

微生物实验技术 与临床

WEISHENGWU SHIYAN JISHU YU LINCHUANG

冯羨菊 主编



郑州大学出版社

微生物实验技术

与临床

WEISHENGWU SHIYAN JISHU YU LINCHUANG

冯羨菊 主编



郑州大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

微生物实验技术与临床/冯羨菊主编. —郑州:郑州大学出版社,2010.3

ISBN 978 - 7 - 5645 - 0131 - 0

I. 微… II. 冯… III. 微生物学 - 实验 IV. Q93 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 165578 号

郑州大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

出版人:王 锋

全国新华书店经销

新乡市凤泉印务有限公司印制

开本:850 mm × 1 168 mm

印张:13

字数:349 千字

版次:2010 年 3 月第 1 版

邮政编码:450052

发行部电话:0371 - 66966070

1/32

印次:2010 年 3 月第 1 次印刷

书号:ISBN 978 - 7 - 5645 - 0131 - 0 定价:32.00 元

本书如有印装质量问题,请向本社调换

【作者名单】

【 内 容 提 要 】

本书借鉴国际、国内最新观念和方法,从临床细菌感染指征、标本的采集、保存、运送及实验室接收,微生物实验室对感染标本的处理、鉴定流程、细菌耐药性监测,以及药敏试验报告的解读,各种试剂与培养基的配制,常用仪器的标准操作规程(SOP),到各种医院内感染标本的监测,一应俱全。目的在于为临床相关人员提供一个较为规范的操作程序。

本书可为广大临床医护人员、微生物实验室及医院内感染临床工作者参考使用。

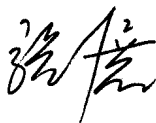
【序】

《微生物实验技术与临床》一书即将出版,该书注重微生物实验室技术与临床的沟通。认识到一份对临床有诊断价值的微生物检验报告,不仅仅靠实验室检验人员的努力,还需要临床医生和护士参与,分工合作,各负其责,才能更好、更全面地完成质量控制;唯有如此,实验室才能为临床提供更多、更有价值和更准确的诊断信息,临床医生才能运用这些信息作为抗菌药物应用的参考依据,高质量地为病人治疗。

作者参考大量国内外文献,从各种临床感染的不同指征入手,至标本采集的规范化、送检,以及微生物实验室对标本的接收、处理与储存;各种病原菌的识别、分离、鉴定的操作程序;结合当代感染性疾病的特征与进展,对一些疑难菌、厌氧菌、分支杆菌及真菌的诊断与鉴定;微生物实验室快速诊断与仪器自动化的应用;细菌体外药敏试验的标准化操作及其质量控制;细菌耐药临测与医院感染管理等问题进行了较为详细的论述。理论联系实际,指导性强,通俗易懂,并附有详细的检索图表,方便阅读,有较强的针对性和实用性,可作为各层次临床医生、护理人员与检验人员沟

通的交流平台,是一部优秀的临床应用参考书籍和实用工具,为此向大家推荐。

中华医学会检验分会常委
河南省医学会副会长
博士生导师

A handwritten signature in black ink, appearing to read '张景' (Zhang Jing), written in a cursive style.

2009年8月28日

【 前 言 】

生物检验报告的结果。同时,我们诚邀临床感染专家孙培宗、孙慧教授为本书的主审。

书内容和指导思想,可概括为以下几点:

1. 临床各种感染标本的采集和运输操作规程。为临床医师、护理工作提供一个尽可能标准化、规范化操作规程,每一节都辅以标本的操作流程图,方便实用。

2. 临床微生物实验室检验操作规程。参考大量国内外最新资料,结合我国实际情况,重在常规检验技术规范化作并辅以流程图,力求反映微生物实验诊断最新成果与信息。

3. 抗菌药物敏感试验与耐药监测。重点介绍美国临床实验室标准化委员会(NCCLS/CLSI)制定的药物敏感试验规则(药敏试验方法、选药规则、质量控制等),同时介绍了常见细菌的耐药机制、特殊耐药菌的监测方法,以及临床医师如何解读实验室报告等问题。

4. 对常见院内感染的常规检测与监测项目,本书参考卫生部2000年《消毒技术规范》,做了较为详尽的总结。适合临床微生物工作者和从事医院内感染监测工作的同仁们参考阅读。

5. 附录一,对临床常见各种培养基的配制进行了较为全面的总结;附录二,在征得BD公司的同意后,列出了该公司部分仪器的标准操作规程(SOP),供大家在仪器的使用以及制定本实验室标准操作规程时参考。

本书对医院、疾病控制中心和血液中心的医生、护士、微生物实验室专业人员及医院临床感染工作者有较高的参考价值。限于作者的水平,疏漏或不当之处,敬请补遗指正。

作者

2009年5月3日

第一章	微生物检验概论	1
	第一节 微生物检验发展简史	1
	一、微生物的发现与培养基的发明	1
	二、抗生素的发现与细菌的耐药监测	2
	三、现代微生物检验的发展	2
	第二节 微生物检验的研究内容和任务	3
	一、微生物学检验研究内容	3
	二、微生物检验的任务	3
	第三节 微生物实验室与临床科室的沟通	4
	一、医护人员在微生物检验中的作用	4
	二、微生物实验室如何与临床科室沟通	5
第二章	临床微生物标本的采集和运输操作规范	7
	第一节 血液及骨髓标本的操作程序	7
	一、菌(败)血症的临床指征	8
	二、标本的采集方法及运输	11

三、标本的接收与处理·····	16
第二节 无菌腔液及组织标本的操作程序·····	21
一、脑脊液标本的采集与处理原则·····	21
二、其他无菌体液标本的采集与处理·····	24
三、组织标本的采集与处理·····	26
第三节 尿液标本的操作程序·····	30
一、泌尿系统感染的临床指征·····	30
二、尿液的采集与运输·····	31
三、标本的接收与处理·····	34
第四节 粪便标本的微生物检验·····	36
一、肠道细菌感染的临床指征·····	36
二、标本的采集及运输·····	38
三、标本的接收与处理·····	39
第五节 呼吸道标本的微生物检验·····	41
一、呼吸系统感染的临床指征·····	42
二、标本的采集及运输·····	44
三、标本的接收与处理·····	47
第六节 分泌物标本的操作程序·····	52
一、化脓性感染的临床指征·····	52
二、标本的采集及运输·····	55
三、标本的接收与处理·····	57
第七节 厌氧菌标本的操作程序·····	61
一、厌氧菌感染的临床指征·····	61
二、标本的采集与运输·····	65
三、标本的接收与处理·····	66
第三章 临床微生物检验操作规程 ·····	68
第一节 化脓性球菌的鉴定程序·····	68
一、葡萄球菌的鉴定·····	68
二、链球菌属的鉴定·····	78

三、肺炎链球菌的鉴定	89
四、肠球菌属的鉴定	91
五、脑膜炎奈瑟菌的鉴定	95
六、淋病奈瑟菌的鉴定	97
七、卡他布兰汉菌的鉴定	99
第二节 肠杆菌科细菌的鉴定程序	101
一、肠杆菌科细菌概述	101
二、肠杆菌科细菌共同特性	101
三、肠杆菌科细菌的常规鉴定	102
第三节 弧菌科细菌的鉴定	125
一、弧菌属细菌的常规鉴定	125
二、副溶血性弧菌的鉴定	134
三、气单胞菌属的鉴定	135
四、邻单胞菌属常规鉴定	137
第四节 非发酵菌的鉴定	138
一、假单胞菌属的鉴定	139
二、不动杆菌属的鉴定	143
三、产碱杆菌属的鉴定	146
四、莫拉菌属的鉴定	147
五、黄杆菌属细菌的鉴定	148
第五节 苛养菌的鉴定程序	149
一、嗜血杆菌属的常规鉴定	149
二、鲍特菌属的常规鉴定	153
三、布鲁菌属的鉴定	156
四、军团菌属的鉴定	161
第六节 革兰阳性需氧芽胞杆菌的鉴定	166
一、炭疽芽胞杆菌的鉴定	166
二、蜡样芽胞杆菌的鉴定	172
第七节 其他革兰阳性杆菌的鉴定	175

一、白喉棒状杆菌的鉴定	175
二、产单核细胞李斯特菌	177
三、红斑丹毒丝菌的鉴定	180
四、阴道加特纳菌的鉴定	182
五、奴卡菌属和红球菌的鉴定	185
第八节 厌氧菌的鉴定	192
一、概 述	192
二、厌氧球菌的鉴定	196
三、革兰阴性无芽胞厌氧杆菌的鉴定	199
四、革兰阳性无芽胞厌氧杆菌的鉴定	204
五、梭状芽胞杆菌的鉴定	207
第九节 分枝杆菌的实验诊断与检查	217
一、结核分枝杆菌的鉴定	218
二、非结核分枝杆菌的鉴定	222
第十节 真菌的实验室诊断与鉴定	223
一、真菌的分类与结构	223
二、真菌的标本采集与实验室检查	225
三、常见真菌的常规检查及鉴定	228
第十一节 微生物的快速鉴定与仪器的 自动化	234
一、微生物的快速诊断技术	235
二、自动血培养分析仪器的应用	243
三、自动化细菌鉴定系统的应用	244
第四章 抗菌药物敏感试验与耐药监测	247
第一节 药物敏感试验的规则与质量控制	247
一、药敏试验的临床意义及特点	247
二、抗菌药物与药物敏感试验原则	250
三、药敏试验的质量控制	256
第二节 体外药敏试验的操作规程	276

一、需氧菌及兼性厌氧菌药敏试验	276
二、苛氧菌药物敏感试验	291
三、分枝杆菌及厌氧菌体外药敏试验	293
四、酵母样真菌药物敏感试验	306
第三节 细菌耐药监测与医院感染管理	309
一、细菌耐药性及其变迁	309
二、细菌的耐药机制	313
三、细菌的耐药性监测	316
四、医院感染的细菌学监测	336
五、实验室报告的分析与解读	352
附录一 试剂与培养基的配制	361
附录二 全自动分枝杆菌检测/药敏系统	392
参考文献	398

第一章

微生物检验概论

第一节 微生物检验发展简史

医学微生物学 (medical microbiology) 是微生物学的一个分支, 微生物检验是以医学微生物、临床微生物为基础的一门实验学科, 主要研究与医学有关的病原微生物的生物学性状、感染与免疫机制、特异性诊断和防治方法等, 以控制和消灭传染性疾病, 达到保障和提高人类健康水平的目的。

一、微生物的发现与培养基的发明

最早观察到微生物的是荷兰人列文虎克 (Antony. Van Leewenhoek, 1632 ~ 1723), 他用自制的原始显微镜 (放大约 250 倍), 观察了自然界污水、牙垢和粪便等标本中都存在着肉眼看不见的微小生物, 并正确地描述了这些微生物的形态有球状、杆状和螺旋状, 证实了微生物在自然界和机体内的客观存在, 从而揭开了微生物形态学检验的序幕。

真正从病人或动物感染标本中分离出病原菌并证实其是致病菌, 是德国学者郭霍 (Robert Koch, 1843 ~ 1910), 他创用的固体培

培养基并成功分离出单个菌落。之后,又相继发现了炭疽芽胞杆菌(1876)、结核分枝杆菌(1882)和霍乱弧菌(1883)。随后在短期内世界各地先后发现了许多细菌性传染病的病原菌,如脑膜炎奈瑟菌、痢疾志贺菌、白喉棒状杆菌等。郭霍的另一贡献是创用了染色法,他利用苯胺(aniline)染料使细菌着色,为染色技术奠定了基础。郭霍不仅是微生物学和医学微生物学的奠基人,也堪称是微生物学检验的创始人。

二、抗生素的发现与细菌的耐药监测

自从1929年英国细菌学家弗来明(Flenaing)意外发现污染的青霉菌在固体培养基上可有效抑制金黄色葡萄球菌生长的现象,直到1940年弗洛瑞(Florey)等将青霉素培养液予以提纯,才获得青霉素结晶纯品,并证实了临床应用的价值。青霉素的成功研制为抗生素的研究和生产翻开了第一页,继而链霉素、氯霉素、四环素、头孢菌素、红霉素、庆大霉素等抗生素相继被广泛应用于临床,给感染性疾病的治疗带来了曙光。但是,由于抗生素的广泛应用所造成的细菌耐药性问题,给当今临床抗菌治疗带来了愈来愈严重的困难。因此,应加强微生物感染耐药菌株的监测工作,如规范药物敏感实验中菌株的选择、检测方法、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。

三、现代微生物检验的发展

20世纪中期至今,随着化学、物理学、生物化学、遗传学、细胞生物学、免疫学和分子生物学等学科的进展,以及电子显微镜、细胞培养、组织化学、超薄切片、气相和液相色谱、免疫标记、单克隆抗体技术、聚合酶链反应以及基因探针杂交等技术的创建和改进,对细菌和病毒形态结构的研究,已突破亚显微结构水平,可以在分子水平上探讨基因结构的功能、致病的物质基础及诊断方法,使人

们对微生物的活动规律有了更深入的认识。培养及鉴定技术的进一步改进,使一些新的病原微生物不断被发现。1976年从肺炎病人标本中分离出军团菌;1983年从慢性胃炎病人活检标本中分离出幽门螺旋杆菌;1992年自印度的霍乱流行中分离出O₁₃₉血清型新流行菌株;1986年自我国台湾省分离出肺炎衣原体等。

第二节 微生物检验的研究内容和任务

一、微生物学检验研究内容

微生物学检验是利用微生物学的基础理论与技能和临床微生物学的基本知识,掌握各类与临床有关的微生物特性,通过系统的检验方法,及时、准确地对临床标本作出病原学诊断和抗菌药物敏感性的报告,为临床感染性疾病的诊断、治疗和预防提供科学依据。

目前,微生物学检验中快速诊断方法正向自动化、微机化、微量化和分子生物学技术方面发展。细菌检验中的微量化和自动化微生物学诊断,经过多年的研究和不断改进,常规临床细菌学诊断已可由系列的试剂盒商品成套供应以代替自行配制的试剂,烦琐的手工操作已由全自动微生物鉴定/药敏系统、微生物数码分类鉴定系统、全自动血培养检测和分析系统,以及微量、快速微生物鉴定系统所替代,大大加快了微生物学检验的时效性和准确性。

二、微生物检验的任务

微生物检验是为感染性疾病提供微生物学诊断,是控制和预防传染病的扩散的重要措施之一,所以,应注重如何从临床标本中分离出病原微生物,并正确鉴定及快速发出检验报告。微生物学检验的基本任务是:

1. 研究标本的采集、运送、保存及处理等方法,提高病原微生物