

CLINICAL MICROBIOLOGICAL EXAMINATION

临床微生物学检验

主编 王辉 任健康 王明贵



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

临床微生物学检验

主 编 王 辉 任健康 王明贵

副主编 马筱玲 曹 彬 陈佰义

主 审 陈民钧 张 正

编 者 (按姓氏汉语拼音排序)

曹 彬	首都医科大学附属北京朝阳医院	宁永忠	北京大学第三医院
陈佰义	中国医科大学附属第一医院	任健康	陕西省人民医院
陈宏斌	北京大学人民医院	苏建荣	首都医科大学附属北京友谊医院
褚云卓	中国医科大学附属第一医院	孙宏莉	中国医学科学院北京协和医院
冯献菊	郑州大学第一附属医院	孙自镛	华中科技大学同济医学院附属同济医院
胡继红	卫生部临床检验中心	王 辉	北京大学人民医院
胡云建	北京医院	王明贵	复旦大学附属华山医院
胡志东	天津医科大学总医院	吴伟元	暨南大学第二临床医学院深圳市人民医院
李若瑜	北京大学第一医院	徐英春	中国医学科学院北京协和医院
廖 康	中山大学附属第一医院	杨 青	浙江大学医学院附属第一医院
刘文恩	中南大学湘雅医院	余方友	温州医科大学附属第一医院
刘颖梅	首都医科大学附属北京朝阳医院	俞云松	浙江大学医学院附属邵逸夫医院
鲁辛辛	首都医科大学附属北京同仁医院	张莉萍	重庆医科大学附属第一医院
马筱玲	安徽省立医院	赵晓涛	北京大学人民医院

编写秘书 宁永忠 归巧娣 常文娇 陈宏斌

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

临床微生物学检验/王辉,任健康,王明贵主编.—北京:人民卫生出版社,2015

ISBN 978-7-117-20521-4

I. ①临… II. ①王… ②任… ③王… III. ①病原微生物-医学检验 IV. ①R446.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 064395 号

人卫社官网 www.pmph.com 出版物查询, 在线购书
人卫医学网 www.ipmph.com 医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

ISBN 978-7-117-20521-4



临床微生物学检验

主 编: 王 辉 任健康 王明贵

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 889×1194 1/16 印张: 40 插页: 4

字 数: 1239 千字

版 次: 2015 年 6 月第 1 版 2015 年 8 月第 1 版第 2 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-20521-4/R·20522

定 价: 148.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

序 一

我国医学教育中医学微生物学课本的特点为基础微生物学及基础免疫学强,而临床微生物学知识不足。20世纪50年代,医学微生物学系、免疫学系进入基础医学部。部分医院组建了检验科,成立细菌室,但是专业技术人员从数量、技术、学历到检测项目都不足,跟不上临床发展的需要,也落后于国外临床微生物学的快速进展。直至20世纪70年代末,改革开放后,国内临床微生物学明显发展。主要表现在:医疗系及检验系大专生、本科生、研究生先后成为主体;检测项目扩展到细菌、真菌、病毒等多个领域;工作面从医院常规检验到参与感染控制、参加临床会诊和病例讨论,主办各类微生物学、分子生物学、自动化仪器、微生物耐药性研究和监测培训班、学术研讨会;派送中青年专业人员到发达国家和地区留学进修,开拓了临床微生物学新的领域,新生了一批批年轻的感染病学、临床微生物学专家和教授。

王辉等教授在此时主编了《临床微生物学检验》一书,总结了我国现阶段临床微生物学突飞猛进的成果,明确了临床微生物学的工作定义、范围和概念,展现了这一领域中现代医院感染、感染控制、分子检测技术、微生物鉴定、耐药性监测、耐药机制方面的研究;各类大大小小的先进的自动化仪器的引进、实施、成果转化等。这些中青年专家,他们知识新异广博、经验丰富、勇于探讨、敢于革新。许多全国知名的临床专家受邀参与了第一篇感染性疾病的实验室诊断及第三篇病原体的编写。这些专家不仅掌握了很深的感染性病学理论基础和临床微生物学领域的知识和规范,而且具有丰富的临床实践经验和创新性的医学研究成果。这些专家的加入构成了本书坚实的临床基础,这是国内同类型书籍的一大进步。本书第二篇有关标本采集、运送和处理的章节,先进、生动、全面而实用,涉及了现代临床医疗发展中出现的各种各样复杂性感染的标本取材和临床微生物检测的流程问题,这些流程较为全面地覆盖了细菌、真菌、病毒、寄生虫等各个检测领域,弥补了大多数国内书籍在这方面的欠缺。本书第三、四、五篇的内容丰富多彩,不仅介绍了国外的最新进展,还融入了作者本人的经验和研究成果。本书的先进性还体现在介绍了近年来新发病原体、新技术,如分子技术和质谱技术等。全书处处可见国际、国内最新的指南和标准化操作规程,同时强调结合临床患者的具体情况进行微生物结果的报告和解释。

希望本书能促进临床医生多了解临床微生物学、感染病学和感染控制学知识,提高感染性疾病的诊治水平,降低感染的发生率和病死率。也特别希望从事临床微生物学检验的专业人员通过阅读此书,逐步构建并丰富自身临床微生物学的知识结构,勤练内功、勇于实践、敢于创新,不断提高自身的专业素质和水平;与此同时,我更深切希望实验室人员能够更多地深入临床,参加查房、会诊、阅读病例,关心患者疾病的发展和转归,关心检验报告对临床诊治的影响,将微生物学检验与临床紧密结合,以便更及时、准确地服务于临床,并不断满足临床的需求。

衷心祝愿我国的临床微生物学事业蓬勃发展!

中国医学科学院北京协和医院

陈民钧

2014年10月

序 二

王辉教授等编著的《临床微生物学检验》一书的出版是我国临床微生物学和感染病学界一件值得庆贺的幸事。该书一改传统医学专科书籍的编写模式,将临床微生物学检验和感染病学有机地结合起来,实现了“无缝对接”,科学地解决了基础和临床脱节的问题,正如本书的书名那样她是一部名副其实的“临床”微生物学“检验”。

该书在内容选取和编排上有着许多新颖之处,主要表现在如下一些方面:开门见山,第一篇就系统介绍了人体各部位感染的临床知识,包括该部位感染的概念或定义、常见的病原体、临床诊断、实验室诊断和抗感染治疗,犹如一部少而精的“临床感染病学”,充分体现了本书的“临床”特征;基础微生物学和临床微生物学并重,既按照微生物种属分类特征介绍各种病原微生物的基础知识(第三篇),又详细叙述各种临床标本的采样和检验程序(第二篇),使基础服务于临床,体现了本书在基础指导下的临床实用性;临床微生物学的传统基础理论与学科前沿进展相结合,使得本书的内容既经典又现代,体现了学科的与时俱进;在介绍检验技术时,既介绍微生物表型特征的检验技术,又介绍生物组学、免疫学和基因技术,实现了传统技术与现代技术的完美结合。

本书的新颖构思应该归功于编者团队的组成,其中不仅有临床微生物学专家,而且还有许多临床抗感染专家,比如王明贵、曹彬和陈佰义教授等,均是目前工作在抗感染第一线的临床专家,这样的编委组成,在以往的临床微生物学专著中是十分少见的,这种大胆尝试和创新保证了本书的鲜明临床特征和临床实用性。

十分荣幸,我能作为本书最早的一批读者而“一饱眼福”。我由衷地祝贺本书的成功出版,祝愿她成为临床微生物学者和抗感染医生的“良师益友”和工作“伴侣”;也祝愿我国的临床微生物学和感染病学在实现中国梦的征途中取得长足的进步。

南京医科大学第一附属医院

童明庆

2014年12月

序 三

临床微生物学检验是医学微生物学、检验医学和临床感染病学密切结合的交叉学科,近年来发展极为迅速,但也面临着诸多的问题和挑战。

新病原体不断出现 据统计至少有 30 余种新病原体被发现,如轮状病毒、HIV、HCV、HHV-6、HHV-7、HHV-8 型、小 DNA 病毒 B19、大肠埃希菌 O157:H7、O139 霍乱弧菌、嗜肺军团菌、幽门螺杆菌、伯氏疏螺旋体、人埃立克体和巴尔通体等。新发现的朊粒(prion)可引起羊瘙痒症、疯牛病和人的克雅病和库鲁(Kuru)病,是一种在微生物中尚未分类定位的新种,也属于人兽共患的病原体。此外,近年出现的 SARS 冠状病毒、高致病性禽流感病毒、新型甲型流感病毒和埃博拉出血热病毒的流行使全球公共卫生体系经受了严重的考验。

医院感染不断增加 由于人类寿命的延长和社会老龄化趋势,出现了一些免疫功能低下和易感的高危人群。人口的剧增造成环境的污染和恶化,肿瘤和代谢性疾病的增加,住院患者接受手术、各种导管、器官移植、抗肿瘤药物、广谱抗菌药物和免疫抑制剂等,均破坏了机体的免疫功能和正常菌群,导致医院感染的问题突出。

耐药问题日趋严重 由于细菌变异、抗菌药物的不合理使用以及感染控制方面的问题,导致对抗菌药物耐药的菌株增加和播散。在社区感染方面,对抗菌药物耐药的肺炎链球菌已成为世界性的问题。而在医院感染中,耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)已成为细菌多重耐药的典型。此外,20 世纪 90 年代以来,耐万古霉素的肠球菌(VRE)、产超广谱 β -内酰胺酶(ESBL)的革兰阴性杆菌感染已成为临床常见的耐药问题,甚至出现了耐碳青霉烯类的肠杆菌科细菌(CRE)、耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌,其中有些菌株对常用抗菌药物几乎全部耐药。如果任其发展下去,细菌耐药的问题必将成为一个重大的公共卫生问题。

针对上述问题和挑战,必须加强临床微生物学检验的理论水平、学科建设和人才培养。王辉等教授主编的这本专著对临床微生物学检验作了系统、全面的阐述。全书共分五篇,第一篇为临床篇,系统介绍了人体各系统的感染性疾病的临床与实验室诊断,常见的病原微生物与抗微生物治疗原则;第二篇是检验流程和技术篇,着重介绍各种临床微生物检验的技术和各系统标本检测流程;第三篇是医学微生物篇,详细介绍了细菌、真菌、病毒、寄生虫和其他病原体的分类、致病性和实验室检查方法;第四篇是药敏试验篇,分别阐述了细菌、真菌、病毒等的耐药性及检测耐药性的方法;第五篇是感染控制篇,着重强调临床微生物学与感染控制的关系。本书充分体现了以下特点,即临床与检验结合,诊断与治疗结合,病原学与感染病学结合,把临床微生物学检验的理论、知识与技能融会贯通于感染性疾病的诊断和治疗之中。通篇理论联系实际,紧密结合临床,为检验医学系的学生、临床微生物学检验工作者和进修、实习人员、医院感染控制管理人员和临床感染性疾病专科医生的培养提供了一部很好的参考书,必将为进一步改善和提高我国感染性疾病的诊治水平,为临床微生物学检验的学科发展和人才建设作出重要的贡献。

上海交通大学医学院附属瑞金医院

倪语星

2014 年 12 月

前 言

临床微生物学是对感染性疾病的病原(包括细菌、病毒、真菌、寄生虫)进行检测、鉴定和抗微生物药敏试验的一门学科。随着医疗的不断进步,如各种器官移植技术、介入操作的迅速发展,抗菌药物广泛使用而造成的各类多重耐药菌、泛耐药菌的暴发和播散,临床微生物学在现代医学中的地位不断提高。特别是新发和再发感染性疾病的出现、生物恐怖威胁的增加,临床微生物学实验室作为发现病原的前哨,其作用越发凸显出来。

临床微生物学实验室主要作用在于:①对感染性疾病做出快速、准确的病原学诊断确诊依据,提供治疗、预防建议和咨询服务,参与疑难性感染性疾病的会诊;②监测和预警院内感染的暴发,确定暴发的来源并及时控制其播散;③参与医疗机构抗菌药物的管理工作;④提供药敏监测数据,为临床经验用药提供指导;⑤开展微生物学研究和教学工作。

近 10 年,我国临床微生物学快速发展。特别是 2012 年我国卫生和计划生育委员会(原卫生部)出台的抗菌药物专项整治项目中,对我国临床微生物学实验室的建设、临床微生物学标本的送检率等均提出具体要求,这极大促进了学科的发展。具体体现在:①从事微生物学检验的专职人员增加、素质水平提高;②实验室设备先进,大多数二级医院具备全自动血培养系统、自动鉴定和药敏系统,一些三级医院拥有了质谱仪;③疑难菌或不常见菌的诊断水平明显提高;④在国际会议上专题报告、口头发言的人数增多,很多研究论文得到国际同行的认可;⑤国际合作交流日益增多。

但我们仍然要清醒地认识到,我国临床微生物学的水平和欧美等发达国家还有相当大的差距;不同实验室水平参差不齐;医疗机构对临床微生物学专业的投入和重视程度还有待提高。总体水平和国际上的差距,深刻地体现在我们的标本量和标本结构组成上。以血培养为例,国内 1500 张床的三甲医院,血培养的数量为每天 40~50 瓶,而同级别的美国医院,可达到 350 瓶;我国大多数实验室收到的首位标本是痰标本,而痰标本在国外大概仅能排到第 8 位,仅为血培养的十分之一。标本送检率低的原因主要来自两方面:①临床医生的送检意识较为淡薄,很多感染性疾病的诊疗停留在经验用药的层面上,而非基于病原诊断的基础上;②实验室水平、能力不够,检验结果和临床一致性不高,未能取得临床的信任。要想追赶国际水平,必须从这两方面找原因。俗语道,“打铁还需自身硬”,微生物学专业首先具备这样的情怀,即“满腔的热情、探索微观世界的兴趣、超强的耐心、负责的态度”,在此基础上,苦练基本功,包括镜检、鉴定、药敏、结果报告和解释、新技术手段,熟悉各类感染、各种标本常见的病原谱、各类抗菌药物的药理学特点等。自身素质提高了,方能走向临床,方能和临床有效对话,方能改变临床送检习惯和行为方式。在这个过程中,要抱着“请进来,走出去”的心态,要秉承“愚公移山”精神,要坚持“行动必有改变”的信念,走临床,寻共识。临床最终会从规范的送检行为中获益,他们会慢慢体会到,病原诊断所带来的“柳暗花明”和“峰回路转”的妙处,而我们自身也会感受到临床微生物学专业的价值和乐趣!

我们有必要将这些进展、变化现于笔端,呈现给对临床微生物学孜孜以求的同道们。本书正是出于这样的初衷开始编写的,它是国内临床微生物学专业的阶段性总结,承前启后,标志着国内临床微生物学已上新台阶。

本书编审团队由近 30 位来自临床微生物学、感染性疾病学、感染控制领域的专业人士组成。主编和副主编是有丰富临床经验的微生物学和感染性疾病学专家,而主审则是国内临床微生物学领域资深的顶级专家,可谓荟萃精华;临床微生物学一线进行检验、医疗、科研、教学的各方面人士均有参与,可谓众妙兼备。一年来,各位编审人员发奋努力、多方合作、夜以继日、不厌其烦,既有专业撰写的严谨,也有专业建设的热情。

而主编、副主编、主审更是呕心沥血、高屋建瓴、砥砺前行。这样的编审集体精诚团结、敬业奉献,如期奉献给各位读者、专业人士一本非常值得一读的参考书。

本书内容有如下特点:

1. 完整构建了临床微生物学专业的学科基础,囊括临床细菌学、真菌学、病毒学、寄生虫学等几大类微生物学科范畴,对临床微生物学的专业技术、观念、规律进行全面、细致的总结,并兼顾感染性疾病的诊断、治疗、预防和控制,对感染性疾病的主要感染类型、主要标本、主要微生物种属、主要耐药特征、感染控制要点等均进行整体的、充分的阐述。我们希望,一书在手,读者便可一览临床微生物学的根深叶茂!

2. 全面体现临床微生物学和感染性疾病的学科进展。编审团队组成伊始,主编和主审多次强调学科进展、引文呈现、新内容阐述(新观点、新进展、新角度、新方法、新规律)等要求。在写作过程中,编撰专家阅读大量文献,包括各类感染或实验室诊断的国际指南,并将之有机结合在书籍写作之中。很多作者五易其稿,字斟句酌,旁征博引,深入浅出,很好地落实了实用性、先进性的撰写目标。

3. 精确遵循病原学诊断的工作规范和流程,即由感染性疾病的临床表现开始,引出病原学诊断的标本、由标本处理进抵微生物种属、并进而阐述耐药性和感染控制等相关内容。第一篇(临床部分)以临床诊断和病原学特征并重;第二篇(标本部分)依次强调了适应证、基于临床表现的标本处理流程、结果解释和临床沟通;第三篇(微生物种属部分)各章或节的前言,勾勒了种属鉴定的双歧思路和关键试验,之后按种属分别进行了全面阐述(分类、致病性、实验室检查、结果解释和应用),希望年轻的从业者起始就建立起“微生物鉴定的临床思维”,而非“自动化仪器的奴隶”;第四篇(药敏试验和耐药部分)既囊括了细菌学、真菌学领域的最新知识,又概述了病毒学的耐药特征和临床影响;第五篇(感染控制部分)则强调了微生物学在感染预防、控制中的作用。新结构体现了新思路,新思路会激发读者的新思考。

4. 本书回答了一线工作者面临的诸多实际问题。比如,血流感染的诊断标准、慢性阻塞性肺疾病急性加重时微生物的作用、各类标本的标准化处理流程和结果解读(特别是正常菌群和致病菌的鉴别)、血培养标准化处理和解释的精细要求、泌尿系统感染的标本处理要点、假体和植入物感染的微生物学检验流程、葡萄球菌和念珠菌分离株的结果解释、耐药性折点建立及修订原则、不常见菌的药敏试验和折点标准等。对一线从业人员而言,这些问题的阐述如同雪中送炭,立竿见影;可以有效地解决实际困难,提升专业水平;有助于及时扭转工作困境,增强专业自信;有助于为患者提供更为优质的专业服务。

本书主要面向临床微生物学、感染性疾病的临床药学、感染控制学和可能涉及感染亟待病原学诊断的临床分支学科等专业人士,其他如基础微生物学、医学工程和技术等从业人员也会有所助益。本书不仅仅有利于检验医学工作本身,也会有利于临床会诊、科学研究、教学相长、专业管理。可以说本书和一切与感染及微生物学有关的从业人员都息息相关。

当然,本书也存在不足,主要体现在:

1. 本书强调实用性,但是部分领域由于国内自身积累的经验不足,导致相关内容有待充实和完善。随着国内临床微生物学的发展、文献的逐步丰富,下次再版时,本书的基础会更广泛、深入和扎实。

2. 就专业领域而言,深浅、宽窄不同。四大类病原(病毒、细菌、真菌、寄生虫)中一些种属相对涉及较少,如寄生虫。相关科研、教学、管理等阐述不够。

由于时间关系,本书其他错误、不足在所难免,敬请诸位读者谅解和指正,我们将以匡不逮。

最后,感谢各位编委、主审、编写秘书的辛勤工作,感谢人民卫生出版社的大力支持!更要感谢此书出版后,未来的您——每一位读者!相信每位读者的宝贵意见会让我们这本书不断进步。

我深信,临床微生物学的未来充满希望!

北京大学人民医院

王 辉

2014年8月

目 录

第一篇 感染性疾病的实验室诊断	
第一章 概述	3
第二章 血流感染和脓毒症	8
第一节 血流感染	8
第二节 血管内导管相关感染	12
第三节 脓毒症	16
第三章 感染性心内膜炎	21
第四章 中枢神经系统感染	26
第一节 脑膜炎	26
第二节 脑炎	30
第三节 脑脓肿	33
第四节 脑室分流术后感染	36
第五章 眼部感染	40
第一节 结膜炎	40
第二节 角膜炎	42
第三节 眼内炎	46
第四节 眼和眶周蜂窝织炎	47
第六章 呼吸系统感染	49
第一节 急性上呼吸道感染	49
第二节 社区获得性肺炎	51
第三节 急性气管-支气管炎	54
第四节 慢性阻塞性肺疾病急性加重	55
第五节 支气管扩张	60
第六节 肺脓肿	63
第七节 胸膜炎	65
第七章 消化系统感染	69
第一节 急性胃肠炎	69
第二节 病毒性腹泻	71
第三节 艰难梭菌感染	73
第四节 霍乱	76
第五节 幽门螺杆菌相关性胃炎	77
第八章 腹腔感染	80
第一节 腹膜炎	80
第二节 胆道感染	84
第三节 肝脓肿	87
第四节 急性胰腺炎	89
第九章 骨和关节感染	93
第一节 骨髓炎	93
第二节 化脓性关节炎	96
第十章 泌尿生殖系统感染	101
第一节 尿路感染	101
第二节 妇科感染	104
第三节 性传播疾病	107
第十一章 皮肤软组织感染	113
第一节 烧伤	113
第二节 手术部位感染	117
第三节 皮肤真菌感染	120
第四节 糖尿病足感染	126
第二篇 临床微生物学检验技术和标本检测流程	
第十二章 标本的采集、运送和处理	133
第一节 基本原则	133
第二节 普通细菌和真菌检测标本的采集和运送	135
第三节 不常见病原菌的标本采集和运送要求	136
第四节 病毒检测标本采集和运送	142
第五节 寄生虫检测标本采集和运送	146
第六节 其他检测的标本采集和运送要求	150
第七节 标本的处理	151
第十三章 微生物学检验技术	156
第一节 一般原则	156
第二节 显微镜直接镜检技术	156
第三节 微生物的分离培养和鉴定技术	166

第四节	微生物免疫学检测和生物标记物	185	第一节	标本的采集和运送	327
第五节	分子生物学技术	194	第二节	标本的处理流程	329
第六节	质谱鉴定技术	205	第三节	结果报告和解释	334
第十四章	血培养标本的检测流程	209	第四节	质量控制和局限性	336
第一节	标本采集和运送	210	第二十三章	生殖道标本的检测流程	338
第二节	培养方法	213	第一节	尿道分泌物	338
第三节	标本处理流程	214	第二节	前列腺液	340
第四节	质量控制	217	第三节	阴道、宫颈、宫腔分泌物	342
第五节	特殊菌的处理流程	220	第四节	特殊病原检测	348
第六节	结果报告和解释	224	第五节	生殖器溃疡	350
第七节	局限性	225	第二十四章	皮肤和软组织标本的检测流程	352
第十五章	血管内导管相关感染的检测 流程	228	第一节	烧伤标本	352
第一节	血管内导管的类型	229	第二节	伤口组织和脓液标本	356
第二节	标本的采集	231	第三节	糖尿病足标本	360
第三节	标本的处理流程	232	第四节	浅部真菌标本	362
第四节	结果报告和解释	236	第二十五章	其他组织、体液和植入物标本的 检测流程	368
第十六章	中枢神经系统标本的检测流程	242	第一节	瓣膜组织、囊袋组织、起搏器等	368
第一节	脑脊液	242	第二节	引流液和透析液	373
第二节	脑组织和脓液	247	第三节	穿刺液(心包积液、后穹窿穿 刺液)	375
第十七章	眼部标本检测流程	249	第三篇 病 原 体		
第一节	标本采集和运送	249	第二十六章	细菌	381
第二节	标本处理	251	第一节	革兰阳性球菌	381
第三节	其他诊断技术	253	第二节	革兰阴性菌	392
第四节	结果报告和解释	254	第三节	肠杆菌科细菌	394
第十八章	呼吸道标本的检测流程	256	第四节	弧菌科及气单胞菌科	410
第一节	上呼吸道标本的检测流程	256	第五节	非发酵革兰阴性杆菌	414
第二节	下呼吸道标本的检测流程	270	第六节	苛养生长革兰阴性杆菌	424
第十九章	粪便和其他胃肠道标本的检测 流程	289	第七节	革兰阳性杆菌	431
第一节	标本采集和运送	290	第八节	革兰阴性球菌	442
第二节	标本处理流程	290	第九节	分枝杆菌	447
第三节	特殊菌检测的标本处理流程	294	第十节	厌氧菌	453
第四节	结果报告和解释	301	第十一节	弯曲菌属和螺杆菌属	459
第二十章	腹腔标本的检测流程	303	第十二节	特殊细菌	464
第一节	腹水	303	第二十七章	真菌	472
第二节	肝/脾/胰脓液	309	第一节	真菌鉴定思路	472
第二十一章	骨、骨髓和关节标本的检测 流程	314	第二节	酵母样真菌	474
第一节	骨和骨髓	314	第三节	皮肤癣菌	481
第二节	骨关节和假体关节	319	第四节	接合菌	485
第二十二章	尿标本的检测流程	327	第五节	曲霉菌	488

第六节 暗色真菌	491	第一节 药敏试验折点的建立和修订	549
第七节 双相真菌	494	第二节 常见药敏试验方法	550
第八节 其他真菌	498	第三节 不同药敏方法和系统的评估	551
第二十八章 病毒	501	第四节 杀菌活性检测	553
第一节 绪论	501	第三十二章 细菌药敏试验和耐药机制	556
第二节 人类免疫缺陷性病毒	504	第一节 常见细菌药敏试验	556
第三节 肝炎病毒	506	第二节 苛养菌和不常见细菌	564
第四节 流行性感冒病毒	510	第三节 分枝杆菌、诺卡菌和放线菌	581
第五节 腺病毒	512	第四节 厌氧菌药敏试验	587
第六节 单纯疱疹病毒、巨细胞病毒和 Esptein-Barr 病毒	514	第五节 支原体	590
第七节 人类乳头状瘤病毒	519	第三十三章 真菌药敏试验	596
第八节 轮状病毒	521	第一节 酵母样真菌药敏试验	596
第九节 SARS 冠状病毒	523	第二节 丝状真菌药敏试验	600
第十节 朊病毒	525	第三节 真菌耐药机制	602
第十一节 汉坦病毒	527	第三十四章 病毒耐药性	605
第二十九章 寄生虫	530	第一节 人类免疫缺陷病毒的耐药性	605
第一节 疟原虫	531	第二节 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒的 耐药性	606
第二节 血吸虫	534	第三节 巨细胞病毒的耐药性	608
第三节 丝虫	537	第五篇 临床微生物学与医院感染控制	
第四节 利什曼原虫	538	第三十五章 医院感染概述	613
第五节 锥虫	540	第一节 流行病学	613
第三十章 新发病原体	541	第二节 医院感染控制计划	615
第一节 H5N1 和 H7N9 禽流感病毒	541	第三节 预防和控制措施	616
第二节 中东呼吸综合征冠状病毒	542	第三十六章 医院感染调查和处理	619
第三节 尼帕病毒	543	第一节 医院感染监测	619
第四节 埃博拉病毒	543	第二节 暴发的处理	620
第五节 西尼罗病毒	544	第三十七章 医院感染病原学诊断	623
第四篇 药物敏感性试验和耐药机制		第一节 筛查和监测	623
第三十一章 概述	549	第二节 病原体检测	625

第一篇

感染性疾病的实验室诊断

第一章

概述

一、诊断原则

感染性疾病诊断分为三个层次:①确定是感染性疾病还是非感染性疾病;②确定感染部位;③如有可能,明确感染性疾病的病原学。感染性疾病诊断还需要考虑患者的宿主因素,如年龄、是否有糖尿病等基础病、是否存在免疫缺陷。

对于危及生命的严重感染,特别是需要长时间抗感染治疗的疾病,如心内膜炎、化脓性骨关节炎、脑膜炎,应该积极寻找病原学证据。另外,当感染性疾病患者对经验性抗感染治疗反应不佳时,也需要找到病原菌,或者排除非感染性疾病因素。

病原学诊断是感染性疾病诊断的金标准,只有了解病原学和药敏结果,才能真正做到选择正确的抗菌药物和合理用药,同时避免耐药的发生。最终可以节省医疗花费,减少住院时间,降低病死率。对临床医生而言,优化病原学诊断有三点要求:①临床医生采集合格的标本;②标本及时送达微生物学实验室;③如有可能,使用抗菌药物前留取标本。

1. 微生物学实验室与临床医生密切沟通,准确诊断感染性疾病 感染性疾病的病原学诊断包括从留取标本到获得药敏结果,是一个复杂的过程。无论是临床医生还是微生物学家,如果能熟悉整个过程,无疑对提高病原学检出率、指导合理使用抗菌药物有帮助。临床医生与微生物学家应该“优势互补”,共同进步。没有微生物学检验,临床仅仅是“经验主义”,抗菌药物的使用常常是无根据的;而没有临床,微生物学检验也就成了“无源之水”。

临床医生要熟悉各种细菌/真菌/分枝杆菌的形态、细菌/真菌鉴定和培养的操作常规,以及对各种抗菌药物的药敏规律。微生物学家还要起到架起临床与微生物学实验室之间桥梁的作用,并把细菌鉴定和培养的信息以最快的速度反馈回临床。微生物

学家还需要主动走出实验室,走到临床一线,帮助不太熟悉感染性疾病的医生解决临床难题,指导医生了解标本留取的要求、如何正确判读药敏报告、如何正确控制院内感染等。

对于任何一例感染性疾病,如果临床医生都能积极地追求病原学诊断,为一份痰、一份血、一份脑脊液标本多跑几次微生物学实验室,这样的医生一定能掌握必要的病原学知识,这样的医生也一定能成为合理使用抗菌药物的专家。同样道理,微生物学家如果发现了有重要临床意义的微生物学结果,比如阳性的血培养、脑脊液发现革兰阴性双球菌、脑脊液墨汁染色阳性、痰或支气管肺泡灌洗液发现抗酸杆菌、发现少见的耐药表型,主动和临床医生沟通,详细了解患者的临床表现和影像学特征,并向医生解释微生物学检验结果,这样不但可以提高病原诊断和治疗成功率,而且对于微生物学家也是重要的学习过程,不断促进微生物学家能力的提高。出色的微生物学家都经常到临床参加会诊和讨论,通过为感染性疾病患者提供高质量的会诊,和临床医生共同成长和提高。

2. 重视病史询问,鉴别感染性疾病和非感染性疾病 成功鉴别感染性疾病和非感染性疾病,不可能是一朝一夕之功。临床医生需要格外重视详细的病史询问和体格检查,不断总结经验教训,积累临床经验;用病原学诊断不断纠正自己临床诊断的偏颇。由此可见,重视内科基本功的训练,是提高感染性疾病和非感染性疾病鉴别诊断的最重要方法。

例如:仅仅根据发热症状和胸部影像学表现,不足以诊断医院获得性肺炎^[1],还需要仔细作出鉴别诊断:①老年男性,有长期吸烟史,出现咳嗽、咳痰表现,经抗感染治疗无明显缓解者,需进一步检查有无肺癌;②患者除了肺部症状,还有鼻出血、血尿、胃肠道出血、蛋白尿、皮下结节、坏死性溃疡及浅表皮肤糜烂,要考虑结缔组织病的可能。

3. 合格标本多次送检,重视微生物学检验标准化,提高病原学检出率 一个很简单的道理:如果临床医生不能给微生物学实验室送合格标本,就谈不上病原诊断,微生物学家这时真是“巧妇难为无米之炊”^[2]。社区获得性肺炎在留痰之前哪怕用过一次抗菌药物,像肺炎链球菌和流感嗜血杆菌这样的苛养菌可能就培养不出来;血培养送检标本量和检出率有直接关系,标本量越大检出率越高;外科伤口感染如果拿棉拭子采集脓液送检,细菌培养阳性的机会大大下降,因为拭子只能蘸取 150 μ l 液体,而且厌氧菌在拭子中不能存活;疑似肺结核的患者,医生在患者留痰前花 2~3 分钟辅导标本留取要点,就能提高送检标本质量,提高检出率^[3];有些情况下,还需要积极创造条件、抓住时机进行手术或者活检,因为组织标本对于明确病原诊断更有意义。

像临床医生重视病史采集和体格检查等基本功的训练一样,微生物学家也要格外重视微生物学检验基本功的训练,特别重视标本接种的标准化和显微镜检查。例如:如果痰细菌培养不能仔细做到三区划线,就无法获得单个菌落;如果没有获得纯培养,药敏结果就可能出现假阳性。虽然分子生物学技术不断发展,但是微生物学检验还类似于病理诊断,更多依靠微生物学家肉眼和显微镜下观察,临床经验对于微生物学鉴定有重要意义。

4. 正确理解药敏结果 当微生物学实验室从临床标本中分离出菌株后,下一步将进行体外药敏试验(AST),并按照美国临床实验室标准化委员会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)指南进行结果判定。AST 结果是按照最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)来报告的,根据 CLSI 的判定标准,结果可以释解为“敏感(sensitive, S)”、“耐药(resistance, R)”、“中介(intermediary, I)”或“剂量依赖型敏感(SDD)”,目的是通过体外试验预测某种抗菌药物对某种病原菌临床治疗效果(成功还是失败)。

体外药敏结果的解释需要注意以下几点:

(1) 首先医生要结合临床资料,判断所分离的病原菌是否是真正的致病菌。

(2) 同一株菌不同抗菌药物之间的 MICs 值并不能直接比较。比如,一株大肠埃希菌,环丙沙星 MIC 为 2mg/L,头孢他啶 MIC 为 1mg/L,并不代表头孢他啶抗菌能力是环丙沙星的两倍。

(3) 针对不同感染部位,AST 结果解释不同。虽然对于某些菌,CLSI 给出不同感染类型的药敏折

点(例如肺炎链球菌对青霉素、头孢曲松等具有脑膜炎和非脑膜炎两种不同的药敏结果判定标准),但是目前 CLSI 还无法对所有的菌都制定出不同感染类型的判定标准。

(4) 临床应注意实验室使用的药敏试验的折点的版本和范围。虽然 CLSI 每年都对药敏折点进行修订和更新,但实验室由于设备等条件所限,可能不能及时进行更新。

(5) 目前某些药物的药敏折点的设定是基于检测出耐药菌来,还缺乏大量的临床数据。如肠杆菌科中碳青霉烯类的敏感性折点。

5. 传统方法与分子生物学诊断技术相结合,提高病原诊断率 随着 SARS 冠状病毒、高致病性 H5N1 禽流感病毒、新型甲型 H1N1 流感病毒,以及人感染 H7N9 禽流感病毒等新发呼吸道感染不断出现,分子生物学诊断已经成为临床微生物学实验室的不可缺少的检验技术,而且必将越来越受到重视。北京朝阳医院调查发现流感病毒、副流感病毒、腺病毒以及偏肺病毒引起的肺炎占门诊肺部感染的 9.6%,因此,病毒性肺炎不容忽视^[4]。以前,采用传统方法检测,社区获得性肺炎的病原学诊断阳性率最高的只有 50%^[5]。通过分子生物学诊断,我们对不明原因肺炎的认知程度逐渐增加。近期研究表明,应用分子生物学诊断方法,肺炎病原学检出率可以提高到 67%。与传统微生物方法比较,实时定量 PCR 技术不但可以提高呼吸道病毒的检出率,也可以提高肺炎链球菌的检出率^[6]。分子生物学检测方法将成为实验室诊断主要的发展方向。

目前,分子生物学检测方法的研究热点是:①高通量:可以同时检测多种病原体;②标准化:包括从检测样本的选择、核酸提取方法和反应体系的优化,以及最终的结果判读标准等;③自动化:可实现从核酸提取到检测完成的全程自动化^[7]。

总之,在细菌耐药受到广泛关注的今天,临床医生需要改变盲目依靠新的广谱抗菌药物来应对难治性感染的习惯。根据病原学结果,谨慎选择窄谱抗菌药物,才是科学的应对之道。临床微生物学实验室也需要不断采用新的病原学诊断方法,大力培养临床微生物学专家,不断提高能力,来满足感染性疾病诊治的需要。临床微生物学家不仅仅在实验室内进行病原学检测,还肩负着病原学结果解释的重任。临床微生物学家需要经常走出实验室,参加临床感染性疾病的会诊工作,和临床各科进行联系,共同讨论感染症的诊断和治疗问题,提出相应建议和

措施,并对技术工作进行检查和指导。

二、治疗原则

不合理使用抗菌药物导致耐药菌产生和传播,很多以前可治的细菌感染现在变成“不治之症”。2006年美国感染性疾病学会(Infectious Diseases Society of America, IDSA)提出“Bad bugs, no drugs”,提醒临床医生合理使用抗感染药物。2009年IDSA再次发表社论,提醒临床医生警惕六种耐药菌(ESKAPE)感染,包括:屎肠球菌(*Enterococcus faecium*, E)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, S)、肺炎克雷伯杆菌(*Klebsiella pneumoniae*, K)、鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, A)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, P)、肠杆菌科细菌(*Enterobacteriaceae*, E)^[8]。面对细菌耐药难题,2011年世界卫生日提出口号“antimicrobial resistance: no action today, no cure tomorrow(今天不采取行动,明天就无药可用)”^[9]。另外,不合理使用抗菌药物不仅达不到治疗效果,还增加药物不良反应,并造成医疗花费的增长。

选择合适的抗菌药物,要遵循下列三个原则:首先要判断是不是感染;其次要正确理解经验性治疗和目标治疗;再次要了解抗菌药物的药代/药效学、副作用,以及影响抗菌效果的宿主因素。

1. 鉴别诊断是选择合适抗菌药物的基础。选择抗菌药物要把握一个原则,如果不是感染性疾病,尽量不用抗菌药物。当临床鉴别诊断困难时,抗菌药物的使用时机由疾患的危急程度决定:当怀疑脓毒症休克、发热伴粒细胞缺乏、细菌性脑膜炎时,抗菌药物应该立即给予,不能迟疑。但是,如果患者生命体征稳定,一般情况好,可以先不着急应用抗菌药物,先深入地了解病史,做全面的体格检查和必要的实验室检查,同时还要更加积极地寻找病原学证据。特别是亚急性感染性心内膜炎、脊柱骨关节炎,因为需要数周时间抗菌治疗,就需要在多次留取血培养以后再开始抗菌药物治疗。过早使用抗菌药物将抑制细菌生长,丧失掉病原诊断的机会。

2. 经验性抗菌治疗不是盲目治疗,而是在深入了解病原流行病学基础上的科学的抗菌治疗。

因为病原学结果常常需要等待24~72小时,因此,初始抗菌药物的选择常常是经验性的。但是,经验性选择抗菌药物绝对不是盲目选择,而是应该建立在对感染部位、宿主因素和病原流行病学深入了

解的基础上。

(1)社区获得性皮肤软组织感染常见致病菌为链球菌属和葡萄球菌属;急诊细菌性脑膜炎常由肺炎链球菌或者脑膜炎奈瑟菌感染引起;医院获得性导管相关性血流感染常常由定植在皮肤表面的葡萄球菌引起。因此,选择抗菌药物就需要针对这些感染部位常见的病原菌选药。

(2)经验性选择抗菌药物要参照当地各种感染的病原学类型和常见耐药表型。

(3)经验性应用抗菌药物后要密切随访。如果是感染性疾病,而且抗菌药物选择得当的话,一般48~72小时见效。如果加用抗菌药物后72小时无效,或者病情继续加重,就需要考虑:是否为非感染性疾病?感染灶是否未清除或引流不畅?是否存在特殊感染(结核分枝杆菌、诺卡菌、肺孢子菌等)?

经验性抗菌药物治疗过程中,一旦病原学结果和药敏结果明确,就需要根据药敏结果调整用药:从联合治疗改为单药治疗;从广谱抗菌药物改为窄谱抗菌药物;选择价格便宜药物,降低花费;选择毒副作用小的抗菌药物。

3. 了解抗菌药物药代/药效学和宿主因素,抗菌药物选择“知己知彼”。要想合理选择抗菌药物,必须掌握常用抗菌药物的药代学和药效学。根据药代学/药效学(pharmacokinetics/pharmacodynamics, PD/PK)理论,抗菌药物的疗效可以分成两大类,一类“时间依赖性”,以 β -内酰胺类为代表,疗效与T>MIC(最低抑菌浓度)有关,要发挥这类抗菌药物最佳的疗效,必须一天多次给药;另外一类为“浓度依赖性”,以氨基糖苷类(疗效与峰浓度有关)和氟喹诺酮(疗效与AUC/MIC有关)为代表,这类抗菌药物可以一天一次给药。

选择合适的抗生素,还应该充分了解各种抗菌药物的作用机制、抗菌谱、适应证、禁忌证、常见副作用和常用治疗剂量等知识。

对于严重感染,如心内膜炎和脑膜炎,常常需要选择杀菌剂。根据抗菌药物作用机制,直接作用于细菌的细胞壁(β -内酰胺类)、细胞膜(达托霉素)和DNA(氟喹诺酮)的抗菌药物,能够直接造成细菌死亡,称为杀菌剂。而抑制蛋白质合成的称为抑菌剂(磺胺、四环素、大环内酯)。但是,这种区分不是绝对的,对某些细菌是杀菌剂的抗菌药物,对另外一些细菌可能为抑菌剂。

抗菌药物常见的不良反应包括直接作用和间接作用两种。直接作用:①药物过敏:表现为IgE介导

的过敏性休克,以及皮疹、药物热。研究表明:抗菌药物相关不良反应占急诊就诊的药物不良反应的19%,其中过敏反应占抗菌药物不良反应的79%^[10]。②肝、肾、血液、耳、神经毒性反应:这种不良反应常常出现在过量使用和长时间使用抗菌药物的时候。因此,对于治疗剂量和中毒剂量接近的抗菌药物(如万古霉素、多黏菌素),常常需要监测血药浓度。并根据机体肝肾功能状况,适当调整剂量,减少毒性作用。③药物相互作用:这种情况常常出现在不同抗菌药物竞争同一种代谢途径,如利福平是细胞色素 P450 酶系统的诱导剂,而大环内酯和唑类抗真菌药是 P450 的抑制剂。抗菌药物联合治疗(万古霉素、氨基糖苷类)可以引起严重肾毒性。间接作用:干扰正常菌群,导致二重感染(难辨梭菌肠炎)和耐药菌感染。

临床医师应该认识到:了解了抗菌药物的特性和副作用还不够,还需要充分考虑宿主因素,在抗菌药物治疗方面做到个体化。①肝肾功能状况:常常需要根据肝肾功能受损状况减少抗菌药物剂量,但是当与酶诱导剂如利福平联用时,需要增加药物剂量;②年龄:儿童抗菌药物需要根据公斤体重调整剂量,老年人血清肌酐水平并不能直接反映肾功能状态,需要适当减少剂量;③遗传因素:细胞色素 P450 受遗传基因影响,但是应用于临床还需要大量临床数据的支持;④妊娠和哺乳:相对安全的药物包括青霉素、头孢菌素、大环内酯,而氟喹诺酮、氨基糖苷毒性大,应该避免使用;⑤宿主既往抗菌药物过敏史和最近 90 天抗菌药物使用史。如果有,应该避免使用该种药物。

4. 常见的不合理使用抗菌药物的情况^[11]

(1)没有明确感染性疾病证据,长时间经验性使用抗菌药物。当诊断不明确时,不要盲目升级换代抗菌治疗,要仔细询问病史和查体,仔细鉴别。要记住:很多非感染性疾病,包括自身免疫病、恶性肿瘤,可能具有与感染性疾病类似的症状。

(2)没有感染临床表现,针对阳性细菌培养结果使用抗菌药物。记住:抗感染治疗的目标是感染性疾病,不是细菌。如果没有相应感染临床表现,阳性细菌培养结果往往代表定植,不需要治疗。

(3)当有体外药敏结果时,不及时降阶梯。经验性抗感染治疗有效,应该根据阳性药敏结果及时更换窄谱抗菌药物。这样既减少二重感染机会,也降低了抗菌药物花费。

(4)长时间预防使用抗菌药物。这种情况常常

见于手术后,用于预防感染性疾病的发生。

(5)过度依赖一种或少数几种抗菌药物。过度依赖某几种抗菌药物容易导致细菌耐药发生。

需要注意的是,对于感染性疾病,虽然抗感染治疗是重要的,但是并非所有情况都是最重要的治疗手段。例如以下几种情况:①对于肝脓肿、腹盆腔脓肿等感染,外科清创、引流常常比抗感染药物更加重要。②免疫调节治疗:细菌性脑膜炎^[12]、结核性脑膜炎^[13]以及 HIV 相关肺孢子菌病,糖皮质激素辅助治疗能减少过度炎症反应;器官移植患者术后发生严重感染,常常需要权衡利弊,暂时减少免疫抑制剂的用量;放、化疗发生严重粒细胞缺乏,集落刺激因子(G-CSF、GM-CSF)通过升高白细胞增强机体抗感染能力;在严重感染时,补充免疫球蛋白可能有辅助治疗价值^[14]。

总之,合理使用抗菌药物,鉴别诊断和病原学诊断是“精髓”,治疗“感染菌”,而非“定植菌”,抗菌药物只能用在有细菌感染的患者身上,其他情况下使用抗菌药物则“弊大于利”:抗菌药物不能替代洗手;抗菌药物不能替代无菌操作;抗菌药物不能替代引流和清创;抗菌药物不能作为“鉴别诊断”的工具。

(曹彬)

参考文献

1. Meduri GU, Mauldin GL, Wunderink RG, et al. Causes of fever and pulmonary densities in patients with clinical manifestations of ventilator-associated pneumonia. *Chest*, 1994, 106 (1): 221-235
2. Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases; 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Clin Infect Dis*, 2013, 57 (4): e22-e121
3. Khan MS, Dar O, Sismanidis C, et al. Improvement of tuberculosis case detection and reduction of discrepancies between men and women by simple sputum-submission instructions: a pragmatic randomised controlled trial. *Lancet*, 2007, 369 (9577): 1955-1960
4. Cao B, Ren L, Zhao F, et al. Viral and M. pneumoniae community acquired pneumonia and novel clinical outcome evaluation in ambulatory adult patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2010, 29: 1443-1448
5. Jokinen C, Heiskanen L, Juvonen H, et al. Microbial etiology of community-acquired pneumonia in the adult population of 4