

# 临床常见微生物 鉴定指南

LINCHUANG CHANGJIAN WEISHENGWU JIANDING ZHINAN



杨守磊 主编

天津出版传媒集团

◆ 天津科技翻译出版有限公司

# 临床常见微生物 鉴定指南

杨守磊 主编

天津出版传媒集团



天津科技翻译出版有限公司

---

图书在版编目(CIP)数据

临床常见微生物鉴定指南/杨守磊主编. —天津:天津科技翻译出版有限公司,2013.8

ISBN 978-7-5433-3293-5

I. ①临… II. ①杨… III. ①微生物学-医学检验-指南 IV. ①R446.5-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 201577 号

---

出 版:天津科技翻译出版有限公司

出 版 人:刘 庆

地 址:天津市南开区白堤路 244 号

邮 政 编 码:300192

电 话:(022)87894896

传 真:(022)87895650

网 址:www.tsttpc.com

印 刷:天津市方正汇智彩色印刷技术有限公司

发 行:全国新华书店

版本记录:787×1092 16 开本 22.25 印张 550 千字

2013 年 8 月第 1 版 2013 年 8 月第 1 次印刷

定价:48.00 元

(如发现印装问题,可与出版社调换)

# 作者简介



杨守磊

男, 35岁, 大学本科, 于泰山医学院附属新泰市人民医院从事医学检验工作二十余年, 工作经验丰富, 在省级以上刊物发表论文25篇, 出版专业著作3部。

## 序言

《实用临床微生物鉴定指南》即将在近期出版,本书共分四部分,分别涉及临床常见微生物的基础知识介绍;微生物标本的规范化采集、运送和处理;病原菌的分离和鉴定标准程序;抗菌药物敏感性试验的标准化;医院感染监测的规范化操作;临床微生物检验的质量控制;抗菌药物临床应用管理及细菌耐药机制等数十个专题。

随着微生物抗菌药物专项整治活动的开展,微生物检验进入了一个快速发展的时期,对微生物检验人员的技术水平提出了更高的要求,微生物检验人员不仅要了解本专业的知识,更需要了解与治疗感染相关的专业知识,以便于临床上更好地进行沟通。本书在经验交流篇中对相关内容进行了详细的阐述。

本书的撰写参考了大量的国内外文献,内容丰富、结合实际、深入浅出、层次分明、实用性强,可以作为广大临床微生物检验工作者的指导用书,对微生物学检验专业初入门者来说,也是一本很好的标准化的培训教材,对其微生物检验水平的提高必将起到重要的作用。

金英  
2013年5月

## 前言

鉴于目前临床对于抗生素的规范化使用及要求越来越严格,临床微生物的诊断越来越凸显其地位的重要性,本书旨在科学、实用、简明扼要,着力于基层微生物检验人员,具有较高的实用性,可作为基层医院微生物室常规工作的学习手册,还可作为微生物检验初学者和进修者的培训教材,是一本快速入门的参考书。

本书主要介绍临床工作中常见的微生物的鉴定、形态、培养特性;微生物标本的采集、处理;常用生化反应、培养基的配制;抗菌药物敏感性试验方法及耐药检测等内容。

本书在编写的过程中,省立医院金炎老师及微生物室的各位老师给予了极大的支持,提出了大量宝贵的意见和建议,在此对你们的帮助和教导表示感谢。同时感谢 2013 年在省立医院微生物室进修的同事在工作和生活中给予的帮助和支持。

由于作者时间仓促,水平有限,经验不足,书中错误不当与疏漏之处在所难免,衷心希望专家、同行们不吝赐教,批评指正。

编 者

# 目录

## 第一篇 基础篇

### 第一章 革兰阳性球菌

- 第一节 金黄色葡萄球菌 05
- 第二节 藤黄微球菌 07
- 第三节 化脓性链球菌 08
- 第四节 肺炎链球菌 10
- 第五节 粪肠球菌 11

### 第二章 革兰阴性球菌

- 第一节 脑膜炎奈瑟菌 14
- 第二节 淋病奈瑟菌 15
- 第三节 卡他布莫拉菌 17

### 第三章 革兰阳性杆菌

- 第一节 革兰阳性杆菌的鉴定 19
- 第二节 白喉棒状杆菌 20
- 第三节 假白喉棒状杆菌 21
- 第四节 产单核细胞李斯特菌 22
- 第五节 猪红斑丹毒丝菌 23
- 第六节 马红球菌 24
- 第七节 炭疽芽胞杆菌 25
- 第八节 蜡样芽胞杆菌 26



## 第九节 枯草芽胞杆菌 27

# 第四章 革兰阴性杆菌

- 第一节 肠杆菌科鉴定指南 31
- 第二节 大肠埃希菌 31
- 第三节 肠出血型大肠埃希菌 33
- 第四节 伤寒沙门菌 34
- 第五节 福氏志贺菌 36
- 第六节 肺炎克雷伯菌 38
- 第七节 产气肠杆菌 40
- 第八节 阴沟肠杆菌 41
- 第九节 黏质沙雷菌 42
- 第十节 普通变形杆菌 44
- 第十一节 弗劳地枸橼酸杆菌 45
- 第十二节 摩根摩根菌 46

# 第五章 弧菌科

- 第一节 霍乱弧菌 48
- 第二节 类志贺邻单胞菌 50
- 第三节 嗜水气单胞 51

# 第六章 非发酵革兰阴性杆菌

- 第一节 非发酵革兰阴性杆菌的鉴定指南 54
- 第二节 铜绿假单胞菌 57
- 第三节 洋葱伯克霍德菌 59
- 第四节 嗜麦芽窄食单胞菌 60
- 第五节 粪产碱杆菌 62
- 第六节 鲍曼不动杆菌 63

# 第七章 革兰阴性苛养菌

- 第一节 流感嗜血杆菌 65
- 第二节 羊布鲁菌 68
- 第三节 多杀巴斯德菌 69
- 第四节 阴道加特纳菌 70

# 第八章 厌氧菌

- 第一节 破伤风梭菌 71
- 第二节 产气荚膜梭菌 73



## 第九章 结核分枝杆菌属和诺卡菌属

- 第一节 结核分枝杆菌 75
- 第二节 麻风分枝杆菌 75
- 第三节 星形诺卡菌 76

## 第十章 支原体和衣原体

- 第一节 肺炎支原体 77
- 第二节 沙眼衣原体 78

## 第十一章 螺旋体

- 第一节 苍白螺旋体 80
- 第二节 回归热疏螺旋体 81
- 第三节 钩端螺旋体 82

## 第十二章 临床常见的真菌

- 第一节 白色念珠菌 83
- 第二节 热带念珠菌 84
- 第三节 克柔念珠菌 84
- 第四节 光滑念珠菌 85
- 第五节 新型隐球菌 86
- 第六节 烟曲霉菌 86
- 第七节 黄曲霉 87
- 第八节 黑曲霉 88
- 第九节 土曲霉 88
- 第十节 马尔尼菲青霉 89

## 第十三章 L型细菌 91

# 第二篇 技术篇

## 第一章 临床标本的采集与处理

- 第一节 标本的采集与处理原则 95
- 第二节 血液及骨髓标本的采集与处理 99
- 第三节 泌尿生殖道标本的采集与处理 104
- 第四节 粪便标本的采集与处理 114
- 第五节 呼吸道标本的采集与处理 118

- 第六节 脓液及创伤感染分泌物标本的采集与处理 127
- 第七节 穿刺液标本的采集与处理 130
- 第八节 脑脊液标本的采集与处理 136
- 第九节 眼标本的采集与处理 138
- 第十节 耳、鼻、喉标本的采集与处理 141
- 第十一节 导管标本的采集与处理 141
- 第十二节 真菌感染标本的采集与处理 147
- 第十三节 组织标本的采集与处理 151

## 第二章 临床微生物的形态特点和培养特性 154

## 第三章 临床微生物鉴定常用的生化反应 159

## 第四章 临床微生物鉴定常用的培养基与试剂 171

- 第一节 临床微生物鉴定常用培养基的配制 171
- 第二节 临床微生物鉴定常用的试剂 180

# 第三篇 疑难篇

- 第一章 抗菌药物临床应用的基本原则 193
- 第二章 抗菌药物临床应用的管理 202
- 第三章 各类抗菌药物的分类和注意事项 204
- 第四章 各类细菌性感染的治疗原则及病原治疗 225
- 第五章 常规药敏试验药物选择原则 255
- 第六章 抗菌药物敏感性试验方法 265
- 第七章 抗真菌药物敏感性试验 282
- 第八章 细菌耐药性检测 284

## 第四篇 经验交流篇

- 第一章 常见标本的基本处理原则 293
- 第二章 各种标本的涂片检验程序 297
- 第三章 院内感染监测标本的处理程序 303
- 第四章 微生物检验结果报告程序 309
- 第五章 卫生部耐药性监测药物的选择及特殊细菌的处理 312
- 第六章 室间质控的操作步骤 314
- 第七章 药敏试验结果解读及临床应用 316
- 第八章 与临床沟通常见的问题 323
- 第九章 标本涂片革兰染色在临床微生物检验中的作用 326
- 第十章 微生物鉴定常用生化反应简表 328
- 第十一章 抗生素分类及临床作用简易表 333
- 第十二章 细菌天然耐药简易表 336
- 第十三章 微生物常见细菌的临床意义简易表 337



革兰阳性球菌在自然界分布广泛,存在于自然环境,人体和动物的皮肤黏膜部位,可引起多种局部化脓性或全身感染,如皮肤感染、脓肿、丹毒、蜂窝组织炎、伤口感染、咽喉炎、肺炎、脑膜炎、泌尿系统感染、菌血症和败血症等。近年来引起的感染日趋复杂,临床诊治更为困难,需临床微生物学实验室对感染细菌做出正确和快速鉴定。

革兰阳性球菌是指一群需氧、兼性需氧、微需氧或专性需氧的细菌。大多数为条件致病菌,种类较多。在鉴定上较为复杂,一般临床实验室对该群细菌初步分群的主要依据为:观察菌落的生长特征,如大小、形状、色素、溶血、气味、生长速度等,和显微镜下菌体的大小、形态、排列方式、染色反应,有无荚膜、鞭毛、芽孢等,再结合触酶试验、氧化酶试验、氧化发酵试验、血清学试验,及对一些药物的敏感性试验等加以区分。但可根据溶血、形态染色和触酶试验进行初步鉴定。

### 一、革兰阳性球菌的基本特征

在血琼脂平板上生长,但在麦康凯、伊红亚甲蓝、中国蓝琼脂平板上不生长,提示为革兰阳性球菌。但有些非发酵菌(如:艾肯菌属、金氏杆菌属、心杆菌属等)在麦康凯平板上也不生长。

### 二、革兰阳性球菌的基本鉴定试验要求

触酶试验是鉴定革兰阳性球菌的重要试验(任何革兰阳性球菌必须先做触酶试验),此试验不宜碰到血琼脂,因为红细胞内含有过氧化物酶,操作过程中若沾染红细胞可造成假阳性。

凝固酶试验是鉴定葡萄球菌的重要试验,此试验有玻片法和试管法。须注意以下几点。

1. 有些葡萄球菌(昂和葡萄球菌、施氏葡萄球菌)凝固酶试验玻片法阳性,试管法验证阴性,因其产生聚集因子。有些金黄色葡萄球菌玻片法阴性,试管法阳性,因该金黄色葡萄球菌无结合凝固酶,有游离凝固酶。

2. 试验可使用 EDTA 抗凝的兔血浆,不能使用枸橼酸盐抗凝,因为有些细菌可分解枸橼酸盐,可出现假阳性。

3. 高盐甘露醇琼脂平板上的菌落不能用于凝固酶试验,因高盐可致菌体自凝。



### 三、作为推测性鉴定的重要试验

#### 1. 菌落特征

①溶血:血平板上的溶血有助于一些细菌的初步鉴定,如金黄色葡萄球菌、链球菌属等。

$\alpha$ 溶血: $\alpha$ 溶血使菌落周围的血液部分溶解,其结果是菌落周围有一个草绿色的环,疑似肺炎链球菌和草绿色链球菌。

$\beta$ 溶血: $\beta$ 溶血菌落周围的血液完全溶血,是由于红细胞完全被溶解所致,如A群 $\beta$ 溶血链球菌(化脓性链球菌)产生宽阔清晰的溶血环;B群 $\beta$ 溶血链球菌(无乳链球菌)和产单核细胞李斯特菌产生一个狭窄的分散溶血环。

②卫星现象:乏养菌属。

#### 2. 镜下形态

①革兰阳性球形、葡萄状、单个、成双的疑似葡萄球菌属。

②革兰阳性球状、球杆状、链状(短链)排列、链的长短不一(液体培养基中为长链,固体培养基中为短链,短链由4~8个细菌组成、长链可达20~30个)的疑似链球菌属。

③革兰阳性矛头状、成双或短链排列的疑似肺炎链球菌。

④革兰阳性球杆状、成双、链状的疑似乳球菌属、明串珠球菌属、格鲁比卡菌属等。

⑤革兰阳性球状、球杆状的疑似乏养菌属等。

⑥革兰阳性球状、成双、链状、成簇的疑似气球菌属、孪生球菌属、创伤球菌属、片球菌属等。

⑦革兰阳性球杆状、成双、四联状的疑似差异球菌属等。

⑧革兰阳性球状、成双、成簇的疑似口腔球菌属等。

⑨革兰阳性球状、成簇、四联状的疑似微球菌属等。

通常:溶血孪生球菌扁平的侧面相邻,常是双球状。

#### 3. 触酶试验

①触酶试验阴性的革兰阳性球菌:金黄色葡萄球菌厌氧亚种、解糖葡萄球菌、链球菌属、肠球菌属、乏养菌属、气球菌属、狡诈球菌属、费克蓝姆菌属、孪生球菌属、格鲁比卡菌属、创伤球菌属、懒惰球菌属、乳球菌属、明串珠球菌属、足球菌属等。

②触酶试验阳性的革兰阳性球菌:葡萄球菌属、微球菌属、口腔球菌属动球菌属、克氏考可菌属、差异球菌属等。

4. 凝固酶试验 凝固酶试验阳性的葡萄球菌:金黄色葡萄球菌金黄色亚种、金黄色葡萄球菌厌氧亚种、施氏葡萄球菌聚集亚种、中间葡萄球菌、*S. Lutrae*、猪葡萄球菌(11%~89%阳性)。值得注意的是,如果菌落特征、镜下形态符合葡萄球菌、触酶阴性,应先用准确的方法作凝固酶试验,阳性为金黄色葡萄球菌厌氧亚种,阴性再进一步鉴定。

5. 高盐甘露醇试验 高盐甘露醇试验阳性的葡萄球菌为金黄色葡萄球菌。但

有报道,少见的葡萄球菌也能分解高盐甘露醇,故应用凝固酶试验验证。

6. CAMP 试验 CAMP 试验阳性的革兰阳性球菌: B 群(无乳)链球菌。

7. 杆菌肽敏感试验 杆菌肽敏感的革兰阳性球菌: A 群链球菌(化脓性链球菌)。

8. Optochin 试验 Optochin 试验阳性的革兰阳性球菌: 肺炎链球菌。

9. 吡咯烷酮芳基酰胺酶(PYR) 试验阳性的革兰阳性球菌: 肠球菌、化脓链球菌、草绿色气球菌和某些凝固酶阴性葡萄球菌等。直接取细菌培养物,涂在含有 PYR 的纸片上,置 35℃ 孵育 5min,滴加显色剂若阳性则可显红色,无颜色改变为阴性。

## 第一节 金黄色葡萄球菌

### 一、形态与染色

革兰阳性球菌,直径为 0.5~1.5 $\mu\text{m}$ ,成单、双、短链或不规则排列,形似葡萄串状。在液体培养基或脓液标本中,往往排列成双或短链,易误认为链球菌。菌血症或败血症患者血标本直接涂片查见革兰阳性球菌。无鞭毛、无芽孢、一般不形成荚膜。

### 二、培养特性

最适温度 35~37℃,在普通琼脂平板上经 18~24h 培养,可见圆形、凸起、表面光滑湿润、边缘整齐,直径 1~2mm 的菌落,在血琼脂平板上的典型菌落为金黄色,周围有明显的  $\beta$  溶血环,部分菌落也可呈灰白色或柠檬色。在高盐甘露醇平板上呈淡橙黄色菌落。表皮葡萄球菌在血琼脂平板上菌落为白色或柠檬色,不溶血。

### 三、生化反应

触酶试验阳性,分解葡萄糖、麦芽糖、蔗糖和甘露醇,不分解棉子糖和水杨苷,明胶、血浆凝固酶和 DNA 酶试验阳性,七叶苷试验阴性,VP 阳性,脲酶试验阳性,对新生霉素敏感。

### 四、鉴别要点

1. 本菌的特征 革兰阳性球菌,呈葡萄状排列,触酶试验阳性。在血琼脂平板上菌落呈金黄色或白色,革兰阳性球菌, DNA 酶和血浆凝固酶试验均阳性,发酵甘露醇。

2. 与微球菌属的鉴别 葡萄球菌属葡萄糖 O/F 试验为发酵型,镜下以葡萄状排列为主,菌体较小,而微球菌属为氧化型或无反应,镜下以四联排列为主,且菌体较大。

3. 与链球菌属的鉴别 葡萄球菌属葡萄糖 O/F 试验为发酵型,触酶试验阳性,链球菌属葡萄糖 O/F 试验为氧化型,触酶试验阴性。

4. 与凝固酶试验阳性的猪葡萄球菌的鉴别 金黄色葡萄球菌分解甘露醇,猪葡萄球菌不分解甘露醇。

## 5.3 种常见葡萄球菌的鉴别 见表 1-1。

表 1-1 3 种葡萄球菌鉴别的关键性试验

	金黄色葡萄球菌	表皮葡萄球菌	腐生葡萄球菌
菌落色素	金黄色或白色	白色	大多白色或淡黄色
溶血毒素	$\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$	-(极少+)	+
凝固酶试验	+	-	-
新生霉素试验	敏感	敏感	敏感
致病性	强	弱或无	中等

## 五、临床意义

葡萄球菌属在自然界分布很广。存在于空气、水、尘埃及皮肤上的葡萄球菌大多数无致病性。金黄色葡萄球菌,多为急性化脓性感染,如果未经治疗,可能扩散到邻近组织或经菌血症转移至其他器官,也可引起中毒性休克、肺炎、心内膜炎、骨髓炎、肾炎、肾脓肿、尿路感染等。严重的可引起化脓性脑膜炎、败血症、脓毒血症;还可引起烧伤样皮肤综合征和假膜性肠炎。金黄色葡萄球菌引起的院内感染已成为发病和致死的主要原因。表皮葡萄球菌可引起菌血症、先天性和修补性瓣膜性心内膜炎、外伤感染、脑脊液、腹膜透析有关的感染、视网膜炎、血管内导管有关的感染。腐生葡萄球菌是人尿道感染中的重要条件致病菌,尤其是年轻的生育期女性高发,还被视为男性非淋球菌性尿道炎及其他性传播性疾病、前列腺炎、外伤和败血症的病因。溶血葡萄球菌引起心内膜炎、败血症、腹膜炎、尿道感染、外伤、骨折和关节炎等。

葡萄球菌对甲氧西林耐药率较高,耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(MRSA)对多种广谱强效抗菌药物呈多重耐药性。如果检测出耐甲氧西林的葡萄球菌菌株则报告耐所有青霉素、头孢菌素、碳青霉烯类和 $\beta$ 内酰胺酶/ $\beta$ 内酰胺酶抑制剂类抗生素,对氨基糖苷类和大环内酯类抗生素常协同耐药。

若葡萄球菌属对四环素敏感,则对多西环素和米诺环素敏感。某些菌对四环素中介或耐药,而对多西环素和米诺环素敏感。

临床感染葡萄球菌患者用喹诺酮类治疗 3~4 日后,原来敏感的葡萄球菌易产生耐药。所以对这类葡萄球菌需多次反复做药敏试验。

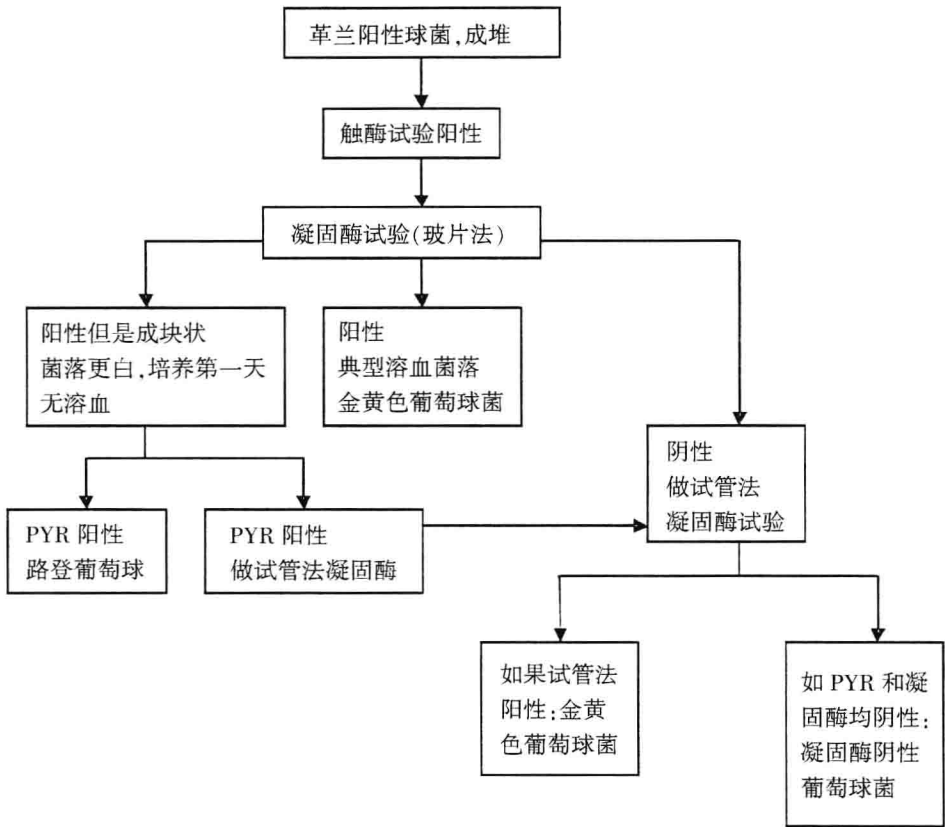
对大环内酯类耐药葡萄球菌包括固有耐药和诱导耐药。所以临床实验室须进行“D”试验以检测克林霉素诱导性耐药,根据“D”试验结果来报告克林霉素的耐药性。

MRSA 的治疗:轻度感染可选用 SMZ-TMP 和喹诺酮类,严重全身感染选用万古霉素或其他糖肽类药物。

药敏试验的选药原则:葡萄球菌首选苯唑西林和青霉素,其次为阿奇霉素、甲氧苄啶、红霉素、克林霉素、克拉霉素、万古霉素等。



## 六、革兰阳性球菌一般鉴定流程



## 第二节 藤黄微球菌

### 一、形态与染色

革兰阳性球菌, 菌体比葡萄球菌大, 单个、成双、四联排列或立体包裹状、不规则团。

菌落直径一般为  $1\sim 1.5\mu\text{m}$ , 呈金黄色。在所有培养基上均呈堆团排列。

### 二、培养特性

在血琼脂平板上菌落小于葡萄球菌, 呈圆形、凸起、光滑、不透明、黄色菌落。在营养琼脂平板上菌落呈黄色。在肉汤琼脂平板上的菌落呈黄色, 粗糙粒状, 圆形, 突起, 湿润, 闪光, 全缘。菌体比葡萄糖大。