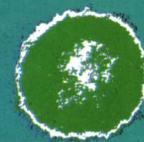




主编 刘金禄 孙锦宏 李进春



临床微生物学 检验技术

LINCHUANGWEISHENGWUXUE
JIANYANJISHU

河北科学技术出版社



临床微生物学检验技术

刘金禄 孙锦宏 李进春 主编

河北科学技术出版社

图书在版编目(C I P) 数据

临床微生物学检验技术 / 刘金禄等主编. —石家庄：
河北科学技术出版社, 2007. 8
ISBN 978 - 7 - 5375 - 2442 - 1

I. 临... II. 刘... III. 微生物学 - 医学检验
IV. R446. 5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 124774 号

临床微生物学检验技术

刘金禄 孙锦宏 李进春 主编

出版发行 河北科学技术出版社
地 址 石家庄市友谊北大街 330 号(邮编:050061)
印 刷 石家庄市燕赵印刷厂
经 销 新华书店
开 本 787 × 1092 1/16
印 张 16. 75
字 数 380000
版 次 2007 年 8 月第 1 版
2007 年 8 月第 1 次印刷
印 数 1000
定 价 28. 00 元

主编 刘金禄 孙锦宏 李进春

副主编 李采青 杨京跃 张有成 吴健翎 王茂萍 卢 成
何晓峰 夏瑞雪

编写人员（按姓氏笔画排序）

王伟宝 张家口市第四医院

王建芳 张家口市第四医院

王茂萍 张家口市沙岭子医院

王智霞 张家口市第四医院

卢 成 河北北方学院附属第一医院

刘金禄 河北北方学院附属第一医院

孙锦宏 张家口市第三医院

李 华¹ 张家口市第二医院

李 华² 河北北方学院附属第一医院

李延伟 张家口市中心血站

李进春 张北县医院

李采青 河北北方学院附属第一医院

杨京跃 阳光生物科技有限公司

吴健翎 河北北方学院附属第一医院

何晓峰 河北北方学院附属第一医院

张有成 河北北方学院附属第一医院

张智慧 中国人民解放军白求恩国际和平医院

明秀峰 河北北方学院附属第一医院

夏瑞雪 中国人民解放军第 266 医院

唐风霞 张家口市地方病防治所

崔张新 河北北方学院附属第一医院

前　　言

由于临床医学和现代科学，特别是分子生物学的发展，促进了临床细菌学的发展，但目前已出版的专著仍不能满足临床细菌学检验工作的需要。为此，我们组织省内的部分临床细菌学工作者，共同编写了《临床微生物学检验技术》一书，本书侧重于临床细菌检验技术，对分子生物学技术也做了较详细的介绍，对医院感染做了简要说明。由于基因检测和超高倍显微镜检在临床的广泛应用，专业书籍显得缺乏，因此，该书对基因检测技术和多媒体显微成像系统在医学检验中的应用也做了介绍。

本书可作为从事临床细菌学检验者和高、中等医学院校临床检验医学专业的学生的参考书，对卫生防疫检验人员及广大临床医师和医学生也有一定的参考价值。

对本书的编写，我们虽然做了极大的努力，但因水平所限，可能仍存在不足之处，我们恳请专家和广大读者批评指正。

刘金禄

2007年4月20日

目 录

第一章 实验室管理	(1)
第一节 实验室制度	(1)
第二节 实验室生物安全与防护	(10)
第二章 微生物检验项目与临床意义	(11)
第三章 细菌分类	(14)
第四章 试剂、染液配制	(18)
第一节 试剂配制	(18)
第二节 染液配制	(19)
第五章 培养基的制备	(22)
第一节 基础营养培养基	(22)
第二节 选择性培养基	(24)
第三节 分枝杆菌培养基	(26)
第四节 生化试验用培养基	(28)
第五节 真菌培养基	(33)
第六节 厌氧菌培养基	(33)
第七节 其他培养基	(35)
第六章 标本的采集	(38)
第一节 概述	(38)
第二节 常见感染标本采集方法	(38)
第七章 微生物学检验基本技术	(42)
第一节 微生物形态学检查	(42)
第二节 微生物培养与分离方法	(46)
第三节 细菌的生物化学试验	(50)
第四节 血清学试验	(63)
第八章 实验室操作规程	(68)
第一节 样本接收、核对、登记、接种	(68)

第二节 菌株的纯化、鉴定、上机	(69)
第三节 报告单的打印、审核、登记	(70)
第九章 临床标本的细菌检验	(71)
第一节 血液及骨髓标本	(71)
第二节 脑脊液标本	(72)
第三节 呼吸道标本	(73)
第四节 穿刺液标本	(75)
第五节 泌尿、生殖道标本	(76)
第六节 粪便标本	(78)
第七节 脓、创伤感染分泌物标本	(80)
第十章 细菌的分型技术	(81)
第一节 生化分型	(81)
第二节 血清学分型	(81)
第三节 噬菌体分型	(82)
第四节 细菌素分型	(83)
第十一章 荧光染色、荧光免疫及酶联免疫技术	(84)
第一节 荧光染色技术在细菌鉴定中的应用	(84)
第二节 荧光免疫技术在细菌鉴定中的应用	(84)
第三节 酶联免疫吸附试验在细菌检测中的应用	(85)
第十二章 分子生物学技术在细菌检验中的应用	(86)
第一节 分子生物学技术在细菌分类中的应用	(86)
第二节 分子生物学技术在细菌鉴定中的应用	(87)
第三节 分子生物学技术在细菌药敏试验中的应用	(89)
第四节 指纹分析	(89)
第十三章 临床细菌的初步分群	(91)
第十四章 革兰阳性球菌的鉴定	(94)
第一节 微球菌科	(94)
第二节 链球菌科	(97)
第十五章 革兰阴性球菌的鉴定	(102)
第一节 奈瑟菌属	(102)
第二节 布兰汉菌亚属	(103)
第十六章 革兰阳性杆菌的鉴定	(104)
第一节 棒状杆菌属	(104)
第二节 红球菌属	(104)

目 录

第三节 李斯特菌属	(105)
第四节 红斑丹毒丝菌	(105)
第五节 芽胞杆菌属	(106)
第十七章 分枝杆菌的鉴定	(108)
第一节 结核杆菌	(108)
第二节 诺卡菌属	(109)
第十八章 肠杆菌科细菌鉴定	(111)
第一节 概述	(111)
第二节 埃希菌属	(112)
第三节 沙门菌属	(115)
第四节 志贺菌属	(117)
第五节 耶耳森菌属	(118)
第六节 克雷伯菌属	(119)
第七节 肠杆菌属	(120)
第八节 泛菌属	(121)
第九节 沙雷菌属	(122)
第十节 变形杆菌属	(123)
第十一节 普罗菲登斯菌属	(124)
第十二节 摩根菌属	(125)
第十三节 枸橼酸菌属	(126)
第十四节 爱德华菌属	(127)
第十五节 哈夫尼亚菌属	(128)
第十六节 少见的肠杆菌科细菌	(129)
第十九章 弧菌科细菌鉴定	(132)
第一节 概述	(132)
第二节 霍乱弧菌	(133)
第三节 气单胞菌属	(135)
第四节 邻单胞菌属	(136)
第二十章 非发酵菌群的鉴定	(139)
第一节 概述	(139)
第二节 假单胞菌属	(139)
第三节 窄食单胞菌属	(141)
第四节 伯克霍德菌属	(141)
第五节 不动杆菌属	(143)

第六节 产碱杆菌属	(143)
第七节 无色杆菌属	(144)
第八节 莫拉菌属	(145)
第九节 希瓦菌属	(146)
第十节 丛毛单胞菌属	(146)
第十一节 金黄杆菌属	(146)
第十二节 土壤杆菌属	(147)
第十三节 侵蚀艾肯菌	(148)
第二十一章 少见革兰阴性杆菌的鉴定	(149)
第一节 巴斯德菌属	(149)
第二节 嗜血杆菌属	(150)
第三节 布氏菌属	(151)
第四节 弯曲菌属	(151)
第五节 螺杆菌属	(152)
第六节 军团菌属	(153)
第七节 加德纳菌属	(153)
第八节 放线菌属	(154)
第九节 鲍特菌属	(155)
第十节 心杆菌属	(156)
第十一节 紫色色杆菌	(156)
第十二节 碳酸噬胞菌	(157)
第二十二章 厌氧菌的鉴定	(158)
第一节 厌氧菌的种类和分布	(158)
第二节 培养方法	(158)
第三节 厌氧菌的双歧鉴定	(160)
第二十三章 L型菌检验	(162)
第二十四章 临床真菌检验	(163)
第一节 浅部真菌	(163)
第二节 酵母样真菌	(165)
第三节 其他真菌鉴定	(167)
第二十五章 其他病原微生物检验	(168)
第一节 支原体	(168)
第二节 衣原体	(168)
第三节 螺旋体	(169)

目 录

第二十六章 药物敏感试验	(171)
第一节 细菌的药物敏感试验方法及意义	(171)
第二节 药敏试验应注意的几个问题	(174)
第三节 检测病原体产生各种酶对临床用药的指导意义	(175)
第四节 抗菌药物作用的机制和细菌的耐药机理	(176)
第五节 合理应用抗生素	(177)
第二十七章 细菌检验的质量控制	(181)
第一节 室内质控	(181)
第二节 室间质评	(185)
第二十八章 自动化技术在微生物检验中的应用	(189)
第一节 微生物数码鉴定法	(189)
第二节 自动化的微生物鉴定和药敏试验分析系统	(190)
第三节 自动化的血液细菌培养系统	(193)
第四节 结核分枝杆菌快速检测系统	(194)
第五节 国产微生物分析系统	(195)
第六节 内毒素和真菌感染的快速检测	(199)
第二十九章 医院感染	(201)
第一节 医院感染的状况	(201)
第二节 医院感染基本知识	(204)
第三节 常用几种消毒剂	(205)
第四节 医院感染管理措施	(206)
第五节 卫生学标准	(208)
第六节 医护人员防护措施	(209)
第七节 医院环境卫生学监测	(210)
第三十章 多媒体显微成像系统在医学检验中的应用	(213)
第一节 多媒体显微成像系统的检查适应证	(213)
第二节 ACT-2000 型多媒体显微成像系统操作步骤	(213)
第三节 多媒体显微成像系统的特点	(214)
第四节 多媒体显微成像系统的应用	(215)
第五节 标本采集方法	(215)
第六节 体液检测	(216)
第三十一章 基因检测技术	(225)
第一节 基因扩增实验室操作规程	(225)
第二节 检测项目及临床意义	(228)

附一 病原微生物实验室生物安全管理条例	(231)
附二 病原微生物实验室生物安全环境管理办法	(244)
附三 医疗机构临床实验室管理办法	(248)
参考文献	(254)

第一章 实验室管理

第一节 实验室制度

一、微生物科技术质量管理制度

1. 必须把检验质量放在工作首位，普及提高质量管理和质量控制理论知识，使之成为每个检验人员的自觉行动。同时，按照上级卫生行政部门的规定和临床检验中心的要求，依据国际标准化组织（ISO）《医学实验室质量管理（ISO17025）》的要求，全面加强技术质量管理。
2. 建立和健全科、室（组）二级技术质量管理组织，配有兼职人员负责工作。管理内容包括：目标、计划、指标、方法、措施、检查、总结、效果评价及反馈信息，定期向一级质量管理组织报告。
3. 各专业实验室要制定质量控制制度，开展室内质量控制，做到日有操作记录，月有小结、分析，年有总结。发现失控要及时纠正，未纠正前停发检验报告，纠正后再重检、报告。
4. 加强仪器、试剂的管理，建立大型仪器档案。新引进或维修后的仪器经校正合格后，方可用于检测标本。
5. 及时掌握业务动态，统一调度人员、设备，建立正常的工作秩序，保证检验工作正常运转。
6. 建立岗位责任制，明确各类人员职责，严格遵守规章制度，执行各项操作规程，严防差错、事故发生。
7. 做好新技术的开发和业务技术的保密工作。
8. 积极参加室间质量评价活动，努力提高质评水平。
9. 制订技术发展计划与工作计划，并组织实施、检查。

二、急诊检验制度与范围

（一）急诊检验制度

1. 全科人员要十分重视急诊检验，经常检查急诊检验的仪器、试剂，认真做好每件急诊检验。
2. 急诊检验单由医生填写。脑脊液及各种穿刺液、胃液由医生采集；血液及分泌

物或排泄物由护士或检验人员采集。急诊检验单连同标本应及早送实验室。

3. 检验人员接到急诊标本后，应迅速进行检验，准确、及时地报告检验结果。
4. 认真做好急诊检验登记、查对工作，虚心听取临床医生、患者的意见，不断改进急诊检验工作，提高急诊检验质量。

(二) 急诊检验范围

1. 急性传染病患者。
2. 急性腹泻患者。
3. 食物中毒者。

(三) 急诊检验的基本项目

脑脊液、各种穿刺液、排泄物、残留物及其他涂片等细菌检验。

三、检验仪器管理制度

1. 检验仪器实行专人负责，制订操作规程，仪器与仪器资料不分离，妥善保存，以便查询。
2. 检验人员必须具有高度责任心，上机前应经操作培训，熟练掌握仪器性能，严格遵守仪器的操作规程，正确地进行操作。
3. 每天检测前应检查仪器是否完好、功能是否正常。操作中若发现异常或故障，应及时报告设备科检修，不能擅自乱动、乱修。使用后须检查仪器并关复原位。清理好试剂瓶、操作台，写好使用、维修记录。
4. 按照仪器使用说明和操作规程做好日常维护工作，努力延长仪器的使用寿命。
5. 进修、实习人员要在带教老师的指导下使用仪器，不得任意操作。指导老师必须严格带教、监督，避免意外情况发生。
6. 做好仪器的安全、清洁工作，严禁在仪器室内吸烟、进食或接待客人。外来参观人员须经科领导同意后才可接待。
7. 选购仪器应由医院领导、科主任及专业人员多方考察后，按正常渠道进货，组织验收，培训人员，建立仪器档案，登记入账。
8. 带有微机配置的仪器，不得运行与本机工作无关的软件，不得在电脑上玩游戏。
9. 科主任要经常了解、检查仪器情况，发现问题，及时解决。

四、检验试剂管理制度

1. 各专业实验室负责人要根据实际需要，从节约的原则出发，有计划地申购试剂。申购所需试剂应经科主任及有关部门审批。
2. 确定专人负责试剂管理，协助科主任做好试剂的请购、登记入库、领发、保管、清点盘存、报废等工作，做到账册、实物相符。即将用完的试剂要有记录，及时申请补购。

3. 试剂进货应做到来源渠道正规，货物优质、有效，有批准文号、生产日期及供货单位的营业执照复印件。试剂进货时有验收人签字。发票须经科主任签字后方可报销。

4. 各专业实验室负责人要做好试剂的申购、使用、保存、检查工作，防止变质、过期和浪费，如有发现，应及时处理。

5. 所有试剂要有瓶签，按不同要求分类保管：需要冷冻、冷藏保管的试剂应保存在低温冰箱或普通冰箱内，并经常检查冰箱温度；剧毒药品由两人负责保存于保险箱内，并有使用记录及双签名；易燃、易爆品要远离水源、火源，存放于安全的沙堆内；强酸、强碱试剂要单独妥善保存。

6. 确需自配的试剂要经校正，记录校正结果、时间、配制量及配制人。

五、检验标本管理制度

1. 全科人员要十分重视检验标本，正确采集、验收、保存、检测，避免错采、错收、污染、丢失，否则，应追究当事人责任。

2. 检验标本的采集必须严格按照检验项目的要求，包括容器、采取时间、标本类型、抗凝剂选择、采集量、送检及保存方式等。

3. 接收标本严格实行核对制度，包括姓名、性别、年龄、门诊号/住院号、病床号、标本类型、容器、标识、检验目的等，所送标本必须与检验项目相符。不符合要求的退回重送。在核对检验标本的同时，应查对临床医生填写的检验申请单是否正确、完整、规范，如有不符要求的，应予退回，要求其纠正以后，再予接收。

4. 向外单位送检或接收外单位送检的标本应专人负责并有专门记录。

5. 急诊检验标本要及时采集、核对、检验、报告。

6. 检测后的各种标本，应保存一定时间。尤其是脑脊液、心包积液、胸腹水液、胃液等标本，检验后应保存1周，以备查对。

六、差错事故登记报告制度

1. 全体检验人员要以对患者高度负责的精神和严肃的法制观念，严格防止差错事故的发生。各实验室要建立差错事故登记报告制度，一旦发生应及时登记报告，并加强教育，及时处理。

2. 由于责任心不强、不认真执行规章制度、不遵守操作规程或技术因素而引发检验错误，对患者未造成严重后果的，称为差错。差错按程度不同，分为一般差错和严重差错。

(1) 一般差错

1) 违反操作规程，导致血液等标本管在离心时破损，或工作中不慎打破，损坏标本，影响检验者。

- 2) 漏做、错做一般标本的检验目的，编错试管号码，标错标本联号，采错患者标本，写错检验结果并已发出报告者。
- 3) 计算错误，写错报告难以挽回者。
- 4) 使用未经校正或过期、变质的试剂，或不按时绘制工作曲线而影响结果的准确性者。
- 5) 其他不属于严重差错和事故的差错者。

(2) 严重差错

- 1) 因责任心不强，丢失或损坏重要标本：如脑脊液、心包液、骨髓，以致不能检验者。
- 2) 重要标本漏查或做错项目，且标本已处理，需再次采取标本检验者。
3. 无论发生一般差错、严重差错或检验事故均应由实验室及时登记，查明情况，保留标本，主动向科主任报告，不得隐瞒。要迅速采取措施，把损失控制到最小程度。
4. 要经常进行安全医疗教育，避免差错事故的发生。要定期向医院医务科报告差错事故的登记情况，属于严重差错或医疗事故的更应及时报告并按医院有关规定严肃处理。

七、信息反馈制度

1. 实验室要定期向临床各科室发送检验信息反馈单，同时，备有反馈登记本。
2. 科主任指定专人负责定期收回已由临床医生填写好的信息反馈单，逐项审阅，登记处理。对重要问题的处理要及时与临床科室联系、商议。
3. 要耐心听取患者的意见，并做好患者意见的登记、处理。
4. 全科人员要重视信息反馈工作，虚心听取临床医生、患者的意见与要求，重要意见及时登记，认真改进。
5. 对临床科室因疾病诊治需要的特殊检验要求，应结合实际，尽力配合。
6. 建立并不断完善电脑信息网络。

八、教育培训制度

1. 全科人员必须认真学习政治时事、业务技术，不断提高思想政治水平和业务技术水平。
2. 坚持以结合专业在职学习和自学为主，定期组织业务学习和学术交流。
3. 根据工作表现、专业需要和科室条件，选派专业人员参加省内外学习班或学术交流会，必要时，选派专业人员外出进修、学习。回科后，有责任向全科传达、交流。
4. 对进修、实习生要有进修、实习计划，安排专人带教，定期检查、考核。带教老师要身教重于言教，以身作则，严格要求。进修、实习人员要虚心学习，认真工作，不断提高自己的专业水平。

5. 科主任每年制订教学培训计划，定期检查、考核、总结，促进计划落实。

九、档案管理制度

1. 档案管理范围：包括科室人员业务技术情况、业务资料（含有检验操作规程、质控资料、检验结果登记等）、仪器及试剂资料、财产情况、教育及科研资料、医疗纠纷资料、管理制度等。

2. 档案资料应注意完整、规范、保密，不得用圆珠笔书写，不得用热敏打印纸打印，不得任意抽样或遗失，不得向无关人员泄露。

3. 所有档案资料应登记、分类、编号，并由专人保管。

4. 归档资料中的质控资料、检验结果登记及操作规程至少应保存5年。销毁前必须经科室领导审批。

5. 档案资料多时，为便于查阅可建立索引。

6. 外来人员需查阅档案资料均应经科主任同意。

7. 上述档案亦可存入计算机，并按上述管理办法进行管理。未经允许，不得任意打开。或用加密措施保护档案的安全。

十、预防医院感染制度

1. 工作人员须穿工作服，戴工作帽。必要时穿隔离衣、胶鞋，戴口罩、手套。

2. 使用合格的一次性检验用品，用后进行无害化处理。

3. 使用后的废弃物品，应及时进行无害化处理，不得随意丢弃。

4. 各种器具应及时消毒、清洗；各种废弃标本应分类处理（焚烧、入污水池、消毒或灭菌）。

5. 报告单应消毒后发放。

6. 检验人员结束操作后应及时洗手。毛巾专用，每天消毒。

7. 保持室内清洁卫生。每天对空气、各种物体表面及地面进行常规消毒。在进行各种检验时，应避免污染；在进行特殊传染病检验后，应及时进行消毒，遇有场地、工作服或体表污染时，应立即处理，防止扩散，并将污染情况向上级报告。

8. 菌种、毒种按《传染病防治法》进行管理。

9. 实验动物应严格管理，防止逃逸或造成人与实验动物的交叉感染；实验后的动物必须焚化或进行无害化处理。

十一、实验室安全管理制度

1. 科主任要定期检查安全制度的执行情况并经常进行安全教育。

2. 专人保管剧毒药品，建立易燃、易爆、剧毒药品的使用登记制度。

3. 易燃、易爆药品的贮存，应有专用的危险品库，并符合危险品的管理要求。剧毒药品应由两人保管，存放于保险箱内。

4. 普通化学试剂库由专人负责，并建立试剂使用登记制度。
5. 各种电器设备，如电炉、干燥箱、保温箱等仪器，以实验室为单位，由专人保管，并建立仪器卡片。
6. 做好电脑网络安全工作，防止病毒感染，防止泄密。
7. 每天下班时，各实验室应检查水、电安全，关好门窗。
8. 发现有不安全因素，应及时报告，迅速处理。

十二、卫生制度

1. 全科整洁卫生工作实行分室包干，责任到室、到人。
2. 每天打扫、拖擦地面，擦抹台面。定期擦抹门窗及桌椅。物品放置有序，保持科室整洁。
3. 不在实验室吸烟、进食，不乱丢纸屑等。
4. 注意个人卫生。
5. 科内有专人监督，科主任定期检查。

十三、查对制度

1. 建立查对制度是为医疗安全服务，杜绝医疗事故，减少差错发生。
2. 每天每组由一名检验师负责对其他人员的工作结果进行复核，并签上核对者姓名。遇疑难问题，应大家共同分析处理。
3. 采集标本时，应认真查对科别、床号、姓名、标本、数量、质量及检测项目。
4. 检验时，应认真查对仪器性能、试剂质量、化验单项目与标本是否相符。
5. 检验后，应认真查对检验目的、结果、是否缺项等。
6. 发报告单时，应认真查对科别、姓名及检验项目。
7. 为必要时复查，需保留标本的项目（痰片、淋菌涂片等）应按照规定予以保存。

十四、登记制度

1. 各种检验结果是我们科学的第一手资料，可回顾性总结检验质量、数量，为临床提供科研数据。必须严格执行操作规范，健全电脑登记保存制度。
2. 设立各种贵重仪器每日运行情况记录本。化验单发送登记本及特殊标本收集登记本。
3. 科室工作人员必须认真、及时登记，结果准确、清楚、完整。

十五、劳动纪律

1. 按时上班，不迟到、不早退，不擅离职守。
2. 工作人员挂牌上岗，衣帽端正，上班时间不干与工作无关的事情，不看与业务无关的书籍，不闲谈嬉闹。
3. 工作人员要认真负责，做到态度和蔼、热情诚恳、礼貌待人，避免与患者发生