

消毒细菌 (Bacterium) 学基础

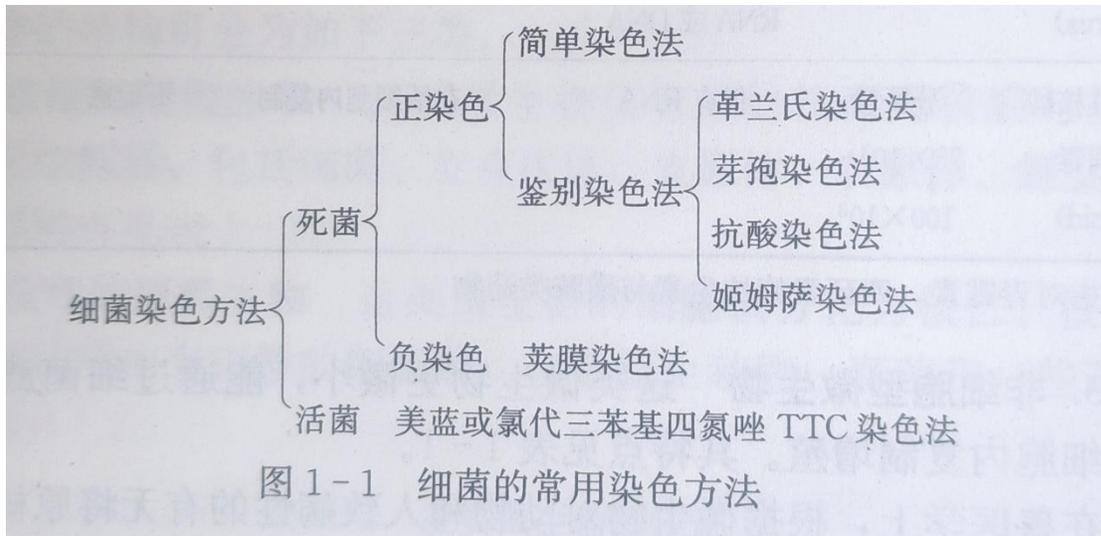
(桥成消毒内部学习用)

细菌是一类单细胞，短而细，大小约 0.5~5 微米*0.5 微米，结构简单，细胞壁坚韧，属二等分裂方式繁殖和水生性较强的原核微生物。

一、细菌的形态、染色、结构与功能。

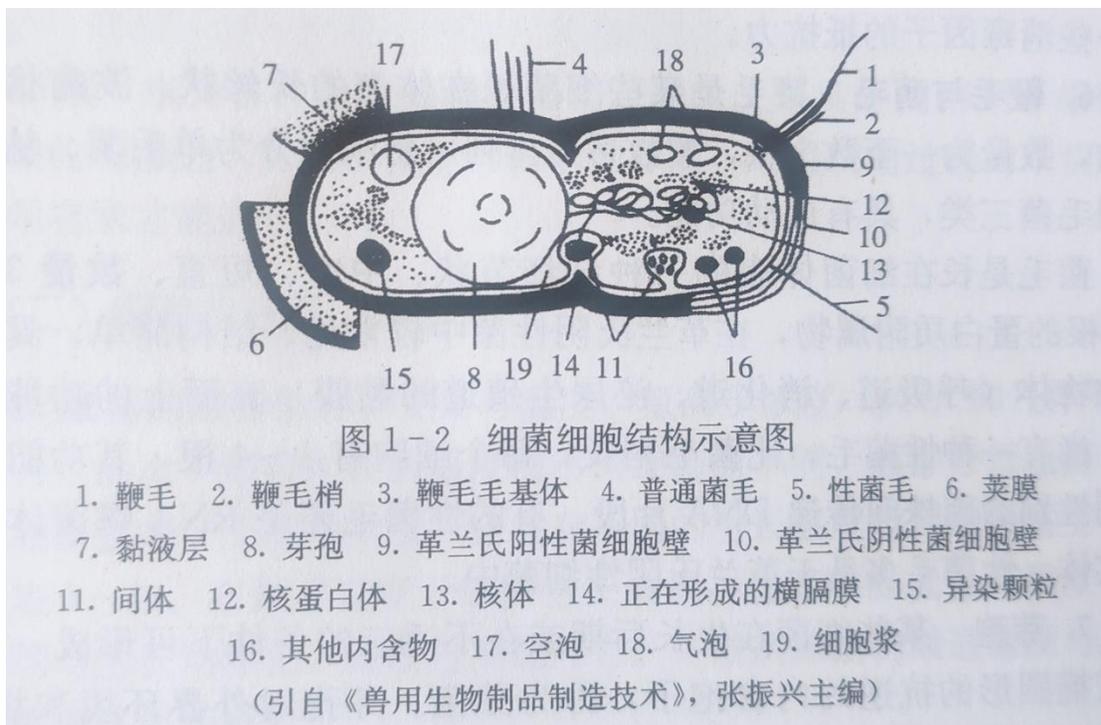
(一)形态与染色

细菌的基本形态有球状、杆状和螺旋状三类。球状细菌称为球菌，依其相互联结的形式又可分为单球菌、双球菌、四联球菌、八垒球菌、链球菌和葡萄球菌等。杆状的细菌称为杆菌有短杆(球杆)状、棒杆状、梭状、梭杆状、月牙链状、栅状、八字状以及有鞘衣的丝状等。螺旋状的细菌称为螺旋菌,若螺旋不满一环的称弧菌(弯曲菌),满 2~6 环的小型、坚硬的螺旋状细菌称为螺旋菌,旋转周数在 6 环以上的螺旋状细菌则称为螺旋体。在自然界存在的细菌中,杆菌最常见,球菌次之,螺旋菌最少。近年来,还发现一些形态如三角形、方形和圆盘形的细菌。度量细菌大小的单位是微米(um),度量其亚细胞构造则用纳米(nm)。细菌细胞经染色剂染色后,在光学显微镜下可观察到细菌形态、结构和大小。细菌的染色方法很多,不同的细菌着色能力也不完全相同。常用的染色方法如图 1-1。其中,革兰氏染色法具有十分重要的价值,可将几乎所有的细菌分成革兰氏阳性菌与革兰氏阴性菌两大类,是分类鉴定细菌种类的重要指标。



(二)构造与功能

细菌细胞的基本结构有细胞壁、细胞膜、细胞质、核质体等。有些细菌还有鞭毛、菌毛、性菌毛、荚膜和芽孢等(图 1-2)



1.细胞壁是位于细胞最外一层厚实、坚韧的外壳,主要由肽聚糖构成,具

有固定外形和保护细胞等功能。细胞壁的化学组成与细菌的抗原性、致病性及对噬菌体的敏感性有关。在消毒上,细胞壁是许多消毒剂的作用点之一,通过破坏细胞壁而起到杀灭细菌作用。

2.细胞膜与间体细胞膜又称细胞质膜,是紧贴在细胞壁内侧的一层由磷脂与蛋白质组成的柔软、富有弹性的半透明薄膜,在细菌的呼吸、代谢和胞壁的合成上具有重要作用。间体由细胞膜内方褶形成的一种管状、层状或囊状结构,一般位于细胞分裂部位或邻近,主要功能是促进细胞间隔形成并与遗传物质的复制及其相互分离有关。在消毒时,消毒剂能损伤细菌的细胞膜,导致细胞内的盐离子、核苷酸、氨基酸、蛋白质等物质外泄,从而杀灭细菌。

3.细胞质是指被细胞膜包围的除核质体外的一切透明、胶状、颗粒状物质,称为细胞质。其主要成分为核糖体、贮藏物、各种酶类、中间代谢物、无机盐、染色体和质粒等,少数细菌还存在羧化体伴胞晶体或气胞等。

4.核质体是原核生物特有的无核膜结构的原始细胞核,又称核区、拟核或核基因组。外形多变,用 Feulgen 染色法染色后呈紫色、形状不定的核质体。细菌的核质体是一个大型环状的双链 DNA 分子,长 0.25~3 微米。核质体与细菌的生长、繁殖、代谢、遗传和变异密切相关。

5.荚膜在某些细菌细胞壁外存在一层厚薄不定的胶状物质,称为荚膜。用荚膜染色或碳素墨水负染后,在光学显微镜下可观察到细菌荚膜。细菌荚膜与其侵袭力、致病力有关。在消毒上,荚膜可增强细菌对一些消毒因子

的抵抗力。

6.鞭毛与菌毛,鞭毛是某些细菌长在体表的长丝状、波曲状的附属物,数量为一至数十根,按数目与排列可将细菌分为单毛菌、丛毛菌和周毛菌三类,具有运动功能。菌毛是长在细菌体表的一种纤细节状、中空、短直、数量 300~500 根的蛋白质附属物,在革兰氏阴性菌中较常见,结构简单,具有吸附在物体(呼吸道、消化道、泌尿生殖道的黏膜)表面上的功能。此外,尚有一种性菌毛,比菌毛稍长,每个细胞有 1~4 根,其功能是在不同性别的菌株间传递 DNA 片段,有的性菌毛还是 RNA 噬菌体的吸附实体。性菌毛多见于革兰氏阴性细菌中。

7.芽孢某些细菌在生长后期或在不适应的条件下可形成一个圆形或椭圆形的抗逆的内含孢子,称为芽孢。芽孢对外界环境和物理、化学消毒因子有很强的抵抗力,用一般的理化学方法不易杀灭。在消毒学上判定高压蒸气灭菌的效力,均以杀灭芽孢作为保证灭菌的依据。

二、细菌的营养、培养与鉴定

(一)细菌的营养

细菌的营养是指细菌从外部环境中摄取其生命活动所必需的物质与能量,以满足其生长和繁殖所必需的生理功能。营养为细菌生命活动提供了必需的物质基础,具有营养功能的物质称为营养物。碳、氮、能源、生长因子、无机盐和水是细菌的主要营养要素。

1.碳源指能提供细菌营养所需碳元素的有机物和无机物,前者如糖类、醇

类与有机酸类,其中糖类最常用;后者如二氧化碳、碳酸盐等。

2.氮源指能提供细菌营养需要所需氮元素的物质。

3.能源指能为细菌的生命活动提供最初能量来源的营养物或辐射能。各种异养菌的能源就是碳源。

4.生长因子指一类对细菌正常代谢必不可少且不能用简单的碳源或氮源自行合成的有机物,其需要量一般甚少。诸如维生素、碱基、卟啉及其衍生物、甾醇、胺类、直链脂肪酸等。

5.无机盐指除碳源、氮源以外的各种元素。诸如常量元素中的磷、硫、钾、钠、镁、钙、铁等及微量元素中的铜、锌、锰、钼、钴等。

6.水 水为各种生物细胞所必需,同时又是良好的溶剂,细菌营养的吸收和渗透、分泌、排泄均以水为介质细菌代谢过程的一切反应都必须有水才能进行。

(二)细菌的培养

1.细菌的培养条件主要有温度、氢离子浓度(pH)和气体等

(1)温度 细菌生长的温度随不同细菌而不同,通常分低温菌、中温菌和高温菌 3 个基本类型,且各有不同的生长温度范围和最适生长温度(表 1-2)。在最适温度下细菌生长最快,超过最低或最高温度,细菌活动与生长均停止,温度过高能死亡。一般病原菌的最适温度与其感染动物的体温相近似。

表 1-2 细菌生长温度范围

类 型	生长温度范围 (°C)			存在处所
	最低	最适	最高	
低温型	-5~10	10~20	25~30	水和冷库内的细菌
中温型	10~12	18~28	40~45	腐生菌
	10~20	37	40~45	病原菌
高温型	25~45	50~60	70~85	温泉和堆肥中的细菌

(2)氢离子浓度(pH)pH 对细菌的生长影响很大,主要表现在:①由于细胞膜的电荷受 pH 的影响而干扰营养物质的吸收;②影响代谢过程中酶的活性。因此,在培养基中需要加入一定的缓冲剂,以缓和 pH 的变化,从而有利于细菌的生长繁殖。

(3)气体影响细菌生长、繁殖的气体主要是氧气与二氧化碳。可根据细菌对氧的要求分为需氧菌、厌氧菌和兼性厌氧菌 3 类。需氧菌需在一定氧分压下才能生长,厌氧菌必须在无游离氧或极低氧浓度条件下才能生长,兼性厌氧菌在有氧和无氧条件下都能生长繁殖。有些细菌的生长还要求一定浓度的二氧化碳存在,诸如布鲁氏菌等在 5%~10%二氧化碳条件下才能生长繁殖。

2.细菌的培养方法

(1)培养基 培养基是按细菌生长的营养需要人工制造的营养物制品,主要用于细菌的繁殖与分离培养、鉴定、传代、菌种保存、细菌生理生化特性研究和生物制品制造等。培养基种类很多,按其物理性状可分为固

体、半固体和液体培养基 3 类;按其作用又可分为基础培养基、营养培养基、鉴别培养基、选择培养基等;按细菌对氧的需求可分为需氧培养基和厌氧培养基。

(2)常用培养基

①基础培养基(普通肉汤):含有一般细菌生长所需的最基本营养成分,通常由牛肉浸汁加蛋白胨、氯化钠等制成,有液体、固体和半固体 3 种。普通肉汤中加入 2%~3%琼脂制成固体培养基,加入 0.2%~0.5%琼脂即为半固体培养基。

②营养培养基:在基础培养基中加入葡萄糖、血液、血清、腹水、酵母浸膏与生长因子制成,供营养要求高的细菌生长繁殖,也有液体、固体、半固体之分。

③鉴别培养基:依据不同细菌分解的作用物或代谢类型的不同,用含有一定作用物和指示剂的培养基培养细菌,细菌生长后由指示剂显现不同的颜色反应作鉴别细菌之用,例如糖类培养基、伊红美蓝培养基等。

④选择培养基:是利用细菌对某些化学物的敏感性不同,在培养基中加入某些化学物,以抑制某些非目的细菌生长,从而有利于目的细菌的分离。如在培养基中加入胆酸盐可有目的地抑制大肠杆菌生长,而有利于沙门氏菌的生长。

⑤厌氧培养基:于培养基中加入乙醇乙酸钠、半胱氨酸等含还原基的物质,降低培养基中的氧化还原电势以有利于厌氧菌的生长繁殖。

(3)培养方法培养方法很多,在实验室多采用试管、平皿、克氏瓶等进行液体或固体培养,在生物药厂生产中则多采用大瓶静止培养或发酵罐深层液体培养。对厌氧菌,在实验室多用加液体石蜡法,而在生产中常用厌氧罐进行培养。

(三)细菌的鉴定

细菌鉴定主要依据有:①形态特征—细菌形状、大小、排列、结构、染色特性(主要是革兰氏染色特性)等;②培养特性菌落大小、形状等;③生理生化特性—化学组成、营养类型、营养需要、繁殖类型、生长条件、代谢产物等;④抗原构造;⑤对噬菌体的敏感性;⑥对抗生素与其他化学物的敏感性;⑦病原性;⑧遗传特性。