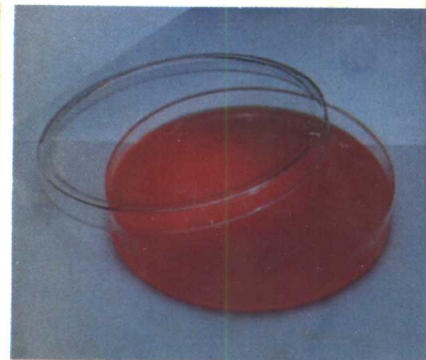
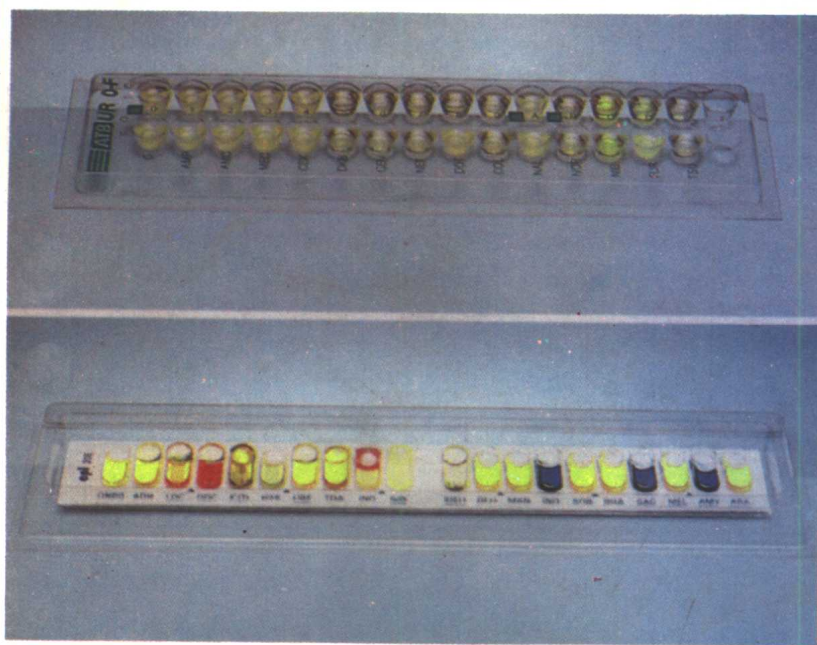
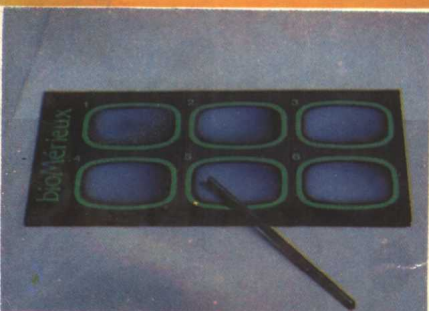


实用临床细菌学 检验与进展

娄永新 王金良 主编



天津科技翻译出版公司

实用临床细菌学检验与进展

娄永新 王金良 主编

天津科技翻译出版公司

津新登字(90)010号

实用临床细菌学检验与进展

主编: 姜永新 王金良

责任编辑: 周兆佳 蔡 颖 张春琦

出版: 天津科技翻译出版公司 邮编 300192

发行: 新华书店天津发行所

排版: 天津市科技信息研究所印刷排版中心

印刷: 天津市静一胶印厂印刷

开本: 787×1092 1/16 印张: 29 字数: 730 千字

1993年11月第一版 1993年11月第一次印刷

印数: 1—5000册

ISBN 7—5433—0549—6/Q·4

定价: (平) 21 元 (精) 26 元

《实用临床细菌学检验与进展》编写人员

主 编: 娄永新 王金良
作 者: 王金良 马纪平 李 森 李竹成
刘 越 周贵民 周惠平 张 德
陈大衡 娄永新 蔡妙英

前 言

由于大气物理和生物生态环境的衍变以及临床治疗手段进展等因素,促使微生物的致病性发生了巨变,因而感染症的类型也随之变化。其主要特点是感染菌群的变迁,机会感染明显增多,性传播疾病在上升,医院感染成为各国瞩目的问题,随之临床微生物学这一新兴学科正在迅速发展。

现代分子生物学、生物化学、免疫学、遗传学、微电子学以及诸多相关学科的进步,使临床细菌学检验技术在微量、快速、简易和自动化方面取得长足的进步,新的技术方法层出不穷。

为适应此发展趋势,总结经验,服务于临床诊断、治疗和预防,为促进我国临床细菌学检验的进步,我们编写了《实用临床细菌学检验与进展》一书。编写者均多年从事临床细菌学检验、教学和科研,他们愿将个人经验转化为集体智慧,写成《实用临床细菌学检验与进展》一书奉献给读者,以推动我国医学检验事业的发展。

由于水平所限,错误不当之处敬希国内专家、教授和同行们不吝指正。

编 者

1992年7月1日

目 录

总 论 篇

第一章 细菌分类学基础	(1)
一、细菌的等级分类(toxonomic rank)与分类方法	(1)
二、细菌的命名和国际细菌命名法规	(2)
三、分类学等级与命名标准	(3)
四、亚种以上的分类及其命名	(4)
五、细菌分类学的进步与临床细菌检验	(4)
六、细菌鉴定工作者必须遵守的原则	(5)
第二章 伯杰氏细菌分类学手册新 1 版 1 卷、2 卷概要介绍与临床常见致病菌的中译名称	(7)
一、伯杰氏细菌分类学手册新 1 版 1 卷(1984 年)内容概要与 8 版(1974 年)比较	(7)
二、伯杰氏细菌分类学手册新 1 版 2 卷(1986 年)内容概要与 8 版(1974 年)比较	(9)
三、临床常见致病菌的中译名	(10)
第三章 现代临床感染菌的变迁	(19)
一、感染类型的改变	(19)
二、感染菌的变迁	(20)
三、感染菌的变迁向临床微生物检查提出的任务	(21)
第四章 机会感染与条件致病菌	(23)
一、机会感染的概念	(23)
二、机会感染的致病菌	(23)
三、机会感染的诱因	(23)
四、机会感染与宿主的免疫功能	(24)
五、机会致病菌的检验与确证	(25)
第五章 临床细菌检验室的任务和管理	(27)
一、临床细菌检验室的任务	(27)
二、临床细菌检验室的管理	(28)
第六章 医院感染的概念与现状	(35)
一、医院感染的概念	(35)
二、医院感染发生的概况	(36)
三、医院感染常见的细菌	(37)
四、医院感染的诊断标准	(39)
五、医院感染的管理和组织	(39)
第七章 医院感染监控中微生物学检验与质控	(41)
一、临床细菌检验工作在医院感染监控中的作用	(41)
二、医院感染监测的微生物学检验技术和质控	(42)

各 论 篇

第一章 葡萄球菌属	(49)
------------------------	------

一、定义	(49)
二、分类	(49)
三、葡萄球菌菌种的鉴定	(50)
四、葡萄球菌分子水平和细胞壁化学组成的鉴定	(54)
五、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)	(55)
第二章 链球菌属	(58)
一、定义与分类	(58)
二、伯杰氏分类细菌学手册新 1 版 2 卷(1986)链球菌属的分群	(58)
三、临床被检标本及鉴定	(59)
四、链球菌的简易分群试验	(59)
五、化脓性(溶血)链球菌的生化特性	(61)
六、链球菌血清学分型方法	(62)
七、关于链球菌菌种鉴定试剂盒的进展	(63)
八、关于链球菌的核酸分析鉴定法	(64)
第三章 奈瑟氏菌属	(66)
一、定义与分类	(66)
二、脑膜炎奈瑟氏菌	(66)
三、淋病奈瑟氏	(70)
第四章 布兰汉氏菌属	(72)
一、定义与分类	(72)
二、卡他布兰汉氏菌	(72)
第五章 棒状杆菌属	(74)
一、定义与分类	(74)
二、白喉棒状杆菌	(74)
三、其他棒状杆菌	(76)
四、几种需氧性革兰氏阳性杆菌的简易鉴定	(76)
第六章 李斯特氏菌属	(79)
一、定义与分类	(79)
二、李斯特氏菌病	(79)
三、产单核细胞李斯特氏菌的细菌学检验	(79)
四、产单核细胞李斯特氏菌与其近缘菌的鉴别	(83)
第七章 嗜血杆菌属	(84)
一、定义	(84)
二、分类	(84)
三、流感嗜血杆菌分离鉴定	(84)
第八章 分枝杆菌属	(89)
一、定义与分类	(89)
二、结核分枝杆菌	(90)
三、细菌学检验法	(92)
四、非典型分枝杆菌	(104)
五、麻疯分枝杆菌	(114)
第九章 军团菌属	(116)
一、定义	(116)

二、分类	(116)
三、军团菌的实验诊断	(118)
四、患者血清抗体的检验	(121)
五、可溶性抗原的检测	(122)
六、军团菌的新检出法	(122)
七、军团菌病的治疗	(122)
第十章 肠杆菌科	(123)
一、肠杆菌科的定义与分类	(123)
二、肠杆菌科内细菌的基本特征	(123)
三、肠杆菌科细菌鉴定方法	(137)
四、DNA 探针在肠杆菌科细菌鉴定中的应用	(143)
第十一章 弧菌属	(145)
一、定义与分类	(145)
二、霍乱弧菌	(146)
三、副溶血性弧菌	(147)
四、拟态弧菌	(147)
五、河弧菌	(147)
六、霍利斯弧菌	(148)
七、其他致病性弧菌	(148)
第十二章 弯曲菌属	(149)
一、定义与分类	(149)
二、弯曲菌属的生物学特征	(149)
三、弯曲菌属的检验方法	(150)
四、幽门螺杆菌	(151)
第十三章 非发酵菌	(153)
一、定义和分类	(153)
二、非发酵菌的临床重要性	(154)
三、非发酵菌的鉴定程序	(155)
四、培养鉴定方法问题	(158)
五、重要的非发酵菌鉴别特征	(160)
六、非发酵菌的成套鉴定系统	(162)
第十四章 气单胞菌属和邻单胞菌属	(164)
一、定义	(164)
二、分类	(164)
三、气单胞菌属和邻单胞菌属临床常见主要致病菌的分离鉴定	(164)
四、动物试验	(168)
第十五章 厌氧菌	(170)
一、概述	(170)
二、标本和培养技术	(171)
三、临床标本的处理和分离鉴定程序	(173)
四、厌氧菌的药物敏感试验	(181)
附一：临床送检厌氧培养标本须知	(182)
附二：常用试剂、培养基和含药纸片	(183)

附三:常用生化和其他试验	(186)
第十六章 病原性螺旋体	(192)
一、定义与分类	(192)
二、密螺旋体属	(192)
三、疏螺旋体属	(197)
四、厌氧螺旋体(奋森氏螺旋体)	(199)
五、钩端螺旋体属	(199)
第十七章 奴卡氏菌属	(202)
一、定义	(202)
二、奴卡氏菌属的分类	(202)
三、本菌属临床常见致病菌的鉴定	(202)
四、动物试验	(204)
第十八章 与医学有关的酵母菌	(205)
一、定义	(205)
二、临床常见的菌种	(205)
三、常见致病酵母的分离鉴定	(206)
第十九章 衣原体	(211)
一、概述	(211)
二、砂眼衣原体	(212)
三、鹦鹉热衣原体	(214)
四、肺炎衣原体	(214)
第二十章 支原体 mycoplasma	(217)
一、概述	(217)
二、肺炎支原体	(218)
三、解脲支原体	(220)
四、生殖道支原体	(220)
第二十一章 性传播性疾病病原体	(221)
一、淋病奈瑟氏菌的实验诊断	(221)
二、梅毒密螺旋体(见“各论”第十六章)	(229)
三、梅毒血清学试验现代常用的几种方法	(229)
四、杜克氏嗜血杆菌	(236)
五、阴道加德纳氏菌	(237)
六、沙眼衣原体(见“各论”第十九章)	(239)
七、解脲支原体、人型支原体(见“各论”第二十章)	(239)
八、艾滋病的血清学检验	(239)
第二十二章 细菌药敏试验及其质量控制	(247)
一、细菌药敏试验在防治细菌性感染疾病中的作用	(247)
二、保证细菌药敏试验质量的前提	(247)
三、药敏试验方法和影响药敏试验结果的主要因素	(247)
四、应用标准菌株对药敏试验的质量控制	(262)
五、新抗菌药物 NCCLS 尚未公布 S. I. R 分界点时如何判读药敏结果	(264)
六、扩散法细菌药敏试验质量评价	(265)
七、药敏自动化检测系统	(266)

八、联合药敏试验	(267)
九、体液(血清、脑脊液、尿等)中抗菌素浓度测定法及临床意义	(270)
第二十三章 临床细菌检验质量控制	(276)
一、室内质控	(276)
二、室间质控	(281)
三、参考实验室(或检验中心)	(282)

新技术应用篇

第一章 API 鉴定系统及其在微生物检验中的应用	(283)
一、微生物鉴定系统的发展	(283)
二、API 鉴定系统的分类	(283)
三、数值鉴定的基本原理	(285)
四、数值鉴定的应用	(286)
五、AIP 系统的操作	(288)
六、API 20E 系统用于肠杆菌科的鉴定	(289)
七、API 20NE 用于非发酵菌的鉴定	(290)
八、API 20C AUX 用于酵母样真菌的鉴定	(292)
九、API CORYNE 用于革兰氏阳性棒状杆菌的鉴定	(293)
十、API Rapid ID 32A 用于厌氧菌的鉴定	(295)
第二章 自动微生物系统(Automicrobic System AMS)	(299)
一、仪器的构成及工作原理	(299)
二、在临床微生物学实验室的应用	(300)
三、仪器的优点及其它	(302)
第三章 分子生物学技术在临床细菌鉴定中的应用	(304)
一、分子生物学在细菌分类中的应用	(304)
二、应用核酸探针技术对未知菌进行鉴定	(306)
三、应用 DNA 探针鉴定军团菌	(308)
四、质粒 DNA 分析	(313)
五、DNA 体外扩增技术 聚合酶链反应(PCR)	(314)
第四章 电子计算机在临床细菌检验中的应用	(317)
一、临床细菌检验数据资料的存储和检索	(317)
二、对引起医院感染的病原菌进行监测和预报	(318)
三、对细菌进行鉴定	(318)
四、文献检索	(320)
五、医学统计学处理	(321)
第五章 胶乳(Latex)凝集试验检出致病菌及其进展	(322)
一、被检标本的直接涂片	(322)
二、胶乳凝集试验(LA)	(322)
三、被检标本	(322)
四、胶乳凝集试验(LA)对有关致病菌的检出方法	(325)

应用技术篇

第一章 细菌的生化试验	(329)
--------------------------	--------------

糖、醇、苷类代谢试验	(329)
一、糖、醇、苷类发酵试验	(329)
二、氧化~发酵试验(OF 试验)	(330)
三、 β -半乳糖苷酶试验(ONPG 试验)	(331)
四、七叶苷水解试验	(332)
五、淀粉水解试验	(332)
六、甲基红(MR)试验	(333)
七、VP 试验	(333)
八、甘油复红试验	(334)
九、葡萄糖酸氧化试验	(335)
氨基酸和蛋白质的代谢试验	(335)
一、苯丙氨酸脱氨酶试验	(335)
二、氨基酸脱羧酶试验	(336)
三、精氨酸双水解酶试验	(337)
四、尿素酶试验	(338)
五、吲哚试验	(339)
六、硫化氢试验	(340)
七、明胶液化试验	(340)
八、凝固血清液化试验	(341)
碳源和氮源利用试验	(341)
一、有机酸盐利用试验	(341)
二、枸橼酸盐利用试验	(342)
三、丙二酸盐利用试验	(342)
四、醋酸盐利用试验	(342)
五、马尿酸盐水解试验	(343)
六、唯一碳源试验	(344)
七、唯一氮源试验	(344)
八、乙酰胺利用试验	(344)
脂酶、磷酸酶和 DNA 酶试验	(344)
一、脂酶试验	(344)
二、吐温水解试验	(345)
三、卵磷脂酶试验	(345)
四、磷酸酶试验	(346)
五、DNA 酶试验	(346)
其它酶类试验	(346)
一、凝固酶试验	(346)
二、链激酶试验	(347)
三、胆汁溶菌试验	(347)
四、石蕊牛乳试验	(347)
五、CAMP 试验	(348)
呼吸酶类试验	(348)
一、氧化酶试验	(348)
二、过氧化氢酶(触酶)试验	(349)
三、硝酸盐还原试验	(349)

四、靛酚氧化酶试验	(351)
抑菌试验	(351)
一、氧化钾试验	(351)
二、乙基氢化羟基奎宁(Optochin)敏感试验	(352)
三、杆菌肽敏感试验	(352)
四、O/129 抑制试验	(352)
第二章 各种培养基的制备与应用	(354)
一、培养基的基本成份	(354)
二、培养基的分类	(356)
三、培养基的制备	(356)
四、临床上常用的培养基	(362)
第三章 各种细菌染色法的试剂配制与技术	(437)
一、不染色标本检查法	(437)
二、染色标本检查法	(437)

总 论 篇

第一章 细菌分类学基础

细菌分类学是一门独立的分类(classification)学科,也是应用最新科技情报和方法搜集分类的复杂领域。细菌学分类的实用价值是对已被发现的细菌分类,命名与检索。临床医学对细菌感染症的诊断和对患者血清中抗体的评价,对参考菌株和标准菌株的确认,对分离菌株的鉴定,药物敏感试验及其优选,科研成果的认定、学术论文撰写与发表,国际间的交流,如果没有细菌学的分类学知识,上述任务就难以完成,并将导致混乱和错误。

细菌分类学(bacterial taxonomy、bacterial systematics、systematic bacteriology)是细菌学家、细菌检验研究人员或其他有关工作者,对细菌这一类属,应用最新科技手段对细菌自身体系的分类和运用。以下对细菌分类、界、门、纲、目、科、属、种的相关问题进行论述。

一、细菌的等级分类(toxonomic rank)与分类方法

对生物的分类各家有各自的立论和学说,至今仍有争论。但已确认细菌的分类,属原核生物界。原核生物即核质没有核膜包裹,核质暴露在细胞浆内的生物。而真核生物则是核质被核膜所包裹。高等动物、植物、单细胞原虫或真菌就是真核生物,原核生物与真核生物的区别如表1-1-1所示。

表 1-1-1 原核生物和真核生物的主要区别

	原 核 生 物	真 核 生 物
核	无核膜,单链环状 DNA 在胞浆内	有核膜包裹的多数染色体
线粒体(mitochondria)	无,由细胞壁代替其结构	有
脂质小体(Liposome)	沉降系数 70S(30S+50S)在细胞内分散	沉降系数 80S(40S+60S)与细胞内膜并存
细胞壁	原则上是以肽聚糖(peptidoglycan)为基本物质	动物细胞无,植物细胞壁由纤维素(cellulose)和壳质(chitin)组成
细胞分裂	非有丝分裂	有丝分裂

具有坚硬细胞壁的革兰氏阴性菌或革兰氏阳性菌、菌体柔软螺旋体(*Treponema*)或钩端螺旋体(*Leptospira*)、缺细胞壁的支原体、在细胞内生成的立克次氏体(*Rickettsia*)和衣原体(*chlamydia*)与植物特有叶绿素有关蓝藻类(*cyanobacteria*)或形成分枝和分生孢子相近缘真菌的放线菌、细胞壁成分与其他显著不同的原始细菌(*Archeobacteria*)等原核生物,都属于细菌范畴,如表 1-1-2 所示。细菌的分类与其他生物分类相同,从上至下有界、门、纲、目、科、属、种的等级分类,在各等级之下还设“亚级”,例如在种级之下设亚种,属级之下设亚属。所谓“分类”给人们的印象是从上位向下位的分类,实际是由最小单位顺次向上单位的分类。在同一类别中又有相似的近缘菌,因而有群的分类。

细菌分类的最小单位是“种”,种的构成是菌株。因此临床细菌检验工作者必须明确从菌株

到上位的种、属的分类排列,对细菌科、属、种的鉴定和研究主要涉及的是细菌细胞的子孙集团(菌落、纯培养菌株),而不是单个的细菌细胞。对菌株的解释为:

1. 生长的纯培养细菌。
2. 用数码或号数或文字表示与其他培养菌相区别。例如大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*) 在保存菌株的试管上不仅要写菌株名,而且要写明是哪种大肠埃希氏菌的培养物。

3. 同时还要记录分离菌株的时间、地点、患者姓名,标本,分离培养方法,生物生化特性,检验者、研究者、是否已在杂志(卷、号)发表菌株或是未经鉴定的菌株。

如前所述,实际的分类学研究鉴定,并非是从高等级分类向下位等级的细分程序、而是由最小等级单位菌株间近缘程度的鉴定,也可以说是近缘的细菌向上一等级分类的进位,因此细菌分类学者、细菌检验工作者大部分工作时间,都在探索和运用最新技术和优选的方法来判定细菌间的近缘程度,作为细菌分类鉴定的依据。

二、细菌的命名和国际细菌命名法规

现代应用对细菌菌体化学成分分析或细菌 DNA——DNA 相似性、rRNA 的成对碱基组的确立或尽可能的生物生化性状、血清学或其他试验方法明确被测细菌在分类学上的位置之后,方可命名。每种细菌有学名和通俗名。学名与人的户籍一样,即为细菌的本名,是国际通用的命名。细菌学名是拉丁语,使用拉丁语以外的国家语言在用学名时也必须拉丁语化。学名如翻译为自己国家语言的命名,即为通俗名。因此一个国家的通俗名与国际通用的学名有时是有差别的。

细菌分类学的基础始于林奈氏(Carl Von Linne 1707~1778,瑞典)。细菌的属名与种名的命名基础,是由郭霍氏(Koch)和巴斯德氏(Pasteur)在100年前所确立。郭霍氏在1887年发表人结核病病因学,因而创立了伟大的业绩。当时将病原菌命名为 *Tuberkelbacillen* (通俗名为德国的习惯用语)。而在学会交流或发表的论文以及公文中必须使用正式学名。细菌的属名可以省略简写,而种名则应正确写出,如假单胞菌属的铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)可写为 *P. aeruginosa* 即种的名不能省略,不应写成 *P. a.* 细菌的学名应正式写成斜字体(书写体),如表示某菌属的一个菌种可写 *sp.*,如表示为多数菌种可写为 *spp.*

细菌的命名是由国际细菌命名法规(International code of nomenclature of bacteria)所决定。命名法规的目的为使细菌命名统一和稳定并避免混乱,国际命名法规只命亚种以上分类群的细菌名。亚种以下如血清型、毒素型、噬菌体型、凝固酶型等命名规则则不受约束,较为自由。

遇有新的细菌命名提案时,其论文需经国际细菌命名委员会机关杂志,国际细菌学分类杂志(International Journal of systematic bacteriology) IJSB 发表,新名提案分类记录必需详细,明确指定标准菌株,还要取得菌株永久保存的资格。新名提案论文如不在 IJSB 刊载,在其他杂志发表也必须具有 IJSB 的证明,正式发表名必须按命名法规规定命名。同样 IJSB 对新命名的细菌要实行新的编组,新命名提案分类,经世界公认和国际细菌命名委员会裁定委员会公布(Opinion)发表,再经细菌名批准目录刊行才能应用。如此确认了命名地位,如果没有发表名的细菌,在书写该细菌名时,必须用“”号表示无正式发表名。

表 1-1-2 原核生物(细菌范围内生物)

革兰氏阳性杆菌	支原体(mycoplasma)
革兰氏阳性杆菌	立克次氏体(Rickettsia)
螺旋体	衣原体 Chlamydia)
抗酸杆菌	蓝藻类(cyanobacteria)
放线菌	原始细菌(Archeobacteria)

三、分类学等级与命名标准

所谓标准,即命名上的标准,命名标准是分类群的永久用名。标准株以种为基准,种以外各分类等级的分类群命名标准尚没指定,有的属标准种的标准株尚没明确,这样的菌株,在命名上尚无地位。分类学上等级及其标准如表 1-1-3 所示。

表 1-1-3 分类学上的等级及其标准

等 级	标 准
亚种	原则上是指定菌株
种	
亚属	指定菌株
属	
科	其分类名来自属
目	

亚种和种的标准,原则上是指定的菌株,即标准菌株,命名上的标准菌株,如不标准,将不能称为标准菌株。亚属和属的标准是指定的种,即称为(Type Species),科和目的分类由属的标准而来,如假单胞菌科(family Pseudomonadaceae)是假单胞菌属(genus Pseudomonas)。

正确的科名是以标准属 Pseudomonas 为干语再加语尾 aceae 所组成,这是由命名法规指定的。又如埃希氏菌属(Escherichia)其科名写成为肠杆菌科(interobacteriaceae)这是命名法规上的唯一的例外。

命名标准在分类群中必须是最典型(Typical)的菌种和菌株,但绝对的标准是没有的。所谓标准株是用特别的试验区别为阳性标准,阴性标准或药物敏感试验的标准,如表 1-1-4 所示。

如铜绿假单胞菌(P. aeruginosa)的标准菌种是美国模式菌保藏所(American type culture collection)ATCC 10145 号菌株,日本岐阜大学微生物讲座使用的是 GIFU274 号。标准菌株的开头语必须是保存机构的略语。这样属的标准是种,假单胞菌属(Pseudomonas)的标准菌种是铜绿假单胞菌(P. aeruginosa),科名为假单胞菌科(Pseudomonadaceae)、目名是假单胞菌目(Pseudomonadales)、以标准属的干语加科名和目名语尾 aceae 和 ales 表示。

表 1-1-4 分类学上的等级及标准实例

	等 级	标 准
种	铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)	ATCC 10145、GIFU 274
属	假单胞菌属 Pseudomonas	铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)
科	假单胞菌科(Pseudomonadaceae)	假单胞菌属(Pseudomonas)
目	假单胞菌目(Pseudomonadales)	假单胞菌属(Pseudomonas)

另外,关于细菌名批准目录(Approved Lists of Bacterial Names)(1980),此目录中的细菌名称是国际细菌命名法规正式发表的细菌名,确认了细菌在命名上的地位。编写细菌名批准目录的出发点是将细菌命名保持经常稳定。但新命名的细菌不断地增加和编入,在 1980 年刊行的细菌名批准目录还有不少的缺点。细菌分类学杂志(IJSB)在 1989 年有更正版(amended edition)发行,同时自 1980 年 1 月~1989 年 1 月编目正式发表细菌新名及新组合,由美国微生物学会(American Society for Microbiology)正式发表刊行,凡是有关细菌研究的学术论文、不管是在学术会议上交流或杂志上发表的论文,必须使用细菌命名批准目录中正式的细菌学名。

四、亚种以上的分类及其命名

对亚种以上的等级分类学研究,应用的试验项目很多,如细菌形态、革兰氏染色、生物化学性状、菌体成分的分析、如肽聚糖(peptidoglycan)的组成、脂肪酸的组成、醌类(quinone)、蛋白质电泳、氨基酸组成、近年的核酸分析 DNA 的 G+C 含量, DNA 同源杂交(Hybridization), 5S, 16S 的 rRNA 的碱基序列, rRNA 电子显微镜观察等。以各菌株的分类学位置与该菌株分类等级分类群最为近似的标准来判定,即将其标准的最近与最远归纳到种和属,进行分类学研究必须具有标准菌种的标准株来比较,这一点是非常重要的,否则分类是不会成功的。了解是否是近缘菌,种和亚种的等级应是以 DNA—DNA 同源杂交出现相似性为根本。在属以上的等级, DNA 相似性不一定是主要的依据,而依靠 rRNA 的碱基序列来判断是主要方面,而其他的多数试验也应作为调查依据。但几种遗传学的研究结果为细菌分类的最终判定指标。

细菌分类学试验的目的物,主要是菌株,鉴定的结果是研究人员的个人意见,也有时发生错误,故分类鉴定的个人是不能命名的,必须经过专门的研究鉴定单位,再经分类鉴定、确认后才能命名。

亚种以下的再分类

国际细菌命名法规的规定是亚种以上的分类,亚种以下的分类是用细菌的血清群、血清型、毒素的产生、毒素的抗原性、噬菌体型与药敏试验等鉴定命名,这是医用细菌学领域在日常应用中关注的问题。链球菌属亚种以下的分类血清型别的鉴定至今仍在应用,如 Lansflad 血清分类。在对沙门氏菌属或志贺氏菌属、属、群、种的血清学进行鉴定时,也必须熟知被鉴定菌种科、属、种的分类学地位,以便于在鉴定中应用。然而由于鉴定试验的技术误差,或其他原因有的菌株作不出结果,更不能作出分类与命名,不能命名的群、种,必须作彻底的分类学研究、故细菌鉴定,分类、命名之间存在着不可分割的关系。

五、细菌分类学的进步与临床细菌检验

1. 临床分离的菌株必须正确作到属和种的水平鉴定。
2. 对属的正确鉴定也必须对科做正确鉴定。
3. 为使科、属的鉴定正确,被检细菌必须确认为原核生物。
4. 临床细菌分类鉴定科、属、种是重要的鉴定原则。

以上各点不能违反。关于对照的标准菌株或参考菌株可从研究院所或菌种收藏单位取得。对取得已知属、种的菌株、自己应做最小限度的性状试验。必须对目的菌株有自己确认的习惯,也必须养成对菌株试管、菌株瓶、写出信赖标记菌号或菌株正确名称的习惯。

细菌的简易鉴定试剂盒或细菌自动分析器正在普及应用,在鉴定工作中已开始使用核酸探针,这样的试验对上述各点既使稍有疏忽,也可以得到鉴定结果和菌名,然而对初学者尚不能如此放心。细菌研究室或临床细菌检验室应配有经验丰富和指导能力强的人员,即或不是细菌分类学者,也应是具有上述基本知识的细菌检验工作者。这样才能通过简便的细菌鉴定方法来得到正确的结果。

关于菌种的保存,由于对菌株的鉴定及其深入的研究或作为试验的鉴定对照菌株,另外各研究者分离的菌株不断增加,因此菌种的保存也是重要的。

菌种的保存方法:加适当保获剂的混悬新鲜培养菌, -80℃ 冰冻保存是最简便的。保存菌株或从其他单位的分让菌株和自己分离的菌株,从保存状态或再次培养时,必须确认是纯培

养,特别确认是原来的目的菌株更为重要。

保存的菌株必须有特别标帜和保存记录,属、种必须分明,必须标有菌种号,菌名及其来源分注明细,其冷冻保存地点、保存水平。必须严格管理。为了便于使用、交换或出售,应进行多次的微量培养,否则反复的取舍,反复的冻融,容易引起保存菌种变异和死亡。

冰冻的标准菌株如使用再培养,菌落可明显减少,菌株既或是在 -80°C 超低温保存,也不能完全信赖是纯培养状态,必须慎重地管理以期达到保存的目的。

细菌分类学与临床细菌检验密切相关,相辅相成。理论指导实践,必须按细菌分类学的命名原则从事临床细菌检验工作。临床细菌检验鉴定,新的菌种菌株不断的发现,也丰富了细菌分类学的理论基础。

六、细菌鉴定工作者必须遵守的原则

从事临床细菌检验工作者应对上述细菌分类学基础知识有所了解,如等级分类及命名等,细菌的常规鉴定工作应抓住细菌的主要特征,通过较简单的实验步骤获得正确的鉴定结果。

(一) 分类的等级单位和分类参考文献

1. 生物的分类等级由上而下即界(Kingdom)、门(Division)、纲(Class)、目(Order)、科(Family)、属(genus)、种(species)七个层次。在临床细菌检验常用的分类等级是科、属、种。

种:是细菌分类的基本单位,是客观存在并相对稳定的。一个菌种的菌株根据其形态、生物化学特性以及血清学或核酸的化学分析等予以鉴定。种的下边还可分成型、株、群等,在此不再赘述。

2. 目前,细菌分类学主要参考文献就是1984年出版的《伯杰氏细菌分类学手册,Bergey's Manual of systematic Bacteriology》,该手册以前的全名为《伯杰氏细菌学鉴定手册》,第一版1923年出版,第二、三、四、五、六、七、八版,分别出版于1925、1930、1939、1948、1957、1974,最新版1984年1卷,1986年2卷已出版。

“伯杰”手册是细菌分类及鉴定的经典著作。其细菌分类是国际公认的、所以伯杰手册有关的细菌分类与鉴定是基本的参考手册。

(二) 细菌的命名

细菌的命名是采用双名命名法,一个细菌的名称由两部分组成、即属名和种名。名称采用拉丁字或拉丁化的其他文字。属名在前、种名在后,如staphylococcus aureus。而中文的译名一般是种名在前,属名在后,如金黄色葡萄球菌。细菌检验室发出的鉴定报告,应符合双命名法的规定。

(三) 细菌鉴定工作的原则及基本方法

1. 必须用细菌纯培养物作鉴定,因为不同的细菌生化特性反应结果相差很大,而在表示结果时,则是以阳性和阴性为依据,一旦用混合菌做生化反应,所得结果将无法分析。如大肠埃希氏菌与肺炎克雷伯氏菌混合、IMVC的结果可以均为阳性,而实际上不存在这样的生物模式。用纯培养物作鉴定,在使用编码鉴定系列时更为重要。尽可能用1个菌落接种全部生化反应培养基,如不够用,应考虑纯化方法,由1个菌落得到大量的培养物。

2. 鉴定试验的选择,测定细菌特征的实验方法很多、临床细菌检验工作的目的是准确地检出病原菌,并根据细菌的主要特征给与正确鉴定。因此并不是做的实验越多越好,而是根据鉴定目的选择适当的实验项目,既能完成鉴定,试验项目又尽可能少,一般应考虑以下几个问题:

1) 选择有价值的项目;选择鉴别细菌的试验项目,有阳性的项目,也有阴性的项目,阳性和