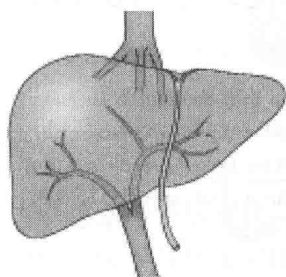




感染病学

临床病例解析

原著 Hamish McKenzie Robert Laing
Alexander Mackenzie Pamela Molyneaux
Abhijit Bal
主译 郑明华



感染病学

临床病例解析

Infectious Disease Clinical Cases Uncovered

原著 Hamish McKenzie Robert Laing
Alexander Mackenzie Pamela Molyneaux
Abhijit Bal

主译 郑明华

主审 周蒙滔 陈永平

译者 (按姓氏汉语拼音排序)

陈恩强 四川大学华西医院
黄思思 温州市中心医院
潘夏蕙 温州护士学校
施可庆 温州医科大学附属第一医院
谭文婷 中国人民解放军第三军医大学西南医院
王光东 日照市人民医院
王慧 日照市人民医院
夏芳琴 温州医科大学附属第二医院、育英儿童医院
郑明华 温州医科大学附属第一医院
周永海 温州医科大学附属第二医院、育英儿童医院
邹海 浙江省人民医院

人民卫生出版社

Infectious Disease; clinical cases uncovered, by Hamish McKenzie, Robert Laing, Alexander Mackenzie, Pamela Molyneux and Abhijit Bal

Copyright © 2010 by Satish Keshav and Emma Culver

All Rights Reserved. This translation published under license. Authorized translation from the English language edition, entitled Infectious Disease; clinical cases uncovered, ISBN 978-1-4051-6891-5, by Hamish McKenzie, Robert Laing, Alexander Mackenzie, Pamela Molyneux and Abhijit Bal, Published by John Wiley & Sons. No part of this book may be reproduced in any form without the written permission of the original copyrights holder. Copies of this book sold without a Wiley sticker on the cover are unauthorized and illegal.

图书在版编目 (CIP) 数据

感染病学:临床病例解析/(英)哈米什·麦肯齐(Hamish Mckenzie)
原著;郑明华主译. —北京:人民卫生出版社,2017

ISBN 978-7-117-24420-6

I. ①感… II. ①哈…②郑… III. ①感染-疾病学 IV. ①R4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 081144 号

人卫智网	www.ipmph.com	医学教育、学术、考试、健康, 购书智慧智能综合服务平台
人卫官网	www.pmph.com	人卫官方资讯发布平台

版权所有,侵权必究!

图字:01-2016-3498

感染病学:临床病例解析

主 译:郑明华

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:三河市潮河印业有限公司

经 销:新华书店

开 本:787×1092 1/16 印张:8 插页:2

字 数:253 千字

版 次:2017 年 5 月第 1 版 2017 年 5 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号:ISBN 978-7-117-24420-6/R·24421

定 价:46.00 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)

译者序

感染病学是现代一门十分重要的学科。在过去 30 年间,新发感染性疾病的发生率急剧增加。大多数临床工作者在诊疗过程中经常会遇到各类发热与感染,这些是临床上最常见的疾病。本书以真实案例的临床表现以及检查与治疗的结局为主线,在实践中引导学生诊断与治疗各类感染性疾病。

本书英文版原著的编写很有特点,全书共分三个部分。第一部分复习了相关的基础知识、病史与体格检查、感染的实验室诊断、感染与免疫等内容。第二部分包括了在临床诊疗过程中遇到的各种各样的临床表现,通过提问与答案引导读者学习每个案例。这里值得一提的是书中涉及的图、表、框等,表格的归纳总结性强,图片简约明了,叙述清楚。第三部分侧重于测验读者对该部分临床内容的理解与掌握程度。本书与日常的临床实践密切相关,采用真实的临床案例阐述各类感染性疾病,并强调每个案例背后的微生物学、生理学与免疫学基础。同时,作者也试图在本书中对一些采用特殊方案处理的感染性疾病进行阐述,而这些方案在传统的教科书中很少提到。

我很荣幸能够获得人民卫生出版社的大力支持与帮助,使我可以翻译《临床病例解析》系列丛书,先前已出版的《肝脏病学:临床病例解析》、《胃肠病学:临床病例解析》获得了广大临床一线医务人员的欢迎和认可。我们坚信,《感染病学:临床病例解析》也将会对他们的职业生涯和职业水平产生不可估量的影响。

本书在翻译过程中曾得到各位同仁、专家们的大力协助与指导,在此深表谢意!

由于时间短,译者水平所限,谬误之处在所难免,敬请广大读者予以批评指正!

郑明华

2016 年 11 月

原著前言

各种原因引起的感染是医学领域中一门令人振奋的学科。它是微生物技术与临床实践——科学与艺术——的结晶。感染可累及各年龄组患者全身的多个和(或)所有系统。每个患者都具有独特的谜题——感染专业临床工作者的侦探感如影随形,在临床工作中,除了与患者沟通及对伦理和患者隐私问题的处理存在困难外,还受到了对智力的挑战。医院获得性感染的问题已日趋严峻。医疗保健技术的日新月异结合新病原体的自然演变(或旧的病原体突变获得新的毒力特征)意味着无论是科研工作者还是医生都需要结合实际,与时俱进。

编者希望本书能开创一个良好的开端,激起读者对感染学科的兴趣。在前面的章节,我们试图让某些复杂的感染相关性基础知识相关联并使读者易于理解。其后的案例源自感染病学家及微生物学家日常试图解决的临床难题。我们希望当案例呈现时,读者能模拟实践自己所学的知识,这将是一个享受。章节最后自我评估的问题有助于读者判断自己掌握了多少,但是,你需要知道的是,你未来的职业生涯中仍需不断学习和补充各种知识!

Hamish McKenzie

Robert Laing

Alexander Mackenzie

Pamela Molyneaux

Abhijit Bal

怎样使用本书

《临床病例解析》系列丛书经过精心设计,能够帮助您积累临床经验并更新知识。每本书都分成三部分:第一部分——基础;第二部分——病例;第三部分——自测题。

第一部分快速为您提供本领域的基础科学知识、病史、辅助检查和关键诊断等信息。第二部分包括在病房或者考试中可能遇到的临床问题,通过问答的方式引导每一个病例。辅助检查结果等资料也将在此部分中呈现。每个病例都对关键点进行了总结,使用起来非常方便。第三部分的题目可检验您的学习效果,包括以下题型:多选题、单选题和简答题。每个题目都非常贴近临床。

不论是您随手翻阅还是临床使用,我们都希望您能喜欢《临床病例解析》系列丛书。如果您对我们有任何问题和建议,请随时联系我们。联系方式:medicalstudent@wilry.co.uk.

免责声明:

《临床病例解析》系列丛书中每个患者反映的都是其真实的个人情况,但请读者注意,所有患者的名字均为化名,不论生者或逝者,如有雷同,纯属巧合。

缩 略 词

AAFB	acid and alcohol fast bacilli	抗酸抗酒精杆菌
A&E	accident and emergency	急诊室
AIDS	acquired immune deficiency syndrome	获得性免疫缺陷综合征
AML	acute myelogenous leukaemia	急性髓细胞性白血病
ARDS	adult respiratory distress syndrome	成人呼吸窘迫综合征
ASO	anti-streptolysin O	抗链球菌溶血素 O
AZT	zidovudine	齐多夫定
BAL	bronchoalveolar lavage	支气管肺泡灌洗术
BCG	Bacille Calmette-Guérin	卡介苗
bd	twice a day	一天两次
BIS	British Infection Society	英国传染病学会
BP	blood pressure	血压
BV	bacterial vaginosis	细菌性阴道病
CDAD	<i>Clostridium difficile</i> - associated diarrhoea	艰难梭菌相关性腹泻
cDNA	complementary DNA	互补 DNA
CFT	complement fixation test	补体结合试验
CMV	cytomegalovirus	巨细胞病毒
CO ₂	carbon dioxide	二氧化碳
COPD	chronic obstructive pulmonary disease	慢性阻塞性肺病
CPE	cytopathic effect	细胞病变效应
CRP	C-reactive protein	C-反应蛋白
CSF	cerebrospinal fluid	脑脊液
CT	computerized tomography	计算机断层扫描
CVP	central venous pressure	中心静脉压
CVS	cardiovascular system	心血管系统
DIC	disseminated intravascular coagulation	弥散性血管内凝血
DNA	deoxyribonucleic acid	脱氧核糖核酸
DOTS	directly observed treatment	现代结核病控制策略
EBV	Epstein-Barr virus	EB 病毒
ECCG	electrocardiogram	心电图
EHEC	enterohaemorrhagic <i>Escherichia coli</i>	肠出血性大肠埃希菌
EIA	enzyme immunoassay	酶免疫分析法
EM	electron microscopy	电子显微镜
EPP	electron microscopy	易感接触性操作
ERCP	endoscopic retrograde cholangiopancreatography	内镜逆行胰胆管造影术
ESBL	extended spectrum β -lactamase	超广谱 β -内酰胺酶
ESR	erythrocyte sedimentation rate	血沉
FUO	fever of unknown origin	不明原因发热
FVU	first void urine	首段尿

GCS	Glasgow Coma Scale	Glasgow 昏迷评分
GI	gastrointestinal	胃肠的
GP	general practitioner	全科医生
HBIG	hepatitis B immunoglobulin	乙型肝炎免疫球蛋白
HCV	hepatitis C virus	丙肝病毒
HDU	high dependency unit	高依赖病房
Hib	<i>Haemophilus influenzae</i> type b	b 型流感嗜血杆菌
HIV	human immunodeficiency virus	人类免疫缺陷病毒
HNIG	human normal immunoglobulin	人体正常免疫球蛋白
HSV	herpes simplex virus	单纯疱疹病毒
HUS	haemolytic uraemic syndrome	溶血尿毒综合征
ICP	intracranial pressure	颅内压
ICU	intensive care unit	重症监护室
IF	immunofluorescence	免疫荧光
IFN	interferon	干扰素
Ig	immunoglobulin	免疫球蛋白
IL	interleukin	白细胞介素
IV	intravenous	静脉注射
LA	latex agglutination	乳胶凝集
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱氢酶
LP	lumbar puncture	腰椎穿刺术
LPS	lipopolysaccharide	脂多糖
MBC	minimum bactericidal concentration	最小杀菌浓度
M, C & S	microscopy, culture and antibiotic sensitivity testing	显微镜下培养与抗生素敏感试验
MDR	multidrug resistant	多重耐药性
MIC	minimum inhibitory concentration	最小抑菌浓度
MLST	multilocus sequence typing	多位点序列分型
MMR	measles, mumps and rubella	麻疹风三联疫苗
MpV	metapneumovirus	偏肺病毒
MRCPT	magnetic resonance cholangiopancreatography	磁共振胰胆管造影术
MRI	magnetic resonance imaging	磁共振成像
MRSA	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌
MSU	mid-stream urine	中段尿
NAAT	nucleic acid amplification test	核酸扩增试验
NICE	National Institute for Health and Clinical Excellence	英国国家卫生与临床优化研究所
NO	nitric oxide	一氧化氮
OPAT	out-patient antibiotic therapy	应用抗生素治疗门诊患者
PBP	penicillin-binding protein	青霉素结合蛋白
P, C & O	parasites, cysts and ova	寄生虫、孢囊及虫卵
PCP	<i>Pneumocystis carinii</i> (now <i>jirovecii</i>) pneumonia	卡氏肺囊虫肺炎
PCR	polymerase chain reaction	聚合酶链反应
PIV	parainfluenza virus	副流感病毒
PVL	Panton- Valentine leukocidin	Panton- Valentine 杀白细胞素
QD	quinupristin- dalfopristin	奎奴普汀/达福普汀
RBC	red blood cell	红细胞计数

RNA	ribonucleic acid	核糖核酸
RSV	respiratory syncytial virus	呼吸道合胞病毒
RT	reverse transcriptase	逆转录酶
SAH	reverse transcriptase	蛛网膜下腔出血
SDA	strand displacement amplification	链置换扩增反应
SIADH	syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion	抗利尿激素分泌异常综合征
SIRS	systemic inflammatory response syndrome	全身炎症反应综合征
TAC	transient aplastic crisis	短暂性再生障碍危象
TB	tuberculosis	肺结核
tds	three times a day	每日三次
TNF	tumour necrosis factor	肿瘤坏死因子
TOE	transoesophageal echocardiogram	经食管超声心动图
TSS	toxic shock syndrome	中毒性休克综合征
TSST	toxic shock syndrome toxin	中毒性休克毒素
TTE	transthoracic echocardiogram	经胸超声心动图
URTI	upper respiratory tract infection	上呼吸道感染
UTI	urinary tract infection	尿路感染
VRE	vancomycin-resistant enterococcus	耐万古霉素肠球菌
VTEC	verocytotoxic <i>Escherichia coli</i>	产 Vero 细胞毒素大肠埃希菌
VZIG	varicella zoster immunoglobulin	水痘-带状疱疹免疫球蛋白
VZV	varicella zoster virus	水痘-带状疱疹病毒
WBC	white blood cell	白细胞计数
WHO	World Health Organisation	世界卫生组织
XDR	extremely drug resistant	超级耐药性
ZN	Ziehl-Neelsen	Z-N 染色法

目 录

第一部分 基 础

感染的实验室诊断	1
抗菌药物治疗	10
感染与免疫	18
患者的接诊	22

第二部分 病 例

病例 1 68 岁女性, 出血性腹泻	29
病例 2 73 岁男性, 全身不适 2 周	32
病例 3 36 岁男性, 医院获得性肺炎	35
病例 4 26 岁男性, 黄疸	38
病例 5 28 岁女学生, 剧烈头痛、嗜睡	41
病例 6 30 岁女性, 水疱性皮疹	47
病例 7 37 岁男性, 发热伴胸痛	50
病例 8 14 岁女学生, 皮疹	54
病例 9 68 岁女性, 发热、肌肉疼痛	57
病例 10 35 岁教师, 从马拉维共和国返回后出现发热伴畏寒	60
病例 11 32 岁男性, 夜间盗汗、易疲劳	63
病例 12 41 岁男性, 左下肢红肿、发烫	66
病例 13 18 岁女学生, 阴道分泌物异常	69
病例 14 骨科病房中暴发腹泻、呕吐	71
病例 15 产前检查	73
病例 16 35 岁南非女性, 头痛	76
病例 17 64 岁男性, 发热伴寒颤	80
病例 18 42 岁男性, 发热、咳嗽、肌痛	83
病例 19 75 岁男性, 臀部疼痛	85
病例 20 24 岁男性, 发热, 既往有急性髓性白血病	87
病例 21 53 岁男性, 发热、后背剧痛伴腹痛	89
病例 22 20 岁女学生, 皮疹、发热、肌痛及腹泻	92
病例 23 54 岁男性, 咳嗽、夜间盗汗	94
病例 24 15 岁男孩, 发热、咽痛	97

第三部分 自 测 题

选择题	101
多备选答案单选题	104

简答题.....	107
选择题答案.....	108
多备选答案单选题答案.....	108
简答题答案.....	109
病例诊断或病原体结果索引	113

感染的实验室诊断

感染的实验室诊断过程中存在以下三个阶段：

1. 结合临床选择相关的测试项目。
2. 采用适当的质量控制实施这些技术测试。
3. 解释这些结果的临床意义并选用适当的治疗方法。

对大多数医生而言,掌握第二阶段的大纲知识就足以有效地处理第一个和最后一个阶段,至少对于常见的感染而言。本章节将试图涵盖上述三个阶段,为读者更好理解本书随后的案例做好铺垫。感染的实验室诊断方法可以概括为:

- 微生物的微观结构观察
- 微生物的培养
- 微生物相关抗原、毒素或核酸的检测
- 对微生物的血清学应答的检测(如抗体)

这些都将在本节中述及。临床医生需要遵循两个简单而重要的步骤,从而做出有效的实验室诊断。首先,患者的申请表需要有清晰、准确的鉴别诊断——多数微生物实验室每年检测数十万个样本且需要做出正确的鉴定,需要一个准确的报告回馈到病房或临床实践。其次,应明确样品类型并提供临床病史,这将有助于实验室工作人员选择适当的检查。对有症状的患者,需总结疾病的特点和持续时间,还有选取相应标本的原因。取样的原因在主诉中可能并不都是显而易见的,一位作者清楚地记得自己曾为一名“睾丸扭转”患者需要进行眼部拭子检测而大伤脑筋。如果一个测试不是以快速诊断为目的(如传染病筛选、免疫反应检测等),请在申请表上注明。

临床标本的处理需要结合科学知识与技术专长,但在判断每个样品的最适检测方法,尤其在权衡结果的临床意义时,仍需要有一个主要的解释性组分。这一解释性组分需结合临床,也是医学微生物学家及病毒学家工作的主要部分。因此,诊断实验室并非简单的一个提供技术服务的地方,也为疾病的诊断、管理及感染的预防提供临床建议。

标本之旅:细菌感染

细菌感染标本的采集最常见的处理顺序是显微镜观察,细菌培养,任何可能存在的微生物药敏试验,在申请表上通常缩写为 M, C & S。在报告结果时,来自于无菌部位[如血液、脑脊液(CSF)]的标本与广泛的正常菌群定植部位(如粪便,咽部)的标本有很大的不同。实验室通常只报告有临床意义的生长的细菌。

显微镜检查

革兰氏染色

显微镜检查是检测临床标本中存在细菌的最简单快捷的方法。大多数标本革兰氏染色后在显微镜下观察,依据染色情况将大部分细菌细分为革兰氏阳性(紫色)或革兰氏阴性(红色),另外,根据形状可分为杆菌(棒状)或球菌(球状)(见文末彩图1)。为了可视化观察临床标本中的细菌,往往需要大样本,因而显微镜观察结果阴性不能排除样品中仍有少量细菌的存在。此外,还有一些细菌不被革兰氏染色,例如分枝杆菌属、军团菌属、衣原体属。当然,不可能只根据革兰氏染色判断细菌的种属,例如,咽拭子上的革兰氏染色不能鉴别草绿色链球菌与化脓性链球菌,因此临床意义不是很高。革兰氏染色发现无菌部位(如CSF)的标本中存在微生物是最有意义的,但在广泛的正常菌群定植部位(如皮肤样本,粪便)的标本中其用途较小且结果更难解释。

未染色标本的显微镜检查

这通常用于尿液标本及肉眼可见的有机体(但不能鉴别)的检测,可以是脓细胞(脓尿)、红细胞(血尿)及管型。越来越多的实验室采用自动化技术(流式细胞分析技术)检测尿液中的细胞和微生物。

显微镜检查在未染色的CSF的细胞计数时很重要。红细胞和白细胞很容易区分。在某个独立的样品中,结合不同的染色方法,可以评估血液中中性粒细胞和淋巴细胞的比例。

金胺-酚染色和ZN抗酸染色

分枝杆菌属不能被革兰氏染色,传统上应用

Ziehl-Neelsen (Z-N) 抗酸染色再通过显微镜检查 (见文末彩图 2)。这个染色过程有用浓盐酸及高浓度的酒精洗涤的步骤,因此,阳性染色的微生物被称为抗酸抗酒精细菌 (AAFB)。金胺-酚染色也可供选择,其染色更敏感,目前更广泛地用于筛查。Z-N 染色在镜下经紫外线照射后可见,被认为是阳性。与革兰氏染色一样,显微镜检查需要大量的样本。另外,显微镜检查不能鉴别分枝杆菌的种类,例如实验室不能在仅有金胺酚或 Z-N 抗酸染色的基础上鉴别结核分枝杆菌和环境分枝杆菌。

培养和药敏

显微镜检查后,临床标本“镀”在琼脂培养基上 (用接种环或一次性塑料环将单一菌种涂布在培养

基表面或培养板上),然后孵育。这种模式的平板接种和增殖 (见文末彩图 3) 有助于分离临床标本中各种复杂的菌种。标本中微生物的培养有多种琼脂糖培养基可供选择,其选择与想要筛查的微生物目标有关。因此,为了找到不同的病原体,痰标本和粪便标本需要不同的培养基。孵育条件也取决于目标微生物。大多数临床标本的微生物培养需要置于 37℃ 的 5% CO₂ 培养箱中过夜孵育。同时,大多数临床标本的微生物培养时,至少需留一板进行厌氧培养 (完全无氧) 以检测厌氧菌的存在。虽然一些细菌培养仅需 24~48 小时,但另一些细菌培养可能需要超过 48 小时 (常见于厌氧菌),如结核分枝杆菌需要数周来生长。

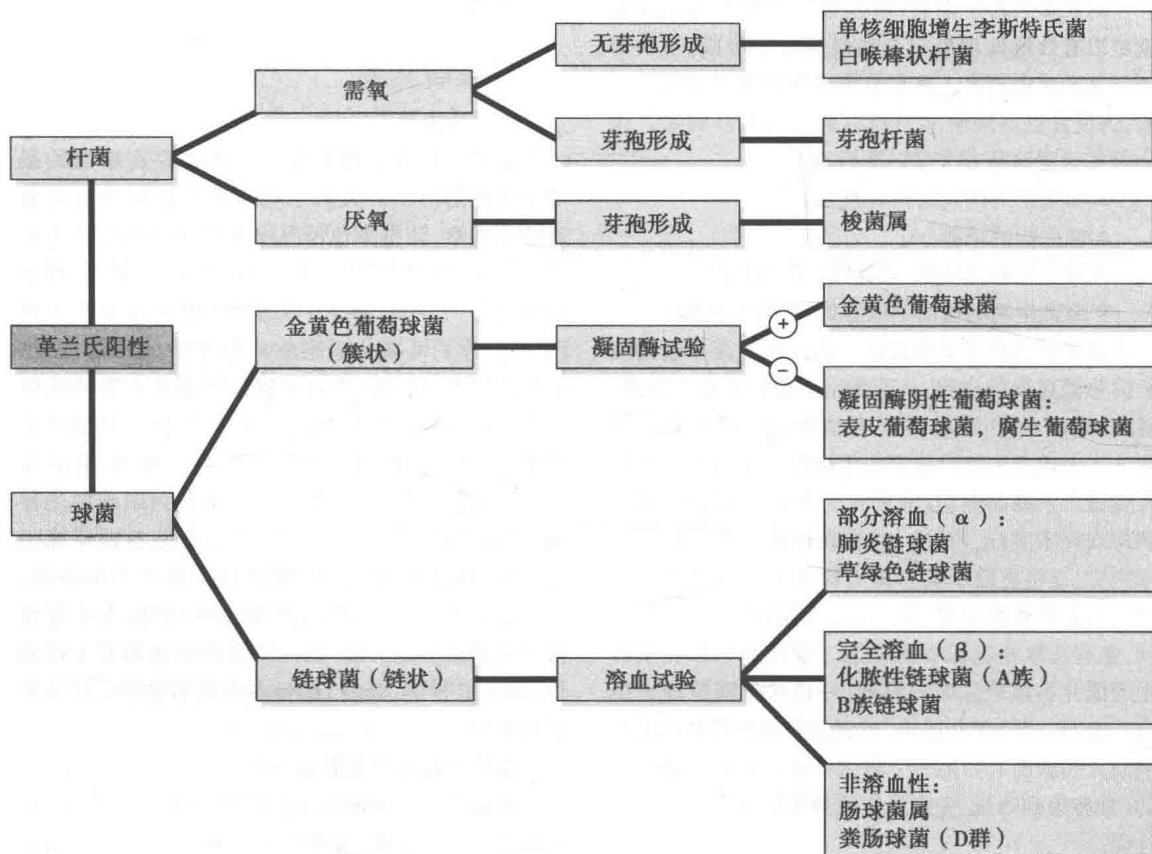


图 A 流程图示革兰氏阳性菌的基本分类

培养后的下一阶段是鉴定所有生长的细菌。不同的细菌在不同的琼脂培养基上形成不同形态的菌落,有经验的微生物学家可肉眼观察培养板做出初步的判断。可进一步开展生化或其他检测判断微生物的种类。常规实验室检查的重点是早期

鉴别出没有明显的病原体感染的标本,不需要进一步分析报告结果。因此,一个伤口或咽拭子的标本有正常的菌群增殖,在此阶段将被忽略。与之相反,结合标本类型和临床背景,若可能有潜在的相关病原体,可以进一步开展大量的工作。病原体都

被鉴定出来后,进行抗生素敏感性试验。常见的革兰氏阳性致病菌的简单分类见图 A。革兰氏阳性球菌可以根据以下两种检测进行细分——葡萄球菌的凝固酶试验和链球菌的血细胞琼脂溶血能力。检测的例子分别见文末彩图 4 和彩图 5。金黄色葡萄球菌是唯一一种凝固酶阳性的细菌,是一个重要的病原体。凝固酶阴性的细菌种类较多,通常只有在异物感染时才有临床意义,如人工心脏瓣膜、人工髋关节。一些链球菌(多为 β -溶血性链球菌)含有表面抗原,可以通过革兰氏分群进一步分类,这有很重要的临床意义,且化脓性链球菌(A 群)是一

种重要的病原体。

常见的革兰氏阴性致病菌的简单分类如图 B 所示。在胃肠道中发现大量的革兰氏阴性杆菌,包括需氧和厌氧的。需氧的肠杆菌科微生物与大肠埃希菌共同存在于肠道通常被称为“大肠菌群”。乳糖发酵实验是分离这一群体中的微生物的初步有效的方法。腹泻病原菌沙门氏菌和志贺氏菌是乳糖非发酵菌,而大肠埃希菌、克雷伯菌是乳糖发酵菌。假单胞菌的基因不同于大肠菌群,其更耐抗生素。表 A 列出了一些革兰氏染色不能作为检测或分类手段的常见病原菌。

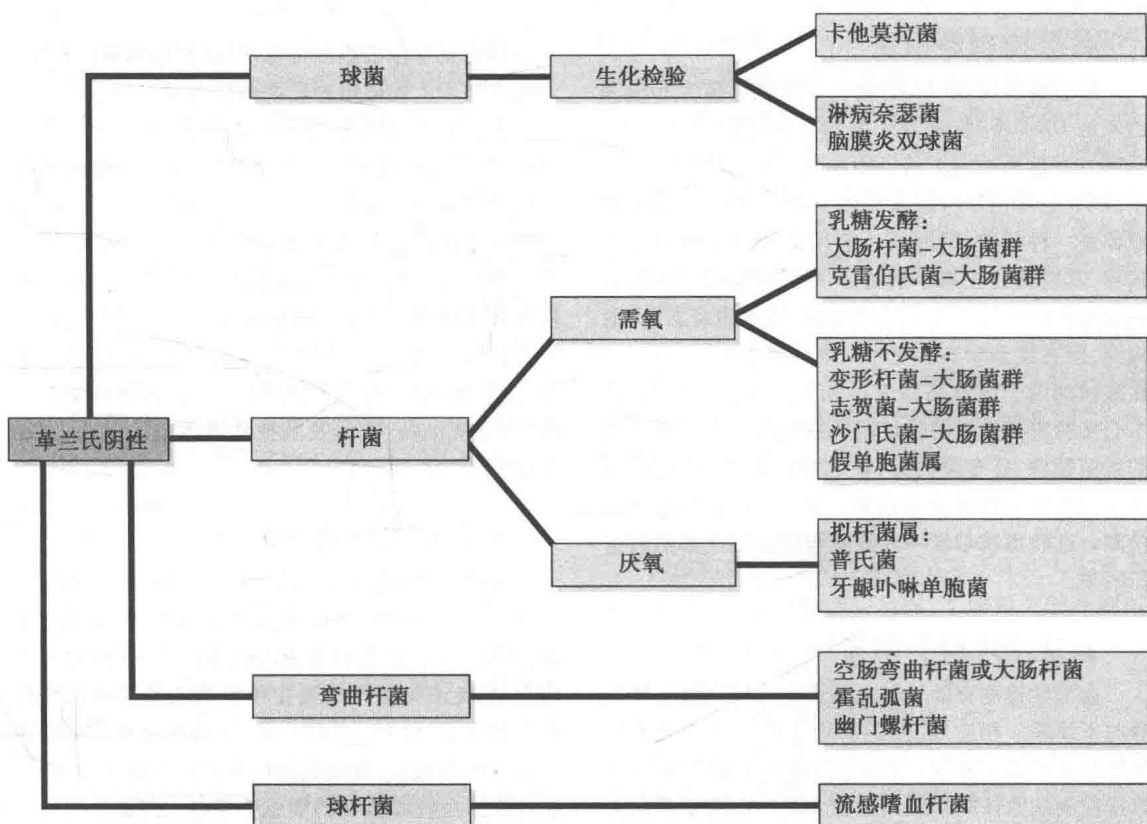


图 B 流程图示革兰氏阴性菌的基本分类

表 A 常规革兰氏染色法不能检测的常见的病原菌

分枝杆菌	例如结核分枝杆菌(TB)
螺旋体	例如梅毒螺旋体(梅毒),伯氏疏螺旋体(莱姆病),钩端螺旋体
衣原体	例如沙眼衣原体,鹦鹉热衣原体

药敏试验

对有临床意义的微生物进行相应的抗生素敏感性的筛选,见“抗菌药物治疗”中所述(第一部分)。将这些筛选限制应用于少数合适的抗生素上是调节抗生素处方的方法之一,另外,减少不合理处方可影响微生物的抗药性。请注意,体外试验只能为抗生素治疗是否对特定感染的患者有效提供

参考。抗生素的剂量、给药途径和对感染部位的渗透性等多种因素都会影响疗效(见“抗菌药物治疗”,第一部分)。

抗原或毒素检测与细菌感染

细菌的抗原或毒素可以通过不同的方式检测,但最常见的是酶免疫分析法(EIA)和胶乳凝集试验(LA)。本章节未有这些测试的详细的技术分析。在细菌学实验室中,这些测试常用于测定粪便中的艰难梭菌(EIA)、尿液中的嗜肺军团菌抗原(EIA)、CSF中的肺炎球菌、脑膜炎球菌及流感嗜血杆菌抗原(LA)、血培养或尿培养中的肺炎球菌抗原(LA)。

核酸检测和细菌

聚合酶链反应(PCR)使科学家能够放大和检测已知的DNA序列,是分子生物学研究的一场变革。这种方法逐渐被用于感染的诊断。细菌感染的诊断中,PCR最常用于沙眼衣原体DNA的检测。沙眼衣原体是一种细菌,但因其不能用常规细菌培养方法培养,其检测往往属于病毒学实验室范畴。虽然有商业检测试剂盒可用于其他细菌(如淋病奈瑟菌)的检测,但在细菌学实验室中常规培养就可达到目的,核酸检测由于成本高而未得到推广应用。然而,在中心实验室核酸检测常被用来描述临床上一些重要的细菌菌株,且有趣的是,在临床标本中,核酸检测可用于耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的快速检测。这使得携带者一入院就能被鉴别出来然后进行隔离。

血清学诊断和细菌

血清学检测有助于在未经培养或检测微生物本身时下诊断。相应地,测定病程中病原体相关的特异性抗体可指示感染。因此,当技术上难以培养或直接检测病原体时常采用这种方法。血清学诊断是常见感染的主要诊断方法,包括所谓的“非典型肺炎”相关的病原体,如沙眼衣原体、Q热柯克斯体、肺炎支原体、螺旋体如梅毒(梅毒螺旋体)、莱姆病(伯氏疏螺旋体)、钩端螺旋体病。解释血清学检测结果需要了解一些免疫学方法的基本原则。这些将在本章后续的“技术问题”中提及。

标本之旅:病毒感染

尽管有部分重叠,但常用于诊断的病毒学实验室技术还是有不同于细菌学实验室的,且最近几年发生了很大的变化。与细菌学不同,在病毒感染中

显微镜和培养的应用有限,而强调抗原检测、核酸检测和血清学检测的应用。

显微镜观察与病毒诊断

过去,电子显微镜(EM)被广泛应用于病毒实验室,但它现在在很大程度上被其他更敏感而在技术要求上不那么苛刻的检测方法所取代(除少数几个中心实验室外)。EM检测为了能得到阳性结果,每毫升样品悬浮液至少要有约 10^6 个病毒颗粒。EM的用处包括快速诊断和有观察到预期之外的微生物的可能。

病毒培养

病毒是专性细胞内寄生,只能在活细胞内存活,因此在技术上病毒培养比细菌培养更具挑战性。病毒培养的标本必须由细胞组成且通过病毒运送培养基传送,病毒运送培养基含保护性液体能保持病毒活性并抑制细菌生长。临床标本中含有活细胞,临床标本中任何病毒均可感染活细胞并在其内繁殖。培养孵育后,受感染的细胞可能会发生变化,如细胞病变效应(CPE)在镜下观察可见。细胞培养有许多缺点:灵敏度低,需要样品中存在活病毒,技术要求高,生长慢(很少有病毒只用1~2天,很多需要2~3周)和易被细菌、真菌及其他病毒污染。因此,它逐渐被核酸检测替代。

抗原检测与病毒诊断

抗原检测法是病毒学实验室的方法论中的重要组成部分之一。抗原检测最常见和最有用的应用是:①EIA测定乙型肝炎表面抗原;②一系列呼吸道病毒,如免疫荧光(IF)测定甲型和乙型流感和呼吸道合胞病毒(RSV);③EIA或LA检测粪便中的轮状病毒。IF要成功,含细胞的样本是必不可少的,因为病毒抗原在病毒感染的细胞上表达(例如鼻咽分泌物远优于咽拭子)。

核酸检测与病毒诊断

核酸检测越来越多地用于病毒的近期或当前感染的诊断,因为它是快速的、敏感的,且不需要存活的病毒。它在很大程度上取代了病毒培养。它为估计一个样品中的核酸数量从而监测病毒载量提供了可能,例如治疗过程中的人类免疫缺陷病毒(HIV)、移植或其他免疫功能低下的患者中的巨细胞病毒(CMV)或EB病毒(EBV)。在这些感染的诊断和治疗中这可能有一定的临床价值。对于一些感染,知

道病毒基因型(如通过核酸测序)对实现最佳的患者管理(如丙型肝炎)是很有必要的。

血清学检测与病毒诊断

血清学检测目前较少用于新近病毒感染的诊断,而更常用于证明既往感染或验证免疫成功。它仍然是一些急性病毒感染的重要诊断依据,尤其是那些有IgM的病毒抗体的检测(见本章后文),例如甲型肝炎、EB病毒、风疹和细小病毒B19。

标本之旅:真菌感染

显微镜检查和培养是真菌感染诊断中的支柱,与细菌相比,真菌的镜下形态在鉴定中更有意义。真菌有两种形式,如酵母菌(单细胞)和霉菌或丝状真菌(被称为菌丝体的多细胞),也有两种都有的(双相型真菌),其他仅以其中一种或另一种形式存在。显微镜检查是检测临床标本中的菌丝体的一种有效方法——这常用于皮肤碎屑(如运动员的脚)、剪下的指甲(如甲癣)和痰标本(如曲霉病)。菌丝体的外观,即观察到的分支结构模式,为鉴别真菌所属的菌种提供了一个初步的基础。真菌培养需要专门的固体培养基,并往往需要经历数天。培养板上生长的真菌可通过识别宏观及微观的形态来鉴定。酵母菌可以简单地通过临床标本的革兰氏染色鉴定,其中白色念珠菌是最常见的类型。不同真菌造成的疾病对抗真菌药物的敏感度可能不同,因此区别不同的菌种在临床上是很重要的。生化检测可以用于详细的鉴定,但有一个简单的实验室测试——“芽管”,可以鉴别白色念珠菌与其他真菌。与细菌一样,血液和脑脊液等无菌部位的酵母菌都有重要意义(如新生儿念珠菌脑膜炎或免疫抑制患者的隐球菌性脑膜炎),但在非无菌标本中酵母菌的意义不确定。

核酸检测在真菌感染的诊断中尚未广泛应用,除了导致免疫功能低下患者感染的呼吸道病原肺孢子菌。耶氏肺孢子虫以前被归类为原生动物,被称为卡氏肺孢子虫,但DNA研究已将它重新归为酵母菌一类。已经有许多研究尝试开发有用的真菌抗原检测,但目前这些试验的价值有限,唯一的例外是对隐球菌感染的抗原试验。抗真菌药物的药敏试验不是常规应用的,并存在许多技术难关,大多数实验室仅做念珠菌对氟康唑的敏感性测试。

标本之旅:寄生虫学

寄生虫很大程度上是通过显微镜进行检查,其

准确识别需要技巧和经验。寄生虫是依赖于宿主生存的生物,广义上可分为原生动物和蠕虫生物。它们可以感染人体的任何部位,但最常见的是寄居在肠道内(如绦虫、蛲虫)。其他感染部位包括大脑(如弓形虫)、心(如锥虫)、肝脏(如变形虫)、肌肉(如旋毛虫)、红细胞(如疟原虫,疟疾病原体)和巨噬细胞(如利什曼原虫)。寄生虫感染的诊断方法取决于寄生虫的类型,但最常用的是显微镜检查。粪便标本通常需检测“寄生虫、孢囊、虫卵”,申请表上常简称为“P,C & O”。许多原生动物存在“激活”的生殖期和“静息”的孢囊期。请注意,可观察到溶组织内阿米巴的滋养体的最佳标本是“热的粪便”,采样后立即送到实验室。然而,粪便浓缩后更常见到的是阿米巴孢囊。不明原因的肝脓肿考虑侵袭性阿米巴病是重要的(至少在英国),血清学检测有助于诊断。在英国,蓝氏贾第鞭毛虫和微小隐孢子虫是两种地方性原虫感染,最常见的诊断是通过检测粪便中的孢囊。有经验的实验员在血涂片中很容易找到疟疾寄生虫,疟疾是一个限制返回的旅行者入境的重要诊断。血清学检查在某些寄生虫感染中 useful,如脑弓形虫病。

寄生虫学是微生物学的重要分支,其相对重要性与地理位置和患者种群的不同有关。在寄生虫感染罕见的地区,专家的建议(例如转到另一个相关实验室)往往是必需的。

技术问题

许多实验室检测技术的细节对于那些实验室工作人员来说是很重要的。然而,了解相关的原则可能有助于临床医生选择和解释检测方法。

抗原和毒素的检测

临床标本中,微生物的存在可以通过特定的抗原或毒素进行检测。抗原检测有三种常用的方法: EIA, LA 及 IF。这些方法都需使用一种针对预期抗原的单克隆抗体。请注意,正常人体对某种微生物的抗体反应涉及多克隆B细胞增殖为浆细胞从而产生多种特异性抗体(即多克隆抗体)。单克隆抗体是人为地从单克隆浆细胞获得的,因此是一种针对单一抗原决定簇的纯试剂(参见“感染与免疫”,第一部分)。抗原或毒素的诊断试剂盒的原理正是基于此。

1. 乳胶凝集法 在LA中,在乳胶颗粒上涂布单克隆抗体,颗粒表面抗原抗体交叉联结为粒子晶格,这是肉眼可见的(图C;文末彩图6)。

2. 免疫荧光 在 IF 中,临床标本涂布并固定在载玻片上。单克隆抗体(有荧光染料结合在上面)被滴加到片子上,并在合适的培养时间后,考虑范围内的单克隆抗体与抗原结合(如果存在),多余的液体被洗掉。染色情况用紫外光照射后在显微镜下可见(图 D;文末彩图 7)。

3. 酶联免疫分析 EIA 设计精确可以带来很大的不同。一些涉及应用塑料孔板,每孔可容纳几百微升的液体。针对抗原的特异性,单克隆抗体结合到塑料孔表面(这是一项简单的技术——这种表面

有时被称为“固相”)。将液体形式的临床标本添加到孔里并孵育。临床标本中的任何抗原都将被“识别”,并在这个孵育过程中与单克隆抗体结合。洗涤,多余的物质从固相上洗脱,然后添加含有抗原特异性的二抗的溶液到孔中。这二抗有酶标记,只有首次孵育后有相应的抗原,它才会结合到固相上(图 E)。经过进一步的洗涤步骤,如果有酶标单克隆抗体结合到固相上,可以通过添加底物进一步检测。需选择合适的底物从而获得简单可测的有颜色的产物。

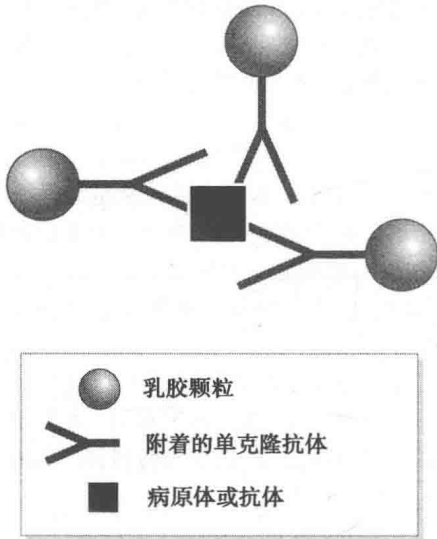


图 C 示抗体包被的乳胶粒子与抗原交联检测微生物

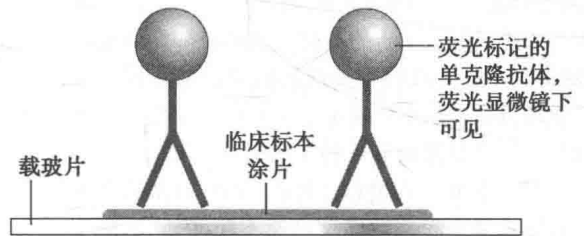


图 D 图示直接免疫荧光法检测抗原

核酸检测

由于临床标本中的特定微生物的核酸含量太低,难以被直接检测到,它需要被“增殖”或放大。核酸扩增的方法有多种,PCR 是最常用的。更常用的术语为核酸扩增试验 (NAAT),其应用包括一系列略有不同的方法(见本章后文)。NAAT 要求知道目标微生物的核苷酸序列。如果需要测定特定的微生物,所选的扩增序列需要有特异性,但在某些情况下,NAAT 可用于检测一个临床相关的毒力基因,如毒素基因。NAAT 需要在临床样本扩增后提取核酸,检测目的核酸序列。请注意,PCR 的敏感性高,要求在各个阶段都非常小心地处理样品(包括样本收集!)以确保不受可能会导致假阳性的核酸的交叉污染。实时 PCR(详细解释见后文)是 PCR 的一种,使更快速地检测临床

样本成为可能。

提取

首先,从待测标本中提取核酸,需要特别注意去除潜在的抑制剂,如降解 DNA 和 RNA 的核酸酶等酶类。

PCR 法扩增提取的核酸中的特异性序列

扩增需要两个不同的“引物”,寡核苷酸的长度通常为 15 ~ 20 个碱基,旨在结合到目标 DNA 的不同链的 5' 氨基末端。在 PCR 中,目标 DNA 的双链首先通过加热分离(变性),然后,温度降低使引物结合在其互补序列上(退火)。核酸合成从引物开始(延伸),在 Taq 聚合酶的作用下,逐一结合核苷酸匹配的模板链[腺嘌呤结合胸腺嘧啶(AT)和鸟嘌呤结合胞嘧啶(GC)],从而产生新的 DNA 互补链。新的 DNA 链合成的方向相反,均是从 5' 到 3' (图 F)。经过一系列的加热和冷却的“周期”(通常约 40 个循