘膜免疫是霍乱保护性免疫的基础。

感染 O139 群的病人大多为成年人，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。

(四) 微生物学检查法

霍乱是烈性传染病，对首例病人的病原学诊断应快速、准确，并及时作出疫情报告。

标本 病人粪便，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保存液中运输；应注意肠道病原菌常用的甘油盐水缓冲保存液不适用。

直接镜检 革兰染色阴性弧菌，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 6~8h 后直接镜检并作分离培养。目前常用的选择培养基为 TCBS (thiosulfate - citrate - bile salts sucrose)，该培养基含有硫代硫酸盐、枸橼酸盐、胆盐及蔗糖，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 群多价和单价血清作玻片凝集反应。目前还需与 O139 群抗血清做凝集反应。其它分离培养基还有碱性平板、血平板等。

(五) 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。

疫苗预防长期以来使用 O1 群霍乱弧菌死菌苗肌肉注射，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 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；抗生素的使用可减少外毒素的产生，加速细菌的清除，用于霍乱的抗菌药物有四环素、强力霉素、呋喃唑酮、氟霉素和复方 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。

二、副溶血性弧菌

副溶血性弧菌 (*V. parahemolyticus*) 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。

生物学特性 同其它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 (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形态。在 TCBS 培养基上，副溶血弧菌形成绿色，蔗糖不发酵菌落。该菌不耐热，90℃ 1min 即被杀死；不耐酸，在 1% 醋酸或 50% 食醋中 1min 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%）的、人 O 型血或兔血及以 D-甘露醇作为碳源的 Wagatsuma 琼脂平板上可产生 β 溶血，称为神奈川现象 (Kanagawa phenomenon, KP)。日本学者检测了 3 370 株副溶血性弧菌，来自病人的菌株中 96.5% 为 KP⁺，而来自海产品及海水的菌株仅 1% 阳性。

致病性 引起食物中毒的确切致病机制尚待阐明。KP⁺ 菌株为致病性菌株基本肯定。志愿者吞食 10¹⁰ KP⁻ 菌株不会引起疾病。KP⁺ 菌株可粘附在肠粘膜上，KP⁻ 则否。现已从 KP⁺ 菌株分离出二种致病因子，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和心脏毒两种作用。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。最近的研究还表明，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*) 中有 tdh 基因，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%。

其它致病物质可能还包括粘附素和粘液素酶。

该菌引起的食物中毒可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 5~72h，平均 24h，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。

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，进一步作嗜盐性试验与生化反应，最后用诊断血清进行鉴定。最近已发展了基因探针杂交及 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 SMZ - TMP，严重病例需输液和补充电解质。

三、创伤弧菌

创伤弧菌 (*V. Vulnificus*) 发现于 1976 年，为嗜盐菌的一种。感染发生于常年水温较高的地区，如大西洋中部，美国墨西哥湾沿岸各洲等。夏季发病率高。

创伤感染与在水环境中的损伤有关，而败血症则与生食贝类食品有关。

与创伤弧菌有关的临床症状有三种类型。

1. 暴发型败血症。由创伤弧菌引起的原发败血症，死亡率高于 50%，其原因总与生食贝壳食品有关。一般认为病菌是经门静脉或肠道淋巴系统进入血流。因大量饮酒而造成的肝损伤者易发，免疫缺陷也是一个重要因素。

2. 急性蜂窝织炎，因伤口与海水接触而引起，感染除在体弱者外，正常人也可是发生。感染特点是伤口红肿，坏死，仅偶尔发展为败血症。这种感染亦可迅速导致死亡。

3. 急性腹泻，与生食贝类食品有关，但不常见。

创伤弧菌的毒力因子包括荚膜和一些毒素，如胶原酶、溶细胞和溶蛋白质以及血管通透性因子。

(刘晶星)

第六节 甲型肝炎病毒与戊型肝炎病毒

目前公认的人类肝炎病毒主要有 5 种型别：甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、丁型肝炎病毒及戊型肝炎病毒。其中甲型肝炎病毒与戊型肝炎病毒经消化道传播，故在本节讲授。乙型肝炎病毒与丙型肝炎病毒均由输血、血制品或注射器污染而传播。丁型肝炎病毒是一种缺陷病毒，必须在乙型肝炎病毒等辅助下才能复制，故传播途径与乙型肝炎病毒相同。此外，近年来还发现一些同输血相关的肝炎病毒如庚型肝炎病毒、TT 型肝炎病毒等。上述经输血传播的肝炎病毒将放在第 17 章中学习。

一、甲型肝炎病毒

(一) 生物学性状

甲型肝炎病毒 (hepatitis A virus, HAV) 是 Feinstone 首先于 1973 年采用免疫电镜

技术在肝炎急性期患者粪便中发现的，随后便阐明了 HAV 的基本生物学特性及流行病学特点，并建立了特异性血清学诊断方法。1979 年成功地利用细胞培养分离出病毒，从而使大量生产 HAV 成为可能，也为防治 HAV 感染奠定了基础。

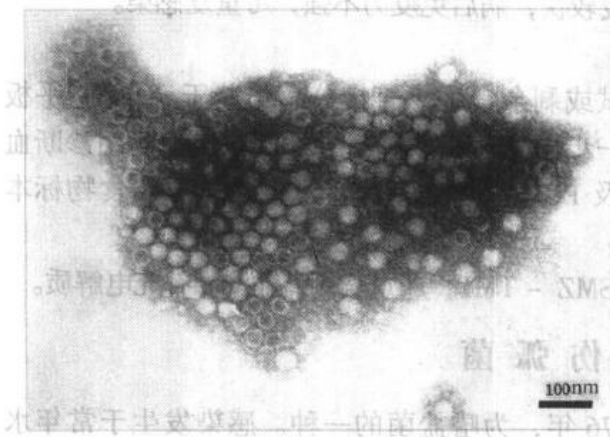


图 14-4 甲型肝炎病毒
病人粪便提取物，免疫电镜，病毒颗粒呈六角形

1. 形态与结构 HAV 属小 RNA 病毒科的嗜肝 RNA 病毒属，形态、大小与肠道病毒相似，直径约为 27nm，呈球形，二十面体立体对称，无包膜（图 14-4）。比肠道病毒更耐热，60℃ 1h 不被灭活，对乙醚、酸（pH 3）处理均有抵抗力。

HAV 的基因组为单正链 RNA，长约 7 500 个核苷酸，由 5' 末端非编码区、编码区和 3' 末端非编码区组成。5' 末端区虽不编码蛋白质，但因其序列较保守，可用于制作探针，进行核酸杂交，快速诊断 HAV 感染。

编码区仅有一个开放读码框架（ORF），编码一约含 2 200 个氨基酸的 HAV 前体蛋白，分成 P₁、P₂ 及 P₃ 三个区。病毒衣壳蛋白位于 P₁ 区，转录及基因调控蛋白位于 P₂ 区，病毒蛋白酶和 RNA 多聚酶位于 P₃ 区。经病毒蛋白酶裂解后，P₁ 区形成 VP₁、VP₂、VP₃ 及 VP₄ 多肽，组成衣壳蛋白包围并保护核酸。病毒的衣壳蛋白（HAV Ag）具抗原性，可诱生中和抗体。根据基因组序列同源性的差异，可将 HAV 分为 7 个基因型。大多数 HAV 毒株可归为 I 型，包括 CR326、SM-1、H2（属 I A 亚型）和 HM175、MBB（属 I B 亚型），中国的毒株也为 I A 型。虽然其基因型较多，但迄今在世界各地分离到的 HAV 均属同一血清型。

2. 感染模型与细胞培养 黑猩猩和狨猴对 HAV 易感，经口或静脉注射可使动物发生肝炎，并能在肝细胞质中检出 HAV。在潜伏期和急性期的早期，HAV 可随粪便排出。恢复期血清中能检出 HAV 的相应抗体。红面猴、短尾猴、恒河猴亦对 HAV 易感，并可从粪便中分离到 HAV。动物模型的主要用途在于研究发病、探讨免疫机制及考核疫苗效果。

Provost 等（1979 年）首次成功地将狨猴中传代的 HAV 毒株于体外细胞中进行培养。以后，HAV 不经动物传代的适应过程也可直接在人胚肺二倍体细胞株（如 MRC5 或 KMB17 细胞）中增殖，说明不少细胞株都对其易感。然而 HAV 的增殖及自细胞内释放均十分缓慢，一般不引起明显的细胞病变或细胞裂解。因此，从标本中分离 HAV 常需数周甚至数月，且很难获得大量病毒。应用免疫荧光染色法，可检出培养细胞中的 HAV；亦可将培养细胞裂解后，用放射免疫法检测 HAV。经反复传代及选择，目前已有个别毒株（如 HM175A）在 3~5d 内即可于细胞内较大量的增殖，致使细胞发生病变，其基因组与野生型毒株基因组间有 40 余处的核苷酸变异，但变异的毒株仍不能裂解细胞。

(二) 致病性与免疫性

1. 传染源与传播途径 HAV 主要通过粪-口途径传播, 传染源多为甲型肝炎患者。甲型肝炎的潜伏期为 15~50d (平均 30d), 病毒常在转氨酶升高前 5~6d 就存在于血液和粪便中, 故在潜伏后期及急性期, 患者血液和粪便均有传染性。HAV 通常由患者粪便排出体外, 经污染水源、食物、食具、海产品(毛蚶等)等传播而造成散发或流行。发病后 2 周开始, 随着肠道中抗-HAV IgA 及血清中抗-HAV IgM/IgG 的产生, 粪便的传染性逐渐消失。长期带毒者少见, 一般无慢性感染。由于 HAV 比肠道病毒更耐热、耐氯化物的消毒作用, 故可在污染的废水、海水及食品中存活数月或更久。1988 年上海市曾发生因生食 HAV 污染的毛蚶而致甲型肝炎暴发流行, 患者多达 30 余万, 危害十分严重。

2. 致病机制与免疫 HAV 由口进入人体后, 早期在口咽部或唾液腺中增殖, 然后在肠粘膜与局部淋巴结中大量增殖, 并侵入血流形成病毒血症, 最终侵犯靶器官肝脏。由于病毒在培养细胞中增殖缓慢, 并不直接造成明显的细胞损害, 故其致病机制除病毒的直接作用外, 机体的免疫应答在引起肝组织损害上起一定作用。

HAV 多侵犯儿童和青少年, 隐性感染多见。无论显性或隐性感染, 机体都可产生抗-HAV 的 IgM 和 IgG 抗体。前者在急性期和恢复早期出现, 而后者于恢复后期出现并可维持较长时间。我国约 80% 40 岁以上的成人血清中存在 HAV 抗体, 对病毒的再感染有免疫力(图 14-5)。甲型肝炎的预后良好。

(三) 微生物学检查法

甲型肝炎的微生物学检查以测定病毒抗原或抗体为主, 一般不进行病原学分离检查。感染早期可检测病人血清中抗-HAV IgM (RIA 或 ELISA 法), 其出现早, 消失快, 是 HAV 新近感染的重要指标。若了解既往感染史, 进行甲型肝炎流行病学调查, 检测人群中抗-HAV 抗体携带

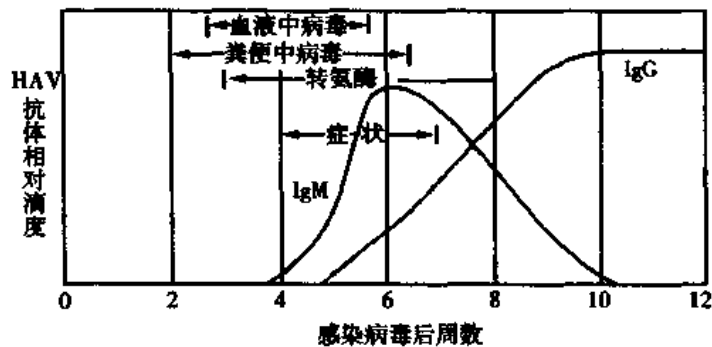


图 14-5 HAV 感染的临床表现与实验室检查

率及分析人群的免疫力, 则需检测抗-HAV IgG。对于接种甲型肝炎疫苗者, 在注射前、后及随访过程中需检测中和性-HAV 抗体, 测定方法是用一株可引起细胞病变的 HAV 毒株 (HM175/18f) 接种猴胚肾细胞, 以抗体抑制病变的出现来测定中和抗体效价。还可检测甲型肝炎病毒抗原, 或用核酸杂交法、PCR 法检测 HAV RNA, 但不常用。

(四) 特异性预防

HAV 主要通过粪便污染食物或水源, 经口传染, 故加强饮食业卫生管理, 管好粪便, 保护水源, 是预防甲型肝炎的主要环节。病人的排泄物、食具、床单和衣物等, 应认真消毒处理。丙种球蛋白对甲型肝炎具被动免疫预防作用。在潜伏期, 肌肉注射丙种球蛋白 (0.02~0.12ml/kg 体重) 可预防或减轻临床症状。

1. 灭活疫苗 由 HM175 等毒株在人胚肺二倍体细胞 (如 MRC5 或 KMB17 细胞) 中传代, 通过反复冻融以释放细胞内的病毒, 纯化后经 $250\mu\text{g}/\text{ml}$ 甲醛于 37°C 灭活 15d 制备而成。目前用于人体接种的 HAV 灭活疫苗在动物和志愿者中均表现出良好的安全性和抗体反应性, 保护效果理想但价格较高。

2. 减毒活疫苗 现我国使用的减毒甲肝活疫苗有 H_2 株和 L-A-1 株。 H_2 株来自杭州郊区患甲型肝炎 12 岁男童的粪便, 病毒分离后先在新生猴原代肾细胞中传代, 再在人胚肺二倍体细胞 (KMB17 株) 中传代减毒得到的。经过 2 000 余万人的使用, 证明效果良好。L-A-1 减毒甲肝活疫苗株的原病毒来自黑龙江某地的一甲型肝炎患者粪便, 经人二倍体细胞传代减毒, 该减毒株疫苗也已在我国生产和使用。目前已在研制基因工程疫苗, 初步结果显示单独用 VP_1 等, 动物免疫效果差, 只有当表达的病毒蛋白形成颗粒状, 才具备良好的免疫原性。

二、戊型肝炎病毒

戊型肝炎病毒 (hepatitis E virus, HEV) 曾被称为消化道传播的非甲非乙型肝炎病毒。1955 年印度暴发流行急性肝炎, 当时误认为是甲型肝炎病毒所致。70 年初建立了 HAV 的检测方法, 重新对当时肝炎患者的血清进行检测, 结果未发现抗-HAV IgM 或 IgG 效价升高, 因此确定该次流行为消化道传播的非甲非乙型肝炎病毒所致。1986 年, 我国新疆南部地区发生戊型肝炎流行, 约 12 万人发病, 700 余人死亡, 是迄今世界上最大的一次戊型肝炎流行。1989 年, Reyes 等应用基因克隆技术, 获得了该病毒基因组 cDNA 克隆, 并正式命名为戊型肝炎病毒。

(一) 生物学性状

HEV 病毒体呈球形, 无包膜 (图 14-6), 直径为 $27\sim 34\text{nm}$, 表面有突起和刻缺, 形似杯状, 故将其归类于杯状病毒科 (Caliciviridae)。病毒对高盐、氯化铯、氯仿等敏感; $-70\sim 8^\circ\text{C}$ 下保存易裂解; 细胞培养尚在研究中; 多种灵长类动物 (如恒河猴、食蟹猴、非洲绿猴、狨猴及黑猩猩等) 可感染 HEV。HEV 基因组为单正链 RNA, 长约 7.5kb , 由 5' 末端非编码区 (约 27nt)、非结构基因区、结构基因区和 3' 末端非编码区 (约 68nt) 组成, 具有 poly A 尾 (位于 3' 端非编码区, 由 $150\sim 300$ 个腺苷酸残基组成)。编码区有 3 个开放读码框架 (ORF), 最长的一个为 ORF-1 约 5kb , 编码病毒复制所需的 RNA 依赖的 RNA 聚合酶等非结构蛋白。ORF-2 和 ORF-3 编码病毒结构蛋白, ORF-2 长约 2kb , 含编码病毒衣壳蛋白的基因。ORF-3 只有 300 余个核苷酸, 介于 ORF-1 和

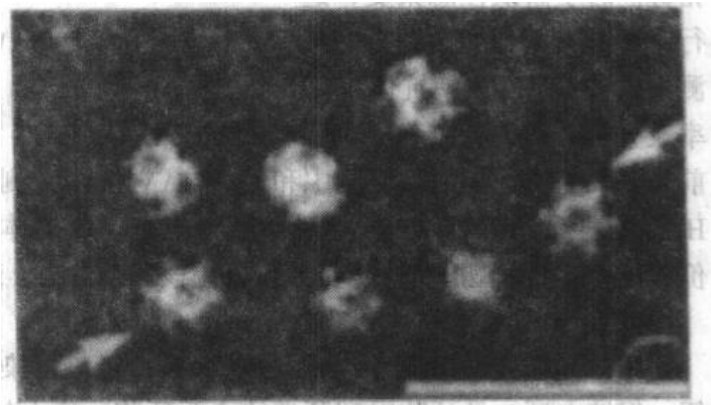


图 14-6 戊型肝炎病毒
箭头处显示病毒的突起 (spikes)

ORF-2 之间，并与它们部分重叠（图 14-7）。

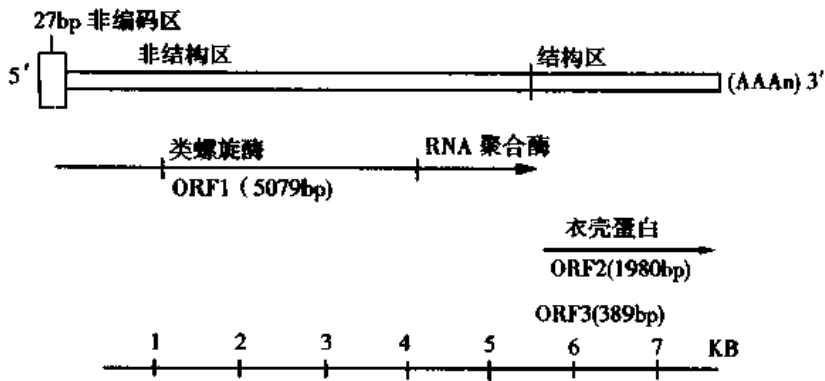


图 14-7 戊型肝炎病毒的基因结构图

已知 HEV 有 2 个基因型，其代表株为缅甸毒株 (B) 和墨西哥毒株 (M)。中国毒株与缅甸毒株属同一型，两者核苷酸和氨基酸序列的同源性分别约为 93% 和 98%；墨西哥毒株属另一型，其核苷酸和氨基酸序列与缅甸毒株的同源性分别为 77% 和 89%。

(二) 致病性与免疫性

HEV 主要经粪-口途径传播，潜伏期为 10~60d，平均为 40d，青壮年罹患率高。HEV 经胃肠道进入血液，在肝内复制，经肝细胞释放到血液和胆汁中，然后经粪便排出体外。人感染后可表现为临床型（成人中多见）和亚临床型（儿童中多见），病毒随粪便排出，通过污染水源、食物和周围环境而发生传播。潜伏期末和急性期初的病人粪便排毒量最大，传染性最强，是戊型肝炎的主要传染源。孕妇感染 HEV 后病情常较重，尤以怀孕 6~9 个月最为严重，常发生流产或死胎，病死率达 10%~20%。

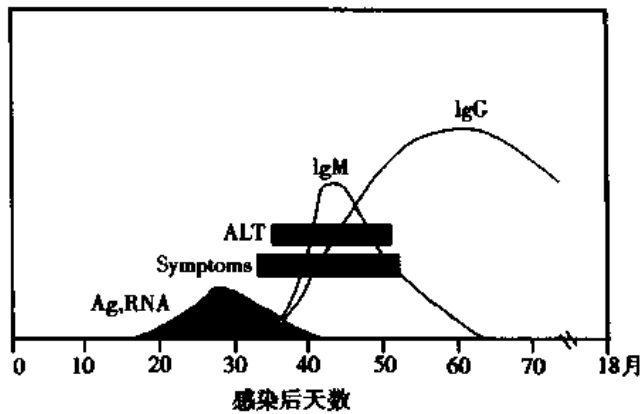


图 14-8 HEV 感染的标志物检测

HEV 通过对肝细胞的直接损伤和免疫病理作用，引起肝细胞的炎症或坏死。临床上表现为急性戊型肝炎（包括急性黄疸型和无黄疸型）、暴发型肝炎以及胆汁性肝炎。戊型肝炎是一种自限性疾病，多数患者于发病后 6 周即好转并痊愈，不发展为慢性肝炎，也无慢性携带者（图 14-8）。抗-HEV IgG 常于发病后 4 周左右转为阳性，多数患者于 5~6 个月后逐渐消失。因此，多数人虽然在儿童期曾感染过

HEV，至青壮年后仍可再次感染。

(三) 微生物学检查法

对 HEV 感染最好做病原学诊断，否则很难与甲型肝炎区别。病原学检查可用急性期患者血清作为抗体，以免疫电镜技术检测粪便或胆汁中的 HEV 病毒颗粒；也可从标本中提取 HEV RNA，用 RT-PCR 法检测 HEV RNA，但这两种方法均未广泛使用。

目前，临床诊断常用 ELISA 法检查血清中抗 - HEV IgM 或 IgG，如抗 - HEV IgM 阳性，则可诊断患者受 HEV 感染；如血清中存在抗 - HEV IgG，则不能排除是既往感染；因为抗 - HEV IgG 在血中持续存在的时间可达数月以上。

目前，HEV 尚不能在细胞培养中大量增殖，虽有 HEV 于传代细胞中培养的报道，但产量很低且重复性较差。迄今，国内外尚没有正式获得批准的 HEV 抗体 ELISA 检测试剂盒，诊断试剂的敏感性和特异性还有待提高。特异性预防疫苗（包括重组疫苗和核酸疫苗）也正在研究中。

（戚中田）

第七节 肠道病毒

肠道病毒（enterovirus）均由肠道中发现，并可通过粪便排出。其归属于小 RNA 病毒科（picornaviridae）。与其在同一病毒科和人类致病有关的病毒还有鼻病毒及甲型肝炎病毒。人类肠道病毒包括：

1. 脊髓灰质炎病毒（poliovirus）有 1、2、3 三型：1 型为常见的流行型别，2 型与地方性流行有关，3 型的流行也较多见。该组病毒可使猴致病，在细胞培养上亦能生长。但不能使新生小鼠致病。

2. 柯萨奇病毒（coxsackievirus）分 A、B 两组，A 组包括 1~22, 24 型；B 组包括 1~6 型；该组病毒不能感染成年鼠，但能使出身 5d 内的新生小鼠致病。A 组引起新生小鼠松弛性麻痹；B 组引起痉挛麻痹。极少数型别可使猴致病，现大多可在培养细胞上生长。

3. 人肠道致细胞病变孤儿病毒（简称埃可病毒）（enteric cytopathogenic human orphan virus, ECHO）包括 1~9, 11~27, 29~33 型。是由麻痹或非麻痹患者粪便经细胞培养分离得到。对新生小鼠和猴无致病性。

4. 新肠道病毒 由于根据实验动物和细胞培养进行的分类方法已显示出很多的不可靠性，为此，自 1969 年后陆续分离到的病毒即不再划分为脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒或 ECHO 病毒，而是简单的以连续的数字进行命名，现已有 68, 69, 70 和 71 型 4 个型。

一、生物学性状

病毒呈球形，直径 24~30nm，核衣壳呈二十面体立体对称，无包膜（图 14-9）。基因组为单正链 RNA，长约 7.4kb，两端为保守的非编码区，在肠道病毒中同源性非常显著，中间为连续开放读码框架。此外，5' 端共价结合一小分子蛋白质 V_{pg}，与病毒 RNA 合成和基因组装配有关；3' 端带有 poly A 尾，加强了病毒的感染性。病毒 RNA 为感染性核酸，进入细胞后，可直接起 mRNA 作用，与宿主细胞核糖体结合，翻译出一个约 2200 个氨基酸的大分子多聚蛋白（polyprotein），经酶切后最终形成病毒结构蛋白 VP1~VP4 和功能性蛋白，包括依赖 RNA 的 RNA 多聚酶、V_{pg}、蛋白酶等（图 14-10）。VP1、VP2 和 VP3 均暴露在病毒衣壳的表面，带有中和抗原位点，VP1 还与病毒吸附有关；VP4 位于衣壳内部，一旦病毒 VP1 与受体结合后，VP4 即被释出，衣

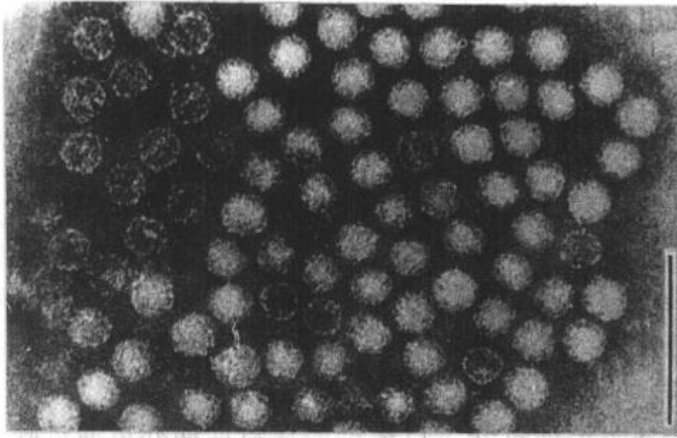


图 14-9 脊髓灰质炎病毒
电镜照片 ×310 000

壳松动，病毒基因组脱壳穿入。

肠道病毒的一个复制周期约 5~10 h，一个感染性病毒粒子在正常情况下可产生成千上万的子代病毒，但只有一部分，约 1/1 000 的新病毒颗粒具有感染性。

肠道病毒抗原性都不一样，目前实际上共有 67 个血清型，分型的主要依据为交叉中和试验和交叉补体结合试验。尽管某些型别间存在着共同抗原，如 ECHO 病毒 1、8、12 和 13

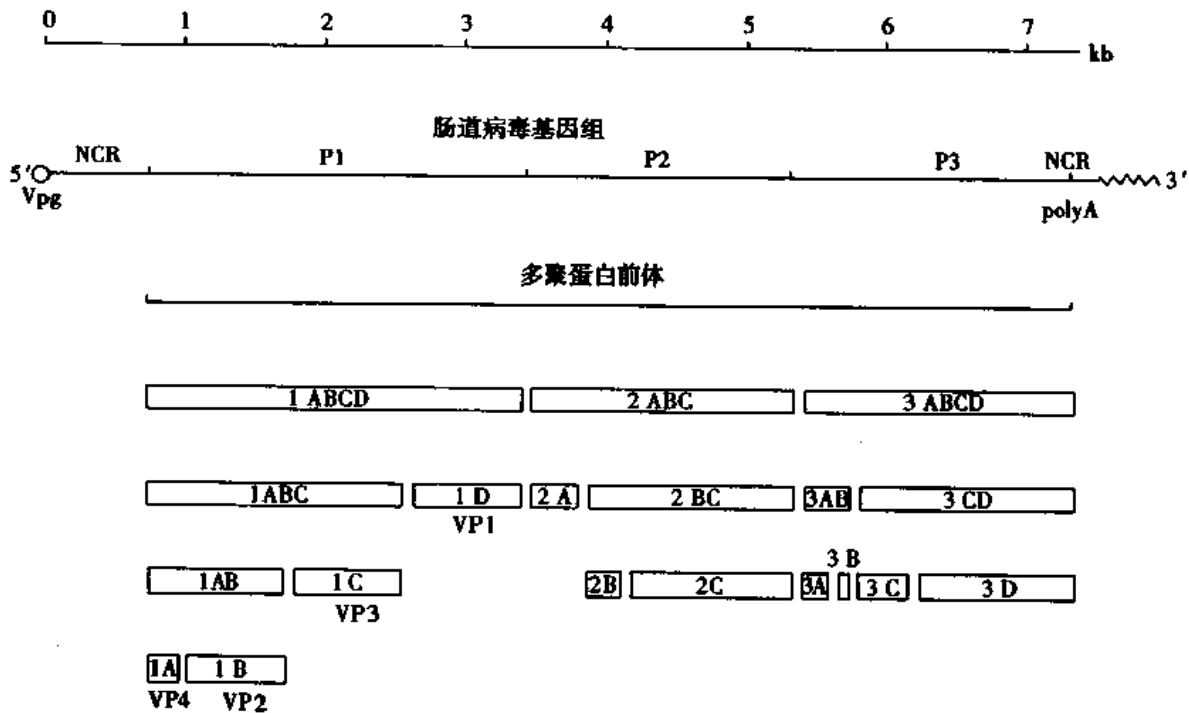


图 14-10 肠道病毒基因组及其编码蛋白的形成

NCR: 非编码区; P1、P2、P3: 基因区; VP1、VP2、VP3、VP4: 衣壳蛋白; 2A、3C: 蛋白水解酶; 3B: VPg; 3D: 依赖 RNA 的 RNA 多聚酶; 2B、2C: 其它功能性蛋白

型可有交叉反应发生，但至今未发现真正的任何组抗原的存在。

肠道病毒抵抗力较强，在胃肠道能耐受胃酸，蛋白酶和胆汁的作用；在体外能耐乙醚、去垢剂等脂溶剂。在 pH3~9 时稳定。对热有一定抗性，粪便中的病毒在室温下可存活数周，-4℃数月，-20℃或-70℃数年，但 50℃可迅速破坏病毒。1mol/LMgCl₂ 或其它二价阳离子，能显著提高病毒对热的抵抗力，抑制脊髓灰质炎病毒的灭活，称二

价阳离子稳定作用。这些二价阳离子已用于作为脊髓灰质炎疫苗的稳定剂。

紫外线和干燥也易灭活肠道病毒。

在化学消毒剂中，0.3%甲醛、0.1M HCl、0.3~0.5ppm 游离氯能迅速灭活病毒，但在有机物质存在时，则需提高灭活病毒的消毒浓度。

二、致病性

90%以上肠道病毒感染为隐性感染或只出现轻微的上呼吸道感染症状。其感染特征是病毒在肠道中增殖却很少引起肠道疾病；不同肠道病毒可引起相同的临床综合征，同一种病毒可引起几种不同的临床疾病。

传染源是患者或无症状带毒者；传播主要通过粪-口途径，在急性期亦可通过呼吸道，但脊髓灰质炎病毒却极为少见。夏季是主要流行季节，儿童为主要易感者。病毒以上呼吸道、咽喉和肠道为侵入门户，先在局部粘膜和咽、扁桃体等淋巴组织和肠道集合淋巴结中初步增殖，然后释放入血，形成第一次病毒血症，扩散至带有受体的靶组织，再次增殖引起第二次病毒血症和临床症状。在症状出现前，咽喉部可短期排出病毒；肠道排毒可持续一个月左右。肠道病毒受体分属几个家族，如脊髓灰质炎病毒3个型别有共同的细胞受体，为免疫球蛋白超家族的细胞粘附分子，与其他肠道病毒不同。特异性受体的存在与否不仅决定了病毒感染的宿主范围，而且决定了病毒感染的组织类型。脊髓灰质炎病毒宿主范围狭窄，只有人类和灵长类动物对其敏感。在人体内只有很少的组织表达这种受体，如脊髓前角细胞、背根神经节细胞、运动神经元、骨骼肌细胞和淋巴细胞等，因而限制了它感染的组织细胞类型。柯萨奇病毒、ECHO病毒识别的受体在组织和细胞中分布广泛，包括中枢神经系统、心、肺、胰、粘膜、皮肤和其它系统，因而引起的疾病谱复杂。大多肠道病毒为杀细胞病毒，病变由病毒直接损伤所造成。组织的损伤可激发炎症反应，特别是水肿可影响神经元。但在水肿消退后，神经元的功能可恢复。这就解释了在急性期后数周至数月，脊髓麻痹程度可得到明显恢复的原因。

不同组肠道病毒所致疾病有显著差别。

脊髓灰质炎病毒 脊髓灰质炎病毒是脊髓灰质炎的病原体。病毒侵犯脊髓前角运动神经细胞，导致弛缓性肢体麻痹，多见于儿童，故亦称小儿麻痹症。从感染到症状出现一般为14d，但可波动在3~12d间。脊髓灰质炎病毒感染后，机体免疫力的强弱显著影响其结局。至少90%的感染者表现为隐性感染；约5%产生流产感染。病人只出现发热、头痛、乏力、咽痛和呕吐等非特异性症状，并迅速恢复；在1%~2%的病人，病毒侵入中枢神经系统和脑膜，产生非麻痹型脊髓灰质炎或无菌性脑膜炎，患者除有上述非特异性症状外，还有颈背强直、肌痉挛等症状。但一般可在10d内迅速恢复，只有0.1%的儿童或2.0%的成人可产生最严重的结局，包括暂时性肢体麻痹，永久性弛缓性肢体麻痹，以及极少数患者发展为延髓麻痹，导致呼吸、心脏衰竭死亡。

在脊髓灰质炎病毒感染期间，特别是潜伏期，有几种因素对感染的结局可产生负面影响，易产生麻痹性脊髓灰质炎，如剧烈的肌肉活动；怀孕，特别是怀孕的最后3个月中被感染，含佐剂的疫苗注射，扁桃体切除等，其中大多情况与病毒沿神经上行扩散有

关。

由于有效的疫苗预防，脊髓灰质炎病毒野毒株的感染已显著减少，但疫苗相关麻痹型脊髓灰质炎病例的出现应引起足够的重视。

柯萨奇病毒、ECHO 病毒和新肠道病毒 上述病毒中很多血清型能引起多种症状相同的综合征，如散发性脊髓灰质炎样的麻痹症、爆发性的脑膜炎、脑炎、发热、皮疹和轻型上呼吸道感染。如柯萨奇 A 组病毒 2、4、7、9、10 和 23 等型别，柯萨奇 B 组病毒 1~6 型，ECHO 病毒除少数几个型别外的其它血清型，新型肠道病毒 70、71 型都可引起无菌性脑膜炎，其中不少型别还与麻痹症有关。

但某些病毒只倾向于引起某种综合征的情况也存在，如：

1. 疱疹性咽峡炎 是主要由柯萨奇 A 组病毒某些血清型，如 2、4、5、6、8、10、和 23 型等引起的热性疾病，典型的症状是在软腭、悬雍垂周围出现水泡性溃疡损伤。

2. 手足口病 主要由柯萨奇病毒 A16 引起，71 型也引起过多次流行。特点为手足口舌上疼痛性水泡性损伤，多见于 1~10 岁儿童，夏季流行。

3. 流行性胸痛 常由柯萨奇 B 组病毒引起，症状为突发性发热和单侧胸痛。可能伴有胸膜炎和心包炎。散发病例也不少见。

4. 心肌炎和心包炎 主要由柯萨奇 B 组病毒引起。在婴儿室可引起爆发流行，死亡率高。散发流行于成人和儿童。初期症状为流感样上呼吸道感染，7~10d 后，临床心脏疾病出现。包括胸痛、心电图不正常等。

5. 眼病 见于由 A24 引起的急性结膜炎和 71 型引起的急性出血性结膜炎。后者在 1969 年暴发流行中发现。当时几乎传播到整个亚、非大陆，累及千万人群。该病潜伏期 24~48h，主要症状为结膜下出血，大多能在 7d 内恢复。

此外，肠道病毒感染可能还与病毒感染后疲劳综合征、糖尿病相关。

三、免疫性

在肠道病毒保护性免疫中抗体具有重要作用。sIgA 可阻止病毒在咽喉部、肠道内的吸附和初步增殖；血清中和抗体可阻止病毒向靶组织扩散和随后引起的疾病。中和抗体在病毒感染后 2~6 周达高峰，并能持续多年，甚至终生，对同型病毒具有较牢固的免疫力。隐性感染者同样可获得保护性免疫，防止同型病毒的再感染。

四、微生物学检查法

病毒分离与鉴定 病毒分离是建立诊断最有用的方法。除柯萨奇 A 组病毒等少数几个型别必须在乳鼠中增殖外，其余都能在猴肾原代和传代细胞、某些人源性传代细胞中生长，在细胞浆中增殖，产生细胞病变。用病毒特异性组合和单价血清做中和试验进行鉴定。标本包括咽拭、粪便和脑脊液。但脑脊液对分离脊髓灰质炎病毒不适用。

血清学试验 用发病早期和恢复期双份血清进行中和试验，若血清抗体有 4 倍或以上增长，则有诊断意义。目前尚无快速简便的其它血清学诊断方法。

此外，用核酸杂交、PCR 等分子生物学方法可检测病毒基因组的存在而进行快速

诊断。同时可根据毒株核苷酸组成或序列的差异，或酶切位点的不同等来区别疫苗株与野毒株。

五、防治原则

自从 50 年代中期和 60 年代初期灭活脊髓灰质炎疫苗 (IPV, Salk 苗) 和口服脊髓灰质炎减毒活疫苗 (OPV, Sabin 苗) 问世并广泛应用以来，脊髓灰质炎发病率急剧下降，绝大多数发达国家已消灭了脊髓灰质炎野毒株，2000 年 10 月 30 日在日本京都召开的世界卫生组织宣布西太平洋地区 (包括我国) 已成为继美洲地区之后第二个消灭脊髓灰质炎的地区。但在非洲、中东和亚洲发展中国家等世界上其它 4 大区仍有野毒株的存在，因此疫苗主动免疫应继续加强，尽早实现 WHO 提出的 2000 年在全球消灭脊髓灰质炎的宿愿。

目前，IPV 和 OPV 都是三价混合疫苗 (TIPV 或 TOPV)，免疫后都可获得抗三个血清型脊髓灰质炎感染的免疫力。

OPV 口服免疫类似自然感染，既可诱发血清抗体，预防麻痹型脊髓灰质炎的产生，又可刺激口咽部和肠道局部产生 sIgA，阻止野毒株在肠道的增殖和人群中的流行。此外，服苗后 OPV 在咽部存留 1~2 周，从粪便中排出达几周，因而疫苗病毒的传播使接触者形成间接免疫。我国自 1986 年实行卫生部颁布的 2 月龄开始连服三次 TOPV，每次间隔一个月，4 岁时加强一次的免疫程序可保持持久免疫力。

IPV 不能产生肠道免疫，接种剂量大，使用不方便，免疫接种面必须广泛等缺点使其在世界范围内很快被 OPV 所代替。事实上 80 年代后期最初的灭活疫苗已改进为抗原性较好的增效 IPV，三剂疫苗接种后，抗三个型别抗体的产生率为 99%~100%，也能诱导低水平的粘膜免疫。芬兰、冰岛、荷兰、挪威、瑞典使用 IPV 后已控制并消灭了脊髓灰质炎，证明了 IPV 的效果。此外，IPV 还适用于免疫缺陷病人及其接触者以及其他不适宜使用 OPV 者。

由于 OPV 热稳定性差，保存、运输、使用要求高，有神经毒力回复的可能，特别是从 1979 年以来，美国所发生的麻痹型脊髓灰质炎都与疫苗株有关，即疫苗相关麻痹型脊髓灰质炎 (VAPP)，因此，新的免疫程序建议最初两次免疫使用 IPV 以排除 VAPP 发生的危险。

(刘晶星)

第八节 急性胃肠炎病毒

胃肠炎是人类最常见的一种疾病，除细菌、寄生虫等病原体外，大多数胃肠炎由病毒引起。这些病毒分别属于四个不同的病毒科：呼肠孤病毒科的轮状病毒 (rotavirus)，杯状病毒科 (caliciviridae) 的 SRSV 和“经典”人类杯状病毒；腺病毒科的肠道腺病毒 40、41、42 和星状病毒科 (astroviridae) 的星状病毒 (astrovirus)。它们所致的胃肠炎临床表现相似，主要为腹泻与呕吐，但流行方式却明显分为两种：5 岁以内的小儿腹泻和与年龄无关的暴发流行。

一、轮状病毒

轮状病毒是 1973 年澳大利亚学者 Bishop 等在急性非细菌性胃肠炎儿童十二指肠粘膜超薄切片中首次发现,是人类、哺乳动物和鸟类腹泻的重要病原体。

(一) 生物学性状

形态 为大小不等的球形,直径 60~80nm,双层衣壳,无包膜,负染后在电镜下观察,病毒外形呈车轮状,故名(图 14-11)。衣壳由结构蛋白组成,包绕病毒核心(RNA 合成酶,11 个双股 RNA 片段)。衣壳蛋白裂解,可激活病毒感染性,产生中间/感染性亚病毒颗粒(intermediated/infectious subviral particle, ISVP)。

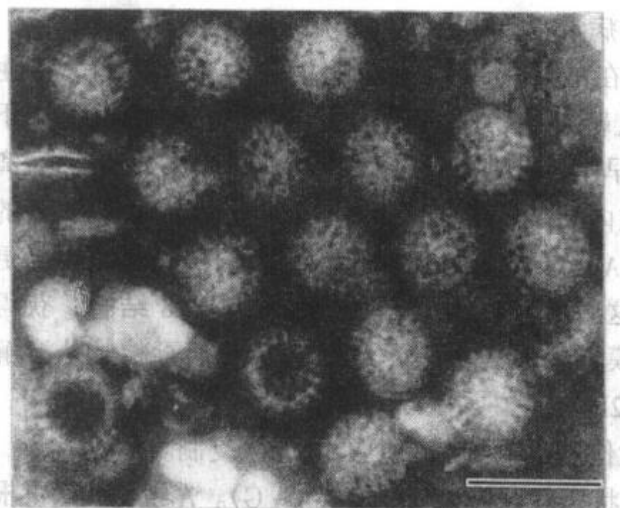


图 14-11 轮状病毒
电镜照片 ×260 000

基因组及其编码的蛋白质 为双链 RNA 病毒,约 18 550 bp,由 11 个基因片段组成。每个片段含一个开放读码框架,分别编码 6 个结构蛋白(VP1、VP2、VP3、VP4、VP6、VP7)和 5 个非结构蛋白(NSP1~NSP5)(表 14-6)。VP6 位于内衣壳,为组和亚组特异性抗原;VP4 和

VP7 位于外衣壳,VP7 为糖蛋白,是中和抗原,决定病毒血清型,VP4 为病毒的血凝素,亦为重要的中和抗原。VP1~VP3 位于核心。

表 14-6 轮状病毒基因产物的功能

基因片段	蛋白(定位)	功能
1	VP1(核衣壳内)	多聚酶
2	VP2(核衣壳内)	转录酶组分,并使 RNA 等结合到一起形成核心
3	VP3(核衣壳内)	与 mRNA 帽形成有关,为鸟苷酰转移酶
4	VP4(外衣壳,病毒刺突,位于病毒体顶角)	可被蛋白酶活化,形成 ISVP。为病毒的血凝素和吸附蛋白,含中和抗原,有型特异性。与毒力有关
5	NS53	? 与 RNA 结合有关
6	VP6(内衣壳)	内衣壳主要结构蛋白,在内质网与 NS28 结合,促进外衣壳装配,有组和亚组抗原特异性
7	NS34	? 与病毒复制有关
8	NS35	? 与 RNA 结合有关

续表

基因片段	蛋白(定位)	功 能
9	VP7(外衣壳)	主要外衣壳蛋白,为糖蛋白。在内质网糖化。有型特异性。与病毒吸附和穿入有关
10	NS28	糖蛋白,胞内受体,促进内衣壳与内质网结合,然后穿入内质网,加上外壳,形成病毒粒子
11	NS26	?

非结构蛋白为病毒酶或调节蛋白,在病毒复制中起主要作用。

病毒的复制 病毒进入消化道后,在酸环境下被蛋白酶消化,VP4裂解,产生ISVP。ISVP与细胞糖蛋白受体结合进入靶细胞,脱去外壳。在内壳自身酶的作用下以 $-RNA$ 为模板转录mRNA,部分转录早期mRNA,部分转录晚期mRNA。成熟后离开核心并翻译成蛋白质。VP7和NS28在内质网糖化。 $+RNA$,即mRNA被包入新的内衣壳,并以 $+RNA$ 为模板复制出 $-RNA$,形成新的基因组。此新的核心可复制出更多的核心,在胞浆中聚集形成包涵体。这新的核心可与内质网上的NS28结合,获得VP7以及外衣壳,穿入内质网时获得包膜,再失去包膜,最后完整的病毒粒子从溶解的细胞中释放出。一个复制周期约10~12h。

完整的病毒也可通过受体介导的胞饮作用进入细胞,但不能进行复制。

分型 根据内衣壳VP6的抗原性,轮状病毒可分为7个组(A~G)。A组轮状病毒根据VP6又分为4个亚组(I、II、I+II、非I非II)。另外A组根据表面中和抗原VP7和VP4分14个G血清型(VP7为糖蛋白)和19个P血清型(VP4为蛋白)。

抵抗力 在粪便中存活数天到数周。耐乙醚、酸、碱和反复冻融,pH适应范围广(pH3.5~10)。在室温下相对稳定,55℃30min可被灭活。

(二) 致病性

轮状病毒呈世界性分布,A~C组轮状病毒能引起人类,幼龄动物和鸟类的腹泻,D~G组只引起动物腹泻。A组轮状病毒最为常见。文献报道766例轮状病毒感染者,其中763例(99.6%属A组),3例(0.4%)属C组。主要流行的血清型为G1P8、G2P4、G3P8和G4P8,是引起6个月~2岁婴幼儿严重胃肠炎的主要病原体,占病毒性胃肠炎的80%以上,是导致婴幼儿死亡的主要原因之一。据统计全世界每天有2000个婴幼儿死于轮状病毒感染。3岁以上,90%儿童以被当地大多数血清型所感染。传染源是病人和无症状带毒者,病人每克粪便中排出的病毒体可达 10^{10} 个,粪-口是主要的传播途径。病毒还可能通过呼吸道传播,从有呼吸道症状儿童的呼吸道分泌物中曾检出轮状病毒的存在,在动物中已证明气溶胶可传播病毒。温带地区晚秋和冬季是疾病发生的主要季节。

病毒侵入人体后在小肠粘膜绒毛细胞内增殖,病毒基因产物VP4为主要致病因子,其它有些基因产物亦与致病有关,造成细胞溶解死亡,微绒毛萎缩、变短、脱落;腺窝细胞增生和淋巴细胞浸润。细胞的损伤使水和电解质的吸收异常;腺窝细胞增生使分泌增多,导致严重腹泻、呕吐和脱水。近期报道NS28还具有肠毒素样致病作用。轮状病毒感染后,潜伏期为24~48h,突然发病,出现发热、水样腹泻、呕吐和脱水,一般为

自限性，可完全恢复。但当婴儿营养不良或已有脱水，或毒株毒力强，及治疗不及时，是导致婴儿死亡的主要原因。年长儿童和成人常呈无症状感染。

B组病毒可在年长儿童和成人中产生暴发流行，但至今仅在我国有过报道。1982~1983年，该组病毒在我国东北，西北矿区青壮年工人中引发了大规模霍乱样腹泻流行，患者达数十万人。

C组病毒对人的致病性类似A组，但发病率很低。

(三) 免疫性

感染后一周，机体可产生型特异性抗体IgM和IgG，对同型病毒有保护作用，特别是肠道sIgA，但对异型只有部分保护作用。细胞免疫有交叉保护作用。在免疫缺陷患者，可发生持续感染并伴随慢性腹泻。

(四) 微生物学检查法

检测病毒或病毒抗原 由于在腹泻高峰时，患者粪便中存在大量病毒颗粒，运用电镜、ELISA或乳胶凝集试验很容易检出病毒或其抗原。轮状病毒有特殊形态结构，应用直接电镜检查，其诊断率达90%~95%。直接或间接ELISA法检测轮状病毒，既可定量，使用单克隆抗体亦能进行G、P分型。

分子生物学检测技术 使用聚丙烯酰胺凝胶电泳法(PAGE)，根据A、B、C三组轮状病毒11个基因片段特殊分布图形进行分析判断，在临床诊断和流行病学调查中有重要意义，使用RT-PCR法不仅检测灵敏度高，利用引物设计技术还可进行G、P分型。

细胞培养 轮状病毒可在原代猴肾细胞，传代MA104猴肾上皮细胞等中增殖，胰酶预处理病毒可加强其对细胞的感染性，但因病毒培养程序较复杂，非临床诊断常用方法。

(五) 防治原则

主要是控制传染源，切断传播途径，严密消毒可能污染的物品。另外，洗手也很重要。治疗主要是及时输液，纠正电解质平衡等支持疗法，以减少婴儿的死亡率。

特异性减毒活疫苗正在研究中。疫苗大多来自猴和牛轮状病毒，因它们与人轮状病毒有共同抗原，但对人不致病，故可提供交叉保护。但现场试验表明该疫苗在有些地区有保护作用，但在另一些地区却无保护作用。对严重病例仅有中等程度的减轻病情作用。目前，多价重组疫苗以G3型猴轮状病毒为背景，加上人G1、G2和G4血清型的VP7基因片段的疫苗正在进行人群试验，与自然感染相比，保护率可达50%~65%，但对80%的严重病例，100%的脱水病例有明显保护作用，可望获得批准应用。

二、肠道腺病毒

肠道腺病毒(enteric adenovirus, EAd) 40、41、42三型已证实是引起婴儿病毒性腹泻的第2位病原体。根据DNA同源性和血凝格局，它们归属于人类腺病毒F组，其形态结构、基因组成、复制特点、致病和免疫与其它腺病毒基本一致，但不易在通常用于分离腺病毒的细胞中增殖，后用腺病毒5型DNA转染的人胚肾细胞，能持续表达

E1A 和 E1B 的 Graham 细胞才分离成功。我国学者应用 A549 细胞分离 40 型亦获得成功。世界各地均有小儿腺病毒胃肠炎报告，主要经粪 - 口传播，四季均可发病，以夏季多见。主要侵犯 5 岁以下小儿，引起腹泻，很少有发热或呼吸道症状。

三、杯状病毒

引起人类胃肠炎的杯状病毒 (calicivirus) 为人杯状病毒 (HuCVs)，包括小圆形结构化病毒 (small round structured virus, SRSV, 图 14-12) 和“典型”杯状病毒 (“classic” calicivirus, 图 14-13)。SRSVs 与其它在肠道中发现的小圆形病毒之间的区别是有明显的表面结构和高低不平的棱 (“ragged” edge)，其原型病毒为 1972 年在美国 Norwalk 一所小学流行性胃肠炎暴发中发现的诺瓦克 (Norwalk) 病毒 (图 14-14)。SRSVs 病毒成员庞杂。

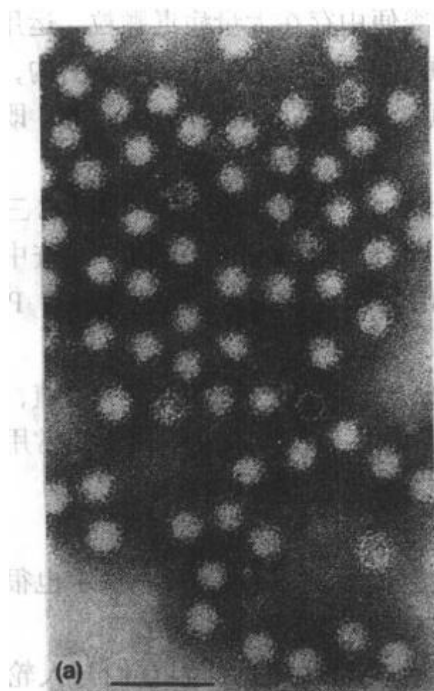


图 14-12 小圆形结构化病毒 (SRSV)

电镜照片 $\times 190\,000$

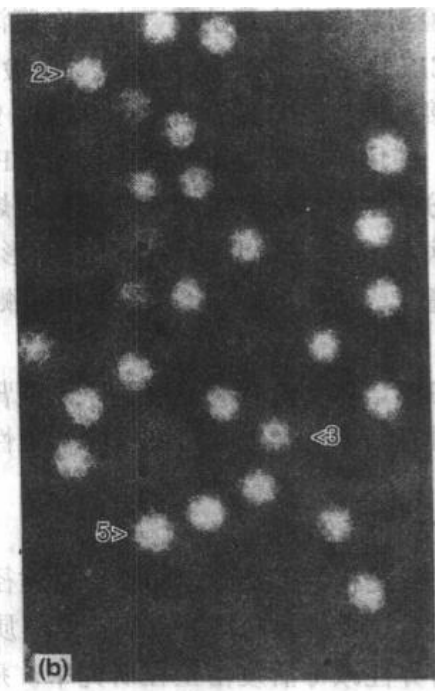


图 14-13 典型杯状病毒

沿 2 重、3 重和 5 重对称轴可见明显的杯状表面结构电镜照片 $\times 190\,000$

“典型”杯状病毒于 1976 年从小儿粪便中发现，其形态特点是其表面有杯状凹陷，棱高低不平。如沿三重对称轴观察时可见中间 1 个，四周 6 个杯状凹陷。共 32 个杯状结构。冻溶、蛋白水解酶、抗体的存在和不正确的染色方法可改变病毒颗粒的外形。使不易于 SRSVs 相区别。

杯状病毒科的特点是球形，SRSVs 大小约 27nm，HuCVs 31~38nm，无包膜。现根据抗原性划分，至少有 5 个血清型。诺瓦克病毒现命名为人杯状病毒 I 型。杯状病毒基因组为正单链 RNA，7.3~7.7kb，有三个开放读码框架。根据基因，杯状病毒有 3 种基因型，I、II 和 III 型。形态上典型的 HuCVs 和 SRSVs 可同属于一个基因型，表

明以前因形态差别分 HuCVs 和 SRSVs, 可能是由理化因素造成的。杯状病毒只有一种衣壳蛋白。尚不能细胞培养, 也无合适动物模型。有报告认为灵长类动物可以感染 HuCVs 产生亚临床感染。

SRSV 是世界上引起非细菌性胃肠炎暴发流行最重要的病原体, 血清学研究也证实这一点。流行季节为冬季, 可累及任何年龄组, 学校、家庭、医院、度假村等集体机构均可发生流行。在美国成人无菌性急性胃肠炎的暴发中有 42% 由该类病毒引起, 我国尚未有暴发流行的报道。病人、隐性感染者、健康带毒者为传染源。粪-口为主要传播途径, 其次为呼吸道。传染性强。污染的水源和食物, 尤其是海产品是引起流行的重要原因。

SRSV 感染引起小肠绒毛轻度萎缩, 同时伴随上皮细胞内淋巴细胞和中性细胞的增加。电子显微镜研究显示上皮细胞仍保持完整, 但微绒毛排列紊乱。潜伏期约 12 ~ 72h, 突然发病, 恶心、呕吐、腹痛和轻度腹泻, 呈自限性, 无死亡发生。感染后可产生相应抗体。Norwalk 病毒血清流行病学调研表明 5 岁以下抗体阳性率为 20%, 18 ~ 35 岁为 45%, 45 ~ 65 岁为 55% ~ 60%, 亦有高达 89.7% 的报道。但在发展中国家, 到 5 岁时抗体检出率几达 100%。但抗体保护作用不明确。典型杯状病毒主要引起 5 岁以下小儿腹泻, 但发病率很低。据英国报告资料, 其引起的腹泻只占病毒性胃肠炎的 0.8% ~ 0.9%。其临床症状类似轻型轮状病毒感染。

微生物学检查的标本包括粪便、双份血清等, 方法中用得最广泛的是电镜, 酶免疫吸附试验在一些实验室也以建立, 以检测抗原和抗体。目前, RT-PCR 也已用于流行病的检测。

四、星状病毒

星状病毒属包括人、哺乳动物和鸟类星状病毒等 8 个种。人星状病毒于 1975 年从腹泻婴儿粪便中分离得到, 球形, 28 ~ 30nm, 无包膜, 电镜下表面结构呈星形, 有 5 ~ 6 个角 (图 14-15)。核酸为单正链 RNA, 7.0kb, 两端为非编码区, 中间有三个重叠的开放读码框架。在有胰酶存在下星状病毒可在某些培养细胞, 如大肠癌细胞

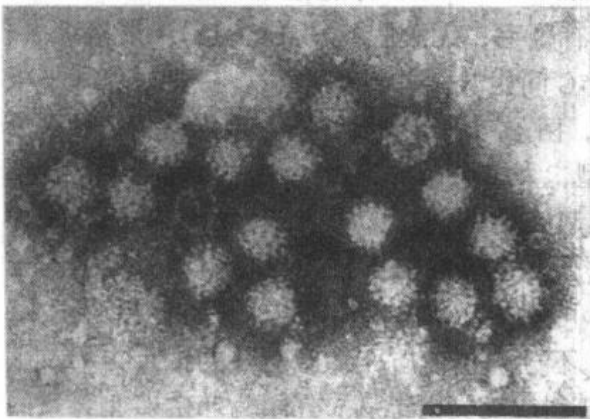


图 14-14 Norwalk 病毒
电镜照片 × 330 000

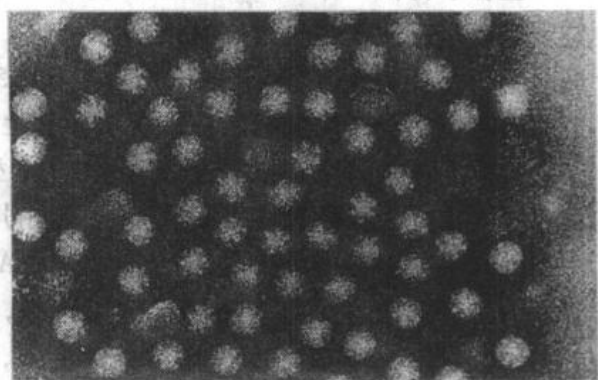


图 14-15 星状病毒
示光滑的表面轮廓和特征性的 5 或 6 角星表面形态
电镜照片 × 190 000

(CaCo2)、人胚肾 (HEK) 和传代恒河猴肾细胞 (LLCMK2) 中生长并产生 CPE。人星状病毒有 7 个血清型。

该病毒呈世界性分布，粪-口传播，易感者为 5 岁以下婴幼儿，其中 5%~20% 为隐性感染。在温带地区，冬季为流行季节，但发病率只占病毒性腹泻的 2.8%。在两次大规模流行病学调查中，星状病毒引起 5 岁以下婴幼儿腹泻为 8.6%，仅次于轮状病毒 (19%)，远高于肠道腺病毒 (2.6%)。

病毒侵犯十二指肠粘膜细胞，并在其中大量增殖，造成细胞死亡，释放病毒于肠腔中。在急性期，粪中病毒可达 10^{10} 病毒体/克，是医院内感染的主要病原体。潜伏期 3~4d，症状包括发热、头痛、恶心、腹泻，后者可持续 2~3d，甚至更长。感染后可产生抗体，3~4 岁的儿童抗体阳性率为 64%，5~10 岁可达 87%，抗体有保护作用，免疫力较牢固。

星状病毒通过污染食物和水还可引起食物中毒。在日本两次大的食物中毒分别涉及 4 700 和 1 419 人，发病率达 62%。

微生物学检查法同杯状病毒。

(刘晶星)

第九节 消化道途径传播的其他微生物

一、肉毒梭菌

肉毒梭菌 (*C. botulinum*) 作为腐生菌在自然界广泛存在，在土壤、蔬菜、水果、树叶、水底污泥等中都可分离到。由于肉毒梭菌的普遍存在，在食物中产生神经毒素的潜能以及其芽胞对理化等因素的高度抵抗力，三者结合使得肉毒梭菌成为人、动物和鸟类的一种重要病原体。人类最常见的由肉毒梭菌引起的肉毒病为肉毒中毒和婴儿肉毒病。

生物学特性 革兰阳性粗短杆菌， $0.9\mu\text{m} \times 4 \sim 6\mu\text{m}$ ，芽胞呈椭圆形，粗于菌体，位于次极端，使细胞呈汤匙状或网球拍状。有鞭毛，无荚膜 (图 14-16)。严格厌氧，最适生长温度为 35°C ，但某些菌株可在 $1 \sim 5^{\circ}\text{C}$ 间生长，并产生毒素。在普通琼脂平板上，肉毒梭菌能产生酯酶，在卵黄培养基上，菌落周围出现混浊圈。根据遗传特性现分四组，根据神经毒素的抗原性分 A~G 7 个型，大多数菌株只产生一种型别毒素，各型毒素只能被同型抗毒素中和。I、II 组可引起人类疾病，I 组多见，最主要的型别为 A、B 型，E、F 型偶见。我国报告大多为 A 型。I 组内肉毒梭菌对蛋白质有较强的分解能力，其形成的芽胞对热的抵抗力很强，可耐热 100°C 1h 以上；II 组包括产生 E、B、F 型毒素的一些菌株，分解糖类能力强，不分解蛋白质，芽胞对热的抵抗力不及 I 组。III 组包括产生 C、D 型毒素的菌株，主要引起鸟类肉毒病。IV 组为产生 G 型毒素的菌株 (由于第 IV 组 G 型毒素产生的菌株不引起肉毒病，亦有专著将其划出而分为三组 6 个型)。肉毒毒素不耐热，煮沸 1min 即可被破坏。

致病性

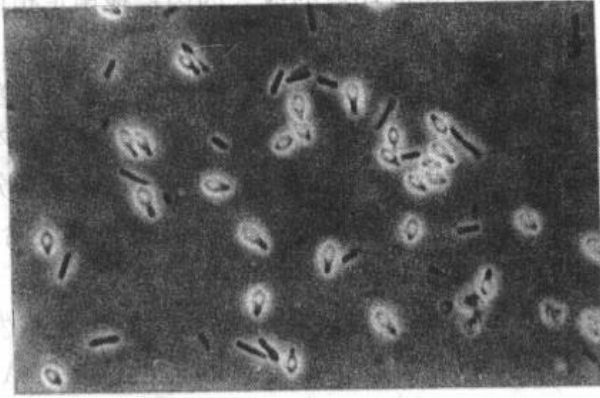


图 14-16 肉毒梭菌 (A 型)
相差显微镜 ×1500

1. 致病物质 主要依靠其剧烈的神经外毒素。肉毒毒素是已知最剧烈的毒物，毒性比氰化钾强 1 万倍，小鼠经腹腔注入 LD_{50} 为 $0.00625ng$ 。纯结晶的肉毒毒素 $1mg$ 能杀死 2 亿只小鼠，对人的致死量约为 $0.1\mu g$ 。肉毒毒素的结构、功能和致病机制与破伤风外毒素非常相似。前体和裂解后片段的大小也相当。主要不同点是：①肉毒毒素作用于外周胆碱能神经，抑制神经肌肉接点处神经介质乙酰胆碱的释放，导致弛缓性麻痹；②毒素经内化作用

进入细胞内由细胞膜形成的小泡中，不像破伤风毒素从外周神经末梢沿神经轴突上行，而是留在神经肌肉接点处；③ $150kD$ 的肉毒毒素前体分子在原始状态时是与一些非毒性蛋白形成一种大小不等的复合物，其沉降系数可分别为 $7S$ 、 $12S$ 、 $16S$ 和 $19S$ ，复合物中的毒性分子可稳定存在于外环境和胃肠道。复合物进入小肠后，在碱性情况下解离，被吸收入血循环；④只有 C 型和 D 型毒素是由噬菌体编码，其他型毒素均由染色体决定。

2. 所致疾病

(1) 食物中毒：食品在制作过程中被肉毒梭菌芽胞污染，制成后未彻底灭菌，芽胞在厌氧环境中发芽繁殖，产生毒素，食前又未经加热烹调，食入已产生的毒素，发生食物中毒。该病是单纯性毒素中毒，而非细菌感染。

肉毒毒素引起的食物中毒在我国十几个省、区均有发现，新疆较多。引起食物中毒的食物国外以罐头、香肠、腊肠等制品为主；国内据新疆统计，由发酵豆制品（臭豆腐、豆瓣酱等）引起的占 80% 以上，发酵面制品（甜面酱等）占 10% 左右。在当前食品种类发生变化的情况下，也应对肉类食品的肉毒中毒保持警惕。肉毒梭菌污染并产生了毒素的食品可以没有腐败的迹象。

肉毒中毒的临床表现与其它食物中毒不同，胃肠道症状很少见，主要为神经末梢麻痹。潜伏期可短至数小时，先有一般不典型的乏力、头痛等症状，接着出现复视、斜视、眼睑下垂等眼肌麻痹症状；再是吞咽、咀嚼困难、口干、口齿不清等咽部肌肉麻痹症状，进而膈肌麻痹、呼吸困难、直至呼吸停止导致死亡。很少见肢体麻痹。不发热，神智清楚。如及时给予支持疗法与控制呼吸道感染，病死率可从 70% 降低至 10%。存活病人恢复十分缓慢，可从几个月到几年，直到被感染的神经末梢重新长出。

(2) 婴儿肉毒病：1976 年美国首先报告。1 岁以下，特别是 6 个月以内的婴儿，因其肠道的特殊环境及缺乏能拮抗肉毒梭菌的正常菌群，食入被肉毒梭菌芽胞污染的食品（如蜂蜜）后，芽胞发芽、繁殖，产生的毒素被吸收而致病。症状与肉毒毒素食物中毒类似，最先引人注意的症状是便秘，吸乳、啼哭无力。婴儿肉毒病死亡率不高（1% ~ 2%）。

此外，亦有因肉毒梭菌感染伤口或手术改变了胃肠道环境的成人因肉毒梭菌定植而产生肉毒病的报道。

微生物学检查法 食物中毒患者可取粪便、剩余食物分离病菌，同时检测粪便、食物和病人血清中毒素活性。婴儿肉毒病取粪便分离病菌并检测毒素。粪便、食物等标本可先 80℃ 加热 10min，杀死标本中所有的细菌繁殖体，再用加热标本进行厌氧培养分离本菌。毒素检查可将培养物滤液或食物悬液上清分成两份，其中一份与抗毒素混合，然后分别注射小鼠腹腔，如果抗毒素处理小鼠得到保护表明有毒素存在。

防治原则 加强食品卫生管理和监督；个人防护包括低温保存食品，防止芽胞发芽；80℃ 加热食品 20min 破坏毒素。对病人应尽早根据症状作出诊断，迅速注射 A、B、E 三型多价抗毒素，同时加强护理和对症治疗，特别是维持呼吸功能，以显著降低死亡率。

二、蜡样芽胞杆菌

蜡样芽胞杆菌 (*B. cereus*) 为革兰阳性大杆菌。芽胞为椭圆形，位于菌体中部或次极端。有周鞭毛、无荚膜。培养后形成大的、灰色的、边缘不规则的炭疽杆菌样菌落。该菌广泛分布于土壤、水、以及米、面、乳制品等食品中。芽胞能耐受 100℃ 30min，在适宜温度下可在食品中大量繁殖，其菌量可达 10^{10} /g 食品。并产生毒素。人进食被本菌污染的隔夜或隔餐食物，可引起两种类型的食物中毒。一为呕吐型，其毒素为耐热耐酸的小分子肽，能经受肠道中蛋白溶解酶的作用；二为腹泻型，是由细菌在肠道中产生类似于大肠埃希菌样不耐热肠毒素所致。蜡样芽胞杆菌食物中毒潜伏期 2~9 h，症状为恶心、呕吐、腹泻，持续时间 9~24 h，减少进食进水能迅速恢复。从剩余食物中检测到大量蜡样芽胞杆菌，同时经 37℃ 24 h 培养出现典型菌落即可作出诊断。食品适当的冷藏可预防本病发生。

三、空肠弯曲菌

生物学性状 空肠弯曲菌 (*Campylobacter jejuni*) 于 20 世纪 70 年代发现，其形态细长，呈弧形，S 形等弯曲状，大小为 $1.5 \sim 2.0 \mu\text{m} \times 2.0 \sim 0.5 \mu\text{m}$ ，无芽胞，一端或两端有一根鞭毛，运动活泼，革兰染色阴性。

对氧和超氧化物敏感，但氧又是其生长所必须气体，因此常在微量氧气存在的条件下进行培养，5% O₂、10% CO₂ 和 85% N₂ 为其最适生长环境。36~37℃ 生长良好，最适生长温度为 42~43℃。营养要求高，需血液或血清，初分离时出现两种菌落，一为细小光滑型菌落，一为扁平粗糙型菌落。在不利生长条件下，细菌会向球形转化。

生化反应不活泼，不发酵糖类，常见生化试验阴性，但氧化酶试验强阳性。

有两类抗原，即耐热的脂多糖 O 抗原和不耐热的表面及鞭毛抗原。根据前者可分 65 个血清群。根据后者可分 160 个血清群。

致病性与免疫性 空肠弯曲菌是人类散发性、细菌性肠炎最常见的菌种之一。动物是主要传染源，动物宿主非常广泛，特别是鸟类，通过粪便污染各种水源，造成感染的循环。家畜特别是奶牛感染后，还可通过乳汁排出病菌。人类感染主要通过饮食或与感

染动物直接接触。市售鸡肉污染率至少 60%，在发达国家 50% 的人类感染由烤鸡引起。大多感染为散发性。污染的牛奶和水是造成暴发性流行的主要原因。与沙门菌不同，空肠弯曲菌不在食物中繁殖，很少可引起暴发性食物中毒。

该菌在志愿者感染研究中表明，摄入 500 ~ 800 个细菌即可造成感染。病菌首先在空肠和回肠繁殖，但亦可扩展致结肠和直肠。病菌具有侵袭力，能侵入肠上皮细胞，引起水肿，表浅溃疡，造成中性粒细胞浸润等。肠系膜淋巴结亦可被累及，并可出现短暂菌血症。

空肠弯曲菌感染可发生于任何年龄组，但发病率在中青年较高，潜伏期一般为 3 ~ 5d，症状有腹痛，腹泻，有时有发热，偶有呕吐和脱水，可出现便血。

感染后机体能产生特异性抗体，发病后 10d 内出现 IgA 和 IgM，2 周内消退，IgG 出现也很迅速，但只持续几周。免疫的维持靠持续不断的与病原体接触。

微生物学诊断与防治 微生物学检查的标本主要为粪便。涂片染色或制作悬滴标本直接镜检，根据形态和动力可初步诊断。培养在微需氧环境下，常用含有抗生素的选择性培养基于 42 ~ 43℃ 下进行培养。近期感染还可用 ELISA 方法检测相应抗体。

预防主要是注意饮水和食品卫生，治疗可用红霉素、氨基糖甙类抗生素、氯霉素等。

四、葡萄球菌

引起食物中毒的病原菌为能产生肠毒素的金黄色葡萄球菌。葡萄球菌肠毒素为分子量约 26 000 ~ 30 000 的单一多肽链。能耐受 100°C 30min，并能抵抗胃肠液中蛋白酶的水解作用。按抗原性和等电点不同，可分为 A、B、C1、C2、C3、D、E、G、H 9 个血清型，以 A、D 型最常见，B、C 型次之。同一菌株能产生两型或以上肠毒素，但常以一种类型的毒素为主。淀粉类、肉类、乳及乳制品等食品被上述菌株污染后，只要在室温中搁至 5h 以上，细菌即可大量繁殖并产生肠毒素，餐后 1 ~ 6h 出现症状，先有恶心、呕吐、上腹痛、继以腹泻。呕吐最为突出，与毒素刺激呕吐中枢有关。病人大多于 1 ~ 2d 内恢复。实验室诊断可因食物被加热过，细菌分离培养阴性，因此应同时作毒素鉴定。动物实验以幼猫最敏感。近年多采用 ELISA 法进行检测。

五、产气荚膜梭菌

产气荚膜梭菌食物中毒相当常见，但常被忽略。引起食物中毒的菌株主要为 A 型。致病物质为肠毒素，不耐热，100°C 瞬时被破坏。当食入大量 ($10^8 \sim 10^9$ 细菌) 被本菌污染的食品 (主要为肉类)，芽胞在体内发芽并释放毒素。毒素经胰蛋白酶消化，毒性可增加 3 倍。产气荚膜梭菌肠毒素的作用机理是毒素分子嵌入细胞膜，改变膜的通透性使胞内离子及大分子物质流入肠腔。毒素还可作为超抗原，刺激淋巴细胞释放淋巴因子。该病潜伏期 8 ~ 24h，临床表现为腹痛、水样腹泻，但无热、无恶心和呕吐，病程不超过 24h。如在发病后一日内，检出大于 10^5 细菌/克食物或大于 10^6 细菌/克粪便可建立诊断。

(刘晶星)

展 望

消化道传播的微生物是人类疾病的重要病原体，与人类关系密切，其中有些极为常见，有些可导致严重疾病，有些能导致暴发性乃至全球性大流行。尽管目前对其研究已相当深入，较好的解决了一部分问题，但新的问题又不断出现，特别是新的病原体的发现，如肠出血性大肠埃希菌、肠集聚性大肠埃希菌、幽门螺杆菌、霍乱弧菌 O139 等，表明我们对这类微生物的认识还有待完善、深入和研究，前进的道路没有尽头。现就这类微生物有待深入研究的某些方面归纳如下：

(一) 致病机制

致腹泻的大肠埃希菌中，除肠产毒性大肠埃希菌外，其余种类的大肠埃希菌致病物质和致病机制尚不完全清楚；幽门螺杆菌的致病物质与其致病之间的直接关系尚未被充分证实；轮状病毒决定性的致病物质和致病机制尚待阐明；沙门菌拥有 2 000 多个血清型别，有些仅对人致病，有些仅对动物致病，有些对两者都有致病性，这种区分主要是根据临床资料，大多没有实验证明，因此，加强对沙门菌致病性的研究，对临床和预防都有重要意义；霍乱弧菌中有些菌株既可引起个体严重腹泻，又可引起流行，而另一些菌株可引起个体严重疾病，却不一定能造成流行。因此在研究霍乱弧菌致病性的同时，加强该菌流行机制的研究，对霍乱防治具有重要意义；肠道病毒持续性感染与人类某些慢性疾病，如扩张性心肌病、胰岛素依赖性糖尿病、病毒感染后疲劳综合征的确切关系和机制尚待阐明。对 HAV 的基础研究，目前多集中在它与宿主细胞相互作用的分子及其调控上，这方面的工作有望揭示 HAV 致病的分子机制。另外，HAV 能否在肝外细胞特别是消化道淋巴组织中增殖与致病，也有待证实。

(二) 感染的诊断

病原体的分离与鉴定是确立微生物感染的重要检测手段，这在沙门菌、志贺菌、致病性大肠埃希菌、霍乱弧菌、和副溶血性弧菌等均不可缺少。尽管目前已有成熟的，可靠的方法，但建立快速、微量、简洁的方法，提供系统性商品化试剂以减轻实验室工作负担，仍应列为当前应用研究的重点课题；肠道病毒感染快速血清学诊断至今未能建立，尚有待理论和技术上的突破；对环境中的甲型肝炎病毒监测的方法学研究有待加强；HEV 尚不能在细胞培养中大量增殖，也无正式批准用于特异诊断的试剂盒，研制检测 HEV 感染的特异诊断试剂（尤其是用于急性感染诊断的 IgM 型抗体检测试剂盒），是当前亟待解决的问题。

(三) 特异型预防

目前导致腹泻和尿道感染的大肠埃希菌、痢疾志贺菌、幽门螺杆菌、肠道病毒（脊髓灰质炎病毒除外）、腹泻病毒、戊型肝炎病毒等尚无预防型疫苗，努力发展其有效疫苗，特别是针对肠产毒型大肠埃希菌、痢疾志贺菌、幽门螺杆菌、轮状病毒等应是今后研究的重点。目前，应用生物工程技术构建的双价痢疾志贺菌苗正在进行现场试验；轮状病毒基因重组疫苗在美国已进入人体观察阶段，但还不能彻底控制 A 组轮状病毒引起的腹泻。当前正在使用的预防伤寒的 Ty21a 口服活疫苗及伤寒 Vi 多糖菌苗，其保护

率约 70%，还需进行改进以提高保护效果；霍乱非口服菌苗由于不刺激肠道，无局部免疫，保护作用很差，目前已被淘汰，各种口服疫苗正在研制和试验中。HAV 只有一个血清型，可在体外细胞中培养增殖，病毒的基因组具有遗传保持性，流行特征比较清楚，现已建立了多种灵长类动物模型，特异性预防疫苗已研究成功。

(四) 其他

如霍乱弧菌 O139 的来源，是从 O-I 群突变产生还是早就存在，是探讨众多细菌遗传变异和新型微生物来源判断的重要内容；幽门螺杆菌的传染源和传播途径是幽门螺杆菌流行的重要环节，这些问题都有待解决。甲型肝炎病毒和戊型肝炎病毒体外培养的产量不高，其培养技术尚待改进。

总之，以上问题已引起人们极大重视和兴趣，已经着手或正准备着手解决。这些问题的解决，将对相应疾病的临床诊断、治疗和预防起着直接的影响，在人与病原微生物的斗争中又向前迈进了胜利的一步。

(刘晶星)

第十五章 创伤感染的微生物

创伤感染主要指组织损伤或烧伤后引起的微生物感染，包括能引起毒素性和化脓性感染的两类微生物。前者有破伤风梭菌、产气荚膜梭菌等；后者主要有葡萄球菌、链球菌等化脓性球菌，铜绿假单胞菌、无芽胞厌氧菌等条件致病菌。此外，狂犬病病毒、白假丝酵母菌等亦可引起创伤性感染。创伤性感染常为多种微生物的混合感染，除主要微生物外，其它微生物则在感染中起辅助或共生作用。

第一节 金黄色葡萄球菌

葡萄球菌 (staphylococcus) 因堆聚成葡萄串状而得名，为最常见的化脓性球菌，广泛分布于自然界、人和动物，多数为腐生或寄生菌。少数人可携带致病性葡萄球菌，医务人员的带菌率可高达 70%，而且多为耐药性菌株，是医院内感染的重要传染源。葡萄球菌属目前发现有 32 种，寄生人体的有 16 种，其中只有金黄色葡萄球菌能产生血浆凝固酶，称为血浆凝固酶阳性葡萄球菌，将其余统归为凝固酶阴性葡萄球菌，主要有表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌。随着分子生物学技术的发展，应用分子生物学方法检测细菌特征性基因和与治疗密切相关的耐药基因，对葡萄球菌感染的诊断和抗生素的选用具有重要意义。

一、生物学性状

形态和培养 葡萄球菌呈球形或椭圆形。直径为 0.5 ~ 1 μ m。常以葡萄串状排列，但有时亦可见散在、成双或呈短链状存在。无鞭毛，无芽胞，体外培养一般不形成荚膜，但体内菌株荚膜形成较为常见。革兰染色阳性，当衰老、死亡、被吞噬细胞吞噬或在青霉素等药物影响下，菌体可染成革兰阴性。该菌营养要求不高，在普通培养基上生长良好。需氧或兼性厌氧，在 18 ~ 40 $^{\circ}$ C 均可生长。耐盐性强，在含有 10% NaCl 培养基中能生长，故可用高盐培养基分离菌种。普通琼脂平板上形成圆形、表面光滑湿润、不透明的菌落。典型菌株产生脂溶性的金黄色色素而使菌落呈金黄色。在血琼脂平板上，因金黄色葡萄球菌多产生溶血素，在菌落周围形成明显的透明溶血环。

分型 金黄色葡萄球菌可进一步用噬菌体分型，分为 4 群 23 型。噬菌体分型在流行病学调查时追踪传染源及研究菌型与疾病的关系上均有重要意义。

抗原构造 金黄色葡萄球菌具有多种抗原，较重要的有：

1. 葡萄球菌 A 蛋白 (staphylococcal protein A, SPA) 存在于细胞壁的一种表面蛋白。90% 以上的金黄色葡萄球菌菌株有此抗原，但不同菌株间含量差异悬殊。SPA 是

一种单链多肽，与细胞壁肽聚糖共价连接，但有三分之一分泌于胞外。SPA 为完全抗原，具属特异性。它可与人 IgG1、IgG2 和 IgG4 的 Fc 段发生非特异性结合，通过与吞噬细胞争夺 Fc 段，有效地降低抗体介导的调理作用，从而具有抗吞噬作用。此外，SPA 与 IgG 复合物有促细胞分裂、引起超敏反应、损伤血小板等多种生物学活性，临床上用特异性抗体结合在 SPA 阳性菌作为诊断试剂，已广泛地应用于多种微生物抗原的检出，这种简易、快速的诊断方法称为协同凝集试验 (coagglutination)。

2. 磷壁酸 为含磷的多聚物。与肽聚糖共价相连者称壁磷壁酸；通过亲脂键与细胞膜相连称膜磷壁酸，亦称脂磷壁酸 (lipoteichoic acid, LTA)。金黄色葡萄球菌为 N-乙酰葡萄糖胺核糖醇磷壁酸 (多糖 A)；表皮葡萄球菌为 N-乙酰葡萄糖甘油型磷壁酸 (多糖 B)。磷壁酸能与细胞表面的纤连蛋白 (fibronectin) 结合，从而介导葡萄球菌对粘膜表面的粘附。磷壁酸抗原性弱，属半抗原，当与肽聚糖结合后，可引起机体的免疫应答反应，检测抗磷壁酸抗体，可用于诊断全身性葡萄球菌感染。

二、致病性与免疫性

致病物质 金黄色葡萄球菌可产生多种毒力因子：

1. 凝固酶 (coagulase) 金黄色葡萄球菌可产生两种凝固酶：游离凝固酶 (free coagulase) 分泌至菌体外，被血浆中凝固酶反应因子激活，形成葡萄球菌凝血酶 (staphylothrombin)，能使纤维蛋白原变为纤维蛋白，导致血浆凝固；结合凝固酶 (bound coagulase) 或凝聚因子 (clumping factor) 在菌体表面并不释放，能与纤维蛋白原结合，使纤维蛋白原变为纤维蛋白而引起细菌凝聚。游离凝固酶采用试管法检测，使血浆凝固成胶冻状者为阳性；结合凝固酶可用玻片法测定，细菌凝聚成颗粒状为阳性。凝固酶阳性的葡萄球菌均为金黄色葡萄球菌，故凝固酶试验是鉴定金黄色葡萄球菌的重要标志。

凝固酶与金黄色葡萄球菌的致病力有密切关系，可使血浆纤维蛋白包被在菌体表面，阻碍吞噬细胞的吞噬或胞内消化作用，还能保护细菌免受血清杀菌物质的作用。此外，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。

2. 溶细胞毒素 为膜损伤毒素，主要有葡萄球菌溶素 (staphylolysin) 和杀白细胞素 (leukocidin)。①葡萄球菌溶素：金黄色葡萄球菌产生 4 种溶素，分别称为 α 、 β 、 γ 和 δ 。都是蛋白质，具有抗原性，可被相应抗体中和，其中 α 溶素由质粒或染色体编码，除对多种哺乳动物红细胞有溶血作用外，对白细胞、血小板、肝细胞、成纤维细胞、血管平滑肌等均有毒性作用，可引起组织坏死。其作用机制可能是毒素分子插入细胞膜疏水区，从而破坏膜完整性造成细胞溶解； β 溶素为神经鞘磷脂酶 C (sphingomyelinase C)，能水解细胞膜磷脂，损伤红细胞、白细胞、巨噬细胞和纤维细胞，也与组织坏死和脓肿形成有关。②杀白细胞素：由大多致病性葡萄球菌产生，又称 Panton-Valentine (PV) 杀白细胞素，有 F 和 S 两个组分。在细胞膜上，S 组分的受体主要是神经节苷脂 GM1，F 组分则为卵磷脂。杀白细胞素与受体的结合，改变细胞膜的结构，使细胞对阳离子的通透性增加，引起人和动物中性粒细胞和巨噬细胞的损伤，最

终导致细胞死亡。死亡的细胞可以形成脓栓，加重组织的损伤。大量吞噬细胞的损伤也可影响机体的免疫防御能力。

3. 肠毒素 (enterotoxin) 30% ~ 50%金黄色葡萄球菌可产生肠毒素，已鉴定的有 A, B, C1, C2, C3, D, E, G 和 H 9 个血清型。葡萄球菌肠毒素是一组热稳定的可溶性蛋白质，分子量 26 ~ 30 KD。100℃ 30min 不被破坏。能抵抗胃肠液中蛋白酶的水解作用。近来研究发现，葡萄球菌肠毒素是超抗原，与普通抗原相比，可激活更多的 T 细胞，释放过量的细胞因子 (如 TNF, IL-1, IFN- γ) 而致病。食物如被葡萄球菌产毒株污染，在合适温度下，经 8 ~ 10h，即可产生大量的肠毒素。食用含有肠毒素的食物，可发生急性胃肠炎，称为食物中毒。发病率占食物中毒的首位。

4. 剥脱毒素 (exfoliatin) 由蛋白质组成。根据血清学特性分为 A 和 B 型。A 型由位于金黄色葡萄球菌染色体上的噬菌体基因组编码；B 型则由 RW002 质粒编码。剥脱毒素具有丝氨酸蛋白酶功能，能裂解细胞间桥小体，破坏皮肤细胞间的连接，引起葡萄球菌烫伤样皮肤综合征 (staphylococcal scalded skin syndrome, SSSS)。

5. 毒性休克综合征毒素 1 (toxic shock syndrome toxin-1, TSST-1) 曾称致热外毒素 C 和肠毒素 F。是某些金黄色葡萄球菌在生长过程中分泌的一种外毒素。该毒性蛋白由细菌染色体编码，含有 194 个氨基酸，分子量为 2.049 KD，是毒性休克综合征 (toxic shock syndrome, TSS) 的主要物质。

此外，金黄色葡萄球菌还有纤维蛋白溶酶 (fibrinolysis)、耐热核酸酶 (heat stable nuclease)、透明质酸酶 (hyaluronidase)、和酯酶 (lipase)，分别与细菌的扩散和组织的损伤有关。

所致疾病 有侵袭性和毒素性两种类型。

1. 侵袭性疾病 主要引起化脓性感染。金黄色葡萄球菌可通过多种途径侵入机体，引起局部组织、内脏器官、或全身性化脓感染。局部感染主要表现为疖、痈、甲沟炎、麦粒肿、蜂窝织炎、伤口化脓等，内脏器官感染如肺炎、脓胸、中耳炎、脑膜炎、心包炎、心内膜炎等。全身感染如败血症、脓毒血症等。

2. 毒素性疾病 金黄色葡萄球菌外毒素可引起下列疾病：

(1) 食物中毒：人摄入含肠毒素污染的食物后 1 ~ 6h，即可出现头晕、恶心、腹泻、呕吐等急性胃肠炎症状。发病 1 ~ 2d 可自行恢复，预后良好。

(2) 假膜性肠炎：由于使用抗生素等原因造成菌群失调，使少数耐药性金黄色葡萄球菌大量繁殖，产生肠毒素，使肠粘膜发生炎症，形成有炎性渗出物、肠粘膜坏死组织和细菌组成的一层膜状物 (假膜)。假膜性肠炎主要表现为顽固性腹泻。

(3) 烫伤样皮肤综合征：由表皮剥脱毒素引起。多见于新生儿及免疫功能低下者。患者皮肤呈弥漫红斑，起皱，继而形成水疱，导致表皮脱落。

(4) 毒性休克综合征：由 TSST-1 引起。主要表现为高热、低血压、呕吐、腹泻、猩红热样皮疹，严重者出现休克。

过去，毒性休克综合征多见于经期妇女。使用月经塞是重要发病原因。葡萄球菌在阴道或伤口生长，产生毒素进入血液，引起全身毒性反应。近几年发现许多病例与月经无关，且 TSST-1 并非是引起毒性休克综合征的唯一病因，细菌内毒素、葡萄球菌肠

毒素等也与毒性休克综合征发病有关。

免疫性 人对金黄色葡萄球菌有一定的天然免疫力。当皮肤粘膜发生损伤或机体抵抗力降低时才易引起感染。病后能获得一定的免疫力，但作用不强，一般认为不足以预防再次感染。

三、微生物学检查法

临床标本 有穿刺液、脓汁、分泌液、脑脊液、胸腹水、血液等。食物中毒则收取剩余食物和呕吐物。

直接涂片染色后镜检 可根据细菌形态、排列方式和染色性作初步诊断。

分离培养 标本接种血琼脂平板，或经肉汤培养基增菌后接种血琼脂平板。根据菌落特点再作涂片染色检查、甘露醇发酵和血浆凝固酶试验等（表 15-1）。葡萄球菌分离株一般均应作药物敏感试验。

表 15-1 三种常见葡萄球菌的鉴别

试 验	金黄色葡萄球菌	表皮葡萄球菌	腐生葡萄球菌
菌落色素	金黄色或灰白色	白色	白色或柠檬色
血浆凝固酶	+	-	-
甘露醇发酵	+	-	-
葡萄糖	+	+	-
新生霉素	S(敏感)	S(敏感)	R(耐药)
A 蛋白	+	-	-

肠毒素检查 食物中毒病人的标本，可用 ELISA 检测肠毒素，方法简便敏感，可检测微量肠毒素。

目前，正在发展分子检查方法，用于疾病诊断和流行病学调查。有核糖体分型、PCR 技术和脉冲场电泳等方法分析细菌质粒和基因组 DNA。

四、防治原则

注意个人卫生，对皮肤粘膜损伤应及时处理。医院内做好消毒隔离，防止医源性感染。对饮食服务业加强卫生管理，防止引起食物中毒，目前耐药菌株日益增多，要根据药敏试验结果选用适宜的抗菌药物。对慢性反复感染的患者，可试用自身菌苗疗法。

(钱利生)

第二节 凝固酶阴性葡萄球菌

凝固酶阴性葡萄球菌 (coagulase - negative staphylococci, CNS) 存在于健康人的皮肤、口腔及肠道中，因其不产生血浆凝固酶、 α -溶素等毒性物质，故原认为无致病作用。但近年来，临床及实验室工作证明，CNS 是医院感染的重要病原菌，是创伤、尿道、中枢神经系统感染和败血症的常见病原菌，而且耐药菌株比金黄色葡萄球菌更为多

见，现已日益受到重视。

目前已发现的 CNS 有表皮葡萄球菌 (*S. epidermidis*)、腐生葡萄球菌 (*S. saprophyticus*)、人葡萄球菌 (*S. huminis*)、溶血葡萄球菌 (*S. hemolyticus*)、头葡萄球菌 (*S. capitis*)、华纳葡萄球菌 (*S. warneri*)、模仿葡萄球菌 (*S. simulans*)、木糖葡萄球菌 (*S. xylosus*)、猿类葡萄球菌 (*S. simians*) 等十余种。从感染标本中分离最多的 CNS 是表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌。

一、致病性

CNS 是皮肤、粘膜的正常菌群，当机体免疫功能低下或进入非正常寄居部位时，可引起多种感染。据美国疾病控制中心统计，CNS 在各类感染中的比例 (10.2%) 仅次于大肠杆菌 (19.2%)，居病原菌第二位，而金黄色葡萄球菌仅为 3.5%。关于 CNS 的致病机制可能与其产生粘质有关。粘质由中性糖类、糖醛酸和氨基酸组成。粘质使细菌粘附在细胞表面，菌体之间借此相互粘连。菌体被粘质包围后，能保护细菌免受中性粒细胞的吞噬和减弱抗生素的渗透。如表皮葡萄球菌能产生大量粘质，此粘质有助于延长表皮葡萄球菌的感染病程，干扰正常的免疫应答。另外，腐生葡萄球菌能选择性地吸附于尿道上皮细胞，这对其定植及引起感染有一定作用；溶血葡萄球菌的溶血性与其致病性也有关系。CNS 引起的常见感染有以下几种：

1. 泌尿系统感染 CNS 是引起青年妇女急性膀胱炎的主要致病菌。引起下尿路感染仅次于大肠杆菌，占这类感染的 42%。常见的有表皮葡萄球菌、人葡萄球菌和溶血葡萄球菌。而腐生葡萄球菌则是引起青年人原发性泌尿道感染的常见菌。

2. 败血症 CNS 是血培养中常见的病原菌，特别是新生儿败血症。CNS 居败血症常见病原菌的第 3 位，仅次于大肠杆菌和金黄色葡萄球菌。常见的有溶血葡萄球菌和人葡萄球菌，也可为表皮葡萄球菌。

3. 术后感染 CNS 是引起外科感染的常见病原菌。骨和关节修补术、器官移植、特别是心瓣膜术后的感染多为 CNS 引起、可能与安置血管导管有关。

二、微生物学检查法

一般说来，根据凝固酶、甘露醇试验及色素检查较易区别 CNS 与金黄色葡萄球菌，对 CNS 的鉴定尚未有特定的方法，需利用常规生化试验、质粒图谱、耐药谱等联合分析加以鉴定。表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌是最常见的两种 CNS，它们与金黄色葡萄球菌的鉴别以及它们两者之间的鉴别见表 15-1。

三、防治原则

CNS 感染多为医院感染，手术伤口有可能被来自患者自身、医护人员及空气中的 CNS 感染，因此，选择对 CNS 敏感的消毒剂、加强术前、术后患者皮肤、医护人员手、空气、环境等的消毒，对控制 CNS 引起的医院感染将起到重要作用。

另外，CNS 耐药率及多重耐药率较高，这与耐药质粒有关，可通过转化、转导等方式进行耐药性转移；也与某些抗生素作为首选药长期广泛使用有关。目前研究表明，

CNS对万古霉素、氟哌酸及丁胺卡那霉素耐药率低，可考虑单独或联合应用治疗CNS的感染。

(钱利生)

第三节 链球菌

链球菌属 (*Streptococcus*) 细菌是化脓性球菌中的一大类常见细菌，为链状或个别成双排列的革兰阳性球菌。广泛分布于自然界、人及动物粪便和健康人鼻咽部，大多数不致病。链球菌引起人类的疾病主要有各种化脓性炎症（如扁桃体炎、咽炎、鼻窦炎、新生儿败血症和细菌性心内膜炎等），毒素性疾病（猩红热）以及风湿热、肾小球肾炎等超敏反应性疾病。

一、生物学性状

形态与染色 球形或椭圆形，直径 $0.6\sim 1.0\mu\text{m}$ 。呈链状排列，长短不一，从4~8

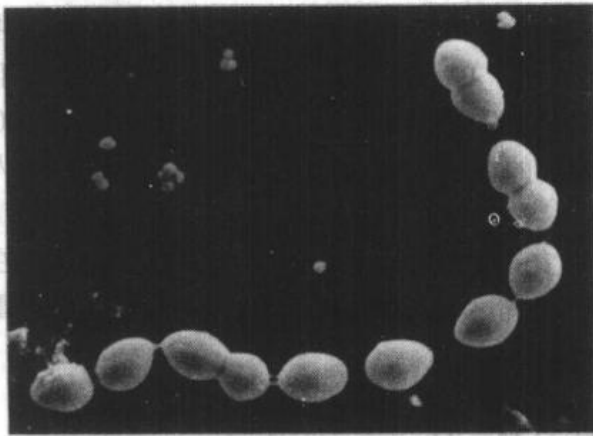


图 15-1 链球菌扫描电镜 $\times 12\ 000$
谢念铭 王济中提供

个至20~30个菌细胞组成不等（图15-1）。链的长短与菌种和生长环境有关，在液体培养基中形成的链状排列常比取材于固体培养基上者长。无芽胞，无鞭毛。多数菌株在培养早期（2~4h）形成透明质酸的荚膜，随着培养时间的延长，因菌自身产生的透明质酸酶而使荚膜消失，细胞壁外有菌毛样结构，含型特异的M蛋白。

链球菌为革兰染色阳性，若培养日久的老龄菌或被中性粒细胞吞噬后，可转呈革兰阴性。

培养特性 大多兼性厌氧，少数菌株专性厌氧。营养要求较高，普通培养基上生长不良，需补充血液、血清、葡萄糖等。在血清肉汤中易形成长链，管底呈絮状沉淀。在血琼脂平板上，形成灰白色、表面光滑、边缘整齐、直径 $0.5\sim 0.75\text{mm}$ 的细小菌落。不同菌株溶血不一。

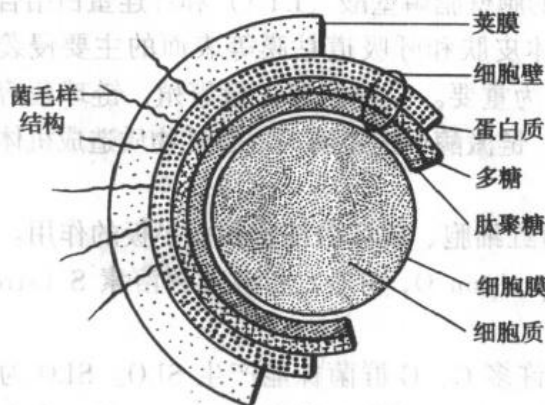


图 15-2 链球菌抗原构造模式图

抗原构造 链球菌的抗原构造较复杂（图15-2），主要有3种：

1. 蛋白质抗原 或称表面抗原。具有型特异性，位于C抗原外层。A群链

球菌有 M、T、R 和 S 等，其中与致病性有关的是 M 抗原。

2. 多糖抗原 或称 C 抗原。系群特异性抗原，是细胞壁的多糖组分。

3. 核蛋白抗原 或称 P 抗原。无特异性，各种链球菌均相同，并与葡萄球菌有交叉。

分类 链球菌的分类，常用下列两种方法。

1. 根据溶血现象分类 ①甲型溶血性链球菌 (α -hemolytic streptococcus): 菌落周围有 1~2mm 宽的草绿色溶血环，称甲型溶血或 α 溶血，因而这类菌亦称草绿色链球菌 (*streptococcus viridans*)。 α 溶血环中的红细胞并未完全溶解。这类链球菌多为条件致病菌。②乙型溶血性链球菌 (β -hemolytic streptococcus): 菌落周围形成一个 2~4mm 宽、界限分明、完全透明的无色溶血环，称乙型溶血或 β 溶血， β 溶血环中的红细胞完全溶解，因而这类菌亦称为溶血性链球菌 (*Streptococcus hemolyticus*)。这类链球菌致病力强，常引起人类和动物的多种疾病。③丙型链球菌 (γ -streptococcus): 不产生溶血素，菌落周围无溶血环，因而亦称不溶血性链球菌 (*Streptococcus non-hemolyticus*)。一般不致病，常存在于乳类和粪便中。

2. 根据抗原结构的分类 按链球菌细胞壁中多糖抗原不同，可分成 A、B、C、D、E、F、G、H、K、L、M、N、O、P、Q、R、S 和 T 群，近年又增加 U 和 V 群，共 20 群。对人致病的链球菌菌株，90% 左右属 A 群，B、C、D 和 G 群偶见。同群链球菌间，因表面蛋白质抗原不同，又分若干型。例如 A 群根据其 M 抗原不同，可分成约 100 个型；B 群分 4 个型，C 群分 13 个型。链球菌的群别与溶血性间无平行关系，但对人类致病的 A 群链球菌多数呈现乙型溶血。

抵抗力 本菌抵抗力不强，加热 60℃ 30min 即被杀死。对常用消毒剂敏感。在干燥尘埃中生存数月。乙型链球菌对青霉素、红霉素、四环素和磺胺药都很敏感。青霉素是链球菌感染的首选药物，极少有耐药株发现。

二、致病性

致病物质 A 群链球菌也称化脓性链球菌 (pyogenic streptococcus)，或溶血性链球菌，是人类细菌感染常见的病原菌之一。有较强的侵袭力，并产生多种外毒素和胞外酶。致病物质中，具有与生物膜高度亲和力的胞壁脂磷壁酸 (LTA) 和纤连蛋白结合蛋白 (FBP) 等粘附素，是使该菌能定植在机体皮肤和呼吸道粘膜等表面的主要侵袭因素。当侵入体内后，M 蛋白的抗吞噬作用甚为重要。一旦病菌大量繁殖，链球菌溶血素、致热外毒素等毒性物质以及透明质酸酶、链激酶、链道酶等侵袭性物质造成机体的多种病变。

1. 链球菌溶血素 (streptolysin) 有溶解红细胞、破坏白细胞和血小板的作用。根据对 O₂ 的稳定性，分为链球菌溶素 O (streptolysin O, SLO) 和链球菌溶素 S (streptolysin S, SLS) 两种。

(1) SLO: 绝大多数 A 群链球菌菌株和许多 C、G 群菌株能产生 SLO。SLO 为含有 -SH 基的蛋白质。SLO 对 O₂ 敏感，遇 O₂ 时，-SH 基被氧化为 -S-S- 基，失去溶血活性。若加入亚硫酸钠或半胱氨酸等还原剂，溶血作用可以逆转。SLO 对中性粒细

胞有破坏作用，当进入后引起胞内溶酶体的释放，导致细胞死亡。中性粒细胞释放出的水解酶类还可破坏邻近组织，加重链球菌的感染。SLO对哺乳动物的血小板、心肌细胞、巨噬细胞、神经细胞等也有毒性作用。85%~90%链球菌感染的患者，于感染后2~3周至病愈后数月或1年内可检出SLO抗体。风湿热病人中的血清SLO抗体显著增高，活动性病例升高更为显著，一般其效价在1:400以上。因此，测定SLO抗体含量，可作为链球菌新近感染指标之一或风湿热及其活动性的辅助诊断。

(2) SLS: 多数A、C、G群及有些其他群链球菌产生SLS。对O₂稳定，在血琼脂平板上菌落周围的β溶血环是由SLS所致。SLS是小分子糖肽，无免疫原性。对热和酸敏感，不易保存。SLS溶解红细胞慢于SLO。

2. 致热外毒素 (streptococcal pyrogenic exotoxin, SPE) 曾称红疹毒素 (erythrotoxic toxin) 或猩红热毒素 (scarlet fever toxin)，是人类猩红热的主要毒性物质。由A群链球菌溶原菌菌株产生。蛋白质性质，有A、B、C 3个血清型，较耐热。

SPE具有以下作用：能增加血脑屏障对内毒素和细菌的通透性，直接作用于下丘脑而引起发热反应等。SPE A和SPE C具有超抗原活性。有学者认为，SPE有时也可导致毒性休克综合征。

3. 透明质酸酶 又名扩散因子。能分解细胞间质的透明质酸，使病菌易在组织中扩散。

4. M蛋白 是A群链球菌细胞壁中的蛋白质组分，有近100种血清型。含M蛋白的链球菌有抗吞噬和抵抗吞噬细胞内的杀菌作用。此外，M蛋白与心肌、肾小球基底膜有共同的抗原，可刺激机体产生特异性抗体，损害人类心血管等组织，故与某些超敏反应疾病有关。

5. 链激酶 (streptokinase; SK) 亦称链球菌溶纤维蛋白酶 (streptococcal fibrinolysin)。作用机制与葡激酶类似，能使血液中纤维蛋白酶原变成纤维蛋白酶，故可溶解血块或阻止血浆凝固，有利于病菌在组织中扩散。链激酶耐热，100℃ 50min仍保持活性。重组链激酶 (r-sk)，已用于治疗急性心肌梗死者。

6. 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。能降解脓液中DNA，使脓液稀薄，促进病菌扩散。由于SD和SK能致敏T细胞，故常用SK-SD进行皮肤试验，测定受试者的细胞免疫功能。此外，现已将SK、SD制成酶制剂，临床上用以液化脓性渗出液。例如应用于肺炎链球菌所致的脓胸等疾患，使脓液变稀，以利抗菌药物的治疗。

7. F蛋白 (protein F) F蛋白位于化脓性链球菌细胞壁内，其结合区暴露在菌体表面。F蛋白具有纤连蛋白 (fibronectin) 的受体，能与上皮细胞表面的纤连蛋白结合，使得链球菌粘附到上皮细胞表面，以利于细菌在宿主体内定植和繁殖。是化脓性链球菌重要的粘附素之一。

所致疾病 A群链球菌引起的疾病约占人类链球菌感染的90%，其感染源为病人和带菌者。传播方式有空气飞沫传播、经皮肤伤口感染和经污染食品传播等途径。

链球菌引起人类多种疾患，大致可分成化脓性、中毒性和超敏反应性三类。属于化脓性感染的有淋巴管炎、淋巴结炎、蜂窝组织炎、疔、脓疱疮等局部皮肤和皮下组织感

染；还有扁桃体炎、咽炎、咽峡炎、鼻窦炎、产褥感染、中耳炎、乳突炎等其他系统的感染。属于中毒性疾病的有猩红热。风湿热和急性肾小球肾炎则是链球菌性超敏反应性疾病。

B群链球菌 学名无乳链球菌 (*S. agalactiae*)，能引起牛乳房炎，也能感染人类，尤其是新生儿。引起的败血症、脑膜炎、肺炎等死亡率极高，且可有神经系统后遗症。目前一般采用 B 群链球菌 (group B streptococcus, GBS) 来替代无乳链球菌原名。

GBS 正常寄居于阴道和直肠。新生儿感染同母体带菌有密切关系，当分娩时胎儿经过带菌产道时受染；也可由医护人员呼吸道所带病菌而引起。

新生儿 GBS 感染有两种类型：①早期发病败血症：常见于 1 周内的婴儿，具有败血症的一般表现，伴呼吸窘迫。约 1/3 病儿有脑膜炎，亦称新生儿呼吸窘迫症或新生儿休克综合征；②晚期发病化脓性脑膜炎：发病年龄 1 周~3 个月，平均 4 周。呼吸道症状不多见，多伴败血症。病死率约 15%，但存活者可有痴呆、脑积水等后遗症。此类感染一般多为医院内感染。

D群链球菌 D 群链球菌正常寄居在皮肤、上呼吸道、消化道和泌尿生殖道，大多感染是由于这些正常菌群的侵袭。引起感染有尿路感染，化脓性腹部感染，败血症和心内膜炎。罹患者多为老年人或中青年女性，衰弱或肿瘤病人对 D 群链球菌也易感。败血症最常继发于生殖泌尿道感染，皮肤、胆道、肠道等感染也可作为原发病灶。

甲型溶血性链球菌 或称草绿色链球菌。常成双或短链状排列。血平板上呈 α 溶血。常寄居于鼻咽、口腔、龈隙、消化道、女性生殖道，偶见于皮肤。对人类致病的有变异链球菌 (*S. mutans*)、唾液链球菌 (*S. salivarius*)、米勒链球菌 (*S. milleri*)、轻型链球菌 (*S. mitis*) 和血链球菌 (*S. sanguis*) 五个型。

甲型溶血性链球菌是感染性心内膜炎最常见的致病菌，也可成为脑、肝和腹腔内感染的病原菌。当拔牙或摘除扁桃体时，寄居在口腔、龈隙中的这类菌可侵入血流引起菌血症。当心瓣膜有病损或人工瓣膜者，细菌就可停留繁殖，引起心内膜炎。

龋齿与变异链球菌关系密切。该菌系厌氧菌，包括 7 个种。根据细胞壁多糖抗原分为 a、b、c、d、e、f、g 和 h 八个血清型。从牙菌斑和龋齿病变中分离出的以 C 型最多。其致病机制认为该菌的葡糖基转移酶 (glucosyl transferase, GTF) 能分解蔗糖使其产生高分子量、粘性大的不溶性葡聚糖，藉此将口腔中数量众多的菌群粘附于牙齿表面形成菌斑。这些菌群，尤其是其中的乳杆菌能发酵多种糖类产生大量酸，使 pH 降达 4.5 左右，导致牙釉质及牙质脱钙，造成龋损。

三、免疫性

A 群链球菌感染后，血清中出现多种抗体。其中抗 M 蛋白抗体和抗致热外毒素抗体的免疫作用较好，主要是增强吞噬细胞的作用。链球菌因其型别多，各型间无交叉免疫力，故常可反复感染。

四、微生物学检查法

标本 根据不同疾病，采取有关标本。例如创伤感染的脓汁，咽喉、鼻腔等病灶的

棉拭，败血症的血液等。风湿热患者可取血作抗链球菌溶血素 O 的抗体测定。

直接涂片镜检 脓汁可直接涂片行革兰染色后镜检，发现有典型的链状排列球菌时，可作出初步诊断。

分离培养与鉴定 脓汁或棉拭直接接种在血琼脂平板，37℃ 孵育 24h 后，如有 β 溶血菌落，应与葡萄球菌区别；α 溶血菌落，要和肺炎链球菌鉴别。血液标本应先增菌后再划种血平板。遇有心内膜炎病例，因甲型溶血性链球菌生长缓慢，至少将孵育时间延长至 3 周才能判定结果。

血清学试验 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 250U 左右；活动性风湿热患者一般超过 400U。

五、防治原则

链球菌感染的一般防治与葡萄球菌相同。应对病人和带菌者及时治疗，以减少传染源。此外，还应注意对空气、器械和敷料等消毒。对急性咽喉炎和扁桃体炎患者，尤其是儿童，须治疗彻底，以防止急性肾小球肾炎、风湿热以及亚急性细菌性心内膜炎的发生。

A 群链球菌感染的治疗，青霉素 G 为首选药物。预防感冒，避免链球菌感染，对减少风湿热和肾小球肾炎等超敏反应性疾病的发生有较好效果。

(李 凡)

第四节 铜绿假单胞菌

铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*) 为假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 的细菌，广泛分布于自然界，如土壤、水、食物及医院内的潮湿环境，包括水槽、厕所、透析装置等。除住院病人、免疫低下者外，正常人很少携带此菌。

一、主要生物学性状

假单胞菌属细菌为革兰阴性杆菌，大小约 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m} \times 1.5 \sim 5.0 \mu\text{m}$ ，有单鞭毛，某些菌有多糖荚膜，另一些能产生绿脓菌素、荧光素和绿脓菌红素。

本菌虽为非发酵型细菌，但能利用葡萄糖、核糖、葡萄糖酸盐等几种糖，氧是最终受氢体。细胞色素氧化酶阳性可与肠道杆菌科细菌相区别。虽为专性需氧菌，但可利用硝酸盐作为受氢体在厌氧条件下生长。

假单胞菌属有许多种，临床上最重要的是铜绿假单胞菌，亦称绿脓假单胞菌，简称绿脓杆菌。

二、致病性

铜绿假单胞菌有多种毒力因子，包括结构成分、毒素和酶。

1. 粘附素 主要是菌毛。菌毛能粘附于上皮细胞表面，有神经氨酸酶分解上皮细胞

表面神经氨酸而促进细菌侵入。此外，细菌表面非菌毛样粘附素的粘附作用亦极为重要。

2. 多糖荚膜 除抗吞噬细胞的吞噬外，多糖层使细菌锚泊在细胞表面，尤其是囊性纤维化和慢性呼吸道疾病病人的细胞表面，故与呼吸道感染有关。

3. 内毒素 即 LPS，其中脂质 A 有多种生物学效应。

4. 外毒素 外毒素 A 类似白喉毒素，能阻止真核细胞蛋白质的合成，但毒力较弱，主要在烧伤或慢性肺部感染中介导组织损伤；外毒素 S 不参与组织损伤，但可干扰吞噬杀菌作用。

5. 弹性蛋白酶 (elastase) 有丝氨酸蛋白酶 (Las - A) 和锌金属蛋白酶 (Las - B) 两种，均能降解弹性蛋白，引起肺实质损伤和出血，与铜绿杆菌的扩散性感染有关；亦能降解补体和白细胞蛋白酶抑制物，加重急性感染的组织损伤；在慢性感染中，弹性蛋白酶与相应抗体形成复合物，从而沉积于感染组织中。

6. 磷脂酶 C 分解脂质和卵磷脂，损伤组织细胞。

7. 绿脓菌素 (pyocyanin) 催化超氧化物和过氧化氢产生有毒氧基团，引起组织的损伤。

8. 耐药 本菌能天然抵抗多种抗生素。在治疗过程中，通过突变发生耐药。虽有多种耐药机制，但主要是微孔蛋白的突变。突变的微孔蛋白，可阻止抗生素由外膜进入胞质。

铜绿假单胞菌为条件致病菌，所致疾病：

1. 肺部感染 尤其是囊性纤维化和慢性呼吸道疾病病人。在中性粒细胞减少者和免疫功能低下者，会应使用被该菌污染的呼吸性治疗装置而感染。

2. 原发性皮肤感染 严重烧伤者，伤口表面感染导致血管损伤和组织坏死，甚至出现败血症。

3. 泌尿道感染 使用导尿管、抗生素治疗中出现的多重耐药均可引起铜绿假单胞菌感染。其它还可引起败血症、心内膜炎、眼和耳等部位的感染。

三、微生物学检查法

脓液、创口渗出物、痰、尿和血标本，直接接种于血琼脂平板，生长后根据菌落大小、色素及生化反应等鉴定。

四、防治原则

应加强医用仪器的消毒，防止医源性感染；同时应注意医护人员与病人及病人间的交叉感染。

应用药物敏感试验指导用药。可使用氨基糖苷类和 β -内酰胺类抗生素联合治疗。

(钱利生)

第五节 破伤风梭菌

破伤风梭菌 (*C. tetani*) 是一种创伤感染性细菌，大量存在于土壤、人和动物的肠

道内。破伤风是破伤风外毒素引起的一种以肌肉痉挛为特征的神经系统疾病。约有70%病例与急性损伤有关，23%与其他外伤相关，其余7%病例则无明显外伤史。由于免疫接种，破伤风发病率已明显下降，但每年仍有18/100 000人群患病。值得注意的是老年人免疫力的逐渐下降、未作免疫接种或接种不完全、滥用药物注射等都是患破伤风的危险因素。

一、主要生物学性状

破伤风梭菌是革兰阳性、中等细长杆菌，两端钝圆，无荚膜。成熟的芽胞为正圆形，位于菌体顶端，芽胞大于菌体使细菌呈鼓槌状（图15-3）。周身有鞭毛。根据鞭毛和菌体抗原的不同可分为10个血清型，各血清型产生的毒素无差异。在培养基上形成不规则菌落，菌落周边疏松似羽毛，边缘不整齐，易在培养基表面呈迁徙生长。培养时间较长或在形成芽胞后易转为革兰阴性。该菌生化反应不活泼，一般不分解糖类，也不分解蛋白质。

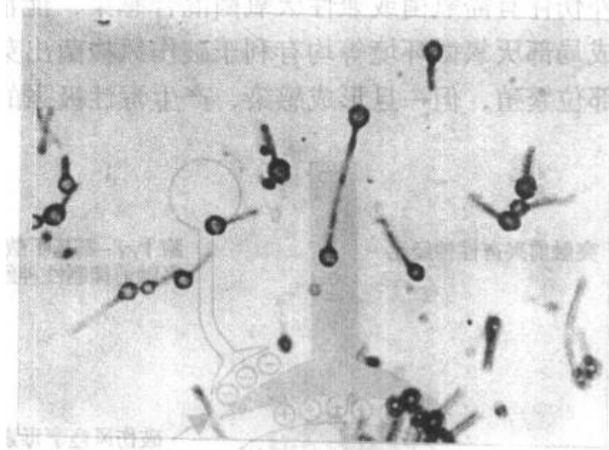


图15-3 破伤风梭菌及其芽胞 放大1000倍

繁殖体的抵抗力与普通细菌相似，一旦形成芽胞，则抵抗力非常强，可在土壤中生存几十年。

二、致病性和免疫性

破伤风梭菌能产生强烈的外毒素，称为破伤风痉挛毒素（tetanospasmin）。破伤风痉挛毒素由质粒编码，分子量为160 KD的蛋白质，不耐热，65℃ 30min即被破坏。破伤风痉挛毒素由两条肽链组成，即重链（105 KD）和轻链（55 KD）。重链和轻链之间有连接肽和二硫键相连。连接肽对蛋白酶敏感。毒素从菌体释放后，连接肽即受细菌蛋白酶作用，断裂后形成缺口，但重链与轻链仍由二硫键联接（图15-4）。轻链为毒性

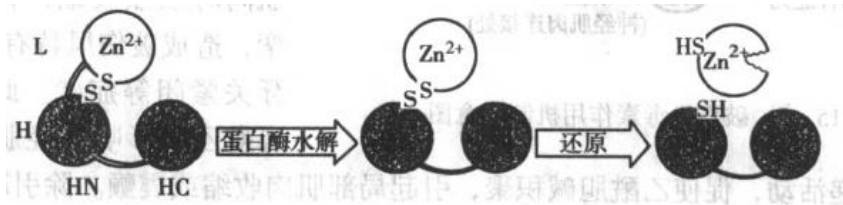


图15-4 破伤风痉挛毒素

部分，为锌内肽酶（zinc endopeptidase）。重链（H链）具有结合和运输功能，分Hc和Nc两部分。Hc能与神经细胞表面受体特异性结合；Nc有利于细胞的内在化作用，使毒素进入神经细胞。实验证明，二硫键被还原后，使锌内肽酶与H链分离，毒性也随

之消失，故重链与轻链必须同时存在才有毒性作用。破伤风痉挛毒素毒性非常强，仅次于肉毒毒素。腹腔注入小鼠的半数致死量（LD₅₀）为 0.015ng，1mg 纯化毒素能杀死 3 千万只小鼠，对人的致死量小于 1μg。

若口服，毒素可被肠道蛋白酶破坏而失活。破伤风痉挛毒素经 0.3% 甲醛作用 4 周，与受体结合的能力被破坏，因而失去毒性作用，但仍保留免疫原性，成为类毒素，可用于预防接种。

破伤风梭菌芽胞广泛分布于自然界，可由伤口侵入人体。该菌感染的重要条件是窄而深或呈盲端的伤口、中间充满坏死组织，或有泥土污染，使局部组织缺血缺氧；大面积外伤伴有需氧菌或兼性厌氧菌混合感染，能消耗伤口局部的氧，降低氧化还原电势，造成局部厌氧微环境等均有利于破伤风梭菌出芽繁殖。该菌本身的侵袭力不强，仅在伤口部位繁殖，但一旦形成感染，产生毒性极强的外毒素，则引起严重的疾病。

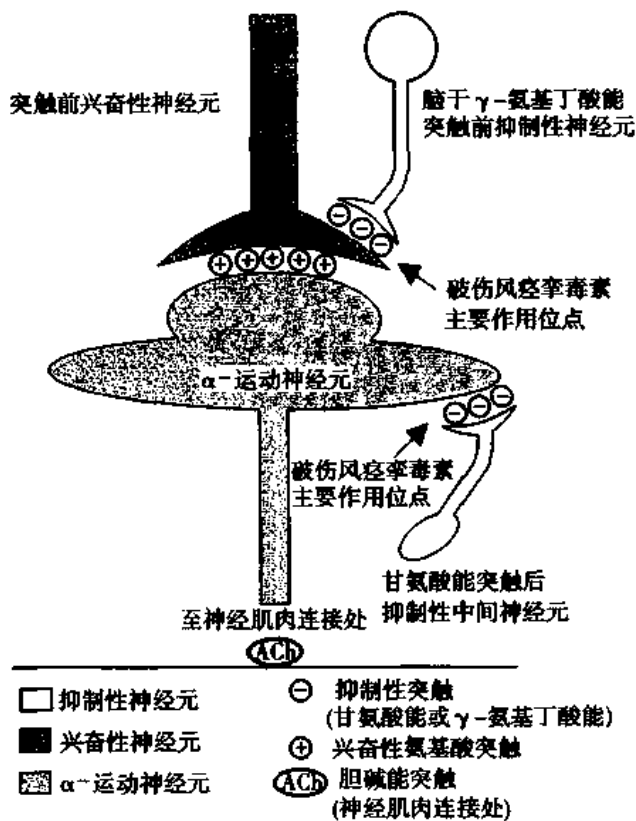


图 15-5 破伤风毒素作用机制示意图

破伤风毒素对中枢神经系统，尤其是脑干神经和脊髓前角细胞有高度亲和力。毒素通过运动神经终板吸收，利用突触逆向运输进入脊髓前角细胞，上行达脑干细胞。毒素也可经淋巴吸收，通过血液到达中枢神经。在中枢神经系统，由于突触囊泡蛋白 - II (synaptobrevin - II) 的作用，使神经介质小泡锚泊于突触前膜，释放神经介质，引起正常的冲动反应。破伤风毒素降解突触囊泡蛋白 - II，阻断神经介质小泡的锚泊作用，从而阻止甘氨酸能中间神经元和 γ-氨基丁酸能神经元释放抑制性介质甘氨酸和 γ-氨基丁酸 (图 15-5)，致使屈肌、伸肌同时强烈收缩，骨骼肌强直痉挛，造成破伤风特有的角弓反张、牙关紧闭等症状。此外，破伤风毒素还可影响神经肌肉接头处神经突触的传递活动，促使乙酰胆碱积聚，引起局部肌肉收缩或震颤。除引起中枢神经产生强直性麻痹外，破伤风毒素还可直接作用于神经末梢，产生弛缓性麻痹。

感染后细菌所释放的毒素量极低，不足以引起免疫应答；而且毒素与神经组织结合牢固、迅速，亦不能有效地刺激免疫系统。因此，患病后不易产生牢固的免疫力。机体对破伤风的免疫主要是抗毒素的中和作用。抗毒素能结合游离毒素而阻断毒素入侵易感细胞，但对已与受体结合的毒素则无中和作用。

三、微生物学检查法

对破伤风的诊断主要依据病史和典型的临床症状。一般不作细菌培养，主要原因：①即使对伤口标本作仔细的厌氧培养，结果亦常阴性；②阳性培养并不提示细菌含有产毒质粒；③对有免疫力的疑似病人，细菌培养即使阳性亦未必发病。

四、防治原则

应及时、正确地对伤口作清扩创处理，避免形成局部厌氧的微环境，是预防破伤风的重要措施。

用类毒素进行主动免疫能有效地预防破伤风的发生。公认的免疫计划为基础免疫2次。一般在出生后三个月肌肉注射破伤风类毒素，间隔6周及6个月再进行加强，可获得持久的预防效果，免疫时间可达12年。我国及其它一些国家应用百白破三联疫苗免疫儿童，其中含白喉类毒素、百日咳菌苗、破伤风类毒素，可同时获得针对三种疾病的免疫力。应随访12岁左右的儿童和50岁左右的健康成人，如有必要，可再用类毒素免疫。

人工被动免疫可注射纯化的破伤风抗毒素(tetanus antitoxin, TAT)。如创口有污染，应注入1500~3000u的TAT作紧急预防，亦可同时给与类毒素作主动免疫，以使抗体滴度迅速升高。

已发病者应早期、足量应用TAT治疗，一般需用10万~20万u。目前应用的TAT是用破伤风类毒素多次免疫马所得的马血清纯化制剂，用前应作皮肤试验以防超敏反应的发生。有些国家应用人源破伤风免疫球蛋白(human tetanus immunoglobulin, HTIG)代替TAT用于治疗，可缩短病程、缓解病情和减少超敏反应的发生。

(钱利生)

第六节 产气荚膜梭菌

产气荚膜梭菌(*C. perfringens*)为人畜肠道正常菌群，广泛分布于自然界，既能产生强烈的外毒素，又具有多种侵袭性酶，侵袭力较强。侵入伤口能引起组织坏死、水肿等严重的急性感染，病变易蔓延，伴全身中毒症状，临床称气性坏疽。在欧洲，产气荚膜梭菌是食物中毒较为常见的病原体，发病率仅次于沙门菌食物中毒。但在我国，产气荚膜梭菌食物中毒报道较少。此外，该菌亦能引起坏死性肠炎。

一、主要生物学性状

产气荚膜梭菌是革兰阳性粗大杆菌，芽胞呈椭圆形，位于次级端，无鞭毛。在动物体内能形成明显荚膜。

该菌非十分严格厌氧，在有少量氧的环境中仍能生长。在37~43℃培养时繁殖迅速，分裂一代仅需8~10min，血琼脂平板培养3~4h即见生长，24h菌落直径可达2~4mm，圆形、扁平、半透明、边缘整齐，偶见粗糙型菌落，多数菌株有双层溶血环，

内环是由 θ 毒素引起的较窄的透明溶血环，外环是由 α 毒素引起的不完全溶血环。在蛋黄琼脂平板上，菌落周围出现乳白色混浊圈，是由于 α 毒素分解卵磷脂所致，称 Nagler 反应。

本菌能分解多种糖类产酸产气。在庖肉培养基中培养后，可分解肉渣中糖类并产生大量气体，肉渣呈淡红色。在牛乳培养基中培养 18 ~ 24h，该菌分解乳糖产酸，使牛奶中酪蛋白凝固，同时产生大量气体，冲散凝固的酪蛋白，并将封固液面的凡士林层顶开，甚至冲掉试管上棉塞，气势凶猛，称“汹涌发酵” (stormy fermentation)。

二、致病性和免疫性

产气荚膜梭菌产生 12 种外毒素，根据 4 种主要毒素的抗原性不同，将本菌分为 A、B、C、D 和 E 5 个血清型。对人致病的主要为 A 和 C 型。A 型引起气性坏疽、食物中毒，C 型引起坏死型肠炎。

产气荚膜梭菌的毒素，相互间毒性差别较为悬殊。根据对小鼠致死程度的不同，分主要毒素和次要毒素。前者有 α 毒素、 β 毒素、 ϵ 毒素和 ι 毒素，亦包括肠毒素；后者有 θ 毒素、 γ 毒素、 η 毒素、 κ 毒素、 λ 毒素、 μ 毒素、 ν 毒素和神经氨酸酶 (表 15-2)。

表 15-2 产气荚膜梭菌的毒素

毒 素	生物学活性	菌株型别
主要毒素		
α 毒素	致死, 卵磷脂酶, 坏死, 溶血	A ~ E
β 毒素	致死, 坏死	B, C
ϵ 毒素	致死, 通透酶	B, D
ι 毒素	致死, 皮肤坏死, 血管通透性增高	E
肠毒素		A, C, D 抗 B 抗 E 未做
次要毒素		
δ 毒素	溶血素, 致死	B, C
θ 毒素	溶血素, 细胞溶素, 致死	A ~ E
κ 毒素	胶原酶, 明胶酶, 坏死, 致死	A ~ E
λ 毒素	蛋白酶	B ⁺ D, E
μ 毒素	透明质酸酶	A ~ E
ν 毒素	DNA 酶, 杀白细胞素, 溶血 坏死, 致死	A ~ E
神经氨酸酶	N-乙酰神经氨酸, 糖水解酶	A ~ E

α 毒素 (alpha toxin) 亦称卵磷脂酶 (lecithinase), 是气性坏疽最为重要的毒素。 α 毒素能分解细胞膜上磷脂和蛋白质的复合物, 破坏细胞膜, 溶解红细胞、白细胞和血管内皮细胞, 引起血管通透性增高。 α 毒素可使微循环中血小板凝集而形成血栓。还可作用于心肌, 使血压下降、心律减慢, 导致休克。 α 毒素注射动物体内可引起肌肉和脂肪

变性、血栓性静脉炎等致死性症状。 β 毒素 (beta toxin) 由 B 型和 C 型细菌产生, 是人类坏死性肠炎的致病物质。 ϵ 毒素 (epsilon toxin) 亦由 B 型和 C 型细菌产生, 具有坏死和致死作用。它是一种毒素前体, 经胰蛋白酶活化后具有通透酶活性, 可引起胃肠道血管通透性增高。 ι 毒素 (iota toxin) 为双体毒素 (binary toxin), 具有致死作用。能引起皮肤坏死和血管通透性增高。

肠毒素 (enterotoxin) 由 A、C 型菌株产生。调节肠毒素基因表达的转录因子同时控制芽胞形成基因, 故肠毒素在芽胞形成过程中释放。胰蛋白酶能促进肠毒素的活性。在回肠和空肠, 毒素插入细胞膜, 改变胞膜的通透性, 影响离子的交换和水分吸收, 使水和电解质大量进入腹腔, 引起腹泻; 亦可作为超抗原刺激淋巴细胞释放淋巴因子而致病。

θ 毒素 (theta toxin) 亦称产气荚膜梭菌溶素 (perfringolysin O), 对氧敏感, 具有溶血、致死、坏死、杀白细胞等活性。 κ 毒素 (kappa toxin) 为胶原酶, 是一种出血因子, 注入动物血管内, 可引起血管破坏和出血。 λ 毒素 (lambda toxin) 是明胶酶, μ 毒素 (mu toxin) 是透明质酸酶, ν 毒素 (nu toxin) 是 DNA 酶。产生上述毒素均有利于细菌的扩散。

感染产气荚膜梭菌后可引起多种疾病:

1. 气性坏疽 (gas gangrene) 是由气性坏疽病原菌侵入伤口造成的严重急性感染, 以组织坏死、水气肿、全身中毒为特征。此病通常由几种菌混合感染, 最多见的是产气荚膜梭菌 (60% ~ 90%), 其次是水肿杆菌 (30% ~ 40%) 和败血杆菌 (10% ~ 60%)。此外还有溶组织梭菌、索氏梭菌和双发酵梭菌等。致病条件与破伤风梭菌相似。常见于战伤、大面积开放性骨折及软组织损伤, 同时伴有创口的污染。局部缺血缺氧、组织坏死及坏死组织自溶产生的半胱氨酸和色氨酸均可刺激芽胞发芽及细菌的生长繁殖。一般在细菌感染伤口后 8 ~ 48h 内产生大量毒素和酶类。由于卵磷脂酶和透明质酸酶等的作用, 细菌易侵入肌肉组织。细菌分解肌肉组织中的糖类, 产生大量气体, 形成组织气肿, 挤压软组织和血管, 影响血液供应, 引起肌肉坏死。由于血管通透性增高, 导致扩散性水肿。水气夹杂在组织中, 触摸有捻发音。大量组织坏死产生腐败性恶臭。毒素吸收入血形成毒血症, 出现全身中毒症状, 死亡率较高。

该菌也可由肠穿孔或子宫破裂进入腹腔或盆腔引起感染, 还可由侵入部位转移至内脏, 成为转移性气性坏疽, 多见于产后感染。

2. 食物中毒 主要由产肠毒素的 A 型菌株引起。因食入被大量该菌污染的食物而发病, 一般在食后 8 ~ 12h 突发腹痛、腹泻、便血等症状, 约 1 ~ 2d 自愈, 严重者亦可致死。

3. 坏死性肠炎 是产气荚膜梭菌 C 型菌株所致, 致病物质为 β 毒素。 β 毒素能引起肠道运动神经麻痹和坏死。一般潜伏期约 24h, 起病急, 有剧烈腹痛、腹泻、肠粘膜出血性坏死伴有血便。可并发肠梗阻和肠穿孔, 病死率高达 40%。以儿童为多见, 常见于食入大量被该菌污染而烹调不当的猪肉引起。

三、微生物学检查法

气性坏疽病情严重, 发展迅速, 须及早做出诊断。

直接涂片染色 对临床早期诊断有极大的价值。从疑似病人创口深部取材涂片染色镜检，见革兰阳性大杆菌，有荚膜，白细胞较少，伴有其它杂菌，是气性坏疽标本涂片的特点。早期正确诊断可使病人避免截肢及死亡。

分离培养 取坏死组织制成悬液接种于相应培养基作厌氧培养，观察生长状况，培养物涂片镜检，并根据生化反应鉴定。

动物实验 必要时取培养物静脉注射动物，10min 后杀死，37℃ 培养数小时，如动物出现躯体膨胀，解剖见泡沫肝时，应取内脏涂片镜检并再次作细菌分离培养。

食物中毒诊断 疑为产气荚膜梭菌食物中毒，应取剩余食物或粪便作细菌学检查。诊断标准为菌落形成单位 (colony-forming units, cfu) $> 10^5$ cfu/g 粪便，或 $> 10^6$ cfu/g 食物。亦可使用 ELISA 等方法直接检出肠毒素。近几年，应用质粒或 DNA 探针同时检查食物和标本分离株，以确定病原菌或用作分子流行病学调查。

四、防治原则

尚无供预防用的类毒素。预防主要是对伤口及时清创，避免形成局部的厌氧环境。病人需严格隔离，所用器材及敷料均需彻底灭菌。

感染局部应尽早清除坏死组织，必要时截肢以防止病变扩散。早期可用多价抗毒素及大剂量青霉素治疗。在外科手术前，使用高压氧舱法治疗较为有利：①更能分清受累组织，以利手术切除；②能终止毒素产生，控制病情发展。

(钱利生)

第七节 无芽胞厌氧菌

无芽胞厌氧菌是一群厌氧生长的细菌，包括革兰阳性和革兰阴性球菌和杆菌。它们广泛分布于人体的皮肤、口腔、胃肠道和泌尿生殖道。是人体正常菌群的重要组成部分。表 15-3 列举了人类的主要无芽胞厌氧菌群。

表 15-3 主要无芽胞厌氧菌属及其分布

无芽胞厌氧菌群	皮肤	口腔	胃肠道	泌尿生殖道
革兰阳性杆菌				
双歧杆菌属 (Bifidobacterium)	-	+	+	+
优杆菌属 (Eubacterium)	-	+	+	+
乳杆菌属 (Lactobacillus)	-	+	+	+
丙酸杆菌属 (Propionibacterium)	+	+	+	+
革兰阳性球菌				
粪球菌属 (Coprococcus)	-	+	+	-
消化球菌属 (Peptococcus)	+	-	+	+
消化链球菌属 (Peptostreptococcus)	+	+	+	+
革兰阴性杆菌				

续表

无芽胞厌氧菌群	皮肤	口腔	胃肠道	泌尿生殖道
类杆菌属 (<i>Bacteroides</i>)	-	+	+	+
梭杆菌属 (<i>Fusobacterium</i>)	-	+	+	+
卟啉单胞菌属 (<i>Porphyromonas</i>)	-	+	+	+
普雷沃菌属 (<i>Prevotella</i>)	-	+	+	+
革兰阴性球菌				
韦荣菌属 (<i>Veillonella</i>)	-	+	+	+

无芽胞厌氧菌感染非常普遍，涉及临床各科。在细菌感染中，约 60% 有厌氧菌参与，其中 90% 为无芽胞厌氧菌。该类细菌对氧环境极为敏感，多为内源性混合感染，且对氨基糖苷类抗生素等药物不敏感，致使造成诊断和治疗上的困难。

一、主要生物学性状

尽管无芽胞厌氧菌种类繁多，生物学性状各异，但临床常见的厌氧菌感染主要有脆弱类杆菌，产黑素普氏菌，卟啉单胞菌，核梭杆菌和消化链球菌，约占临床厌氧菌感染的 2/3。

1. 脆弱类杆菌 (*B fragilis*) 是革兰阴性脆弱类杆菌组的细菌 (*bacterioides fragilis group*)。胆汁能刺激该组细菌生长。细菌两端圆而浓染，中间不染色或染色较浅，似有空泡。在血平板上培养 24~48h，菌落圆形微凸，直径 1~3mm，且表面光滑，边缘整齐，一般不溶血。

脆弱类杆菌为肠道的正常菌群，其含量为 10^{11} cfu/g 粪便。脆弱类杆菌主要引起腹腔脓肿、败血症等，常与消化链球菌、兼性厌氧菌等混合感染。

2. 产黑素普氏菌 (*P melaninogenica*) 归类于普雷沃菌属 (*prevotella*)。是一群分解糖产黑色素的革兰阴性球杆菌。20% 胆盐能抑制该菌生长。细菌排列成双或成链，两端圆中间似空泡。经 48 小时培养后，菌落直径为 0.5~1mm，圆形微凸，表面光滑，边缘整齐，开始为灰白色，以后逐渐成为黑色。在兔血平板上，容易出现乙型溶血。

产黑素普氏菌主要定居在口腔和肠道，是上呼吸道混合感染中最常见的分离菌株，也与脑脓肿、肺脓肿及盆腔炎症性疾病有关。

3. 卟啉单胞菌属 (*porphyromonas*) 有三个菌种，都为产色素不分解糖的革兰阴性杆菌或球杆菌。在血平板上，菌落凸起，表面光滑，边缘整齐。能产生棕色或黑色色素。在色素产生前，用波长 366nm 的紫外线灯照射，可产生桔红色荧光，这是该菌产生原卟啉之故。

卟啉单胞菌主要定居于口腔和肠道，是牙周炎、牙脓肿等口腔科常见感染性疾病的病原体，也能在各科临床标本中检出。

4. 核梭杆菌 (*F necleatum*) 归类于梭杆菌属 (*fusobacterium*)，为革兰阴性杆菌，菌体两端尖中间膨大，尖端对尖端呈双排列。菌落直径 1~2mm，扁平伴有不平整表面，或整个菌落如面包屑，且不溶血。

核梭杆菌定居于口腔和肠道。在正常菌群引起的混合感染中，经常分离出该类细菌。

5. 消化链球菌属 (peptostreptococcus) 有 13 个菌种，都是革兰阳性球菌，以短链或长链排列，亦有成堆分布。在血平板上形成圆形凸起菌落，边缘整齐，一般不溶血。

消化链球菌是口腔、肠道和阴道的正常菌群。常涉及全身各部位的混合感染。在女性泌尿系统感染中，约 1% 为单一的消化链球菌感染。

二、致病性

近年来，由于厌氧菌感染诊断技术的不断改进，无芽胞厌氧菌分离培养阳性率明显提高。无芽胞厌氧菌感染都为内源性感染，很少出现人与人之间的传播方式，属机会致病菌 (opportunistic pathogen)，致病条件主要包括：

1. 组织的损伤和坏死、局部的血供障碍或有需氧菌感染造成局部缺氧，均有利于厌氧菌的生长繁殖，引起化脓性感染。

2. 定植移位至机体的无菌部位，引起深部脓肿、腹膜炎、脑膜炎和败血症等。认为细菌在定植部位，由于各种因素的相互作用，不能过度生长。一旦进入其它部位，则成为优势菌。如脆弱类杆菌占结肠正常菌群的 < 1%，但移位至腹腔，则能迅速生长繁殖，引起化脓性炎症。

3. 机体免疫功能的低下或由于某些慢性病导致的防御功能下降，均为无芽胞厌氧菌感染赋予机会。

无芽胞厌氧菌感染多呈慢性过程。主要感染特征：

1. 临床征兆预示无芽胞厌氧菌感染：①脓液、分泌物带有恶臭味；②接近粘膜表面的损伤；③无菌收集的脓液、血液用常规培养未分离出病原菌；④与组织坏死和深部脓肿相关的感染、血栓性静脉炎和心内膜炎等；⑤组织中出现气体；⑥脓液在紫外线照射下发出荧光等。

2. 常规的氨基糖苷类抗生素治疗无效。

3. 多种微生物的混合感染，包括需氧菌、兼性厌氧菌和厌氧菌的混合感染，少至 2~3 种，多则可达 10 种以上细菌。

临床上无法预测无芽胞厌氧菌感染，故一旦发现上述特征，应进行厌氧培养，以求确诊。

无芽胞厌氧菌的致病作用与细菌的毒力因子有关 (表 15-4)。

表 15-4 无芽胞厌氧菌的毒力因子

毒力因子	细菌
粘附素	
荚膜	脆弱类杆菌、产黑素普氏菌
菌毛	脆弱类杆菌、牙龈卟啉单胞菌
血凝素	牙龈卟啉单胞菌、核梭杆菌
抗有毒氧基团	
超氧化物歧化酶	多种无芽胞厌氧菌

毒力因子	细菌
触酶	多种无芽胞厌氧菌
抗吞噬作用	
荚膜	脆弱类杆菌、产黑素普氏菌
IgA、IgM、IgG 蛋白酶	某些卟啉单胞菌和普雷沃菌
脂多糖(LPS)	脆弱类杆菌、某些梭杆菌
挥发性脂肪酸	多种无芽胞厌氧菌

1. 粘附素 有荚膜脆弱类杆菌和产黑素普氏菌比无荚膜株能更有效地粘附于腹膜表面。某些类杆菌和卟啉单胞菌通过菌毛介导细菌对细胞的粘附。

2. 抗有毒氧基团和抗吞噬 具有致病能力的厌氧菌能耐氧的毒性作用。触酶和超氧化物歧化酶能分别灭活过氧化氢和超氧化基团；厌氧代谢过程中产生的短链脂肪酸具有抑制吞噬和吞噬细胞的脱颗粒作用；荚膜多糖除粘附功能外，亦具有明显的抗吞噬作用；某些厌氧菌产生的蛋白酶能降解免疫球蛋白，从而逃避抗体作用。借助这些毒力因子，使无芽胞厌氧菌在局部组织停留、生长繁殖并引起炎症反应。

3. 组织损伤 研究发现，许多无芽胞厌氧菌分别含有溶血素、蛋白酶、胶原酶、纤维蛋白溶酶、神经氨酸酶和肝素酶等。虽然这些酶亦发现在无毒力的菌株中，但仍然认为酶与组织损伤有关。

无芽胞厌氧菌感染无特定的临床表现，感染累及全身各种器官和组织。

1. 呼吸道感染 将近一半的鼻窦和耳朵的慢性感染和几乎所有的牙周感染均涉及无芽胞厌氧菌感染。常见的为普雷沃菌、卟啉单胞菌、梭杆菌和类杆菌。除口腔分泌物吸入外，下呼吸道很少有厌氧菌感染。

2. 脑脓肿 脑厌氧菌感染与慢性鼻窦炎和中耳炎有关。放射检查证明极大多数细菌自鼻窦和中耳侵入脑组织。脑脓肿特征为多种细菌混合感染，常见的是普雷沃菌、卟啉单胞菌、梭杆菌、消化链球菌和需氧球菌。

3. 腹腔感染 胃肠道定植的厌氧菌数最多，但仅有几种厌氧菌能引起腹腔感染。在所有腹腔感染中，最常见的是脆弱类杆菌，其他较为重要的有其它类杆菌和产黑素普氏菌。

4. 生殖道感染 包括盆腔炎症或脓肿、子宫内膜炎、手术伤口感染等。虽从上述感染中分离出多种厌氧菌，但最重要的为普雷沃菌，而脆弱类杆菌经常参与脓肿的形成。

5. 皮肤和软组织感染 虽无芽胞厌氧菌在皮肤上定植十分困难，但可通过咬伤或创伤表面污染等途径引起感染，其中软组织感染常与脆弱类杆菌有关。

6. 败血症 据统计，以往有 20% 以上的败血症与厌氧菌感染有关，但近年来厌氧菌所致败血症低于 5%。发病率明显下降的原因并不十分了解，可能归因于广谱抗生素的广泛应用。从血培养中经常分离出的厌氧菌为脆弱类杆菌和某些梭杆菌。

三、微生物学检查法

直接涂片染色 采集疑为厌氧菌感染的标本直接涂片染色后作显微镜检查，见有染

色较浅、不规则的多形态细菌，可作出初步推断。

分离培养 无芽胞厌氧菌分离培养的成功率取决于如下因素：①无菌收集标本，避免杂菌污染；②标本置运输培养基，避免氧气引起细菌死亡；③迅速送检、及时接种特殊培养基；④保证厌氧培养条件；⑤因多为混合感染，难于发现有意义的细菌，故应使用选择培养基以分离最为重要的细菌。

快速鉴定 各种纸片法有助于无芽胞厌氧菌的初步鉴定（表 15-5），以推测所分离细菌的归属。①抗生素纸片法：指细菌对万古霉素、卡那霉素和多粘菌素 E 的敏感性测定；②胆盐纸片法：在胆盐纸片或 20%胆盐培养基上，脆弱类杆菌能生长，普雷沃菌等其它革兰阴性菌则不能生长。

表 15-5 常见无芽胞厌氧菌的初步鉴定

细菌	抗生素	20%胆盐	荧光/色素
脆弱类杆菌组	RRR	R	-
梭杆菌 SPP	SRS	V	-
卟啉单胞菌 SPP	RSR	S	+
普雷沃菌 SPP	RRV	S	+
消化链球菌 SPP	SRS	-	-

抗生素：万古霉素 5 μ g、卡那霉素 1 000 μ g 和多粘菌素 E 10 μ g

R：抵抗；S：敏感；V：可变

通过革兰染色、菌落形态及快速鉴定，可初步鉴定脆弱类杆菌等厌氧菌。初步鉴定对临床治疗极为重要，但细菌的最终鉴定需使用市售鉴定系统。

四、防治原则

可用抗生素和外科引流等综合治疗措施。多数脆弱类杆菌、普雷沃菌、卟啉单胞菌和某些梭杆菌都能产生 β -内酰胺酶，对青霉素和多种头孢菌素类药物具有耐药作用。但是，可选用高浓度青霉素（羧苄青霉素）、 β -内酰胺酶抑制物和其它 β -内酰胺抗生素（头孢噻吩）治疗感染。甲硝达唑具有抗厌氧菌功能，可治疗类杆菌和其它革兰阴性厌氧菌所致的感染。

厌氧菌组成人体重要的正常菌群，感染多为内源性细菌播散所致，因而不可能控制感染的发生。但是，因医源性操作而破坏粘膜表面的天然屏障，能促使细菌进入无菌部位，如若发现粘膜表面受损，可用抗生素作预防性治疗。

展 望

葡萄球菌是通过多途径引起多系统感染的微生物。在产生的多种毒素中，葡萄球菌肠毒素是重要的超抗原，并与某些自身免疫性疾病有关。开展对葡萄球菌肠毒素的研究有重要的理论和应用价值。近年来发现 CNS 是医院内感染的重要病原菌，且耐药菌株比金黄色葡萄球菌更为多见，检测 CNS 对控制感染极为重要。目前正在发展分子方法，尤其是应用多种靶基因扩增技术检测菌株的特征性基因和与耐药相关基因，不仅可用于

诊断，亦可指导用药。

近几年由 A 群链球菌引起的感染有增多的趋势，甚至呈爆发流行。现已证明，该菌出现了侵袭力极强的强毒株（M1、M3、M12、M18），引起毒素休克样综合征（TSS），主要致病因素为 SPEA、SPEB、SPEC、SPEF 的超抗原作用，但也不排除宿主和细菌其他方面的因素。国外学者正在研制一种仅含保护性不含组织交叉反应性抗原决定簇的 M 蛋白疫苗，这种疫苗的制备将是 A 群链球菌疫苗研究的方向。

厌氧芽胞梭菌属的细菌，能产生毒性极强的外毒素，应用基因克隆和重组技术，改造或修饰毒素基因，可获得新型微生物治疗制剂。近年来对无芽胞厌氧菌的研究进展较快。尽管该菌种类较多，但 70% 以上的感染由脆弱类杆菌、产黑素普氏菌、梭杆菌、卟啉单胞菌和消化链球菌引起。无芽胞厌氧菌的诊断主要依靠细菌学检查。目前正在发展分子诊断方法，用于口腔厌氧菌的检测。双歧杆菌、乳杆菌等无芽胞厌氧菌多为人类的有益菌，可终身携带，不但无毒无害，而且有重要的生理作用，是开发微生态制剂的重要源泉。

（钱利生）

第十六章 性传播疾病的微生物

性传播疾病 (sexually transmitted disease, STD) 的微生物泛指经性行为传播的病原微生物, 感染机体后可导致 STD, 国内把 STD 俗称性病。20 世纪 60 年代以前, 认为性病主要由性接触引起, 医学界只将梅毒、淋病、软下疳和性病性淋巴肉芽肿列入经典性病范畴。自 80 年代后, 性病的病种明显增多, 性病并非都是由于性接触才能传播, 其传播方式已由性交作为主要传播方式扩展为全部性行为传播, 如接吻、口交、肛交等以及输血污染、胎盘、产道感染等也能引起性病的传播。因此现代性传播疾病的概念与以前的狭义概念有了明显的区别, 包括的病种更多, 目前世界公认的达 20 余种。例如由病毒所致的生殖器疱疹、尖锐湿疣、艾滋病及部分病毒性肝炎; 细菌所致的淋病、细菌性阴道炎和腹股沟肉芽肿等; 衣原体所致的性病性淋巴肉芽肿、非淋菌性尿道炎; 支原体所致的非淋菌性尿道炎、非淋菌性宫颈炎; 螺旋体所致的梅毒以及由真菌所致的生殖器念珠菌病等。除立克次体外, 其它种类病原微生物都可引起 STD。有的 STD 是由一种病原体引起, 如梅毒的病原是梅毒螺旋体, 淋病是由淋病奈瑟菌引起; 也有的 STD 是由多种病原体引起, 如非淋菌性尿道炎的病原体有沙眼衣原体、解脲支原体和白色念珠菌等。因此在 STD 的病原学诊断、预防和临床治疗方面, 应采取不同的方法和措施。

卫生部根据我国的实际情况, 列入法定管理的 STD 有 8 种, 包括淋病、艾滋病、尖锐湿疣、生殖器疱疹、梅毒、软下疳、性病性淋巴肉芽肿和非淋菌性尿道炎。在本章内重点介绍与这 8 种 STD 相关的病原微生物的基本生物学特点及其致病机制。微生物学检查在诊断 STD 方面有决定性意义, 同时也是流行病学监测和判断疗效的重要方法。有关微生物学的检测方法近年来发展很快, 除传统的病原体培养法外, 有些病原体尚不能通过培养进行检测 (如 HPV、HIV 等)。新发展的基因诊断技术弥补了这一空白, 采用 DNA 探针、核酸杂交和核酸扩增技术, 提高了检测的敏感性和特异性, 但也要注意操作技术中的污染和假阳性结果。

第一节 淋病奈瑟菌

淋病奈瑟菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) 俗称淋球菌 (*gonococcus*), 是人类淋病的病原菌, 1879 年由德国 Albert Neisser 首次发现, 主要引起人类泌尿生殖系统粘膜的急性或慢性化脓性感染。人对该菌有易感性, 是其唯一的天然宿主。自 20 世纪 70 年代以来, 由于产青霉素酶淋病奈瑟菌 (PPNG) 和抗四环素淋病奈瑟菌 (TRNG) 的出现, 以及大多数患者呈轻微症状表现, 使淋病成为国内发病率最高的性传播疾病, 其高发年龄在 20~30 岁之间, 是我国目前第一大性病。

一、生物学性状

形态与染色 形态与脑膜炎奈瑟菌相似，直径 $0.6 \sim 0.8 \mu\text{m}$ 。常成双排列，两菌接触面平坦，似一对咖啡豆。脓汁标本中，大多数淋病奈瑟菌常位于中性粒细胞内。但慢性淋病病人的淋病奈瑟菌多分布在细胞外。无芽胞，无鞭毛。有荚膜和菌毛。革兰染色呈阴性，用碱性美蓝液染色时，菌体呈深蓝色（图 16-1）。

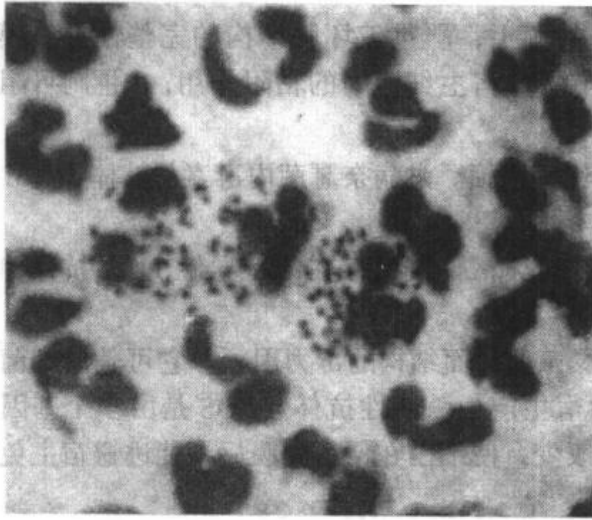


图 16-1 中性粒细胞内淋病奈瑟菌尿道脓性分泌物涂片 $\times 1000$

培养特性 分离培养时须供给 $5\% \text{CO}_2$ 。营养要求高，巧克力（色）血琼脂平板是适宜培养基。最适生长温度为 $35 \sim 36^\circ\text{C}$ ，低于 30°C 或高于 38.5°C 生长停止，最适 pH 为 7.5。孵育 48h 后，形成凸起、圆形、灰白色、直径 $0.5 \sim 1.0 \text{mm}$ 的光滑型菌落。根据菌落大小、色泽等分 T1-T5 五种类型，新

分离株属 T1、T2 型，菌落小，有菌毛。人工培养基转种后可转变为 T3、T4 和 T5 型。淋病奈瑟菌菌落有高度自溶性，不易保存。

生化反应 氧化酶试验阳性。据此可与脑膜炎奈瑟菌相区别。只分解葡萄糖，产酸不产气，不分解麦芽糖、蔗糖和乳糖。

抗原构造与分类 淋病奈瑟菌的外膜抗原至少可以分为三类。

1. 菌毛蛋白抗原 菌毛存在于有毒菌株，直径约 6nm ，每根菌毛是由 10×10^3 个相同的蛋白质单位组成的单丝状结构。由不同淋病奈瑟菌菌株提取的菌毛，其抗原性不同。

2. 脂多糖抗原 又称作脂寡糖（LOS）抗原。LOS 与其它革兰阴性菌的 LPS 在结构上类似，均含有脂质 A、保守核心结构和可变糖链结构三个基本成分。两者的主要区别在于 LOS 缺少“O”抗原成分，糖链结构较短，典型的 LOS 基本结构由寡糖链-庚糖链-2-酮-3-脱氧辛酮糖酸-脂质 A 所组成。其中寡糖链中糖基成分包括葡萄糖、半乳糖、N-乙酰葡萄糖胺、N-乙酰半乳糖胺和 N-乙酰神经氨酸。

3. 外膜蛋白抗原 包括 P I、P II 和 P III。P I 为主要外膜蛋白，占淋病奈瑟菌外膜总重量的 60% 以上，分子量 $32 \sim 40 \text{kD}$ ，是淋病奈瑟菌分型的主要基础，可分成 A、B、C、D、E、F、G、H、N、R、S、T、U、V、W 和 X 等 16 个不同血清型，有助于流行病学调查。

抵抗力 淋病奈瑟菌对热、冷、干燥和消毒剂极度敏感，与脑膜炎奈瑟菌相似。

二、致病性与免疫性

致病物质 淋病奈瑟菌感染人体从菌毛粘附开始，通过菌毛粘附到柱状上皮细胞表

面（如泌尿 - 生殖道、眼结合膜上皮细胞），在局部形成小菌落或被吞入细胞增殖。 T_1 、 T_2 型的淋病奈瑟菌对人类有毒力， $T_3 \sim T_5$ 型者则无；其差异在于前一类菌有菌毛，后一类则无。有菌毛者可粘附至人类尿道粘膜，不易被尿液冲去；抗吞噬作用明显，即使被吞，仍能寄生在吞噬细胞内。

外膜蛋白 P I 可直接插入中性粒细胞的膜上，严重破坏膜结构的完整性导致膜损伤；P II 分子参与淋病奈瑟细菌间以及菌与一些宿主细胞间的粘附作用；P III 则可阻抑杀菌抗体的活性。

淋病奈瑟菌释放的内毒素，引起组织细胞受损。淋病奈瑟菌内毒素与补体、IgM 等共同作用下，在局部形成炎症反应。

淋病奈瑟菌尚能产生 IgA1 蛋白酶，能破坏粘膜表面存在的特异性 IgA1 抗体，使菌仍能粘附至粘膜表面。

脂寡糖（LOS）也是存在于致病性奈瑟菌菌表面结构的毒力因子。它可辅助细菌在感染过程中粘附和侵入宿主细胞，并诱导宿主产生杀菌性抗体。LOS 是由多个基因编码的产物构成的复合体，其抗原性可发生改变，使细菌在侵入粘膜后，能逃避宿主免疫系统的防御作用。

淋病奈瑟菌的耐药问题十分突出，其耐药性由质粒或染色体介导，尤以质粒介导的耐药严重且传播迅速。淋病奈瑟菌的质粒可以分为三种类型：耐药性质粒（包括耐青霉素质粒和耐四环素质粒），隐蔽性质粒（4.2Kb，存在于 90% 以上的淋病奈瑟菌中）和接合性质粒（3.2Kb，与传递耐药性有关）。质粒在菌株间的转移主要是通过转化和接合两种方式进行。此外由于淋病奈瑟菌有高度自溶性，释放出可转化的 DNA 容易进入周围环境，导致菌株间 DNA 转移，故淋病奈瑟菌的耐药性也可通过染色体介导。

早在 1976 年，由美国首先分离出质粒介导的产 β -内酰胺酶耐青霉素的 PPNG 株，其 β -内酰胺酶由位于质粒上的 TeM - 1 基因编码。1985 年分离出由质粒介导高度耐四环素的 TRNG 株，其耐药基因是位于 39.2Kb 质粒上的 Tet - M 基因。PPNG 株产 β -内酰胺酶质粒主要有 6 种类型，根据地区来源不同分为：亚洲型（7.4Kb）、非洲型（5.6Kb）、多伦多型（5.14Kb）、里约热内卢型（5.1Kb）、尼姆型（6.7Kb）和新西兰型（9.3Kb），其中具有流行病学意义的有 3 种：亚洲型、非洲型和多伦多型。我国于 1990 年首先在重庆分离到 PPNG 株，随后由重庆、新疆、成都、广州等地区作了较多临床分离株的耐药性质粒的研究，以亚洲型为主，多重耐药现象普遍。淋病奈瑟菌的耐药机制很复杂，可以是 TeM - 1、Tet - M、erm 等耐药基因的获得，也可以是染色体上 PenA、PenB、mtr、gyrA、parC 等的突变、插入或缺失。PenA 改变青霉素结合蛋白 2（PBP2），降低其与青霉素的亲和力。PenB 和 mtr 可通过改变外膜通道蛋白和其它成分，进而引起细菌外膜通透性降低、外排系统的泵出药物作用增强或靶酶突变等，产生对青霉素和其它抗生素的中低水平耐药。某些机制可以同时存在并产生协同作用。

所致疾病 人类是淋病奈瑟菌的惟一宿主。人类淋病主要通过性接触，淋病奈瑟菌侵入尿道和生殖道而感染，其潜伏期 2 ~ 5d。母体患有淋菌性阴道炎或宫颈炎时，婴儿出生时感染淋菌性结膜炎者多见。

成人感染初期，一般引起男性前尿道炎，女性尿道炎与宫颈炎。患者出现尿痛、

尿频、尿道流脓、宫颈可见脓性分泌物等。如进一步扩散到生殖系统，引起慢性感染，如男性发生前列腺炎，精囊精索炎和附睾炎；女性出现前庭大腺炎和盆腔炎等，是导致不育原因之一。

免疫性 人类对淋病奈瑟菌的感染无天然抵抗力。多数患者可以自愈，并出现特异性 IgM、IgG 和分泌型 IgA 抗体，但免疫不持久，再感染和慢性患者较普遍存在。

三、微生物学检查法

标本 用无菌棉拭沾取泌尿生殖道脓性分泌物或子宫颈口表面分泌物。淋病奈瑟菌抵抗力弱，为确保分离成功，标本采集后应立即接种到培养基上，注意保暖保湿，尽量缩短标本离体时间。为抑制杂菌生长，可在培养基中加入抗生素如多粘菌素 B 和万古霉素，可提高咽部、直肠部位或宫颈标本的淋病奈瑟菌检出率。

直接涂片镜检 将脓性分泌物涂片，革兰染色后镜检。如在中性粒细胞内发现有革兰阴性双球菌时，结合临床症状可初步诊断。

分离培养与鉴定 标本接种在预温的巧克力（色）血琼脂平板或 Thayer - Martin (T - M) 培养基，培养的最适温度为 35 ~ 36℃，在 5% CO₂ 下孵育 24 ~ 48h，菌落经涂片染色为革兰阴性双球菌即可诊断。分离培养的方法还有利于作菌株的药物敏感实验和菌株型别检测，因此培养法仍然是目前诊断的金标准。但其不足的是培养方法较繁琐，培养成功与否还依赖于标本采集、运送和培养基的选择等因素。

进一步鉴定可作氧化酶试验、糖发酵试验或直接免疫荧光试验等。

核酸检测技术 目前也采用核酸杂交技术或核酸扩增技术检测淋病奈瑟菌，可用于淋病奈瑟菌快速诊断及流行病学调查。用于淋病奈瑟菌基因诊断的探针有质粒 DNA 探针（包括隐蔽性质粒 DNA 探针和耐药性质粒 DNA 探针，因绝大多数淋病奈瑟菌均含有隐蔽性质粒，故采用该质粒中 CPPB 基因片段作为特异 DNA 探针来检测淋病奈瑟菌），菌毛 DNA 探针，染色体基因探针和 rRNA 探针。由于该技术检测的只是淋病奈瑟菌的 DNA 片段，因此对于经治疗后淋病奈瑟菌培养阴性而核酸阳性者，不能完全否定其治疗效果。采用这一技术检测时，对抗生素的疗效判断有一定的局限性，且难以确定淋病奈瑟菌对抗生素的敏感性。

四、防治原则

淋病是一种性传播疾病，因而是一个社会问题，重点是对高危人群的控制。成人淋病基本上是通过性交传染，污染的毛巾、衣裤、被褥等也起一定传播作用。未成年女童可因共用毛巾等而间接感染，发生外阴 - 阴道炎。患有淋病的孕妇在分娩时也可传染给新生儿。开展防治性病的知识教育以及防止不正当的两性关系是非常重要的环节。近年来耐药淋病奈瑟菌株不断增加，特别是多重耐药的淋病奈瑟菌给防治性病带来困难。为此，还应作药物敏感试验以指导合理选择药物，除了对淋病患者及时彻底治疗外，还应治疗与淋病患者的性接触者。

对 PPNG 和 TRNG 病人可选用目前对淋病奈瑟菌敏感的壮观霉素或头孢三嗪。对耐药菌株还可以作耐药质粒消除。

目前尚无有效的疫苗供特异性预防。

婴儿出生时，不论母亲有无淋病，都应以 1% 硝酸银或其它银盐溶液滴入两眼，以预防新生儿淋菌性眼炎的发生。

第二节 沙眼衣原体

衣原体广泛寄生于人类、哺乳动物及禽类，仅少数能致病，能引起人类疾病的衣原体主要有沙眼衣原体和肺炎衣原体。沙眼衣原体除引起人类沙眼外，还是引起泌尿生殖道感染的重要原因。泌尿生殖道的沙眼衣原体感染是最早报道的由微生物引起的 STD，国内多沿用以往分类法，把该病归于非淋菌性尿道炎 (NGU)，国外多称为沙眼衣原体泌尿生殖道感染 (CGI)。目前在发达国家中，由衣原体感染所致的性传播疾病增加很快，CGI 的发病率已超过淋病奈瑟菌感染，占 STD 中第一位。美国每年估计有 400 万人发病，全世界每年有 5 000 万人发生沙眼衣原体感染，主要集中在发达国家，总体趋势是女性多于男性，青少年多于成年人，成为最常见的性传播疾病。沙眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*) 除少数菌株来自小鼠外，人类是其主要自然宿主。根据致病力和某些生物学特性的差别，沙眼衣原体可分为三个亚种，即沙眼生物亚种 (*Biovar trachoma*)、性病性淋巴肉芽肿亚种 (*Biovar lymphogranuloma venereum*, LGV) 和鼠亚种 (*Biovar mouse*) (表 16-1)。其中鼠亚种不引起人类致病。

表 16-1 沙眼衣原体三个亚种的比较

性 状	沙眼亚种	LGV 亚种	鼠亚种
自然宿主:			
人	+	+	+
小鼠	-	-	+
易感部位:			
鳞状上皮细胞	+	-	-
淋巴组织	-	+	-
单核吞噬细胞	-	+	-
细胞培养:			
McCoy 细胞培养的阳性率	70% ~ 80%	< 50%	不明
血清型别数目(个)	15	3	不明
实验动物:			
小鼠: 脑内接种致死	-	+	-
灵长类: 滤泡性结膜炎	+	-	-
与沙眼亚种 DNA 同源性	100%	100%	30% ~ 60%

一、沙眼亚种

我国学者汤飞凡 (1897 ~ 1958) 院士在 1955 年采用鸡胚卵黄囊接种并加链霉素抑菌的技术，在世界上首次分离培养出沙眼衣原体 (当时被称为沙眼“病毒”)。1958 年他又用自己的眼睛作实验，将该“病毒”接种进自己的一只眼睛，造成了典型的沙眼，

经 40d 后才接受治疗，并从本人眼内分离出“病毒”，以证明沙眼病原对人类的致病性，解决了延续半个多世纪关于沙眼病原的争论。他是世界上发现重要病原体的第一个中国人，开创了沙眼衣原体的实验研究工作。现可采用多种传代细胞对沙眼衣原体进行培养。

生物学特性 圆形或椭圆形，不同发育阶段，大小和染色反应不一。原体直径约 $0.3\mu\text{m}$ ，中央有致密核质，Giemsa 染色呈紫红色。网状体直径 $0.5 \sim 1\mu\text{m}$ ，核质分散，Giemsa 染色为深蓝或暗紫色。原体能合成糖原，掺入沙眼包涵体的基质组成，故被碘溶液染成棕褐色。

采用微量免疫荧光法 (MIF) 可将沙眼衣原体至少分为 18 个血清型，其中沙眼生物变种包括 A、B、Ba、C、D、Da、E、F、G、H、I、Ia、J 和 K 共 14 个血清型。LGV 生物变种包括 L₁、L₂、L_{2a} 和 L₃ 4 个血清型。此外，目前还采用编码 MOMP 的结构基因 OmpI 寡核苷酸测序、OmpI 限切酶片段长度多态性 (RFLP) 等方法分型。

致病性与免疫性 沙眼亚种主要寄生在人类，无动物储存宿主。沙眼衣原体通过创面侵入机体后，原体吸附于易感的柱状或杯状粘膜上皮细胞并在其中增殖，也能进入单核巨噬细胞增殖。细胞浆围绕原体内陷形成空泡，称吞噬体。原体在空泡内发育成网状体，完成其繁殖过程。沙眼衣原体能产生类似革兰阴性细菌的内毒素毒性物质，抑制宿主细胞代谢，直接破坏宿主细胞。此外，沙眼衣原体主要外膜蛋白 (MOMP) 能阻止吞噬体和溶酶体的融合，从而有利于沙眼衣原体在吞噬体内繁殖并破坏宿主细胞。MOMP 的表位还能突变，在体内可以逃避特异性抗体的中和作用而继续感染细胞。在体内抗沙眼衣原体的免疫应答过程中，一方面疾病得以缓解，另一方面由 T 细胞与感染细胞的相互作用也会导致免疫病理损伤，产生第 IV 型超敏反应。沙眼衣原体或 MOMP 成分，可促进单核细胞产生 IL-1 等细胞因子，而 IL-1 是炎症和瘢痕形成的重要因素，沙眼衣原体感染易生成瘢痕，组织损伤的范围和程度与沙眼衣原体反复感染有关。

沙眼衣原体主要引起以下疾病：

1. 沙眼 由沙眼亚种 A、B、Ba 和 C 血清型引起。主要通过眼-眼或眼-手-眼的途径进行直接或间接接触传播。沙眼衣原体感染眼结膜上皮细胞后，在其中繁殖并在细胞浆内形成包涵体，引起局部炎症。沙眼的早期症状是流泪、有粘液脓性分泌物、结膜充血及滤泡增生。后期出现结膜瘢痕、眼睑内翻、倒睫以及角膜血管翳引起的角膜损害，影响视力或致盲，是目前世界上致盲的第一位病因。

2. 包涵体结膜炎 由沙眼亚种 B、Ba、D、Da、E、F、G、H、I、Ia、J、及 K 血清型引起。包括婴儿及成人两类。前者系婴儿通过产道时感染，引起滤泡性结膜炎，其分泌物内含大量衣原体。病变类似沙眼，但不出现角膜血管翳，不形成结膜瘢痕，一般经数周或数月痊愈。

3. 泌尿生殖道感染 经性接触传播引起的非淋菌性泌尿生殖道感染，其中有 50%~60% 系沙眼衣原体所致，涉及的血清型与包涵体结膜炎的相同。可分为有症状和无症状感染两大类，有症状的感染因其部位不同而症状不同。普遍的症状是生殖道分泌物异常、尿痛、尿灼热感、下腹痛或性交痛。

(1) 男性尿道炎：沙眼衣原体感染是男性尿道炎最常见的病因，尿道炎常伴有排尿困难和稀薄的脓性尿道分泌物，未经治疗者多数转变成慢性，周期性加重，或可合并附睾炎、前列腺炎等。

(2) 子宫颈炎和子宫内膜炎：女性最早的感染部位是宫颈管，可引起宫颈管炎、尿道炎、输卵管炎、盆腔炎等，引起不孕症和宫外孕。孕妇 CGI 还可导致胎儿和新生儿的感染和死亡。衣原体常与淋病奈瑟菌混合感染，淋病奈瑟菌对衣原体繁殖起着激活和促进作用。因此在合并淋病奈瑟菌感染者，沙眼衣原体分离阳性率增高。

值得注意的是有 70% 女性宫颈炎感染和 50% 男性尿道感染者可无症状，易发展为持续感染或无症状携带者更易导致感染传播。此外还能通过性接触或非性接触方式感染新生儿、儿童，给预防 CGI 及其并发症带来很大困难。

机体感染沙眼衣原体后，体内能产生型特异性的细胞免疫和体液免疫。由 MOMP 活化的 T 细胞可分泌细胞因子，抑制沙眼衣原体包涵体的发展；特异性中和抗体可以抑制沙眼衣原体吸附到宿主细胞，参与抗衣原体感染的中和作用。但这种免疫力不强，抗体持续时间短暂，因此易造成持续感染和反复感染。沙眼病愈合后机体免疫力不强，易再受感染。

微生物学检查法 沙眼衣原体标本的正确采集和运送方法十分重要。对急性期沙眼或包涵体结膜炎患者，以临床诊断为主。实验室检查，可取眼结膜刮片或眼穹隆部及眼结膜分泌物作涂片。对泌尿生殖道感染者，由于临床症状不一定典型，因而实验室检查很重要。可采用泌尿生殖道拭子或宫颈刮片，少数取精液或其它病灶部分活检标本，也可以用初段尿离心后涂片。若要作衣原体培养，应注意标本的保存并及时接种到培养细胞中。采集的标本或菌株可加入蔗糖-磷酸盐-谷氨酸盐 (SPG) 培养基，放 -70°C 冰箱或液氮保存。衣原体标本的运送常用含抗生素的蔗糖磷酸盐运送培养基。若标本在 2h 内接种，检出阳性率最高；若在 24h 内接种，标本可暂时保存在 4°C 备用。

1. 直接涂片镜检 采用 Giemsa、碘液或荧光抗体染色镜检，检查上皮细胞内有无包涵体 (图 16-2)，其阳性结果只能作为可疑诊断的指标。

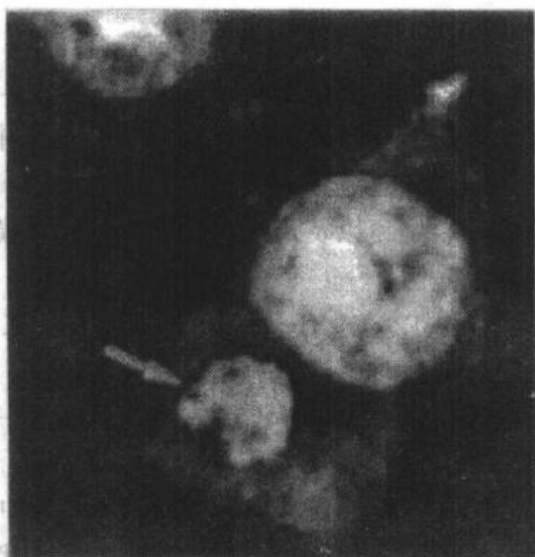


图 16-2 沙眼衣原体包涵体电镜照片
箭头指示为包涵体 $\times 3000$

2. 分离培养 是目前检测沙眼衣原体较为敏感和特异的方法。采用感染组织的刮取物或分泌物，接种鸡胚卵黄囊或传代细胞。衣原体培养较常用的是经放线菌酮处理的单层 McCoy 细胞，或 HeLa-229 细胞及 BHK21 细胞， 35°C 培养 48 ~ 72h。该法能检测出患者标本是否存在活的沙眼衣原体，且可作为判定临床疗效的标准。但该法操作烦琐，耗时长，技术条件要求高。

3. 衣原体抗原检测 用直接免疫荧光法或酶联免疫法可以检测标本中的衣原体。

4. 核酸检测技术 因沙眼衣原体是严格的细胞内寄生, 现有的检测方法灵敏度低, 人们已采用核酸探针分子杂交和核酸扩增相结合的技术开展基因诊断。

用于沙眼衣原体基因诊断的有:

(1) 主要外膜蛋白 (MOMP): 基因序列 (38 ~ 42kD), 其编码基因 (Omp1) 长约 1.2kb, 选择不同区间的 Omp1 基因作为引物, 可进行种和型的鉴定。

(2) 质粒 DNA: 各种血清型都含有一个约 7.6kb 的质粒, 其中含有一个连续重复四次的 ORF (22bp), 可作为 DNA 探针并获得具有诊断意义的靶序列。

(3) rRNA: 基因 16S 和 23SrRNA 序列中存在衣原体种、属不同程度特异性序列, 经扩增后, 特异性高。若采用标记的单链 DNA 探针与沙眼衣原体胞浆中的 rRNA 杂交, 可通过检测标记物获得结果。

在基因诊断方法中, 除分子杂交和 PCR 技术外, 新近发展的连接酶链反应 (ligase chain reaction, LCR) 是一项把基因扩增技术和连结酶方法结合起来的分子生物学技术, 其反应体系中加入四条引物、待测物、热稳定的 DNA 连接酶和 DNA 聚合酶、标记的 dCTP 或 dGTP 等, 可使原来的靶 DNA 呈指数扩增, 经电泳后用放射自显影法检测, 其敏感性和特异性均大幅提高。

采用 Omp1 的 PCR - RFLP 和 PCR - SSCP 方法, 可鉴定沙眼衣原体的基因型和基因变异株, 发现新的血清型。上述方法具有分辨率高和简便、快速的优点, 可用于分子流行病学研究。

二、性病性淋巴肉芽肿亚种

性病性淋巴肉芽肿 (LGV) 主要发生在热带和亚热带地区, 如东西非、南美、东南亚等, 由沙眼衣原体 L (L_1 、 L_2 、 L_3 和 L_4) 血清型引起, 可在鸡胚绒毛尿囊膜或组织细胞中培养繁殖。目前已在豚鼠、兔、猴、猫等动物体内接种成功。LGV 主要通过直接性接触传染, 一般男性多于女性, 男女之比为 5:1 或更高。我国每年有少量 LGV 病例报告, 其诊断依据大多来自临床表现。

生物学特性 LGV 亚种的大小、染色和培养特性均类似沙眼亚种。

引起本病的四个血清型 (L_1 、 L_2 、 L_{2a} 及 L_3) 与沙眼亚种 E 型和 C 型有交叉抗原存在。与引起 NGU 和沙眼的其它血清型的沙眼衣原体相比较, 上述四个血清型具有更强的侵袭力。

致病性与免疫性 L 血清型衣原体经皮肤、粘膜上的破损处侵入上皮组织后, 与其它型别沙眼衣原体不同, L 型沙眼衣原体的侵袭力更强, 引起的感染可累及更深层淋巴组织, 导致淋巴管炎及淋巴管周围炎等炎症。在炎症及炎症修复过程中, 机体出现由 IV 型超敏反应造成的免疫病理损伤现象, 如发生水肿、硬化、溃疡等。人是性病性淋巴肉芽肿衣原体的自然宿主, 无动物储存宿主。主要通过两性接触在人类传播。主要侵犯淋巴组织, 在男性侵犯腹股沟淋巴结, 引起化脓性淋巴结炎和慢性淋巴肉芽肿, 常形成瘰管。在女性侵犯会阴、肛门和直肠, 可形成肠皮肤瘰管; 也可引起会阴 - 肛门 - 直肠狭窄和梗阻。LGV 也能引起伴有耳前、颌下及颈部淋巴结肿大的结膜炎。表现为广泛的全身症状和急性或伴有会阴组织大面积损伤的慢性生殖器溃疡。

将 LGV 衣原体接种小鼠或猴脑内，可引起脑膜脑炎，但对鸟类不能引起感染。

微生物学检查法 男性标本采自尿道、直肠等溃疡发生部位及腹股沟、淋巴结脓肿、生殖器溃疡，女性标本常采集直肠或宫颈组织。待检 LGV 标本的保存、运送以及检测方法，与沙眼亚种相同。LGV 衣原体可在传代细胞培养，一般不需要特殊的技术处理，但敏感性不太高。

血清学试验 检测血清中抗衣原体抗体的血清学诊断试验，在常规临床诊断中价值不大，此因性传播的高危人群多有慢性感染，不易获得衣原体感染急性期和恢复期双份血清进行抗体水平的比较。但对于患深部或系统性感染的 LGV 患者，其抗体滴度显著高于正常人群的抗体水平，可采用 ELISA 检测针对沙眼衣原体属特异性抗原（通常为 L₁ 或 L₂ 沙眼衣原体）的血清抗体。此外，还可采用 ELISA 或 DIF 法检测沙眼衣原体抗原，用来诊断 LGV 感染。

防治原则 沙眼的预防重在注意个人卫生，不使用公共毛巾、浴巾和脸盆，避免直接或间接的接触传染，目前尚无特异的预防方法。泌尿生殖道衣原体感染的预防应广泛开展性病知识宣传，提倡健康的性行为，积极治愈病人和带菌者。对高危人群开展普查和监控，防止 CGI 的扩散。治疗药物可选用强力霉素、红霉素、阿齐霉素等。

目前尚无成熟的沙眼衣原体疫苗。MOPM 占沙眼衣原体外膜蛋白的 60% 以上，是中和抗体作用的主要靶点，因此 MOPM 也是被研究最多的疫苗成分。由于 MOPM 的多型性，其疫苗不易对各种型别的沙眼衣原体都具有保护性，故增加了把 MOPM 作为亚单位疫苗的难度。此外，沙眼衣原体对人体感染的主要部位为眼和泌尿生殖道粘膜，局部分泌型 IgA 发挥粘膜免疫保护作用，而血清中具有中和活性的 IgG 对粘膜抗感染作用较差。鉴于口服脊髓灰质炎疫苗免疫后，可在肠道和其它部位均检测出强而持久的特异性粘膜免疫，受此启发有的学者试图把脊髓灰质炎病毒基因与 A 型沙眼衣原体含有中和表位的编码基因重组后，制备成口服活疫苗，以诱导特异性粘膜免疫。

第三节 解脲脲原体

引起泌尿生殖道感染的支原体主要有解脲脲原体、人型支原体和生殖支原体，其中解脲脲原体是泌尿生殖道感染的常见病原体之一。

解脲脲原体 (*ureaplasma urealyticum*) 亦称溶脲脲原体，是 1954 年 Shepard 首次从非淋菌性尿道炎 (NGU) 患者的尿道分泌物中分离获得，在分类学上属支原体科脲原体属。解脲脲原体是人类泌尿生殖道常见的寄生菌之一，在特定环境下可致病。在人体的定植可有二次上升趋势，即分娩时由母体产道感染新生儿，以后迅速减少；从性生活开始又渐增多。近年来，解脲脲原体所致泌尿生殖道感染日益受到重视，是引起 NGU 的病原体之一，现已被列为性传播疾病的病原体。

一、生物学性状

解脲脲原体呈球形或球杆状，直径约 50 ~ 300nm，单个或成双排列。因菌株菌龄和检查方法不同可呈各种形态。革兰染色阴性，但不易着色，Giemsa 染色呈紫蓝色。无

动力、微需氧。

能在人工培养基上生长，但营养要求较高，需提供胆固醇和酵母浸液。37℃生长良好，22℃生长差，42℃不生长。最适 pH 为 5.5~6.5。在固体培养基上，置含 95% N₂ 和 5% CO₂ 气体环境下培养 2d，解脲脲原体形成的菌落很小，直径 15~30μm，呈颗粒状或具有较窄周边的油煎蛋状，需放大 200 倍才能观察到，故又称 T 株 (tiny strain)。能分解尿素产氨，可使培养基 pH 升高，培养基中酚红变红，但培养基不变混浊。解脲脲原体不分解糖类和精氨酸。对醋酸铊、四环素、红霉素等敏感。对热抵抗力差，低温或冷冻干燥可长期保存。

解脲脲原体有 14 个血清型，其中以第 4 型引起疾病频率最高。

二、致病物质及致病机制

解脲脲原体在一定条件下能引起泌尿生殖系统感染和不育症。致病机制尚不十分清楚，目前认为可能与其侵袭性酶和毒性产物有关。一般为表面感染，大多不侵入血液。

磷脂酶 解脲脲原体吸附宿主细胞后，可产生磷脂酶分解细胞膜中的卵磷脂，影响宿主细胞生物合成，并从细胞膜获得脂质和胆固醇作为养料。

尿素酶 在宿主细胞胞浆中，能分解尿素产生氨，对细胞有毒性作用。

IgA 蛋白酶 各种血清型解脲脲原体都能产生 IgA 蛋白酶，可降解 IgA1 形成 Fab 和 Fc，破坏泌尿生殖道粘膜表面的 IgA 局部抗感染作用，有利于解脲脲原体粘附于泌尿生殖道粘膜的表面而致病。

解脲脲原体有粘附精子作用，阻碍精子的运动。产生神经氨酸酶样物质干扰精子和卵子的结合，且与人精子膜有共同抗原，对精子可造成免疫损伤而致不育。解脲脲原体所致疾病最常见的为非淋菌性尿道炎 (NGU)，占非细菌性尿道炎的 60%。解脲脲原体多寄生在男性尿道、阴茎包皮和女性阴道。若上行感染，可引起男性前列腺炎或附睾炎；女性阴道炎、宫颈炎，并可感染胎儿导致流产、早产及低体重胎儿，也能引起新生儿呼吸道和中枢神经系统的感染。淋病患者中解脲脲原体检出率比非淋菌性尿道炎的解脲脲原体高 2 倍多，可能因淋病奈瑟菌损伤泌尿生殖道粘膜有利于解脲脲原体的粘附，也是淋病治愈后有些人仍有症状遗留的原因。

三、微生物学检查法

实验室诊断的最好方法是分离培养、检测解脲脲原体抗原或核酸成分。注意采集新鲜标本 (精液、前列腺液、阴道分泌物、尿液等) 立即接种，若不能立即接种，应将标本放 4℃ 冰箱保存，在 12 小时内接种。

解脲脲原体的分离可用加尿素和酚红的含血清支原体肉汤。肉汤内可加青霉素抑制杂菌生长。解脲脲原体具有尿素酶，可分解尿素产氨，使酚红变红，但培养液澄清，表示阳性。在固体培养基上用低倍镜观察，可见有微小的油煎蛋样或颗粒样菌落生长。免疫斑点试验 (IDT) 或 ELISA 法可用于检测解脲脲原体抗原或鉴定培养物。

此外尚可应用 PCR 技术，通过对特异性引物扩增尿素酶基因等来检测解脲脲原体。

(贾文祥)

第四节 梅毒螺旋体

梅毒螺旋体 (*T. Pallidum*, TP) 属于密螺旋体属 (*Treponema*) 苍白螺旋体的一个亚种, 是引起人类性病梅毒的病原体。密螺旋体包括致病性和非致病性两大类。致病性的密螺旋体有苍白密螺旋体 (*T. Pallidum*) 和品他密螺旋体 (*T. Carateum*) 两种。苍白密螺旋体又分 3 个亚种, 包括苍白亚种 (*subsp. pallidum*) 亦称梅毒螺旋体, 地方亚种 (*subsp. Endemicum*) 亦称地方性梅毒螺旋体, 极细亚种 (*subsp. Pertenuae*) 亦称雅司密螺旋体, 分别引起梅毒、非性传播梅毒 (地方性梅毒) 和雅司病。地方性梅毒和雅司病不是性传播疾病, 前者主要通过污染餐具传染, 后者主要经直接接触患者皮肤受损部位而传染, 二者的临床症状与梅毒相似。品他密螺旋体引起品他病。

一、生物学性状

形态与染色 梅毒螺旋体细长, 直径 $0.10 \sim 0.2 \mu\text{m}$, 全长 $7 \sim 8 \mu\text{m}$ 。有 8 ~ 14 个致密而规则的螺旋, 两端尖直 (图 16-3)。运动活泼。

电镜观察其结构有细胞壁和细胞膜。细胞壁外尚有外膜, 细胞膜内为含有细胞质和核质的原生质圆柱体。圆柱体上紧绕着 3 ~ 4 根周浆鞭毛 (*periplasmic flagella*), 也称轴丝或内鞭毛 (*endoflagella*), 与运动有关。TP 基因是由 1 138 006bp 组成的环状 DNA, G + C 含量为 52.8%, 有 1 041 个开放读码框架 (ORFs), 每个 ORF

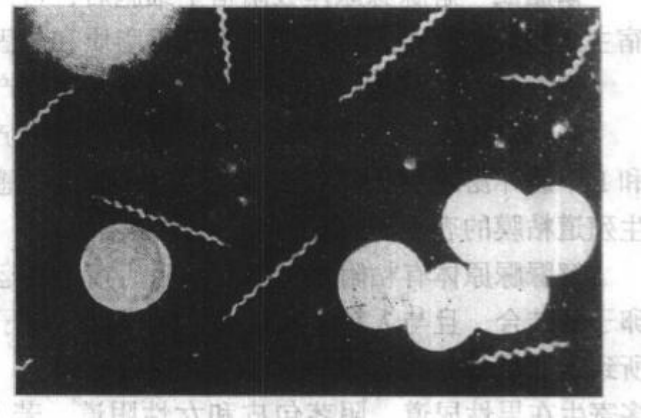


图 16-3 梅毒螺旋体暗视野 $\times 4\ 000$

平均为 1 023bp, 55% 的 ORFs 有生物学功能。现已发现 TP 膜抗原有 22 种, 内鞭毛蛋白有 38 种, 其中外膜蛋白的 47KD 蛋白和内鞭毛的 37KD 蛋白具有高度免疫原性。

革兰染色呈阴性, 但不易着染。Fontana 镀银染色法可将螺旋体染成棕褐色, 在光镜下易于查见。常用暗视野显微镜观察新鲜标本中的螺旋体形态和运动。

培养 梅毒螺旋体不能在人工培养基中生长繁殖。在家兔上皮细胞培养中能有限生长, 繁殖慢, 约 30h 才分裂一次, 并只能维持数代。在家兔睾丸或眼前房内接种可获得传代、有毒力的 Nichols 株, 若将其转种于含有多种氨基酸的兔睾丸组织碎片中, 厌氧条件下培养, 则失去其致病力, 该菌株则称为 Reiter 株。Nichols 株和 Reiter 株被广泛用作梅毒血清学诊断的抗原。

抵抗力 梅毒螺旋体抵抗力极弱, 对温度和干燥特别敏感, 加热 41.5°C 经 1h 死亡, 50°C 5min 死亡; 血液中的梅毒螺旋体, 在 4°C 置 3 天后可死亡, 因此 4°C 血库存放 3 天以上的血液无传染梅毒的危险。对常用的化学消毒剂敏感, 1% ~ 2% 石炭酸内数分钟就死亡。对砷、铋、汞制剂和青霉素、四环素、红霉素、庆大霉素等均敏感。

二、致病性与免疫性

致病物质 梅毒螺旋体不产生内毒素和外毒素，在体外细胞培养中不能大量繁殖，因而难以检测其毒性物质。近年来利用分子生物学技术，将其不同基因克隆到大肠埃希菌，然后研究各个基因产物有无致病性。迄今已发现某些基因产物只存在于有毒菌株，说明这些产物与致病性有关，例如有毒株产生的外膜蛋白具有与宿主细胞表面发生粘附的作用；产生的透明质酸酶有利于螺旋体的扩散；有毒株尚能以宿主细胞的纤维连接蛋白覆盖其表面，以保护菌体免受宿主吞噬细胞的攻击。此外，梅毒患者出现的组织破坏和病灶，主要由免疫病理损伤所致。

所致疾病 梅毒螺旋体引起梅毒 (syphilis)。人是梅毒的唯一传染源。主要经性接触传播，引起性病梅毒；也可从母体通过胎盘传染给胎儿，引起先天性梅毒；经输血引起输血后梅毒。

1. 梅毒 梅毒的病程分为三期。

I期(初期)梅毒：梅毒螺旋体经皮肤粘膜侵入机体3周左右后局部出现无痛性硬下疳(hard chancre)。多见于外生殖器，也可见于直肠、肛门和口腔。溃疡渗出液中有大量梅毒螺旋体存在，感染性极强。一般4~8周后，硬下疳常自愈。

II期梅毒：发生于硬下疳出现后2~8周。全身皮肤、粘膜常有梅毒疹，主要出现于躯干和四肢。全身淋巴结肿大，有时亦累及骨、关节、眼及中枢神经系统。在梅毒疹和淋巴结中，有大量梅毒螺旋体存在。初次出现的梅毒疹经过一定时期后会自行消退，但潜伏一段时间后又可重新出现新的皮疹。I、II期传染性强，但破坏性较小。

III期(晚期)梅毒：病程进展缓慢，多在感染I期梅毒10年后发生。病变可波及全身组织和器官，引起许多器官破坏性炎性损伤，又以神经梅毒、心血管梅毒和梅毒瘤(树胶肿样病变)三种最常见。基本损害为慢性肉芽肿，局部因动脉内膜炎所引起的缺血而使组织坏死。但病灶中很难分离出梅毒螺旋体，许多病理表现可能是自身免疫所致。III期梅毒损害也常进展和消退交替出现。皮肤、肝、脾和骨骼常被累及。若侵害中枢神经系统和心血管，可危及生命。

2. 先天性梅毒 系母体梅毒螺旋体通过胎盘进入胎儿体内所致。螺旋体经胎盘进入胎儿血流，并扩散至肝、脾、肾上腺等脏器中大量繁殖，引起胎儿的全身性感染，导致流产、早产或死胎；或出生后表现有皮肤病变、马鞍鼻、锯齿形牙、间质性角膜炎、先天性耳聋等特殊体征，俗称梅毒儿。

3. 输血后梅毒 输入含有梅毒螺旋体的血液，可引起发热、发疹等第二期梅毒的症状。为此，采集的血液必须在4℃保存72h以上使用才安全，现在我国对供血源均检测梅毒感染的指标。

免疫性 梅毒的免疫是感染性免疫，即有梅毒螺旋体感染时才有免疫力，一旦螺旋体被杀灭，其免疫力亦随之消失。例如I期梅毒时，硬下疳未经治疗自愈后，患者再次感染时，不再形成硬下疳。因为此时期螺旋体已经入血，感染仍存在，免疫也存在。如硬下疳经彻底治疗，体内不存在螺旋体，感染与免疫也同时终止。此时患者再次感染，其病程则重新从I期硬下疳开始。

梅毒免疫中细胞免疫比体液免疫重要，但抗体也有一定作用。例如梅毒螺旋体侵入机体后，可被中性粒细胞和巨噬细胞吞噬，但不一定被杀死。只有当特异性抗体形成后，在补体协同下，才能使吞噬加强并具杀伤作用。从实验资料证明，梅毒患者外周血单核细胞增多、吞噬功能增强、对梅毒螺旋体抗原增殖反应较正常人强以及皮内注射螺旋体抗原可出现迟发型变态反应等。I、II期梅毒病变中的细胞因子类型呈现典型的Th1细胞免疫应答，同时亦有CD8 CTL参与。

梅毒患者产生两种抗体。一类是抗梅毒螺旋体的特异性抗体，在补体参与下能将螺旋体杀死或溶解，并对吞噬细胞发挥调理作用。另一类是非特异性抗心肌磷脂抗体即反应素(reagin)，是抗脂质抗体。可能是螺旋体表面脂质引起的，也可能是受破坏的宿主细胞释放的脂质所致。非特异性抗体无免疫作用，仅可用于血清学诊断。另外，梅毒患者体内常出现抗淋巴细胞抗体、类风湿因子等自身抗体，可引起免疫病理损伤。

三、微生物学检查法

检查螺旋体 I期梅毒取硬下疳渗出液，II期梅毒取梅毒疹渗出液或局部淋巴结抽出液制备新鲜标本，可用暗视野显微镜检查螺旋体形态及活泼运动情况；亦可将标本与荧光标记的梅毒螺旋体抗体结合后，在荧光显微镜下观察；或用ELISA法在普通光学显微镜下检查。

血清学诊断 有非特异性和特异性两类。

1. 非特异性试验 用非螺旋体抗原即正常牛心脂质(cardiolipin)作抗原，测定患者血清中的反应素。最常用的有VDRL试验和RPR试验。

(1) VDRL试验(venereal disease reference laboratory) 该试验是1946年美国性病研究实验室创建的，故以该实验室命名。原理是以胆固醇为载体，包被片心脂质，构成VDRL抗原微粒。当与血清中的反应素结合时，就相互粘附形成凝集，则为阳性反应。不发生凝集者，为阴性反应。试验在玻片上进行，可以定性或半定量，低倍显微镜观察结果。

(2) 快速血浆反应素试验(rapid plasma reagin, RPR)是改良的VDRL试验。原理是用未经处理的活性炭颗粒(直径3~5 μm)吸附VDRL抗原。此颗粒如与待检血清中的反应素结合，便形成黑色凝集块，可肉眼观察结果。试验在专用纸卡的反应圈(内径18mm)内进行，亦可定性或半定量。

VDRL和RPR两种试验适用于大量过筛时使用。由于采用的是非密螺旋体抗原，反应素亦可在其他患者血清中出现，如风疹、水痘等病毒性感染、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等自身免疫病、麻风、疟疾以及吸毒者等，故可呈生物学假阳性，因此判定结果时必须结合临床资料分析。

2. 特异性试验 采用密螺旋体抗原进行试验，即用Nichols株螺旋体作为抗原测定血清中的螺旋体特异性抗体。该试验特异性强，可用作梅毒确认试验。常用的有FTA-ABS试验和MHA-TP试验。

(1) 荧光密螺旋体抗体吸收试验(fluorescent treponemal antibody-absorption): FTA-ABS是一种间接荧光抗体试验。原理是试验前先用Reiter株密螺旋体吸收患者血

清，以除去其中可能存在的螺旋体交叉反应抗体，再将血清滴加到有 Nichols 株螺旋体的玻片上，然后再加入荧光素标记的抗人 IgG。待检血清中密螺旋体抗体阳性者，在荧光显微镜下可观察到发荧光的 Nichols 螺旋体。

(2) 梅毒螺旋体抗体微量血凝试验 (microhemagglutination assay for antibodies to *Treponema pallidum*): MHA-TP 是微量间接血凝试验。原理是先用 Reiter 株螺旋体吸收除去患者血清中非特异性抗体后，再加入用 Nichols 株螺旋体提取物致敏的羊或鸡红细胞。在微量血凝板上形成散在的红细胞凝集片，即为阳性反应；致敏红细胞不发生凝集，则为阴性反应。其滴度在 1:80 以上则可判定为抗体阳性。

(3) 梅毒螺旋体制动试验 (*treponemal pallidum immobilizing*, TPI): 用活的 Nichols 株与病人灭活血清和新鲜补体于 35℃ 共孵育 16~18h 后，在暗视野显微镜下观察有活力的螺旋体数目的百分率，并与以灭活补体、正常血清为对照组的试验结果相比较。如活螺旋体数目为对照试验的 40% 以下时，判为阳性，说明病人血清中存在抑制螺旋体运动的特异性抗体。本试验虽特异性高，但由于很难得到活螺旋体，故很少用于临床诊断。

近年也有用免疫印迹法 (Western blot) 测定与梅毒螺旋体抗原组分发生反应的特异抗体。

密螺旋体特异性血清学试验的特异性虽强，但仍不能区分雅司病、品他病和地方性梅毒，且类风湿关节炎、系统性红斑狼疮等疾病也可出现假阳性，因此判定试验结果时，仍需结合临床资料及非特异试验结果来分析。

先天性梅毒的新生儿诊断比较困难，当脐血的梅毒抗体效价明显高于母体，且生后抗体效价恒定上升时，则提示新生儿感染了梅毒。

核酸检测 用聚合酶链反应 (PCR) 技术直接检测临床标本中梅毒螺旋体的特异 DNA 片段，对诊断困难或非典型的梅毒患者进行确诊有很大参考价值。

四、防治原则

梅毒是一种性传播疾病，加强性卫生教育和严格社会管理是预防梅毒蔓延的重要措施。梅毒确诊后，应尽早采用青霉素类等敏感药物彻底治疗。

其它密螺旋体

密螺旋体属中引起人类疾病的尚有苍白密螺旋体地方亚种和极细亚种，以及品他密螺旋体，它们分别引起地方性梅毒、雅司病和品他病。这些非性传播疾病大多发生于经济较落后地区的儿童。

地方性梅毒螺旋体 是苍白密螺旋体地方亚种，引起地方性梅毒，也称 Bejel 病 (非性病性梅毒)。人与人之间的传播是通过污染的餐具。临床表现与梅毒很相似。I 期口腔病灶不易察觉。II 期损害有口咽部粘膜斑、口角开裂性丘疹、骨膜炎和局部淋巴结肿大等。III 期病变有皮肤和骨的慢性肉芽肿，可造成鼻的破坏性毁形。心血管和中枢神经系统罕有累及。

雅司螺旋体 是苍白密螺旋体极细亚种，引起雅司病，其传播方式主要通过直接接触患者受感染皮肤病损部位所致。临床表现类似梅毒。I、II 期主要是全身皮肤发生杨

梅状丘疹，以四肢和头部为多。Ⅲ期是皮肤、淋巴结和骨发生破坏性病变。一般不侵犯心血管和中枢神经系统。

品他密螺旋体引起品他病 (pinta)。主要危及皮肤，也是通过与病损皮肤的直接接触传播。1~3周潜伏期后，皮肤出现小的瘙痒性丘疹，遍及面、颈、胸、腹和四肢，继而扩大、融合，为Ⅰ期品他疹。3~12个月后，出现Ⅱ期品他疹，色素变深。感染后1~3年发生Ⅲ期品他疹，主要表现为皮损部位色素减退，皮肤结痂、变形。品他病不累及粘膜、心血管和中枢神经系统。

上述三种疾病的微生物学检查，可以直接在暗视野显微镜下观察有无密螺旋体存在，也可用梅毒血清学试验检测血清中有无非特异或特异性抗体。由于这些密螺旋体与梅毒螺旋体在形态、抗原结构，甚至DNA同源性方面基本相同，无法将它们区别。因此，除微生物学检查中查见密螺旋体并梅毒血清试验阳性可诊断为密螺旋感染外，还必须结合临床表现，才能确定是哪一种密螺旋体感染。

(谷鸿喜)

第五节 人类免疫缺陷病毒

人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 属逆转录病毒科 (Retroviridae)。逆转录病毒科是一大组含有逆转录酶 (reverse transcriptase) 的RNA病毒，按其致病作用可分为三个亚科，即RNA肿瘤病毒亚科、慢病毒亚科及泡沫病毒亚科，其中对人致病的主要是人类免疫缺陷病毒和人类嗜T细胞病毒。

1. RNA肿瘤病毒亚科 (Oncovirinae) 包括引起禽类、哺乳类及灵长类等动物的白血病、肉瘤、淋巴瘤等多种病毒，还包括引起人类白血病的人类嗜T细胞病毒。

2. 慢病毒亚科 (Lentivirinae) 包括引起人类免疫缺陷综合征的HIV和引起动物慢性感染症的病毒，如马传染性贫血病毒、绵羊脱髓鞘病毒及猫、猴免疫缺陷病毒等。

3. 泡沫病毒亚科 (Spumavirinae) 包括牛、猪、灵长类及人泡沫病毒，主要引起培养细胞发生泡沫样变性及其细胞融合。

逆转录病毒具有以下共同特性：

1. 病毒呈球形，有包膜，表面有刺突，其大小100nm左右。
2. 病毒核心由两条相同单股RNA组成，在5'端通过部分碱基互补配对形成双体结构，它与内层衣壳构成电子密度强的中央类核。类核呈圆形的病毒称C型病毒颗粒，如人类嗜T细胞病毒；类核呈圆柱型的病毒称D型病毒颗粒，如人类免疫缺陷病毒。

3. 逆转录病毒基因组的组成相似，均含有序列及功能相似的gag、pol、和env三个结构基因及多个调节基因。

4. 病毒体内含有逆转录酶、核酸内切酶及RNA酶H等酶类，它们与病毒核酸逆转录、病毒的整合作用有关。

5. 病毒增殖的特点是在复制病毒RNA时，在逆转录酶的作用下首先合成cDNA，构成RNA:DNA中间体。

HIV是1983年法国巴斯德研究所Montagnier等首先从一淋巴腺综合征(LAS)患

者的淋巴结中分离出一株新的逆转录病毒，称其为淋巴结肿大相关病毒 (lymphadenopathy associated virus, LAV)。1984年初，Gallo 等从 AIDS 患者外周血单个核细胞中分离到相似的逆转录病毒，称之为人类嗜 T 细胞病毒 III 型 (Human T-cell lymphotropic virus type III, HTLV-III)。后经分子病毒学证实 LAV 和 HTLV-III 是同一病毒的不同变种。为此，1986 年国际病毒分类委员会将二者统称为人类免疫缺陷病毒 (HIV)，包括 HIV-1 和 HIV-2 两个型别，两型病毒的核苷序列相差超过 40%。世界上的 AIDS 多由 HIV-1 引起；HIV-2 只在西非呈地域性流行。

一、生物学性状

形态结构 HIV 为直径 100~120nm 大小的球形颗粒。电镜下病毒内部有一致密的圆柱状核心，该核心是由两条相同单正链 RNA 在 5' 端以氢键连接构成的双体结构及包裹其外的衣壳蛋白 (P24) 组成，构成病毒核衣壳。病毒核衣壳外侧包有两层膜结构，内层是内膜蛋白 (P17)，最外层是脂质双层包膜，包膜表面有刺突并含有 gp120 和 gp41 两种特异包膜糖蛋白 (图 16-4)。

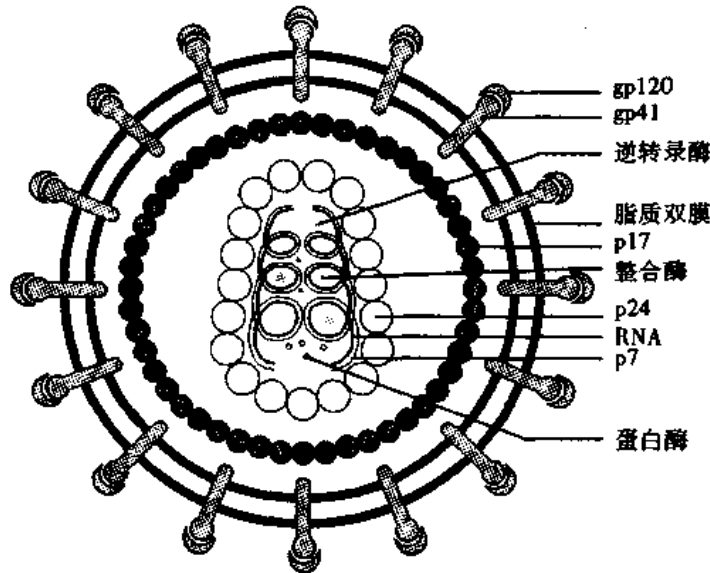


图 16-4 HIV 病毒的模式图

gp120、gp41: 包膜糖蛋白; p17: 内膜蛋白; p24: 衣壳蛋白; p7: 核衣壳蛋白

病毒基因组及功能 HIV 基因组全长约 9 200bp，其 5' 端与 3' 端各有一段相同核苷酸序列，称为长末端重复序列 (long terminal repeat, LTR)。中间含有 gag、pol、env 3 个结构基因及 tat 等 6 个调节基因 (regulator) (图 16-5)。

1. gag 基因 编码前体蛋白 P55。P55 经蛋白酶裂解形成 3 种蛋白 (P24、P17、P15)，P24 是衣壳蛋白、P17 是内膜蛋白，P15 经蛋白酶水解成 P7 和 P9，其中 P7 是核衣壳蛋白。衣壳蛋白 P24 特异性高，与其他逆转录病毒多无交叉抗原性，但 HIV-1 和 HIV-2 有轻度交叉反应。

2. pol 基因 编码逆转录酶 (p66/p51)、整合酶 p32 及蛋白水解酶 p10。逆转录酶

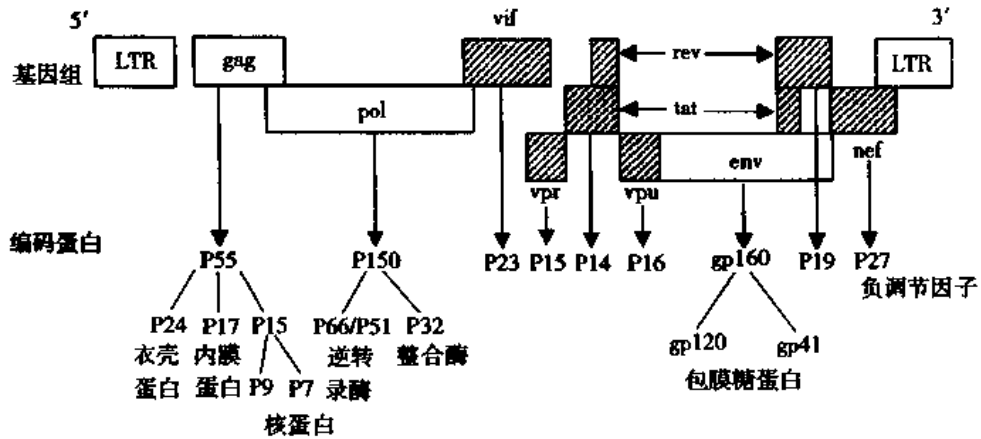


图 16-5 HIV-1 基因组结构及编码病毒蛋白

具有多聚酶和核酸内切酶 (RNase H) 的功能, 与病毒的复制有关。

3. env 基因 编码病毒包膜糖蛋白 (glycoprotein, gp), 包括跨膜糖蛋白 gp41 及包膜表面刺突糖蛋白 gp120。

4. 调节基因 HIV 基因表达的调节机制复杂, 共有 6 个调节基因, 其中 tat、rev 和 nef 三个基因最为重要, 其表达产物对 HIV 表达的正、负调节以及对维持 HIV 在细胞中复制的平衡均具有重要意义。如 tat 基因编码产物 (p14) 是一种反式激活的转录因子, 与 LTR 结合后能促进病毒所有基因的转录, 并能增强病毒 mRNA 的翻译; rev 基因编码产物 (p19) 能增加 gag、pol 和 env 结构蛋白的合成; nef 基因编码负调节蛋白, 对病毒的结构蛋白和调节蛋白的表达均有负调节作用。此外还有 vif、vpu、vpr 调节基因, 其中 vif 基因产物能增强病毒体感染性, 而 vpu 及 vpr 两基因产物能增强病毒的复制。基因组两端的长末端重复序列 (LTR) 包含启动子、增强子和 TATA 序列。

病毒的复制 HIV 的复制过程与其它逆转录病毒相同。首先 HIV 包膜刺突糖蛋白与细胞上的特异受体结合, 然后病毒包膜与细胞膜发生融合。核衣壳进入细胞质内脱壳、释放出 RNA 进行复制。在病毒自身逆转录酶的作用下, 以病毒 RNA 为模板, 经逆转录形成互补的负股 DNA, 构成 RNA: DNA 中间体。中间体中的 RNA 被 RNase H 水解, 再由负股 DNA 复制成双股 DNA。在病毒基因整合酶的作用下, 病毒基因组整合于细胞染色体基因组, 这种整合的病毒 DNA 称为前病毒 (provirus)。当各种因素刺激前病毒活化而进行自身转录时, LTR 有启动和增强转录作用。在宿主细胞 RNA 多聚酶 II 作用下, 病毒 DNA 转录形成 RNA。有些 RNA 经拼接成为 mRNA, 在细胞的核蛋白体上转译成子代病毒的结构蛋白及非结构蛋白; 还有些 RNA 经加帽加尾作为子代基因组 RNA, 在细胞膜处与结构蛋白装配成核衣壳, 并通过宿主细胞膜获得包膜, 构成完整的子代病毒体, 以出芽方式释放到细胞外。

病毒的变异性 HIV 基因组可发生变异, 从而可以分离到生物学性状不完全相同的 HIV 毒株。基因组最易发生变异的是编码包膜糖蛋白的 env 基因和调节基因 nef。根据 env 基因序列的异同可将目前全球流行的 HIV-1 分为 A、B、C、D、E、F、H 和 O

共 8 个亚型，各亚型的分布因地区、流行时间及传播情况不同而异。据估计，HIV 的 env 基因每个位点核苷酸的突变率大约为 1%，与流感病毒变异率相似。

培养特性 HIV 感染宿主范围和细胞范围比较狭窄，仅感染表面有 CD4 分子的细胞。实验室常用正常人 T 细胞或病人自身分离出的 T 细胞经 PHA 刺激后培养 2~4 周分离病毒，也可用成人淋巴细胞白血病患者 T 细胞来分离培养病毒。

抵抗力 HIV 对理化因素抵抗力较弱。56℃ 加热 30min 可被灭活，但在室温下可存活 7 天。经化学消毒剂 0.5% 次氯酸钠、10% 漂白粉、50% 乙醇、35% 异丙醇、0.3% H₂O₂、5% 来苏儿处理 10min 可完全被灭活。

二、致病性与免疫性

传染源和传播途径 AIDS 的传染源是 HIV 携带者及 AIDS 患者。从这些 HIV 感染者的血液、精液、阴道分泌物、唾液、乳汁、脑脊液、脊髓及中枢神经组织等标本中均可分离到病毒。主要传播途径有三种：

1. 性传播 是 HIV 的主要传播方式，因此 AIDS 是重要的性传播疾病 (STD) 之一。流行病学研究表明，该病在美国及西方国家主要以同性恋间性传播为主，非洲及东南亚地区则以异性性行为为主要传播途径。

2. 血液传播 输入带有 HIV 的血液或血液制品，包括器官或骨髓移植、人工授精及使用受 HIV 污染的注射器和针头。中国 AIDS 感染者大多是由静脉注射吸毒引起。

3. 垂直传播 包括经胎盘、产道或经哺乳等方式传播，其中胎儿经胎盘感染最多见。

临床表现及致病机制

1. HIV 感染临床表现 包括原发感染急性期、无症状潜伏期、AIDS 相关综合征及典型 AIDS 四个阶段。

(1) 原发感染急性期：病毒感染机体后开始大量复制，引起病毒血症，此时期从血液、脑脊液及骨髓细胞可分离到病毒，从血清中可查到 HIV 抗原。临床上可出现发热、咽炎、淋巴结肿大、皮肤斑丘疹和粘膜溃疡等症状。持续 1~2 周后 HIV 感染进入无症状潜伏期。

(2) 无症状潜伏期：此期持续时间较长，最长可达 10 年。临床无症状，也有些患者出现无痛性淋巴结肿大。此期患者外周血中一般不能或很少检测到 HIV 抗原，这表明长期无症状的临床过程与病毒持续在体内进行低水平的复制有关。随着感染时间的延长，当 HIV 大量在体内复制并造成机体免疫系统进行性损伤时，则出现临床症状，即为 AIDS 相关综合征 (AIDS-related complex, ARC)。

(3) AIDS 相关综合征：出现发热、盗汗、全身倦怠、慢性腹泻及持续性淋巴结肿大等症状。

(4) 典型 AIDS：主要表现免疫缺陷症的合并感染和恶性肿瘤的发生。由于 AIDS 患者机体免疫力低下，一些对正常机体无致病作用的病原生物常可造成 AIDS 患者的致死性感染，如真菌 (白色念珠菌)、细菌 (分枝杆菌)、病毒 (巨细胞病毒、人类疱疹病

毒-8型、EB病毒)、原虫(卡氏肺孢子虫)等感染症。部分病人可并发肿瘤,如 Kaposi肉瘤、恶性淋巴瘤、肛门癌、宫颈癌等。也有许多患者出现神经系统疾患,如 AIDS 痴呆综合征等。感染病毒 10 年内发展为 AIDS 的约占 50%, AIDS 患者于 5 年内死亡率约占 90%。

2. HIV 致病机制 主要是引起机体的免疫系统损伤。HIV 主要侵害的靶细胞是 CD_4^+ T 细胞。HIV 对这类细胞有高度亲嗜性,是因为这类细胞表面的 CD_4 分子是 HIV 的受体。当 HIV 与靶细胞接触时,病毒体的包膜糖蛋白 gp120 上的 CD_4 结合区与靶细胞 CD_4 分子的 V1 区结合,引起 gp41 分子构象的改变,其疏水性 N 末端伸入靶细胞膜内,导致病毒包膜与细胞膜发生融合而使病毒侵入细胞。最近研究证明,除 CD_4 分子外,细胞表面尚存在一些辅助受体。现已发现的辅助受体有 CXCR4、CCR5、CCR2 和 CCR3 等。其中 CXCR4 和 CCR5 是主要辅助受体。CXCR4 是 HIV 嗜 T 细胞病毒株(T-tropic 株)的辅助受体,SDF1 是 CXCR4 的天然配基,能阻断 T-tropic 病毒株感染 T 淋巴细胞。CCR5 是嗜巨噬细胞病毒株(M-tropic 株)的辅助受体,趋化因子 rantes、MIP-1 α 和 MIP-1 β 等是 CCR5 的配基,能阻断 M-tropic 病毒株感染原代靶细胞。HIV 包膜 gp120 肽链的某些区段,如 V3 环基因的变异可以改变 HIV 的细胞亲嗜性。一般在艾滋病患病的早期,血液中的嗜巨噬细胞性病毒占优势,随着疾病的发展,嗜 T 细胞性病毒逐渐增多,在过渡期或出现双嗜性的病毒,最后以嗜 T 细胞病毒为主,其结果是大量 CD_4^+ T 细胞受病毒感染而遭破坏。

主要表现是以 CD_4^+ T 细胞(Th)减少所致的细胞免疫功能低下;由于 CD_4^+ T 细胞减少而 CD_8^+ T 细胞相对增多导致 CD4/CD8 比例倒置;免疫调节功能紊乱,包括 T 细胞对抗原的反应性、巨噬细胞的活化、Th 细胞对 CTL 细胞、NK 细胞及 B 细胞的诱导功能均低下等。

(1) HIV 对 CD_4^+ T 细胞的损害: HIV 损伤 CD_4^+ T 细胞的机制很复杂,主要是通过病毒的直接致细胞病变作用及免疫病理机制所致。①受感染细胞表面的 HIV 包膜糖蛋白 gp120 与周围非感染细胞膜表面 CD_4 分子相互结合,导致细胞融合,形成多核巨细胞,引起细胞死亡,使 T 细胞减少。②病毒增殖时细胞染色体外的病毒 DNA,对细胞正常生物合成产生干扰作用以及 HIV 膜蛋白通过改变细胞膜的完整性和通透性,导致细胞损伤和死亡。③HIV 感染能诱导细胞凋亡亦是使 CD_4^+ 细胞受损的机制之一。细胞凋亡的出现主要与病毒蛋白(如 tat)的直接诱导凋亡作用、gp120 能与 CD_4 分子结合、抗原呈递细胞受损及超抗原增强病毒复制等作用有关。④受病毒感染细胞膜上有 HIV 糖蛋白抗原,可激活细胞毒性 T 细胞(CTL)的直接杀伤作用,也可与特异性抗体结合后,通过 ADCC 作用致使细胞破坏。⑤自身免疫的产生致使 T 细胞损伤。当 HIV 编码病毒抗原决定簇基因(如 gp41)与细胞膜上 MHC II 类分子基因有同源时,就会诱导产生能与细胞发生交叉反应的自身抗体,结果导致 T 细胞破坏,大量 T 细胞或 CD_4^+ T 细胞减少。

(2) 对其他免疫细胞及神经细胞的损害: 现在研究表明, HIV 具有多嗜性,除感染 CD_4^+ T 细胞外,还能感染其他表面有少量 CD_4 分子表达的细胞,如单核-巨噬细胞、树突状细胞、神经胶质细胞(主要为小胶质细胞)、皮肤的朗格汉斯细胞、肺泡巨

噬细胞、肝的枯否细胞及肠道粘膜的杯状、柱状上皮细胞和嗜铬细胞等。病毒在这些细胞内增殖的量比 CD_4^+ T 细胞明显少，引起病变亦不明显，但仍可影响这些细胞的正常免疫及其他功能。HIV 可随这些细胞特别是单核 - 巨噬细胞播散到全身，常造成患者出现中枢神经系统疾患，如 HIV 脑病、脊髓病变、AIDS 痴呆综合征，以及胃肠道和其他肺、肾、心脑、泌尿生殖器等器官的疾患。

机体对 HIV 感染的免疫应答 机体在 HIV 原发感染后，一般 1~3 个月即可检出 HIV 抗体，包括抗 gp120 的中和抗体。中和抗体具有一定的保护作用，仅能减少急性期血清中的病毒抗原量，但不能彻底清除体内的病毒，感染细胞内的病毒主要依靠机体的细胞免疫反应，包括细胞毒性 T 细胞 (CTL) 和 NK 细胞反应，也包括 HIV gp120、gp41 在内的抗体介导的 ADCC 作用。特别是特异性 CTL 对杀伤 HIV 感染细胞及阻止病毒扩散有重要作用，但 CTL 依然不能清除 HIV 潜伏感染的细胞。其主要原因是 HIV 能通过改变 CTL 识别的表面抗原决定簇、诱导细胞毒 CD_8^+ 细胞的无反应性、改变病毒肽结构而使抗原决定簇被掩盖或通过降低细胞 MHC 的表达可逃避 CTL 的杀伤作用，致使 HIV 不能彻底被机体清除，一经感染便终生携带病毒。

三、微生物学检查法

检测抗体 一般 HIV 感染 2~3 个月 (或更长) 后均可检出 HIV 抗体，因此检测抗体对筛查 (如供血者) 和确认感染非常重要。最近我国规定，对供血者筛查时必须同时检查 HIV-1 和 HIV-2 两个型别的抗体。检测 HIV 抗体常用的方法有 ELISA、RIA、IFA 及 Western blot (WB) 等。

ELISA 与 RIA 法所用抗原是从 HIV 感染细胞提取获得的，IFA 是用感染细胞涂片作抗原检测抗体。这些方法具有敏感性好，应用方便等特点，尤其是 ELISA 法，目前被普遍应用于初筛。但由于 HIV 的病毒抗原与其他逆转录病毒 (HTLV) 有交叉反应，易造成假阳性结果，因此 ELISA 试验仅用于筛查 HIV 抗体，阳性者必须进行确认试验。我国现已有比较成熟的 ELISA 试剂盒供筛查使用。

确认试验常用特异性高的 WB 试验及 RIP 试验。WB 是先通过 SDS-PAGE 电泳将 HIV 的各种蛋白进行分离，再转移于硝酸纤维素膜上形成多种抗原带，再与待检血清反应，此法可检出针对 HIV 不同结构蛋白的抗体。RIP 是用核素标记 HIV 抗原进行免疫沉淀反应来测定 HIV 抗体。

检测 HIV 病毒及其组分

1. 病毒分离鉴定 大约需 4~6 周。首先分离正常人淋巴细胞 (或用传代 T 细胞株 H9、CEM)，用 PHA 刺激并培养 3~4 天后，用于接种患者的血液单个核细胞、骨髓细胞、血浆或脑脊液等标本。经定期换液、补加 PHA 处理的正常人淋巴细胞，培养 2~4 周后，如出现不同程度病变，尤其见到多核巨细胞，则说明有病毒增殖。用 IFA 法检测培养细胞中 HIV 抗原 P24，或用生化反应检测培养液中逆转录酶活性，也可用电镜检测 HIV 颗粒来进行鉴定。

2. 检测病毒蛋白抗原 常用 ELISA 法检测细胞中 HIV 的衣壳蛋白 P24。此抗原通常出现于病毒感染的急性期，潜伏期常为阴性，但典型 AIDS 期又可重新被检

出。

3. 检测核酸 应用核酸杂交法检测细胞中前病毒 DNA, 可确定细胞中 HIV 潜伏感染情况; 应用 PCR 法检测 HIV 的前病毒 DNA, 或用 RT-PCR 法定量检测血浆等标本中病毒 RNA。定量检测方法常用于监测 HIV 感染者病情发展及评价药效的指标。

四、防治原则

AIDS 是一种全球性疾病, 蔓延速度快、死亡率高, 又无特效治疗方法, 已引起全世界的关注。为此, WHO 和包括我国在内的许多国家都制定了预防和控制 HIV 感染的措施, 包括: ①建立 HIV 感染的监测网络, 控制疾病的流行蔓延; ②开展广泛宣传教育, 普及预防知识, 认识 AIDS 的传染方式及其严重危害性。取缔娼妓, 抵制和打击吸毒行为; ③对供血者进行 HIV 抗体检查, 禁止进口血液制品, 确保输血和血液制品的安全; ④加强国境检疫, 对国外旅游者、外事使馆人员及劳务回国人员等要进行 HIV 抗体检测。

在特异性预防方面, 近年来一直在研制 HIV 疫苗, 但到目前为止仍缺乏理想的疫苗。由于难以保证疫苗的安全, 制备传统的 HIV 减毒活疫苗、灭活疫苗虽在动物实验中证实其免疫性和保护作用, 但不宜于人体的应用。因此, 目前国内外致力于研究基因重组疫苗, 现已进入临床 I、II 期试验的主要有:

1. 基因工程亚单位疫苗 通过基因工程手段将 HIV 包膜糖蛋白 gp120、gp160 在酵母、杆状病毒系统或哺乳动物细胞中进行表达, 将表达纯化的包膜蛋白制成疫苗。将其免疫人或动物后可诱导产生特异性中和抗体, 并能激活特异性细胞免疫反应, 还可以保护黑猩猩抵抗一定剂量 HIV 的攻击, 证明疫苗有保护作用。

2. 重组活病毒载体疫苗 多用痘苗病毒、金丝雀痘病毒等活病毒做载体与 HIV 基因 (如 gp120、gp160) 重组, 构建成重组活病毒载体疫苗。动物实验及志愿者人体试验证明, 该类疫苗可诱导特异性中和抗体的产生和 T 细胞免疫应答。

此外, 包膜蛋白病毒样颗粒 (virus-like particles, VLP)、人工合成寡肽疫苗、DNA 疫苗及抗独特型中和抗体等类型疫苗也在研究中。

AIDS 的治疗。目前主要用于临床的药物有三类: ①核苷类逆转录酶抑制剂, 如叠氮胸苷 (Azidothymidine, AZT)、2',3'-双脱氧肌苷 (2',3'-dideoxyinosine, DDI) 与 2',3'-双脱氧胞苷 (2',3'-dideoxycytidine, DDC) 和拉米夫定等, 这些药物能干扰病毒 DNA 合成, 抑制病毒在体内的增殖; ②非核苷类逆转录酶抑制剂, 如德拉维拉丁 (delaviradine) 和耐维拉平 (nevirapine), 这类药物也是抑制病毒 DNA 合成; ③蛋白酶抑制剂; 如赛科纳瓦 (saquinavir)、瑞托纳瓦 (ritonavir)、英迪纳瓦 (indinavir) 和耐非纳瓦 (nelfinavir) 等, 其作用机制是抑制 HIV 蛋白水解酶, 使大分子聚合蛋白不被裂解而影响病毒的成熟和释放。现在临床上常使用联合治疗方法 (俗称鸡尾酒疗法), 包括使用两种以上逆转录酶抑制剂和蛋白酶抑制剂, 比使用单药治疗效果好。

(谷鸿喜)

第六节 单纯疱疹病毒

单纯疱疹病毒 (Herpes simplex virus, HSV) 属疱疹病毒科 (Herpesviridae)。疱疹病毒科包括一大类有许多共同特征的有包膜的 DNA 病毒。能感染多种动物和人。与人类感染有关的疱疹病毒称为人类疱疹病毒 (Human herpes virus, HHV)。目前已被研究的人类疱疹病毒有 8 种, 其种类及其所致疾病见表 16-2。

表 16-2 人类疱疹病毒种类及其所致的主要疾病

病 毒	所致主要疾病
HSV-1(HHV-1)	咽炎、唇疱疹、角膜结膜炎、疱疹性脑炎
HSV-2(HHV-2)	生殖器疱疹、新生儿疱疹、宫颈癌(?)
VZV(HHV-3)	水痘、带状疱疹
EBV(HHV-4)	传染性单核细胞增多症、鼻咽癌(?)、Burkitt 淋巴瘤(?)、B 淋巴细胞瘤、T 淋巴细胞瘤
CMV(HHV-5)	巨细胞包涵体病、输血后单核细胞增多症、先天性畸形、肝炎、间质性肺炎、视网膜炎
HHV-6	幼儿急疹、幼儿急性发热症、间质性肺炎
HHV-7	未确定
HHV-8	卡波济肉瘤(Kaposi 肉瘤)(?)

疱疹病毒现已发现 110 种以上, 根据生物学特性分为 α 、 β 、 γ 三个疱疹病毒亚科。 α -疱疹病毒如 HSV、VZV (Varicella-Zoster virus), 能迅速增殖, 引起细胞病变, 可在感觉神经节内建立潜伏感染; β -疱疹病毒, 如巨细胞病毒 (Cytomegalovirus, CMV), 主要特点是感染宿主范围窄, 增殖缓慢, 并能引起感染细胞形成巨细胞, 在单核巨噬细胞系统内建立潜伏感染; γ -疱疹病毒 (如 EB 病毒), 感染范围窄, 主要感染 B 细胞, 病毒可在细胞内长期潜伏。

HHV 共性:

1. 病毒颗粒呈球形, 核心由双股线形 DNA 组成, 蛋白衣壳为 20 面体立体对称, 由 162 个壳粒组成, 核心和衣壳构成核衣壳。核衣壳外有一层脂蛋白包膜, 其表面有糖蛋白组成的刺突。有包膜的成熟病毒体直径为 120nm ~ 300nm。

2. 除 EBV、HHV-6 和 HHV-7 外, 均能在 2 倍体细胞内复制, 产生明显的 CPE, 并在核内有嗜酸性包涵体。感染细胞与邻近未感染细胞融合, 形成多核巨细胞。

3. 病毒感染宿主细胞可引起多种类型感染: ①显性感染: 病毒大量增殖并引起细胞破坏, 出现临床症状; ②潜伏性感染: 病毒不增殖, 也不破坏细胞, 与宿主细胞处于暂时平衡状态。病毒 DNA 持续存在于细胞核内, 一旦病毒被激活, 可转为显性感染; ③整合感染: 病毒基因组的一部分整合于宿主细胞的 DNA 中, 导致细胞转化。这种作用与某些疱疹病毒的致癌机制有密切关系; ④先天性感染: 病毒经胎盘感染胎儿, 可引起先天畸形。

单纯疱疹病毒 (HSV) 是疱疹病毒的典型代表, 由于在感染急性期发生水疱性皮

疹即所谓单纯疱疹 (herpes simplex) 而得名。

一、生物学性状

HSV 具有典型的疱疹病毒的形态和结构 (图 16-6)。其基因组由两个互相连接的

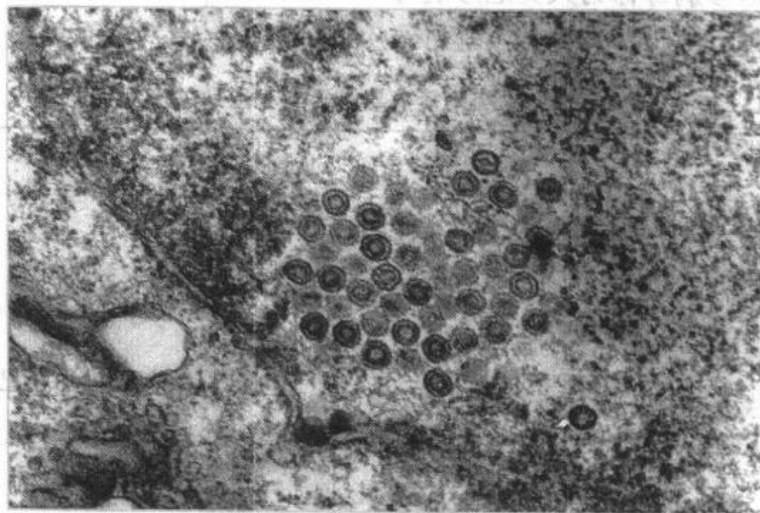


图 16-6 单纯疱疹病毒电镜照片 ($\times 75\,000$ 程志提供)

长片段 (L) 和短片段 (S) 双股线状 DNA 组成。L 和 S 片段两端均有一小段反向重复序列, 而且两片段又可以正向或反向方式互相连接, 因此 HSV 基因组可形成 4 种类型。

HSV 有两种血清型, 即 HSV-1 和 HSV-2。两型病毒的 DNA 有 50% 同源性; 两型间有共同抗原, 也有型的特异性抗原。研究表明, HSV 包膜表面糖蛋白至少有 10 种, 分别是 gB、gC、gD、gE、gG、gH、gI、gJ、gL、gM。其中 gB、gD 与病毒感染的吸附及穿入有关, gH 与病毒的释放有关。GD 是 HSV-1 和 HSV-2 的共同抗原决定簇, 诱导机体产生中和抗体的能力最强, 是研制亚单位疫苗的最佳选择。HSV-1 和 HSV-2 除用血清学方法分型外, 还可根据细胞选择性试验、溴乙烷脱氧尿苷 (BV-DU) 抗性实验及病毒核酸的限制性内切酶酶切图谱等进行分型。

HSV 能在多种细胞中增殖, 常用原代兔肾、人胚肺、人胚肾细胞或地鼠肾等传代细胞分离培养病毒。病毒感染细胞后, CPE 进展迅速, 表现为细胞肿胀、变圆, 并在核内出现嗜酸性包涵体。

HSV 对动物的感染范围相当广泛。常用的实验动物有家兔、豚鼠、小鼠等。由于接种途径不同, 感染的结果也不一样, 如脑内接种引起疱疹性脑炎; 角膜接种引起疱疹性角膜炎。

二、致病性与免疫性

HSV 在人群中感染非常普遍。患者和健康带毒者是传染源。HSV-1 主要感染人的口腔、皮肤粘膜、眼粘膜及中枢神经系统, 其传播途径主要是直接或间接接触传播。HSV-2 主要侵犯生殖器及生殖道粘膜, 其主要传播途径是经性接触。人感染 HSV 后

大多无明显症状，最常见的临床症状是粘膜或皮肤局部出现疱疹（herpes），偶尔也可产生严重甚至可致死的全身性感染。HSV 的感染类型可表现原发感染、潜伏感染及先天性感染。

1. 原发感染 HSV-1 的原发感染多发生于 6 个月~2 岁的婴幼儿，主要因为此期婴幼儿的免疫力弱，从母体获得的抗体多数已消失。约 90% 是隐性感染。HSV-1 最常引起龈口炎，在牙龈、咽颊部粘膜形成群疱疹、疱疹破裂后形成溃疡。此外，还可引起疱疹性角结膜炎、皮肤疱疹性湿疹或疱疹性脑炎。

HSV-2 原发感染多发生于性交后，主要引起生殖器疱疹（genital herpes）。在女性主要感染部位是阴唇、阴道、宫颈，男性主要侵犯外生殖器。原发性生殖器疱疹约 80% 由 HSV-2 引起，少数由 HSV-1 引起。

2. 潜伏感染及再发感染 HSV 原发感染后，机体很快产生特异性免疫力，能将大部分病毒清除而康复。但有少数病毒可长期潜伏在神经节中的神经细胞内，不表现临床症状，与机体处于相对平衡状态。研究证实，HSV-1 的潜伏场所是三叉神经节和颈上神经节，而 HSV-2 潜伏于骶神经节。当机体受到各种非特异性刺激，如发热、寒冷、日晒、月经、情绪紧张，或某些细菌、病毒感染，或使用肾上腺皮质激素等，潜伏的病毒被激活则转为增殖性感染。增殖的病毒沿感觉神经纤维轴索下行到末梢支配的上皮细胞内继续增殖，引起复发性局部疱疹。HSV 再发感染往往是在同一部位。

HSV 在原发感染后 1 周左右，血中出现中和抗体，3~4 周达高峰，可持续多年。这些抗体对消除游离病毒、阻止病毒在体内扩散有重要作用，但对潜伏在神经节细胞内的病毒却无中和作用。长期使用免疫抑制剂或细胞免疫缺陷的患者，局部或全身性 HSV 感染均可加重，表明机体在抗 HSV 感染的免疫中，细胞免疫较体液免疫起更重要作用。

3. 先天性感染及新生儿感染 妊娠妇女因原发感染或潜伏感染的 HSV 被激活，病毒可经胎盘感染胎儿，引起流产、早产、死胎或先天性畸形。孕妇患有生殖器疱疹时，母婴传播的危险性最大，分娩时可传给新生儿，发生新生儿疱疹。新生儿疱疹常位于暴露部位，如头皮，严重时累及内脏，可发生肺炎、脑炎、肝衰竭等，死亡率高达 50% 以上。

三、实验室诊断

病毒的分离与鉴定 采集标本，包括水疱液、脑脊液、唾液、角膜拭子、阴道拭子等。将标本接种于人羊膜、人胚肾或兔肾细胞等易感细胞进行分离病毒。病毒增殖很快，一般于 2~3 天后即可出现 CPE，其病变特点是细胞肿胀、变圆，细胞融合形成多核巨细胞等，据此可初步判定。再用 NT 试验、DNA 酶切电泳分析及 HSV-1 和 HSV-2 的单克隆抗体免疫荧光试验，进一步进行型别鉴定及分析。

快速诊断 HSV 感染的早期诊断对及时治疗有很大意义，特别是对疱疹性脑炎和疱疹性角膜炎患者尤为重要。

1. 电镜检查 用电镜直接检查水疱液及组织标本中的 HSV 病毒颗粒，有典型的疱

疹病毒形态。

2. 查 HSV 抗原 用免疫荧光技术、免疫酶技术等检查疱疹病损基底部细胞或脑组织活检细胞内的 HSV 特异性抗原。

3. 检查核酸 用核酸杂交或 PCR 方法检测标本中 HSV DNA 进行诊断。用 HSV-1、HSV-2 型特异性探针或引物以及 DNA 内切酶酶切图谱分析等进行型别鉴定。

血清学诊断：用于 HSV 血清学诊断的试验有 IFA、NT 试验、CF 试验及 ELISA 等。在原发感染 HSV 后，抗体滴度不断升高时，可采用 CF 试验来诊断。由于 CF 抗体在体内持续时间长，故不宜作为临床诊断，主要用于流行病学调查以了解 HSV 在人群中的感染率。IFA 和 ELISA 法的敏感性比较高。

防治原则 目前对 HSV 感染尚无特异性的预防方法。避免同患者接触可减少感染机会。关于疫苗，因 HSV 与宫颈癌等发生可能有关，故一般不主张使用活疫苗或含 HSV DNA 的疫苗。目前正在研究 HSV 包膜糖蛋白亚单位疫苗。如孕妇产道患有 HSV-2 感染，可进行剖宫产以避免新生儿感染。

在治疗方面，5-碘脱氧尿嘧啶核苷（疱疹净）、阿糖腺苷（Ara-A）等对疱疹性角膜炎有较好的疗效。近年发现无环鸟苷（acyclovir, ACV）及其衍生物脱氧鸟苷（Valacyclovir, VACV）对 HSV 的复制有抑制作用，能缩短病程、减轻病症，且毒性较低，临床上已用于治疗口唇疱疹、疱疹性脑炎、生殖器疱疹等，但仍不能彻底防止潜伏感染的再发。用 IFN 对疱疹性角膜炎也有疗效，如与上述化学药物合用其疗效更显著。

（谷鸿喜）

第七节 人乳头瘤病毒

人乳头瘤病毒（Human papillomavirus, HPV）属于乳多空病毒科（Papovaviridae）。这是一类无包膜小 DNA 病毒，包括乳头瘤病毒属和多瘤病毒属。其命名取自乳头瘤病毒（papilloma virus）、多瘤病毒（polyoma virus）和猴空泡因子（simian vacuolating agent）3 种病毒。乳头瘤病毒属有 7 种属特异性，包括多种动物乳头瘤病毒和人乳头瘤病毒。HPV 主要侵犯人的皮肤粘膜，引起瘤或疣，有些型别可引起组织癌变。由于 HPV 生殖器感染主要是由性接触传播，故 HPV 也是性传播疾病（STD）的病原体之一。

一、生物学性状

形态结构 HPV 形状呈球形，直径为 52~55nm，20 面体立体对称，无包膜。病毒衣壳由 72 个壳微粒组成。病毒的基因组分子量约为 5×10^6 ，是 7.9kb 的双股环状 DNA，由 3 个基因区组成，即早期区（E 区）、晚期区（L 区）和非编码的上游调节区（URR，又称长控区 LCR）。早期区含有 7 个开放读码框（ $E_1 \sim E_7$ ），编码早期蛋白（ $E_1 \sim E_7$ ），其中 E_1 、 E_2 基因与病毒复制、转录调控有关，编码的 E_1 、 E_2 蛋白对病毒复制

具有反式激活作用和调节作用；E₅、E₆、E₇基因与细胞转化有关，编码的 E₃蛋白可影响细胞膜受体的功能，E₆、E₇蛋白可使细胞发生永生。晚期区编码结构蛋白，包括主要衣壳蛋白 L₁和次要衣壳蛋白 L₂。L₁蛋白是构成病毒衣壳的主要成分，L₂可能与病毒 DNA 的携带有关。

分型 应用基因克隆和分子杂交方法来确定 HPV 的型别。基因序列同源性小于 50% 的确定为型，至目前为止已发现 HPV 有 100 多个型别。同源性大于 50% 而限制性内切酶片段不同的称为亚型。

组织亲嗜性 HPV 具有宿主和组织特异性，对人的皮肤和粘膜上皮细胞有高度的亲嗜性，在易感细胞核内增殖形成嗜酸性包涵体。在人皮肤疣的上皮细胞层进行原位杂交发现，HPV 的复制增殖与上皮细胞的分化阶段相关。上皮细胞分化过程分为基底细胞层→棘细胞层→颗粒细胞层→角质层。在基底层细胞内只能检测到很少拷贝的 HPV DNA，说明病毒处于静息状态。HPV DNA 早期基因在棘细胞层开始表达，而晚期基因的表达则在颗粒细胞层的核内进行，因此，增殖的 HPV 病毒仅在感染的上层细胞核内检测到。病毒复制能诱导上皮细胞增殖、表皮变厚，并伴有棘层细胞增生和表皮角化而形成皮肤乳头状瘤，亦称为疣。

二、致病性与免疫性

人类是 HPV 的唯一自然宿主。HPV 主要通过直接接触传播，也可经共用毛巾、洗澡、游泳等间接接触传播。生殖器感染主要由性接触传播，新生儿可在通过产道时被病毒感染。病毒感染仅停留于局部皮肤和粘膜中，引起病变而形成各种疣，但不产生病毒血症。

所致疾病 不同型的 HPV 侵犯部位及所致疾病也不相同（表 16-3）。

表 16-3 HPV 型别与人类疾病的关系

相 关 疾 病	HPV 型 别
皮肤	
跖疣	1,4
寻常疣	1,2,4,27,29,54
扁平疣	3,10,28,41
瘊夫寻常疣	7,40
疣状表皮增生性异常	5,8,9,12,14,15,17,19~25,36~38,46,47,49,37
粘膜	
尖锐湿疣、喉乳头瘤、 口腔乳头瘤	6,11,1,2
宫颈上皮内瘤及宫颈癌：	
密切相关	16,18
中度相关	31,33,35,45,51,52,56,58

如 1、2、3、4 型主要感染皮肤，引起手、足上皮细胞增生、角化过度的跖疣；3、10 型侵犯真皮层，常引起青少年、儿童面部的扁平疣；7 型主要引起肉类加工人员的皮肤疣，亦称屠夫疣；HPV6、11 等型对粘膜上皮细胞有亲嗜性，常感染泌尿 - 生殖道和口腔粘膜，引起尖锐湿疣和口腔及喉的乳头状瘤等。尖锐湿疣主要侵犯女性外阴、阴道和宫颈，男性阴茎、肛周及肛门等部位，故亦称生殖器疣或性病疣，经性交传播，是较常见的性传播疾病 (STD)。病损部位形成突出于粘膜表面、粗糙的疣，有蒂柄连接，多个疣常可聚集成群、发生融合。尖锐湿疣可以发生癌变，据统计 15% 的阴茎癌既往患过尖锐湿疣。

HPV 与宫颈癌关系 近年研究表明，HPV16、18、31、33、45、58 等型别，特别是 HPV16 病毒感染与宫颈癌的发生密切相关。据分子流行病学调查，90% 宫颈癌可检出 HPV DNA，其中 HPV16 DNA 检出率达 40% ~ 60%，为此这些型别亦称为高危型 HPV。HPV 致病特点是所引起疾病的性质与病毒在细胞内存在的方式有关。在 HPV 相关良性病变 (疣) 中，发现病毒多以游离状态存在；在宫颈癌组织中，HPV DNA 多以整合状态存在，为此，HPV 与宿主细胞基因整合是肿瘤发生的前提。当 HPV DNA 插入到细胞的某些原癌基因 (如 *ras* 或 *C-myc*) 时，则会使这些癌基因激活与表达，导致正常细胞恶变而发生肿瘤。HPV 诱发宫颈癌的机制主要与早期基因及表达产物的转化作用有关。E₁、E₂ 基因产物通过加强病毒 DNA 复制和转录起间接致癌作用，其中 E₁ 蛋白起到 DNA 解旋酶的作用，E₂ 可启动、增强或抑制 HPV 早期启动子的表达。E₅、E₆、E₇ 主要分布于细胞核或胞浆中，其过量表达可使细胞表型改变，具有直接致癌作用。E₅ 分布于细胞膜，影响膜受体的功能；E₆、E₇ 使细胞发生永生性。正常细胞内有抑癌基因存在，其表达产物具有抑制细胞生长、促进细胞分化的作用。E₆ 蛋白可与 P53 抑癌基因产物 P53 蛋白结合，E₇ 蛋白可与 Rb 抑癌基因产物 Rb 蛋白结合，结合后 P53、Rb 两抑癌蛋白失活，结果失去对细胞的抑制作用而使细胞向永生性发展，导致细胞发生恶性转变。

人或动物感染 HPV 可产生特异性抗体，但该抗体没有保护作用。人们用 HPV L1 基因表达蛋白产物，特别是 VLP 或由载体 - L1 基因组成的核酸疫苗进行动物接种均可诱发出特异性免疫应答。

三、微生物学检查

临床上典型乳头瘤或疣比较容易诊断，但亚临床或宫颈癌普查及研究 HPV 感染情况时必须通过组织学、电镜、免疫学及核酸的检测等方法来鉴定。

1. 组织学检查 采用活检、刮片、拭子或宫颈阴道冲洗液收集脱落细胞，进行涂片、H-E 染色后镜检。皮肤、粘膜表层过度角化崩解、基底层肥大以及凹空细胞生成等组织学改变，对 HPV 感染有诊断价值。

2. 电镜检查 活检组织经包埋、超薄切片后进行透射电镜观察。主要观察鳞状上皮增生性改变、凹空细胞形态学特征及核内 HPV 病毒颗粒的聚集情况。如用免疫电镜检查 HPV 病毒颗粒可提高检出率。

3. 免疫学检查 采用免疫组化法检测病变组织中的 HPV 抗原。可用于研究病毒在细胞中的定位，但不能用于分型。

4. 核酸检测 采用核酸杂交或 PCR 法, 对 HPV 感染进行早期诊断及型别鉴定。核酸杂交常用原位杂交、斑点杂交及 southern 杂交。PCR 法不但可检测新鲜标本, 还可用于石蜡切片中 HPV DNA 的检测进行回顾性研究。核酸检测法敏感性、特异性高, 对 HPV 可以进行分型, 是目前应用最广的方法。

5. 血清学诊断 由于不能获得天然病毒抗原, 使 HPV 感染血清学诊断的发展受到限制。最近已有试用基因工程表达的 L1 和 L2 晚期蛋白, 或用病毒样颗粒 (VLP) 检测患者血清中型特异性 HPV 抗体进行血清学诊断。

四、防治原则

生殖器疣是常见的性传播疾病之一。加强性安全教育、严格社会管理, 对控制 HPV 感染、减少生殖器疣及宫颈癌发生有重要意义。

目前尚无有效的预防性疫苗, 但国内外众多研究者正致力于研制 HPV 基因工程疫苗。经动物实验证明, 比较有前途的疫苗是: ①表达 HPV L1 和 L2 蛋白的基因工程亚单位疫苗, 包括 L1 和 L2 在真核表达系统中产生的 VLP; ②HPV 重组质粒 DNA 疫苗; ③与痘苗病毒重组的活载体疫苗。这些疫苗不仅可诱导动物产生保护性抗体及局部粘膜免疫, 也可激活 CTL 反应和细胞免疫反应, 并对 HPV 的再次攻击有防御作用。但在临床应用前仍有许多问题亟待解决, 如免疫效果的评价、安全性等。

对疣主要采用局部治疗方法: ①局部涂药, 如 5% 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 或 25% 竹叶脂液; ②用激光、冷冻、电灼或手术等方法除去疣体; ③局部注射干扰素。这些方法可将局部病灶去除, 但不能根除周围正常组织中的病毒, 因此常有复发。对复发者可连续治疗或综合治疗。

(谷鸿喜)

展 望

淋病奈瑟菌 淋病虽然是一种古老的性病, 但还需要继续探索有关淋病奈瑟菌的快速分离培养和鉴定方法。淋病奈瑟菌的多重耐药性问题日益突出, 有关耐药的机制以及解除耐药措施的研究还应加强, 使 PPNG 和 TRNG 株回复成青霉素、四环素敏感菌株, 再作治疗。还应对淋病奈瑟菌的结构、致病机制、与宿主细胞的相互作用以及免疫应答的机制进行研究。1991 年德国 Bihlmaier 等完成了淋病奈瑟菌参考菌株 MS11 的全基因组物理图谱, 据此推测其基因组 Mr 为 2.33mb ± 35kb。同年美国 Dempsey 等构建出另一参考菌株 FA1 090 的全基因组物理图谱, 推测其基因组 Mr 为 2.2mb。淋病奈瑟菌 FA1 090 株的全基因组测序已完成, 现正进入基因注册和绘制全基因组序列图谱的阶段, 这有利于进一步研究编码与细菌粘附、侵入和抗宿主免疫相关的毒力基因, 深入探索致病机制, 并利用 LOS 等抗原成分研制有效疫苗。

沙眼衣原体 沙眼衣原体最初被发现主要与眼部感染疾患有关, 如沙眼、包涵体结膜炎及其后遗症引起的致盲。近 20 年来发现由沙眼衣原体引起的泌尿生殖道感染发病率高, 若感染者得不到治疗, 将导致严重的并发症或不可逆转的病损。人们的注意力已

转移到与 CGI 相关的疾病及其持续性感染。大量无症状或症状较轻微者的存在,使得筛查沙眼衣原体的必要性更为迫切。目前要重点解决沙眼衣原体的诊断技术问题,由于沙眼衣原体严格细胞内寄生、难培养、型别多、相关的检测技术发展缓慢,这就制约了对沙眼衣原体的检测和疫苗研制的进程。如何建立敏感性高、特异性强、操作简便快速的检测技术是迫切需要解决的难题。采用 LCR 等基因诊断方法对尿液标本进行检测,对待检者无创伤、无痛苦,适用于各类发病人群的检测。LCR 的敏感性和特异性优于沙眼衣原体培养法和直接免疫荧光法,但技术要求条件高,不易普及。采用尿液标本代替侵袭性的尿道拭子或宫颈拭子进行沙眼衣原体检测,是值得推崇的方法,但还需要改进,提高检测的灵敏度和特异性。Betsou F 等采用重组的沙眼衣原体热休克蛋白-10 (Chsp-10) 作为抗原,通过 ELISA 法对收集自俄罗斯和法国人群的血清标本进行分析,发现衣原体感染阳性的个体,其体内抗 Chsp-10 IgG 抗体的升高与生殖道慢性感染及异位妊娠相关,故认为抗 Chsp-10 IgG 抗体的升高可作为沙眼衣原体慢性感染的一项检测指标。这有待于进一步追踪和评价。

解脲脲原体 解脲脲原体主要的表面抗原 MB (multiple-banded), 是暴露于解脲脲原体细胞表面的膜蛋白,是宿主细胞识别的主要抗原,是支原体与细胞发生作用的关键中介,以往认为与致病性有关,但无法解释解脲脲原体常存在于无症状的个体中。近年研究发现: MB 抗原存在大小差异, MB 的遗传变异是解脲脲原体的致病因素。编码 MB 抗原的基因长 1 200 多个碱基, N 端固定于膜上, C 端暴露于微生物周围的微环境中。N 端变异株间大小一致, C 端不同变异株重复序列的数目不等。是研究其发病机制和免疫机制的基础。最近,在 Genbank 中的搜索发现,解脲脲原体 MB 抗原与肺表面活性物质、唾液腺管、输精管上皮、HSV 胶原样蛋白、IgA Fc 受体、DNA 结合蛋白之间具有不同程度的同源性,这是否可以解释部分疾病的发生还有待进一步的研究。

抗支原体药物及耐药性 支原体对作用于细胞壁生物合成的抗生素类药物完全不敏感;对多粘菌素、磺胺药物普遍耐药。最有抑制活性及常用于支原体治疗的抗生素是四环素类、大环内酯类及氟喹诺酮;其他抗生素如氨基糖苷类、氯霉素抑制作用较小。此外抗肿瘤抗生素如丝裂霉素 C 和放线菌素 D 也有抑制作用。特别需要指出的,治疗支原体感染有效的抗生素仅仅是抑菌作用而不是杀菌作用,因为抗生素很难根除细胞培养中支原体污染。不能彻底治疗支原体的感染,这在免疫缺陷病人和没有免疫系统的寄主(如植物)中最为明显。

梅毒螺旋体 近年来,全球的梅毒发病率均有不同程度的上升,我国也有逐年增长的趋势,但由于梅毒螺旋体的体外培养至今尚未成功,因此使 TP 的基础研究、实验室诊断及疫苗研究等均受到很大影响。随着分子生物学技术的发展,有关 TP 结构蛋白的研究从分子生物学水平有很大进展,这对深入了解各种成分的功能、发病机制以及提高梅毒诊断及疫苗开发等都有很大的实际意义。

现已发现 TP 的膜抗原 22 种,包括外膜抗原和胞浆膜抗原。其中较为重要的是:

1. 47kD 蛋白 是 TP 外膜蛋白中含量最高的成分之一,是 Tpp47 基因编码的产物,也称 TpN47 抗原,具有高度的免疫原性,接种家兔可使其产生抗 47kD 抗体,包括 IgM 和 IgG,但此抗体与其它密螺旋体亚种有交叉反应。

2. TmpA、TmpB 和 TmpC 编码的蛋白 TmpA、TmpB 和 TmpC 三个基因, 分别编码 TpN44.5 (a) 蛋白 (亦称 42kD 膜蛋白)、TpN36 蛋白和 TpN35 外膜蛋白, 经实验证实用三种蛋白免疫动物, 虽然都能产生相应抗体, 但只有 TmpB 对动物再感染有抵抗作用, 因此 TmpB 可作为疫苗的候选基因。

3. TpD 编码的蛋白是 TpN29 - 35, 又称特异性内膜蛋白。

4. 17kD 脂蛋白、15kD 脂蛋白分别由 TpN17 和 TpN15 基因编码, 其中 15kD 脂蛋白是主要免疫原, 能引起实验动物较强烈的体液免疫和细胞免疫并能抵抗 TP 的再感染。

5. 4D 抗原 是 TpN19 基因编码的抗原, 又称 TpF, 是细胞膜特异性脂多糖抗原, 分布于菌体表面。4D 抗原具有耐热、耐碱特性, 95℃ 10min 或 pH < 9.5 的条件下不变性。

现已发现有 38 种与内鞭毛相关的蛋白, 主要有 TpN37、TpN34.5、TpN33 和 TpN31kD 内鞭毛蛋白。根据氨基酸 N 末端序列、基因序列和抗原相关性分为 A、B 两类, TpN37kD 为 A 类、FlaA 基因编码; 后 3 种称为 B 类, 分别由 FlaB1、FlaB2 和 FlaB3 基因编码。TpN37kD 蛋白, 亦称 37kD 内鞭毛蛋白, 属于内鞭毛外层蛋白, 具有很强的免疫原性, 接种家兔 1 周内即可产生特异性抗体, 故检测 37kD 内鞭毛蛋白抗体在临床上可能有实用价值, 但如何获取大量抗原还有待于研究。B 类内鞭毛蛋白属于内鞭毛核心蛋白, FlaB 结构基因和编码的氨基酸序列与细菌鞭毛相类似。此外还有共同抗原 GroEL、青霉素结合蛋白等, 前者分子量为 60kDa 蛋白, 与许多细菌有交叉反应, 后者与胞浆膜有关, 可能参与肽聚糖的合成, 近年来, 已有用青霉素治疗梅毒失败的报道, 可能与青霉素结合蛋白基因变异有关。

总之, 对梅毒螺旋体抗原分子生物学研究的进展, 将有利于对这些抗原的克隆及表达, 以获得大量特异性抗原, 提高 TP 诊断的特异性、敏感性, 同时有利于从分子生物学水平探讨其发病机制及基因工程疫苗的开发, 这些都是研究者所关注和需要解决的问题。

人类免疫缺陷病毒 自 1981 年报道首例 AIDS 以来, 以迅猛的速度在全球流行, 严重地威胁着人类健康。至今还有许多问题仍亟待解决。

(一) AIDS 的流行病学

AIDS 的流行特点之一是感染地域广、速度快, 几乎世界各国均被累及, 据 WHO 报道, 至 2000 年 11 月底, 世界 HIV 感染者总人数高达 3 610 万。AIDS 流行高峰有地域性及人群分布的变化, 从近 3 年统计, 美国和其他发达国家的流行已达平台期, 每年新感染病例的数量不再加速。但就目前流行的趋势看, 某些原来感染率相对低的地区或国家, 如印度、东南亚、韩国、中国及前苏联地区等, 如果不加强有效预防措施, 进入 21 世纪会有可能出现感染数骤增或暴发流行。

HIV 感染的人群分布不断变化也是该病的一个特征。美国流行早期的 HIV 感染者是以同性恋男子为主, 而现在妇女儿童的病例却逐年增多, 在目前全球 HIV 感染者中妇女就有 1 640 万, 15 岁以下儿童有 140 万。据 1998 年美国报告, 妇女及少女感染率比 1985 年增加 3 倍多, 从 1985 年的 7% 增加至 23%, 可能是由于感染病例多来自于吸

毒及异性接触者的原因。

(二) AIDS 的治疗

近年来,在发达国家中新的 AIDS 患者和死亡人数有显著下降。这个成绩的取得除了预防措施和卫生服务设施不断得到完善外,主要是一些有效抗 HIV 药物的使用,特别是多种逆转录酶抑制剂及蛋白酶抑制剂的联合使用。这种组合被称为高活性抗逆转录病毒治疗(HAART)。目前已有 16 种抗 HIV 药物获得美国药物管理局(FDA)批准。这些药物的使用,可显著改善 HIV 感染者的预后和减少 HIV 母婴传播的危险。由于毒副作用、药物拮抗作用的存在以及 HIV 抗药毒株的出现,在治疗中有些患者难以获得成功。因此,进一步发展新一代药物仍是优先解决的问题。寻找新的治疗方法和途径,如阻止病毒吸附、侵入细胞的药物,阻止前病毒与细胞 DNA 整合的药物开发也是成功治疗 AIDS 病人的有效途径。

(三) HIV 疫苗的发展

制备疫苗对健康人群进行特异性预防是控制和消灭病毒性疾病的最有效措施。为此,世界许多国家都大力投入资金和研究人员研制 HIV 疫苗,其中病毒载体疫苗和基因工程包膜蛋白亚单位疫苗已进入 I 期和 II 期临床试用,特别是二者联合免疫志愿者获得较好的效果令人鼓舞。虽然目前多种疫苗的效果仍难以肯定,但就目前生物工程技术的发展,不久的将来一定会研制出理想的疫苗,为控制 AIDS 的流行做出贡献。

单纯疱疹病毒 由于 HSV 引起的生殖器疱疹在诊断和治疗上都存在很大困难,其发病率有上升趋势。在西方一些国家生殖器疱疹仅次于非淋菌性尿道炎和淋病而居第三位;同时该病也是最常见的溃疡性 STD。由于生殖器疱疹对患者及配偶的危害、母婴传播的危险性等,使其成为受人们关注的公共卫生问题。人们对其研究越来越重视。近年来,研究者们对该病的发生、发展、复发、转归及传染性、预防和治疗等均做了许多探讨,取得不少进展,但尚存在许多亟待解决的问题,如复发的控制与预防,不典型临床表现的识别、无症状亚临床感染者的处理、妊娠期感染的治疗及血清学诊断方法的应用价值等。

近年生殖器疱疹发病率明显上升,研制疱疹病毒疫苗则是预防生殖器疱疹感染的最有效的途径。

由于 HSV DNA 与细胞基因组整合后很可能引起原癌基因的激活或抑癌基因的失活而导致恶性肿瘤的发生,因此减毒活疫苗存在潜伏致癌的可能性。为此 HSV 疫苗多主张发展基因工程多肽疫苗或基因工程病毒载体疫苗。HSV 多肽疫苗主要集中于 GD 和 GB 包膜糖蛋白基因工程疫苗研制,因为 GD 和 GB 抗原性强,能引起高滴度中和抗体,激发迟发超敏反应及 T 细胞增殖反应。病毒载体疫苗多采用腺病毒或痘病毒为载体与 HSV 目的基因重组,其优点是免疫效果全面。

目前 HSV 疫苗已取得重大发展,其中 GD 和 GB 亚单位疫苗、重组腺病毒疫苗、重组痘苗病毒基因工程疫苗进展较快,大部分已处于临床前或临床试验阶段。

人乳头瘤病毒 HPV 型别多,对皮肤粘膜组织具有高度的亲嗜性,但不同型别 HPV 的致病性不同,说明 HPV 致病机制的复杂性。随着分子生物学技术的发展,HPV 基因结构、致病机制在分子水平上已经获得突破性研究进展,但仍有许多问题不十分清楚;由于

HPV 感染率高并有致癌性，对 HPV 感染的预防和控制则更是亟待解决的问题。

(一) HPV 基因结构及分子致癌机制

HPV 至今不能经组织细胞进行培养，因此使病毒致病、致癌机制的研究受到限制。目前采用分子生物学方法对 HPV 基因结构及其功能的研究进展很快，但还有许多正在研究或将要深入研究的问题，特别是各基因区编码的蛋白在病毒复制、致癌机制上的作用尚须研究清楚。如现已知 E₁ 蛋白是该病毒编码产物中唯一具有酶活性的蛋白，即为 DNA 解旋酶并有促进病毒复制的作用，但 E₁ 蛋白的作用特点、作用条件，如何通过改造 E₁ 结构达到抑制病毒复制的目的等都需要深入研究；E₂ 蛋白的功能主要在复制水平、RNA 转录水平上对基因的表达进行调控，但如何与 E₁ 蛋白协同作用、如何激活或抑制病毒 DNA 复制及对宿主细胞生长的影响等，仍有不十分清楚的问题；E₅、E₆、E₇ 蛋白能使细胞转化及永生是比较明确的，而且得到一些实验证明，但 E₅ 蛋白是通过何种途径发挥其致癌作用？E₆、E₇ 蛋白的免疫表位、制备治疗性疫苗等问题则是急迫解决的问题。乳头瘤病毒晚期基因编码的 L1 和 L2 蛋白构成病毒衣壳，是制备疫苗的理想基因，但对 L1、L2 蛋白的构象表位及功能、L2 蛋白如何与 L1 蛋白结合构成完整衣壳（或 VLP）等尚须进行研究。

HPV 不同型别致病性不同，除了结构构象的特异性外，不同型别在体内是否需要不同的条件（如不同的因子）进行致病，亦是引起研究者注目的问题。

(二) HPV 感染的预防及疫苗研制

HPV 感染的预防，特别是经性传播的疾病，除加强性安全教育和管理措施外，更重要的是研制预防性疫苗来控制 HPV 的感染，特别是与宫颈癌等发生关系密切的致癌高危型别的疫苗研制更受到国内外医学界的普遍关注。由于 HPV 至今不能经组织培养，且含有潜在的致癌性 DNA，故 HPV 预防性疫苗不能采用减毒活疫苗或死疫苗，因此发展 HPV 预防性疫苗集中于晚期蛋白（L1 和 L2）的基因工程疫苗的研究。尽管人们研制出多种疫苗如基因工程亚单位疫苗（L1 和 L2 蛋白）、真核表达形成的 VLP 及载体疫苗等，但尚须对其安全性、给药途径和免疫效果进行全面评价后方可应用于临床。免疫效果包括体液免疫、细胞免疫及局部免疫等。此外，还应考虑到 HPV 型别多的问题，除研制型特异性疫苗外，还应研制包括多种型别的多价疫苗及其各组分的配伍及量效关系等。

对 HPV 所致肿瘤的治疗性疫苗正在研究中，由于 HPV16 等型别的 E₆、E₇ 蛋白是转化蛋白，使宿主细胞发生转化及永生，因此治疗性疫苗集中对 E₆、E₇ 蛋白免疫表位研究，通过激活细胞免疫而杀伤被病毒感染的细胞或癌变细胞，但距临床应用还需要做许多基础性研究。

（贾文祥 谷鸿喜）

第十七章 输血及血制品传播的微生物

通过输血或注射血制品途径传播的微生物（表 17-1）以病毒多见，其次为螺旋体。有些病毒可引起机体持续性感染，病毒于体内组织或器官中长期存在而不致明显损害。在一定条件下，病毒被激活、增殖并释放入血流，或侵犯淋巴细胞，于淋巴细胞内复制并释放，造成长期间断性病毒血症。此类微生物除经输血或注射血制品传播外，还可通过手术、针刺、血液透析、器官移植、性接触及母婴传播等多种途径传播。目前，我国献血员均进行乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒和苍白密螺旋体的严格筛查，输血传染的危险性已明显下降。

表 17-1 输血及血制品传播的重要微生物

微生物名称	所致疾病
乙型肝炎病毒	乙型肝炎
丙型肝炎病毒	丙型肝炎
丁型肝炎病毒	丁型肝炎
庚型肝炎病毒	庚型肝炎(?)
TT 型肝炎病毒	TT 型肝炎(?)
人免疫缺陷病毒	获得性免疫缺陷综合征
人巨细胞病毒	先天性疾病、传染性单核细胞增多症、巨细胞包涵体病、肝炎等
苍白密螺旋体	梅毒

第一节 乙型肝炎病毒

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 属嗜肝 DNA 病毒科 (Hepadnaviridae)，为乙型肝炎的病原体。1963 年 Blumberg 研究人类血清蛋白的多态性时，发现澳大利亚土著人血清中存在一种异常的肝炎相关抗原 (hepatitis associated antigen, HAA)。通过纯化抗原，制备抗体，并与临床研究联系，最后确认 HAA 是 HBV 的表面抗原。HBV 在世界范围内传播，估计全世界 HBV 感染者及携带者达 3.5 亿人之多，其中约有 1.2 亿人在我国。

一、生物学性状

1. 形态与结构 HBV 有大球形颗粒、小球形颗粒和管形颗粒 3 种形态。

(1) 大球形颗粒：具感染性的 HBV 完整颗粒，呈球形，直径为 42nm，有双层衣

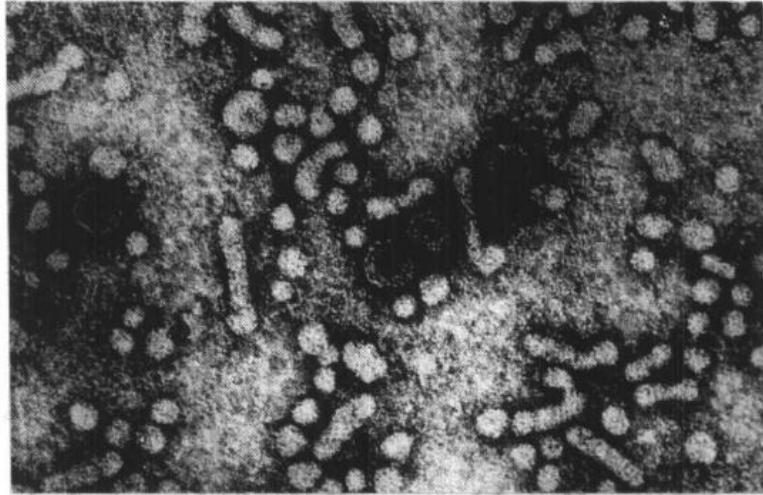


图 17-1 血清标本 HBV 的三种形态电镜照片，其中可见到小球形颗粒、管形颗粒和 Dane 颗粒
(由日本阿部贤治教授提供)

壳(图 17-1)，因 Dane (1970) 首先在 HBV 感染者血清中发现，故又称为 Dane 颗粒。其外衣壳相当于包膜，由脂质双层和蛋白质组成，HBV 的表面抗原 (HBsAg) 及少量前 S₁ 和前 S₂ 抗原 (preS₁, preS₂) 即镶嵌于此脂质双层中。去垢剂去除病毒的外衣壳，可暴露一直径约 27nm、二十面体立体对称、电子密度较大的核心结构，其表面为病毒内衣壳，是 HBV 核心抗原 (HBcAg)。在酶或去垢剂作用后，暴露出 e 抗原 (HBeAg)。HBeAg 自肝细胞分泌而存在于血清中，而 HBcAg 则仅位于感染的肝细胞核内，很少存在于血循环中。大球形颗粒的内部含病毒的 DNA 和 DNA 多聚酶。

(2) 小球形颗粒：直径为 22nm，成分主要为 HBsAg，一般很少含 preS₁ 或 preS₂ 抗原，不含 HBV 的 DNA 及 DNA 多聚酶，大量存在于血流中，由 HBV 感染肝细胞产生的过剩病毒衣壳装配而成。

(3) 管形颗粒：直径为 22nm，长约 100~500nm，成分与小球形颗粒相同，亦存在于血流中，由小球形颗粒“串联”而成，内无核酸，与 HBsAg 的抗原性相同。

2. 基因结构与复制方式 HBV 基因组为双链环状 DNA，其中有一段仅为单链。单链区(裂隙区)的长短在各病毒体可不等，约为全基因组长度的 50%~99%。由于病毒的基因组结构特殊，1986 年国际病毒分类委员会将其定为嗜肝 DNA 病毒科。病毒 DNA 的长链为负链，较短的一链为正链，两链 DNA 的 5' 末端有长达 250~300 个互补碱基，通过碱基配对(正链与负链的核苷酸序列恰好互补，称为粘性末端)构成环状 DNA 结构。负链 DNA 的 5' 末端有一低分子量的蛋白质，而正链的 5' 末端则有一段短 RNA，它们是引导 DNA 合成的引物。病毒体的 DNA 多聚酶兼具以 RNA 为模板合成 DNA 的逆转录酶功能，又有合成 DNA 的多聚酶功能，故成为目前研究抑制病毒复制药物的靶。

HBV 基因组较小，约含 3 200 个核苷酸(图 17-2)。负链 DNA 有 4 个开放读码框架(ORF)，分别称为 S、C、P 和 X 区。S 区中有 S 基因、前 S₁ 和前 S₂ 基因，分别编码 HBV 的外衣壳蛋白(HBsAg, preS₁ 与 preS₂ 抗原)。C 区中有 C 基因及前 C 基因，分别

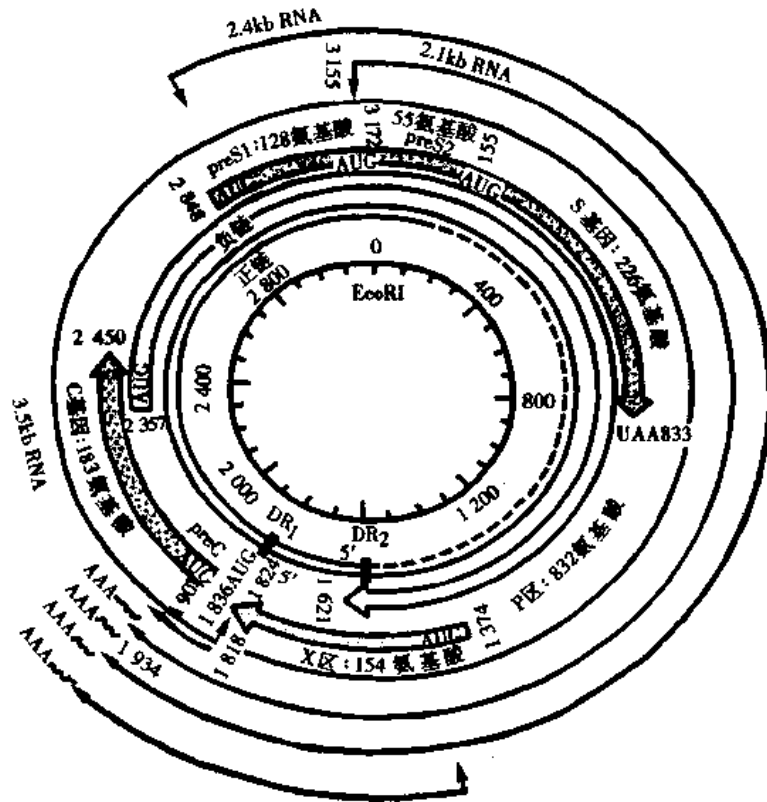


图 17-2 人乙型肝炎病毒基因组模式图

注：虚线部分为单链区；DR1、DR2 为顺向重复序列；正链 5'-端 [] 为短肽；负链 5'-端 ~~~~ 为短寡核苷酸

编码 HBcAg 及 HBeAg。P 区最长，编码 DNA 多聚酶等。X 区编码的蛋白称为 HBxAg，可反式激活一些细胞内的癌基因及病毒基因，与肝癌的发生及发展有关。正、负链的粘性末端两侧分别有 11 个核苷酸组成的顺向重复序列称为 DR₁ 和 DR₂。DR₁ 起始于第 1 824 位核苷酸，序列为 5'-TTCACCTCTGC；隔开 223 个核苷酸后为 DR₂，起始于第 1 590 位核苷酸，5'-TTCACCTCTGC。DR 区是病毒 DNA 成环与复制的关键序列。

HBV 的复制方式（图 17-3）如下：

- (1) HBV 吸附并进入肝细胞后，脱去衣壳，病毒的 DNA 进入肝细胞核内。
- (2) 在 DNA 多聚酶的催化下，正链 DNA 以负链 DNA 为模板，延长修补裂隙区，形成完整的环状双链 DNA。
- (3) 双链 DNA 继而形成超螺旋环状 DNA，在细胞 RNA 多聚酶作用下，以负链 DNA 为模板，转录形成长度分别为 2.1kb 和 3.5kb 的 RNA。前者作为 mRNA 转译出外衣壳蛋白；后者除可转译内衣壳蛋白外，还作为 HBV DNA 复制的模板，故亦称其为前基因组。
- (4) 病毒的前基因组、蛋白引物及 DNA 多聚酶共同进入组装好的病毒内衣壳中。
- (5) 在病毒 DNA 多聚酶的逆转录酶活性作用下，自 DR 区开始，以前基因组 RNA

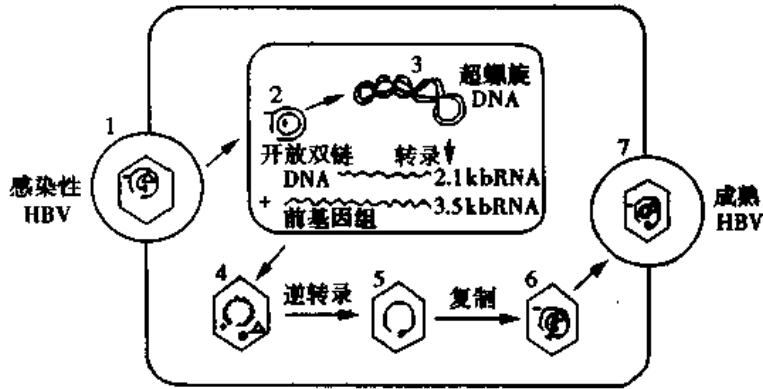


图 17-3 HBV 复制周期示意图

—DNA; ~RNA; ● 蛋白引物; △DNA 多聚酶

为模板，逆转录出全长的 HBV DNA 负链。在负链 DNA 合成过程中，前基因组被 RNA 酶降解而消失。

(6) 病毒以新合成的负链 DNA 为模板，也自 DR 区开始复制互补的正链 DNA。

(7) 复制中的正链 DNA (长短不等) 与完整的负链 DNA 结合并包装于内衣壳中，再包上外衣壳成为病毒体，从细胞浆释放至细胞外。

由于 HBV 复制有逆转录过程，故病毒的 DNA 可整合于靶细胞的染色体中，已知整合区约有 50% 以上为负链的 5' - 末端区。此外，S 基因可以 2.1kb RNA 为 mRNA 而转译出 HBsAg，故在部分 HBV 感染者中虽无病毒复制，但都长期产生 HBsAg。

3. 抗原组成

(1) 表面抗原 (HBsAg): 由糖基化的 GP27 和非糖基化的 GP24 亚单位，通过二硫键连接形成的二聚体蛋白。HBsAg 因大量存在于感染者血中，故为 HBV 感染的主要标志，具有抗原性，可引起机体产生特异保护性的抗-HBs，也是制备疫苗的最主要成分。HBsAg 中有一段抗原性很强的序列，称为 a 抗原决定簇。这一决定簇由 HBsAg 序列的第 124 ~ 147 位氨基酸组成，亲水性强，其中第 124、137 及 139、147 位的半胱氨酸形成二硫键，构成两个环状结构 (图 17-4)。

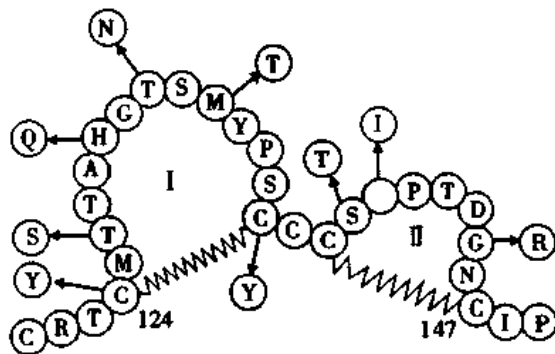


图 17-4 HBsAg 的 a 抗原决定簇序列及其变异
注: a 抗原决定簇由 HBsAg 的第 124 ~ 147 位氨基酸组成，在第 124 与 137 和第 139 与 147 位形成二硫键，构成双环结构。该序列中的第 124、126、129、131、133、137、140、141 或 145 位氨基酸易发生置换突变，常导致乙型肝炎疫苗接种后失保护。C: 半胱氨酸，T: 苏氨酸，N: 天门冬酰胺，M: 甲硫氨酸，Q: 谷氨酰胺，Y: 酪氨酸，H: 组氨酸，S: 丝氨酸，G: 甘氨酸，R: 精氨酸，I: 异亮氨酸，K: 赖氨酸，A: 丙氨酸，P: 脯氨酸，D: 天门冬氨酸。 WW: 二硫键

依据抗原性差异，可将 HBV 分为 adr、adw、ayr、ayw 4 种主要血清型。根据基因组核苷酸序列的差异，HBV 可分为 A、B、

C、D 4 种基因型。基因型与血清型的对应关系大致为：A 型与 adw，B 型与 adw，C 型与 adr、adw 和 ayr，D 型与 ayw。HBsAg 血清型分布有明显的地区差异，并与种族有关。A 基因型主要见于美国和西欧，B、C 型主要在亚洲。我国汉族以 adr 和 adw 多见，少数民族多为 ayw。因有共同的 a 抗原表位，故制备疫苗时各血清型间有交叉保护作用。preS₁ 及 preS₂ 抗原具有吸附于肝细胞受体的表位，其抗原性比 HBsAg 更强，抗 - preS₂ 及抗 - preS₁ 通过阻断 HBV 与肝细胞的结合而起抗病毒作用。

(2) 核心抗原 (HBcAg)：存在于 Dane 颗粒核心结构的表面，为内衣壳成分，由 C 基因第 2 个 AUG 编码，其外被 HBsAg 所覆盖，故不易在血循环中检出。HBcAg 的抗原性强，能刺激机体产生抗 - HBc。抗 - HBc IgG 在血中持续时间较长，为非保护性抗体；抗 - HBc IgM 的存在常提示 HBV 处于复制状态。HBcAg 可在感染的肝细胞表面表达，能被杀伤性 T 细胞 (CTL) 识别，在清除 HBV 感染细胞时具有重要作用。

(3) e 抗原 (HBeAg)：由 C 区的第 1 个基因 (preC) 编码，转译出的 preC 多肽经过加工，切除 N 端 19 个氨基酸及 C 端 34 个氨基酸后成为可分泌的 e 抗原。HBeAg 游离存在于血中，其消长与病毒体及 DNA 多聚酶的消长基本一致，故可作为 HBV 复制及具有强感染性的一个指标。HBeAg 可刺激机体产生抗 - HBe。抗 - HBe 能与受染肝细胞表面的 HBeAg 结合，通过补体介导破坏受染的肝细胞，故对 HBV 感染有一定的保护作用。抗 - HBe 的出现是预后良好的征象。近年发现存在 HBV 的 preC 区突变株，在 preC 区出现终止密码子，使 preC 基因不能与 C 基因共同转译出 HBeAg，故受染细胞不能被抗 - HBe 及相应的细胞免疫所识别而清除，致使变异株在抗 - HBe 阳性的情况下仍大量增殖。因此，对抗 - HBe 阳性的患者也应检测其血中的病毒 DNA，为全面了解病情作出判断。

4. 动物模型与细胞培养 黑猩猩是 HBV 最理想的动物模型，故常用来进行 HBV 的致病机制研究和疫苗效价及安全性检测。1980 年以来，在鸭、土拨鼠及地松鼠中分别发现了与 HBV 基因结构相似的鸭乙型肝炎病毒等，已被共同列入嗜肝 DNA 病毒科。鸭乙型肝炎病毒感染的动物模型在我国已被用于筛选抗病毒药物及研究消除免疫耐受机制。HBV 尚不能在细胞培养中分离及培养，目前采用的细胞培养系统是病毒 DNA 转染系统。将病毒 DNA 导入肝癌等细胞后，病毒可整合并复制，在细胞中表达 HBsAg、HBcAg 并分泌 HBeAg，有些细胞株还可持续地产生 Dane 颗粒。这些细胞培养系统主要用于筛选抗 HBV 药物。用 S 基因转染一些细胞系，如中国地鼠卵巢细胞 (CHO 细胞)，可分泌 HBsAg 而不含病毒其他蛋白，已用于制备疫苗。

5. 抵抗力 HBV 对外界环境的抵抗力较强，对低温、干燥、紫外线均有耐受性。不被 70% 乙醇灭活，因此这一常用的消毒方法并不能用于 HBV 的消毒。高压灭菌法、100℃ 加热 10min 和环氧乙烷等均可灭活 HBV，0.5% 过氧乙酸、5% 次氯酸钠亦可用于消毒。但应指出，在对外界抵抗力方面，HBV 的传染性和 HBsAg 的抗原性并非一致，上述消毒手段仅能使 HBV 失去传染性，但仍可保留 HBsAg 的抗原性。

二、致病性与免疫性

1. 传染源 主要传染源是患者或无症状 HBsAg 携带者。乙型肝炎的潜伏期较长

(30~160d), 不论在潜伏期、急性期或慢性活动初期, 患者血清都有传染性。HBsAg 携带者因无症状, 不易被察觉, 其作为传染源的危害性比患者更甚。

2. 传播途径 HBV 的传播途径主要有以下两条:

(1) 血液、血制品传播: HBV 在血流中大量存在, 而人又对其极易感, 故只需极少量污染血进入人体即可导致感染。输血、注射、外科或牙科手术、针刺、共用剃刀或牙刷、皮肤粘膜的微小损伤、性行为等均可传播。唾液中曾被检出过 HBV DNA, 据认为来自血液, 通过牙龈浆液而进入口腔, 其含量仅为血清的百分之一至万分之一。医院内污染的器械(如牙科、妇产科器械)亦可致医院内传播。

(2) 母婴传播: 主要是围产期感染, 即分娩经产道时, 婴儿的微小伤口受母体的病毒感染。哺乳也是传播 HBV 的途径。有些婴儿在母体子宫内已被感染, 表现为出生时已呈 HBsAg 阳性。

3. 致病性与免疫机制 乙型肝炎的临床表现呈多样性, 可由无症状带病毒至急性肝炎、慢性肝炎、重症肝炎等。病毒不仅存在于肝内, 也存在于脾脏和血细胞中。病毒在体内的增殖, 除对肝细胞有直接损害作用外, 还可引起机体产生免疫病理损害。

(1) 病毒致机体免疫应答低下: HBV 感染后, 诱生干扰素的能力下降, 且使靶细胞的 MHC-I 类抗原表达低下。因 CTL 破坏受染细胞时需 MHC-I 类抗原的参与, 如靶细胞 MHC-I 抗原表达低下, 则 CTL 作用减弱。此外, 感染 HBV 后机体白介素-2 (IL-2) 产生减少, 这与 HBV 可在淋巴细胞中存在有关。幼龄感染 HBV 后, 因免疫系统尚未发育成熟, 可对病毒形成免疫耐受, 从而不出现或仅出现低度的抗病毒体液与细胞免疫, 病毒可长期存在于体内。

(2) 病毒发生变异: HBV 的 preC 基因可发生变异, 从而不能正确转译出 HBeAg, 使病毒逃逸机体对 HBeAg 的体液与细胞免疫。近年来还发现 HBV preC 区及 C 区的变异株可引起暴发型肝炎。

(3) 细胞介导的免疫病理损害: HBV 在肝细胞内增殖可使细胞膜表面表达 HBsAg、HBeAg 或 HBcAg。病毒抗原致敏的 T 细胞对胞膜表面带有病毒抗原的靶细胞可起杀伤效应以清除病毒。这种由 CTL 介导的效应具双重性: 既清除病毒, 也造成肝细胞的损伤。细胞免疫应答的强弱与临床过程的轻重及转归有密切关系。当病毒感染的肝细胞数量不多、免疫应答处于正常范围时, 特异的 CTL 可摧毁病毒感染的细胞, 释放至细胞外的 HBV 则可被抗体中和而清除, 临床表现为急性肝炎, 并可较快恢复而痊愈。相反, 若受染的肝细胞为数众多, 机体的细胞免疫应答超过正常范围, 迅速引起大量细胞坏死, 肝功能衰竭表现为重症肝炎。当机体免疫功能低下, 病毒在感染细胞内复制, 受到 CTL 的部分杀伤作用, 病毒仍可不断释放, 且无有效的抗体中和病毒, 病毒则持续存在并再感染其他肝细胞, 导致慢性肝炎。慢性肝炎造成的肝病变又可促进成纤维细胞增生, 引起肝硬化。

(4) 免疫复合物引起的病理损伤: 部分乙型肝炎患者血循环中, 常可检出 HBsAg 及抗-HBs 的免疫复合物。免疫复合物可沉积于肾小球基底膜、关节滑液囊等, 激活补体, 导致 III 型超敏反应, 故患者可伴有肾小球肾炎、关节炎等肝外损害。免疫复合物大量沉积于肝内, 可使肝毛细血管栓塞, 并可诱导产生肿瘤坏死因子 (TNF) 导致急性

肝坏死，临床表现为重症肝炎。

(5) 自身免疫反应所引起的病理损害：HBV 感染肝细胞后，细胞膜上除有病毒特异性抗原外，还会引起肝细胞表面自身抗原发生改变，暴露出肝特异性脂蛋白抗原 (liver specific protein, LSP)。LSP 可作为自身抗原诱导机体产生对肝细胞组分的自身免疫反应，通过 CTL 的杀伤作用或释放淋巴因子的直接或间接作用，损害肝细胞。自身免疫反应引起的慢性肝炎患者血清中，常可检测到 LSP 抗体或抗核抗体、抗平滑肌抗体等自身抗体。

4. HBV 与原发肝癌 研究发现，初生时即感染土拨鼠肝炎病毒 (WHV) 的土拨鼠，经 3 年饲养后 100% 发生肝癌，而未感染 WHV 的土拨鼠无一发生肝癌。人群流行病学研究显示，HBsAg 携带者较无 HBV 感染者发生肝癌的危险性高 217 倍。肝癌组织检测发现有 HBV DNA 的整合，约 50% 的整合基因片段为负链 DNA 5' 末端片段，即 X 基因片段。因 X 蛋白 (HBxAg) 可反式激活细胞内癌基因，故 HBV 可能是致癌的启动因子，经一系列过程而导致肝癌的发生。

三、微生物学检查法

1. 乙型肝炎抗原、抗体检测 目前主要用血清学方法检测 HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe 及抗-HBc (俗称“两对半”)，抗-preS₁ 或抗-preS₂ 的检测不常用。HBcAg 仅存在于肝细胞内，也不用于常规检查。HBsAg 的检测最为重要，可发现无症状携带者，是筛选献血员的必检指标。近年来，PCR 已用于乙型肝炎临床诊断，尤以 PCR-ELISA 和 PCR 荧光法最常用。血清学方法以放射免疫法 (RIA) 和酶联免疫吸附法 (ELISA) 最为敏感。

2. 乙型肝炎抗原、抗体检测结果的分析 HBV 抗原、抗体的血清学标志与临床关系较为复杂，必须同时对几项指标进行分析，才有助于临床判断 (表 17-2, 图 17-5)。

表 17-2 HBV 抗原、抗体检测结果的临床分析

HBsAg	HBeAg	抗-HBs	抗-HBe	抗-HBc	结果分析
+	-	-	-	-	HBV 感染或无症状携带者
+	+	-	-	-	急性或慢性乙型肝炎, 或无症状携带者
+	+	-	-	+	急性或慢性乙型肝炎 (传染性强, 俗称“大三阳”)
+	-	-	+	+	急性感染趋向恢复 (俗称“小三阳”)
-	-	+	+	+	既往感染恢复期
-	-	+	+	-	既往感染恢复期
-	-	-	-	+	既往感染或“窗口期”
-	-	+	-	-	既往感染或接种过疫苗

HBsAg 阳性见于急性肝炎、慢性肝炎或无症状携带者。急性肝炎恢复后，一般在 1~4 个月内 HBsAg 消失，若持续 6 个月以上则认为已向慢性肝炎转化。无症状 HBsAg

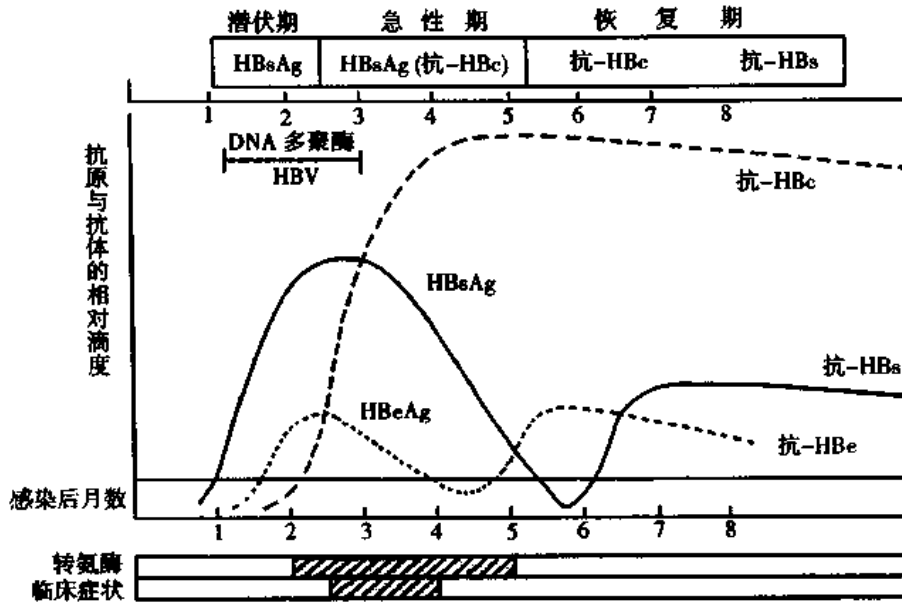


图 17-5 HBV 的临床表现与血清学反应

携带者是指肝功能正常者，其肝穿刺组织切片常可发现病变，但无临床症状。携带者的 HBsAg 可长期阳性，也可伴 HBeAg 阳性及病毒血症，具有很强的传染性，小部分可发展为肝硬化或肝癌。

抗-HBs 的出现常显示患者已恢复或痊愈，且抗-HBs 效价高者预后好。HBeAg 阳性提示 HBV 在体内复制，如转为阴性，表示病毒停止复制。抗-HBe 阳性表示机体已获得一定的免疫力，出现变异株者例外。抗-HBc IgM 阳性，则提示仍有病毒复制。

3. 血清 HBV DNA 检测 应用核酸斑点杂交法检测血清中 HBV DNA，可作为疾病诊断与药物疗效考核的指标。因 PCR 法检测 HBV DNA 的操作要求较高，应根据需要选用。

4. 血清 DNA 多聚酶检测 可判断体内是否有病毒正在复制，但近年来已被检测 HBV DNA 所取代。

四、防治原则

加强对献血员的筛选，以降低输血后乙型肝炎的发生率。患者的血液、分泌物和排泄物，用过的食具、药杯、衣物以及注射器和针头等，均须煮沸消毒 15~30min，或用 3% 漂白粉澄清液、5% 过氧乙酸、1 200ppm 的二氯异氰尿酸钠、0.2% 新洁尔灭等浸泡后洗涤、消毒。提倡使用一次性注射器具。对高危人群应采取如下特异性预防措施。

1. 主动免疫 注射乙型肝炎疫苗是最有效的预防方法。第一代疫苗为乙型肝炎 HBsAg 血源疫苗，由血液中提纯 HBsAg 经甲醛灭活而成，新生儿应用此疫苗免疫 3 次（出生后第 0、1、6 月），抗-HBs 阳性率达 90% 以上。第二代为基因工程疫苗：将编码 HBsAg 的基因在酵母菌、哺乳动物细胞或牛痘病毒中高效表达，纯化后得到的大

量 HBsAg 用以制备疫苗。基因工程疫苗的优点是可以大量制备且排除了血源疫苗中可能存在的未知病毒引起感染的可能。第三代为 HBsAg 多肽疫苗或 HBV DNA 核酸疫苗，目前尚在研究之中，免疫原性还需改进。

2. 被动免疫 含高效价抗-HBs 的人血清免疫球蛋白 (HBIg) 可用于被动免疫预防。紧急情况下，立刻注射 HBIg 0.08mg/kg，在 8d 之内均有预防效果，两个月后需重复注射一次。

迄今仍无治疗乙型肝炎的特效方法，一般认为广谱抗病毒药物和调节机体免疫功能的药物同时使用治疗效果较好。贺普丁 (拉米夫定)、病毒唑、Ara-A、干扰素及清热解毒、活血化瘀的中草药等，对部分病例有一定疗效。

第二节 丙型肝炎病毒

丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 于 1989 年正式命名，过去称为肠道外传播的非甲非乙型肝炎病毒。1991 年被归为黄病毒科 (Flaviviridae)。虽然丙型肝炎作为疾病早被发现，但因该病毒不能在体外培养且血中的含量很低，故对 HCV 的认识主要来自黑猩猩实验及分子生物学研究的结果。

一、生物学性状

1. 形态与结构 HCV 是一类具有包膜的 RNA 病毒。病毒体呈球形，直径为 40~60nm。对氯仿、甲醛、乙醚等有机溶剂敏感。感染黑猩猩并可在其体内连续传代，引起慢性肝炎。

2. 基因结构与功能 1989 年美国学者从 10 000ml 的 HCV 阳性黑猩猩血浆中超速离心收集病毒，提取 RNA，逆转录为 cDNA，并克隆入载体，首次获得约 70% 的 HCV 基因组序列，并以表达的蛋白建立了特异性抗体检测系统。此后，学者们又克隆出源于丙型肝炎患者血清的 HCV 全基因组序列。HCV 基因组为单正链线状 RNA，长约 9.5kb，仅有一个开放读码框架 (ORF)，编码一含 3 010~3 033 个氨基酸的多聚蛋白前体，该前体蛋白在宿主信号肽酶及病毒蛋白酶作用下，裂解为病毒的结构蛋白与非结构蛋白。HCV 基因组由 9 个基因区组成：自 5'端开始依次为 5'端非编码区、核心蛋白区 (core, C 区)、包膜蛋白-1 区 (E1 区)、包膜蛋白-2/非结构蛋白-1 区 (E2/NS1 区)、非结构蛋白-2 区 (NS2 区)、非结构蛋白-3 区 (NS3 区)、非结构蛋白-4 区 (NS4 区)、非结构蛋白-5 区 (NS5 区) 和 3'端非编码区。其中 C 区和 E 区为病毒结构蛋白编码区，即编码病毒衣壳及包膜蛋白。5'端非编码区对病毒复制及病毒蛋白转译具重要的调控作用，其核苷酸序列保守性强，可用于基因检测。E1、E2/NS1 区基因易发生变异，使包膜蛋白的抗原性改变而不被已有的抗包膜抗体识别，从而病毒得以持续存在，这是 HCV 所致丙型肝炎易发展为慢性肝炎的原因之一 (图 17-6)。NS3 区编码病毒蛋白酶和解旋酶；NS5 区编码病毒 RNA 依赖的 RNA 多聚酶 (RDRP)；C、NS3、NS4 及 NS5 区基因产物可刺激机体产生抗体，故常用于检测患者血清中抗-HCV。3'端非编码区含终止密码子及多聚尿嘧啶核苷

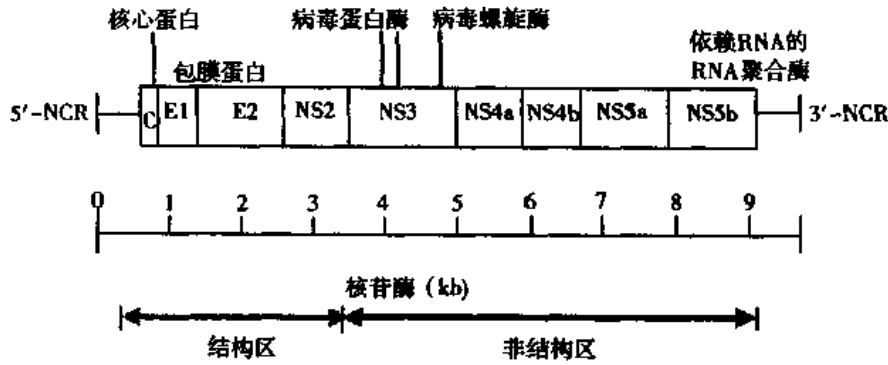


图 17-6 丙型肝炎病毒基因组结构示意图

(polyU) 序列，与 HCV 负链 RNA 的复制有关。

3. 型别 依据基因序列的差异，可将 HCV 毒株分为 6 个基因型：欧美各国流行株多为 I 型；亚洲地区以 II 型为主，III 型为辅；V、VI 型主要在东南亚（泰国等）。IV 型与 III 型接近，我国以 II 型为主。目前认为 II 型 HCV 复制产生的病毒量多，较难治疗。HCV 血清学分型可用 C 区或 NS4 区抗原（或多肽），但其与基因型的对应关系不明确，较少采用。

二、致病性与免疫性

1. 致病性 HCV 主要经输血或血制品传播，引起急性或慢性丙型肝炎，表现为黄疸、血清谷丙转氨酶（ALT）升高等。同性恋者、静脉药瘾者及接受血液透析的患者为高危人群。有些患者可不出现症状，发病时已呈慢性过程。慢性丙型肝炎的表现亦轻重不等，约 20% 可逐渐发展至肝硬化或肝癌。意大利、希腊、日本等国 50% ~ 70% 肝癌患者血中，抗-HCV 阳性，我国约 10% 肝癌患者血中存在抗-HCV。自肝癌组织提取 RNA，以逆转录 PCR（RT-PCR）检测，约 10% 有 HCV RNA。一般认为 II 型 HCV 的致病性较强，复制快，血流中病毒量多，故症状较重。免疫组化染色证实病毒除位于肝细胞浆中，亦存在肝外（如淋巴细胞）。肝穿刺病理学检查发现肝内淋巴细胞浸润及肝细胞坏死。部分丙型肝炎患者出现肾小球肾炎，提示 HCV 抗原可形成免疫复合物沉积于肾小球基底膜。现认为 HCV 的受体可能是人细胞膜上的 CD81 分子，包膜蛋白 E2 与 CD81 分子结合为 HCV 感染的前提。

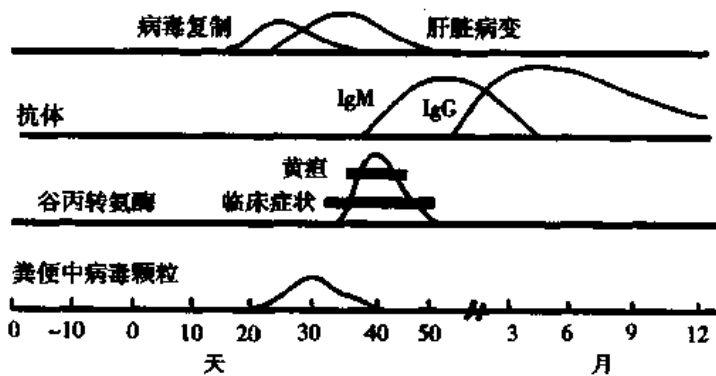


图 17-7 丙型肝炎病毒感染指标的动态变化示意图

2. 免疫性 HCV 感染患者体内先后出现 IgM 和 IgG 型抗体（图 17-7），产生低度免

疫力，对同一毒株攻击有一定的免疫力，但由于 HCV 基因组易变异而导致抗原性改变，故此保护作用不强。特异性淋巴细胞增殖实验显示，部分恢复期 HCV 感染者呈阳性反应。在免疫力低下人群中，可能同时感染 HBV 及 HCV，此双重感染常导致疾病的加重。

三、微生物学检查法

1. 检测病毒 RNA 因 HCV 在血液中含量很少，不宜以核酸（斑点）杂交法检测。临床上常用敏感的套式 RT-PCR 法，即从患者血清中提取病毒 RNA，经逆转录酶合成 HCV cDNA，再用两对引物先后扩增，使极微量的病毒 RNA 得以放大，便于检测。由于 5' 端非编码区序列最为保守，故两对引物的序列常选自该区。近年建立的分支 DNA (bDNA) 法、PCR-ELISA 法和 PCR-荧光法检测 HCV RNA，不但可快速定性，亦可进行定量检测，敏感性达到每毫升样品数千个病毒颗粒。

2. 检测病毒抗体 以核心蛋白与 NS3、NS4 及 NS5 区蛋白为抗原，用 ELISA 法检测抗-HCV IgG，可筛选献血员、诊断或鉴别诊断丙型肝炎及评价疗效。目前已有第三代 HCV 抗体检测试剂盒，检出率可达 99%。抗-HCV IgG 或 IgM 阳性者表示已被 HCV 感染，不可献血。HCV 感染的确诊可用免疫印迹法分别检测 HCV 不同蛋白相应抗体。

四、防治原则

特异性免疫预防包括主动免疫和被动免疫。被动免疫使用 HCV 抗体，曾有用于预防或治疗的报道，但效果不肯定。主动免疫包括重组蛋白疫苗和核酸 (DNA) 疫苗等。因 HCV 毒株易变异且包膜蛋白的免疫原性不强，疫苗的研制有一定难度。由于缺乏有效的预防或治疗性疫苗，故控制输血传播仍是目前最主要的预防措施。我国已规定，抗-HCV 检测是筛选献血员的必须步骤，对血制品亦需进行检测以防污染。

丙型肝炎的治疗尚缺乏特效药物，一般可选用某些抑制病毒吸附、穿入、脱壳、转录、转译及转译前后加工的药物，也有报道使用丙型肝炎病毒反义 RNA。目前的特异治疗常用病毒 mRNA 翻译抑制剂——IFN- α ，主要有 3 种产品：重组 IFN- α 和两种天然 IFN (淋巴样母细胞 IFN- α 及白细胞 IFN- α)。前者为通过基因重组技术制备的单纯亚型 IFN- α ，而后两者是刺激人淋巴样母细胞系和外周血白细胞产生并提纯制备的。IFN 治疗的目的是尽早从血液和肝脏中清除丙型肝炎病毒，并使患者的血液生化指标及组织学改变恢复正常。日本学者发现，HCV NS5a 区第 2 209~2 248 位 40 个氨基酸的序列变化与 IFN 疗效有关，称为干扰素敏感决定区。丙型肝炎病毒可能引起自身免疫性疾病如自身免疫性肝炎，故患者血清中存在抗肝肾微粒体-1 (LKM-1) 或抗核抗体伴抗平滑肌抗体时，慎用或不用 IFN 治疗。

第三节 丁型肝炎病毒

1977 年，Rizzetto 用免疫荧光法检测乙型肝炎患者的肝组织切片时，发现肝细胞内除 HBcAg 外，还有一种新抗原，当时称为 δ 抗原或 δ 因子。此后通过黑猩猩等实验证

实这是一种不能独立复制的缺陷病毒，必须在 HBV 或其他嗜肝 DNA 病毒辅助下才能复制，现已正式命名为丁型肝炎病毒 (hepatitis D virus, HDV)。

一、生物学性状

HDV 呈球形，直径为 36~43nm，基因组为一单链环状 RNA，长度仅 1.7kb，是已知动物病毒中最小的基因组。HDV RNA 编码一种 HDV 抗原 (HDAg)，编码该抗原的 RNA 链为基因组的互补链，故 HDV 是负链 RNA 病毒。HDAg 可刺激机体产生抗体，在感染者血清中检出 HDV RNA 或抗-HD。应用制备的抗-HD 还可对肝组织切片染色，以检测 HDAg。

HDV 颗粒的包膜由 HBV 包膜 (HBsAg) 构成，颗粒内含 HDV RNA 及与之结合的 HDAg (图 17-8)。HDV 基因组 (负链) 及与其互补的正链均具有核酶的功能，可以自身切割。HDV 复制依赖于感染细胞内的 RNA 依赖的 RNA 多聚酶 II。HBsAg 构成的衣壳可防止 HDV RNA 的水解，在 HDV 致病中起重要作用，但它并非为 HDV 的基因产物，而是由同时感染的 HBV 所提供。HDAg 分子量 (M_r) 约为 6.8×10^4 ，有 24×10^3 和 27×10^3 (P24 和 P27) 两种多肽形式，主要位于肝细

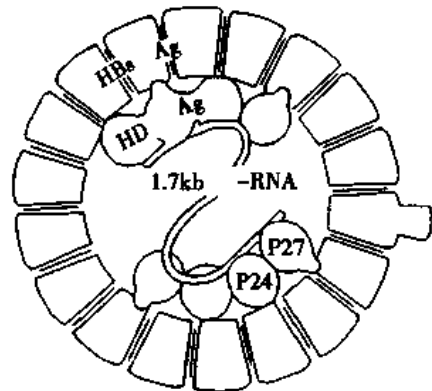


图 17-8 HDV 颗粒结构示意图

胞内，在血清中出现早、消失快 (维持 2 周左右)，常不易检测到。HDV 传播途径与 HBV 相同，主要经血传播。黑猩猩及土拨鼠可作为 HDV 研究的实验动物模型。

二、致病性与免疫性

急性丁型肝炎有两种感染方式：一是联合感染 (co-infection)，即同时发生急性乙型肝炎和急性丁型肝炎；另一为重叠感染 (superinfection)，即慢性乙型肝炎或 HBsAg 携带者发生急性 HDV 感染。流行病学调查表明，HDV 感染呈世界性分布，我国以四川等西南地区较多见。全国各地的 HBV 感染者中，HDV 感染率为 0~10%。

肝脏损害程度与 HDV RNA 的消长相关。HDV 感染早期，HDAg 主要存在于肝细胞核内，随后出现 HDAg 抗原血症。HDAg 刺激机体产生特异性抗-HD，初为 IgM 型，之后是 IgG 型抗体。HDV 感染常可导致乙型肝炎症状加重与恶化，故暴发型肝炎发生时，应注意是否为 HBV 伴 HDV 的共同感染。因 HDV 与 HBV 有相同的传播途径，乙型肝炎的预防措施同样适用于丁型肝炎，筛查 HBsAg 阳性献血员亦可有效控制丁型肝炎病毒的感染与传播。由于 HDV 是缺陷病毒，如能抑制乙型肝炎病毒，则 HDV 亦不能复制。

三、微生物学检查法

丁型肝炎的诊断常用 ELISA 法检测患者血清抗体，HDV 感染后 2 周产生抗-HD

IgM, 1个月达到高峰, 随之迅速下降。抗-HD IgG产生较迟, 于恢复期出现。丁型肝炎抗体不能清除病毒, 如持续高效价, 可作为慢性丁型肝炎的指标。肝组织或血清中HDAg的检测可用免疫荧光法、RIA或ELISA法。患者标本先经去垢剂处理, 以除去表面的HBsAg, 暴露出HDAg。还可用斑点杂交法或PCR法检测HDV基因组进行HDV基因诊断。

第四节 庚型肝炎病毒与TT型肝炎病毒

一、庚型肝炎病毒

庚型肝炎病毒 (hepatitis G virus, HGV) 是1995年发现的一种与输血后肝炎相关的病毒。HCV和HEV被鉴定后, 部分肝炎患者的病原体仍然不明, 称为非甲-戊型 (non-A-E) 肝炎病毒。1995年, 美国科学家采用代表性差异分析法 (representational difference analysis, RDA), 从接种肝炎患者血清的狨猴 (tamarin) 中获得了肝炎相关的2个全基因组序列: GBV-A和GBV-B, 并最终在人群中扩增出GBV-C的全基因组序列。动物实验表明, GBV-C可引起人类非甲-戊型肝炎。与此同时, 美国另一实验室也在患者中发现了与非甲-戊型肝炎病毒相关的全基因组序列, 称为HGV。GBV-C与HGV的核苷酸及氨基酸同源性分别约为85%和95%, 是同种病毒的不同分离株, 现统称为庚型肝炎病毒。

(一) 生物学性状

HGV属黄病毒家族成员, 基因组结构与HCV相似, 长约9.5kb, 为单正链RNA病毒。基因组仅有一个开放读码框架 (ORF), 编码一约由2900个氨基酸组成的多蛋白前体, 该前体蛋白经病毒和宿主细胞蛋白酶水解后, 可形成病毒的结构蛋白和非结构蛋白。在ORF的两侧分别为5'-非编码区 (5'-NCR) 和3'-非编码区 (3'-NCR)。基因组5'端的结构基因区依次编码核心蛋白 (C) 和包膜蛋白 (E1、E2)。3'端的非结构基因区编码病毒的功能蛋白, 其中NS3区编码病毒解旋酶、锌蛋白酶和丝氨酸蛋白酶, NS5b编码RNA依赖的RNA多聚酶 (RDRP, 图17-9)。非结构蛋白NS2/NS3区的水解, 由位于NS2羧基端和NS3氨基端编码的蛋白酶完成。NS3/NS4的连接点在

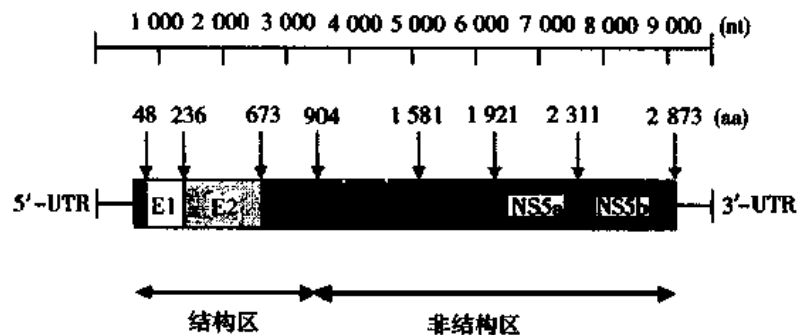


图 17-9 HGV 基因组结构示意图

第 1 612 位 (苏氨酸) ~ 1 613 位 (天冬氨酸) 之间, NS4a/NS4b、NS5a/NS5b 的切割位点分别位于第 1 823/1 824 和第 2 342/2 343 位氨基酸之间。

HGV 基因组核苷酸可发生替代突变及插入/缺失突变, 某些插入/缺失突变可改变 5'端 ATG 的起始位置, 从而产生大小不同的病毒蛋白。根据 HGV 5' - NCR 的基因变异情况将 HGV 分为 3 个基因型: 其中 I 型为 GBV - C 型, 多分布于西非人群; II 型为 HGV 型, 多见于南美洲和欧洲; III 型主要见于我国和日本等亚洲人群中。HGV 不同分离株核心蛋白的氨基酸长度不一, 有些分离株无核心蛋白。

(二) 致病性与免疫性

HGV 主要经输血或血制品途径传播, 也存在母婴传播、静脉注射毒品和医源性传播, 常与 HBV 或 HCV 合并感染。单独感染时症状不明显, 肝脏损害程度较轻。HGV 与 HCV 合并感染后, 有的 HCV 感染消失, ALT 恢复正常, 而 HGV 感染持续存在。HGV 目前尚不能在体外细胞中分离培养和传代, 但多种动物如黑猩猩、猕猴等对其敏感。HGV RNA 阳性患者的血清接种黑猩猩后, 动物血清中 HGV RNA 持续阳性, 但血清 ALT 及肝组织病理学检查无明显异常。然而, 有学者以类似血清标本静脉注射感染猕猴, 1 周后陆续出现 HGV 病毒血症、ALT 升高、抗 - HGV 阳性等改变, 且感染的原代猕猴血清可传代感染正常猕猴。因此对 HGV 的致病性还需进一步研究。

机体感染 HGV 后, 可产生多种抗 - HGV, 其中 E2 抗体最为重要, 被认为是一种中和性抗体, 其消长与 HGV 病毒血症呈负相关, 类似于抗 - HBe 和 HCV E2 抗体, 是 HGV 被清除及疾病恢复的标志。

(三) 微生物学检查法

HGV 感染的诊断以 RT - PCR 为主, 采用 5' - NCR、NS3 区和 E2 区的套式引物扩增标本中的 HGV 基因片段, 引物的敏感性依次为 5' - NCR > NS3 > E2。HGV 感染的血清学检测方法目前尚不成熟, 由于 E2 抗体的出现同 HGV RNA 的消失相关, 可将 E2 抗体作为 HGV 感染恢复的重要指标。利用 E2 抗原制备疫苗, 不仅可预防 HGV 感染, 而且有可能用于治疗。现已经利用真核细胞系统表达 E2 抗原并建立了检测 E2 抗体的 ELISA 方法, 但尚未获正式批准进入临床使用。

HGV 仍有很多问题尚待研究, 如是否存在核心蛋白, 是否具肝细胞嗜性, 是否为人类肝炎的致病因子等。鉴于 HGV RNA 在人群中较高的阳性率, 应继续加强对其致病、变异、检测及传播的研究。

二、TT 型肝炎病毒

TT 型肝炎病毒是 1997 年首先从 1 例日本输血后非甲 - 庚型肝炎患者血清中发现的, 该病毒初以患者姓名命名, 现认为可能是一种新型的、与输血传播相关的肝炎病毒 (transfusion transmitted virus, TTV)。

(一) 生物学性状

TTV 为无包膜的单负链环状 DNA 病毒, 病毒体呈球形, 直径为 30 - 50nm, 浮力密度为 1.31 ~ 1.34g/ml, 原归类为微小病毒科 (Parvoviridae), 现认为属于环状病毒科 (Circinoviridae)。TTV 基因组长约 3.8kb, 含有两个开放读码框架 (ORF1 和 ORF2)。

分别编码 770 个和 202 个氨基酸 (图 17-10)。ORF1 的 N 端为富含精氨酸的亲水区, ORF2 编码非结构蛋白。根据 TTV 基因组第 1 902 ~ 2 257 位核苷酸之间的 356bp 序列, 可将 TTV 分为 2 型共 4 个亚型, 即 G1a、G1b、G2a 和 G2b。此段核苷酸有 2 个保守区, 可用于 PCR 引物的设计。

(二) 致病性

TTV 主要通过输血或血制品传播, 致病机制尚不明确。据报道, TTV DNA 在献血员、肝硬化、肝癌和血友病患者中的检出率分别约为 12%, 48%, 39% 及 46%; 在非甲 - 庚型慢性肝炎和非甲 - 庚型暴发型肝炎中的检出率分别约为 46% 和 47%; 在 ALT 正常和异常献血员中的阳性率分别为 16.8% 和 34%; 在急性肝炎、急性暴发型肝炎、亚急性暴发型肝炎、慢性肝炎、活动性肝硬化、慢性重型肝炎和原发性肝癌中的阳性率分别为 30.8%, 12.5%, 42.9%, 33.3%, 22.2%, 25.0% 和 25.0%。TTV 可与 HCV 混合感染, 暂时或持续性伴 ALT 升高, 且 TTV DNA 消长与 ALT 水平正相关。部分 TTV 感染者 ALT 正常, 但肝组织中仍可见灶性坏死、汇管区炎症以及脂肪变性等。除经血传播外, 还可能存在消化道传播, 因在有些患者粪便中检测到 TTV DNA。TTV 可在黑猩猩或猕猴体内传代, 但不引起十分明显且特异性的血清生化或组织病理改变。目前, 对 TTV 的嗜肝性与致病性等正在研究之中。

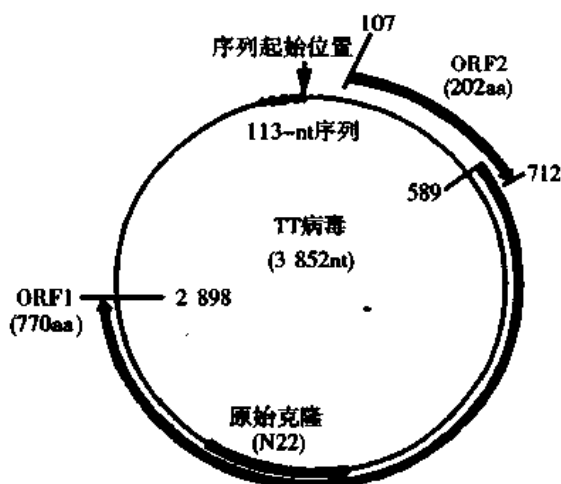


图 17-10 TTV 基因组结构示意图

(三) 微生物学检查法

TTV 感染的实验室诊断主要是采用 PCR 法检测患者血中 TTV DNA。也可采用原位杂交法以地高辛标记的 TTV DNA 作探针, 对疑为 TTV 感染的非甲 - 庚型肝炎患者肝组织进行检测。TTV DNA 主要位于肝细胞核内, 亦存在于肝细胞浆中, 急性期呈弥漫性分布, 慢性化后在汇管区较密集, 慢性活动性肝炎时假小叶内呈不规则片状分布。

第五节 人巨细胞病毒

人巨细胞病毒 (human cytomegalovirus, HCMV) 感染极为普遍, 除少数感染引起传染性单核细胞增多症、巨细胞包涵体病或胎儿先天性疾病等之外, 大多为无临床症状的隐性感染。HCMV 可长期潜伏于体内, 当机体免疫功能低下时, 病毒会被激活而致病。近年发现 HCMV 可能与某些肿瘤如卡波济 (Kaposi) 肉瘤、宫颈癌及前列腺癌等有关。

(一) 生物学性状

1. 形态与结构 HCMV 属疱疹病毒科疱疹病毒亚科, 亦称人疱疹病毒 5 型。病毒

的形态有3种：①典型病毒：直径为180~250nm，有包膜；衣壳直径约100nm，为二十面立体对称。包膜蛋白有 GPUL155 (gB) 和 GPUL75 (gH)，前者与病毒穿入宿主细胞有关，后者与病毒复制有关。衣壳蛋白由主要衣壳蛋白 (MCP) 和次要衣壳蛋白 (mCP) 组成，前者量多；后者量较少，位于衣壳内部，具有锚定基因组 DNA 的作用。在包膜与衣壳之间还有一层被膜，被膜蛋白在病毒基因调控和改变宿主细胞代谢方面有重要作用。②致密体：为缺乏病毒衣壳蛋白的非感染性病毒颗粒，大量存在于细胞质中。③非感染性包膜颗粒：有病毒衣壳与包膜，但无病毒 DNA 核心。HCMV 基因组为线状双股 DNA，由长股 (UL) 与短股 (US) 组成，两股 UL 与两股 US 以不同的方向排列，构成4种不同类型的基因组 (图 17-11)。HCMV 基因组的浮力密度约

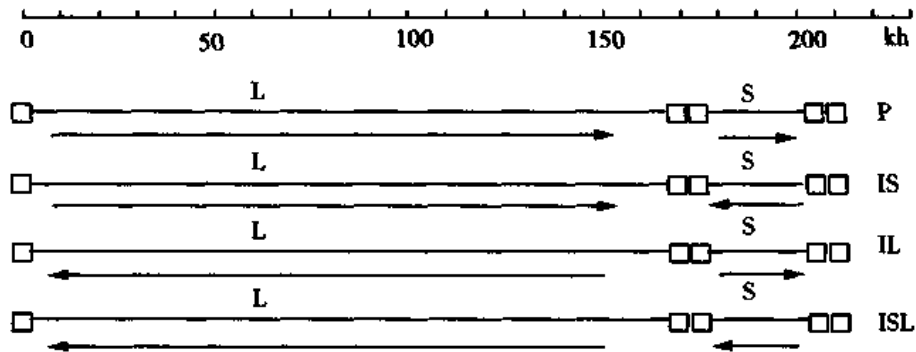


图 17-11 人巨细胞病毒基因组构成类型示意图

注：L. 长独特序列；S. 短独特序列；P. 原型排列；IS. 短序列倒置；IL. 长序列倒置；ISL. 长和短序列均倒置

1.716g/cm³，比宿主细胞 DNA 浮力密度略高，因而可用密度梯度离心法分离病毒 DNA。HCMV DNA 的 G + C 含量约为 58mol%，比 HSV DNA 的 G + C 含量 (68%) 略低。

2. 基因表达产物 HCMV 的基因调控具有时相性，分即刻早期、早期和晚期 3 个时相，DNA 的转录主要由宿主细胞的 RNA 多聚酶 II 完成。

(1) 即刻早期抗原 (immediate early antigen, IEA)：用间接免疫荧光法 (IFA) 可在感染 1h 后测到细胞核内的 IEA。IEA 是病毒编码的调节蛋白，主要有 IE1 和 IE2 两种。前者量多，约由 491 个氨基酸组成；后者量较少，含 338~579 个氨基酸。

(2) 早期抗原 (early antigen, EA)：EA 是重要的功能蛋白，种类较多，其表达依赖于 IE 蛋白的调节，故用 IFA 或免疫过氧化物酶技术 (IPA) 可在 HCMV 感染 6h 的细胞内检测到。EA 的主要作用是关闭宿主细胞 DNA 的复制及合成病毒 DNA 多聚酶，从而诱导病毒的增殖。由于 HCMV 复制缓慢，病毒分离常需 3 周左右，而病毒的 IEA 和 EA 均于感染后迅速出现，所以可用相应抗体检测 IEA 和 EA 进行快速诊断。

(3) 晚期抗原 (late antigen, LA)：晚期蛋白的表达受 IEA 和 EA 的调控，一般要在 HCMV 感染后 36h 方可测到。LA 可引起中和抗体的应答，病毒感染后出现在细胞膜上的病毒蛋白抗原可被宿主免疫系统识别并最终导致细胞破坏，是清除病毒的关键。

3. HCMV 的培养 HCMV 具有种属特异性，人 HCMV 可在人体内感染多种细胞，

但体外仅能在人成纤维细胞中增殖。在细胞培养中接种病毒标本后致细胞病变作用 (CPE) 出现较慢, 需几天至几周 (通常 7~12d), 故可将接种的细胞盲目传代或延长观察时间以发现病毒。HCMV 所致的 CPE 的特点为: 开始时少数细胞变圆、增大, 而后围绕病灶逐渐扩大形成巨大细胞 (该病毒因此而得名), 细胞折光性强, 细胞质内可见折光强的颗粒和核内包涵体。病毒以出芽方式成熟, 存在于细胞培养上清液中。

(二) 致病性

HCMV 感染具有较严格的种属特异性, 人是 HCMV 的唯一宿主。我国成人的 HCMV 抗体阳性率达 90%, 初次感染 (亦称原发性感染) 多发生在 2 岁以下, 常为隐性感染。有些人长期带毒, 成为潜伏感染。潜伏部位主要在唾液腺、乳腺、肾脏及白细胞内, 潜伏病毒被激活导致复发性感染。病毒可通过垂直或水平方式进行传播。

1. 传染源与传播途径 患者与无症状感染者是 HCMV 的主要传染源。病毒可持续或间歇地从唾液、尿、宫颈分泌物及乳汁等处排出。HCMV 的传播途径有:

(1) 母婴传播: 主要包括胎盘、产道和母乳 3 种方式: 经胎盘感染胎儿为先天性垂直传播 (占少数); 经产道或母乳传播为围生期感染 (占多数)。

(2) 水平传播: 包括: ①口腔传播: 主要通过胃肠道与呼吸道受染, 是儿童及青少年的主要传播途径。②生殖道传播: 在同性恋及性传播疾病 (STD) 患者屡见报道, 是成人 HCMV 传播的重要途径。③医源性传播: 包括输血与器官移植。前者通过输血及血制品传播; 后者则通过移植体或大量使用免疫抑制剂而传播。

2. 致病机制 病毒进入机体后, 通过血液传播到全身各器官 (血中的单核或多形核白细胞是 HCMV 扩散的载体), 并从各感染部位排出病毒。病毒的细胞受体尚不清楚, β_2 微球蛋白可能在 HCMV 糖蛋白与细胞受体间起桥梁作用。病毒吸附细胞后可通过病毒包膜与细胞膜融合而穿入细胞。HCMV 与宿主细胞相互作用可导致急性感染、潜伏感染和细胞转化。

(1) 急性感染: 是 HCMV 引起感染细胞死亡所致。先天性感染或免疫缺陷者的原发感染常导致病毒大量增殖、广泛传播而致病, 但在出生后或免疫正常者, 感染后很少出现症状, 这与 HCMV 复制慢及机体的免疫力有关。

(2) 潜伏感染: HCMV 在原发感染后, 可潜伏在体内而不表现临床症状。某些诱因如治疗性免疫抑制可导致病毒激活, 引起复发性感染。

(3) 细胞转化与潜在致癌作用: HCMV 能整合到宿主细胞 DNA 中, 具有潜在的致癌作用。初步证明人类恶性肿瘤如成神经细胞瘤、威尔姆 (Wilm) 瘤、前列腺癌、宫颈癌、睾丸癌、卡波济肉瘤等与 HCMV 有关, 并已从盆腔肿瘤及结肠腺癌中分离出病毒。利用放射性标记的病毒 DNA 进行杂交试验, 亦发现某些癌组织中含有 HCMV 特异的 DNA 序列。

3. 原发感染与复发感染 如上所述, 由于 HCMV 可潜伏在宿主体内, 故 HCMV 感染又有原发感染与复发感染之分, 前者发生在无特异性免疫力的个体, 后者是由潜伏病毒的激活或外源病毒再感染引起。再感染常由抗原性不同的毒株或高感染量的同一毒株所致。

(1) 先天性感染: 孕妇感染 HCMV 后, 病毒可通过胎盘侵袭胎儿, 引起子宫内感

染。病儿表现为肝、脾肿大，血小板减少性紫癜，溶血性贫血，脉络膜视网膜炎和肝炎等，病死率为11%~20%。部分患儿可于出生后数月至数年才出现临床症状，表现为智力低下、耳聋。根据国内报道40例完整资料统计，HCMV先天性感染的新生儿中，小头畸形占60%，视力损害占37.5%，听力丧失占15%。

(2) 围生期感染：一般呈慢性过程，多无明显临床症状，但从尿和咽分泌物中可检出病毒。少数亦可表现为短期的间质性肺炎，颈淋巴结和腹股沟淋巴结肿大，肝、脾轻度肿大等。

(3) 输血感染：输入大量含有HCMV的血液可发生单核细胞增多症及肝炎等。

(4) 免疫缺陷宿主的感染：常发生于器官移植者、白血病、淋巴瘤和艾滋病患者，主要是由于接受长期免疫抑制剂治疗或人类免疫缺陷病毒感染，降低或破坏了机体免疫功能，引起体内潜伏HCMV的激活，导致严重的全身性人HCMV感染。临床表现为间质性肺炎、肝炎，常引起死亡。

(三) 免疫性

1. 体液免疫 HCMV感染后可刺激机体产生IgG、IgM、IgA类抗体及抗HCMV早期与晚期抗原的抗体。在感染后1个月到1年内补体结合抗体表现短时间升高，而后逐渐下降至不能测出的水平。中和抗体虽可维持终生，但在体内的保护作用不强，因病毒血症与中和抗体可以同时存在。再感染和潜伏感染对抗体水平的维持起一定作用。随着年龄的增长，抗体阳性率亦升高，2岁以内的抗体阳性率为14%，25岁为53%，超过35岁约80%可测出抗体。存在IgM抗体及早期抗原的抗体，可作为原发、激活或先天性感染中HCMV复制的标志。IgA不仅可在原发感染中出现，也可在复发感染或再感染中出现，是早期感染的信号。母亲的抗体不能降低宫内或围生期获得性HCMV感染率，但可使病情减轻，提示体液免疫在防御HCMV感染上虽不起重要作用，但仍具有一定的保护力。

2. 细胞免疫 细胞免疫在限制HCMV播散和潜伏病毒激活中起主要作用。细胞免疫介导的清除作用主要与MHC I类分子限制性CD8⁺淋巴细胞毒(CTL)作用有关。NK细胞在HCMV特异性免疫建立之前有重要作用，但其本身不足以清除病毒。人HCMV特异性CTL可以防御人HCMV感染，特异性CTL可用于移植后HCMV感染的治疗。由于细胞免疫在控制HCMV感染中起重要作用，故细胞免疫功能缺陷者是HCMV感染的高危人群。

HCMV感染也可引起机体免疫功能受损或导致免疫抑制，引起外周血中Th细胞数降低和Ts细胞数升高，表现为Th和Ts细胞比例倒置。总之，HCMV感染的恢复依靠机体的免疫；而感染本身又抑制机体的免疫应答。

(四) 诊断

1. 病毒分离 最常用的标本是尿、血液及咽部或宫颈分泌物，标本接种于人胚肺成纤维细胞，CPE出现的迟早与标本中病毒含量有关，一般需培养观察1~2周。

2. 病毒抗原检测 应用特异性抗体以ELISA、RIA或IFA检测标本中病毒抗原，可以进行HCMV感染的快速诊断，具有高敏感性和特异性的优点。

3. 细胞学检查 组织标本或尿液标本(离心后取沉渣)涂片，经姬姆萨染色，观

察巨大细胞及其核内的嗜酸性包涵体。该法简便快速，可用于辅助诊断。

4. 病毒基因组检测 采用核酸原位杂交法检测组织切片中的 HCMV 基因组核酸，用定性或定量 PCR 法扩增血液等标本中的 HCMV DNA。基因组检测的阳性率高于细胞培养法，对潜伏感染者亦能检出。

5. 抗体检测 检查 HCMV 抗体的方法较多，目前常用 ELISA 检查血清或分泌物中的 IgG、IgM 及 IgA。IgG 检测可用于了解人群感染率，使用双份血清亦可用于临床诊断。IgM 和 IgA 的检测常用于活动性 HCMV 感染的诊断。

(五) 特异防治

抗 HCMV 感染的化学药物主要是核苷类似物或结构类似物如丙氧鸟苷 (GCV) 和磷甲酸等。用 HCMV 特异性转移因子、高价免疫球蛋白和干扰素治疗活动性 HCMV 感染，可使 HCMV 抗体转阴，也有一定的疗效。

HCMV 感染的预防主要用于接受器官或骨髓移植者。GCV 和磷甲酸有一定预防效果。减毒活疫苗 (Towne) 可诱生与自然感染相似的体液与细胞免疫应答，能预防或减轻免疫抑制患者的 HCMV 感染。

展 望

近 10 年来，由于检测方法的改进及对献血员的严格筛查，经输血或血制品传播疾病的发生率明显降低。我国目前对献血员的筛查主要是检测 HBsAg 及抗-HCV、HIV 和苍白密螺旋体，其他经输血或血制品传播的微生物检测尚未作为献血员筛查的必检项目。

即使是已经列入必检项目的指标也可能出现漏检 (假阴性)。这是因为：①在病原微生物建立感染与血清学转换 (出现抗原或产生抗体) 之间存在“窗口期”，这段时间短则 1~2 周，长则 1~2 月。②在某些免疫力低下的慢性或持续性感染者中，抗体产生能力下降，造成血中微生物基因组检测阳性而抗体检测为阴性。③受基因突变的变异株感染，造成表达的微生物抗原不能被现有的抗体试剂检出。④病原微生物在血清及肝脏内已被清除，但可在血中单个核细胞 (PBMC) 内潜伏与复制，造成输血传播感染。⑤经血传播的新病原微生物不断出现，如近年来发现的 HGV 和 TTV 等，尚缺乏检测试剂。⑥现有检测试剂的敏感性不够，不能检出含量极少的病原微生物标志物。由于以上原因，经输血或血制品传播疾病的危险性仍然存在，应引起高度重视。

(戚中田)

第十八章 中枢神经系统感染的微生物

细菌、病毒、真菌及朊粒等多种微生物可侵犯脑脊髓实质、被膜及血管，引起中枢神经系统感染（表 18-1）。根据感染的部位及临床特点不同，中枢神经系统感染可分为：①急性脑脊髓膜炎或急性脑炎；②慢性脑脊髓膜炎或慢性脑炎；③中枢神经系统慢性感染等。引起急性脑脊髓膜炎最常见的细菌为脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌及流感杆菌等，最常见的病毒为柯萨奇病毒、埃可病毒、圣路易脑炎病毒、加利福尼亚脑炎病毒、科罗拉多婢热病毒、流行性腮腺炎病毒、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒及疱疹病毒等。此外，螺旋体、立克次体等也可引起急性脑脊髓膜炎。引起急性脑炎最常见的病原体有脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒、埃可病毒、流行性乙型脑炎病毒、森林脑炎病毒、圣路易脑炎病毒、黄热病病毒及布尼亚病毒等。引起慢性脑膜炎最常见的病原体有结核杆菌及新型隐球菌等。中枢神经系统慢性感染是指潜伏期长达数年至数十年，亚急性或慢性起病，进行性加重，最终导致死亡的感染，最常见的病原体有朊粒、风疹病毒、麻疹病毒等。

表 18-1 引起中枢神经系统感染常见的微生物

病原体	所致疾病
脑膜炎奈瑟菌	流行性脑脊髓膜炎
肺炎链球菌	急性脑膜炎
流感嗜血杆菌	急性脑膜炎
产单核细胞李斯特菌	急性脑膜炎
结核杆菌	慢性脑膜炎
脊髓灰质炎病毒	脊髓灰质炎
柯萨奇病毒	脑膜炎、类脊髓灰质炎
埃可病毒	脑膜炎、类脊髓灰质炎
肠道病毒 71 型	脑膜炎、脑炎
腮腺炎病毒	脑膜炎
流行性乙型脑炎病毒	流行性乙型脑炎
森林脑炎病毒	森林脑炎
圣路易脑炎病毒	急性脑膜脑炎
加利福尼亚脑炎病毒	急性脑膜脑炎
东方脑炎病毒	急性脑膜脑炎
西方脑炎病毒	急性脑膜脑炎
科罗拉多婢热	急性脑膜脑炎

病原体	所致疾病
西尼罗病毒	急性脑膜脑炎
尼派(Nipah)病毒	急性脑炎
淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒	急性脑膜、脉络膜炎
风疹病毒	进行性风疹全脑炎
单纯疱疹病毒 1 型	疱疹性脑膜脑炎
人类疱疹病毒 6 型	HHV-6 脑膜脑炎
水痘带状疱疹病毒	急性脑膜脑炎
巨细胞病毒	急性脑膜脑炎
HIV	急性脑膜炎
狂犬病毒	弥漫性脑脊髓炎
麻疹病毒	亚急性硬化性全脑炎(SSPE)
新生隐球菌	慢性脑膜炎
念珠菌	慢性脑膜炎
梅毒螺旋体	脑和脊髓闭塞性动脉内膜炎
伯氏疏螺旋体	急性脑膜脑炎、周围神经炎
朊粒	传染性海绵状脑病

病原体感染中枢神经系统后,可选择性地侵犯特定的神经组织,表现出特异性的神经功能障碍。如脊髓灰质炎病毒选择性的侵犯脊髓前角,腰部好发,引起急性脊髓前角灰质炎,出现肢体的弛缓性麻痹。狂犬病病毒侵犯运动神经元,干扰中枢内递质传递,造成痉挛和吞咽困难等症状。单纯疱疹病毒常损害颞叶,产生精神症状或颞叶癫痫。而带状疱疹病毒常累及感觉神经元如脊神经背根神经节及三叉神经节,引起相应区域疼痛和麻木。

本章重点介绍脑膜炎奈瑟菌、流行性乙型脑炎病毒及朊粒。

第一节 脑膜炎奈瑟菌

脑膜炎奈瑟菌 (*Neisseria meningitidis*), 又称为脑膜炎球菌 (*meningococcus*), 是流行性脑脊髓膜炎 (简称流脑) 的病原菌。

一、生物学性状

(一) 形态与染色

脑膜炎奈瑟菌为革兰染色阴性球菌,直径一般为 $0.6 \sim 0.8 \mu\text{m}$, 菌体呈肾形或豆形,常成双排列,菌体接触面呈扁平状或略凹陷,人工培养后常呈球形或卵圆形,大小不一。在患者脑脊液中,脑膜炎奈瑟菌常位于中性粒细胞内,单个或成双排列(图18-1)。

患者的血液、皮肤瘀点中亦可发现该菌。该菌无芽胞,无鞭毛,新分离的菌株大多

有荚膜和菌毛。

(二) 培养特性

脑膜炎奈瑟菌营养要求高，对蛋白胨及琼脂中所含的脂肪酸和金属离子等抑制剂敏感，所以在普通培养基上不能生长。若在培养基中加入血清、血液或将血琼脂培养基加热，则可解除这些物质的抑制作用。常用培养基为经过 80℃ 加热的血琼脂培养基，由于加热后培养基呈巧克力色，故称为巧克力培养基。本菌专性需氧，在 5% ~ 10% CO₂、50% 湿度的培养条件下生长良好。最适生长温度为 37℃，低于 30℃ 或高于 40℃ 均不生长。最适 pH 为 7.4 ~ 7.6。在巧克力

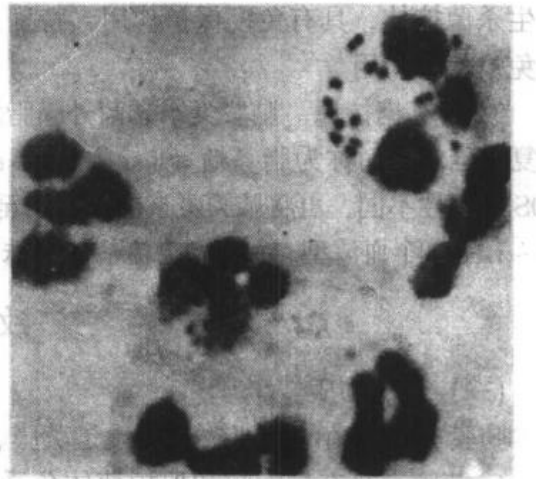


图 18-1 脑膜炎奈瑟菌

平板或血琼脂平板上经 37℃ 24h 的培养，可长出直径 1.0 ~ 1.5mm、圆形、凸起、光滑、湿润、透明、灰白色的露滴状菌落，不溶血。在血清肉汤培养基中呈混浊生长。该菌能产生自溶酶，若培养时间超过 48h，菌体易裂解自溶，因此培养物需及时转种。

(三) 生化反应

脑膜炎奈瑟菌一般能分解葡萄糖和麦芽糖，产酸不产气。不分解果糖、乳糖、甘露糖和蔗糖。氧化酶和触酶阳性。

(四) 抵抗力

脑膜炎奈瑟菌抵抗力很弱，对寒冷、日光、热、干燥及常用消毒剂均很敏感。在室温中 3h 即死亡，55℃ 10min 即被破坏。在 1% 石炭酸、75% 酒精或 0.1% 新洁尔灭中数分钟内死亡。对青霉素、链霉素、氯霉素等抗生素敏感，对磺胺普遍耐药。由于脑膜炎球菌对外界抵抗力弱，又可产生自溶酶，因此在临床标本采集和送检过程中要注意保温及防干燥并及时送检，最好作床边接种。

(五) 抗原成分及分类

1. 荚膜多糖抗原 具有群特异性，根据荚膜多糖抗原成分的不同，可将脑膜炎奈瑟菌分为 A、B、C、D、X、Y、Z、29E、W135、H、I、K 和 L 等 13 个血清群。其中 H、I、K 血清群是由我国发现的。目前在世界范围内引起流行的主要是 A、B、C 血清群。不同的国家和地区流行的菌群有明显的不同，我国一直以 A 群为主，近年来亦发现由 B 群所致的散发性病例。美国、欧洲及东南亚一些国家目前主要以 B 群和 C 群流行为主，非洲和南美主要是 A 群和 C 群。个别病例可由 X、Y 血清群引起，Z、29E 很少致病，H、I、K 未发现致病性。A、C、Y 和 W135 等荚膜多糖抗原具有良好的免疫原性，可刺激机体产生特异性杀菌抗体，是制备疫苗的首选抗原。B 群荚膜多糖不具免疫原性，不能用于制备疫苗。

2. 外膜蛋白抗原 外膜蛋白是脑膜炎奈瑟菌重要的抗原成分，根据其分子量大小和对热的稳定性等不同，可将外膜蛋白分为 1、2、3、4、5 五大类，其中第 2 类和第 3 类蛋白用于分型，第 1 类和第 5 类蛋白用于分亚型，第 4 类蛋白不能诱导产生特异性抗体，因而不能用于分型或分亚型。根据 2/3 类外膜蛋白的不同，可将 B 群和 C 群脑膜

炎奈瑟菌分为 18 个型，但 A 群只有单一的血清型。1、2、3、5 类外膜蛋白可刺激机体产生杀菌抗体，具有免疫保护作用，特别是 1 类蛋白免疫保护作用最强。第 4 类蛋白不具免疫保护作用。

3. 脂寡糖抗原 脑膜炎奈瑟菌外膜脂多糖的化学结构缺乏长的多糖侧链只有寡聚糖重复单位，因而称为脂寡糖 (lipo-oligo-saccharide, LOS)。LOS 为型特异性抗原，根据 LOS 抗原性不同，可将脑膜炎奈瑟菌分为至少 L1~L12 血清型。A 群脑膜炎奈瑟菌至少有 L9~L11 三个血清型，L10 型为流行优势株。LOS 可刺激机体产生补体结合抗体。

二、致病性

(一) 致病物质

脑膜炎奈瑟菌的主要致病物质是荚膜、菌毛和内毒素。

1. 荚膜 具有抗吞噬和保护菌体免受体液中杀菌物质的损伤作用，有利于细菌在体内存活和繁殖。

2. 菌毛 鼻咽部粘膜上皮细胞表面具有大量的脑膜炎奈瑟菌菌毛特异性受体。菌毛与特异性受体结合后可介导菌体粘附于呼吸道上皮细胞表面，有利于细菌的粘附和侵入，并损伤粘膜上皮细胞。

3. 内毒素 是脑膜炎奈瑟菌最重要的致病物，可引起发热及小血管和毛细血管内皮细胞损伤、局部血管栓塞及出血，出现出血性皮疹或瘀斑。严重败血症时，因大量内毒素释放，可导致中毒性休克及 DIC。

(二) 所致疾病

脑膜炎奈瑟菌主要引起流行性脑脊髓膜炎。该菌主要寄居于人类鼻咽部，人群携带率 5%~10%，一半以上为无荚膜菌株。流行期间，人群的携带率可高达 20%~90%，且大多为有荚膜的菌株。带菌者和病人均可作为传染源。脑膜炎奈瑟菌经空气飞沫传播，易感人群为特异性杀菌抗体水平低下的成人及儿童，以 5 岁以下的儿童发病为主，6 个月~2 岁的婴儿发病率最高。潜伏期 1~10d，一般为 2~3d。其致病过程可分为 3 个阶段：首先，细菌通过菌毛粘附于鼻咽部上皮细胞表面，引起局部感染，出现上呼吸道症状；然后细菌进入血流，引起菌血症或败血症，出现恶寒、发热、恶心、呕吐，皮肤出现出血性皮疹及肝脾肿大等全身中毒症状。最后细菌通过血流或通过筛板-嗅神经鞘-蛛网膜下腔的途径到达脑脊髓膜，引起化脓性脑脊髓膜炎，临床上出现头痛、喷射状呕吐、颈项强直等症状和体征。严重者可表现为爆发型脑膜炎，病人起病急，病情凶险，常在 1~2d 内出现爆发性紫癜、周围循环衰竭、内毒素休克、DIC 及严重的中枢神经系统症状，死亡率高达 40%~60%。绝大部分感染者仅停留在上呼吸道感染阶段，成为带菌者，仅 2%~3% 的感染者发展成菌血症、败血症或化脓性脑脊髓膜炎，其中 10%~20% 的病人发展成爆发型脑膜炎。

三、免疫性

机体对脑膜炎奈瑟菌的免疫力以体液免疫为主。体内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。分泌型 IgA 可阻止脑膜炎奈瑟菌对呼吸道粘膜上皮

细胞的侵袭，血中抗体在补体参与下能杀伤脑膜炎奈瑟菌。成人因隐性感染获得免疫力，所以感染后大多数成为带菌状态。婴儿通过胎盘自母体获得被动免疫力，所以6个月以内的婴儿发病率很低，6个月以后，因来自母体的抗体水平逐渐下降，对疾病的易感性逐渐增加。此外，机体可通过与脑膜炎奈瑟菌有共同抗原的某些细菌的感染而获得交叉免疫力。

四、微生物学检查

1. 直接涂片镜检

(1) 脑脊液检查：脑脊液经离心沉淀后，取沉淀物涂片，革兰染色后镜检，在中性粒细胞内、外发现革兰阴性双球菌即可作出初步诊断，阳性率达60%~70%。

(2) 皮肤瘀斑检查：用针尖刺破瘀斑，挤出少量血液及组织液，涂片及革兰染色后镜检，阳性率可达80%。

2. 细菌分离培养与鉴定 用于细菌分离培养的标本一般采集脑脊液或血液，带菌者检查可用鼻咽拭子。由于脑膜炎奈瑟菌对外界因素极敏感，所以标本采集后应注意保暖保湿并立即送检，最好是作床边接种。采集的脑脊液、血液先在葡萄糖肉汤中增菌后再接种到预温的巧克力平板上，在37℃ 5%~10% CO₂条件下培养18~24h，挑选可疑菌落涂片染色镜检，并进行生化反应和玻片凝集试验。在使用抗生素前进行细菌的分离培养阳性率较高。

3. 快速诊断法 在疾病的早期或使用抗生素后，因菌体数量不多，分离培养阳性率不高，用快速诊断法检测病人脑脊液或血清中的可溶性荚膜多糖抗原可协助诊断。常用的快速诊断方法有：

(1) 对流免疫电泳：本法阳性率为80%以上，特异性高，在1h内出结果，可用于早期快速诊断。

(2) 胶乳凝集试验：阳性率为85%~93%，能测出微量抗原成分。

(3) 聚合酶链反应：用于检测病人血中或脑脊液中存在的脑膜炎奈瑟菌DNA。

(4) SPA协同凝集试验：用脑膜炎奈瑟菌特异性IgG标记富含SPA的葡萄球菌菌体，可与待测标本中的脑膜炎奈瑟菌可溶性抗原形成肉眼可见的凝集现象。采用微量外周血检测，阳性率可达91.7%。

五、防治原则

流行性脑脊髓膜炎的特异性预防可用荚膜多糖疫苗。目前国外已研制成功的荚膜多糖疫苗有A、C、Y、W135群的单价疫苗、A和C群的双价疫苗，以及A、C、Y和W135群的四价疫苗。我国流行的菌群以A群为主，所以，目前我国使用的疫苗为脑膜炎奈瑟菌A群疫苗，保护率可达90%，免疫力维持3年以上。但荚膜多糖抗原对2岁以下的婴幼儿免疫效果不佳。因为脑膜炎奈瑟菌荚膜多糖抗原与其他细菌荚膜多糖抗原一样，是非T细胞依赖抗原，效果与接种年龄有明显的相关性。2岁以下的婴幼儿免疫系统发育不完善，接种疫苗后仅产生短暂的IgM抗体，而且不引起回忆反应，因此免疫原性差。至今尚无安全有效的疫苗用于预防B群菌感染。

发现病人要早期隔离治疗。治疗首选青霉素和磺胺类药。

第二节 流行性乙型脑炎病毒

流行性乙型脑炎病毒 (encephalitis B) 简称乙脑病毒, 因 1935 年首先由日本学者从脑炎死亡者脑组织中分离到, 故国际上称为日本脑炎病毒 (Japanese encephalitis virus)。乙脑病毒经蚊媒传播, 引起流行性乙型脑炎 (简称乙脑), 是我国及亚洲地区的严重传染病。病毒主要侵犯中枢神经系统, 严重者病死率高, 幸存者常留下神经系统后遗症。目前我国对易感人群进行了广泛的疫苗接种, 乙脑的发病率已显著下降。

一、生物学性状

乙脑病毒属于黄病毒科的黄病毒属。病毒颗粒呈球形, 直径 30 ~ 40nm, 有包膜, 核衣壳呈二十面体立体对称。病毒核酸为单正链 RNA, 基因组全长 10 976 bp, 5' 末端和 3' 末端为非编码区, 中间是一个长的开放读码框 (ORF), 含 1 029 个核苷酸。ORF 编码病毒的 3 种结构蛋白 (C、PrM、E) 和至少 7 种非结构蛋白 (NS)。编码结构蛋白和非结构蛋白基因的次序为:

5' - C - PrM - E - NS1 - NS2a - NS2b - NS3 - NS4a - NS4b - NS5 - 3' (图 18-2)。

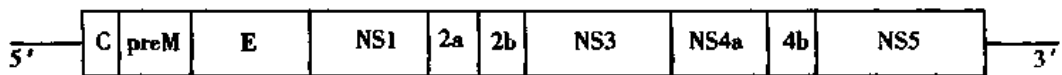


图 18-2 流行性乙脑病毒基因结构图

在病毒复制过程中, 病毒基因组先转译一个由 3 432 个氨基酸组成的多蛋白前体, 然后再经蛋白酶切割加工成 3 种结构蛋白及至少 7 种非结构蛋白。3 种结构蛋白分别是衣壳蛋白 C、膜蛋白 M 的前体蛋白 (PrM) 和包膜蛋白 E。E 蛋白和 M 蛋白均为糖基化蛋白。在转译过程中, 基因组并不直接转译 M 蛋白, 而是先转译成 PrM, 然后再加工成 M 蛋白。E 蛋白是主要的包膜蛋白, 含中和抗原决定簇和血凝素, 能凝集雏鸡、鸽及鹅的红细胞。非结构蛋白包括 NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b 和 NS5。其中 NS3 具有聚合酶和解旋酶的功能。NS5 为聚合酶。NS1 存在于感染细胞表面, 能诱导产生细胞免疫, 但不能诱导产生中和抗体。

乙脑病毒抗原性稳定, 较少变异, 不同地区不同时期分离的病毒株之间无明显差异, 迄今只发现一种血清型, 故疫苗预防效果良好。主要的抗原成分为 E 蛋白, 这种蛋白与其他黄病毒成员如圣路易脑炎病毒 (St. Louis encephalitis virus) 和西尼罗病毒 (West Nile virus) 有交叉抗原性。E 蛋白和 NS5 可诱导产生特异性中和抗体。M 和 C 蛋白虽具有抗原性, 但在病毒的致病和免疫上不起重要作用。

乙脑病毒能在地鼠肾、猪肾、鸡胚等原代细胞中增殖, 在白纹伊蚊 C6/36、Vero 及 BHK21 等传代细胞中也能增殖, 并引起明显的细胞病变。最易感的动物为乳小鼠, 经脑内接种乙脑病毒后, 常于感染后 3 ~ 5d 发病, 表现为典型的神经系统症状, 如兴奋性增高、肢体痉挛等, 最后因麻痹而死亡, 感染乳鼠的脑组织中含有大量的病毒。

乙脑病毒对酸、乙醚和氯仿等脂溶剂敏感，不耐热，56℃ 30min、100℃ 2min 均可使之灭活。对化学消毒剂也较敏感，在 3%~5% 的苯酚溶液中 1~2min 失活。

二、流行病学特点

传染源 乙脑病毒的传染源是带毒的蚊子和家畜如猪、牛、马、驴、羊等。在我国，幼猪是最重要的传染源和中间宿主，因为猪的生活周期短，新生的幼猪缺乏免疫力，具有高的感染率和高滴度的病毒血症，经过流行季节的幼猪，感染率可达 100%。猪的感染高峰期比人群流行早约 3 周，因此可通过检查猪的感染率预测当年的流行趋势。人感染病毒后仅发生短暂的病毒血症，且血中病毒滴度不高，所以病人不是主要的传染源。此外，在日本和我国台湾省曾多次从蝙蝠中分离到乙脑病毒，蝙蝠经蚊子叮咬后可出现长达 6d 的病毒血症，但不发病，因此认为蝙蝠亦可作为乙脑病毒的传染源和长期宿主。

传播媒介 在中国、日本和朝鲜，乙脑病毒的传播媒介主要是三带喙库蚊，此外致乏库蚊、白纹伊蚊、螻蛄及尖螻等亦可作为传播媒介。由于蚊子可携带病毒越冬并可经卵传代，因此蚊子不仅是传播媒介又是重要的储存宿主。

流行特征 东南亚和西太平洋地区是乙脑的主要流行区，每年病例有 5 万以上。我国除青海、新疆及西藏外均有乙脑流行。随着疫苗的广泛接种以及社会和经济的发展，我国的乙脑发病率已逐年下降，某些国家如日本等国的乙脑流行正在被消灭。但近年来也出现了一些新的流行区，并引起爆发流行。乙脑的流行有明显的季节性，以夏、秋季流行为主。一般在 4~5 月份开始，9~10 月份结束，80%~90% 的病例出现在 7、8、9 三个月。我国华南地区的流行高峰期在 6~7 月，华北地区为 7~8 月，东北地区则为 8~9 月，都与各地区蚊子密度的高峰期相一致。易感者主要是 10 岁以下的儿童，尤以 2~9 岁年龄组发病为多。近年来由于在儿童中普遍接种疫苗，故成年人和老年人的发病率相对增高。

流行环节 蚊子吸血后，病毒先在其肠管细胞中增殖，然后移行至唾液腺，经叮咬猪、牛、羊、马等家畜或禽类而传播。动物感染病毒后，一般只有短暂的病毒血症，不出现明显的症状及体征。但在病毒血症期间的动物则可成为更多蚊子的传染源。病毒通过蚊子作为传播媒介而在蚊-动物-蚊中不断循环，其间带毒蚊子若叮咬易感的人则可引起人的感染。

三、致病性与免疫性

病毒经带毒蚊子叮咬进入人体后，先在皮肤毛细血管内皮细胞和局部淋巴结等处增殖。随后少量病毒入血，引起第一次病毒血症。病毒随血流播散到肝、脾等处的单核巨噬细胞中继续大量增殖后，再次入血，引起第二次病毒血症，出现发热、寒战、全身不适等症状。绝大多数感染者病情不再继续发展，成为顿挫感染。少数免疫力不强的病人，病毒可突破血脑屏障侵犯中枢神经系统在脑组织内增殖，引起脑实质和脑膜炎症。临床上，病人可表现出轻型、普通型、重型及极重型，轻型和普通型的患者多可顺利恢复，重型和极重型患者出现高热、昏睡、惊厥、抽搐、头痛、呕吐、颈项强直、脑膜刺激征等神经系统症状和体征，并可进一步发展为昏迷、中枢性呼吸衰竭或脑疝等，病死率可高达 10%~

40%。幸存者 5%~20%可留下后遗症，表现为痴呆、失语、瘫痪等。

乙脑病毒感染的免疫以体液免疫为主，但完整的血脑屏障和细胞免疫也起重要作用。感染后一周左右即产生 IgM 型中和抗体，感染后 2 周 IgM 型抗体达高峰，并出现 IgG 型中和抗体及血凝抑制抗体。IgG 型抗体维持时间长，可达数年之久。感染后 3~4 周可出现补体结合抗体，但这类抗体无免疫保护作用，半年后逐渐消失。乙脑病后免疫力稳定而持久，隐性感染同样可获得免疫力。

四、微生物学检查法

病毒的分离 乙脑病毒的分离培养可用细胞培养法或乳鼠脑内接种法。由于乙脑病毒主要存在于脑组织中，因此将发病初期患者的脑脊液和尸检脑组织接种于 C6/36、BHK-21 等传代细胞中，可分离培养出乙脑病毒。阳性结果的判断可用细胞病变、红细胞吸附试验或单克隆抗体免疫荧光试验等方法。乳鼠脑内接种法分离病毒的敏感性低于细胞分离培养法。

病毒抗原检测 可用免疫荧光或 ELISA 技术检测发病初期患者血液或脑脊液中的乙脑病毒抗原，阳性结果有早期诊断意义。

血清学试验 主要用于检测乙脑抗体。由于正常人亦可存在乙脑抗体，因此必须采集发病早期和恢复期双份血清，抗体效价呈 4 倍以上升高才有诊断价值。

1. 特异性 IgM 抗体测定 乙脑病毒特异性 IgM 抗体一般在感染后 4d 开始出现，2~3 周达高峰，采用 IgM 抗体捕获的 ELISA 法检测病人血清或脑脊液中的特异性 IgM 抗体，阳性率可达 90% 以上，因此可用于早期快速诊断。

2. 补体结合试验 是传统的乙脑病毒血清学诊断方法，用于检测血清中特异性补体结合抗体。这种抗体一般于发病后第 2 周出现，3~5 周达高峰，维持 1 年左右后消失，故不能用于早期诊断，一般用于回顾性诊断和流行病学调查。

3. 中和试验 本试验的特异性及敏感性均较高，但因中和抗体在发病的第 2 周出现，维持时间可长达 2~10 年，故不用于临床诊断，一般仅用于流行病学调查或新分离病毒的鉴定。

4. 血凝抑制试验 血凝抑制抗体出现较早，一般于病后第 5d 出现，2 周时达高峰，维持时间达 1 年以上，因此可用于临床诊断和流行病学调查。血凝抑制抗体与某些黄病毒成员有弱的交叉抗原性，因此血凝抑制试验有时会出现假阳性结果。

五、防治原则

对乙型脑炎尚无有效的治疗方法，所以预防显得特别重要。预防乙型脑炎的关键措施包括防蚊灭蚊、疫苗接种和动物宿主的管理。

目前国际上使用的疫苗主要是鼠脑来源的乙脑病毒灭活疫苗，其免疫效果佳，安全性好。我国普遍使用的疫苗是地鼠肾细胞培养的灭活疫苗，其免疫效果好，接种后免疫保护率达 60%~90%。一般在流行前 1~2 个月接种，初次接种采取皮下注射 2 次，间隔 7~10d，其后于 2、3、7、13 岁时分别再加强接种 1 次。完成全程免疫后可获得持久的免疫力。1988 年我国研制成功并生产地鼠肾细胞减毒活疫苗 (SA-14-14-2)，近年来对 1~

15 岁儿童的大规模免疫接种，1 次接种后抗体阳转率达 85% 以上，一年后加强免疫一次，中和抗体阳转率可高达 94% ~ 100%。该疫苗安全、价廉、免疫效果好，在我国将会逐渐普遍使用。

猪是乙脑病毒主要传染源和中间宿主，在我国农村地区，人和猪关系密切，因此必须做好猪的管理工作，有条件时可给幼猪接种疫苗，减少幼猪感染乙脑病毒，从而降低乙脑的发病率。

第三节 朊 粒

朊粒 (prion) 又称传染性蛋白粒子或朊病毒，是一种不同于细菌、病毒或类病毒的在分类上尚未定论的病原因子。其本质为由正常宿主细胞基因编码的、构象异常的蛋白质，称为朊蛋白 (prion protine, PrP)，目前尚未检出任何核酸成分，是人和动物的传染性海绵状脑病 (transmissible spongiform encephalopathy, TSEs) 的病原体。prion 一词首先由美国学者 Prusiner 于 1982 年提出，由 protinaceous infection particle 的字头组成。Prusiner 因在 prion 研究中的杰出贡献而获得 1997 年诺贝尔生理学 and 医学奖。

一、生物学性状

大量的研究证明，prion 是一种不含核酸和脂类的疏水性糖蛋白，分子量为 $27 \sim 30 \times 10^3$ ，因此又称为 PrP 27 ~ 30。PrP 27 ~ 30 存在两种不同的分子构型，一种构型的三维结构具有 4 个 α -螺旋，没有 β 折叠。这种类型存在于正常组织及感染动物的组织中，是正常基因的产物，在通常情况下是无害的，称为细胞朊蛋白 (cellular PrP, PrP^C)。另一种构型的 2 个 α -螺旋转换为 4 个 β 折叠 (图 18-3)，仅存在于感染动物的组织中，称为羊痒疫朊蛋白 (scrapie prion protine, PrP^{Sc})，与致病和传染有关。PrP^C 对蛋白酶 K 敏感而 PrP^{Sc} 对蛋白酶 K 有抗性。PrP 与目前已知的任何蛋白质都不具同源性，可能是一个独立的蛋白家族。

利用分子探针技术证明，人类 PrP 基因位于第 20 号染色体的短臂上，小鼠 PrP 基因则位于第 2 号染色体上，序列分析结果表明两者的同源性高达 90%。人类的 PrP 基因有一个内含子和一个外显子，含单一的读码框，编码 PrP^C 前体蛋白。这种前体蛋白合成后被输送到细胞表面，经过一系列的翻译后修饰过程而转变为 PrP^{Sc}。在家族性 prion 疾病的家系中已发现 PrP 基因变异，多为重复片段的插入或点突变。转基因动物的实验证明，prion 基因变异可导致传染性海绵状脑病。关于 PrP 的

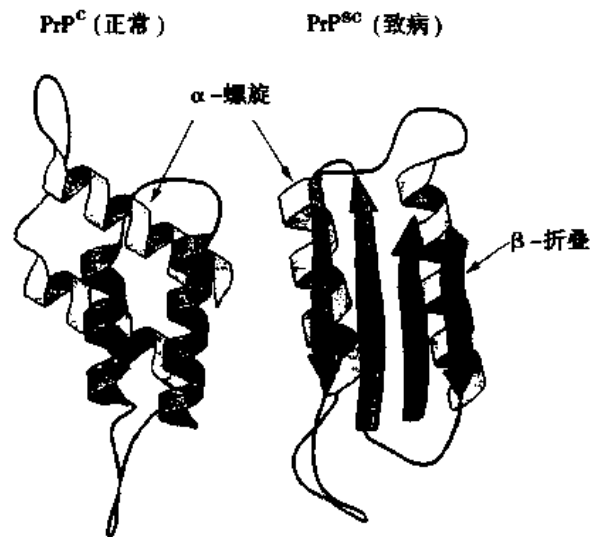


图 18-3 羊痒疫病 PrP^C 与 PrP^{Sc} 的三维结构

PrP^C 前体蛋白。这种前体蛋白合成后被输送到细胞表面，经过一系列的翻译后修饰过程而转变为 PrP^{Sc}。在家族性 prion 疾病的家系中已发现 PrP 基因变异，多为重复片段的插入或点突变。转基因动物的实验证明，prion 基因变异可导致传染性海绵状脑病。关于 PrP 的

增殖机制,目前尚不清楚,最近,已证明 PrP 在酵母细胞内能诱导酵母细胞蛋白质变构和聚集,成为致病性蛋白质。

二、致病性与免疫性

Prion 病是一种人和动物的致死性中枢神经系统慢性退行性疾病,这类疾病的共同特征是潜伏期长,可达数年至数十年之久,一旦发病即呈慢性进行性发展,最终死亡。其病理特点是中枢神经细胞空泡化、弥漫性神经细胞缺失、胶质细胞增生、淀粉样斑块形成、脑组织海绵状改变等。临床上出现痴呆、共济失调、震颤等中枢神经系统症状。Prion 的致病机制尚未明了,目前认为,PrP^{sc}转变为 PrP^{sup}是疾病发生的基本条件,PrP^{sup}在中枢神经系统细胞内聚集而导致疾病的发生。

目前已知的人和动物的 Prion 病见表 18-2。

表 18-2 人和动物 Prion 病

动物 Prion 病
羊瘙痒病(scrapie of sheep and goat)
水貂传染性脑病(transmissible mink encephalopathy, TMM)
鹿慢性消瘦症(chronic wasting disease of deer, CWD)
牛海绵状脑病(bovine spongiform encephalopathy, BSE)
猫海绵状脑病(feline spongiform encephalopathy, FSE)
人类 Prion 病
库鲁病(Kuru disease)
克-雅病(Creutzfeldt-Jakob disease, CJD)
格斯特曼综合征(Grestmann-Straussler Syndrome, GSS)
致死性家族失眠症(fatal familial insomnia, FFI)
克-雅病变种(variant CJD, v-CJD)

1. 羊瘙痒病(scrapie of sheep and goat) 是第一个被发现的传染性海绵状脑病,发生在绵羊和山羊,在欧洲已流行了近 300 年,其他养羊国家也不同程度地存在此病。感染动物表现为消瘦、步态不稳、脱毛、麻痹等,并因患病羊只由于瘙痒而常在围栏上摩擦身体而得名,病死率极高。病理特征为中枢神经系统细胞空泡化,神经细胞缺失,胶质细胞增生,淀粉样斑块形成等典型海绵状脑病的病理改变。

羊瘙痒病可通过病变组织人工感染实验动物,建立小鼠、仓鼠等实验动物模型。

2. 牛海绵状脑病(bovine spongiform encephalopathy, BSE) 俗称疯牛病(mad cow disease),是一种新出现的传染性海绵状脑病,1986 年首次在英国报道。目前疯牛病已蔓延到欧洲 13 个国家,至 2000 年底,已有超过 18 万头牛受感染。该病潜伏期 4~5 年,牛只一般在初生 6 个月间被感染,到 2 岁开始发病,3 岁龄发病明显增加,4~5 岁龄发病达高峰。发病初期表现为体质变差,体重减轻,产奶量下降等非特异性症状。随后神经系统症状逐步明显,出现运动失调、震颤等,由于病牛常表现出感觉过敏、恐惧甚至狂乱,因此俗称“疯牛病”。病理变化主要集中在中枢神经系统,表现为脑干区神经元空泡化变性及

灰质区神经纤维特征性海绵样病变，最严重的病变部位在延脑、中脑灰质区及下丘脑。电镜下可见大量特征性异常纤维蛋白。

现在认为，病原体的来源是由于致病因子进入牛只的食物链所致，牛只食用了含羊瘙痒病致病因子的羊骨肉粉或牛骨肉粉而导致疯牛病的蔓延。1988年7月英国政府立法禁止用反刍动物来源的饲料喂养牛只后，疯牛病的发病率已有下降的趋势。

3. 库鲁病 (Kuru disease) 此病是仅发生在巴布新几内亚东部高地讲 Fore 语的土著人中的一种进行性小脑退行性疾病。在 Fore 语中 kuru 为震颤的意思，本病以寒战样震颤为突出的临床表现而得名。病变部位主要在灰质，以小脑最为严重，大脑半球病损广泛，但程度较轻。病理特征为神经细胞破坏，胞质内出现空泡，星形细胞显著增生，小脑颗粒细胞层中出现大量淀粉样斑块，斑块周围出现辐射状纤维。Kuru 病潜伏期漫长，可达 4~30 年之久，但一旦发病就迅速发展，大多在 6~9 个月内死亡。临床特征为以小脑共济失调为主的神经系统症状，患者早期出现发抖、震颤、发音困难、舞蹈症及肌阵挛等。病情呈迅速进行性发展，晚期发展为痴呆，肢体完全瘫痪，最终因吞咽困难、衰竭、感染而死亡。该病最早由 C. Gajdusek 作了详细研究，据此作者而获得 1976 年诺贝尔奖。

4. 克-雅病 (Creutzfeldt-Jakob disease, CJD) 本病又称为皮质纹状体脊髓变性或亚急性海绵状脑病，为人类最常见的传染性海绵状脑病。由 Creutzfeldt 和 Jakob 两位神经病理学家分别于 1920 年和 1921 年首先报道此病，因此称为克-雅病 (Creutzfeldt-Jakob disease, CJD)。本病存在于世界各地，我国广东、长沙及上海等地也曾相继报道过本病。好发年龄多在 50~75 岁之间，平均发病年龄 65 岁，年发病率约百万分之一，可为散发性，家族性或医源性。散发性患者约占 85%，病因不明。家族性患者约占 10%~15%。分子遗传学的研究表明，家族性 CJD 患者的 prion 基因常发生变异，常表现为第 48 位和第 56 位密码子处有重复片段的插入，第 178 位和 200 位密码子处出现点突变并发现编码蛋氨酸/缬氨酸的 129 密码子存在基因多态性。医源性因素主要与医疗器械消毒不严、脑深部电极、角膜移植、器官移植或注射从尸体脑垂体提取的生长激素、促性腺激素等因素有关。

CJD 的潜伏期 15 个月至 10 年，最长可达 40 年以上。典型的临床表现为迅速进展的痴呆，肌阵挛，皮质盲，小脑共济失调，运动性失语，并迅速发展为半瘫、癫痫甚至昏迷，病人最终死于感染或自主神经功能衰竭，约 90% 的患者于 1 年内死亡。患者可出现周期性脑电图异常。病理特征与库鲁病相似，以神经细胞变性、减少或消失，空泡形成，海绵状改变及出现淀粉样斑块为主。其中海绵状空泡化被认为是 CJD 的特征性病理诊断依据。

5. 克-雅病变种 (variant CJD, v-CJD) 是近年来在以英国为主的欧洲国家出现的一种新型的人类传染性海绵状脑病，1996 年由英国 CJD 监测中心首次报导，目前法国、德国、爱尔兰、俄罗斯等欧洲国家亦先后发现了病例。本病与典型的 CJD 在好发年龄、临床特征、脑电图改变和病理变化等方面有明显的差异，因而被认为是 CJD 的新变种 (new variant CJD, v-CJD)。进一步的研究结果显示，从这些病例中提取的 PrP^{Sc} 与来源于 BSE 的 PrP^{Sc} 的性质相同，患者脑组织的病理变化与 BSE 相似，从而表明 v-CJD 与疯牛病密切相关。现在普遍认为 v-CJD 的来源可能是人食物链中含有疯牛病的致病因子所致，但

确切的致病机制尚不清楚。BSE 和 v-CJD 的出现已受到国际社会的广泛关注。

三、微生物学检查法

1. 免疫组化技术 是目前确诊 TSE 的有效手段。取可疑患者的脑组织或非神经组织切片,经脱水性或水解性高压消毒、甲酸和硫氰酸胍处理,使其感染性消失并破坏 PrP^C后,再用单克隆抗体或多克隆抗体检测对上述处理有抗性的 PrP^{SC}。

2. 免疫印迹技术 蛋白印迹 (Western blotting) 检测 PrP^{SC}是一种简单而敏感的诊断方法。

3. 基因分析 从病人外周血白细胞中提取 DNA,对 prion 基因进行分子遗传学分析,可协助诊断家族性 CJD 患者。

四、防治原则

1. 医源性 prion 病的预防 对病人的血液、体液及手术器械等污染物应进行彻底消毒,彻底销毁含致病因子的动物尸体、组织块或注射器。常用的理化方法有:132℃高压消毒 5h,1mol/L NaOH 浸泡污染物 1h,含有效氯 0.0165 次氯酸钠处理 2h 等方法可以使 prion 丧失传染性;严禁 prion 病患者和任何退行性神经系统疾病患者的组织和器官用于器官移植;医护人员在诊疗过程中应严格遵守安全规程,保持皮肤不破损。

2. BSE 及 v-CJD 的预防 禁止用牛、羊等反刍类动物的骨肉粉作为饲料喂养牛等反刍类动物,以防止致病因子进入食物链。对从有 BSE 的国家进口的活牛或牛制品,必须进行严格的特殊检疫。

目前对 Prion 疾病尚无有效的治疗方法。

第四节 中枢神经系统感染的其他微生物

一、森林脑炎病毒

森林脑炎病毒 (forest encephalitis virus) 是黄病毒科的成员之一,是一种蜱传脑炎病毒。该病毒引起的森林脑炎为自然疫源性疾病。由于该病毒引起的疾病首先在俄罗斯的远东地区发现,以春夏季发病为主,故又称为俄罗斯春夏型脑炎病毒 (Russian spring - summer encephalitis)。目前森林脑炎在世界范围内广泛分布,我国东北和西北林区也有本病流行。

森林脑炎病毒的形态和结构、培养特性及抵抗力与乙型脑炎病毒相似。动物感染范围广,以小鼠的敏感性最高,多种接种途径均能使之感染。不同来源的毒株,其毒力差异较大,但其抗原性较一致。森林脑炎患者的血清与乙型脑炎和圣路易脑炎患者血清在血凝抑制试验中有交叉反应。

森林脑炎是一种中枢神经系统的急性传染病,多种野生动物均可作为该病的传染源,蜱是传播媒介。病毒不仅能在蜱体内增殖,还能经卵传代,并能在蜱体越冬,因此,蜱既是传播媒介又是储存宿主。在自然疫源地,病毒通过蜱叮咬兽类和野鸟而在动物间增殖和

循环。易感人群进入自然疫源地被叮咬而受感染。除蝉叮咬传播外，病毒亦可通过胃肠道传播，感染病毒的山羊可通过乳汁排出病毒，饮用生羊奶可引起感染。此外，实验室工作者和与受染动物密切接触的其他人员还可通过吸入汽溶胶而感染。人感染病毒后，大多数成为隐性感染，少数感染者经 7~14d 的潜伏期后突然发病，出现高热、头痛、呕吐、颈项强直、肢体弛缓性瘫痪等症状。重症患者可出现发音困难、吞咽困难、呼吸及循环衰竭等延髓麻痹症状，死亡率可高达 30%。感染后不论是否发病均可获得持久的免疫力。目前，森林脑炎的特异性预防方法是对有关人员接种地鼠肾细胞培养的灭活疫苗。

二、西尼罗病毒

西尼罗病毒 (West Nile virus, WNV) 在病毒分类上属于黄病毒科黄病毒属，引起西尼罗热。病人、隐性感染者和受染候鸟为传染源，伊蚊和库蚊是主要的传播媒介。蚊子吸血受染后，病毒在唾液腺及神经细胞中大量增殖，一周左右即具有传染性，并可终年带毒。人群对本病普遍易感，以儿童发病者居多。临床上可表现为发热性疾病及西尼罗脑炎两种类型。前者以急性发热、头痛、乏力、皮疹为主要特征，可伴有肌肉、关节疼痛及全身淋巴结肿大等，预后良好。后者起病急骤，体温 39℃ 以上，出现头痛、恶心、呕吐、嗜睡，伴颈项强直、深浅反射异常等神经系统症状和体征，重症患者出现惊厥、昏迷及呼吸衰竭，死亡率高。

西尼罗热广泛分布在非洲、中东、东南亚、欧洲及澳大利亚。1999 年夏天，本病传至美洲，美国纽约首次发现病例。患者表现为高热、头痛、意识障碍、弛缓性瘫痪等脑炎的症状和体征。本病在美国出现的同时，当地有大批候鸟死亡。分子流行病学的研究结果表明，本病可能是由候鸟作为传染源，从中东传至美洲的。

三、尼派病毒

1998 年 9 月至 1999 年 4 月马来西亚和新加坡发生了一种发热性脑炎的爆发流行。该病死亡率高，流行主要发生在养猪场和屠宰场，病人绝大部分为养猪场或屠宰场工人。人间流行前 1~2 周当地出现大批的猪发病和死亡。起初认为是流行性乙型脑炎的爆发流行，但随后发现是由一种新病毒感染所致，因而以最早出现病例的马来西亚地名命名为尼派 (Nipah) 病毒。进一步的病原学鉴定发现，该病毒属于副粘病毒，与 1994 年在澳大利亚发现的引起人和动物感染的亨德拉 (Hendra) 病毒有高度同源性。病毒可由感染动物传播给人，感染与直接接触受染动物的血、尿和粪便有关，尚没有人传播给人的证据。对本病的预防措施主要包括加强动物检疫、封锁疫区、淘汰疫畜和减少接触病畜等。

展 望

中枢神经系统感染是世界范围内的常见病和多发病，对相当部分的中枢神经系统感染至今缺乏有效的治疗方法，其病死率和致残率高，对人类健康造成严重威胁。引起中枢神经系统感染的微生物种类繁多，近年来许多新现与再现的微生物也成了中枢神经系统感染的新病原，使中枢神经系统感染的病原学显得更加复杂。在新现的病原微生物中，

HIV、prion、伯氏疏螺旋体、西尼罗病毒和尼派病毒引起的中枢神经系统感染已受到高度重视。在再现的病原体中，由于使用免疫抑制剂、滥用抗生素等，新型隐球菌、念珠菌、绿脓杆菌、梅毒螺旋体等病原体引起的中枢神经系统感染不断增多。近年来由于耐药结核菌株的出现及 AIDS 的流行，结核病又死灰复燃，结核性中枢神经系统疾病也不断增多。

在特异性预防方面，近年来由于疫苗的发展及广泛应用，许多中枢神经系统感染已得到有效的控制，但是仍有相当部分的中枢神经系统感染缺乏有效的疫苗预防。某些危害严重的中枢神经系统感染如流行性脑脊髓膜炎、流行性乙型脑炎等虽在特异性预防上取得了巨大成就，但仍有一些问题没有解决。在流行性脑脊髓膜炎的特异性预防方面，有两大问题尚待解决，一是现行的 A 群和 C 群脑膜炎奈瑟菌荚膜多糖疫苗对 2 岁以下的婴幼儿保护效果差；二是目前尚缺乏有效的预防 B 群感染的疫苗可供使用。为了解决上述问题，目前的疫苗研究的重点主要放在多糖 - 蛋白偶联疫苗、I 类外膜蛋白疫苗及脂寡糖疫苗研制等方面。在乙型脑炎的特异性预防方面，目前国内外广泛应用的乙脑病毒疫苗主要有灭活疫苗和减毒活疫苗两大类，虽然免疫效果不错，但都含有病毒的基因组，存在着潜在的危险。因此，近年来国外已在进行重组 DNA 疫苗、重组亚单位疫苗的研究。目前，各类新型疫苗的研制已取得了很大的进展，新一代安全有效的疫苗将会在不久的将来问世。

prion 病是严重危害人和动物的传染病，特别是疯牛病和变异克雅病已引起国际社会的恐慌，prion 感染将成为 21 世纪重要的传染病。虽然对 prion 进行了大量的基础研究，并取得了很大进展，但仍有大量问题没有解决。这些问题主要包括：① prion 的来源及传播方式；② prion 的增殖方式及遗传形式；③ PrP^{sc} 转变成 PrP^{sc} 分子基础；④ prion 的致病机制；⑤ 机体对 prion 的免疫性等等。解决这些问题需要多学科的综合研究，只要弄清楚这些基础问题，就可以行之有效地预防、治疗和消灭这类疾病。

(江丽芳)

第十九章 人兽共患的微生物

大多数引起动物感染的微生物不能引起人类的感染，反之亦然。但也有少数微生物既能感染动物，也能感染人类。由共同的病原体（微生物与寄生虫）引起的动物和人类的传染病，称为人兽共患病（zoonosis）。人兽共患微生物的种类繁多，常见的有细菌、病毒、螺旋体、立克次体等，其中以汉坦病毒、狂犬病毒、钩端螺旋体、鼠疫等引起的人兽共患病危害较大。由于人兽共患病的病原体通常以野生动物或家畜为储存宿主、有的以嗜血节肢动物为传播媒介或储存宿主，故是自然疫源性传染病。因此，人兽共患病的流行往往具有地区性和季节性。人兽共患病不仅严重威胁人类健康，同时也影响畜牧业生产。

人兽共患病是人类最早认识的传染病，如引起炭疽病的炭疽杆菌即是德国学者郭霍在 1877 年获得的有史以来第一个病原菌的纯培养。由于人类的生活和生产活动的影响，目前出现一些新的人兽共患病，如莱姆病、埃博拉（Ebola）热等。可以断言，今后仍将不断发现新的人兽共患微生物。因此，对人兽共患微生物的认识是永无穷尽的，控制人兽共患病的流行是一个极其艰巨的任务。

第一节 汉坦病毒

引起人类出血热的病毒众多（表 19-1），我国现已发现的有汉坦病毒、新疆出血热病毒和登革病毒。

表 19-1 人类出血热病毒的分类

病毒类属	病毒	媒介	疾病	分布
布尼雅病毒科	汉坦病毒	啮齿动物	肾综合征出血热 肺综合征	亚洲、欧洲、美洲、非洲 美洲、欧洲、亚洲
	新疆出血热病毒	蜱	新疆出血热	中国新疆
	Rift 山谷热病毒	蚊	Rift 山谷热	非洲
黄病毒科	登革病毒	蚊	登革出血热	东南亚、南美
	黄热病病毒	蚊	黄热病	非洲、南美
	Kyasanur 森林热病毒	蜱	Kyasanur 森林热	印度
	Omsk 出血热病毒	蜱	Omsk 出血热	西伯利亚
披膜病毒	Chikungunya 病毒	蚊	Chikungunya	亚洲、非洲
沙粒病毒	Lassa 病毒	啮齿动物	Lassa 热	西非

续表

病毒类属	病 毒	媒 介	疾 病	分 布
	Junin 病毒	啮齿动物	阿根廷出血热	南美
	Machupo 病毒	啮齿动物	玻利维亚出血热	南美
丝状病毒	Marburg 病毒	未确定	Marburg 热	非洲、欧洲
	Ebola 病毒	未确定	Ebola 热	非洲
副粘病毒	Nipah 病毒	未确定	发热性脑炎	东南亚
	Hendra 病毒	未确定	人脑炎、马肺炎	澳大利亚

汉坦病毒 (Hantaan virus) 又名肾综合征出血热病毒 (hemorrhagic fever with renal syndrome virus), 是流行性出血热的病原体。流行性出血热的主要病变是全身小血管和毛细血管广泛损害, 临床上以发热、出血、低血压、蛋白尿等为特征, 病死率高达 10%。汉坦病毒于 1978 年由李镐汪首先从南朝鲜汉坦河附近的流行性出血热疫区黑线姬鼠肺组织分离出, 随后又从患者血清中分离到该病毒。1987 年第五届国际病毒命名委员会将它分类为布尼雅病毒科 (Bunyaviridae) 的一个新属, 称为汉坦病毒属 (Hantavirus)。

一、生物学性状

形态与结构 病毒呈圆形、卵圆形或多形态性, 有包膜, 平均直径约 120nm (图 19-1)。核酸类型为单负股 RNA, 有长、中、短三个片段, 分别编码 RNA 多聚酶 (L)、核蛋白 (N) 和糖蛋白 (G₁、G₂)。G₁ 和 G₂ 中均存在血凝素抗原和中和抗原的决定簇, 构成最外层包膜表面的刺突。该病毒凝集鹅红细胞的活性在 pH6.0 ~ 6.4 范围内最强。

培养特性 可在非洲绿猴肾细胞 (Vero E6)、人肺癌传代细胞 (A₅₄₉)、人胚肺二倍体细胞 (2BS) 和地鼠肾细胞中增殖, 一般不引起明显的细胞病变。常用免疫荧光法测定感染细胞胞浆内的病毒抗原。

抗原分型 血清学试验结果证实, 汉坦病毒与同科的其它三个属以及其它出血热病毒无抗原交叉, 不同地理位置及不同动物宿主中分离的病毒株的抗原性也有差异。用中和试验可将汉坦病毒分为六个血清型: I 型 (黑线姬鼠型)、II 型 (家鼠型或大鼠型)、III 型 (棕背鼠型)、IV 型 (田鼠型)、V 型 (黄颈姬鼠型)、VI 型 (小鼠型或小家鼠型)。我国流行的血清型为 I 型和 II 型。

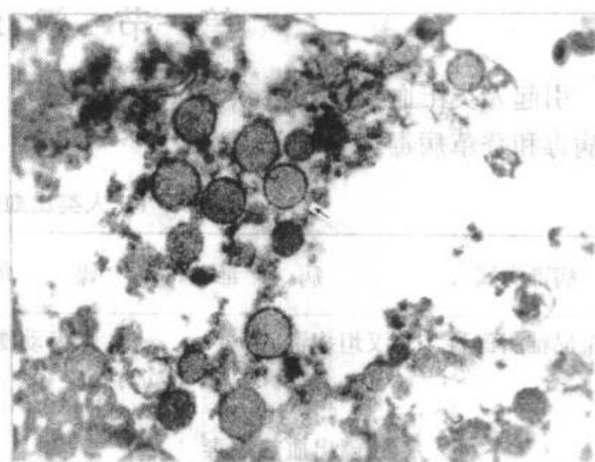


图 19-1 汉坦病毒在 Vero E6 细胞胞浆内的病毒颗粒
超薄切片 ×120 000

抵抗力 对脂溶剂敏感，对酸、热的抵抗力弱。pH5.0 以下溶液中病毒很快被灭活，60℃加热 1h 被杀死。

二、流行环节

流行性出血热有明显的地方性和季节性，在我国发病高峰多在 11~12 月，这主要与鼠类的分布及活动有关。姬鼠属、田鼠属、仓鼠属、小鼠属和家鼠属等啮齿动物均可成为汉坦病毒的自然宿主。携带病毒的自然宿主通过唾液、尿、粪排出病毒而污染环境，人和动物经呼吸道、消化道或直接接触等方式被感染。我国学者已证实数种厉螨和小盾恙螨是汉坦病毒的传播媒介，病毒可经卵传递，这在病毒传播方式和自然疫源地的保存上有重要意义。

三、致病性与免疫性

汉坦病毒隐性感染率较低。病毒侵入人体约经两周潜伏期后，急性发病，典型症状为高热、出血和肾损害。发病初期患者眼结膜、咽部、软腭等处充血，软腭、腋下、前胸等处有出血点，常伴有三痛（头痛、眼眶痛、腰痛）和三红（面、颈、上胸部潮红）。几天后病情加重，可表现为多脏器出血及肾功能衰竭。典型的临床经过可分为发热期、低血压期、少尿期、多尿期和恢复期。发病机制除病毒直接损伤全身小血管和毛细血管、影响血管舒缩功能、引起血管通透性增高和微循环障碍外，与病毒感染引起的免疫应答异常也有密切关系。病程早期出现的大量循环免疫复合物，沉积于血管和肾小球基底膜等处，激活补体系统，导致血管、肾脏的免疫病理性损伤，也是造成出血原因之一。

患者感染后第 1~2d 即可测出血清 IgM 抗体，第 7~10d 达高峰。IgG 抗体在发病后第 3~4d 出现，第 10~14d 达高峰，可维持多年，故患者病后可获持久免疫力。

四、微生物学检查法

标本采集 病人急性期血清、死者脏器和感染动物肺、肾等组织均可用于病毒分离。

病毒分离与抗原检测 常用 Vero E6 细胞、A₅₄₉ 细胞分离和培养病毒。通过免疫荧光抗体染色，检查细胞胞浆内的病毒抗原。黑线姬鼠、大鼠、或初生小鼠接种标本后，经两周左右可检测肺组织中的特异性病毒抗原。应用感染动物分离病毒时，应采取严格隔离预防措施，避免发生实验室感染。也可用 RT-PCR 检测标本中是否存在的病毒 RNA 片段，若采用不同的特异性引物，该方法还可用于诊断和区分病毒不同的亚型。

血清学诊断 将感染病毒的鼠肺抗原或培养细胞抗原涂片，用间接免疫荧光染色法检查病人血清中的特异性 IgM 或 IgG 抗体。单份血清标本 IgM 阳性或双份血清 IgG 呈 4 倍或 4 倍以上增高者，均有诊断价值。

五、防治原则

近年来国外一些实验室研制出汉坦病毒重组疫苗和大鼠灭活疫苗，我国也已研制出

金地鼠和汉坦病毒沙鼠灭活疫苗，免疫动物后可产生中和抗体并能抵抗强毒病毒株的攻击。目前我国研制的沙鼠灭活疫苗、地鼠肾灭活疫苗已正式生产，人群接种后的免疫保护率达90%以上。

第二节 狂犬病病毒

狂犬病病毒 (rabies virus) 是狂犬病的病原体，在分类上属于弹状病毒科 (*Rhabdoviridae*) 的狂犬病毒属 (*Lyssavirus*)。狂犬病病毒可在野生动物 (狼、狐狸、臭鼬、蝙蝠等) 及家畜 (狗、猫等) 中传播，人被病兽咬伤后感染而发病。狂犬病是一种中枢神经系统的传染病，病死率极高。

一、生物学性状

形态与结构 外形似子弹状或杆状，大小约为 $75\text{nm} \times 180\text{nm}$ ，由螺旋对称的核衣壳和包膜组成 (图 19-2)。核衣壳含单负股 RNA、核蛋白、多聚酶蛋白和基质蛋白，外包绕以螺旋排列的蛋白质衣壳。包膜上有糖蛋白刺突，可识别宿主细胞表面的受体、诱导机体产生中和抗体及细胞免疫，故与病毒的毒力和抗原性有关。

培养特性 在鸡胚、鸭胚、地鼠肾细胞，人二倍体成纤维细胞中均能增殖，一般不引起细胞病变，需用荧光抗体染色法显示病毒的存在。在易感动物或人的中枢神经细胞中增殖时，可在胞浆内形成嗜酸性、圆形或椭圆形、直径 $2 \sim 30\mu\text{m}$ 的包涵体，称内基小体 (Negri body) (图 19-3)，有诊断价值。

抗原分型 以前认为狂犬病毒的毒力可以发生变异，但只有一种血清型。近年来发现狂犬病毒糖蛋白的变异可使毒力和抗原性均发生改变。

抵抗力 对热、紫外线、日光抵抗力弱。易被强酸、强碱、



图 19-2 狂犬病毒
弹状病毒颗粒，负染 $\times 100\ 000$

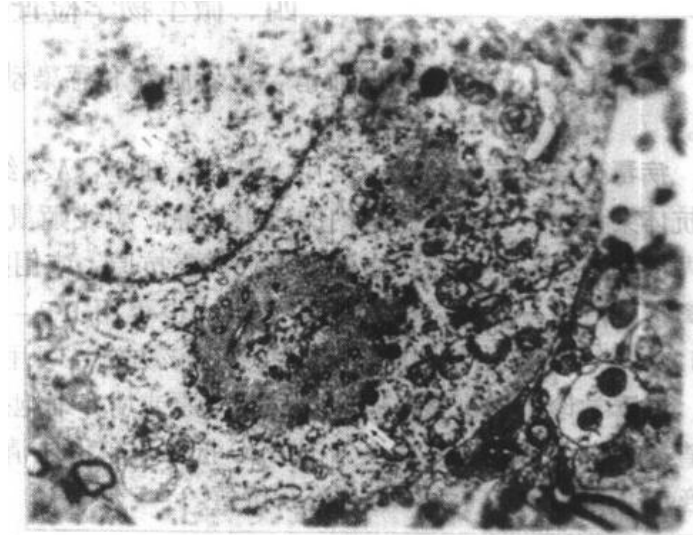


图 19-3 狂犬病毒内基小体在小鼠脑组织神经细胞
胞浆中的内基小体，超薄切片 $\times 12\ 000$

甲醛、碘、乙醇等灭活。肥皂水、离子型或非离子型去垢剂等对病毒亦有灭活作用。

二、流行环节

病毒感染的宿主范围很广，如犬、猫、狼、狐狸、牛、马、猪、羊、兔、小鼠等动物，人被病兽咬伤后感染。从自然感染动物体内分离的狂犬病毒株称为野毒株 (wild strain) 或街毒株 (street strain)。野毒株的特点是接种动物发病所需的潜伏期长，毒力强，脑外途径接种后易侵入脑组织和唾液腺内，感染的神经细胞中易发现内基小体。若野毒株在家兔脑内连续传代 50 代后，其潜伏期逐渐从最初的 2~4 周缩短为 4~6d，再继续传代时，潜伏期不再缩短，这种狂犬病病毒株称为固定毒株 (fixed strain)。固定毒株对人及犬的致病力明显减弱，犬脑内接种后不能侵入神经细胞内增殖，不引起发病。

三、致病性与免疫性

人患狂犬病主要是被病兽，尤其是病犬咬伤所致，破损的皮肤粘膜接触含病毒的物质也可引起感染。动物发病前约 5d，唾液中可含有病毒。人被咬后，病毒通过伤口进入体内。潜伏期一般为 1~3 个月，但也有短至一周或长达数年才出现症状者，潜伏期长短取决于被咬伤部位与头部的远近、伤口内感染的病毒量等因素。病毒由伤口局部进入外周神经，再由传入神经末梢上行至中枢神经系统，侵入神经细胞内大量增殖并引起细胞功能紊乱和退行性病变，然后又沿传出神经扩散到唾液腺及其他组织，包括泪腺、视网膜、角膜、鼻粘膜、味蕾、皮脂腺、毛囊、心肌、骨骼肌、肺、肝和肾上腺等。患者早期症状主要有发热、头痛乏力、伤口周围刺痛感、流涎和流泪等。继而出现的典型临床表现为神经兴奋性增高，吞咽或饮水时喉头肌肉发生痉挛，甚至闻水声或其它轻微刺激也能引起痉挛发作，故狂犬病又称为恐水病 (hydrophobia)。这种典型症状持续 3~5d 后，患者进入麻痹期，最后因昏迷、呼吸、循环衰竭而死亡，病死率几乎为 100%。

动物实验研究表明，狂犬病病毒的糖蛋白和核蛋白能使机体产生中和抗体和细胞免疫。中和抗体和细胞免疫在狂犬病疫苗接种后的特异性抗感染免疫机制中起重要作用。

四、微生物学检查法

人被犬或其它动物咬伤后，应检查动物是否患有狂犬病，这对采取防治措施极为重要。应将咬人的动物捕获并隔离观察。若动物 7~10d 不发病，一般可认为未患狂犬病或咬人时唾液中尚无狂犬病毒。若动物 7~10d 内发病，可将其杀死，取脑海马回部位组织涂片，用免疫荧光抗体法检查病毒抗原，同时作组织切片检查内基小体。

对狂犬病患者的生前诊断可取唾液沉渣涂片、睑及颊皮肤活检，用免疫荧光抗体染色检查狂犬病病毒抗原，但阳性率仅约 50%。

五、防治原则

捕杀野犬，家犬应接种狂犬疫苗。人被动物咬伤后，应采取下列预防措施：

伤口处理 立即用 20% 肥皂水、0.1% 新洁尔灭或清水充分冲洗伤口，再用 70% 乙醇及碘酒涂擦。

被动免疫 用高价狂犬病病毒免疫血清作伤口周围与底部浸润注射及肌注，剂量为 40IU/kg，若与狂犬病疫苗联用则效果更好。

疫苗接种 狂犬病的潜伏期一般较长，人被咬伤后如能及早接种疫苗，可预防发病。我国目前采用地鼠肾原代细胞或二倍体细胞培养制备的灭活病毒疫苗，人被犬等动物咬伤后的第 1、3、7、14、28d 各肌注该疫苗 1ml，免疫效果良好。重组痘苗病毒载体疫苗和亚单位疫苗正在研制之中。

第三节 鼠疫耶氏菌

鼠疫耶氏菌 (*Y. pestis*) 又称鼠疫杆菌，细菌分类上属于肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 的耶尔森菌属 (*Yersinia*)。耶尔森菌属是一类革兰阴性小杆菌，包括 11 个菌种，其中鼠疫耶氏菌、小肠结肠炎耶氏菌与假结核耶氏菌等三种被肯定为人类的致病菌。鼠疫耶氏菌引起的鼠疫是一种自然疫源性的烈性传染病，是我国法定的两种甲类传染病之一。历史上发生过三次鼠疫的世界性大流行，1994 年印度还出现了鼠疫的爆发性流行，目前世界各地仍有散发的鼠疫病例，死亡率高达 10% ~ 30%。

一、生物学性状

形态与染色 为革兰染色阴性、两端钝圆并浓染的短杆菌。大小为 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m} \times 1 \sim 2 \mu\text{m}$ 。一般单个散在分布，偶尔成双或呈短链排列。有荚膜，无鞭毛，无芽胞 (图 19-4)。

不同培养条件和检材中，菌体形态和大小有差异。死于鼠疫的动物尸体或感染动物新鲜内脏制备的涂片中，菌体形态典型。在腐败、化脓或溃疡性材料中，菌体膨大成球形，且着色不佳。在陈旧培养物或含 3% NaCl 的高盐培养基中则呈多形态性，有时可见着色极为浅淡的菌影 (ghost)。

培养特性 兼性厌氧。营养要求不高，但在普通培养基中生长缓慢。接种于含血液或组织液的培养基中 24 ~ 48h 后，可形成细小、透明、圆形、中央厚而致密、边缘薄而不规则的粗糙型菌落，来自感染组织的毒力株则呈灰色、粘液性菌落。最适生长温度为 27 ~ 30℃，最适 pH 为 6.8 ~ 7.2。在肉汤培养基中表现为沉淀生长，稍后形成菌膜，液体一般不浑浊。稍加摇动，菌膜呈“钟乳石”状下沉，此特征有一定的鉴别意义。

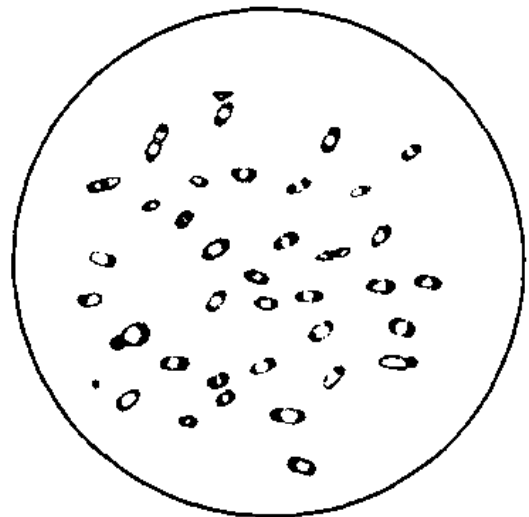


图 19-4 鼠疫杆菌 (鼠疫耶氏菌)

生化反应 不同菌株的糖酵解能力有差异。所有菌株均能发酵葡萄糖，大多数菌株酵解阿拉伯糖、木糖、甘露糖和麦芽糖，个别菌株分解乳糖和蔗糖。触酶阳性，多数菌株能还原硝酸盐，不分解尿素，不产生硫化氢。

抗原构造 鼠疫耶氏菌的抗原结构复杂，其中重要的抗原有 F1、V/W、鼠毒素和内毒素等。

1. F1 (fraction 1) 抗原 是鼠疫耶氏菌 37℃培养时产生的荚膜抗原。F1 由三部分组成：F1A 是可溶性多糖与蛋白质的复合物，不耐热，抗原性较强；F1B 为可溶性多糖，具有种特异性；F1C 是不溶性多糖，无免疫原性。F1 抗原具有抗吞噬作用，故与细菌毒力有关，其抗体有保护作用。

2. V/W 抗原 有毒力的野生型菌株具有 V/W 抗原。V 抗原和 W 抗原总是一起产生，并由同一质粒编码。V 抗原与毒力有关，具有抗吞噬作用。

3. 鼠毒素 (murine toxin, MT) 是一种外毒素，对鼠类有强烈毒性。鼠毒素作用于机体血管系统，引起不可逆的休克而导致死亡。鼠毒素具有良好的抗原性，用 0.2% 甲醛处理可使其脱毒制成类毒素。

4. 内毒素 理化性质与生物学活性与肠道杆菌内毒素相似。

抵抗力 对理化因素抵抗力较弱。湿热 70 ~ 80℃ 10min 或 100℃ 1min 死亡，干热 140℃ 10min 或 160℃ 1min 死亡。5% 来苏尔或 5% 石炭酸 20min 内可杀死痰液中的病菌。在蚤粪和土壤中能生存约 1 年，在痰液中能存活 36d 左右。

变异性 有自发突变和基因转移两类，其生化特性、毒力、耐药性和抗原构造等均可出现变异。与多数细菌相反，野生菌株的菌落呈 R 型，毒力强；经人工传代培养后 R 型可逐渐转变为 S 型菌落，毒力也随之减弱。

二、流行环节

鼠疫是自然疫源性传染病，可在啮齿动物、家畜和鸟类等多种动物中传播。尤其是鼠类中鼠疫的流行可导致大批病鼠死亡，失去宿主的鼠蚤转向人群，通过鼠蚤的叮咬而传染人类。接触感染动物或摄入污染食物等途径也可感染。

三、致病性与免疫性

致病物质 鼠疫耶氏菌的毒力很强，少量细菌即可使人致病。其致病性主要与 F1 抗原、V/W 抗原、鼠毒素和内毒素等有关。鼠毒素虽为外毒素，但只有细菌自溶或裂解后才释放。

所致疾病 人患鼠疫后，可通过人蚤或呼吸道等途径在人群间流行。临床常见有腺型、败血症型和肺型鼠疫。

鼠疫耶氏菌侵入人体后，被吞噬细胞吞噬，但仍能在细胞内生长繁殖，并沿淋巴管流到达局部淋巴结，引起严重的出血坏死性淋巴结炎。若病变仅局限于淋巴结，称为腺型鼠疫。若该菌从病变淋巴结侵入血流，可导致败血症型鼠疫。感染严重者，鼠疫耶氏菌可直接侵入血流，引起原发性败血症型鼠疫。若吸入染菌尘埃则可引起肺鼠疫。败血症型鼠疫患者可出现严重中毒症状，如高热寒战、皮肤粘膜有出血点、休克和 DIC，易

并发支气管肺炎和脑膜炎等，常因全身衰竭而于发病后 2~4d 内死亡。肺鼠疫患者死亡后皮肤常呈黑紫色，故有“黑死病”之称。

免疫性 感染鼠疫后能获得持久的免疫力，再次感染罕见。机体可产生 F1 抗原、V/W 抗原等的抗体，这些抗体具有调理素、凝集素和杀菌素等功能。从体内清除病原菌主要依赖于吞噬细胞的吞噬作用。

四、微生物学检查

标本采集 按不同病型采取淋巴结穿刺液、痰、血液等标本。人或动物尸体则取肝、脾、肺、肿大淋巴结和心血等，陈旧尸体取骨髓。鼠疫耶氏菌的传染性极强，采取标本时必须十分小心并严格遵守有关操作规程。

直接涂片镜检 检材直接涂片或印片，然后分别进行革兰染色和美蓝染色，镜检观察形态与染色特点。免疫荧光试验可用于快速诊断。

分离培养与鉴定 将检材接种于血琼脂平板或 0.025% 亚硫酸钠琼脂平板，血液标本先用肉汤培养基增菌后再接种平板。28℃ 孵育 24~48h 后，如分离出可疑菌落时，可用涂片染色镜检、凝集试验和噬菌体裂解试验等进一步鉴定。

五、防治原则

灭鼠灭蚤是切断鼠疫传播环节、消灭鼠疫传染源的根本措施。我国目前应用鼠疫无毒活疫苗接种进行预防。

治疗时必须早期足量使用抗生素并注射用药。氨基糖苷类抗生素、四环素和磺胺类药物等均有效。

第四节 钩端螺旋体

钩端螺旋体在分类学上属于螺旋体目 (*Spirochaetales*)、钩端螺旋体科 (*Leptospiraceae*) 的钩端螺旋体属 (*Leptospira*)，是一类细长、柔软、螺旋状、运动活泼的原核细胞型微生物。钩端螺旋体属可分为问号钩端螺旋体 (*L. interrogans*) 和双曲钩端螺旋体 (*L. biflexa*) 两个种，前者引起人或动物的钩端螺旋体病，后者一般为无致病性的腐生性微生物。

螺旋体广泛存在于自然界和动物体内，种类繁多，分类的主要依据是其大小、螺旋数目、螺旋规则程度和螺旋间距，其中部分螺旋体可引起人类疾病 (表 19-2)。螺旋

表 19-2 螺旋体目的分类及致病性螺旋体种类

科	属	对人致病的种类	疾 病	传播方式或媒介
螺旋体	螺旋体			
	脊螺旋体			
	密螺旋体	梅毒螺旋体	梅毒	性传播

续表

科	属	对人致病的种类	疾 病	传播方式或媒介
		雅司螺旋体	雅司病	皮肤损伤
		品他螺旋体	品他病	皮肤损伤
		地方性螺旋体	地方性梅毒	粘膜损伤
	疏螺旋体	伯氏疏螺旋体	莱姆病	硬蜱
		回归热螺旋体	流行性回归热	体虱
		赫姆疏螺旋体	地方性回归热	软蜱
		奋森疏螺旋体	多种口腔感染	条件致病
钩端螺旋体	钩端螺旋体 细丝体	问号钩端螺旋体	钩端螺旋体病	接触疫水

体的基本结构及生物学形状与细菌相似，例如有细胞壁、原始核质、二分裂方式繁殖、对抗生素敏感等，故分类学上将螺旋体列入广义的细菌范畴。

一、生物学性状

形态与染色 大小为 $0.1 \sim 0.2 \mu\text{m} \times 6 \sim 12 \mu\text{m}$ ，其螺旋在螺旋体目中最为细密和规则，一端或两端弯曲使菌体呈问号状或 C、S 形，故名钩端螺旋体。钩端螺旋体的基本结构由外至内分别为外膜 (outer envelope)、内鞭毛 (endoflagellum) 和原生质圆柱体 (cytoplasmic cylinder)。两根内鞭毛紧紧缠绕在原生质圆柱体 (相当于细菌菌体) 表面呈螺旋状，具有与细菌鞭毛相似的功能，使钩端螺旋体活泼地沿长轴旋转运动。内鞭毛由 6 种不同的蛋白质组成，细菌鞭毛则为单一的蛋白质。革兰染色阴性，但不易着色。常用 Fontana 镀银染色法，钩端螺旋体被染成棕褐色。暗视野显微镜下可见活泼运动、因折光性强而成白色的钩端螺旋体 (图 19-5)。

培养特性 需氧或微需氧。营养要求较高，常用含 10% 兔血清的 Korthof 培养基，目前国际上开始广泛采用无血清的 EMJH 培养基。兔血清除促进钩端螺旋体生长外，尚有中和代谢产物毒性的作用。最适生长温度为 $28 \sim 30^\circ\text{C}$ ，最适 pH 为 $7.2 \sim 7.4$ 。

钩端螺旋体在人工培养基中生长缓慢。在液体培养基中，分裂一次需 $8 \sim 10\text{h}$ ， 28°C 培养一周左右，呈现为半透明云雾状生长，但菌数仅相当于普通细菌的 $1/10 \sim 1/100$ 。在固体培养基上， 28°C 培养两周左右，可形成透明、不规则、直径约 2mm 的扁平

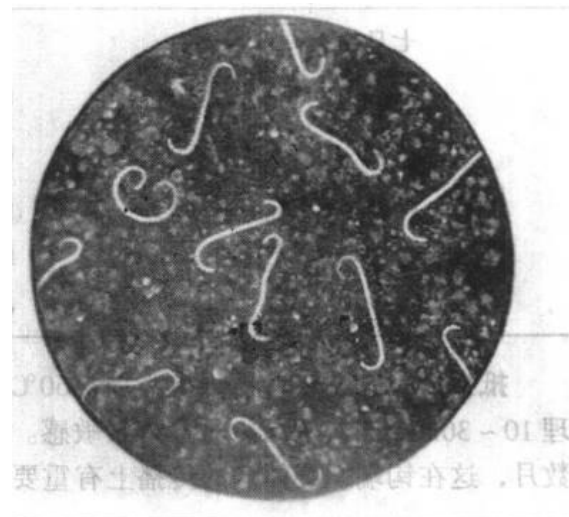


图 19-5 钩端螺旋体
暗视野显微镜下的钩端螺旋体 $\times 1000$

菌落。

生化反应 生化反应不活泼，不分解糖类和蛋白质。能产生过氧化氢酶，有些钩端螺旋体株可产生溶血素。

抗原构造与分类 主要有属特异性蛋白抗原 (genus-specific protein antigen, GP-AG)、群特异性抗原 (serogroup-specific antigen) 和型特异性抗原 (serovar-specific antigen)。属特异性抗原可能是糖蛋白，群特异性抗原是菌体类脂多糖复合物，型特异性抗原为菌体表面的多糖与蛋白复合物。

应用显微镜凝集试验 (microscopic agglutination test, MAT) 和凝集吸收试验 (agglutination absorption test, AAT) 将钩端螺旋体属进行血清群和血清型的分类。目前国际上问号钩端螺旋体至少可分为 25 个血清群、237 个血清型，其中我国至少存在 19 个血清群、74 个血清型。我国目前使用的问号钩端螺旋体参考株有 14 群 15 型，其中大多数为国内流行的群或型 (表 19-3)。

表 19-3 我国 14 群 15 型问号钩端螺旋体参考株

血清群	血清型	株名
黄疸出血	赖	赖安华
爪哇	爪哇	M10
犬	犬	林
拜伦	拜伦	皮鼠
致热	致热	田
秋季	秋季	临 4
澳洲	澳洲	65-9
波摩那	波摩那	罗
流感伤寒	临海	临 6
七日热	七日热	56069
赛罗	乌尔夫	L183
赛罗	溶血	H18
巴达维亚	巴叶赞	L37
塔拉索夫	塔拉索夫	55-52
曼耗	曼耗 II	L105

抵抗力 钩端螺旋体抵抗力弱，60℃1min 即死亡，用 0.2% 来苏尔或 1% 石炭酸处理 10~30min 即被杀灭。对青霉素敏感。钩端螺旋体在酸硷度中性的湿土或水中可存活数月，这在钩端螺旋体病的传播上有重要意义。

二、流行环节

钩端螺旋体病是一种典型的人畜共患病，全世界至少已发现 200 多种动物为问号钩

端螺旋体携带者。我国已从 50 多种动物中检出问号钩端螺旋体，其中鼠类和猪是最常见的储存宿主，蛇、鸡、鸭、鹅、蛙、兔等亦可能是储存宿主。

动物感染钩端螺旋体后，大多为无症状的隐性感染，少数家畜感染后可引起流产。钩端螺旋体在感染动物的肾脏中长期存在，持续随尿不断排出，污染水源和土壤。人类与污染了钩端螺旋体的水或土壤接触而被感染。

三、致病性与免疫性

致病物质 钩端螺旋体能产生一些致病物质，如内毒素、溶血素等。

1. 内毒素 也有人称内毒素样物质 (endotoxin-like substance)。钩端螺旋体的细胞壁中含有类似革兰阴性菌脂多糖的物质。钩端螺旋体脂多糖注入动物体内后，引起的病理变化与细菌内毒素相似，但毒性较低。钩端螺旋体内毒素的分子结构与典型的细菌内毒素有差异，如缺乏 2-酮-3-脱氧辛糖酸 (KDO)、不含 3-羟基豆蔻酸等，可能与其毒性较低有关。

2. 溶血素 其本质是鞘磷脂酶 C，可存在于波摩那型、犬型、七日热型等钩端螺旋体培养物上清液中。溶血素能破坏绵羊、家兔和人的红细胞膜，注射入幼绵羊体内，可出现贫血、出血、肝肿大、黄疸和血尿。不耐热，56℃经 30min 失活。对氧稳定，但可被胰蛋白酶破坏。

3. 细胞毒性因子 (cytotoxicity factor, CTF) 钩端螺旋体患者急性期血浆中存在一种细胞毒性因子。将细胞毒性因子注入小鼠，可导致肌肉痉挛和呼吸困难，与感染钩端螺旋体金地鼠临死前的症状相同。低毒力的问号钩端螺旋体或双曲钩端螺旋体不产生细胞毒性因子。

4. 细胞致病作用 (cytopathic effect, CPE) 物质 黄疸出血型、流感伤寒型、波摩那型等钩端螺旋体可产生细胞致病作用物质，能引起细胞退行性变。该物质 56℃作用 30min 被破坏，对胰蛋白酶敏感。

所致疾病 主要感染途径是接触污染了钩端螺旋体的疫水，但也可通过胎盘垂直感染胎儿。若侵入的钩端螺旋体数量少、毒力低，可被完全或大部分杀灭，不形成感染或呈隐性感染。大多数情况下，钩端螺旋体侵入机体后能引起钩端螺旋体病。

钩端螺旋体能穿透完整的皮肤、粘膜或其破损处侵入人体，在局部迅速繁殖，并经淋巴系统或直接进入血循环引起钩端螺旋体血症，出现中毒症状如发热、乏力、头痛、肌痛、眼结膜充血、浅表淋巴结肿大等，患者有全身毛细血管损伤和微循环障碍及肝、肾功能损害。由于侵入的钩端螺旋体血清型、毒力、和数量不同以及宿主免疫水平差异，临床表现相差甚大。轻者似感冒，仅出现轻微的自限性发热；重者可出现黄疸、肺出血、DIC、休克，甚至死亡。部分患者退热后，发生葡萄膜炎、视网膜炎、脑膜炎、脑动脉炎等并发症或后遗症，其发病机制与超敏反应有关。

免疫性 钩端螺旋体病的免疫主要依赖于特异性体液免疫。发病后 1~2 周，机体可产生特异性抗体，且凝集抗体和保护性抗体是一致的。若无特异性抗体的存在，中性粒细胞几乎不能吞噬侵入机体的钩端螺旋体。单核-巨噬细胞能吞噬入侵的钩端螺旋体，但特异性抗体能明显增强其吞噬作用。但各血清群、型钩端螺旋体抗体之间一般无

明显的交叉保护作用。细胞免疫在抗钩端螺旋体感染中的作用尚有争论，但多数认为有一定的保护作用。

尽管有特异性抗体的存在，但对侵入肾脏的钩端螺旋体似乎无明显作用，钩端螺旋体能在肾脏内繁殖并经尿排菌，其机制迄今未明。

四、微生物学检查法

标本采集 发病 7~10d 内取血液，两周后取尿液，有脑膜刺激症状者取脑脊液。

病原体检测 常用的方法有暗视野显微镜检查和镀银染色镜检等。

1. 直接镜检 将标本差速离心集菌后进行暗视野显微镜检查，或用 Fontana 镀银法染色后镜检。也可用免疫荧光法或免疫酶染色法检查。

2. 分离与鉴定 将标本接种至 Korthof 培养基，28℃ 孵育两周。若培养液呈现轻度混浊，可用暗视野显微镜检查有无钩端螺旋体，并可进一步用显微镜凝集试验和凝集吸收试验进行血清群、血清型的鉴定。

3. 动物试验 是分离钩端螺旋体的敏感方法，尤其适用于有杂菌污染的标本，但费用较高、操作较繁琐。将标本接种于幼龄豚鼠或金地鼠腹腔。接种一周后取心血检查并进行分离培养。若动物发病后死亡，解剖后可见皮下、肺部等有出血斑，肝、脾等内脏器官中有大量钩端螺旋体。

4. 其它 PCR 或标记 DNA 探针可用于检测标本中钩端螺旋体 DNA 片段，较培养法快速、敏感。限制性核酸内切酶指纹图谱则可用于钩端螺旋体株的鉴定、分型、变异等研究。

血清学诊断 应采取病程早、晚期双份血清，一般在病初和发病后第 3~4 周各采外周静脉血一次并分离血清。有脑膜刺激症状者可采取脑脊液。

1. 显微镜凝集试验 简称显凝试验。用当地常见的群、型或我国标准株的活钩端螺旋体作为抗原，与不同稀释度的患者血清 37℃ 孵育 1h，暗视野显微镜检查有无凝集现象。若血清中存在同型抗体，可见钩端螺旋体被凝集成不规则的、折光性强的团块，抗体含量较低时可形成蜘蛛状凝集。以 50% 钩端螺旋体被凝集的最高血清稀释度作为效价判断终点。单份血清标本的凝集效价 1:300 以上或双份血清标本效价增长 4 倍以上有诊断意义。本试验特异性和敏感性均较高。

2. TR/patoc I 属特异性抗原凝集试验 双曲钩端螺旋体 patoc I 株经加热处理后可成为属特异性抗原，能与所有感染问号钩端螺旋体患者血清中的抗体发生凝集反应，常用的方法有玻片凝集试验。该抗体以 IgM 为主，故本法可用于早期诊断。

3. 间接凝集试验 将钩端螺旋体可溶性抗原吸附于乳胶或活性炭微粒等载体上，然后检测血清标本中是否有相应凝集抗体。单份血清标本乳胶凝集效价 > 1:2、炭粒凝集效价 > 1:8 时可判为阳性，双份血清标本效价呈 4 倍以上增长则有诊断价值。

五、防治原则

做好防鼠、灭鼠工作，加强对带菌家畜的管理，保护水源，及对易感人群接种钩端螺旋体疫苗。目前国内外均使用多价全细胞死疫苗，疫苗中包含当地流行的主要钩端螺

旋体血清型。我国首先研制成功的多价外膜疫苗已获得生产批文，该疫苗免疫效果好，不良反应明显减少，有望替代多价全细胞死疫苗。

治疗时首选青霉素，青霉素过敏者可用庆大霉素、强力霉素等。部分患者青霉素注射后出现寒战高热及低血压，有的甚至出现抽搐、休克、呼吸和心跳暂停，称之赫氏反应。赫氏反应可能与钩端螺旋体被青霉素杀灭后，短时间内释放出大量毒性物质有关。

第五节 伯氏疏螺旋体

伯氏疏螺旋体 (*B. burgdorferi*) 是莱姆病 (*lyme disease*) 的主要病原体，在分类学上属于螺旋体目 (*Spirochaetales*)、螺旋体科 (*Spirochaetaceae*) 的包柔螺旋体属 (*Borrelia*)，也称疏螺旋体属。莱姆病最初于 1977 年在美国康涅狄格州的莱姆镇发现，5 年后由 Burgdorfer 从硬蜱及患者体内分离出伯氏疏螺旋体。莱姆病病原体存在着异质性，其分类尚未统一，目前仍以伯氏疏螺旋体作为莱姆病病原体的统称。1985 年我国在黑龙江省林区首次发现莱姆病，1988 年从病人血液分离出病原体，迄今已有十多个省和自治区证实有莱姆病存在。

一、生物学形状

形态与染色 大小为 $0.2 \sim 0.3\mu\text{m} \times 10 \sim 40\mu\text{m}$ ，两端稍尖，有 2~100 根周浆鞭毛。伯氏疏螺旋体运动活泼，有扭转、翻滚、抖动等多种方式。在培养基中，数个螺旋体可不规则地缠绕一起，呈卷圈状 (图 19-6)。革兰染色阴性，但不易着色。Giemsa 或 Wright 染色的效果较好。

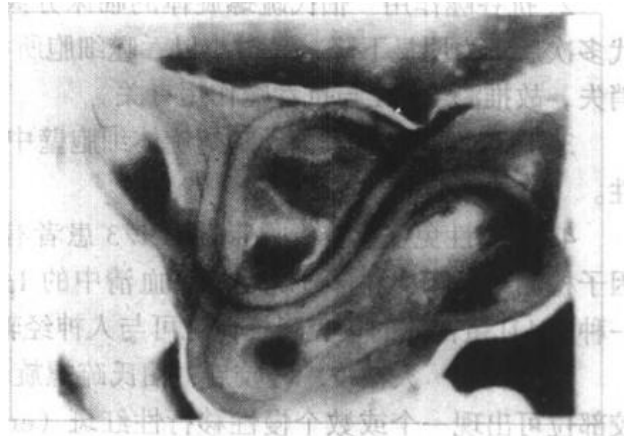


图 19-6 伯氏疏螺旋体两条伯氏疏螺旋体缠绕在一起呈卷圈状，负染 $\times 50\ 000$

培养特性 营养要求高。培养基需含有长链饱和及不饱和脂肪酸、葡萄糖、氨基酸和牛血清白蛋白等。微需氧，5%~10% CO_2 促进生长。最适生长温度为 35°C 。生长缓慢，在液体培养基中分裂一代约需 18h，一般需培养 2~3 周。在 1% 软琼脂固体培养基中的菌落常生长在近表面，呈细小、边缘整齐、直径 $0.40 \sim 0.45\mu\text{m}$ 的菌落。

分类 采用 DNA 同源性比较对世界各地分离的莱姆螺旋体株进行了分析，发现引起莱姆病的疏螺旋体至少有 3 个种：①伯氏疏螺旋体，主要分布于美国和欧洲；②伽氏疏螺旋体 (*B. garinii*)，主要分布于欧洲和日本；③埃氏疏螺旋体 (*B. afelii*)，主要分布于欧洲和日本。

与国际伯氏疏螺旋体代表株 B31 的蛋白图谱比较，美国分离的伯氏疏螺旋体株与之相似，欧洲分离的绝大多数伯氏疏螺旋体株则明显不同，前者均有外膜蛋白 OspA，

后者极少有 OspA。我国分离的大部分伯氏疏螺旋体株的蛋白图谱更接近于欧洲分离株。

也有学者按伯氏疏螺旋体株基因组的异质性，将之分为 3 个基因种 (genospecies)：①基因种 I (代表株为 *B. burgdorferi sensu stricto*, B31)；②基因种 II (代表株为 *B. garinii sp. nov.*, 20047)；③基因种 III (代表株为 Vs461)。

二、流行环节

莱姆病是一种自然疫源性传染病。储存宿主主要是野生或驯养的哺乳动物，其中以啮齿类的白足鼠和偶蹄类的鹿较为重要。主要传播媒介是硬蜱，已确定的有 4 种：美国的丹敏硬蜱、太平洋硬蜱；欧洲的蓖子硬蜱和亚洲的全沟硬蜱。伯氏疏螺旋体可在蜱的中肠生长繁殖，叮咬宿主时，通过肠内容物返流、唾液或粪便而使宿主感染。

三、致病性与免疫性

致病物质 伯氏疏螺旋体的致病机制迄今尚无定论，其致病可能是某些毒性物质及病理性免疫反应等多因素作用的结果。

1. 侵袭力 伯氏螺旋体能粘附、侵入成纤维细胞及人脐带静脉内皮细胞，并在胞质内生存。该粘附作用可被特异性多价免疫血清或外膜蛋白 OspB 的单克隆抗体所抑制，表明伯氏疏螺旋体表面存在有粘附素和入侵功能的物质，但其性质尚未完全确定。

2. 抗吞噬作用 伯氏疏螺旋体的临床分离株对小鼠毒力较强，在人工培养基中传代多次后毒力明显下降，易被小鼠吞噬细胞所吞噬。与此同时，外膜蛋白 OspA 亦逐渐消失，故推测 OspA 与抗吞噬作用有关。

3. 内毒素样物质 伯氏疏螺旋体细胞壁中的 LPS 具有类似细菌内毒素的生物学活性。

4. 病理性免疫反应 临床上约 1/3 患者有高效价的抗核抗体，约 1/4 患者类风湿因子检测结果阳性。部分晚期患者血清中的 IgM 可与人神经轴突结合，伯氏疏螺旋体一种 41kD 蛋白质的单克隆抗体也可与人神经轴突结合，提示存在共同抗原。

所致疾病 人被疫蜱叮咬后，伯氏疏螺旋体在局部繁殖。经 3 ~ 30d 潜伏期，在叮咬部位可出现一个或数个慢性移行性红斑 (erythema chronicum migrans, ECM)。开始时为红色斑疹或丘疹，随后逐渐扩大形成一片圆形皮损，外缘有鲜红边界，中央呈退行性变，似一红环；也可在皮损内形成数个环状红圈，似枪靶形。皮损逐渐扩大，直径可达 5 ~ 50cm。一般经 2 ~ 3 周，皮损自行消退，偶留有斑痕与色素沉着。早期症状有乏力、头痛、发热、肌痛等。未经治疗的莱姆病病人，约 80% 可发展至晚期，但所需时间差异较大，快者发病后一周，慢者超过 2 年。晚期主要表现为慢性关节炎、慢性神经系统或皮肤异常。莱姆病有明显的个体差异，轻者为亚临床感染或仅累及一个系统，重者同时出现皮肤、神经系统、关节、心脏等多脏器损害。任何一个系统的受累均可呈暂时性、再发和慢性化特点。不同地区也有不同的临床特征，美国以关节炎多见，欧洲则以神经系统病变更为常见，这可能与流行的伯氏疏螺旋体株不同有关。

免疫性 伯氏疏螺旋体感染后可产生特异性抗体。体内清除感染的伯氏疏螺旋体主

要依赖于特异性体液免疫。特异性细胞免疫的保护作用尚有争议。在特异性抗体存在时,吞噬细胞方有较为明显的吞噬伯氏疏螺旋体的作用。伯氏疏螺旋体侵入宿主体内后,能有效地诱导巨噬细胞等产生 IL-1、IL-6 和 TNF 等细胞因子,亦能活化补体替代途径而释放 C3a、C5a 等炎症介质。这些细胞因子和炎症介质既能造成机体的损伤,但也有助于宿主的免疫防御。

四、微生物学检查法

由于伯氏疏螺旋体在莱姆病的整个病程中数量较少,主要依靠血清学试验和分子生物学技术来诊断莱姆病。

使用最广泛的是免疫荧光法和 ELISA。由于 ELISA 具有简便、特异和敏感等优点,为多数实验室所采用。在移行性红斑出现后 2~4 周,可测出患者血清中的特异性 IgM 抗体,6~8 周达峰值,4~6 个月后恢复正常。IgG 抗体出现较迟,其峰值出现于发病后 4~6 个月,并持续至病程的晚期。若脑脊液中查出特异性抗体,表示中枢神经系统已被累及。

ELISA 阳性时,需用免疫印迹技术分析其特异性,这有助于排除 ELISA 的假阳性反应。IgM 抗体的主要靶抗原是 41kDa 的鞭毛抗原, IgG 抗体的靶抗原则为 31kDa 的 OspA、34kDa 的 OspB 和 21kDa 的 OspC 等。由于伯氏疏螺旋体与苍白密螺旋体等有共同抗原、莱姆病的病原体多样化、不同菌株所携带的靶抗原差异及其变异,ELISA 和免疫印迹的检测结果仍需结合临床资料判定。

近来也有人用特异很高的 PCR 检测伯氏疏螺旋体 DNA 片段,从而进行莱姆病的诊断。

五、防治原则

疫区工作人员要加强个人防护,避免硬蜱叮咬。灭活全细胞疫苗已在美国获准在家犬中使用。目前正在研制人用的伯氏疏螺旋体重组蛋白疫苗,研究最多的是 OspA 和 OspC,在动物实验中可产生有效的免疫保护。

根据患者不同的临床表现及病程采用不同的抗生素及给药方式。早期莱姆病患者口服使用强力霉素、羟氨苄青霉素或红霉素。晚期莱姆病患者存在多种深部组织损害,一般用青霉素联合头孢三嗪等静脉滴注。

第六节 主要的病原性立克次体

普氏立克次体 普氏立克次体是流行性斑疹伤寒(又称虱传斑疹伤寒)的病原体。病人是唯一的传染源,体虱是主要传播媒介,传播方式为虱-人-虱。体虱感染普氏立克次体后,在肠管上皮细胞内繁殖,并随粪便排出。由于体虱可因普氏立克次体感染而死亡,且不经卵感染子代,故仅是传染媒介而非储存宿主。当受感染的体虱叮咬人体时,常排粪于皮肤上,粪中普氏立克次体从抓破的伤口进入人体。有时含普氏立克次体的虱粪也可经空气侵入呼吸道或眼结膜使人感染。人感染后,经 10~12d 潜伏期骤然发

病。主要症状有高热、头痛、皮疹等。有的伴有神经系统、心血管系统等症状和实质性器官损害。病后有持久免疫力，并与斑疹伤寒立克次体感染有交叉免疫力。

莫氏立克次体 又称斑疹伤寒立克次体，是地方性斑疹伤寒（又称鼠型斑疹伤寒）的病原体。啮齿类动物是主要储存宿主，主要传播媒介是鼠蚤或鼠虱，自然感染周期为鼠蚤、鼠虱-啮齿类动物-鼠蚤、鼠虱。莫氏立克次体在鼠蚤的肠管上皮细胞内繁殖，并随粪便排出。鼠蚤叮咬人体时，常排粪于皮肤上，粪中斑疹伤寒立克次体从抓破的伤口进入人体。干燥的蚤粪尘埃也可经口、鼻、眼结膜进入人体而致病。此时人体若有人虱寄生，可通过人虱为传播媒介，继发性地在人群中传播。地方性斑疹伤寒的临床特征与流行斑疹伤寒相似，但病情较轻，病程较短，很少累及中枢神经系统和内脏。病后与普氏立克次体感染有交叉免疫力。

恙虫病立克次体 又称东方立克次体，是恙虫病的病原体。恙虫病主要流行于啮齿动物。野鼠和家鼠感染后多无症状，但体内长期保存病原体，故是恙虫病的主要传染源。此外，兔类、鸟类等也能感染或携带恙螨而成为传染源。恙虫病立克次体寄居在恙螨体内，可经卵传代。恙螨的幼虫要吸吮一次动物或人淋巴液或组织液才能发育成稚虫。因此恙螨既是恙虫病立克次体的储存宿主，又是传播媒介。人若被受染恙螨叮咬，就可感染恙虫病立克次体。被叮咬处先出现红色丘疹，发展成水泡后破裂，中央溃疡形成黑色焦痂，周围有红晕，为恙虫病特征之一。恙虫病立克次体在局部繁殖后经淋巴系统进入血循环而形成立克次体血症，释出的毒素可引起全身淋巴结肿大及内脏器官的炎症和损害，病死率随毒株不同差异很大。病后有较持久的免疫力。

Q热柯克斯体 又称贝纳氏柯克斯体，是Q热（query fever）的病原体。蜱体内可长期携带Q热柯克斯体，并可经卵传代，故是储存宿主。通过受染蜱的叮咬，野生啮齿类动物和牛、羊等家畜感染Q热柯克斯体。野生动物和家畜感染后多无症状，并长期从尿、粪中排出病原体，故牛、羊等家畜是Q热柯克斯体的主要传染源和储存宿主之一。感染动物的排泄物污染环境后，通过接触、呼吸道、消化道等途径感染人类。乳牛感染可引起慢性乳房炎，故未经消毒的乳制品亦可引起传播。Q热柯克斯体侵入人体后，先在局部单核细胞内生长繁殖，然后侵入血流引起柯克斯体血症，并累及小血管和内脏器官。Q热的临床症状有发热、头痛、腰痛、腓肠肌痛等，其中部分患者可出现心内膜炎。

病后有一定程度的免疫力，以细胞免疫为主。

血清外斐氏反应阴性，可用补体结合试验或凝集试验检查特异性抗体以辅助临床诊断。

第七节 人兽共患的其他微生物

一、登革病毒

登革病毒（dengue virus）分类上属于黄病毒属，是登革热的病原体。登革热是一种由伊蚊传播的急性传染病，流行于东南亚、西太平洋等热带、亚热带及加勒比海地区的60多个国家，近年中南美洲出现流行并迅速蔓延。我国近年在广东、海南、广西等

地均有不少登革热患者。

生物学形状 单正股 RNA 的小球状病毒，衣壳为 20 面体立体对称，最外层为脂质包膜。易在蚊体中增殖，可用白纹伊蚊的传代细胞（C6/36 株）或小鼠肾等哺乳类动物细胞进行培养。初生小鼠对登革病毒敏感。

抗原分型 根据抗原的不同，分为 1、2、3、4 四个血清型，各型病毒间有抗原性交叉。登革病毒与乙脑病毒等有抗原性交叉。

流行环节 在自然界，登革病毒储存于人和猴，通过埃及伊蚊和白纹伊蚊等传播。

致病性与免疫性 病毒侵入人体后在毛细血管内皮细胞和单核细胞中增殖，然后经血流播散而致病。普通登革热主要临床症状是发热、肌肉和关节酸痛、淋巴结肿胀。登革出血热/登革休克综合征的患者除上述症状外，还出现皮肤出血、休克等，病情较重。登革出血热/登革休克综合征通常发生于过去已有登革病毒感染、现再次感染的儿童或成人。发病的严重程度与患者血清中原来存在的亚中和浓度的登革病毒抗体有密切关系。再次感染的登革病毒以 2 型最为常见。

有关登革出血热/登革休克综合征的发病机理还未完全清楚。多数学者认为，初次感染登革病毒后诱生的抗体对再次感染可产生所谓依赖抗体促进病毒感染的作用（antibody dependent enhancement, ADE）或免疫促进作用（immune enhancement）。其可能的机制是，结合了登革病毒 IgG 的 Fc 段与单核细胞/巨噬细胞表面的 Fc 受体结合后，能促进病毒侵入细胞并在其中增殖。携带病毒的单核细胞/巨噬细胞通过血循环导致全身感染。这些细胞的表面可提呈大量登革病毒抗原，促发机体的细胞介导的免疫应答参与病毒的清除作用。感染病毒的单核细胞受细胞毒性 T 细胞攻击或 IL-2、IFN- γ 等细胞因子作用时，可被激活而释放肿瘤坏死因子、蛋白酶、凝血激酶和一些血管通透性因子，引起补体 C3 激活、血小板减少和血管通透性增高，导致出现出血和休克等严重症状。此外，大量登革病毒抗原与抗体在血循环中所形成的免疫复合物，可激活补体系统而引起血管通透性增高，与休克的发生也有关系。

微生物学检查法 患者发病第 1~3d，常出现病毒血症，病毒滴度较高。病人早期血清接种白纹伊蚊 C6/36 细胞株、或胸内接种巨蚊的成蚊、或脑内接种巨蚊的幼虫，病毒分离的阳性率高于乳鼠接种。患者感染一周后，血清中出现血凝抑制抗体，稍后出现补体结合抗体。患者早期与恢复期双份血清的抗体滴度呈 4 倍增长，则有诊断意义。最近应用抗体捕获的 ELISA 法检测登革热患者血清的特异性 IgM 抗体，有助于早期诊断。

防治原则 登革病毒疫苗尚未研制成功。最近国外文献报道，登革病毒减毒活疫苗接种少数志愿者后无不良反应，并能诱生中和抗体，但尚未研究疫苗接种后产生 ADE 的可能性及其对策。

二、新疆出血热病毒

新疆出血热病毒是从我国新疆塔里木盆地出血热患者的血液、尸体内脏及疫区捕获的硬蜱中分离的一种 RNA 病毒，属于布雅尼病毒科内罗病毒属（Nairovirus）的克里米亚-刚果（Crimean-Congo）出血热病毒组。

生物学形状 有包膜的单负链 RNA 病毒，其形态、结构和抵抗力与汉坦病毒相似，但抗原性、传播方式和致病性不同。

流行环节 新疆出血热是一种自然疫源性疾病，主要分布于有硬蜱活动的荒漠牧场。野生啮齿类动物以及羊、牛、马、骆驼等家畜是病毒主要的储存宿主。亚洲璃眼蜱 (*Hyalomma asiaticum*) 既是传播媒介，也因病毒在蜱体内可经卵传代而成为储存宿主。通过带毒硬蜱叮咬而感染人类。急性期患者的血液中含有病毒，通过皮肤伤口也能引起接触传染。

致病性与免疫性 新疆出血热的发病有明显的季节性，4~5月出现高峰，与蜱消长曲线相符。病毒侵入人体后，经一周左右的潜伏期发病。临床特征以发热和出血为主，表现为皮肤粘膜点状出血、蛋白尿、血尿和低血压休克等。

血清中和抗体可于发病后一周出现，两周达高峰，并可维持达5年以上。血清补体结合抗体出现较迟，抗体滴度也较低。病后免疫力巩固。

微生物学检查 初生小鼠对该病毒有很高的易感性，可采集患者急性期血标本接种于初生小鼠，进行病毒分离。发病后，患者血清中出现的中和抗体可用于免疫学诊断。

防治原则 我国研制的新疆出血热疫苗已接近成功，经牧区现场考核表明该疫苗安全，但尚需一定的时间观察其免疫预防的效果。

三、布鲁菌属

布鲁菌属 (*Brucella*) 的细菌是一类引起人类、家畜及其它动物布氏菌病的病原菌，有6个种、19个生物型，对人致病的有羊布氏杆菌 (*B. melitensis*)、牛布氏杆菌 (*B. abortus*)、猪布氏杆菌 (*B. suis*) 和犬布氏杆菌 (*B. canis*)。我国流行的主要是羊、牛、猪三种布氏杆菌，尤以羊布氏杆菌更常见。

生物学性状 球杆菌或短杆菌，大小为 $0.4 \sim 0.8 \mu\text{m} \times 0.5 \sim 1.5 \mu\text{m}$ 。无芽胞，无鞭毛，光滑型菌株有微荚膜。革兰染色阴性。

专性需氧，初次分离培养时需 5%~10% CO_2 。营养要求较高，在普通培养基中加入血液、血清或肝浸液可促进生长。最适生长温度为 $35 \sim 37^\circ\text{C}$ ，最适 pH 为 6.6~6.8。生长缓慢，临床标本中的布氏杆菌 37°C 培养 5~10d 才能形成菌落。传代培养 48h 可形成微小、透明、无色的光滑型 (S) 菌落，但多次传代后可转变成粗糙型 (R) 菌落。在血琼脂平板上不溶血。

大多数菌株能分解尿素和产生 H_2S 。根据产生 H_2S 的多少和对碱性染料抑菌作用的敏感性不同，可鉴别羊、牛、猪等布氏杆菌。

光滑型布氏杆菌含有两种抗原物质，即 A 抗原和 M 抗原。两种抗原在不同的布鲁菌中含量不同，如牛布氏杆菌 A:M = 20:1、羊布氏杆菌 A:M = 1:20、猪布氏杆菌 A:M = 2:1。用 A 与 M 单因子抗血清进行凝集试验可鉴别三种常见的布氏杆菌。

抵抗力较强，在土壤、毛皮、病畜的脏器及分泌物、肉和乳制品中可生存数周至数月。但对日光、热、常用消毒剂均较敏感。

流行环节 家畜感染布氏杆菌后可表现为睾丸炎、附睾炎、乳腺炎、子宫炎等，也可引起母畜流产。隐性感染的动物可经乳汁、粪、尿等长期排菌。人类感染布氏杆菌主

要通过接触病畜及其分泌物或接触被污染的畜产品，经皮肤、粘膜、眼结膜、消化道、呼吸道等多种途径感染。

致病性与免疫性 主要致病物质有内毒素、荚膜和透明质酸酶等。侵袭力很强，能通过完整的皮肤、粘膜侵入宿主体内，并易于扩散和侵入血流。

布氏杆菌侵入机体后，被中性粒细胞和巨噬细胞吞噬，成为胞内寄生菌，并随淋巴流到达局部淋巴结生长繁殖形成感染灶。当细菌繁殖达到一定数量时，侵入血流引起菌血症，临床主要表现为内毒素引起的发热。随后该菌易在肝、脾、骨髓、淋巴结等形成新的感染灶，在细胞内繁殖后又引起菌血症而发热。如此反复出现的菌血症，使患者的热型呈波浪式，临床上称为波浪热。感染易转为慢性并反复发作，在全身各处引起迁徙性病变，伴随发热、关节痛、全身乏力、肝和脾肿大等症状及体征。

布氏杆菌的致病还与Ⅲ型、Ⅳ型变态反应有关。患者常出现的急性炎症和组织坏死，可能是一种 Arthus 反应。

由于布氏杆菌细胞内寄生，故其免疫以细胞免疫为主，但特异性 IgM 和 IgG 可发挥免疫调理作用。布氏杆菌各菌种或生物型的抗体有交叉保护作用。一般认为布氏杆菌的免疫起初是有菌免疫，但随着免疫力不断增强，可转变为无菌免疫。

微生物学检查 急性期取血标本，慢性期取骨髓。将标本接种于双相肝浸液培养基中，5%~10% CO₂ 环境中 37℃ 培养。大多数菌株在 5~10d 内形成菌落，由于部分菌株生长缓慢，需培养 30d 仍无菌生长方可报告为阴性。若培养结果阳性，可根据菌落特点、染色镜检、尿素分解、H₂S 产生、染料抑菌试验、单因子抗血清凝集反应等进行鉴定和分型。

发病 1~7d 后，血清中开始出现 IgM 型凝集素抗体，可进行玻片凝集试验，效价 ≥ 1:160 有诊断意义。一般发病 3 周后出现的 IgG 型补体结合抗体维持时间较长，对诊断慢性布氏杆菌病意义较大，试验结果以 1:10 为阳性。皮肤试验可用于诊断慢性或曾患过布氏杆菌病：皮内注射布鲁菌素 (brucellin) 0.1ml，24~48h 后注射处皮肤红肿浸润的直径达 1~2cm 者为弱阳性，2~3cm 为阳性，4~6cm 为强阳性，若红肿在 6~8h 内消退者为假阳性。

防治原则 加强家畜管理、切断传播途径和疫苗预防接种是控制布氏杆菌病的主要措施。免疫接种以畜群为主。人群接种对象是牧场和屠宰场的工作人员、兽医、布氏杆菌实验室人员等。

急性病人用抗生素治疗，慢性者除继续用抗生素治疗外，应采用综合疗法以增强机体免疫力。

四、炭疽芽胞杆菌

炭疽芽胞杆菌 (*B. anthracis*) 简称炭疽杆菌，可引起动物和人类的炭疽病，是人类历史上第一个被发现的病原菌，分类上属于需氧芽胞杆菌属 (*Bacillus*)。芽胞杆菌属是一群需氧、能形成芽胞的革兰阳性大杆菌，除炭疽杆菌和引起食物中毒的蜡样芽胞杆菌外，其它大多为腐生菌。

生物学性状 是致病菌中最大的细菌，大小为 1~1.2μm × 3~6μm，两端平切，人

工培养基中常呈竹节状长链，感染组织标本中常呈单个或短链。无鞭毛，有氧条件下形成小于菌体、椭圆形、位于菌体中央的芽胞。

需氧，最适生长温度为 37℃，最适 pH 为 7.2~7.4。在普通琼脂平板上培养 24h，可形成直径 2~4mm 灰白色、无光泽、不透明、边缘不整齐、干燥的粗糙型菌落。在血琼脂平板上早期不溶血，24h 后有轻度溶血。在肉汤培养基中生长后因形成长链而出现絮状沉淀。有毒菌株在碳酸氢钠血琼脂平板上、5% CO₂ 环境中培养 48h 后，可因产生荚膜而形成粘液性菌落。

炭疽杆菌主要抗原有荚膜多肽、菌体多糖和炭疽毒素，此外尚有芽胞抗原。荚膜多肽抗原由 D-谷氨酸多肽组成，具有抗吞噬作用，故与毒力有关。菌体多糖抗原由 D-乙酰葡萄糖胺和 D-半乳糖组成，耐热，与毒力无关，但能与相应抗体发生沉淀反应，称之 Ascoli 试验。菌体多糖抗原特异性不高，与其它芽胞杆菌、14 型肺炎链球菌多糖抗原，甚至人 A 血型抗原之间发生交叉反应。炭疽毒素是保护性抗原、致死因子和水肿因子三种蛋白质组成的复合物，若一起注射于动物体内，可出现炭疽病的典型中毒症状。

炭疽杆菌繁殖体的抵抗力与一般细菌相似，但其芽胞的抵抗力很强。炭疽杆菌芽胞能在干燥土壤中存活 20 余年、皮毛中生存数年。煮沸 10min 或 140℃ 干热 3h 才能杀死芽胞。芽胞对碘及氧化剂较敏感，但对其它化学消毒剂的抵抗力很强。

流行环节 炭疽主要是牛、羊等草食动物的传染病，人可通过摄食或接触患炭疽病的动物及畜产品而感染，传播方式和途径多样，以皮肤炭疽多见，也有肠炭疽和肺炭疽。三个型的炭疽均可并发败血症，并易导致炭疽性脑膜炎。

致病性与免疫性 主要致病物质是荚膜和炭疽毒素。荚膜有抗吞噬作用，有利于细菌在宿主组织内繁殖扩散。炭疽杆菌主要毒力因子是炭疽毒素，但其中的致死因子和水肿因子单独不能发挥生物学活性作用，必须与保护性抗原组合后才有明显的毒性。炭疽毒素直接损伤微血管内皮细胞，使血管通透性增加而形成水肿，有效循环血量不足，微循环障碍，引起休克和 DIC，甚至致死。

接触患病动物或污染毛皮可引起皮肤炭疽，食入未煮熟的病畜肉类、奶或被污染食物可引起肠炭疽，吸入含有大量病菌芽胞的尘埃可引起肺炭疽。三个型的炭疽均可并发败血症，患者常因炭疽性脑膜炎而死亡。

感染炭疽后可获得持久性免疫力。组成炭疽毒素的保护性抗原的抗体具有保护作用，荚膜多肽抗原的抗体和菌体多糖抗原的抗体无保护作用。

微生物学检查 根据炭疽病型采取不同标本。早期皮肤炭疽患者取病灶渗出液，后期取血液；肺炭疽取痰及血液；肠炭疽取粪便及血液；脑膜炎炭疽取脑脊液。炭疽动物尸体严禁剖检，以防芽胞污染环境，并在无菌条件下割取耳尖或舌尖组织送检。

取渗出液、血液标本直接涂片进行革兰染色，若发现呈竹节状排列的革兰阳性大杆菌，结合临床症状可作出初步诊断。涂片也可用特异性荧光抗体染色法或荚膜肿胀试验进行检查。

检材接种于血琼脂平板和碳酸氢钠琼脂平板，培养后观察菌落，用青霉素串珠试验、动物试验可进行鉴定。串珠试验是炭疽杆菌在含微量青霉素 (0.05~0.5U/ml) 的

培养基上，发生形态变异，形成大而均匀的圆球形，呈串珠状，其它需氧芽胞杆菌无此现象。若将含炭疽杆菌的检材接种小鼠，2~3d内动物发病，出现皮下水肿、肝脾肿大呈暗褐色等典型病变，内脏及血液中存在大量有荚膜的革兰阳性大杆菌。

防治原则 病畜应严格隔离或处死，死畜严禁剥皮或煮食，必须焚毁或加大量石灰2m以下深埋。对易感家畜应进行预防接种。

疫区皮革和毛纺工人、牧民、屠宰场工作人员、兽医等应用炭疽减毒活疫苗进行特异性预防接种。接种后约15d产生免疫力，可维持一年。

治疗时首选青霉素，四环素、氯霉素、强力霉素等也有效。

五、蜡样芽胞杆菌

蜡样芽胞杆菌 (*B. cereus*) 分类上属于需氧芽胞杆菌属 (*Bacillus*)。需氧芽胞杆菌属的枯草杆菌、地衣芽胞杆菌、球型芽胞杆菌等也可引起食物中毒，但以蜡样芽胞杆菌更为常见。

生物学性状 革兰阳性大杆菌，生长6h后形成位于菌体中央或次极端的椭圆形芽胞。普通琼脂平板上生长良好，菌落较大，灰白色，表面粗糙似融蜡状。

流行环节 本菌广泛分布于土壤、水、尘埃，淀粉制品、乳和乳制品等食品中也常见。摄入污染了大量蜡样芽胞杆菌的食品可导致发病。

致病性 引起食物中毒与污染的蜡样芽胞杆菌数量有直接关系，通常食物中含菌量达 $10^6/g$ 以上才能致病。食物中毒分两种类型：①呕吐型：由耐热的肠毒素引起，于进餐后1~6h发病，主要症状是恶心、呕吐、腹痛，仅有少数患者有腹泻，病程平均不超过10h；②腹泻型：由不耐热肠毒素引起，进食后发生恶心、腹痛、腹泻等症状，病程平均24h。不耐热肠毒素的性质及其致病机制与大肠杆菌不耐热肠毒素和霍乱肠毒素相似。

蜡样芽胞杆菌也是外伤后眼部感染的常见病原菌，所引起的全眼炎常导致眼球摘除。免疫功能低下或应用免疫抑制药物的患者感染蜡样芽胞杆菌后，可引起心内膜炎、菌血症和脑膜炎。

微生物学检查 发生食物中毒时，应采取可疑食物、呕吐物及粪便标本进行检查。除进行分离培养外，须作活菌计数，这是由于暴露于空气中的食物通常会在一定程度上被蜡样芽胞杆菌污染，故不能因分离出该菌就认为是食物中毒的病原菌。

防治原则 蜡样芽胞杆菌无疫苗。该菌对红霉素、氯霉素和庆大霉素敏感，对青霉素、磺胺类耐药。

六、小肠结肠炎耶氏菌

小肠结肠炎耶氏菌 (*Y. enterocolitica*) 是引起人类严重小肠结肠炎的病原菌，分类上属于肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 中的耶尔森菌属 (*Yersinia*)。

生物学性状 革兰阴性小杆菌，偶见两端浓染。无芽胞、无荚膜，25℃培养时有周身鞭毛，但37℃培养时则很少或无鞭毛。

需氧，最适生长温度为28℃，最适pH为7.0~8.0。营养要求不高，但在普通琼

脂培养基上生长缓慢。培养 24h 后可形成无色或灰白色、透明或半透明、光滑凸起的细小菌落。初次分离为 S 型菌落，人工传代后可出现 R 菌落。部分菌株有溶血现象。

分解葡萄糖、蔗糖，产酸不产气。不产生 H_2S ，吲哚试验阴性，多数菌株能分解尿素。

根据 O 和 H 抗原的不同，分为 17 个血清群和 54 个血清型。有毒力菌株大都具有 V/W 抗原。

流行环节 本菌正常寄居在多种动物体内，如猪、牛、狗、猫、鸡、鼠等。人类主要通过污染的食物和水经粪口途径感染，接触动物也是感染途径之一。

致病性 V - W 抗原具有抗吞噬作用。一些菌株产生与大肠杆菌肠毒素 ST 相似耐热肠毒素。此外，某些菌株的 O 抗原与人体组织有共同抗原，可引起自身免疫性疾病。

感染后潜伏期为 3 ~ 7d。根据病变位置与发病机制不同，可分为四型：①胃肠炎或小肠结肠炎型，此型最为常见，多发生于婴幼儿，以腹痛、腹泻和发热为主要症状；②回肠末端炎、阑尾炎和肠系膜淋巴结炎型，多见于学龄儿童和青年人，急腹症样症状；③结节性红斑和关节炎型，多见于成年人，为自身免疫病；④败血症型。

微生物学检查 根据不同病型采取粪便、血液或剩余食物等标本。将标本接种于 SS 琼脂或耶氏菌选择性培养基，25℃ 培养 48h，挑取可疑菌落用生化反应及血清凝集试验进行鉴定。

防治原则 本菌无疫苗。治疗时可用氯霉素、卡那霉素、庆大霉素等。

七、假结核耶氏菌

假结核耶氏菌 (*Y. pseudotuberculosis*) 分类上属于肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 的耶尔森菌属 (*Yersinia*)。感染本菌的动物脏器中可形成粟粒状结核结节，人感染部位中可形成结核样肉芽肿，故称假结核耶氏菌。

生物学性状 球状或短杆状等多形态性小杆菌，革兰染色阴性。无荚膜，无芽胞。兼性厌氧，最适生长温度为 30℃，最适 pH 为 6 ~ 8。30℃ 以下培养时有鞭毛，37℃ 培养时消失。

分解鼠李糖、水杨素和密二糖，产酸不产气。能迅速分解尿素，产生 H_2S ，还原硝酸盐，甲基红试验阳性。不液化明胶。

根据耐热的菌体 O 抗原和 H 抗原将细菌分为 6 个血清型。其抗血清可与鼠疫耶氏菌、小肠结肠炎耶氏菌发生交叉凝集，但无交叉免疫保护力。毒力菌株大部分具有 V/W 抗原。

流行环节 存在于多种动物的肠道中。对豚鼠、家兔、鼠类等有很强的致病性，患病动物的肝、脾、肺和淋巴结中可形成多发性粟粒状结核结节。人类主要通过食用患病动物的肉类及污染的食物而感染，引起的疾病与小肠结肠炎耶氏菌相似。

致病性 人类感染假结核耶氏菌后主要表现为肠系膜淋巴结炎，临床症状类似于急性或亚急性阑尾炎，多发生于 5 ~ 15 岁的学龄儿童。少数患者表现为高热、紫癜并伴有肝、脾肿大，类似肠伤寒的症状，也可出现结节性红斑等自身免疫性疾病的症状。

微生物学检查 根据不同的病型采取粪便、血液等标本。将标本接种于 SS 琼脂或

耶氏菌选择性培养基进行分离培养，然后用生化反应及血清学试验进行鉴定。

防治原则 本菌感染后大多无明显症状，可自愈。有明显症状者可用广谱抗生素治疗。

八、单核细胞增多性李斯特菌

李斯特氏菌属 (*Listeria*) 是一类革兰阳性杆菌，其中单核细胞增多性李斯特菌 (*L. monocytogenes*) 对人致病。

生物学性状 革兰染色阳性短杆菌。无荚膜，无芽胞。兼性厌氧或需氧，最适生长温度为 30~37℃，最适 pH 为 6~8。25℃ 培养时有鞭毛，37℃ 培养时少见或消失。营养要求不高。

分解鼠李糖，不分解木糖。部分菌株在羊血琼脂平板上引起 β 溶血。根据菌体 O 抗原和 H 抗原将细菌分为 13 个血清型。

流行环节 广泛分布于自然界，可在人、多种野生动物和家畜、土壤和植物中分离出本菌。能通过多种途径感染人类，如污染的食物和医疗器械等，也可在病人之间直接传播。

致病性 产生溶血素样的外毒素，能在吞噬细胞内寄生并繁殖。引起新生儿化脓性脑膜炎，成人感染后主要引起流产、败血症或无败血症性的单核细胞增多症。病后产生的免疫主要是细胞免疫。

微生物学检查 根据不同疾病采取不同标本，如采取血液、脑脊液等标本。从标本中分离出革兰染色阳性短杆菌后，再用生化反应及血清学试验进行鉴定。

防治原则 本菌无疫苗。治疗时首选青霉素和氨苄青霉素，也可用其它广谱抗生素。

九、回归热疏螺旋体

回归热是一种以急起急退的高热、周期性反复发作为临床特征的急性传染病。多种疏螺旋体均可引起回归热。

生物学性状 大小为 0.2~0.5μm × 3~20μm，有 3~10 个不规则的螺旋。有内鞭毛，运动活泼。革兰染色阴性，Giemsa 染色呈紫红色。

微需氧，最适生长温度为 28~30℃。含天然动物蛋白的特殊培养基中能生长，但分裂繁殖一代需约 18h。鸡胚绒毛尿囊膜上生长良好，鸡胚可被致死。

含有类属抗原和特异性抗原，但抗原性极易变异。

流行环节 根据传播媒介昆虫种类的不同，可将回归热分为两型：①虱传回归热，或称流行性回归热，病原体为回归热疏螺旋体 (*B. recurrentis*)，主要传播媒介是人体虱；②另一为蜱传回归热，又称地方性回归热，病原体为赫姆斯疏螺旋体 (*B. hermsii*) 和杜通疏螺旋体 (*B. duttonii*) 等，传播媒介是软蜱，储存宿主是啮齿类动物。我国流行的回归热主要是虱传型。

致病性 携带回归热疏螺旋体的人体虱或软蜱通过感染人类。虱传型回归热的临床表现为反复发作的急起急退高热、头痛、肝脾肿大。蜱传回归热的临床表现及病程与虱

转型相似，只是病程较短、症状较轻。

微生物学检查 采取发热期的血标本，直接涂片、Giemsa 染色后镜检。

防治原则 目前尚无实际使用的疫苗。治疗时首选青霉素。

展 望

现代医学及其相关学科的飞速发展，使得人兽共患病微生物的研究达到了前所未有的深度和广度。尤其是分子生物学技术的广泛应用，对人兽共患微生物的生物学性状、致病机制和有效防治等产生了巨大影响。值得一提的是，最近完成的钩端螺旋体基因组的全序列测定，是由我国学者独立完成的第一个模式生物的全序列分析，具有重大的学术价值和深远的历史意义。近年来，病原微生物与宿主细胞的相互作用在感染的发生和发展、以及感染的转归的影响成为新的研究热点，并由此出现了新的医学微生物学分支——细胞微生物学。

目前已知的人兽共患微生物及其相应疾病中有许多重要问题尚未解决，值得进一步深入研究。对宿主动物的长期生态学研究，将有助于阐明动物群体变动对人兽共患微生物在自然界的保存及对其传播的影响。某些人兽共患病的自然疫源未明，如近年浙江、云南、江西、福建、四川等省出现了七日热群钩端螺旋体的暴发流行，但在主要的储存宿主如啮齿类、食虫目动物及蛙类中并未发现携带有该群钩端螺旋体。伯氏疏螺旋体的分离培养迄今未完全解决，这给莱姆病的特异性预防带来很大困难。出血热、莱姆病等的病原体种类繁多，肾综合征出血热和钩端螺旋体病病原体的主要储存宿主均为啮齿类动物，导致其流行地区、高发季节相似，有时甚至临床症状和体征也无明显区别，故研制和推广早期、快速、敏感的特异的实验室诊断方法至关重要。不少人兽共患微生物，诸如钩端螺旋体、莱姆螺旋体、立克次体、埃博拉病毒等的致病物质和致病机制尚未完全明了。机体免疫反应在莱姆螺旋体、登革病毒等人兽共患微生物感染中的重要致病作用虽有一定的了解，但其引起细胞或组织损伤而导致疾病的具体过程及其影响因素所知甚少，目前也无有效的对策。一些人兽共患病常导致患者死亡，如炭疽性脑膜炎的死亡率约 50%、狂犬病死亡率几乎达 100%，如何降低这些疾病的病死率至今仍然束手无策。更为重要的是，登革热、莱姆病、回归热等迄今尚无实际应用的疫苗；流行性出血热、狂犬病、钩端螺旋体病、立克次体病目前使用的疫苗是全病毒灭活疫苗或全细胞死疫苗，副作用较大且免疫效果不十分理想；研制减毒活疫苗或基因工程重组疫苗将是今后人兽共患微生物研究的重要方向之一。

(严 杰)

第二十章 肿瘤相关病毒

与人类肿瘤密切相关的病毒有 DNA 和 RNA 两类病毒，前者有 EB 病毒、人乳头瘤病毒和嗜肝 DNA 病毒等；后者有人类嗜 T 细胞病毒（表 20-1）。肿瘤相关病毒感染后，由于病毒与细胞的相互作用，可诱发细胞的转化或永生。但在动物体内，不是所有的转化细胞都能诱生肿瘤，因免疫监视系统能识别和破坏转化细胞，某些细胞的抑癌基因亦能调控细胞的正常生长。

表 20-1 人类肿瘤相关病毒

病毒科	人类肿瘤	相关病毒
嗜肝 DNA 病毒	肝细胞癌	HBV
疱疹病毒	鼻咽癌	EBV
	Burkitt 淋巴瘤	EBV
	Kaposi 肉瘤	HHV-8
乳多空病毒	乳头状瘤	HPV 某些型
	宫颈癌	HPV-16,18 型
逆转录病毒	成人 T 细胞白血病	HTLV-1

第一节 人类嗜 T 细胞病毒

人类白血病病因学研究经历了曲折的过程，直至 20 世纪 80 年代初，美国和日本学者从人类 T 淋巴细胞白血病细胞分离出一种新的病毒，在体外可连续传代，并证实与人类 T 淋巴细胞白血病有病因学上的联系，命名为人类嗜 T 细胞病毒（human T-cell lymphotropic viruses, HTLV）。HTLV 分 HTLV-I 和 HTLV-II，两型间的基因组约有 50% 同源性，其中，HTLV-I 为成人 T 淋巴细胞白血病（adult T-cell leukemia, ATL）的病原。

一、生物学性状

HTLV 属逆转录病毒，在电子显微镜下，成熟病毒颗粒有一电子密度较深的核心，内含 RNA 基因组、逆转录酶和 Gag 蛋白，外由壳粒组成的衣壳包绕，衣壳为二十面体对称，通常把 RNA 肿瘤病毒的核衣壳统称为类核（nucleoid）。类核外由包膜及糖蛋白包被，包膜来自宿主细胞膜，包膜糖蛋白由病毒基因组编码。成熟病毒颗粒的直径为 100-120nm。皆为 C 型形态，即中央有一电子密度较高类核，周围有清晰的双层结构包膜。

HTLV-I 的基因组为 RNA，由 9 032bp 组成。基因组两端均有长末端重复（long-terminal repeat, LTR）序列。LTR 为 754bp，分为 U₃、R 和 U₃ 3 个小区域，分别含 351bp、221bp 和 180bp。近年研究表明，U₃ 有启动子和增强子序列，参与病毒的复

制过程。基因组中间含有 gag (group - specific antigen)、pol (polymerase)、env (envelope) 和 tax 等基因。

gag 基因编码聚合蛋白前体，而后被酶解为 p19、p24 和 p15，相应组成病毒的基质 (matrix, MA)、衣壳 (capsid) 和核衣壳 (nucleocapsid, NC)。3 种蛋白均有抗原性，但 p15 的抗原性则较弱。

pol 基因编码逆转录酶，由 986 个氨基酸组成，此外还编码 RNase H 和整合酶 (integrase)。

env 基因编码糖基化聚合蛋白，进一步酶解为 gp 46 和 p21。gp 46 分布于细胞表面，在 HTLV - I 病毒转化细胞的培养液中，可检出从细胞表面脱落的大量游离 gp 46，而 p21 则为跨膜蛋白。

tax 基因编码 p40，均分布于感染细胞的核内。属反式激活蛋白，可与 HTLV 基因组的 LTR 相互作用，而活化 LTR，不仅激活 HTLV 前病毒 DNA 的转录，且可启动细胞 DNA 链上某些细胞基因 (图 20 - 1)。

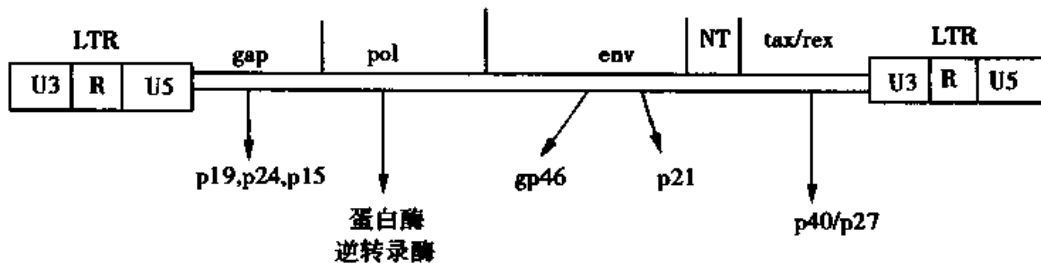


图 20 - 1 HTLV - I 基因组结构及其编码产物

rex 基因编码 p27 和 p21，均为磷酸化蛋白，分布于感染细胞核内，主要作用在转录后水平，与病毒的表达密切相关。

在 gag 基因 3' 端和 pol 基因 5' 端共同参与编码蛋白酶，由蛋白酶将聚合蛋白加工成为不同分子量的蛋白。HTLV 主要有非结构蛋白和结构蛋白抗原：①核心抗原 (Core antigens) 由 gag 基因编码的 48KD 聚合蛋白前体，通过蛋白酶切割形成 P19、P24 和 P15 3 种衣壳蛋白，P15 量少且存在于核心内，故在感染病人血清中偶然出现抗 P15 的抗体，但通常含有抗 P24 和 P19 的抗体；②包膜抗原 (envelope antigens) 由 env 基因编码，Mr 为 68KD 糖蛋白前体，经蛋白酶切割形成 46KD 包膜糖蛋白 (gp46) 和 21KD 跨膜蛋白 (P21)，是成熟包膜中的主要抗原。在感染病人血清中，通常含有抗 gp46 抗体，能中和病毒的感染性。除病毒特异性抗原外，MHC 等细胞特异性表面抗原亦出现在病毒包膜上。③ RT 抗原 (reverse transcriptase antigen, RT antigen) 由 pol 基因编码 99KD 的聚合蛋白，通过自身切割形成蛋白酶、逆转录酶和整合酶 (integrase)。逆转录酶为 62KD 蛋白，位于核心内，并与基因组 RNA 结合。逆转录酶抗原性较强，在感染病人血清中常含抗逆转录酶抗体。

二、致病性和免疫性

HTLV - I 主要通过输血、注射、性接触等方式传播，亦可经胎盘、产道和哺乳等

途径传播。除引起成人 T 细胞白血病外，亦能引起热带下肢痉挛性瘫痪和 B 细胞淋巴瘤。HTLV - II 则引起毛细胞白血病和慢性 CD4 细胞淋巴瘤。

HTLV - I 感染 CD4 细胞，包括 T 辅助细胞和迟发型超敏反应 T 细胞。被感染的 T 细胞可以停留在皮肤，引起皮肤损伤。细胞被病毒感染后，产生 tax 蛋白，能反式激活粒 - 巨噬细胞集落刺激因子 (GM - CSF) 等细胞生长因子基因 (图 20 - 2)，促进生长刺激蛋白的表达；亦能激活细胞原癌基因 jun 和 fos，表达的 Jun 和 Fos

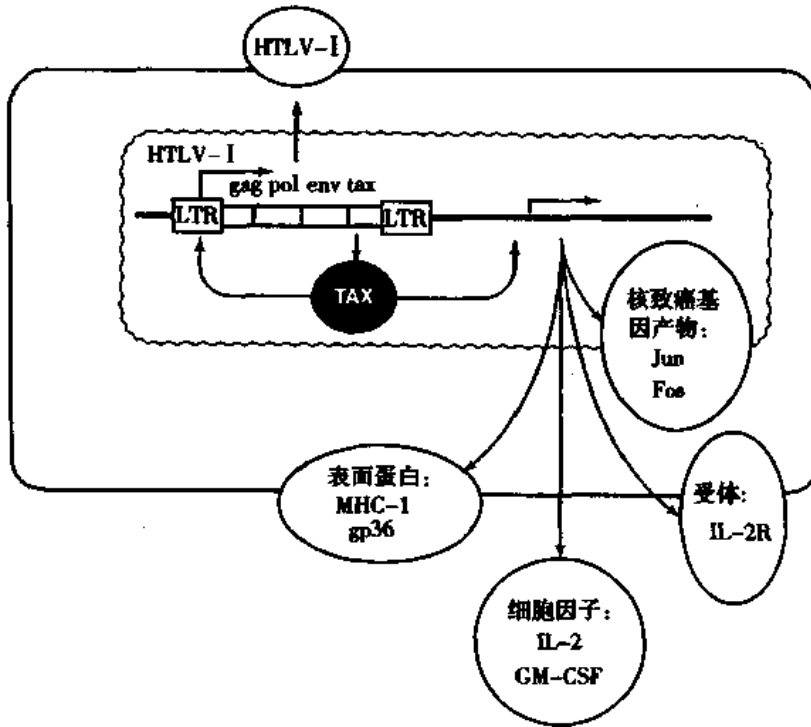


图 20 - 2 Tax 蛋白的调节作用

蛋白有转录因子功能，可直接调节靶基因的转录作用；尚能激活 IL - 2 基因和 IL - 2 受体基因等，都能使 CD4 细胞大量增长，但不引起细胞的溶解。Tax 蛋白亦能促进病毒抗原的表达，包括包膜糖蛋白抗原，糖蛋白被免疫系统识别后，能破坏表达病毒抗原的细胞。只有那些不表达病毒抗原的感染细胞才能生存下来。细胞中的病毒以前病毒形式潜伏或缓慢的复制，经过一段时间，这些抗原阴性的感染细胞将进入病毒基因表达的第二个循环，同样的循环可不断重复，长达数年或数十年，并可诱导细胞转化成不同的克隆，克隆中个别细胞的染色体突变，就会演变为白血病细胞。前病毒基因组的整合亦可导致染色体畸变，引起细胞的恶性转化，亦与白血病的发生有关。

HTLV 感染常为无症状感染，经长期潜伏，约有 1/20 的感染者发生急性或慢性成人 T 细胞白血病，主要表现为白细胞的增高、淋巴结肿大、皮肤及神经系统损伤等症状。

机体被 HTLV - I 感染后，可见 HTLV - I 抗体的升高，但抗体的出现可下调病毒抗原的表达，影响细胞免疫清除感染的靶细胞。

约有 1/20 的感染者出现临床表现，根据临床体征，ATL 分为 4 种类型：

1. 急性型 为 ATL 的典型病例，表现为白细胞数升高，皮肤损害，全身淋巴和肝、脾肿大等，血中乳酸脱氢酶、钙和胆红素升高，预后较差。

2. 慢性型 有咳嗽、皮肤疾病和白细胞数升高，少数病人有全身淋巴结和肝、脾轻度肿大，血清乳酸脱氢酶升高，但不伴有血钙和胆红素升高。

3. 隐匿型 在较长时间里，病人外周血中有少数 ATL 白血病细胞（0.5% ~ 3.0%），皮肤损害（皮疹、结节等）较为突出。血清乳酸脱氢酶正常，血钙未见升高，有轻度全身淋巴结和肝、脾肿大。

4. 淋巴瘤型 主要表现为全身淋巴结明显肿大。

三、微生物学检查法

HTLV 感染的实验室诊断主要依靠病毒特异性抗体的检测，亦可检测病毒抗原或病毒基因组，但很少作病毒的分离鉴定。

抗体检测 常用 ELISA 筛选 HTLV - I / II。抗原为 HTLV - I 完整病毒的裂解液或裂解液加重组 env P21 蛋白，均可检测抗 HTLV - I / II。ELISA 检查 HTLV 抗体较快速和敏感，但缺乏特异性，可出现假阳性反应。经 ELISA 初筛后，可用 Western 印迹法检测 HTLV 特异性抗体。最近，已开始使用重组 env 蛋白或型特异性合成肽抗原检测相应抗体，能区别 HTLV - I 和 HTLV - II 感染，使诊断更为简便和特异。

病毒检测 从病人标本分离 HTLV 主要依赖 T 细胞活化和细胞培养的条件。标本与外周血单个核细胞作共培养可提高 HTLV 分离的敏感性。用 PCR 检测前病毒 DNA 为最敏感的分子方法。即便是无症状 HTLV 感染者，PCR 亦能在其外周血单个核细胞中检出前病毒 DNA。

四、防治原则

目前尚无有效防止 HTLV - I 感染的措施，可以采用奇多夫定、IFN - α 等药物的综合治疗方法。

第二节 EB 病毒

1964 年，Epstein 和 Bar 等用改良组织培养，培养来自非洲儿童恶性淋巴瘤体的淋巴瘤细胞系，置电子显微镜下检查，发现有一种形态结构与疱疹病毒相似，但抗原性不同的新病毒，命名为 EB 病毒（Epstein - Bar virus, EBV）。在 EBV 原发感染中，约有半数表现为传染性单核细胞增多症。近年来研究表明，非洲儿童恶性淋巴瘤和鼻咽癌易发生于感染过 EBV 的患者。

一、生物学性状

EBV 的超微结构显示，其形态与其他疱疹病毒相似，但亦有差异之处。未成熟的

病毒颗粒存在于细胞核内，直径约 75nm，有的中空，有的含类核（nucleoid），衣壳由 162 个壳粒组成，呈二十面体立体对称，带有类核的未成熟病毒颗粒，通过核膜出芽获得包膜，成为完整的成熟病毒颗粒。成熟病毒呈圆形，直径为 180nm。包膜表面有糖蛋白刺突（图 20-3）。

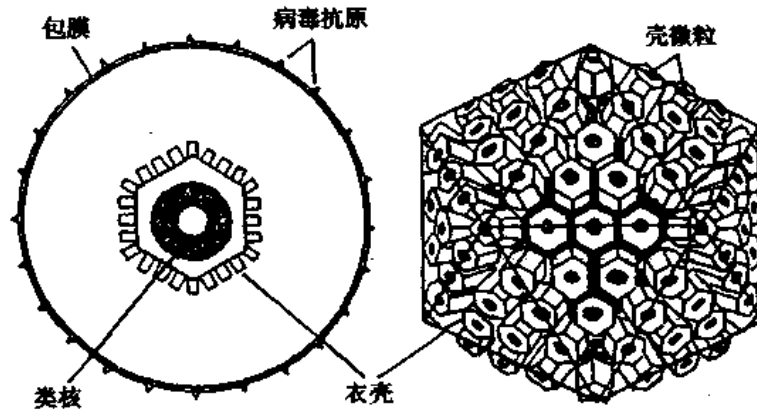


图 20-3 EB 病毒结构示意图

EBV 基因组的序列测定已全部完成。序列测定显示，EBV 含双链 DNA，Mr 为 10^8 ，全长为 172 282bp，病毒颗粒中 DNA 呈线状，但在受感染的细胞核内，以环状游离基因组存在。EBV 基因组有 80 多个开放读码框架（ORF），分为潜伏期基因、早期基因和晚期基因，已证实至少编码 80 种病毒蛋白。

B 细胞和鼻咽部上皮细胞表面，有 C3d 补体受体即 CD23 或 CR2，亦是 EBV 受体，病毒糖蛋白 gp350/gp220 与受体结合，诱发 EBV 感染。EBV 感染容纳性上皮细胞，表现为增殖性感染，产生的抗原主要有：

1. EBV 早期抗原（early antigen, EA）是病毒的非结构蛋白，具有 DNA 多聚酶活性，出现 EA 表示 EBV 活跃增殖。EA 分 EA-R 和 EA-D。EA-R 仅局限在细胞质中；EA-D 可弥散至细胞质和核中。EA 抗体出现于感染的早期。鼻咽癌为抗 EA-D 阳性，非洲儿童淋巴瘤为抗 EA-R 阳性；复发性感染为抗 EA-R 或抗 EA-D 阳性。

2. EBV 衣壳蛋白（viral capsid antigen, VCA）为晚期合成的结构蛋白，存在于细胞质和细胞核中。抗 VCA IgM 出现早，消失快；抗 VCA IgG 出现晚，持续时间长。

3. EBV 膜抗原（membrane antigen, MA）存在于细胞表面，属包膜糖蛋白。抗 MA IgM 用作早期诊断，抗 MA IgG 可持续存在。

EBV 感染 B 细胞时，由于 T 细胞的作用，可表现为潜伏感染，亦可刺激 B 细胞增生或引起永生（immortalization）。在潜伏感染期间，感染细胞含有 EBV 基因组，当细胞分裂时，可选择性表达 EBV 早期抗原：

1. EBV 核抗原（EB nuclear antigen, EBNA）在感染的 B 细胞核内，为 DNA 结合蛋白，其中 EBNA-1 与感染有关，EBNA-2 与细胞永生有关。EBNA 抗体出现在感染的晚期。

2. 潜伏感染膜蛋白（latent membrane protein, LMP）在 B 细胞表面，可能与细胞

的恶化有关。

二、致病性与免疫性

EBV 在人群中感染非常普遍，主要通过呼吸道传播，在口咽部上皮细胞增殖后，释放的病毒感染局部淋巴组织中的 B 细胞，B 细胞入血导致全身性 EBV 感染。EBV 为 B 细胞有丝分裂原，刺激 B 细胞生长及组织相容性抗原的表达，但能抑制细胞凋亡，并使细胞永生。EBV 基因表达的 IL-10 类似物 (BCRF-1) 能抑制 Th1 细胞，阻止 IFN- γ 的释放和 T 细胞的免疫应答，但能促进 B 细胞生长和 IgG 合成，并在其他协同因子作用下诱发淋巴瘤。被感染的 B 细胞能刺激 T 细胞增生，使外周血单核细胞明显增高。

与 EBV 感染有关的疾病有：

1. 非洲儿童恶性淋巴瘤 (Burkitt 淋巴瘤) 是分化程度较低的单克隆 B 细胞瘤，与 EBV 感染的相关性为 96% ~ 100%，多见生活在非洲中部的儿童。肿瘤组织中含有 EBV DNA 和 EBNA。

2. EBV 与鼻咽癌 我国广东、广西和湖南等地，每年约有 10 人/10 万的病例。EBV 与鼻咽癌相关：①所有病例的癌组织中，含有 EBNA 和 LMP，用 PCR 技术均能找到 EBV 基因组；②病人血清中有高效价的抗 VCA 和 EA IgG 及 IgM，且抗体的升高常在肿瘤出现之前；③同一病例的癌组织中仅有单一的病毒株，提示病毒在肿瘤起始阶段已进入癌组织；④鼻咽癌经治疗后病情好转，抗体滴度亦逐渐下降。

3. 淋巴增生性疾病 进行器官或骨髓移植的病人，有时会发生淋巴增生性疾病，其瘤细胞 100% 与 EBV 有关，并含有 EBNA 和 LMP。

4. 霍奇金病 EBV 与 50% 的霍奇金病有关。在霍奇金病的恶性肿瘤细胞中，含有 EBV DNA、EBNA 和 LMP。

5. 传染性单核细胞增多症 为良性淋巴细胞增生，以青少年为多见，表现为发热、淋巴结和肝脾肿大，血单核细胞和异常淋巴细胞的升高。淋巴细胞的增高可杀伤 EBV 感染的 B 细胞，限制 EBV 的扩散和促进疾病的恢复。

三、微生物学检查法

EBV 分离培养较为困难，一般常用血清学方法作辅助诊断，多用免疫酶染色法或免疫荧光法检测抗体。

异嗜性抗体的检测 主要用于传染性单核细胞增多症的辅助诊断。是 EBV 感染后非特异性活化 B 细胞产生的抗体。在发病早期，血清中出现的 IgM 型抗体，能非特异凝集牛、绵羊红细胞，但不凝集豚鼠肾细胞。抗体滴度在发病 3 ~ 4 周内达高峰，恢复期逐渐下降，不久即消失。抗体效价 > 1:224 有诊断意义。多数正常人和血清病病人的血清含此抗体，但血清病病人的异嗜性抗体能被牛红细胞和豚鼠肾细胞所吸收；正常人血清异嗜性抗体仅被豚鼠肾细胞吸收而不被牛红细胞吸收；传染性单核细胞增多症的异嗜性抗体仅被牛红细胞吸收而不被豚鼠肾细胞吸收。

EBV 抗体检测 检测 EBV 抗体有助于 EBV 感染的诊断。判断 EBV 抗体与感染的

关系见表 20-2。对鼻咽癌的诊断,亦可检测 VCA-IgA 或 EA-IgA, 抗体效价为 1:5~1:10 或效价持续上升者, 有辅助诊断意义。

表 20-2 EBV 抗体的临床分析

疾病类型	异嗜性抗体	EBV 特异性抗体			
		VCA-IgM	VCA-IgG	EA 抗体	EBNA 抗体
慢性原发感染	-	-	+	+	-
急性原发感染	+	+	+	±	-
复发性感染	-	-	+	抗 EA-R + 或 抗 EA-D +	+
非洲儿童恶性 淋巴瘤	-	-	+	抗 EA-R +	+
鼻咽癌	-	-	+	抗 EA-D +	+
过去感染	-	-	+	-	+
未感染	-	-	-	-	-

3. EBV DNA 检测 用原位核酸杂交试验或 PCR 法检查标本中的 EBV DNA, 以证明是否存在 EBV 感染。

四、防止原则

EBV 在鼻咽癌发生中起重要作用, 测定 EBV IgG 抗体可以早期诊断鼻咽癌, 以利癌症的早期治疗, 从而提高患者的生存率。

预防 EBV 感染的疫苗正在研制中, 虽然可供大量生产病毒的细胞系已经建立, 但其致病作用尚未完全解决, 故使灭活疫苗的制备受到限制。

近年来对纯化 EBV 多肽取得了进展, 可用 MA、LMP 等多肽疫苗免疫, 有可能借助抗体或细胞免疫以阻断 EBV 的原发感染。多肽疫苗能排除致病作用的威胁, 但其免疫活性仍待探讨。

第三节 人疱疹病毒 8 型

1994 年, Yuan Chang 等应用代表差异性分析法 (representational difference analysis, RDA), 从 AIDS 病人卡波济肉瘤活检组织中发现人疱疹病毒 8 型 (human herpesvirus-8, HHV-8) DNA 序列。以后在分析一株潜伏感染 B 细胞瘤细胞系中的 DNA 证明, HHV-8 基因组约 270kb, 呈线性排列, 在细胞中以附加体形式存在。核苷酸序列测定发现, 20.7kb 片段有 17 个编码基因, 其中 TK 基因、gH 基因、VP23 等 16 个基因与 γ -疱疹病毒有相当高的同源性。

尽管对 HHV-8 病毒形态结构和培养特性尚不清楚, 且尚无动物模型研究 HHV-8 与卡波济肉瘤的因果关系, 但研究证明 HHV-8 DNA 阳性者, 3 年内卡波济肉瘤的发病率比阴性者高 5 倍, 呈现高度相关, 因而亦称卡波济肉瘤相关疱疹病毒 (Kaposi sarcoma-associated herpesvirus, KSHV)。

目前虽报道在潜伏感染 B 细胞瘤中，能诱导 HHV - 8 的溶细胞生长，但 HHV - 8 的检测主要通过 PCR 扩增技术。

展 望

肿瘤病毒分 DNA 和 RNA 两类，通过核酸复制形成子代病毒，发挥致癌作用。肿瘤病毒对动物细胞具有特异的亲嗜性，诱发相应的肿瘤，如人类嗜 T 细胞病毒诱发成人 T 细胞白血病，乙型肝炎病毒与原发性肝细胞癌相关。肿瘤病毒核酸可以整合到宿主细胞 DNA 链上，通过不同机制诱发细胞恶变。有些病毒含有病毒癌基因，可编码转化蛋白，亦与病毒的恶变有关。对病毒基因和细胞转化机理的研究，不仅揭示了病毒在肿瘤发生中的作用，亦为非病毒性肿瘤转化机制提供了新的理论。

预防和治疗肿瘤病毒感染的研究十分重要。近年来，我国已使用乙型肝炎病毒疫苗作预防免疫，使人群中的带病毒率显著下降，并在继续观察疫苗对肝癌的预防效果。肿瘤病毒的微生物学诊断，除血清学等方法作为 EB 病毒、HTLV 等病毒感染的辅助诊断外，目前正在发展分子生物学技术，分析病毒核酸，不仅可用于病因诊断，亦可用于研究肿瘤病毒的分子致病机制。

(钱利生)

第二十一章 病原性真菌感染

自然界存在的真菌种类很多，目前发现对人有致病性和机会致病性真菌已超过百种。同一部位的病变可以由不同种类的真菌引起，但同一种真菌也可以引起不同部位的病变。按病原性真菌侵犯的部位和临床表现，可将其分为皮肤感染真菌、皮下组织感染真菌和深部感染真菌。本章同时还将介绍真菌毒素及其与肿瘤的关系。

第一节 皮肤及皮下感染真菌

皮肤感染真菌是指寄生或腐生于角蛋白组织（包括表皮角质层、毛发、甲板等）的浅部感染的一群真菌，主要引起各种癣（tinea），但一般不侵犯皮下等深部组织和内脏器官，也不引起全身性感染。

与皮肤感染真菌相比，皮下感染真菌具有两个主要特点：①为自然界中的腐生菌；②必须经宿主的伤口进入皮下组织。感染可蔓延至周围组织，但一般也不累及内脏器官。

一、皮肤感染真菌

目前比较公认对人类有致病作用的皮肤感染真菌有 20 余种，可分为皮肤癣菌和角层癣菌两大类。人类感染这类真菌多因接触患者或患畜，也可由于接触污染物而被感染。

（一）皮肤癣菌

皮肤癣菌（Dermatophytes）是指一些主要引起皮肤浅部感染的真菌。因具有嗜角质蛋白的特性，决定其侵犯部位局限于角化的表皮、毛发和指（趾）甲，引起多种癣病。各种癣病中以手足癣最常见，这也是人类最多见的真菌病。皮肤癣菌分为毛癣菌（*Trichophyton*）、表皮癣菌（*Epidermophyton*）和小孢子癣菌（*Microsporum*）三个属。

1. 生物学特性 皮肤癣菌可在沙保培养基上生长，形成丝状菌落。根据菌落的形态、颜色和所产生的分生孢子，可对其作初步鉴定。皮肤癣菌的孢子和菌丝形态见图 21-1。

表皮癣菌属中只有絮状表皮癣菌（*E. floccosum*）对人致病，其菌落初为白色鹅毛状，然后变成黄绿色。镜下可见典型的杆状大分生孢子，无小分生孢子。菌丝呈结节状或球拍状。

毛癣菌属包括 20 余种真菌，其中有 13 种对人有致病性，但以红色毛癣菌（*T. rubrum*）、须癣毛癣菌（*T. mentagrophyte*）为多见。菌落形态及色泽因菌种而异，外观可呈颗粒状、粉末状、绒毛状及脑回状；颜色为白色、奶油色、黄色、红色、橙黄色或紫色等。镜下可见细长棒状薄壁的大分生孢子以及侧生、散在或葡萄状的小分生孢子。菌丝呈螺旋状或鹿角状等。

小孢子癣菌属有 15 种真菌，多数具有致病性，我国以奥杜盎小孢子菌（*M. au-*



图 21-1 皮肤癣菌的孢子和菌丝形态

douinii)、犬小孢子菌 (*M. canis*) 和石膏样小孢子菌 (*M. gypseum*) 多见。菌落呈绒毛状或粉末状，表面粗糙，菌落颜色呈灰色、橘红色或棕黄色。

2. 致病性 皮肤癣菌的增殖及其代谢产物可刺激机体产生病理反应，从而引起感染部位的病变；近年报道皮肤癣菌所产生的酯酶 (lipase) 在发病机理中也可能具有重要作用。三个菌属均可侵犯皮肤，引起手癣 (*tinea manuum*)、足癣 (*tinea pedis*)、体癣 (*tinea corporis*)、股癣 (*tinea cruris*)、叠瓦癣 (*tinea imbricata*) 等。侵犯指 (趾) 甲的是毛癣菌属与表皮癣菌属，引起甲癣 (*tinea unguium*)，俗称“灰指甲”。患病的指甲增厚变形，失去光泽。侵犯毛发的是毛癣菌属和小孢子菌属，引起头癣、黄癣及须癣。现在我国头癣患者已少见，在头癣病例中以黄癣最多，主要由许兰毛癣菌 (*T. schoenleinii*) 引起。头癣多见于青少年，男性多于女性，成年后少见。

3. 微生物学检查 一般取病变的皮肤、指 (趾) 甲或病发，经 10% KOH 消化后直接镜检，在皮屑与甲屑中见到菌丝，病发内或外见到菌丝和孢子，即可初步诊断为皮肤癣菌感染。为了诊断是何种皮肤癣菌，常将标本接种到沙保培养基上培养或作真菌玻片小培养，根据菌落特征、菌丝和孢子特点进行鉴定。

(二) 角层癣菌

角层癣菌是指腐生于表皮角质或毛干表面，主要侵犯皮肤或毛干浅表层，不引起组织的炎症反应的一些真菌。引起这种感染的病原性真菌主要有：①糠秕孢子马拉色菌 (*Malassezia furfur*)，可引起颈、胸、腹、背等部位的皮肤表面出现黄褐色的花斑癣，俗称“汗斑”，一般只影响外观而不影响健康。近年认为本菌可能与脂溢性皮炎有关。微生物学检查时取病变皮屑经 10% KOH 处理，然后在显微镜下可见成簇、厚壁的孢子和粗短、分支的菌丝。分离培养时宜在培养基中加入一点脂质，培养后形成酵母样菌落。②黑色毛结节菌 (*Piedraia hortai*) 和白色毛结节菌 (*Trichosporon beigelii*)，主要

侵犯头发，在毛干上形成坚硬的砂粒状结节，粘着于发干上，引起黑毛结节病和白毛结节病。标本镜检可见分支的菌丝、厚膜孢子及子囊孢子等。

二、皮下感染真菌

皮下感染真菌主要分孢子丝菌和着色真菌两大类。孢子丝菌主要指引起皮下组织感染的申克孢子丝菌，着色真菌是引起病损部位皮肤颜色改变的一组真菌。皮下感染真菌须经外伤感染侵入皮下，虽然感染一般只限于局部组织，但也可经淋巴管或血行而缓慢扩散至周围组织。

(一) 申克孢子丝菌

申克孢子丝菌 (*Sporotrichum schenckii*) 广泛存在于土壤、尘埃、植物表面等。经皮肤微小的伤口侵入机体，然后沿淋巴管扩散，引起亚急性或慢性肉芽肿，使淋巴管形成链状硬结，成为孢子菌丝性下疳 (sporotrichotic chancre)。本菌也可经口进入肠道或经呼吸道进入肺，随后经血行播散至其他器官。孢子丝菌病在我国传播较广，病例以东北较多，约占全国病例数的 70%。

生物学性状 申克孢子丝菌是一种二相性真菌。标本在显微镜下直接镜检，可见有椭圆到雪茄烟样或梭形的小体 (3 ~ 7.51 ~ 2 μ m)，偶见菌丝及星状体。在沙保培养基上 25 ~ 37 $^{\circ}$ C 培养 3 ~ 5d 即见生长。开始为灰白色粘稠小点，后逐渐扩大形成黑褐色皱褶薄膜菌落。玻片小培养时可见细长的分生孢子柄从菌丝两侧成直角伸出，柄端长有成群的梨状小分生孢子。在含有胱氨酸的血平板上 37 $^{\circ}$ C 培养，则以芽生方式形成酵母样型菌落。

微生物学检查 除对患者脓、痰和血标本可作培养和直接镜检外，还可取患者血清与申克孢子丝菌抗原作凝集试验，若其效价在 1:320 以上则有诊断意义。也可用申克孢子丝菌苗对患者作皮肤试验，24 ~ 48h 在皮试局部产生结节者为阳性，有辅助临床诊断的意义。

(二) 着色真菌

着色真菌广泛分布在土壤、木片和木浆中。一般由外伤侵入人体，感染多发于颜面、肢体等暴露部位的皮肤。病损部位皮肤变黑，故称为着色真菌病 (chromomycosis)。由于这类真菌引起的疾病症状相似，故将几种真菌归纳在一起，称为着色真菌。代表菌种有卡氏枝孢霉 (*Cladosporium carrionii*)、疣状瓶霉 (*Phialophora verrucosa*)、裴氏丰萨卡 (*Fonsecaea pedrosoi*) 等。在我国以卡氏枝孢霉为最多见，其次为裴氏丰萨卡菌。

生物学性状 三种主要的着色真菌的分生孢子形态见表 21-1。这类真菌在沙保培养基上生长缓慢，常需培养数周。形成丝状菌落，但气生菌丝较短。菌落多呈棕褐色，少数呈灰黑色。

表 21-1 主要的着色真菌及其孢子形态

病原菌名称	孢子形态
卡氏枝孢霉	长的分生孢子柄末端分叉长出孢子
裴氏丰萨卡	大部分的分生孢子形成短链状，末端之细胞发芽成新的分生孢子，亦可直接形成于分生孢子柄的两侧
疣状瓶霉	花瓶状的瓶囊上形成成丛的圆形小分生孢子

致病性 主要侵犯人体肢体的皮肤，以下肢更多见。潜伏期长短不定，从一个多月

至一年，病程可长达几十年。早期皮肤感染处发生丘疹，然后增大形成结节，结节融合成疣状或菜花状，呈暗红色或黑色。随病情发展和病程推移，老病灶结疤愈合，新病灶又在周围产生，久而久之则影响淋巴回流，形成肢体象皮肿。免疫功能低下的患者亦可侵犯中枢神经系统，发生脑内感染。

微生物学检查 取皮屑或脓液经 KOH 溶液加微热处理后镜检，脑脊液标本则取沉淀直接镜检。镜下可见单个或成群的厚壁孢子，(6~12 μ m)。镜检结果与临床结合即可作出初步诊断，必要时才作病原菌的分离培养和鉴定。

第二节 深部感染真菌

深部感染真菌包括致病性真菌和机会致病性真菌两大类。致病性真菌主要有组织胞浆菌 (*Histoplasma*)、球孢子菌 (*Coccidioides*)、芽生菌 (*Blastomyces*) 和副球孢子菌 (*Paracoccidioides*)。条件致病性真菌主要有念珠菌 (*Candida*)、隐球菌 (*Cryptococcus*)、曲霉菌 (*Aspergillus*) 和毛霉菌 (*Mucor*)。深部真菌感染的危害比浅部真菌感染严重，尤其近年来深部真菌病发病率日益增加，已成为一个重要的医疗问题。

一、致病性真菌感染

致病性真菌 (pathogenic fungi) 主要存在于土壤，通常经呼吸道吸入或伤口侵入机体而发生感染，故属外源性感染。这类真菌属二相性真菌，对环境温度敏感，在体内寄生时呈酵母型，在室温人工培养时转变成丝状菌。感染所引起的症状多不明显，有自愈倾向。虽然这类感染有特定组织或器官的倾向，但感染的扩散可遍及全身任何器官，严重者可引起死亡。由于这几种致病性真菌的感染在我国很少见，将其简单整理如表 21-2。

表 21-2 主要的致病性真菌及其重要生物学特性

菌名	形态	培养
荚膜组织胞浆菌 (<i>H. capsulatum</i>)	圆形或卵圆形、有荚膜的孢子。培养后形成大分生孢子，壁厚，四周有排列如齿轮的棘突	生长缓慢、形成白色棉絮状菌落，然后变黄转至褐色
粗球孢子菌 (<i>C. immitis</i>)	较大的厚壁孢子，内含许多内生性孢子。培养后形成关节孢子	生长迅速，很快由白色菌落转变为黄色棉絮状菌落
皮炎芽生菌 (<i>B. dermatitides</i>)	圆形的单芽生孢子，培养后成小分生孢子	初为酵母样薄膜，后为乳白色菌丝覆盖
巴西副球孢子菌 (<i>P. brasiliensis</i>)	圆形的单或多芽生孢子，培养后形成分生孢子	菌落初呈膜状，有皱褶，其后为呈绒毛状的白色或棕色的气生菌丝

二、机会致病性真菌感染

机会致病性真菌 (opportunistic fungi) 多数是宿主正常菌群的成员，其致病条件常为机体免疫力下降，近年真菌病的增多主要是由于机会致病性真菌发病上升所致。机会

致病性真菌感染常引起的疾病有心内膜炎、肺炎、尿布疹、鹅口疮、阴道炎、脑膜炎及败血症等。

(一) 白假丝酵母菌

白假丝酵母菌 (*Saccharomyces albicans*) 属于念珠菌属 (*Candida*)，过去称为白色念珠菌 (*Candida albicans*)。Lodder 在 1970 年时将念珠菌属分为 81 种，目前已发现 270 余种，对人致病的有 7 种，其中以白假丝酵母菌致病力最强。白假丝酵母菌是临床上最常见的机会致病性真菌，可引起人体皮肤、粘膜及内脏的念珠菌病 (candidiasis)。

1. 生物学性状 菌体圆形或卵圆形，直径 3~6 μm 。革兰阳性，但着色不均。以出芽方式繁殖，在组织内易形成芽生孢子及假菌丝，培养时白假丝酵母菌常在假菌丝间或其末端形成厚膜孢子 (图 21-2)，这是本菌的形态特征之一。

白假丝酵母菌在普通琼脂、血琼脂及沙保培养基上均生长良好。需氧，室温或 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 2~3d 后长出菌落。菌落为酵母样型，灰色或奶油色，表面光滑，带有浓厚的酵母气味。培养稍久则菌落增大，颜色变深，质地变硬或有皱褶。血琼脂 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 10d，可形成中等大小暗灰色菌落。

2. 致病性与免疫性 白假丝酵母菌通常存在于人的口腔、上呼吸道、肠道及阴道粘膜。当机体抵抗力下降或发生菌群失调时，可引起各种念珠菌病。近年来由于临床上大量使用广谱抗生素、激素和免疫抑制剂，以及 AIDS 患者的增多，白假丝酵母菌感染日益上升，临床上血培养阳性率仅次于大肠杆菌和金黄色葡萄球菌。白假丝酵母菌细胞壁糖蛋白的粘附作用、芽管 (菌丝) 可直接插入表皮细胞膜，其代谢产物可抑制免疫活性细胞的趋化作用、以及产生的有毒性的各种酶类 (如酯酶) 等，均参与其发病机制。

(1) 皮肤、粘膜感染：皮肤念珠菌感染好发于皮肤潮湿与皱褶部位，如腋窝、腹股沟、乳房下、肛门周围、会阴部及指 (趾) 间等，可引起湿疹样皮肤念珠菌病、肛门周围瘙痒症及湿疹、指 (趾) 间糜烂症等，易与湿疹混淆。粘膜念珠菌感染可引起鹅口疮 (thrush)、口角糜烂、外阴与阴道炎等，其中以鹅口疮最多见。鹅口疮易误诊为白喉，应注意区别。鹅口疮多发生于体质虚弱的初生婴儿，尤以人工喂养婴儿较多，在口腔正常菌群建立后就很少见到此病。成年人由于慢性疾病引起机体抵抗力下降、营养失调或各种维生素缺乏时也可发生皮肤及粘膜念珠菌感染。

(2) 内脏感染：可引起支气管炎、肺炎、肠炎、膀胱炎及肾盂肾炎等，偶尔也可引起败血症，已成为临床上常见的败血症病原体之一。

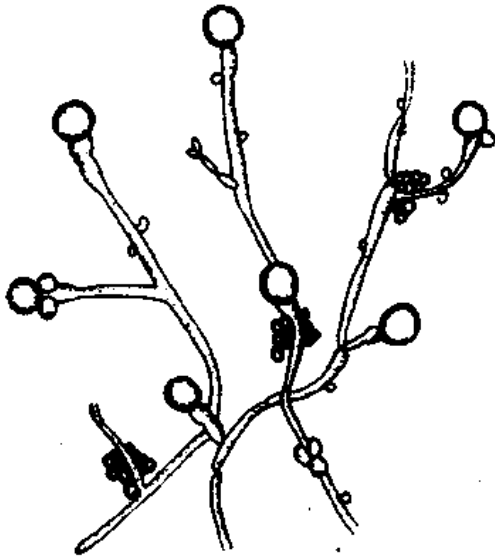


图 21-2 白假丝酵母菌
(示假菌丝和厚膜孢子)

新生隐球菌在沙保或血琼脂培养基上，25℃和37℃均能生长，培养数天后形成酵母型菌落，表面粘稠，由乳白色逐渐转变为桔黄色，最后成棕褐色。非致病性隐球菌则在37℃不能生长。新生隐球菌能分解尿素，可作为与念珠菌区别的依据之一。

新生隐球菌荚膜由多糖组成，根据其抗原性可分为A~D四个血清型，临床分离的菌株多属A与D型。

2. 致病性 新生隐球菌的荚膜多糖是重要的致病物质，具有抗吞噬、诱使动物免疫无反应性、降低机体抵抗力等作用。本菌也属于人体正常菌群，在机体免疫力降低时也可发生内源性感染。近年来由于影响免疫的制剂的广泛应用和AIDS患者增多，导致新生隐球菌感染病例有所增加。隐球菌病(cryptococcosis)在人与人之间不发生接触性传染，其主要的感染方式是通过呼吸道吸入孢子，故初发病灶多为肺部。肺部感染一般预后良好，但可从肺部播散至全身其他部位，最易播散的部位是中枢神经系统，引起慢性脑膜炎。脑及脑膜的隐球菌病常呈亚临床状态，患者一旦出现临床症状而又未能及时治疗常导致患者死亡，故早期诊断极为重要。感染也可播散至皮肤、粘膜、淋巴结、骨骼、内脏器官等。

3. 微生物学检查

(1) 直接镜检：较常用的是墨汁负染法。脑脊液标本离心后取沉渣，痰和脓液等标本则直接检查。标本涂片后做墨汁负性染色，镜下若见到4~12μm的圆形菌体，其外有一圈肥厚的荚膜即可诊断。

(2) 分离培养：用沙保培养基，25℃或37℃培养2~5d即可形成典型的隐球菌菌落。从菌落取菌镜检，可见到圆形或卵圆形菌体，无假菌丝形成。

(3) 血清学试验：可用ELISA、乳胶凝集试验等方法检测标本中的隐球菌抗原，其动态检测有利判断预后。

4. 防治方法 预防上主要是控制传染源，如减少鸽子数量、或用碱处理鸽粪等，均可减少隐球菌病的发生。治疗肺部或皮肤感染，可用5-氟胞嘧啶、酮康唑等；治疗中枢神经系统感染可用两性霉素B、氟康唑等，必要时加鞘内注射用药。

(三) 曲霉菌

曲霉菌(*Aspergillus*)在自然界中广泛分布，已发现300多种曲霉菌，其中仅少数属于机会致病菌，以烟曲霉菌(*A. fumigatus*)最常见。

1. 生物学性状 曲霉菌菌丝具分隔和分支，呈多细胞性。在接触培养基的菌丝部分分化出足细胞，并从此处向上生长出直立的分生孢子梗。孢子梗顶端膨大成顶囊，在顶囊上以辐射方式长出一层或二层杆状小梗，小梗顶端形成一串分生孢子，可呈黄色、蓝色、棕黑色等。分生孢子形成一个菊花样的头状结构，称分生孢子头。在沙保培养基上，室温及37~45℃条件下均能生长，形成絮状或绒毛状菌落，可呈现不同颜色。曲霉菌中少数菌种有有性阶段，多数菌种仍只发现了无性阶段。

2. 致病性 曲霉菌能侵犯机体许多部位而致病，统称为曲霉菌病(aspergillosis)。曲霉菌主要经呼吸道侵入，故以肺部曲霉菌病多见。曲霉菌病的发生可由直接感染、过敏反应和曲霉菌毒素中毒等机制引起。

(1) 肺曲霉菌病：①真菌球型肺曲霉菌病(aspergilloma, or fungus ball)，是在呼

吸器官已有空腔存在（如结核空洞、支气管扩张）的基础上发生，一般不扩散和侵犯其它肺组织，故又称局限性肺曲霉菌病。②肺炎型曲霉菌病，曲霉菌在肺内播散，引起坏死性肺炎或咯血，并可播散到其它器官。③超敏性支气管肺曲霉菌病，是一种由曲霉菌引起的超敏反应疾病。

(2) 全身性曲霉菌病：原发病灶主要在肺，偶见于消化道。多数因败血症而引起全身性感染，预后很差。

(3) 中毒与致癌：有些曲霉菌产生的毒素，可引起人或动物的急、慢性中毒，主要损伤肝、肾和神经等组织。黄曲霉毒素与人类肝癌的发生关系密切。

3. 曲霉菌病的治疗 多选用两性霉素 B、5-氟胞嘧啶等药物。

(四) 毛霉菌

毛霉菌 (*Mucor*) 广泛分布在自然界中，常引起食物霉变。毛霉菌是人体的机会致病菌，多在机体免疫力极度降低情况下发病。毛霉的菌丝体由无隔的菌丝组成，为无隔的多细胞真菌。无性孢子为孢子囊孢子，有性孢子为结合孢子。在沙保培养基上生长迅速，形成丝状菌落。毛霉菌感染多发生在鼻或耳部，经口腔唾液流入上颌窦和眼眶，形成肉芽肿；也可经血流入脑，引起脑膜炎。诊断与治疗原则同其它深部真菌。

第三节 真菌毒素与肿瘤

真菌是一类分布极其广泛，数量巨大，种类繁多，而且与人类关系极其密切的微生物。真菌除可直接引起人类的多种感染性疾病，如真菌性皮肤病和内脏真菌病外，其产生的多种真菌毒素还可引起人类食物中毒，其中一些还有致癌、致畸和致突变作用，严重威胁人类健康。至今已发现 200 多种真菌毒素，并成为食品卫生和癌症研究的一个重要领域。

一、真菌毒素的产生

产生真菌毒素的只限于少数菌种或个别菌株，而产毒菌株与所产生的毒素间缺乏严格的专一性，也就是说一种真菌可产生几种毒素，而几种真菌也可产生同一种毒素。真菌毒素的产生受到多种因素影响，除菌种或菌株的差异外，其主要的影响因素是其存在的天然基质，如黄曲霉菌和黄曲霉毒素多见于玉米和花生中，镰刀菌及其毒素多见于小麦和玉米中，而青霉菌及其毒素多见于大米中等。此外，食品基质中的水分含量、环境条件的温度和湿度、以及通气状况等，也都影响真菌毒素的产生。

二、真菌毒素的分类

真菌毒素的分类最早是按化学结构来分的，分为二呋喃环类、内酯环类、醌类等。由于毒素的化学结构与毒素的毒性之间的联系不密切，故已少用。随着研究的深入和临床实际的需要，又将毒素按靶器官分为肝脏毒、肾脏毒、神经毒等。此外，也可根据毒素的产生菌来分类，如黄曲霉毒素、赭曲霉毒素等。表 21-3 列举了多种可引起实验动物恶性肿瘤的真菌毒素。

表 21-3 致恶性肿瘤的真菌毒素

毒素名称	作用部位	敏感动物	产生菌
黄曲霉毒素 B1	肝、肾、肺(癌)	大鼠	黄曲霉菌、寄生曲霉菌
黄曲霉毒素 G1	肝、肾、肺(癌)	大鼠	黄曲霉菌、寄生曲霉菌
黄曲霉毒素 M1	肝(癌)	大鼠	黄曲霉菌、寄生曲霉菌
杂色曲霉毒素	肝(癌) 皮下组织肉瘤	大鼠	杂色曲霉菌、构巢曲霉菌
灰黄霉素	肝(癌)	小鼠	灰棕青霉菌、黑青霉菌
赭曲霉毒素	肾、肝(癌)	小鼠	赭曲霉菌、纯绿青霉菌
麦角碱	耳(神经纤维瘤)	大鼠	麦角菌
T-2 毒素	胃肠(腺癌)	大鼠	三线镰刀菌
展青霉素	皮下组织肉瘤	大鼠	展青霉菌
白地霉培养物	前胃(乳头瘤)	小鼠	白地霉菌

在以上毒素中，研究最深入的是黄曲霉毒素，故以下主要介绍黄曲霉毒素。

三、黄曲霉菌毒素

黄曲霉菌毒素 (aflatoxin, AF) 是由黄曲霉菌 (*A. flavus*) 和寄生曲霉菌 (*A. Parasiticus*) 产生的，具有极强的毒性和致癌性。其化学结构含有二呋喃环和香豆素。根据在长波紫外线之照射下所发出的荧光分 AFB 和 AFG 两大类，发蓝紫色荧光的为 AFB1 和 AFB2，发黄绿色荧光的为 AFG1 和 AFG2。其中毒性和致癌性最强的 AFB1 (结构见图 21-4)，在污染的食品中也最常见，故常作为污染食品的监测指标。

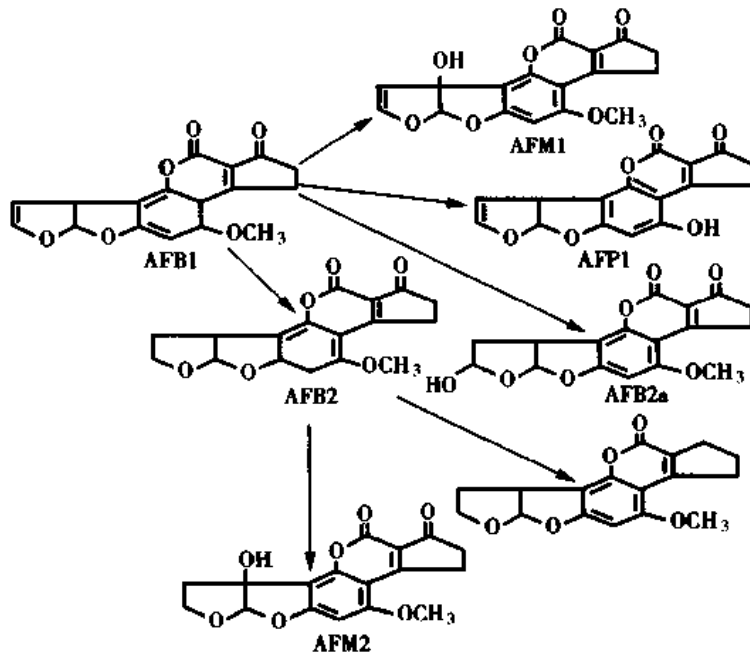


图 21-4 AFB1 及其衍生物的结构式

1. AF 的产生与分布 AF 主要污染粮油及其制品，如花生及花生油、玉米、大米、

高粱等，也可存在于干果类、豆类及豆制品等。不同菌株产毒的量差别很大，从 $10\mu\text{g}/\text{kg}$ 到 $10^6\mu\text{g}/\text{kg}$ 不等。我国学者在调查中发现，广西地区的产毒株多（检出率为 58%），且产毒量高（在大米粉培养基上可达 $2000\mu\text{g}/\text{g}$ ）。产毒最佳的相对湿度为 80% ~ 90%，温度为 25 ~ 30℃，氧含量为 1% 以上。

2. AF 的毒性与致癌性 AF 的毒性比氰化钾还强，可分急性和慢性毒性。不同动物对 AF 的敏感性不一样，雏鸭是最敏感的动物，其 LD_{50} 为 $0.24\text{mg}/\text{kg}$ (AFB₁)。急性毒性主要引起肝实质细胞坏死、肝出血等；慢性毒性则表现为试验动物生长障碍，肝功能变化甚至肝硬化等。

AF 致癌作用很强，为二甲基亚硝胺的 75 倍。AF 可在多种动物体内诱发肝癌，包括鱼类、鸟类、哺乳动物和灵长类动物，但以大鼠最敏感。对于 AFB₁ 致癌机制研究方面，目前的认为是 AFB₁ 由肝微粒体酶活化为亲电子的 AFB₁-2,3-环氧化物，该环氧化物与 DNA 的鸟嘌呤酮基结合形成 AFB₁-DNA 加合物，该加合物再经去鸟嘌呤反应而造成 DNA 损伤，使之进一步发生癌变。

3. AF 的检测 AF 严重危害人类健康，必须进行严格的监测。目前的检测方法多用薄层层析法和高效液相色谱法，以及一些免疫学的方法、如 ELISA 和 RIA 等。现大多数国家都制定了食品中 AF 的最高限量，世界卫生组织在 1975 年将其定为 $15\mu\text{g}/\text{kg}$ 。我国学者通过大量的实验研究表明，人体的安全剂量为 $0.012\mu\text{g}/\text{d}/\text{人}$ ，故我国将 AF 最高允许量定为：玉米、花生及其制品为 $20\mu\text{g}/\text{kg}$ ，食用油为 $10\mu\text{g}/\text{kg}$ ，婴儿代乳食品则不得检出。

展 望

就真菌感染部位而言，为了叙述和学习方便，我们常规将其分为皮肤及皮下等浅部真菌感染和机体内部的深部真菌感染，但这绝不意味着皮肤癣菌和角层癣菌的感染就只限于浅层。目前已有较多的资料报道，皮肤癣菌和角层癣菌也可引起深部感染，甚至出现菌血症。此外，真菌感染的层次也是相对的，如糠秕孢子菌主要侵犯皮肤浅层而引起花斑癣，但现已发现它还可引起菌血症、毛囊炎、浆膜炎和骨关节炎等。所以，对真菌感染部位或层次一定要具体情况具体分析，而且有必要以动态的观点去思考和分析其感染的发生、发展和结局。

对于致病性真菌感染和机会致病性真菌感染来说，机会致病性真菌感染的临床意义显得更为重要。机会致病性真菌感染多发生于机体免疫力降低的情况下，如免疫抑制剂使用者、免疫缺陷患者、糖尿病患者、肿瘤患者和艾滋病患者等，当然也有部分发生在菌群失调症患者。近年真菌感染的上升是以机会真菌感染的上升为主，而在真菌的机会感染中有部分属于医院内感染，这应当引起医务工作者的重视和关注。

此外，真菌毒素也已成为医学真菌研究的又一个重要领域。真菌毒素不仅种类多，而且分子量较小，对热稳定，所以很难被去除或破坏掉，当人或动物将真菌毒素摄入体内就可能发生真菌毒素中毒症。有的真菌毒素甚至具有致癌作用或辅助致癌作用（即将

非致癌性物质转化为致癌物或其前体), 如白假丝酵母菌产生的念珠毒素和糖蛋白就具有致癌性和辅助致癌性。所以, 对真菌毒素的研究已成为临床医学、卫生微生物学、食品卫生学、肿瘤学等多学科共同关注的一项重要课题。

(李明远)

第二十二章 医院感染

医院感染 (hospital infection) 又称医院内感染 (nosocomial infection) 或医院内获得性感染 (hospital acquired infection)。医院感染随着医院的出现而发生, 其感染率随着医院现代化的发展而迅速增长。医院感染增加了病人的发病率和痛苦, 死亡率显著上升; 而且因住院时间明显延长, 费用大幅度增加, 也增加了病人和国家的经济负担, 加重了医疗护理任务并影响病床周转率。据 WHO 调查结果指出世界医院感染率为 3% ~ 20%, 平均为 9%。如美国医院感染率约为 5%, 每年约有 7 万 ~ 8 万人因医院感染死亡, 因此而额外支出的医疗费用约为 40 亿美元。根据我国卫生部 (1989) 及全国医院感染监控网监测资料 (1998) 的统计数字表明, 我国医院感染率分别约为 8.4% 和 4.6%, 据此估计我国每年发生医院感染病例约 500 万, 医疗费用增加 10 亿元。因此, 医院感染已成为当今世界每个国家各级医院面临的非常突出的公共卫生问题。许多国家将医院感染率作为评价医院管理水平的重要指标。

自 20 世纪 50 年代美国疾病控制中心 (Center for Disease Control and Prevention, CDC) 开始研究医院感染管理以来, 国际上医院感染管理研究工作发展迅速, 许多国家成立了专门的管理研究机构和医院感染学及其相关学会。随着医药卫生事业的不断发展, 了解现阶段医院感染发生的危险因素和引起感染的病原微生物与感染的分类等, 探索研究医院感染的发生发展规律, 提高医院感染的监测、预防、控制与管理水平十分必要。

第一节 医院感染的特点

医院感染的概念 从广义上讲, 医院感染包括在医院内各类人群所获得的感染, 主要是指病人在住院期间又发生的其他感染。据此医院感染有下列主要特点: ①明确规定了医院感染的对象, 包括一切在医院活动的人群, 如住院病人、门诊病人、探视者、护理人员及医院工作人员等, 但感染的对象主要为住院病人, 而上述其他人在医院停留短暂或感染因素多, 难以确定感染来源; ②医院感染发生的地点必须是在医院内, 感染发生的时间界限是指病人在医院期间和出院后不久发生的感染, 不包括病人在入院前已开始或在入院时已处于潜伏期的感染, 但如病人入院时已发生的感染直接与上次住院有关也列为医院感染。

现代医院随着科学技术和医学的发展而建立, 具有现代管理水平, 能为患者提供较高水平的医疗服务; 同时, 由于各种药物、医疗手段和先进设备的广泛应用, 使医院感染在类型、危险因素、病原微生物等方面有别于社会上感染 (传染病) 和早年医院感染。现代医院感染学与社会感染学 (传染病学) 的区别见表 22-1。

表 22-1 传染病学与医院感染学的区别

	传染病学 (lemology)	医院感染学 (nosocomiology)
病原体	典型致病性微生物	机会致病性微生物为主
流行病学		
传染源	外源性	多为内源性,少数为外源性
传播方式	经空气、水、食物等常见方式	接触性感染为主(如侵入性操作)
感染对象	无特异免疫力的健康人群	病人,特别是免疫力低下的人群
传染性	强	弱
预防	疫苗(保护易感他人)	控制危险因素,保护病人本人
诊断	根据临床和流行病学资料分析确诊,病原体易确定	需要微生物学定性、定量、定位分析确诊,病原体难确定
治疗	较易	较难

一、医院感染的分类

医院感染可按病原体(病原微生物与寄生虫)来源、感染部位、感染的病原体种类等分类,一般采用前两种分类方法。

(一) 按病原体来源分类

医院感染按病原体的来源可分为内源性医院感染和外源性医院感染两大类。

1. 内源性医院感染(endogenous nosocomial infection) 也称自身医院感染(auto-genous nosocomial infection) 或自身感染(self-infection),是指病人在医院内由于各种原因而使自身寄居的微生物(正常微生物群或潜伏的致病性微生物)大量繁殖而导致的感染。

正常微生物群或正常菌群是内源性医院感染的主要病原体。病原体定植、寄生于人体皮肤、呼吸道、消化道和泌尿生殖器等部位,它们一般毒力很弱或无毒,不引起健康人感染,不造成危害,反而能发挥一定生理作用,但在下列条件下,正常菌群成为机会致病菌而引起各种内源性感染。

(1) 寄居部位改变:例如常寄居于肠道的正常菌群中的大肠埃希菌在肠道内一般不致病(某些血清型例外),但如离开肠道侵入肠道外的组织或器官则可引起肠外感染,如侵入泌尿道或手术时通过切口侵入血流、腹腔、胆囊、阑尾等组织器官,则可引起尿道炎、膀胱炎、肾盂肾炎等泌尿道感染和败血症、腹膜炎、胆囊炎、阑尾炎、手术切口感染等。

(2) 免疫功能下降:免疫功能下降或免疫功能缺损的患者,最主要、最常见和最严重的表现和后果是对各种感染的易感性增加。病人局部或全身、原发性或继发性免疫功能下降或缺损时,毒力弱或无毒的正常菌群,如大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、变形杆菌等都可引起感染,甚至导致败血症而死亡。局部免疫力降低如进行拔牙或扁桃

体摘除术后，寄居在口腔、咽喉部及扁桃体粘膜上的甲型溶血性链球菌可经血流使原有的心瓣膜畸形病人发生亚急性细菌性心内膜炎。机体全身性免疫功能缺损，如艾滋病患者抗感染能力显著下降，一些对正常人无明显致病作用的病毒（如CMV）、细菌（如非结核分枝杆菌）、真菌（如白假丝酵母菌）等微生物，常可引起艾滋病患者的致死性感染。

(3) 菌群失调 (flora disequilibrium)：机体长期使用免疫抑制剂、激素、抗生素等可引起菌群失调症 (dysbacteriosis)。菌群失调常可引起二重感染 (superinfection)，这往往是在抗菌药物治疗原有感染性疾病过程中产生的一种新感染。广谱抗生素长期使用后，体内正常菌群因受到不同抑菌作用而发生微生态失调，未受抑制的细菌或真菌（如白假丝酵母菌）乘机大量繁殖而致病。引起二重感染的微生物以金黄色葡萄球菌、革兰阴性杆菌（包括需氧、兼性厌氧及厌氧菌），白假丝酵母菌、艰难梭菌等为多见。二重感染临床表现为消化道感染（伪膜性肠炎、鹅口疮等）、肺炎、泌尿道感染或全身性感染如败血症等。如发生二重感染，除停用原来抗生素外，需分离培养优势菌进行药物敏感试验，以选用有效抗菌药物。同时，还可选用微生态调节剂以调整菌群，恢复正常菌群的平衡。

内源性医院感染的病原微生物除正常菌群外，少数情况下是潜伏在机体内的致病性微生物如单纯疱疹病毒、巨细胞病毒、水痘-带状疱疹病毒和结核分枝杆菌等所致。这些病毒初次显性或隐性感染后，病毒基因存在于一定组织或细胞内，但并不产生感染性病毒，此时既无临床症状，也无病毒排出体外。以后由于机体受物理、化学、生理或环境因素等影响，病毒被激活、增殖而急性发作，引起疾病，如唇疱疹、带状疱疹等。

2. 外源性医院感染 (exogenous nosocomial infection) 亦称交叉感染 (cross infection)，是指病人遭受医院内非自身存在的病原体侵袭而发生的感染。这种感染是由病原微生物通过一定的传播方式或途径进入易感宿主体内而引起的感染，包括病人与病人之间及病人与医院工作人员之间通过咳嗽、谈话，特别是经手等方式密切接触的直接感染，或通过生活用品等物品的间接感染。此外，通过污染医护用品或设备以及外环境如通过微生物气溶胶获得的感染，即所谓环境感染 (environmental infection)，也属于外源性医院感染。外源性医院感染的病原微生物主要来自其他病人或带菌者（人或动物），其次来自周围环境。病原微生物自然生存繁殖与排出的宿主（人或动物）或场所称为感染源或病原微生物贮源。外源性医院感染的感染源或病原微生物贮源主要有病人、带菌者、环境感染贮源及动物感染源等。

(1) 病人：是最重要的感染源。在疾病的潜伏期一直到恢复前期内都有大量病原体排出体外，传播给周围的人群。从病人排出的病原体常具有毒力和耐药性都较强的特性，如医院尿道感染常可由具有特殊粘附性而易于粘附于粘膜上的菌株引起。甲肝病毒、肠产毒性大肠杆菌、肠出血性大肠杆菌、志贺菌、MRSA 等都有引起外源性医院感染暴发流行的报道。

(2) 带菌者 (carrier)：在感染性疾病流行时，隐性感染或恢复期携带而排出的病原体可感染他人。携带者是一个特别重要的感染源，因其无明显临床症状，不易被人们

察觉而防范，却不断向外排出病原微生物，故危害性往往比感染源的病人更厉害。脑膜炎奈瑟菌、白喉棒状杆菌、甲肝病毒等病原微生物常因隐性感染而使患者成为健康携带者，志贺菌、伤寒沙门菌等感染后常有患者成为恢复期携带者。1992年9月某市医院发生C群13血清型志贺菌暴发流行，致使26名新生儿感染、10名新生儿死亡。经调查感染源系一位志贺菌慢性携带者的产妇，通过接触将病原菌传染给某新生儿。由于该院新生儿室无配奶间，配奶、换尿布、打包等操作均在不足两平方米的操作台上进行，致使带菌的新生儿污染了操作台，进而又污染了牛奶，造成志贺菌在新生儿之间传播。医院内医护人员及病人陪护者中也有各种病原微生物的携带者，其中携带金黄色葡萄球菌、B群链球菌、肠杆菌科细菌等尤为常见，在一定条件下，如在手术室、新生儿室及新生儿监护室、重症监护室(intensive care unit, ICU)、心脏监护室、血液科层流病房的层流室(laminar air flow room, LAFR)、肿瘤科、器官移植科、免疫功能缺损患者的病房中等，这些携带者则可成为重要感染源。

(3) 环境感染贮源：医院环境中使用的设备和物品常受到微生物的污染，继而又可将微生物传播给易感病人。环境感染贮源中的微生物主要有革兰阳性球菌和革兰阴性杆菌，还有芽胞菌和真菌等。革兰阳性球菌(葡萄球菌和链球菌等)主要来自于医院人群中的正常菌群，由此播散于空气、尘埃和能生存的物体表面，虽然一般不能繁殖，但也是一个重要的感染贮源。需氧革兰阴性杆菌如铜绿假单胞菌与其他某些假单胞菌(如洋葱假单胞菌)、克雷伯杆菌、肠杆菌、沙雷杆菌、不动杆菌等常在潮湿环境或某些液体中存活很长时间(几月至几年)，而且在只有很少养料存在的环境中还能繁殖，显然是一个极为重要的感染贮源。此外某些真菌和芽胞菌可在空气、尘土或土壤中长久存活，虽不易繁殖，但可由于空气中的微生物进入伤口，或通过手或通过医疗器械、敷料及未灭菌物品进入伤口或体内而引起感染，因此亦为感染贮源。

(4) 动物感染源：动物感染源在医院感染中亦有一定作用，其中以鼠类的意义最大。医院内鼠类较多，它是某些病原微生物的重要宿主和传染病(如鼠疫、肾综合征出血热等)的感染源和媒介昆虫(蚤、螨等)的宿主。鼠类是沙门菌特别是鼠伤寒沙门菌的重要宿主，由其粪便污染食物导致医院感染已有多次报道。鼠疫是一种自然疫源性烈性传染病，人类发生鼠疫流行之前，往往先有鼠类的发病和流行。当大批病鼠死亡后，失去宿主的鼠蚤转向人群，就可引起人类鼠疫。肾综合征出血热有明显的地区性和季节性，与鼠类的分布和活动有关。国内已查出20余种，如黑线姬鼠、田鼠、仓鼠、小鼠(属)和家鼠(属)等啮齿动物自然携带该病毒，在我国流行区的医院内也有过出血热散发病例。因此，防鼠灭鼠对预防医院感染具有重要意义。

因此，及时对患者作出诊断并进行流行病学调查，以找出感染源；同时进行医院微生物学监测，及时掌握环境感染贮源和污染微生物种类等资料非常必要，因为它能为控制和消灭感染源和环境感染贮源，为医院内环境净化、消毒、灭菌达到或维持环境卫生标准，为预防和控制医院感染提供重要的理论和实际依据。

(二) 按感染部位分类

医院感染的部位多种多样，几乎遍及身体各部位，根据感染部位的特点可分为12大类(表22-2)。

表 22-2 医院感染按感染部位的分类

类 型	疾 病
呼吸系统感染	上呼吸道感染 气管炎、气管支气管炎 肺炎 呼吸道其他感染
泌尿系统感染	有症状泌尿道感染 无症状菌尿症 泌尿道其他感染(肾、输尿管、膀胱、尿道等)
消化系统感染	胃肠炎 胃肠道感染(食管、胃、大、小肠、直肠) 肝炎 腹腔内组织感染(胆囊、胆道、肝、脾) 胰、腹膜、膈下组织或其他腹腔组织 婴儿坏死性肠炎
血液感染	经实验室证实的血液感染 临床败血症
皮肤和组织感染	皮肤感染 软组织感染(坏死性筋膜炎、感染性坏疽) 坏死性蜂窝织炎、感染性肌炎、淋巴结炎或淋巴管炎 褥疮(浅部和深部组织感染) 烧伤组织感染 乳腺脓肿或乳腺炎 脐炎 婴儿脓疱病
骨和关节感染	骨髓炎 关节或滑囊感染 椎间盘感染
生殖系统感染	子宫、附件、盆腔感染 外阴切口感染 阴道壁感染 生殖道其他感染(附睾、睾丸、前列腺等)
中枢神经系统感染	颅内感染(脑脓肿、硬膜下或外感染、脑炎等) 脑膜炎或脑室炎 无脑膜炎性椎管内脓肿
心血管系统感染	动静脉感染 心内膜炎 心肌炎或心包炎 纵隔感染
手术部位感染	外科切口感染 外科切口深部组织感染
耳鼻、咽、喉、口腔、	耳感染(外耳、中耳、内耳、乳突等炎症)

类 型	疾 病
眼的感染	鼻窦炎 咽、喉炎 口腔感染(嘴、牙龈、舌) 结膜炎 眼球内感染
全身感染	多个器官或系统感染

医院不同, 医院感染部位分布不一样。根据美国 CDC 的统计, 表明医院感染部位的分布, 以泌尿生殖道感染率为最高, 占 37.7%, 其次依次为外科(切口)、下呼吸道、皮肤。据我国某医院 1990~1995 年流行病学调查, 对 1091 例次医院感染发生部位分布的统计, 以下呼吸道感染为最高(36.21%), 其次为泌尿生殖道感染(13.75%), 胃肠道感染(10.54%)及外科伤口感染(9.90%)。

二、医院感染的微生物

引起医院感染的病原微生物种类多, 并具有一定特点, 还因发生感染的年代、地域、医院(规模)和应用抗生素情况的不同而变化。及时掌握引起医院感染的病原微生物的特点与种类是有效地制定医院感染管理和防治措施的重要依据。

(一) 医院感染的病原微生物特点

1. 主要是机会致病菌 (conditioned pathogen) 引起医院感染的病原体主要是由机体正常微生物群 (正常菌群) 在一定条件下转变成的机会致病性微生物, 一般毒力弱或无毒。因此感染源常为内源性, 少数为外源性, 这显然不同于传统的传染病, 传染病的传染源为外源性, 病原体为毒力较强的致病性微生物, 如引起流行性脑脊髓膜炎的脑膜炎奈瑟菌、引起霍乱的霍乱弧菌、引起淋病的淋病奈瑟菌、引起肾综合征出血热的汉坦病毒等均属于致病性微生物引起的传染病。

2. 常为耐药菌 (drug-resistant bacterium) 或多(重)耐药菌 (multi-resistant bacterium) 医院感染的病原体主要是机会性致病菌, 而最常见的机会致病菌是铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌、肠球菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和白假丝酵母菌等, 这些病原体为最常见的天然或获得性耐药菌, 且往往具有多耐药性。MRSA 就是一个典型的多(重)耐药菌。早在青霉素问世仅 10 余年的 50 年代, 欧美首先发生 MRSA 感染, 这种感染很快席卷全球, 引起世界性流行。该菌不仅对甲氧西林耐药, 而且对多种抗生素特别是对广谱抗生素耐药明显。因此不仅治疗棘手, 可导致免疫力低下的病人严重、甚至致死性感染; 而且耐药菌被选择出来而大量生长繁殖, 可在医院人群中传播, 甚至引起暴发流行。

3. 新的病原菌不断出现或发现 医院感染的病原体随着年代的不同而发生变化。在过去 50~60 年代, 世界范围内医院感染的主要病原菌为革兰阳性球菌, 在 50 年代, 美国 250 起医院感染的主要病原菌为金黄色葡萄球菌, 英国为溶血性链球菌。至 60 年代, 英国则以耐青霉素的金黄色葡萄球菌为主, 据国内几家医院报告医院感染中亦以革

兰阳性球菌为主要病原菌。70 - 80 年代以后，国内外医院感染中均以革兰阴性杆菌为主要病原菌。过去有些菌种认为与医学关系不大，医学书上亦未曾提到，而现在突然变成了引起医院感染的流行菌株，如阴沟肠杆菌（*E. cloacea*）、不动杆菌（*acinetobacter*）、粘质沙雷菌（*S. marcescens*）、肠球菌（*enterococcus*）等。

临床上长期使用某些抗生素后，常可发生伪膜性结肠炎，过去认为主要是由耐药金黄色葡萄球菌引起。近年来已证实这一类“抗生素相关性结肠炎”主要是由肠道正常菌群中的艰难梭菌所致。嗜肺军团菌是在 1976 年 7 月美国费城暴发一次严重肺炎之后才被认识，以后美国几乎所有州、欧洲和美洲其他某些国家及我国均有此病发生，多为散发病例，亦有过多起医院感染暴发流行的报道。因此，军团菌就是一种 1976 年以前不曾认识而对医院内病人可造成感染威胁的新发现的病原菌。

4. 病原体适应性强 医院感染的病原菌主要为机会致病菌，既来自机体内正常菌群，亦可来自广泛分布的外界环境，如水、土壤、尘埃及未消毒灭菌的医疗器械及物品；既有革兰阳性菌，也有革兰阴性菌。革兰阳性球菌（如葡萄球菌、链球菌、肠球菌等）虽一般不能在外界环境中繁殖，但可存活较长时间；而革兰阴性杆菌能长期存活，即便在无养料的液体中或潮湿的环境中亦可繁殖。

（二）医院感染的主要病原微生物

医院感染中的病原微生物主要是细菌，其次是病毒、真菌；既有致病性微生物，也有机会致病性微生物。Simpson (1997) 总结的最常见的医院感染病原微生物（表 22 - 3）亦符合此特点。

表 22 - 3 医院感染最常见的病原微生物

感染种类	微生物名称
泌尿道感染	大肠埃希菌
	克雷伯菌、沙雷菌、变形杆菌
	铜绿假单胞菌
	肠球菌
	白假丝酵母菌
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
伤口和皮肤脓毒症	金黄色葡萄球菌
	大肠埃希菌
	变异杆菌
	厌氧菌
	肠球菌
胃肠道感染	凝固酶阴性葡萄球菌
	沙门菌
	宋内志贺菌
	病毒

三、医院感染的危险因素

医院感染与社会上的感染特别是传统的传染病的发病机制不同，其感染源、传播途径、易感者有一定特点。医院感染的感染源多为内源性，少数为外源性；90%以上为毒力弱或无毒、适应能力强和耐药性高的机会致病性微生物所致。机会致病性微生物并非引起医院感染的决定因素。医院感染的传播途径多数为接触性传播，主要通过侵入性（插入性）诊疗操作及病人或工作人员的手使微生物传播，即便通过严格消毒灭菌和隔离制度等措施切断医院感染的传播途径仍不一定能避免感染。医院感染的易感人群多数是免疫功能低下的病人，免疫功能低下是医院感染的一个重要原因或危险因素，要使这些病人受到保护，免受感染较困难，因这些病人存在引起医院感染的重要危险因素，即抗感染能力降低。

医院感染的危险因素是决定医院感染的主要因素。大致包括如下几类。

1. 易感对象因素 包括年龄、基础疾病（原有疾病）等。

(1) 年龄因素：老年人和婴幼儿易受感染。老人随着年龄增长各器官老化、功能衰退、免疫功能亦降低，而且常伴有慢性疾病，婴幼儿免疫器官发育欠成熟，功能欠完善，从母亲天然被动获得的免疫力（如 IgG）也已消失。因此这两类人群对感染较易感。

(2) 基础疾病：患有免疫缺陷或免疫功能紊乱原发病或基础疾病的病人抗感染能力均低下，对感染特别易感，而且感染往往是这类病人最主要、最常见和最严重的表现和后果，也是其死亡的主要原因。因此这类基础疾病是医院感染的重要危险因素。造成免疫缺陷或功能紊乱的疾病多达数十种，其中常见的病种及其与医院感染的关系见表22-4。

表 22-4 免疫功能低下与医院感染

疾 病	免疫功能低下特征	常发生的感染
细胞吞噬功能缺陷 (如慢性肉芽肿病)	细胞吞噬功能和杀菌功能 下降	革兰阳性化脓性球菌感染、 肠杆菌科细菌和真菌感染
B 细胞(抗体)缺陷(如 网状组织发育不全、联合 免疫缺陷综合征)低 γ -球 蛋白血症	抗体产生功能下降	荚膜细菌感染、单纯疱疹、 带状疱疹、甲肝病毒和肠道 病毒感染、真菌(新型隐球 菌)感染
T 细胞缺陷(如网状组织 发育不全、AIDS、Di-Ge orge 综合征、Wiskott - Ald rich 综合征)	T 细胞数量减少、功能下降， 巨噬细胞功能下降	沙门菌、李斯特菌、结核与 非结核分枝杆菌、诺卡菌、 真菌及疱疹病毒感染
各种白细胞减少(缺乏) 症及白血病	细胞吞噬功能下降，抗体产 生功能下降	革兰阳性化脓球菌、肠杆菌 科细菌及真菌感染，疱疹、 甲肝及肠道病毒感染
糖尿病	多形核白细胞趋化性及功能	葡萄球菌及其与链球菌混合

续表

疾 病	免疫功能低下特征	常发生的感染
	下降、T 细胞功能不全	感染(坏疽)、棒状杆菌、分枝杆菌、假丝酵母菌感染, 尿路感染
尿毒症	T 细胞功能下降、IgM 应答下降	肠杆菌科及假单胞菌感染(尿路感染、肺炎及败血症)
血液透析	粒细胞减少症	创伤感染
腹膜透析	创伤愈合迟缓	肝炎
	扩大暴露	腹膜炎
肝硬化	肝内巨噬细胞功能下降	来自肠道内细菌的败血症、李斯特菌病及耶尔森菌病
脾切除术	细菌吞噬功能下降	肺炎链球菌、流感嗜血杆菌感染
胃切除、胃酸缺乏症	胃内杀菌作用减弱	胃肠道感染(沙门菌、志贺菌、霍乱弧菌及耶尔森菌)
中枢神经系统疾病、昏迷	反射减退(咳嗽吞咽、排尿及角膜等反射)	肺炎、肺脓肿、尿路感染及角膜炎
慢性支气管炎	粘膜-纤毛作用减弱	肺炎
梗阻性肺疾病		肺脓肿
		假单胞菌慢性肺部感染
心瓣膜疾病、心瓣膜修复术、血管内导管	局部免疫功能下降	心内膜炎
心功能不全	肺气泡巨噬细胞功能下降、粘膜-纤毛作用减弱	肺炎
周围血管疾病	因局部缺血及水肿而导致免疫功能下降	周围坏疽、腿部坏疽、革兰阳性化脓球菌或厌氧菌感染

从上表可知, 基础疾病不同, 表现特征亦不同, 感染的微生物种类亦有一定差别, 但具有免疫功能下降, 易发生感染的共同特点。

2. 诊疗技术及侵入性检查与治疗因素 诊疗技术中易引起医院感染的主要有两类: ①器官移植: 感染是该类病人最常见的并发症, 也是造成手术失败病人死亡的主要原因。因病人术前常有基础疾病而免疫功能低下, 加上手术较大的组织创伤, 较多的插管以及为了防治排斥反应采用最有效措施而投入免疫抑制剂预处理受者与术后长期应用免疫抑制剂等原因, 进一步损伤和降低了免疫功能, 所以器官移植是医院感染的危险因素。②血液透析和腹膜透析: 这是治疗病人肾功能不全、尿毒症的重要手段, 由于这类病人已存在使免疫功能降低的基础疾病, 在此基础上又进行创伤性诊疗操作, 再加上血液可能污染, 所以病人易引起感染。侵入性检查与治疗操作中, 有破坏呼吸道粘膜屏障, 使口腔、咽部正常菌群侵入下呼吸道, 又不便排痰易发生肺炎的气管切口或气管插管, 吸痰、人工机械辅助通气, 支气管镜检等操作。破坏泌尿道粘膜屏障带人细菌进入其中而引起感染的操作有留置导尿管、膀胱镜检等, 还有血管插管, 不仅会破坏皮肤粘膜屏障, 而且检查器械直接进入血

流，并注射药物亦易引起感染。

3. 损害免疫系统的因素

(1) 放射治疗：是治疗肿瘤的一种方法。该法对肿瘤组织无选择性作用，在损伤肿瘤组织的同时破坏了正常组织，当然亦不可避免地损害了免疫系统，降低了免疫功能，因此易发生医院感染。

(2) 化学治疗：是用细胞毒类药物治疗恶性肿瘤，这类化疗药物亦可直接作用于正常组织细胞，损伤和破坏免疫系统和其他器官，严重影响其功能。这类药主要有烷化剂类、抗代谢类及抗肿瘤抗生素等。

(3) 激素的应用：主要是指肾上腺皮质激素，它在临床上应用十分广泛，它具有抗炎作用、免疫抑制作用、抗毒素作用及抗休克作用，临床常用来治疗急危重病症、自身免疫病及过敏性反应等。因它也是一种免疫抑制剂，所以，使用不当或长期使用，则可引起副作用，并引起医院感染。

4. 其他因素 抗生素使用不当，甚至滥用，进行外科手术和各种引流，以及住院时间过长均为医院感染的危险因素。

第二节 医院感染的监测

医院感染监测 (surveillance of hospital infection) 是指长期地、系统地、有计划地观察一定人群中医院感染发生和分布以及影响医院感染的各种因素，定期整理分析监测资料，确定感染分布动态和变化趋势，向有关人员和单位送发、反馈，及时采取防治对策和措施，并对其防治效果和经济效益作出评价，不断改进，以期达到控制和降低医院感染的目的。

一、医院感染监测的内容

(一) 医院感染发生率的监测

1. 全院医院感染发病率的监测。
2. 医院感染各科室发病率的监测。
3. 医院感染部位发病率的监测。
4. 医院感染高危科室、高危人群的监测。
5. 医院感染危险因素的监测。
6. 漏报率的监测。
7. 医院感染暴发流行的监测。
8. 其他监测。

(二) 环境卫生的监测

医院环境的污染是医院感染的重要感染来源。环境卫生监测可作为病人或工作人员是否会感染的重要依据，也可用于感染暴发流行来源与途径的调查及评价各种预防控制措施如消毒的效果。环境监测内容是病房和科室特别是重点病房和科室，如手术室、重症监护病房 (IUC) 及血液科层流病房、新生儿病房、产房和婴儿室、中心消毒供应

室、治疗室、烧伤病房、器官移植病房、肿瘤病房、血液透析室、外科病房、口腔科、检验科等卫生情况，医护人员的手是否卫生，诊疗器械如导尿管、内窥镜、血透器械等物品是否受到污染，医院污水处理是否达到国家规定排放标准，集体供水水源的水质卫生微生物标准是否合格等。环境卫生监测一般通过检测空气中微生物、病房物品表面和医护人员手上的微生物，了解医院清洁和消毒灭菌措施实施情况。目前对医院各类用途的房间内的空气、微生物评价尚无统一标准。一般以空气的细菌总数为指标。Parker认为，如果细菌总数为 $700 \sim 800\text{cfu}/\text{m}^3$ ，则有空气传播传染病的危险性，如果小于 $180\text{cfu}/\text{m}^3$ ，则感染危险性小。我国卫生部规定的各类环境空气、物体表面、医务人员手的细菌总数卫生学标准是：手术室、产房和婴儿室低于 $500\text{cfu}/\text{m}^3$ 。物品表面和医护人员手上应小于或等于 $5\text{cfu}/\text{cm}^2$ 。

（三）病原体及其耐药性的监测

如前所述，医院感染的病原体的种类随着时间的推移，感染部位及抗菌药物使用的不同而发生变迁。治疗感染性疾病的抗菌药物不断更新换代，虽然它在控制各种严重感染性疾病特别是传染病方面发挥了非常重要的作用，但由于普遍存在使用不当，甚至滥用现象，引起了病人体内的菌群失调，导致二重感染，使耐药菌株增多，耐药性增强，从而增加了医院感染的危险因素。因此，监测医院感染的病原体及其耐药性，分析其变迁趋势，对预防控制耐药菌引起的医院感染具有极其重要的理论和实际意义。

二、监测的类型及方法

（一）监测的类型

医院感染监测类型大致分为两类，即全面综合性监测（comprehensive surveillance）及目标性监测（targeted surveillance）。

1. 全面综合性监测 是对全院所有病人与工作人员及感染有关因素（危险因素）与环境的综合性监测，以了解全院感染的发生情况，以及各科室病房感染率、部位感染率、各种危险因素、病原体及其耐药情况、抗生素使用情况、消毒灭菌效果和医护人员无菌操作情况等，同时对全院人员进行宣传教育，找出工作中的缺点，及时发现感染的暴发或流行的迹象，以便采取控制措施，预防医院感染的发生甚至流行。这是目前我国大多数医院监测的方法。

2. 目标性监测 是近年来发展起来的、在全面综合性监测的基础上产生的一种监测观点和方法。包括三种方法。

（1）部门监测（unit-directed surveillance）：对存在高危险因素的部门进行监测。

（2）轮转监测（rotating surveillance）：按各科室排列顺序轮转监测。

（3）从优监测（priority-directed surveillance）：按感染的重要性（感染带来的经济损失）确定的监测。

美国 CDC 于 1986 年设计了目标性监测以补充过去的全面综合性监测。我国随着监测工作的普遍开展和不断深入以及医院感染管理工作的完善，在已开展医院感染综合性监测的基础上，必将开展目标性监测。

（二）监测的方法

医院感染监测是由医院感染管理委员会、医院感染管理科及科室医院感染管理小组组成的医院感染监测组织系统共同进行。通过微生物学、卫生学、临床医学及流行病学监测与调查，收集、整理分析感染有关病原体、危险因素以及感染发生、发展规律等资料信息，为预防和控制医院感染提供科学依据；并通过所建立的医院感染监测信息反馈系统互通情报，承上启下，及时发现问题，不断改进工作，把医院感染的预防和控制工作提高到一个新水平。

1. 资料收集 在医院感染的监测中，首先熟悉其诊断标准及有关规定，由主管医师和监控护士认真填写各类监测调查表。目前我国卫生部制定的医院感染监测的汇总表有以下6种，以作为统计分析的依据，供各医院监测参考。

（1）医院感染病例登记表：用来登记全院感染病例，包括①病人的一般情况；②病人的住院资料；③与发生医院感染有关的因素；④医院感染特征的记录等项目和内容。

（2）医院感染监测汇总表：用来分析科室感染发生率及科室部位感染发生率。

（3）医院感染监测汇总表：用来调查疾病分类与感染部位发生率。

（4）医院感染监测汇总表：用来研究不同科室与感染危险因素的关系。

（5）医院感染监测汇总表：用来归纳感染部位的病原微生物种类。

（6）医院感染监测汇总表：用来统计病原菌的耐药情况。

2. 资料整理分析 由医院感染管理科专职监控护士负责定期到病案室查阅全院出院病例，收集医院感染监测登记本和汇总表，检查核对，填写项目是否齐全，漏报补填，去除重复病例。然后，对核实的原始资料进行统计，统计指标主要有：①计算全院及各科的医院感染发生率及例次发生率；②计算医院感染现患率与各部位感染发生率以及各部位感染发生率与构成比；③医院感染漏报率等。然后，将监测的各项数据（指标）编号，输入计算机，进行处理，统计分析，以迅速取得准确有效的结论。

3. 监测报告 按时（月或季）写出监测报告，定期上报医院领导、医院感染管理委员会成员、医务科、护理科及各临床科室，以作为进一步开展和改进医院感染管理工作的基础和依据。

第三节 医院感染的预防和控制

引起医院感染的危险因素较多，目前国际上普遍认为易感人群、环境和病原微生物是发生医院感染的主要因素。在某种意义上讲，控制医院感染危险因素是预防和控制医院感染最有力和最有效措施。国内外预防和控制医院感染的具体作法是消毒灭菌、隔离、净化以及对媒介因素、易感人群等采取相应控制措施。为此，我国在预防和控制医院感染方面制定和颁布了消毒灭菌原则，合理使用抗生素，重点部门医院管理要求以及一次性使用医用器具的管理、消毒药械的管理、污水处理、污物处理等管理措施。

一、消毒灭菌

我国卫生部 1994 年颁发的《医院感染管理规范（试行）》的医院管理措施项目中明确而详细地规定了“消毒灭菌的原则”，具体内容如下。

1. 进入人体组织或无菌器官的医疗用品必须灭菌；接触皮肤粘膜的器械和用品必须消毒。

2. 根据物品性能可使用物理或化学方法消毒灭菌。灭菌首选压力蒸汽、干热、环氧乙烷气体；消毒首选煮沸、流通蒸汽；化学消毒根据不同情况可选高效、中效、低效消毒剂。

3. 污染医疗器材和物品，均应先消毒后清洗，再消毒或灭菌。

4. 使用中的消毒剂必须保持其有效浓度，并定期检测。

5. 医务人员要了解消毒剂的性能、作用以及使用方法。配制时，应注意有效浓度、作用时间及影响因素。

6. 连续使用中的氧气湿化瓶、雾化器、呼吸机及其管道等，应定期消毒；湿化液应每日更换灭菌水；用毕需终末消毒，干燥保存。

7. 消毒灭菌后，应进行效果监测。

8. 手部皮肤清洁和消毒。医务人员上班时，严禁留长指甲、戴戒指。

(1) 下列情况应进行手的清洁或消毒：①接触病人前后；②进行无菌操作前；③进入和离开隔离病房、重症监护病房、母婴同室、新生儿病房、烧伤病房、传染病房等重点部门时；④戴口罩和穿隔离衣前后；⑤接触可能污染的物品之后或处理污物之后。

(2) 洗手的基本方法和要求：①一般性洗手：用肥皂认真揉搓双手及腕部，特别注意指尖、指缝、指关节等部位，整个揉搓时间不应少于 15 秒钟，然后用流水冲净。②刷手：按外科手术要求进行。③手的皮肤消毒：在进行介人性操作前，或接触传染性的病人或其物品后，应注意手的清洗和消毒（常用的消毒剂有洗必泰、酒精、碘伏或含氯消毒剂等）。

(3) 洗水设备应齐全：①流动水：最好装置肘部开关、脚踏式开关或其它自动开关。②清洁剂：肥皂应保持干燥，盛有消毒剂的容器应保持密闭。③毛巾：应保持清洁、干燥，每日消毒，最好用一次性纸巾。④洗手刷：应一用一灭菌。

二、隔离预防

隔离预防（isolation precaution）是防止病原体从病人或带病原者传给其他人群的一种保护性措施。隔离预防曾是防止传染病流行传播的一项有效措施，并成为管理传染源的一项法规。隔离预防是将患者与健康人群隔开，住入隔离室，使患者排出的病原微生物不能扩散出去，随时予以消毒。因此，在阻止传染病流行传播方面起了非常重要的作用。

随着现代医学的发展，现代医院诊疗操作技术的不断改进和提高，各种侵入性检查和操作的增多，抗生素的广泛使用等原因，于 60 年代以后，医院内由机会致病性微生物引起的感染发生率日益增高，原有的传染病隔离预防措施已不能适应这种情况。学者

们认为，在现代医院感染的感染链中，要控制病原体及宿主因素这两个环节不容易，防止医院感染的蔓延主要针对传播途径采取措施，医院感染的隔离预防则应以切断感染的传播途径为制定措施的依据，同时考虑病原体和宿主因素的特点。

新分类的七类隔离预防的特点及措施如下。

(1) 严格隔离 (strict isolation): 系为预防高度传染性或强毒力的、经空气与接触等途径传播的病原体感染而设计的隔离。适用的疾病有: 鼠疫 (肺鼠疫)、天花、艾滋病、出血热 (肾综合征出血热等)、弥散型带状疱疹及咽白喉。隔离预防措施有: ①单间隔离, 门窗关闭, 病原体相同的病人可同住一室; ②凡进室内者均应穿隔离衣、戴口罩、帽子、手套; ③接触病人或可能污染的物品后及护理其他病人前须洗手; ④污染敷料等物品应装双层污物袋, 标记, 消毒后送去销毁或洗消处理。

(2) 接触隔离 (contact isolation): 系为预防具有高度传染性或有流行病学意义的、主要由接触途径而感染而设计的隔离。适用的疾病有: 婴幼儿急性呼吸道感染、咽炎或肺炎, 新生儿淋菌性眼结膜炎、葡萄球菌脓疱病、带状疱疹等, 播散性或严重原发性单纯疱疹、风疹、狂犬病等病毒性疾病, A 群链球菌子宫内膜炎、金黄色葡萄球菌及 A 群链球菌肺炎等细菌性感染, 大面积皮肤伤口和烧伤感染, 有重要流行病学意义的多重耐药菌感染或定植 (如对氨基糖甙类抗生素耐药的革兰阴性杆菌、MRSA、耐青霉素肺炎链球菌等)。隔离预防措施: ①同种病原体感染时可同室隔离, 暴发流行时, 婴幼儿具有相同呼吸道症状亦可同室隔离; ②接近病人时戴帽子、口罩、有可能污染工作服时应穿隔离衣; ③接触传染性物质时戴手套; ④接触病人或可能污染物品后以及护理其他病人前须洗手。⑤污染敷料等物品应装入污物袋, 标记, 送去销毁或洗消处理。

(3) 呼吸道隔离 (respiratory isolation): 系为预防经气溶胶 (飞沫) 短距离传播的感染性疾病而设计的隔离。适用的疾病有: 麻疹、腮腺炎、百日咳、儿童嗜血流感杆菌感染、脑膜炎球菌感染 (脑膜炎、肺炎、败血症)、传染性红斑 (erythema infection)。隔离预防措施: ①同种病原体可同室隔离; ②接近病人时戴口罩, 不要求穿隔离衣及戴手套; ③接触病人或可能污染物品后及护理其他病人前应洗手; ④污物处理同接触隔离措施。

(4) 结核病隔离 (tuberculosis isolation): 系针对结核病人 (痰涂片分枝杆菌阳性、胸部 X 线检查显示活动性结核 (包括喉结核) 而设计的隔离。一般婴幼儿肺结核不需隔离, 因很少咳嗽, 其支气管分泌物中所含菌量亦很少。隔离预防措施: ①要有特殊通风装置的隔离室, 门窗关闭, 同种疾病可同住一室; ②密切接触病人时应戴口罩, 要防止工作服被玷污时才穿隔离衣, 不必戴手套; ③接触病人或污物后以及护理其他病人前应洗手; ④用过的敷料等物品装袋, 标记, 送去销毁或洗消处理。

(5) 肠道隔离 (enteric isolation): 系为预防经粪 - 口途径传播的感染而设计的隔离。适用的疾病有: 霍乱、甲型肝炎、肠道病毒感染 (脑炎、脑膜炎、心肌炎、胸膜胸肌炎、脊髓灰质炎); 传染性腹泻或胃肠炎 (大肠埃希菌、沙门菌、志贺菌、副溶血性弧菌、空肠弯曲菌、小肠结肠炎耶尔森菌、轮状病毒、阿米巴原虫等), 艰难梭菌及金黄色葡萄球菌引起的小肠结肠炎。隔离预防措施: ①同种病原体感染者可同室隔离; ②不必戴口罩, 工作服易玷污时应穿隔离衣, 接触污染物时应戴手套; ③凡接触病人和

可能污染物后及护理其他病人前，须严格洗手；④被粪便或呕吐物污染的物品要随时消毒或装袋，标记并送去洗消处理或销毁；⑤室内应做到无蝇、无蟑螂。

(6) 引流物 - 分泌物隔离预防 (drainage - secretion precaution): 系为预防由直接或间接接触脓汁或感染部位引流物传播感染而设计的隔离。适用的疾病: 凡感染后产生化脓性物质引流物或分泌物而不需较严格的接触隔离者均属此类, 如小面积烧伤、皮肤伤口感染等。隔离预防措施: ①不需单人隔离室; ②不必戴口罩 (换药时除外), 有可能被玷污时需穿隔离衣, 接触污染物质时戴手套; ③接触病人或可能污染物以后及护理其他病人前应洗手; ④被污染物品应装入有标记污物袋, 送去洗消或销毁。

(7) 血液 - 体液隔离 (blood - body fluid precaution): 系为预防直接或间接接触传染性血液或体液传播感染而设计的隔离。适用的疾病: 乙型肝炎、丙型肝炎、HBsAg 携带者、艾滋病、梅毒 (第一、二期)、疟疾、钩端螺旋体病、回归热、登革热、黄热病等。隔离预防措施: ①同种病原体感染者可同室隔离; 若病人卫生不能自理, 或出血不能控制而易造成环境污染者则应单人隔离; ②可不戴口罩, 在血液、体液可能污染工作服时应穿隔离衣, 接触血液、体液时需戴手套; ③在手与血液、体液接触或可能接触后应立即洗手, 必要时用消毒液洗手; ④污染血液、体液物品, 应装入标记污物袋, 送去销毁或洗消处理; ⑤小心防止针头等利器刺伤, 用过的针头注射器应浸入消毒液或煮沸处理后送中心供应室或装入有标记的耐刺容器内, 送去灭菌; ⑥被污染物品表面, 立即用 5.25% 次氯酸钠溶液消毒。

三、合理使用抗菌药物

抗菌药物是医院内应用最广泛的一类药物。据 WHO 在 14 个国家 47 所医院监测报告, 住院患者中, 30% 应用了抗菌药物。目前滥用抗菌药物的现象非常严重。据美国 CDC 的 Frieden 等总结近 20 年美国各级医院合理应用抗菌药物情况, 认为不合理应用抗生素的占 24% ~ 66%。同样, 国内亦存在类似现象, 有人指出, 临床应用的抗菌药物中, 有 41.2% 属于不合理用药。抗菌药物使用不当是造成医院感染的重要原因。加强抗菌药物应用的管理是降低医院感染率的有效手段, 合理使用抗菌药物是预防和控制医院感染的重要措施。

1. 抗生素使用原则

- (1) 有效控制感染, 争取最佳疗效。
- (2) 预防和减少抗生素的毒副作用。
- (3) 注意剂量, 疗程和给药方法、避免产生耐药菌株。
- (4) 密切注意病人体内正常菌群失调。
- (5) 根据药敏试验结果及药代动力学特性, 严格选药和给药途径, 防止浪费。

2. 抗生素的管理

- (1) 各医院应结合本院情况制定抗生素使用原则。
- (2) 医院应掌握合理使用抗生素的各种知识, 根据药物的适应证、药代动力学、药敏试验, 合理选用。
- (3) 护士应了解各种抗生素的药理作用和配制要求, 准确执行医嘱, 并观察病人用

药后的反应。

(4) 药房应建立抗生素管理的规章制度，并具体落实；定期为临床医务人员提供有关抗生素的信息。

(5) 定期公布临床标本分离的主要病原菌及其药敏试验，以供临床选药参考。

3. 合理使用抗生素的几点建议

(1) 病毒性感染一般不使用抗生素。

(2) 对发热原因不明，且无可疑细菌感染征象者，不宜使用抗生素。对病情严重或细菌性感染不能排除者，可针对性地选用抗生素。

(3) 力争在使用抗生素前留取临床标本。

(4) 联合使用抗生素，应严格掌握临床指征。

(5) 严格掌握抗生素的局部用药。

(6) 严格掌握抗生素的预防用药。

(7) 强调综合用药，提高机体免疫力，不要过分依赖抗菌药物。

医院感染的预防及控制除采取上述措施外，还应对易感人群、医院重点部门，如急诊室、病房、治疗室、换药及注射室、产母婴室、婴儿室、手术室、检验科、口腔科、内窥镜室、供应室、洗衣房等以及医院的建筑设计和卫生采取相应措施。此外，在一次性使用医用器具、消毒药械，医院污水、污物等方面均须遵照国家卫生行政部门或环保部门的有关规定和要求来规范化管理或处理，以期切断医院感染的传播途径，预防及控制医院感染。

展 望

近 30 多年来，世界各国特别是美、英、德等发达国家对医院感染进行了广泛研究，针对各国及各地医院感染现状进行了大量的流行病学调查，掌握了不同国家、不同地区、不同类型医院中感染发病率及其感染源、传播媒介、病原学特征及易感人群等情况，并制定了不同的医院感染控制标准及控制医院感染的各种策略、措施、制度及法规，并把医院感染率的高低列为评价医院的一个重要标准。学者们深知加强医院感染的管理及监控预防措施的落实是降低医院感染率的关键。医院感染不仅贯穿医疗、护理活动的全过程，而且涉及医院管理诸多方面，与医护人员、科研技术及后勤人员均密切相关。有医院存在就有发生医院感染的可能，因此医院感染管理研究以及不断探索符合各国国情的医院感染的预防监测、控制及管理的新途径是医学界行政管理部门和医务人员的永恒研究课题和必须进行的重要日常工作。

为把医院感染发生率降低到最低水平，各国各级医院特别是起步较晚或刚开始起步的国家和医院必须更加注重以下工作：①加强各级医院感染专业队伍的培训。来自临床的医师和护士等专业人员需具有医院感染工作的基本知识，包括医院感染管理、监测、预防控制以及诸如抗生素、微生物学和流行病学、统计学、消毒等相关学科的知识，这样才能适应医院感染工作开展的需要。②对广大医务人员进行医院感染普及性宣传教育，并将医院感染学列为医学生的必修课程。广大医务人员是医院感染预防、控制的主

体，提高其医院感染意识和医疗水平素质是降低医院感染的根本保证。③加强医务人员医风医德的教育。医院是治疗疾病和病人康复的场所，又是感染源传播途径和易感人群广泛活动和集中的地方，任何医院管理不善，例如消毒隔离不严、环境的污染、滥用抗生素以及医务人员的疏忽等都可导致医院感染的发生；因此，医院感染的发生在一定程度上是医务人员失职和道德义务感和责任感不强所造成的，提高医务人员的道德素质和道德水平对于控制和预防医院感染将起到十分重要的作用。④充分发挥现代先进技术在医院感染监测和控制中的应用价值。对医院感染进行监测需要对大量的数据进行记录、统计和分析；计算机具有处理数据高速、准确的特点，因此，利用计算机处理医院感染监测数据与信息，并利用计算机网络传递数据和信息及预测和预报医院感染，这对预防医院感染、提高医疗水平和降低医院感染发生率具有重大的意义。医院感染的病原体检测不仅可用于临床微生物学诊断，同时还可应用于流行病学调查，简便、快速、特异、敏感的微生物学诊断对于监测控制和预防医院感染具有至关重要的意义，因此，在医院感染监测中广泛应用和不断开发分子微生物学技术势在必行。

(舒明星)

附录一 医学微生物学词汇中英文对照

A

A. israelii	衣氏放线菌
abnormal habitation	异位寄生
Acinetobacter	不动杆菌
Actinomyces	放线菌属
acquired immunity	获得性免疫
acquired resistance	获得耐药性
Actinomyces bovis	牛型放线菌
Actinomycetes	放线菌
acyclovir ACV	无环鸟苷
Adenovirus	腺病毒
adenylcyclase toxin	腺苷酸环化酶毒素
adhesin	粘附素
adhesive factor	粘附因子
aerial mycelium	气生菌丝
aflatoxin	黄曲霉毒素
agglutination absorption test	凝集吸收试验
AIDS - related complex ARC	AIDS 相关综合征
Alternaria	交链孢菌
amantadine	金刚烷胺
amensalism	偏生
amphotericin B	两性霉素 B
antagonistic symbiosis	拮抗共生
antibiotic	抗生素
antibody	抗体
antigen	抗原
antigen presenting cell APC	抗原递呈细胞
antigenic drift	抗原性漂移
antigenic shift	抗原性转换
antisense oligodeoxynucleotide asODN	反义寡脱氧核苷酸

antisense oligonucleotide asON	反义寡核苷酸
antisense RNA	反义 RNA
antiseptis	防腐
antitoxin	抗毒素
apparent infection	显性感染
apoptosis	细胞凋亡
Archaeobacterium	古细菌
arthrinium	节菱孢菌
arthrospore	关节孢子
artificial passive immunization	人工被动免疫
artificial active immunization	人工主动免疫
asepsis	无菌
Aspergillus	曲霉菌
Astroviridae	星状病毒科
autoclave	(高压蒸气) 灭菌器
autogenic infection	自身感染
autogenous nosocomial infection	自身医院感染
autolysin	自溶酶
avium - intracellulare	鸟 - 胞内分枝杆菌
Azidothymidine AZT	叠氮胸苷

B

B. cereus	蜡样芽胞杆菌
B. fragilis	脆弱拟杆菌
B. fragilis	脆弱类杆菌
bacillus	杆菌
Bacillus anthracis	炭疽杆菌
Bacillus of Calmette - Guerin BCG	卡介苗
bacteremia	菌血症
bacterial L form	细菌细胞壁缺陷型
bacteriocin	细菌素
bacteriophage phage	噬菌体
bacteriostasis	抑菌
bacteriostat	抑菌剂
bacterium	细菌
bacteroide	拟杆菌
Bartonella	巴通体属

Bifidobacterial	双歧杆菌
bioproduct	生物制品
Biovar lymphogranuloma venereum	性病性淋巴肉芽肿亚种
Biovar mouse	鼠亚种
Biovar trachoma	沙眼生物变种
blastospore	芽生孢子
blood products	血制品
blood - body fluid precaution	血液 - 体液隔离
Bordetella pertussis	百日咳鲍特菌
Bordet - Gengou medium	鲍 - 金特培养基
Borrelia	疏螺旋体
Borrelia burgdorferi	伯氏疏螺旋体
bound coagulase	结合凝固酶
bovine spongiform encephalopathy BSE	牛海绵状脑病
Brucella	布鲁菌属
Brucella abortus	牛布氏杆菌
Brucella melitensis	羊布氏杆菌
Brucella suis	猪布氏杆菌
C	
C reactive protein CRP	C 反应蛋白
C. burnetii	贝纳柯克斯体
C. pecorum	家畜衣原体
C. pneumonia	肺炎衣原体
C. psittaci	鹦鹉热衣原体
C. trachomatis	沙眼衣原体
C. botulinum	肉毒梭菌
C. perfringens	产气荚膜梭菌
C. tetani	破伤风梭菌
Caliciviridae	杯状病毒科
Calicivirus	杯状病毒
Campylobacter jejuni	空肠弯曲菌
Candida albicans	白色念珠菌 (白假丝酵母菌)
capsule	荚膜
carrier	带菌者
categoryspecific isolation precaution	分类隔离预防
cellular PrP PrPc	细胞朊蛋白

Center for Disease Control and Prevention CDC	(美国) 疾病控制中心
chitin	几丁质
Chlamydia	衣原体
Chlamydia pneumonia	肺炎衣原体
Chlamydia trachomatis	沙眼衣原体
chlamydospore	厚膜孢子
chromomycosis	着色真菌
chromosome	染色体
chronic wasting disease of deer CWD	鹿慢性消瘦症
Circinoviridae	环状病毒科
“classic” calicivirus	“典型”杯状病毒
classical biotype	古典生物型
Clostridium difficile	艰难梭菌
coagglutination	协同凝集
coagulase	凝固酶
coagulase – negative staphylococci CNS	凝固酶阴性葡萄球菌
Coccidioides	球孢子菌
coccus	球菌
co – infection	联合感染
collagen adhesin	胶原粘附素
colonization	定植
colonization factor	定植因子
colonization factor antigen CFA	定植因子抗原
colony forming unit CFU	菌落形成单位
commensalisms	栖生
complement system	补体系统
comprehensive surveillance	全面综合性监测
compromised host	易感宿主
conditioned pathogen	机会致病菌
congenital rubella syndrome CRS	先天性风疹综合征
conidium	分生孢子
conjugated vaccine	偶联疫苗
conjugation	接合
contact isolation	接触隔离
Coronavirus	冠状病毒
Corynebacterium diphtheriae	白喉棒状杆菌
Coxiella	柯克斯属
Coxsackievirus	柯萨奇病毒

Creutzfeld - Jakob disease CJD	克 - 雅病
cross infection	交叉感染
cryptic plasmid.	隐蔽性质粒
cryptococcus	隐球菌
Cryptococcus neoformans	新生隐球菌
Cytomegalovirus CMV	巨细胞病毒
cytoplasmic cylinder	原生质圆柱体
cytotoxin	细胞毒素
defensin	防御素
Dengue virus	登革病毒
Dermatophytes	皮肤癣菌
Deuteromycotina	半知菌亚门
2'3' - dideoxycytidine DDC	2'3' - 双脱氧胞苷
2'3' - dideoxyinosine DDI	2'3' - 双脱氧肌苷

D

differentiated medium	鉴别培养基
diffusely adherent E.coli DAEC	弥散粘附型大肠埃希菌
dimorphic fungus	二相真菌
diphtheroid bacilli	类白喉棒状杆菌
disinfectant	消毒剂
disinfection	消毒
DNA vaccine	DNA 疫苗
drainage - secretion precaution	引流物 - 分泌物隔离预防
drug - resistant	耐药
drug - resistant bacterium	耐药菌
dysbacteriosis	菌群失调症
Dysentery bacterium	痢疾杆菌

E

E. floccosum	红色毛癣菌
E. cloacae	阴沟肠杆菌
E. coli	大肠埃希菌
Ehrlichia	埃立克体属
El Tor biotype	El Tor 生物型
elastase	弹性蛋白酶

elementary body	原体
Encephalitis B virus	流行性乙型脑炎病毒
endocarditis	亚急性细菌性心内膜炎
endoflagellum	内鞭毛
endogenous infection	内源性感染
endogenous nosocomial infection	内源性医院感染
endotoxemia	内毒素血症
endotoxin	内毒素
enteric adenovirus	肠道腺病毒
enteric cytopathogenic human orphan virus ECHO	人肠道致细胞病变孤儿病毒
enteric isolation	肠道隔离
enteroaggregative E.coli EaggEC	肠集聚型大肠埃希菌
Enterobacteria	肠杆菌属
Enterococcus	肠球菌
enterohemorrhagic E.coli EHEC	肠出血型大肠埃希菌
enteroinvasive E.coli EIEC	肠侵袭型大肠埃希菌
enteropathogenic E.coli EPEC	肠致病型大肠埃希菌
enterotoxigenic E.coli ETEC	肠产毒素型大肠埃希菌
enterotoxin	肠毒素
Enterovirus	肠道病毒
enviromental infection	环境感染
epidermophyton	表皮癣菌
epitope	表位
erythema infection	传染性红斑
Escherichia	埃希菌属
eubacterium	真细菌
eukaryote	真核细胞
exfoliatin	剥脱毒素
extracellular bacteria	胞外菌
exogenous infection	外源性感染
exogenous nosocomial infection	外源性医院感染
exotoxin	外毒素
expanded gold standard	金标准

F

F. necleatum	核梭杆菌
facultative intracellular bacteria	兼性胞内菌

facultative anaerobe
fatal familial insomnia FFI
feline spongiform encephalopathy FSE
fibrinogen - binding protein Fbp
fibrinolysin
fibronectin
filamentous colony
filter
filtration
fixed strain
flagellum
Flaviviridae
flora disequilibrium
flucytosine
fluorescent treponemal antibody - absorption
test FTA - ABS
Forest encephalitis virus
free coagulase
fungus
fusarium

G

gas gangrene
gene engineering vaccine
genome
genotypic variation
Giemsa staining
glycocalyx
glycoprotein gp
Gram stain
granulocyte - macrophage colony stimulating factor
granulozyme
growth inhibition test

H

haemagglutinin HA

兼性厌氧菌
致死性家族失眠症
猫海绵状脑病
血纤维蛋白原结合蛋白
纤维蛋白溶酶
纤连蛋白
丝状菌落
滤菌器
滤过
固定毒株
鞭毛
黄病毒科
菌群失调
氟胞嘧啶
荧光密螺旋体吸收试验

森林脑炎病毒
游离凝固酶
真菌
镰刀菌

气性坏疽
基因工程疫苗
基因组
基因型变异
姬姆萨染色
糖萼, 糖包被
糖蛋白
革兰染色法
粒细胞 - 巨噬细胞克隆刺激因子
粒酶
生长抑制试验

血凝素

Haemophilus influenzae	流感嗜血杆菌
Hantaan virus	汉坦病毒
hard Chancre	硬下疳
HBcAb	乙型肝炎核心抗体
HBcAg	乙型肝炎核心抗原
HBeAb	乙型肝炎 e 抗体
HBeAg	乙型肝炎 e 抗原
HBsAb	乙型肝炎表面抗体
HBsAg	乙型肝炎表面抗原
heat labile enterotoxin LT	不耐热肠毒素
heat stable enterotoxin ST	耐热肠毒素
heat stable nuclease	耐热核酸酶
Helicobacter pylori HP	幽门螺杆菌
hemagglutination inhibition antibody HIAb	血凝抑制抗体
hemorrhagic fever with renal syndrome	肾综合征出血热
Hendra virus	亨德拉病毒
hepatitis A virus	甲型肝炎病毒
hepatitis associated antigen HAA	肝炎相关抗原
hepatitis B virus	乙型肝炎病毒
hepatitis C virus	丙型肝炎病毒
hepatitis D virus	丁型肝炎病毒
hepatitis E virus	戊型肝炎病毒
hepatitis G virus	庚型肝炎病毒
heredity	遗传
Herpes simplex virus HSV	单纯疱疹病毒
Herpesviridae	疱疹病毒科
histoplasma	组织胞浆菌
hospital acquired infection	医院内获得性感染
hospital infection	医院感染
host dependent infection	宿主依赖性感染
HuCVs	人杯状病毒
Human herpes virus HHV	人类疱疹病毒
Human immunodeficiency virus HIV	人类免疫缺陷病毒
Human papillomavirus HPV	人乳头瘤病毒
Human T cell lymphotropic virus type III	人类嗜 T 细胞病毒 III 型
human tetanus immunoglobulin HTIG	人源破伤风免疫球蛋白
hypha	菌丝

I

immunization	免疫接种
inapparent infection	隐性感染
incompatibility	不相容性
Infectious disease	传染病
infectious immunity	感染免疫
Influenza – virus	流行性感冒病毒
initial body	始体
innate immunity	天然免疫
insertion sequence IS	插入序列
intensive care unit ICU	重症监护室
interferon IFN	干扰素
intermediate	中介
International Federation of Infection Control IFIC	国际医院感染控制联合会
intracellular bacteria	胞内菌
intrinsic resistance	固有耐药性
invasiveness	侵袭力
isolation precaution	隔离预防

J

Japanese encephalitis virus	日本脑炎病毒
-----------------------------	--------

K

Kanagawa phenomenon KP	神奈川现象
ketoconazole	酮康唑
Klebsiclla	克雷伯菌属
koch phenomenon	柯科现象
Kuru disease	库鲁病

L

Lactobacilli	乳杆菌
lactoferin	乳铁蛋白
laminar air flow room LAFR	层流室

lecthinase	卵磷脂酶
Legionella	军团菌属
Legionella pneumophila	嗜肺军团菌
legionellosis	军团菌病
lemology	传染病学
Lentivirinae	慢病毒亚科
Lepatospira interrogans	问号钩端螺旋体
leptospira	钩端螺旋体
leukocidin	杀白细胞素
ligase chain assay LCR	连接酶链反应
lipase	酯酶
lipo - oligo - saccharide LOS	脂寡糖
lipopolysaccharide binding protein LBP	脂多糖结合蛋白
lipopolysaccharide LPS	脂多糖
lipoteichoic acid LPA	脂磷壁酸
lobar pneumonia	大叶性肺炎
long terminal repeat LTR	长末端重复序列
lowenstein - jensen	罗氏培养基
lymphadenopathy associated virus LAV	淋巴结肿大相关病毒
lymphogranuloma venereum	性病性淋巴肉芽肿
lymphokine activated kieler cell	淋巴因子激活的杀伤细胞
lyophilization	冷冻真空干燥法
lysogenic bacteria	溶原性细菌
lysogenic conversion	溶原性转换
lysosome	溶酶体

M

M. audouinii	奥杜盎小孢子菌
M. canis	犬小孢子菌
M. gypseum	石膏样小孢子菌
M. hominis	人型支原体
M. Pneumonia	肺炎支原体
macroconidium	大分生孢子
macrophage	巨噬细胞
macrophage inflammatory protein MIP	巨噬细胞炎性蛋白
mad cow disease	疯牛病
Malassezia furfur	糠秕孢子马拉色菌

measles virus	麻疹病毒
Meningococcus	脑膜炎球菌
mesosome	中介体
metabolic inhibition test	代谢抑制试验
metachromatic granule	异染颗粒
miconazole	密康唑
microdysbiosis	微生态失调
microaerophilic bacterium	微需氧菌
microconidium	小分生孢子
microecological preparation	微生态制剂
Microeubiosis	微生态平衡
microfold cell	M 细胞
microhemagglutination assay for antibodies to <i>Treponema pallidum</i> MHA - TP	梅毒螺旋体抗体微量血凝试验
micromonospora	小单孢菌属
microorganism	微生物
microscopic agglutination test	显微镜凝集试验
microsporum	小孢子癣菌
millary - tuberculosis	粟粒性结核
minimal bactericidal concentration MBC	最低杀菌浓度
minimal inhibitory concentration MIC	最低抑菌浓度
mold	真菌
monocyte	单核细胞
mononuclear phagocyte system	单核吞噬细胞系统
mucin	粘蛋白
mucosal immune system MIS	粘膜免疫系统
multipleresistant bacterium	多重耐药菌
Mumps - virus	腮腺炎病毒
mutation	突变
mycelium	菌丝体
mycoplasmal pneumonia	支原体肺炎
<i>Mycobacterium</i> f	分枝杆菌属
mycolic acid	分枝菌酸
<i>Mycoplasma</i>	支原体
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	肺炎支原体
mycosis	真菌病
mycotoxins	真菌毒素
myeloperoxidase MPO	髓过氧化物酶

N

<i>N. asteroides</i>	星形诺卡菌
<i>N. brasiliensis</i>	巴西诺卡菌
natural killer cell	自然杀伤细胞
Negri body	内基小体
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	淋病奈瑟菌
<i>Neisseria meningitidis</i>	脑膜炎奈瑟菌
<i>Neisseria</i>	奈瑟球菌属
neuralism	中生
neuraminidase HA	神经氨酸酶
neurotoxin	神经毒素
neutralizing antibody	中和抗体
neutrophil activating protein 2 NAP2	中性粒细胞激活蛋白 2
Nipah virus	尼派病毒
<i>Nocardia</i>	诺卡菌属
nongonococcal urethritis NGU	非淋菌性尿道炎
nonspecific immunity	非特异性免疫
normal flora of microbe	正常微生物群
Norwalk virus	诺瓦克病毒
nosocomial infection	医院内感染
nosocomiology	医院感染学
nucleoid	拟核
nucleoprotein NP	核蛋白
nystain	制霉菌素

O

<i>O. tsutsugamushi</i>	恙虫病立克次体
obligate intracellular bacteria	专性胞内菌
obligate aerobe	专性需氧菌
obligate anaerobe	专性厌氧菌
old tuberculin OT	旧结核菌素实验
oligonucleotide	寡核苷酸
oligosaccharide	寡糖
Oncovirinae	肿瘤病毒亚科
open reading frame ORF	开放读码框架

opportunistic bacteria, or opportunistic pathogens	机会性致病菌
opportunistic infection	机会性感染
Oral streptococcus	口腔链球菌
Orientia	东方体属
Orthomyxoviridae	正粘病毒科
outer envelope	外膜
P	
<i>P. aeruginosa</i>	铜绿假单胞菌
<i>P. cepacia</i>	洋葱假单胞菌
<i>P. melaninogenica</i>	产黑素普氏菌
Papilloma virus	乳头瘤病毒
Papovaviridae	乳多空病毒科
Parainfluenza virus	副流感病毒
Paramyxoviridae	副粘病毒科
parasitism	寄生
Parvoviridae	微小病毒科
pasteurization	巴氏消毒法
pathogen	致病菌, 病原菌, 病原体
pathogenicity island	致病岛
Payer patch	派伊尔结
penicillin - binding proteins PBPs	青霉素结合蛋白
penicillinase - producing <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	产青霉素酶淋病奈瑟菌
PPNG	
Penicillium	青霉菌
peptidoglycan	肽聚糖
Peptostreptococcus	消化链球菌
perforin	穿孔素
periplasmic flagella	周浆鞭毛
phagocytosis	吞噬作用
phagolysome	吞噬溶酶体
phagosome	吞噬体
phenotypic variation	表型变异
Picornaviridae	小 RNA 病毒科
pilus 或 fimbriae	菌毛
plasmid	质粒
plasmid fingerprinting	质粒指纹

Poliovirus	脊髓灰质炎病毒
polymerase chain reaction PCR	多聚酶链反应
polyoma virus	多瘤病毒
pore - forming toxins	孔形成毒素
Porphyromonas	卟啉单胞菌
predominant bacteria	优势菌
primary atypical pneumonia	原发性非典型肺炎
Prion	朊粒
prion protein PrP	朊蛋白
priority - directed surveillance	从优监测
prokaryote	原核细胞
prophage	前噬菌体
Propionibacterium	丙酸杆菌
proteolytic toxins	溶蛋白毒素
Proteus	变形杆菌属
protoplasmic cylinder	柱形原生质体
protoplast fusion	原生质体融合
provirus	前病毒
pseudohypha	假菌丝
pseudomembranous colitis	伪膜性肠炎
pulsed - field gel electrophoresis PFGE	脉冲电场凝胶电泳
purified protein derivative PPD	纯蛋白衍化物
pyemia	脓毒血症
pyocyanin	绿脓菌素
pyogenicity	致热反应
pyrogen	热原质
pyrogenic exotoxin	致热外毒素

R

R. prowazekii	普氏立克次体
R. typhi	斑疹伤寒立克次体
Rabies virus	狂犬病毒
rapid plasma reagin RPR	快速血浆反应素试验
reactive nitrogen intermediate RNI	活性氮中和物
reactive oxygen intermediate ROI	活性氧中和物
reagin	反应素
regulator	调节基因

reproductive mycelium	生殖菌丝
respiratory burst	呼吸爆发
respiratory isolation	呼吸道隔离
Respiratory syncytial virus RSV	呼吸道合胞病毒
Retroviridae	逆转录病毒科
reverse transcriptase	逆转录酶
Rhinovirus	鼻病毒
ribotyping	核糖核酸分型
ribozyme	核酶
Rickettsia	立克次体
restriction enzyme analysis	限制性内切酶分析
rotating surveillance	轮转监测
Rotavirus	轮状病毒
rubella	风疹
Rubella virus	风疹病毒
Russian spring - summer encephalitis	俄罗斯春夏型脑炎病毒

S

S. bongori	邦戈沙门菌
S. boydii	鲍氏志贺菌
S. cholerae - suis	猪霍乱沙门菌
S. Dublin	都伯林沙门菌
S. dysenteriae	痢疾志贺菌
S. enterica	肠道沙门菌
S. enteritidis	肠炎沙门菌
s. flexneri	福氏志贺菌
S. hirschfeldii	希氏沙门菌
S. marcescens	粘质沙雷菌
S. mitis	缓症链球菌
S. paratyphi A	甲型副伤寒沙门菌
S. salivarius	唾液链球菌
S. schottmuelleri	肖氏沙门菌
S. sonnei	宋内志贺菌
S. typhi	伤寒沙门菌
S. typhimurium	鼠伤寒沙门菌
Saccharomyces albicans	白假丝酵母菌
Salmonella	沙门菌属

satellite colony	卫星菌落
satellite phenomenon	卫星现象
schick test	锡克试验
scrapie of sheep and goat	羊瘙痒病
scrapie prion protein PrPsc	羊痒疫原蛋白
self infection	自身感染
septicemia	败血症
septum	隔膜
serological diagnosis	血清学诊断
Serratia	沙雷菌属
Sexually transmitted disease STD	性传播疾病
Shigella	志贺菌属
shigelloid E. coli	志贺样大肠埃希菌
simian vacuolating agent	猴空泡因子
small round structured virus SRSV	小圆形结构病毒
specific immunity	特异性免疫
sphingomyelinase C	神经鞘磷脂酶 C
spike	突起
spiral bacterium	螺形菌
Spirochete	螺旋体
sporangiospore	孢子囊孢子
spore	芽胞孢子
Sporotrichum schenckii	申克孢子丝菌
Spumavirinae	泡沫病毒亚科
St. Louis encephalitis virus	圣路易脑炎病毒
staphylococcal protein A SPA	葡萄球菌 A 蛋白
staphylococcal scald skin syndrome SSSS	葡萄球菌烫伤样皮肤综合征
Staphylococcus	葡萄球菌
staphylolysin	葡萄球菌溶素
staphylothrombin	葡萄球菌凝血酶
sterilization	灭菌
stormy fermentation	汹涌发酵
streptococcal fibrinolysin	链球菌纤溶酶
Streptococcus pneumoniae	肺炎链球菌
Streptococcus (streptococci)	链球菌
Streptomyces	链霉菌属
strict isolation	严格隔离
subacute sclerosing panencephalitis SSPE	亚急性硬化性全脑炎

Subap. houtenae	豪顿亚种
Subclinical infection	亚临床感染
Subsp. salamae	萨拉姆亚种
Subsp. Endemicum	地方亚种
Subsp. Pertenue	极细亚种
Subsp. diarigonae	双亚利桑那亚种
Subsp. enterica	肠道亚种
Subsp. indica	英迪加亚种
Subsp. pallidum	苍白亚种
Sulfatides	硫酸脑苷脂
superantigen	超抗原
superinfection	二重感染
surveillance of hospital infection	医院感染监测
susceptibility	敏感
symbiosis	共生
synaptobrevin - II	突触囊胞蛋白 - II
synaptobrevins	突触短杆菌素
synergism	互生
syphilis	梅毒

T

T. mentagrophyte	须癣毛癣菌
T. rubrum	絮状表皮癣菌
T. schoenleinii	许兰毛癣菌
T. Carateum	品他密螺旋体
T. Pallidum	苍白密螺旋体, 亦称梅毒螺旋体
targeted surveillance	目标性监测
teichoic acid	磷壁酸
temperate phage	温和噬菌体
tetanospasmin	破伤风痉挛毒素
tetanus antitoxin TAT	破伤风抗毒素
tetracycline - resistant neisseria gonorrhoeae TRNG	耐四环素淋病奈瑟菌
thallospore	叶状孢子
tinea	癣
titer	效价
toxaemia	毒血症
toxic factor	毒力因子

toxic shock syndrome TSS	毒素休克综合征
toxic shock syndrome toxin - 1 TSST - 1	毒素休克综合征毒素 - 1
transduction	转导
transfer factor TF	转移因子
transformation	转化
transfusion	输血
transfusion transmitted virus TTV	TT 型肝炎病毒
transmissible mink encephalopathy TMM	水豹传染性脑病
transmissible spongiform encephalopathy TSEs	传染性海绵状脑病
transposable element	转位因子
transposon Tn	转座子
treponema	密螺旋体
Treponema	密螺旋体属
treponemal pallidum immobilizing TPI	梅毒螺旋体制动试验
trichophyton	毛癣菌
tuberculin test	结核菌素试验
M. tuberculosis	结核分枝杆菌
tuberculosis isolation	结核病隔离
tumor necrosis factor TNF	肿瘤坏死因子
U	
U. urealyticum	溶脲脲原体
unit - directed surveillance	部门监测
uropathogenic E coli UPEC	尿路致病性大肠埃希菌
V	
V. cholerae	霍乱弧菌
V. parahemolyticus	副溶血性弧菌
V. vulnificus	创伤弧菌
vaccination	疫苗接种
vaccine	疫苗
vacuolating cytotoxin	空泡形成细胞毒素
Valacyclovir VACV	脱氧鸟苷
variation	变异
Varicella	水痘
Varicella - Zoster virus VZV	带状疱疹病毒

vegetative mycelium	营养菌丝
Veillonella	韦荣球菌
venereal disease reference laboratory VDRL	VDRL 试验
verotoxigenic E. coli VTEC	vero 毒素大肠埃希菌
Vibrio	弧菌属
virology	病毒学
virulence	毒力
virulent phage	毒性噬菌体
virus	病毒

W

West Nile Virus	西尼罗病毒
Western blotting	蛋白印迹
Widal test	肥达试验
wild (street) strain	野 (街) 毒株
Wright staining	瑞特染色

Y

yeast	酵母菌
yeast type colony	酵母型菌落
yeast - like colony	类酵母菌落
Yersinia pestis	鼠疫耶氏菌

Z

zinc endopeptidase	锌内肽酶
Zoonoses	人兽共患病
zoster	带状疱疹
β - lactamase	β - 内酰胺酶

附录二 医学微生物学相关的网址

一、WHO 总部:

<http://www.who.int>

二、中国微生物学会主页: <http://Pc24.im.ac.cn>

三、中华医学会: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical>

四、国际传染病学会: <http://www.isid.org>

五、美国微生物学会系列杂志: <http://www.journals.asm.org>

六、美国微生物学会出版社: <http://www.asmpress.org>

七、美国国家医学图书馆: <http://www.nlm.nih.gov>

八、美国食品和药品管理局: <http://www.fda.gov>

九、中国医药文献数据库: <http://www2.cpi.ac.cn/demo/search-wz.html>

十、中医药信息检索系统: <http://wall.cintcm.ac.cn>

十一、中国生物医学文献数据库: <http://flower.imicams.ac.cn/cbmdisc>

十二、多媒体虚拟图书馆: <http://www.tiac.net/users/jtward>

十三、国内医学院校网址:

1. 上海医科大学: <http://www.shmu.edu.cn>

2. 上海第二医科大学: <http://www.shsmu.edu.cn>

3. 湖南医科大学: <http://www.ummed.edu:8000/pub/z/zhou/hmu.html>

4. 浙江医科大学: <http://www.zmu.zju.edu.cn>

5. 哈尔滨医科大学: <http://www.hrbmu.edu.cn>

6. 中国医科大学: <http://www.fmu.ac.jp/home/zhang/cmu/cmuchi.html>

7. 中山医科大学: <http://www.gzsums.edu.cn>

8. 同济医科大学: <http://ultr.tjmu.edu.cn>

9. 华西医科大学: <http://www.wcums.edu.cn>

10. 天津医科大学: <http://www.tjmu.edu.cn>

11. 北京医科大学: <http://www.bjmu.edu.cn>

12. 中国协和医科大学: <http://www.pumc.edu.cn>

13. 首都医科大学: <http://www.cpums.edu.cn>

14. 中国医学科学院: <http://www.imicams.ac.cn/cams/cams-c.html>

15. 军事医学科学院: <http://.W3.bmi.ac.cn>

16. 第一军医大学: <http://www.fimmu.edu.cn>

17. 第二军医大学: <http://www.smmu.edu.cn>

18. 第三军医大学: <http://www.timmu.edu.cn>

19. 第四军医大学: <http://www.fmmu.edu.cn>
20. 白求恩医科大学: <http://www.nbums.cc.jl.cn>
21. 重庆医科大学: <http://www.cqums.edu.cn>
22. 西安医科大学: <http://www.xjtu.edu.cn>
23. 南京医科大学: <http://www.njmu.edu.cn>
24. 衡阳医学院: <http://www-personal.umich.edu/~hchth/HYMC>
25. 贵阳医学院: <http://www.gzu.edu.cn/html/gzgx/cindex.html>
26. 北京中医药大学: <http://www.bjucmp.edu.cn>
27. 福建中医药大学: <http://www.fjuem.edu.cn>
28. 南京中医药大学: <http://www.njutcm.edu.cn/cindex.html>
29. 苏州医学院: <http://www.med.virginia.edu/~j24u/suzhou.html>
30. 中国药科大学: <http://www.bjcmp.edu.cn>
31. 湖北医科大学: <http://www.neurophs.wise.edu/~cai/hmu>
32. 广东医科大学: <http://www.gdmc.edu.cn>
33. 汕头大学医学院: <http://www.med.stu.edu.cn>
34. 海南医科大学: <http://www.hainmc.edu.cn>
35. 福建医科大学: <http://netcity.fz.fj.cn/medicine/ykdx/yk.htm>

十四、中文医学杂志网页:

1. JAMA: <http://jama.ama-assn.org/>
2. 中华微生物学和免疫学杂志: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical>
3. 中华实验和临床病毒学杂志: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical>
4. 中华医学杂志: <http://www.chinainfo.gov.cn//periodical>
5. 病毒学报: <http://www.chinajournal.net/BDXB.html>
6. 中华流行病学杂志: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/zhlxbx/index.htm>
7. 军事医学科学院院刊: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/jsyxkxyyk/index.htm>
8. 中华传染病杂志: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/zhrbzz/index.htm>
9. 中国新药杂志: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/zgxyzz/index.htm>
10. 中国医学科学院学报: <http://www.chinainfo.gov.cn//periodical/zgyxkxyxb>
11. 英国医学杂志中文版: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/zh-bmj-c/index.htm>
12. 中国病毒学: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/zgbdx/index.htm>
13. 北京医科大学校报: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/bjykdxxx/index.htm>
14. 中国皮肤性病学杂志: 202.117.168.22/pifu/index.html
15. 免疫学杂志: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/myxzz/index.htm>
16. 中国抗生素杂志: <http://www.sjia.ac.cn/cjap/home.htm>
17. 白求恩医科大学学报: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/bqeykdxxb/index.htm>

dex.htm

18. 中国免疫学杂志: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/zgmyxzz/index.htm>
19. 中国药学杂志: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/zgyxzz/index.htm>
20. 第三军医大学学报: <http://www.chinainfo.gov.cn/periodical/dsjydxzb/index.htm>
21. 湖北医科大学学报: <http://www.chinajournal.net.cn>
22. 中药研究与信息: <http://www.china-herbs.com.cn>

十五、英文医学网站:

1. Science: <http://www.sciencemag.org>
2. Nature: <http://www.nature.com>
<http://www.natureasia.com> (自然杂志的中文网址)
3. Proceedings of the National Academy of Sciences: <http://www.pnas.org>
4. Centers for Disease Control and Prevention: <http://www.cdc.gov>
5. Emerging Infectious Diseases: <http://www.cdc.gov/eid>
6. The Microbiology Network: <http://microbiol.org>
7. Virology Information: <http://virology.science.org>
8. Pittsburgh Bacteriophage Institute, <http://www3.pitt.edu/~duda/PBImemberlist.html>
9. Journal of General Virology: <http://vir.sgmjournals.org>
10. All the Virology on the WWW, the full table of contents with links to all the virology websites. <http://www.tulane.edu/~dmsander/garryfavweb.html>
11. Institute for Molecular Virology at the University of Wisconsin - Madison, <http://www.Bocklabs.wisc.edu/Welcome.html>
12. Harvard medical School: <http://www.medicine.iu.edu/home.html>
13. Medical College of Wisconsin: <http://www.mcw.edu>
14. Stanford University School of Medicine: <http://www.mce.stanford.edu/school>
15. Boston University School of Medicine: <http://www.bumc.bu.edu>
16. Infection: <http://www.urban-vogel.de> (go to infection; PDF-format)
17. Cancer Control: <http://www.moffitt.usf.edu/ocjournal>
18. Journal of Infectious Diseases: <http://www.journals.uchicago.edu/JID/home.html>
19. National Center for Biotechnology Information: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
20. Computer Molecular Biology at NIH: <http://www.molbio.info.nih.gov/molbio>
21. The American Society of Gene Therapy: <http://www.asgt.org>
22. Nature Biotechnology: <http://biotech.nature.com>
23. University of Alabama School of Dentistry: <http://www.dental.uab.edu>
24. Baylor College of Dentistry: <http://www.tamcd.edu>
25. Harvard School of Dental Medicine: <http://www.hsdm.med.harvard.edu>
26. Indiana University School of Dentistry: <http://www.iusd.iupui.edu>

27. New York University College of Dentistry: <http://www.nyu.edu/Dental>
28. The American Dental Association: <http://www.dental-resources.com>
29. Dental Globe: <http://dentalglobe.com>
30. National Cancer Center: <http://www.ncc.go.jp/Gopher>
31. National Cancer Institute: <http://www.nci.nih.gov>
32. American Cancer Society: <http://www.cancer.org>
33. Pharmaceutical Information Network: <http://pharminfo.com>
34. Pharmaceutical Manufacturers on the Internet: <http://users.erols.com/lpincock>
35. Cornell University medical college: <http://www.med.cornell.edu>
36. Radiology: <http://radiology.rsna.org>
37. Physiological Genomics : <http://physiolgenomics.physiology.org>
38. Archives of Neurology: <http://archneur.ama-assn.org>
39. Center for Epidemiologic Research: <http://www.orau.gov/cer>
40. BioScience Network: <http://biochemie.net>
41. BioScience Research Tool: <http://biochemie.net/links/index.html> . ,
42. Parasitology, Microbiology, Immunology
<http://www.lsumc.edu/campus/micr/www.htm>
43. The journal of Immunology: <http://www.jimmunol.org>
44. Immunology Today: <http://www.elsevier.nl/locate/ito>
45. Official Program of the International society for Infectious Diseases:
<http://www.promed.mail.org>

十六、微生物基因组研究:

1. <http://www.sanger.ac.uk/projects>. Sanger 中心 (结核杆菌、麻风杆菌镰刀状疟原虫、淋病奈瑟菌)
2. <http://www.genome.ou.edu> Oklahoma 大学 (淋病奈瑟菌、化脓链球菌、放线共生放线杆菌、构巢曲霉)
3. <http://www.tigr.org/tdb/CMR/gmt/htmls/splashpage.html>
4. <http://www.pasteur.fr> 巴斯德研究所网页
5. <http://www.mcs.anl.gov/home/gaasterl/magpic.html> MAGPIE 计划
6. <http://www.qmw.ac.uk/~rhm001/index.html> Microbial Underground
7. <http://www.tigr.org/microbial/genome> Genomic 研究所 (流感嗜血杆菌、生殖器衣原体、幽门螺杆菌等)
8. <http://www.seqnet.dl.ac.uk//home.html> Daresbury 的 SEQNET
9. <http://www.ncbi.nlm.gov> 生物技术信息国家中心
10. <http://www.ai.sri.com/ecocyc/hincyc.html> 流感嗜血杆菌基因和代谢
11. <http://www.ai.sri.com/ecocyc/ecocyc.html> 大肠杆菌基因和代谢
12. <http://www.pdb.bnl.gov> 蛋白数据

十七、微生物感染与抗生素耐药:

1. <http://www.asmtusa.org>
2. http://www.fda.gov/fdac/features/795_antibio.html.
3. <http://www.earss.rivm.nl>
4. <http://www.healthsic.tufts.edu/apua/roarhome.htm>
5. <http://resistanceweb.mfhs.edu/cit/Index.asp>
6. <http://www.sciam.com/1998/0398issue/0398levy.html>

十八、防治结核信息:

1. <http://www.who.int/gtb>
2. <http://www.cdc.gov/nchstp/tb/links.htm>
3. <http://www.niaid.nih.gov/publications/blueprint/toc.htm>
4. <http://www.niaid.nih.gov/dmid/tb/tb.htm>
5. <http://www.niaid.nih.gov/dmid/tb/plan.htm>
6. <http://www.taacf.org>
7. <http://www.southernresearch.com>
8. <http://www.cdc.gov/nchstp/tb/faps/qa.htm>

十九、结核杆菌耐药性、应用基因芯片技术检测:

1. <http://www.harc.edu>
2. <http://www.elsevier.nl>
3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

二十、与病毒有关的网址:

1. <http://www.cdc.gov>
2. <http://micr.msb.lc.acuk/335/prion.htm>
3. <http://www.mad/cow.org>.

二十一、DNA 疫苗:

1. <http://www.fda.gov/cber>.
2. <http://www.dnavaccine.com>.
3. <http://www.genweb.com>.
4. <http://www.bhs.bhs.berkeley.k12.ca.us/departments/science>.

主要参考文献

1. 闻玉梅. 现代医学微生物学. 上海: 上海医科大学出版社, 1999
2. 陆德源. 医学微生物学. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2001
3. 闻玉梅、陆德源. 现代微生物学. 上海: 上海医科大学出版社, 1990
4. 关显智、周正任、谷鸿喜. 医学微生物学. 第4版. 长春: 吉林科学技术出版社, 1999
5. 黄祯祥、洪涛、刘崇柏. 医学病毒学基础与实验技术. 第2版. 北京: 科学出版社, 1990
6. 刘晶星. 医学微生物学与免疫学. 北京: 人民卫生出版社, 2000
7. 李明远. 微生物学与免疫学. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2000
8. 刘天佳、岳松龄. 口腔疾病的微生物学. 北京: 人民卫生出版社, 2000
9. 戴自英. 实用抗菌药理学. 上海: 上海科学技术出版社, 1992
10. 罗海波、朱平、李兰娟. 细菌毒素与临床. 北京: 人民卫生出版社, 1999
11. 徐耀先. 分子病毒学. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2000
12. 薛广波. 实用消毒学. 北京: 人民军医出版社, 1993, 138 ~ 419
13. 曹玉璞、叶元康. 支原体与支原体病. 北京: 人民卫生出版社, 2000
14. 詹前朕. 医护微生物学. 台北: 华杏出版股份有限公司, 1999
15. 戚中田、杜平. 丙型肝炎病毒与丙型肝炎. 上海: 上海科学技术出版社, 1992
16. 杨东亮、叶嗣颖. 感染免疫学. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1998
17. 杨景云. 医用微生态学. 北京: 中国医药科技出版社, 1997
18. 焦炳华. 分子内毒素学. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1995
19. 康白. 肠内世界纪行. 大连: 大连出版社, 1998
20. 徐建国. 致泻性大肠杆菌毒力因子的分子遗传学基础. 见: 林万明主编. 医学分子细菌学进展. 北京: 中国科学技术出版社, 1991, 17 ~ 26
21. 戚中田. 非甲戊型肝炎与新型肝炎病毒. 见: 戚中田主编. 戊型肝炎病毒与戊型肝炎. 香港: 亚洲医药出版社, 1999. 123 ~ 147
22. 邵一鸣、张健慧、陈刚、蒋岩主译. 艾滋病病毒与艾滋病的发病机制. 北京: 科学出版社, 2000
23. 朱士俊. 现代医院感染学. 北京: 人民军医出版社, 1998
24. 王枢群、张邦燮. 医院感染学. 重庆: 科技文献出版社重庆分社, 1990
25. 钟秀玲、程棣妍. 现代医院感染护理学. 北京: 人民军医出版社, 1995
26. Weaver RF. 分子生物学(英). 北京: 科学出版社, 2000
27. Brook GF, Brutel JS and Morse SA. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 21th ed. Appleton & Lange Stamford Connecticut, 1998, 1 ~ 89
28. J. Nicklin, K. Graeme - Cook, T. Paget and R. A. Killington: Instant Notes in Microbiology. Bios Scientific Publishers Limited, 1999
29. David Greenwood. Richard C., B. Slack John F. Peutherer. Medical Microbiology. 15th ed. Harcourt Asia Pte, Ltd, 1999

30. Collier L, Balows A, Sussman M. Topley & Wilson's microbiology and microbial infections. 9th ed. Vol 1 ~ 6. London : Arnold, 1998
31. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, et al. Medical Microbiology. 3rd ed. Missouri: Mosby Press, 1998
32. Murray PR. Manual of clinical microbiology. Washington, D. C.: ASM, 1999
33. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA et al. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994
34. Holt JG (editor - in - chief). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore, Williams & Wilkins, 1984 (vol. 1), 1986 (vol. 2), 1989 (vol. 3), 1989 (vol. 4)
35. MacFaddin JF. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams - Wilkins, 2000
36. Prescott LM et al. Microbiology. 4th ed., McGraw - Hill, 世界图书出版西安公司, 1999
37. Mandell GL et al. Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000
38. Isenberg HD. Essential procedures for clinical microbiology. Washington, D. C.: ASM, 1998
39. Woodford N et al. Molecular bacteriology: protocols and clinical applications. Totowa: Humana Press, 1998
40. Alcamo IE. Fundamentals of microbiology. 5th ed. California: Addison, 1997
41. Talaro KP, Talaro A. Foundations in microbiology, 3rd ed. Boston: McGraw Hill, 1999
42. Feigin RD, Cherry JD. Textbook of pediatric infectious diseases, 4th ed. Vol 1 ~ 2. Philadelphia: WB saunders, 1998
43. Richman DD, Whitley RT, Hayden FG. Clinical Virology. Churchill Livingstone, 1997
44. Jenks PJ. Sequencing microbial genomes - What will it do for microbiology? J. Med. Microbiol, 1998. 47: 375 ~ 382
45. Weinstock GM. Genomics and bacterial pathogenesis, Emerging Infectious Diseases, 2000. 6: 496 ~ 504
46. Olsen - CW. DNA vaccination against influenza viruses: a review with emphasis on equine and swine influenza, Vet - Microbiol, 2000. 74 (1 - 2): 149 ~ 64
47. Triccas JA, Gicquel B. Life on the inside: probing mycobacterium tuberculosis gene expression during infection, Immunol - Cell - Biol, 2000. 78 (4): 311 ~ 317
48. Sauer FG, Mulvey MA, Schilling JD et al. Bacterial pilli: molecular mechanisms of pathogenesis, Curr Opin Microbiol, 2000. 3 (1): 65 ~ 72
49. M. M. Hannan, B. S. Azadian, B. G. Gazzard, et al. Hospital infection control in an era of HIV infection and multi - drug resistant tuberculosis, J Hospital Infection, 2000. 44 (1): 5 ~ 11
50. A. M. Silva, E. A. Bambirra, A. L. oliveira. Protective effect of bifidus milk on the experimental infection mice, Journal of Applied Microbiology, 1999. (86): 331 ~ 336