

临 床 微 生 物 学 教 育 丛 书

CLINICAL MICROBIOLOGY EDUCATIONAL SERIES

主编

倪语星 王金良

徐英春 胡必杰 孙自镛

主审

司徒永康

审阅

梁皓钧 任永昌

EYE INFECTION

眼部感染

GOOD LABORATORY
PRACTICES

实验诊断规范



上海科学技术出版社

9

临床微生物学教育丛书
CLINICAL MICROBIOLOGY EDUCATIONAL SERIES

主编
倪语星 王金良
徐英春 胡必杰 孙自镛

主审
司徒永康

审阅
梁皓钧 任永昌

EYE INFECTION

眼部感染

GOOD LABORATORY
PRACTICES

实验诊断规范

上海科学技术出版社

9

图书在版编目(CIP)数据

眼部感染实验诊断规范/倪语星等主编. —上海: 上海科学技术出版社, 2009.5

(临床微生物学教育丛书)

ISBN 978-7-5323-9743-3

I. 眼... II. 倪... III. 眼病-感染-实验室诊断-规范
IV. R771.04-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 027263 号

上海世纪出版股份有限公司 出版、发行
上海科学技术出版社

(上海钦州南路 71 号 邮政编码 200235)

新华书店上海发行所经销

常熟市兴达印刷有限公司印刷

开本 787×1092 1/16 印张 3

字数: 30 千字

2009 年 5 月第 1 版 2009 年 5 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-5323-9743-3/R·2654

定价: 13.00 元

本书如有缺页、错装或损坏等严重质量问题,
请向工厂联系调换

内容提要

本书借鉴国际上最新的观念、方法，并结合我国的实际情况，介绍了各类眼部感染的临床与病原菌检验要点、眼部标本的检查材料和培养基、涂片的处理和检查结果的解释、细菌培养结果的处理和解释、非培养诊断试验及结果解释、抗生素敏感性试验和眼部感染的血清学试验等内容，其目的在于建立一整套适合我国情况、具有可操作性的标准化操作规范。

本书可为广大临床微生物学工作者及相关专业的临床医师参考使用，为眼部感染实验诊断规范化提供了参考工具书。

主编

倪语星 王金良 徐英春 胡必杰 孙自镛

作者

王金良 蔡 军 李雅军

主审

司徒永康

审阅

梁皓钧 任永昌

前言

临床微生物学诊断在感染性疾病及相关疾病的诊断、治疗、预防以及研究工作中起着越来越重要的作用。它既是实验诊断的重要组成部分，又是医学领域相对独立的学科。

在我国，临床微生物学诊断这一学科的发展相对滞后，与实验诊断的其他学科相比，尚未受到应有的、足够的重视。

医学发展的现状，尤其是感染性疾病发展的形势，要求我们必须充分重视并努力加强临床微生物学诊断这一学科的发展。

其理由：

第一，新的病原体及其所致的新的感染性疾病不断出现。WHO 已发布近 30 年来明确肯定的 30 余种新病原体，其数目现仍在不断增加。尤其是以疯牛病为代表的新病原体 prion（国内部分专家提议译为朊粒）的确定，改变了我们对传统病原体的认识，无疑对病原体的实验诊断提出新的挑战。

第二，许多传统的老病原体出现了临床新问题，对实验诊断提出了新的要求，如霍乱弧菌 O139，多种多样的致腹泻大肠埃希菌，引起中毒性休克综合征的葡萄球菌和链球菌，迅速增加的性传播性疾病病原体，基因变异的乙型、丙型肝炎病毒等，迫使实验诊断手段必须不断改进才能与之相适应。

第三，新、老病原体的耐药性明显增强，不仅带来治疗上的困难，也向实验诊断提出挑战。许多耐药细菌，如耐甲氧西林葡萄球菌（MRSA 和 MRCNS）、耐万古霉素肠球菌（VRS）、耐青霉素肺炎链球菌（PRSP）、低

耐万古霉素金黄色葡萄球菌 (VISA)、产超广谱 β 内酰胺酶 (ESBL)、金属酶及多重耐药的肠杆菌、非发酵菌、耐多药的结核分枝杆菌等已成为临床治疗中的棘手问题。病毒的耐药性也日趋严重。这不仅要求用正确、迅速的手段检出,而且要给临床解释性判读提供可能存在的耐药机制。

第四,临床微生物学诊断技术日新月异,明显地提高了诊断的敏感性、特异性和及时性,其突出表现是分子生物学技术的进步,微生物的基因检测手段和检验的自动化或半自动化正在改变着微生物检验的面貌。

这一切要求临床微生物学检验工作者重新学习、更新知识、改进技术、提高水平,于是“临床微生物学教育丛书”就应运而生了。

本丛书编写的指导思想及其特点是:

一、突出规范化操作这一中心。就微生物学诊断的主要领域各成一分册,如血培养操作规范、抗微生物药物敏感性试验规范(第一版)、细菌性腹泻实验诊断规范等已陆续出版。

二、重在规范常规检验技术,介绍国内外认可的、最为适用的、可靠的技术方法,同时力求反映微生物实验诊断的最新成果与信息。

三、吸取美国微生物学会 (ASM) 的 CUMITECH 先进经验,又努力结合我国的实际情况,力求兼具先进性与实用性。

四、每分册均由国内富有经验的专家编写并集体讨论,由香港专家指导审阅,由香港中文大学微生物科主任司徒永康教授主审。

全体编审者热切希望本丛书能为规范我国的微生物学检验技术做出努力,但规范也要随着技术发展而改变,正如 CUMITECH 仍在不断更新一样。我们希望本丛书在国内同仁们的实践中不断完善。我们真诚期待大家的评论与指正。

主 编

目 录

2	一、各类眼部感染的临床与病原菌检验要点
	(一) 睑皮肤炎.....2
	(二) 泪腺系统感染.....4
	(三) 眶蜂窝织炎.....5
	(四) 眼睑炎.....6
	(五) 结膜炎.....8
	(六) 角膜炎.....12
	(七) 细菌性巩膜炎.....16
	(八) 眼内炎.....16
	(九) 感染性视网膜炎.....18
	(十) 与眼科手术和外伤有关标本的检查.....19
21	二、眼部标本的检查材料和培养基
	(一) 标本的采集.....22
	(二) 培养基.....22
26	三、涂片的处理和检查结果的解释
	(一) 直接染色.....26
	(二) 荧光染色.....28
	(三) 电子显微镜检查.....28
29	四、细菌培养结果的处理和解释
	(一) 眼睑和结膜培养.....30
	(二) 角膜培养.....30
	(三) 眼内液培养.....31
	(四) 组织和活检物的培养.....31
32	五、非培养诊断试验及结果解释
	(一) 免疫技术.....32

(二) 免疫荧光技术	32
(三) 噬裂解物试验	32
(四) 分子生物学技术	32

33

六、抗生素敏感性试验

35

七、眼部感染的血清学试验

本册的要点

(一) 概述由病毒、细菌、寄生虫或真菌所致的急性和慢性感染，包括眼部睑皮肤炎、眼眶和泪膜的感染、眼睑炎、结膜炎、角膜炎、眼内炎和视网膜炎等。

(二) 介绍各种眼部感染的有关症状，感染病原体，检验标本及其采集法，以及各种感染实验室诊断所用的方法。

(三) 介绍眼部感染的实验室诊断所需的材料、培养基和仪器试剂。

(四) 推荐对标本的处理和运送至实验室的方法，病原体的分离培养和鉴定技术。

(五) 介绍实验室诊断技术和对结果的解释，包括涂片检查、免疫学技术、分子生物学技术、细菌培养、抗菌药物的敏感性试验和病毒感染的血清学诊断方法。

(六) 由隐形镜片、异物和污染的滴眼液等引起的严重细菌、真菌、寄生虫等感染在增多且后果严重，应予以特别的注意。

一、各类眼部感染的临床与病原菌 检验要点

眼的解剖结构见图 1。

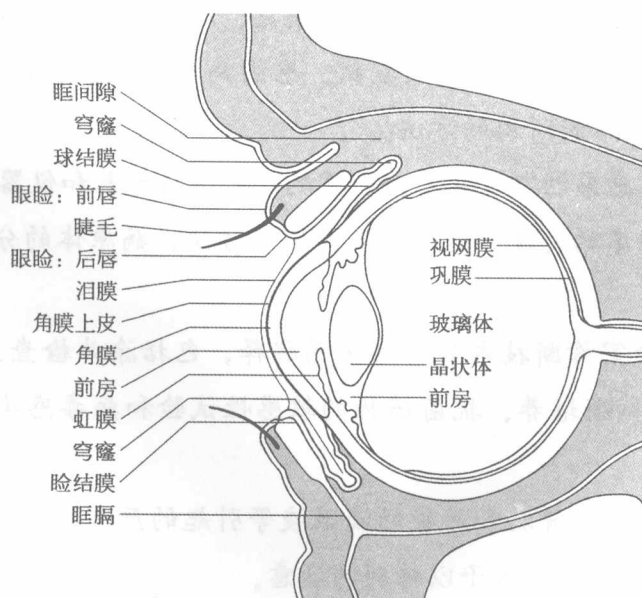


图 1 眼的解剖示意图

(一) 睑皮肤炎

眼睑皮肤的感染包括病毒性、原

发性细菌性脓肿和原有皮肤损伤的继发感染。病毒性睑皮肤炎、原发或复发性疱疹病毒和水疱-疱疹病毒可引

起皮疹和周围淋巴结肿大，新鲜的皮疹可以用刮铲边缘刮取。用 Tzanck 试验（皮疹碎屑用吉姆萨染色），也可作免疫荧光染色，病毒培养和电镜检查。

1. 脓肿 表皮的脓疱或伴有周围淋巴结肿大的皮肤硬结，常见于儿童，是由 A 族链球菌和金黄色葡萄球菌的感染引起。小囊泡需刺破或吸出，渗出液作涂片和用血液和巧克力平板作培养。

2. 肉芽肿或脓疱性睑皮肤炎 软性下疳、炭疽病、放线菌病、结核病、念珠菌病、芽生菌病、利什曼原虫病以及蝇蛆病都可引起眼睑肉芽肿，用牙科的圆形钻或角膜小钻可自溃疡性损伤部位取出标本。部分标本接种于厌氧或需氧培养基，包括沙氏琼脂和 L-J 琼脂。为检查麻风分枝杆菌，应刺入皮肤 2 mm 深获取组织涂片作抗茵染色，剪取组织作组织病理检查。利什曼原虫有时可在血平板上生长，但最好用特殊培养基，如 Schneider 昆虫培养基和 Novy-MacNeal-Nicolle 培养基，温育在 22 ~ 26 ℃。吸出的虫卵可置于血平板上或在有棉花的瓶中，放在生肉和湿沙上。

3. 眼睑的蜂窝织炎 前隔蜂窝织炎，眶隔前的眼睑皮下组织感染可因外伤、儿童的上呼吸道、中耳或感染的皮肤及邻近组织感染的扩散。创伤后感染通常由金黄色葡萄球菌和化脓链球菌引起，也可为厌氧菌感染，儿童中易发非化脓性的前隔蜂窝织炎，通常由流感嗜血杆菌或肺炎链球菌引起。病毒性皮肤炎的继发感染不常见，溃破性睑腺炎、泪囊或其他附属组织的感染也可引起葡萄球菌或链球菌性蜂窝织炎，金黄色葡萄球菌性婴儿牙龈炎和其他细菌均可导致面部的蜂窝织炎。

开放伤口或眼睑脓肿的引流物可作涂片并接种到血平板、巧克力平板、布氏和硫乙醇酸盐平板。为从眼睑脓肿采样，先用消毒剂清洁皮肤并干燥，在与眼睑边缘平行的最柔软处切口并扩开。如当时没有接种培养基，可吸入注射器内排除气泡，针头刺入塞内，立即送到化验室或直接接种到厌氧运送瓶中，应做血培养，结膜培养会有帮助。

4. 丹毒 眼睑部边缘清楚的表面蜂窝织炎伴有淋巴结肿大，是由化脓性链球菌引起的，也可为链球菌或金黄色葡萄球菌。在创伤部位有扩散的

红肿、局部感染、或前部皮肤损伤。完整皮肤取出样不可靠。病原学有时不易明确，因眼部水肿可能是由于细菌外毒素而不是直接的侵入。从边缘的皮下组织注入后抽取无菌生理盐水的技术仍有争论，需做血和咽部的培养，虽然结膜培养有可能误导，取自双眼的结膜穹的拭子可直接接种到血平板上。

5. 坏死性筋膜炎 创伤后眼睑坏疽伴酒精中毒或其他衰弱状态的坏死性筋膜炎主要由化脓性链球菌引起，也可与金黄色葡萄球菌的联合感染。破溃处的分泌物应作涂片和培养，其他链球菌感染的证据有抗—DNA 酶或抗透明质酸酶抗体迅速升高。

(二) 泪腺系统感染

1. 泪腺炎 泪腺的急性感染并不常见，典型的临床症状有上眼睑外1/3处红肿，眼睑呈圆形隆起，有结膜分泌物，耳周淋巴结肿大。感染途径可以是外源性（自结膜穹渗出或穿透性创伤），也可内源性（血行扩散）。

急性化脓性泪囊炎最常见的外源

性病原是金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌和化脓性链球菌，用藻酸钙或棉花拭子需从穹隆上部眼球的表面取材，接种于血液和巧克力平板，无病的对侧结膜可以做对照培养，滴0.5%盐酸普鲁卡因(Procaine Hydrochloride)局麻，用刮铲刮取穹隆上部，在玻片上制成圆形的结膜涂片，除非局限性脓肿，不能对泪腺作针吸。

血行性急性泪腺炎是少见的并发症，可并发于传染性单核细胞增多症、腮腺炎、流感和淋病。实验室诊断主要是检查系统性感染，一般不作结膜涂片或培养。疑为病毒感染可作血清学检查，包括EB和腮腺炎病毒的抗体。

泪腺的慢性炎症可以由结节病、梅毒、结核、麻风病和某种真菌和寄生虫感染。有时可作血清学试验。如结膜或泪腺的活检可行，标本可分成两份。一份做组织病理检查，另一部分用无菌手续研磨后取悬液接种到血液和沙氏琼脂，涂片须作暗视野检查和常规染色。

2. 泪小管炎 泪点和泪小管炎感染很少见，泪小管炎的临床特征是充血、眼角水肿、肿大的泪点有黏液脓

性分泌物，炎症可能涉及下方泪点或双侧泪小管，常伴有泪小管阻塞。大多数感染是由厌氧菌如丙酸杆菌和放线菌引起，需氧菌和厌氧菌的混合感染也可发生。

脓性分泌物通常挤压眼睑和泪小管取得，小刮铲可用于培养接种和涂片。这些感染一般可引起大眵室内含酪样凝结物，应用消毒的小铲或小匙来刮取泪小管取样，有时需切开泪小管的水平部分，“硫磺颗粒”和其他一些颗粒应碾碎作薄涂片、染色。

3. 泪囊炎 泪囊的感染一般是由鼻泪管阻塞引起。急性泪囊炎的特征是溢泪、疼痛，以及内眦软组织的肿胀，典型的在眦韧带下部。区域性炎症可以进展为泪囊脓肿或眶蜂窝织炎。感染菌为金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、化脓链球菌、流感嗜血杆菌和少见的需氧、兼性革兰阴性杆菌或厌氧菌。压挤泪囊可有脓性分泌物，但感染通常阻塞泪小管的末端而不能流出。泪囊的引流物可用拭子或吸出作涂片和培养，通常不用经皮吸出，或切开泪囊壁，可试取下鼻甲的鼻拭子，结膜培养按标准方式进行。

慢性泪囊炎可有溢泪、疼痛而分

泌物可有可无。泪囊炎的发生可来自结膜上的细菌或由鼻逆行。许多微生物可以污染阻塞的泪囊，但不形成蜂窝织炎。可分离出需氧、厌氧、真菌和分枝杆菌。脓性分泌物接种到血平板、巧克力平板、厌氧培养基和沙氏琼脂。涂片应做标准染色，标本一式两份，送组织病理和微生物检查。

婴儿先天的泪囊炎有发展为慢性泪囊炎的危险，急性感染可导致泪囊膨出，蓝灰泪囊膨胀，充满了黏性物、半透明黏液。对婴儿泪囊炎引流不采用探针，可对普通泪小管挤压。金黄色葡萄球菌、链球菌和革兰阴性杆菌是致病菌。新生儿的淋病奈瑟菌引起的结膜炎，可以并发泪囊炎。涂片和培养如上述方法。

(三) 眶蜂窝织炎

1. 急性眶蜂窝织炎 眶蜂窝织炎感染途径是由筛骨和鼻旁窦扩展自相邻组织（如牙感染、泪囊炎和眶骨折），外源性来自创伤或手术后和在败血症期间的血行感染。急性眶蜂窝织炎常伴有鼻窦炎，是由链球菌、

金黄色葡萄球菌和厌氧菌引起，流感嗜血杆菌性鼻窦炎和眶蜂窝织炎感染可见于未曾免疫接种的儿童，厌氧和需氧的混合感染也可发生，金黄色葡萄球菌是最常见的创伤后和手术后的眶蜂窝织炎的病原，多种微生物感染常见。

在急性眶蜂窝织炎期间血培养通常是阳性，与窦性相关的疾病要取鼻的脓性分泌物做涂片和培养。如存在创伤性或手术性伤口，可取拭子或剪下的组织，或通过感染的泪管或其他邻近组织。在有开放伤口或引流术部位，可用消毒针管吸出分泌物，立即接种到相应的或运送培养基，将针头插入橡皮塞或注入厌氧运送瓶中。感染的窦部的引流物、骨膜下脓肿或眶内脓肿用相似的技术处理和作需氧和厌氧培养，不能对眶组织盲目吸出。

2. 接合菌病 由根霉菌和毛霉菌和其他接合菌引起的急性鼻眶脑内感染，结合菌有潜在的致命性。主要发生在糖尿病和代谢性酮症、肿瘤和其他免疫低下患者。鼻道和鼻旁窦的真菌孢子增殖，穿入窦内动脉壁经血管扩散至眼眶顶部，用外科清除坏死的

窦和眼眶组织后必须引流。坏死损伤物需送冷冻和石蜡包埋作病理组织切片，一部分作涂片和培养，活检组织须用无菌试管或平皿加入无菌平衡盐水液送到微生物实验室，研碎的接种到标准培养基上，涂片作革兰、吉姆萨和荧光白染色检查宽的呈直角分支的无隔菌丝。

3. 慢性眶蜂窝织炎 无痛性眶感染可发生在置入角膜术或眶骨折修复术后，病原菌包括厌氧菌、非结核分枝杆菌、放线菌和丝状真菌，创伤中异物的留置可形成窦道，与慢性细菌性蜂窝织炎类似。眶的曲菌病是慢性肉芽肿的过程伴有血栓性血管炎，常见于热带的健康成人。

引流液需接种在血平板、沙氏琼脂、BHI肉汤和L-J琼脂，眼眶的组织取二份，分别送组织病理和微生物检查，涂片分别做革兰、吉姆萨、荧光和抗酸染色。

(四) 眼睑炎

眼睑边缘感染通常涉及皮肤、睫毛和灰线前相关腺体，或皮肤黏膜结合处。

1. 病毒性眼睑炎 泡性或侵蚀性的眼睑炎是由 HSV 和 VZV 引起, 偶见与牛痘疫苗接种后有关。取材时要选一个或多个清晰的水疱, 水疱用湿巾清洗或乙醇(酒精)棉球擦拭, 用无菌针头穿刺入水疱, 用消毒的结核菌素针或毛细血管抽出液体。开放的水疱基底部和溃疡部分用小刮刀刮取或取拭子, 可同时用刮取或拭子取结膜标本, 用玻璃片涂片。吉姆萨染色下疱疹病毒感染可见多核细胞, 核内的 Cowdry A 型小体, 用 Papanicolaou 染色可以见到。眼睑损伤刮取物也可做免疫荧光或送作酶免疫检测。病毒培养要接种到冷却或 4℃ 冷藏的运送培养基内。比较急性期和恢复期的血清中抗体滴度, 可以诊断原发性病毒感染。

传染性软疣会出现圆形小结并变成脐状, 位于眼睑边缘和皮肤上。偶有伴有囊泡性结膜炎和点状角膜损伤。损伤的破溃部分可用刮铲刮取, 酪状的中心部分可挤压出。涂片经吉姆萨染色, 镜下可见少而暗的颗粒和角膜上皮细胞质内的包涵体 (Henderson-Patterson 小体), 它由疱疹病毒形成, 在电镜下或用免疫荧光染色可查见。

结膜分泌物的细胞学检查可见单核细胞, 也可见不完全的病毒体。传染性软疣部分可检出病毒 DNA, 但多次的细胞培养法未能成功。剪下的组织应用甲醛固定作光镜检查, 用戊二醛固定作电镜检查, 以显示哑铃样病毒颗粒。组织用 DNA 酶消化过夜后(只降解细胞 DNA, 病毒 DNA 有蛋白壳的保护), 用 Feulgen 染色的亮绿复染。

眼睑疣在初起为单个的灰色小结, 渐变成灰黄色、圆形, 过度角化也可呈褐色或丝状, 剪下的疣体用 10% 甲醛固定。组织病理学检查可查见典型的表皮细胞核内的包涵体, 含有乳头瘤病毒。疱疹病毒感染时可见嗜伊红细胞质包涵体 (Guarnieri 小体)。

2. 细菌性眼睑炎 眼睑缘的急性感染伴有溃疡和蜂窝织炎大多由金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌引起, 少数为革兰阴性杆菌。葡萄球菌和链球菌可能继发于病毒性睑皮肤炎。侧眦(角性眼睑炎)有充血、脱屑和溃疡, 也能由摩拉菌引起, 也可能是金黄色葡萄球菌定植的湿疹性眼睑炎。

急性眼睑炎时, 用棉花或藻酸钙

拭子沿眼睑的上和下缘擦拭,直接滚涂于血液和巧克力平板表面。对另一眼也重复此操作。为经济方便起见,可在同一平板的不同区域涂字母R和L,分别代表右眼和左眼(图2)。涂片检查没有什么帮助。

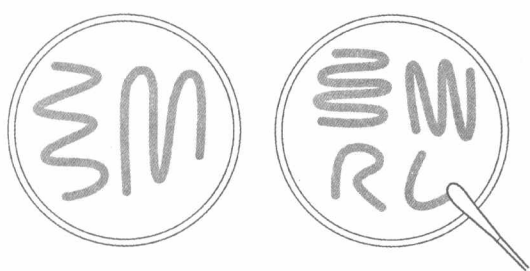


图2 采集标本后的拭子接种
固体培养基的划线法

慢性葡萄球菌性眼睑炎的特征为双侧眼睑的脱屑、前唇边缘肿胀、睫毛减少、发白、复发性泪腺炎、结膜充血、结膜及侧面的小水疱、角膜点状破溃和边缘渗出。可与干眼综合征和特发性皮炎同时存在。慢性葡萄球菌性眼睑炎应与睑板腺功能不良和酒渣鼻相鉴别,它们的特征为睑板腺的收缩或舒张、睑边有小疱和皮屑、有复发性麦粒肿、结膜充血和角膜边缘充血。麦粒肿是无菌性的脂性小粒,无需作微生物检查。嗜脂性的棒状杆菌、痤疮丙酸杆菌、皮屑马拉色菌和

Demodex folliculorum 在慢性眼睑炎中的作用尚不明确。

慢性眼睑炎常不用作细菌培养,除非常规和抗生素治疗无效。培养的采样方式与急性眼睑炎同。接种应加上沙氏琼脂。涂片检查一般无用。如镜检常可见到中性粒细胞和少数细菌。慢性金葡菌性眼睑炎一般不用结膜或角膜损伤处的刮片或拭子。对非典型的慢性损伤可作活检,因肿瘤的表现可与慢性单侧睑结膜炎相似。

3. 虱侵染 家虱可侵染睫毛,可能是接触到成虱的足。成虱和幼虱均可在用裂隙灯检查时被发现。侵染部的睫毛也可直接在光镜或油镜下检查。

(五) 结膜炎

结膜炎可由多种微生物引起,主要感染途径为液滴、飞沫、手与眼的接触和自眼、泪腺、鼻和鼻旁窦扩散而成。结膜部的正常菌群因环境和宿主而异,在判定微生物检查结果时应了解正常存在的菌群(表1)。两眼的正常菌群一致,故双眼的细菌培养对评价单侧的结膜炎有帮助。