

临 床 疾 病 血 生 化 检 验

李凤巧 赵忠峰 吕庆琳 李锦超 主 编



云南出版集团公司
云南科技出版社
· 昆明 ·

编委会名单

主 编 李凤巧 赵忠峰 吕庆琳
李锦超

前 言

医学检验是运用现代物理化学方法、手段进行医学诊断的一门学科,主要研究如何通过实验室技术、医疗仪器设备为临床诊断、治疗提供依据。通过系统学习,我们及时了解如何鉴定人的血型、确定一个人是否贫血、肝功能是否正常等等。该学科要求使用各种光电仪器及化学试剂完成实验分析,所以偏重理科,要求有较好的物理、化学基础。

本书内容主要介绍了临床医学生物化学检验的基础知识。重点对临床常见疾病的血生化检验技术作了较详细的叙述。如肝肾疾病、血浆脂类、心肌损伤标志物、肿瘤标志物、糖尿病、甲状腺、艾滋病毒的血生化检验等内容。同时还介绍了微生物学方面的检查:葡萄球菌属的检验、链球菌属的检验、肺炎链球菌的检验、奈瑟氏菌属的检验、厌氧性球菌的检验、弯曲菌属及血液的特殊检查。力求对实验室的血生化检验及微生物检查起指导作用。

由于时间仓促,水平有限,书中难免出现纰漏,敬请各位读者指正。

编 者



目 录

第一章 葡萄球菌属的检验	(1)
第一节 概 述	(1)
第二节 生物学性状	(3)
第三节 致病性	(6)
第四节 微生物检查法	(8)
第五节 防治原则	(11)
第二章 链球菌属的检验	(12)
第一节 生物学性状	(12)
第二节 致病性与免疫性	(15)
第三节 微生物学检查法	(17)
第四节 防治原则	(20)
第三章 肺炎链球菌的检验	(21)
第一节 生物学性状	(21)
第二节 致病性与免疫性	(24)
第三节 微生物学检查法	(25)
第四节 防治原则	(28)
第四章 奈瑟氏菌属的检验	(29)
第一节 脑膜炎奈氏菌	(29)
第二节 淋病奈氏菌	(36)
第五章 厌氧性球菌的检验	(41)
第一节 革兰氏阳性厌氧球菌	(41)
第二节 革兰氏阴性厌氧球菌	(43)



第六章 弯曲菌属的检验	(45)
第一节 分类学位置	(45)
第二节 生物学性状	(46)
第三节 致病性	(49)
第四节 微生物学检查法	(49)
第七章 血液特殊检查	(53)
第一节 网织红细胞计数	(53)
第二节 血细胞比容测定	(56)
第三节 红细胞平均值计算	(58)
第四节 红细胞平均直径和红细胞直径曲线测定	(60)
第五节 嗜碱性点彩红细胞计数	(61)
第六节 嗜酸性粒细胞直接计数	(62)
第七节 红细胞沉降率测定	(65)
第八节 红斑狼疮细胞检查	(69)
第八章 肝胆疾病的血生化检验	(71)
第一节 肝脏的解剖与生理	(71)
第二节 肝脏的生化代谢	(72)
第三节 肝脏的生物转化作用	(75)
第四节 肝胆代谢异常及生物化学	(77)
第五节 常见肝脏疾病的血生化检验	(81)
第六节 肝脏生化检测指标的质量控制	(85)
第九章 血浆脂类血生化检验	(88)
第一节 血浆脂蛋白代谢的主要成分	(88)
第二节 常用脂类分析生化项目	(97)
第三节 脂类分析测定的标准化控制	(101)
第十章 心肌损伤标志物的血生化检验	(107)
第一节 标志物的应用指标	(107)



第二节	心肌标志物种类	(108)
第三节	心肌损伤标志物早期诊断	(111)
第四节	心肌损伤标志物确诊诊断	(113)
第五节	心肌标志物的质量检测	(117)
第六节	新心肌标志物的检测	(119)
第十一章	肾脏疾病血生化检验	(123)
第一节	肾脏功能血生化检验项目概述	(123)
第二节	肾小球损伤的血生化检测	(132)
第三节	肾小管损伤血生化检测	(137)
第十二章	肿瘤标志物的血生化检验	(142)
第一节	概 述	(142)
第二节	肿瘤标志物分类概述	(144)
第三节	肿瘤标志物的联合应用	(155)
第四节	肿瘤标志物的质量控制	(156)
第五节	肿瘤标志物的筛查	(158)
第十三章	糖尿病的血生化检验	(162)
第一节	糖尿病的分类概述	(162)
第二节	糖尿病的诊断指标	(166)
第十四章	甲状腺疾病的血生化检验	(179)
第一节	甲状腺功能紊乱	(180)
第二节	甲状腺功能紊乱诊断指标评价	(182)
第十五章	酶联免疫吸附剂的测定	(191)
第一节	酶联免疫吸附剂的测定实验原理	(191)
第二节	ELISA 的自动化——ELISA 处理系统	(199)
第三节	固相酶的免疫测定	(204)
第十六章	肝炎病毒的血生化检验	(211)
第一节	甲型肝炎病毒检验	(211)



第二节	乙型肝炎病毒检验	(212)
第三节	丙型肝炎病毒检验	(218)
第四节	丁型肝炎病毒检验	(219)
第五节	戊型肝炎病毒检验	(220)
第六节	庚型肝炎病毒检验	(220)
第十七章	艾滋病毒的血生化检验	(222)
第一节	概 述	(222)
第二节	常用的 HIV 抗体检测	(224)
第三节	WHO 艾滋病的诊断及检测	(224)
第十八章	特种蛋白免疫浊度分析检测	(227)
第一节	特种蛋白的免疫浊度分析	(227)
第二节	特种蛋白的临床应用	(242)
第三节	特种蛋白免疫比浊测定	(255)
第十九章	自身抗体及其检测	(259)
第一节	自身抗体概论	(259)
第二节	自身抗体的检测方法	(261)
第三节	组织非特异性自身抗体检测	(268)
第四节	自身抗体与相关疾病	(279)
第五节	自身抗体检测的标准化	(289)



第一章 葡萄球菌属的检验

第一节 概 述

球菌种类很多,根据革兰氏染色性的不同,可分为革兰氏阳性球菌与革兰氏阴性球菌两类。

革兰氏阳性球菌:包括葡萄球菌、链球菌、肺炎球菌、四联球菌和八叠球菌等。

革兰氏阴性球菌:包括脑膜炎球菌、淋球菌、卡他布兰汉氏菌、干燥球菌及黄色球菌等。

对人有致病性的球菌称病原性球菌,因能引起机体化脓性炎症,故又称化脓性球菌。

主要包括葡萄球菌、链球菌、肺炎球菌、脑膜炎球菌、淋球菌。病原性球菌均无鞭毛和芽孢,少数可形成荚膜。

葡萄球菌广泛分布自然界中,如土壤、空气、水及日用品。在人、动物的皮肤表面、鼻腔、咽部、肠道等处也经常存在。葡萄球菌属在新版《伯氏系统手册》已增加至 20 个菌种,从人体上发现的有十几个种见表 1。

表 1

葡萄球菌属分类对比

鉴定手册(1974)	伯氏系统手册(1986)
金黄色葡萄球菌	金黄色葡萄球菌金 黄色亚种 ^{△c+} (S. aureus subsp. aureus)

续表 1

鉴定手册(1974)	伯氏系统手册(1986)	
(<i>S. aureus</i>)	金黄色葡萄球菌 氧亚种(1985) e ⁺	(<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>)
中间型葡萄球菌 e ⁺	(<i>S. intermedius</i>)	
产色葡萄球菌(1986) e ⁺	(<i>S. chromogenes</i>)	
家畜葡萄球菌(1986) e ⁺	(<i>S. hyicus</i>)	
表皮葡萄球菌 (<i>S. epidermidis</i>)	表皮葡萄球菌 [△]	(<i>S. epidermidis</i>)
	头状葡萄球菌 [△]	(<i>S. capitis</i>)
华纳氏葡萄球菌 [△]	(<i>S. warneri</i>)	
人型葡萄球菌 [△]	(<i>S. homolyticus</i>)	
溶血葡萄球菌 [△]	(<i>S. haemolyticus</i>)	
耳葡萄球菌(1983) [△]	(<i>S. auricularis</i>)	
解糖葡萄球菌 [△]	(<i>S. saccharolyticus</i>)	
腐生葡萄球菌 (<i>S. saprophyticus</i>)	腐生葡萄球菌 [△]	(<i>S. saprophyticus</i>)
	孔氏葡萄球菌 [△]	(<i>S. cohnii</i>)
	木糖葡萄球菌 [△]	(<i>S. xylosus</i>)
	透镜状葡萄球菌	(<i>S. lentus</i>)
	松鼠葡萄球菌 [△]	(<i>S. sciuri</i>)
	解酪葡萄球菌	(<i>S. caseolyticus</i>)
	模仿葡萄球菌 [△]	(<i>S. simulans</i>)
	粉红色葡萄球菌	(<i>S. carnosus</i>)

[注] △:在人体可发现的葡萄球菌; C⁺凝固酶阳性葡萄球菌

临床上常见仍为金色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、腐生葡萄球菌。过去除金黄葡萄球菌外,其余被认为是非致病葡萄球菌,而现在已证明越来越多的感染由此引起,如菌血症、感染性心内膜炎、静脉导管感染等。所以被认为是机会致病菌。腐生葡萄球菌已证



明确是青年人中引起尿道感染的常见菌之一。在检验工作中应注意鉴定。

第二节 生物学性状

一、形态与染色

典型葡萄球菌呈球形,直径 $0.4 \sim 1.2\mu\text{m}$,大小不一,平均 $0.8\mu\text{m}$ 。致病性葡萄球菌菌体一般较非致病菌菌体为小,且各个菌体的大小及排列也较整齐,在固体培养基上的形态常呈葡萄串状排列;但在液体培养基中可呈单个、成双或短链状排列;在脓汁标本中常呈单个散在或少数堆集如葡萄串状(图1)。

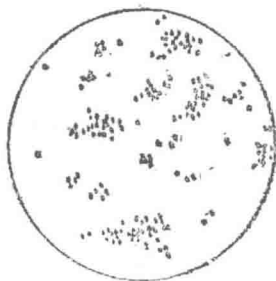


图1 葡萄球菌

葡萄球菌无鞭毛,无芽孢,一般不形成荚膜,易被碱性染料所着色,革兰氏染色阳性,当菌体幼,老或死亡后可变为革兰氏阴性。

二、培养特性

本菌多数为需氧或兼性厌氧,对营养要求不高,在普通培养基上即能生长。在20%二氧化碳环境中,有利于毒素的产生。最适温度为 37°C ,最适 pH 为 7.4。某些菌株耐盐性强,在含 7.5% ~ 15% 氯化钠的培养基中仍能生长,葡萄球菌在各种常用培养基上生长特点如下。



1. 肉汤培养基

在肉汤中生长迅速(经 37°C 18 ~ 24 小时),呈均匀混浊,并有部分细菌沉淀于管底,摇动易散。

2. 普通琼脂平板

经 37°C 24 小时培养可形成圆形、凸起、边缘整齐、表面光滑、湿润、有光泽、不透明的菌落,菌落直径一般为 1 ~ 2mm,但也有大至 4 ~ 5mm 的。

3. 血液琼脂平板

形成较大的菌落,多数致病性葡萄球菌能产生溶血毒素,使菌落周围红细胞溶解而形成透明的溶血环,非致病性葡萄球菌则无此现象。

葡萄球菌在固体培养基上,因菌种不同而产生不同的色素,如金黄色、白色及柠檬色,此种色素为脂溶性,不溶于水,此种色素只限于菌落肉,不渗透至培养基中。葡萄球菌在氧气充足和在 20°C 下或在含糖类、牛乳、血清等固体培养基上色素形成最好。

4. 高盐甘露醇血平板

由于葡萄球菌耐盐性强,现常用甘露醇高盐培养基作为葡萄球菌选择性培养基。分解甘露醇的葡萄球菌菌落呈淡橙黄色,大部分革兰氏阴性杆菌在此培养基上不生长。

5. 卵黄高盐琼脂平板

由于致病性葡萄球菌能产生卵磷脂酶,在此培养基上其菌落周围形成白色沉淀圈。

三、生化反应

葡萄球菌生化反应不规则,大多数菌株能分解葡萄糖、麦芽糖和蔗糖,产酸不产气。致病性葡萄球菌在厌氧条件下使甘露醇酵解产酸,而致病性葡萄球菌无此作用。

四、分类

葡萄球菌的分类以往主要根据菌落的色素分为金黄色、白色



及柠檬色兰类。近年来根据其生化性状的不同分为金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌,其鉴别点见表2。

表2 葡萄球菌三个种的鉴别

试验	金黄色	表皮	腐生
	葡萄球菌	葡萄球菌	葡萄球菌
血浆凝固酶	+	-	-
甘露醇发酵	+	-	-
抗生素敏感试验	S	S	R
A 蛋白	+	-	-

五、抗原构造

葡萄球菌经水解后,用沉淀反应法分析可得2种抗原:

1. 蛋白质抗原

主要为葡萄球菌A蛋白(SPA),为一种表面抗原,存在于细胞壁表面,90%以上的金黄色葡萄球菌有此抗原,所有来自人的菌株均有这种A蛋白,而来自动物的菌株则少见。SPA可与人及多种动物的IgG分子中的Fc段发生非特异性结合,而IgG分子的Fab段则与抗原发生特异性结合。故可利用此种结合反应作为简易快速的诊断方法。如用于细菌、病毒的定群或定型,各种抗原或抗体的检测等。

2. 多糖类抗原

为半抗原,存在于细胞壁上,是一种金黄色葡萄球菌的重要抗原,有型特异性。其抗原决定簇为磷壁酸中核糖醇单位。此抗原可用于葡萄球菌的分型。

六、抵抗力

葡萄球菌抵抗力较强,在干燥脓汁中能生存数月,湿热80℃30~60分钟才被杀死。在5%石炭酸、0.1%升汞中10~15分钟死亡。耐盐性强,在含7.5%~15%氯化钠的培养基中能生长,但对



某些染料比较敏感,如培养基中合 1/20 万龙胆紫即可抑制其生长。对磺胺类药物的敏感性较低;对红霉素、链霉素、氯霉素及四环素等均较敏感,但近年来耐药菌株逐年增多,对青霉素 G 耐药菌株选 90% 以上。

第三节 致病性

人类对葡萄球菌的感染有一定的抵抗力,但当机体抵抗力减弱或皮肤粘膜受损则易被感染,可引起毛囊炎,疖、痈、伤口化脓、中耳炎等局部感染,并还可引起骨髓炎,脑脓肿、脑膜炎;侵入血流引起致病症及脓毒血症等,菌群失调后又可引起肠炎。产生肠毒素葡萄球菌能引起食物中毒。葡萄球菌致病力的强弱与其产生毒素及酶类有关。

一、溶血毒素

多数致病性葡萄球菌能产生溶血毒素,使血平板上菌落周围出现溶血现象;在盛有细胞悬液的试管中亦具溶血作用。溶血毒素根据其对动物红细胞的溶解范围,抗原性以及溶解红细胞所需温度的不同,可分成 5 种。

1. 甲型(α)溶血毒素

α 溶血毒素在 37℃ 能溶解家兔红细胞,绵羊红细胞次之,不溶解人红细胞。在家兔或绵羊血平板上形成大且透明的溶血环,对人有致病性的葡萄球菌多产生 α 溶血毒素,其毒素作用为损伤血小板,能使局部小血管收缩,导致局部缺血和坏死。如以此毒素注射家兔皮下,可致坏死;若静脉注射则易造成死亡。 α 溶血毒素经甲醛处理后,可制成类毒素,用于葡萄球菌感染的预防和治疗。

2. 乙型(β)溶血毒素

β 溶血毒素其溶解绵羊或牛红细胞,不溶解家兔和人红细胞,



在绵羊血平板上产生大不完全溶血的环,如将血平板培养物置于室温或4℃过夜,则呈完全溶血,因称冷热溶血现象;对动物有致病的葡萄球菌多产生此型毒素。

3. 丙型溶血毒素

有人认为丙型溶血毒素与甲型溶血毒素作用相类似,但抗原性不同,对小鼠有致死毒性。

4. 丁型溶血毒素

丁型溶血毒素能溶解多种动物红细胞,但需在大气中增加CO₂含量。它溶解绵羊、家兔、人三种红细胞后,在血平板上形成狭窄透明的溶血环,对人或动物致病的葡萄球菌株有些可产生此型毒素。

5. 成型溶血毒素

一般产生于凝固酶阴性的表皮葡萄球菌中。多数葡萄球菌能同时产生α和β两种溶血毒素,自人分离的葡萄球菌主要产生α溶血毒素;来自动物的主要产生β溶血毒素而不产生α溶血毒素。

二、肠毒素

金黄色葡萄球菌的某些溶血菌株能产生一种引起急性胃肠炎的肠毒素,此种菌株污染牛奶、肉类、鱼虾、糕点等食物后,在室温(20℃以上)下经8~10小时能产生大量毒素,人摄食该菌污染的食物2~3小时后可引起中毒症状。目前,发现肠毒素有A、B、C₁、C₁、D、E等型。6型肠毒素具有不同的血清学特性,其中以A型引起的食物中毒最多,B型和C型次之,肠毒素是一种可溶性蛋白质,耐热。100℃煮沸30分钟不被破坏,对胰蛋白酶有抵抗作用;可致人、猫、猴急性胃肠炎症状。食物中毒病人的标本,可用动物幼猫经口测定肠毒素的存在。

三、杀白细胞素

大多数致病性葡萄球菌能产生,它能破坏人或兔的粒细胞,可用美蓝还原试验来测定之。它有抗原性,不耐热,能通过细菌滤



器。可使粒细胞脱粒。杀白细胞素的抗体能阻止葡萄球菌感染的复发。

四、血浆凝固酶

是一种能使经过枸橼酸钠或肝素抗凝的家兔或人的血浆凝固的酶。大多数致病性葡萄球菌能产生此酶,而非致病菌不产生。因此,凝固酶是鉴别葡萄球菌有无致病性的重要指标。

致病性葡萄球菌尚具有使家兔、小鼠致死毒素、皮肤坏死毒素、表皮剥脱毒素,DNA 酶与耐热核酸酶,溶纤维蛋白酶、透明质酸酶、磷酸酶、卵磷脂酶等。对上述不同酶类作测定有助于对致病性葡萄球菌的识别。此外,有的葡萄球菌尚能产生红疹毒素,引起葡萄球菌性猩红热。

五、剥脱性肠毒素

又称表皮溶解毒素,约 50% 的金黄葡萄球菌可产生此毒素,能使表皮内连接细胞层裂开,发生烫伤样皮肤综合征,主要发生于婴儿;成人则见于免疫功能低下和患有代谢缺陷的人。

六、中毒性休克综合征毒素

是一种类似肠毒素的物质,曾称为肠毒素 F,后改称为中毒性休克综合征毒素,因它不引起胃肠炎,而引起中毒性休克,对胰酶有抵抗力,在 pH4.5 时能被胃蛋白酶消化。

第四节 微生物检查法

一、标本采集

根据不同的病症采取不同的标本,如脓汁,血液、脑脊液,粪便、呕吐物或食物中毒病人的剩余食物。



二、检验程序(图2)

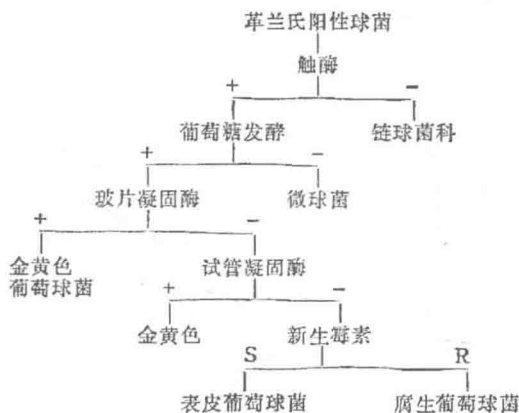


图2 葡萄球菌检验程序

三、检验方法

1. 直接涂片与革兰氏染色

取脑脊液、脓汁离心沉淀物,直接涂片,行革兰氏染色后镜检,根据形态、排列和染色性可做出初步判断。但要确诊还需培养进一步鉴定。

2. 培养

脓汁、脑脊液,一般于涂片前先接种予血平板或含硫酸镁、对氨苯甲酸血平板。肠炎病人粪便标本,接种高盐甘露醇琼脂平板。经37℃24小时培养后,观察菌落形态、性状、溶血及色素等产生情况,并作涂片染色,如为葡萄球菌,进一步鉴定;血液:败血症病人,须抽取静脉血液5ml,注入50ml葡萄糖肉汤培养基,若病人已服用过磺胺药或抗生素,需用含有对氨苯甲酸,硫酸镁肉汤增菌,将肉汤置37℃培养,一般于12~24小时开始观察生长情况,致病性葡萄球菌呈均匀混浊、溶血及冻胶状生长,着无菌生长,于48小时、72小时再行观察,并移种血平板,若有菌生长,则进一步鉴定。葡萄球菌的鉴定过程分两个主要步骤:首先与其他阳性球菌鉴别,除



葡萄球菌属外,还有链球菌属和微球菌属。

(1)与微球菌鉴别:在镜下葡萄球菌以葡萄状排列为主,菌体较少发酵,葡萄糖产酸试验阳性;微球菌以联排列为主,菌体较大。发酵葡萄糖产酸试验阴性。

(2)与链球菌鉴别:因为脓汁中或液体培养中的葡萄球菌多成双或短链,误认为链球菌。两者主要鉴别是葡萄球菌触酶试验阳性,链球菌则为阴性。

(3)葡萄球菌三个种的鉴别:见表2。

3. 肠毒素检查

食物标本中分离出病原性葡萄球菌时,应检查其能否产生肠毒素,确定它是否为食物中毒的病原菌。检查肠毒素的动物试验方法:

(1)将病人呕吐物、类便或剩余食物等接种于高盐甘露醇血平板,经培养后,选取淡橙黄色菌落接种肉浸液作纯培养,于37℃经5日培养,使它产生毒素。亦可取从食物中毒标本中分离的致病性葡萄球菌接种肉浸液,37℃培养5日使产生肠毒素。

(2)将肉浸液培养物隔水煮沸30分钟,杀死细菌、破坏其他毒素,经离心沉淀后,取用上清液。

(3)注射前应先给幼猫饲喂少量食物,以便观察结果。取上述已备好的上清液,接幼猫体重每100gml量,腹腔注射或用喂饲法。仔细观察结果,如有肠毒素存在,幼猫于注射后15分钟至2小时内(常在30分钟内),发生呕吐、腹泻、畏寒、体温上升等症状,经4~5小时后逐渐恢复正常。实验同时应以经过同样处理的未接种细菌培养基的上清液作对照。若对照猫阴性,而实验猫出现上述反应,则证明有肠毒素。另外,还应注意幼猫经一次试验后,不能再用。若无幼猫,亦可用大猫,注射量酌量加大,但成年猫敏感性低。也可直接取食物标本的稀释液(10-1~10-2)加热处理,进行动物试验检查肠毒素。由于动物试验费时费钱,且难定量,故近年来倾