



全国高等医药院校医学检验技术专业“十三五”规划教材

供医学检验技术等专业使用

临床微生物学检验技术

吕厚东 吴爱武◆ 主编

LINCHUANG
WEISHENGWUXUE
JIANYANJISHU



华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>



全国高等医药院校医学检验技术专业“十三五”规划教材

供医学检验技术等专业使用

临床微生物学检验技术

主 编 吕厚东 吴爱武

副主编 张玉妥 赵建宏 陶元勇 侯 珏

编 者 (以姓氏笔画为序)

弓艳娥 长治医学院附属和平医院

马淑一 包头医学院

王秀青 宁夏医科大学

韦 莉 蚌埠医学院

帅丽华 九江学院附属医院

付玉荣 潍坊医学院

吕厚东 济宁医学院

朱中元 海南医学院附属第二医院

刘延菊 河北工程大学医学院

李秀真 济宁医学院

吴爱武 广州医科大学

陈 鑫 佛山科学技术学院

杨晶艳 成都中医药大学

张玉妥 河北北方学院

张欠欠 延安大学

张美英 包头医学院

费 嫦 湖南医药学院

赵建宏 河北医科大学

侯 珏 中南大学

陶元

曹龙

蒋幻



华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>

中国·武汉

内 容 提 要

本书是全国高等医药院校医学检验技术专业“十三五”规划教材。

本书包括临床细菌学及检验技术、临床真菌学及检验技术、临床病毒学及检验技术、微生物实验室质量保证与生物安全四篇。

本书适合于医学检验技术专业本科生、专科生使用,也可供从事医学检验技术工作的医师、技师和各级微生物学实验室工作人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

临床微生物学检验技术/吕厚东,吴爱武主编. —武汉:华中科技大学出版社,2020.1

全国高等医药院校医学检验技术专业“十三五”规划教材

ISBN 978-7-5680-5732-5

I. ①临… II. ①吕… ②吴… III. ①微生物学-医学检验-医学院校-教材 IV. ①R446.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2019)第 290532 号

临床微生物学检验技术

Linchuang Weishengwuxue Jianyan Jishu

吕厚东 吴爱武 主编

策划编辑:荣 静

责任编辑:孙基寿

封面设计:原色设计

责任校对:张会军

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

武汉市东湖新技术开发区华工科技园

电话:(027)81321913

邮编:430223

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:武汉华工鑫宏印务有限公司

开 本:889mm×1194mm 1/16

印 张:28.5

字 数:880千字

版 次:2020年1月第1版第1次印刷

定 价:79.80元



本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换
全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务
版权所有 侵权必究

全国高等医药院校医学检验技术专业 “十三五”规划教材 建设指导委员会

主任委员 徐克前 康熙雄

副主任委员 岳保红 龚道元 周芙玲 王小林 赵建宏 贾天军 李玉云

编委(按姓氏笔画排序)

王小林	北京大学医学部	岳保红	郑州大学
王俊利	右江民族医学院	周芙玲	武汉大学
权志博	陕西中医药大学	郑文芝	海南医学院
吕厚东	济宁医学院	赵建宏	河北医科大学
任伟宏	河南中医药大学	胡志坚	九江学院
伊正君	潍坊医学院	袁忠海	吉林医药学院
闫海润	牡丹江医学院	贾天军	河北北方学院
纪爱芳	长治医学院	徐霞	广州医科大学
李玉云	蚌埠医学院	徐广贤	宁夏医科大学
李树平	湖南医药学院	徐克前	中南大学湘雅医学院
余蓉	成都中医药大学	徐菲莉	新疆医科大学
张式鸿	中山大学	高荣升	佳木斯大学
张红艳	河北工程大学	陶华林	西南医科大学
陈大鹏	重庆医科大学	黄泽智	邵阳学院
林东红	福建医科大学	龚道元	佛山科学技术学院
欧阳丹明	湘南学院	康熙雄	首都医科大学

总序

ZONGXU

近年来,随着科学技术的进步,大量先进仪器和技术的采用,医学检验得到飞速的发展。各种新的检验技术不断涌现,对临床疾病的诊疗越来越重要,作用越来越突出,为人类疾病的诊断、治疗监测、预后判断提供大量新的实验室监测指标。据统计,临床实验室提供的医学检验信息占患者全部诊疗信息的60%以上,医学检验已成为医疗的重要组成部分,被称为临床医学中的“侦察兵”。

《国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010—2020年)》《国家中长期人才发展规划纲要(2010—2020年)》要求全面提高高等教育水平和人才培养质量,以更好地满足我国经济社会发展和创新型国家建设的需要。根据《教育部关于进一步深化本科教学改革 全面提高教学质量的若干意见》,在教材建设过程中,教育部鼓励编写、出版适应不同类型高等学校教学需要的不同风格和特色的教材;积极推进高等学校与行业合作编写教材;鼓励编写和出版不同载体和不同形式的教材,包括纸质教材和数字化教材。2012年教育部制定的新本科专业目录中,将医学检验专业更名为医学检验技术专业,学制由五年改为四年。

为了更好地适应医学检验技术专业的教学发展和需求,体现最新的教学理念和特色,在认真、广泛调研的基础上,在医学检验技术专业教学指导委员会相关领导和专家的指导和支持下,华中科技大学出版社组织了全国40多所医药院校的200多位老师编写了本套全国高等医药院校医学检验技术专业“十三五”规划教材。本套教材由国家级重点学科的教学团队引领,副教授及以上职称的老师占80%,教龄在20年以上的老师占72%。教材编写过程中,全体参编人员进行了充分的研讨,各参编单位高度重视并大力支持教材的编写工作,各主编及参编人员付出了辛勤的劳动,这确保了本套教材的编写质量。

本套教材着重突出以下特点:

(1)教材定位准确,体现最新教学理念,反映最新教学成果。紧密联系最新的教学大纲和临床实践,注重基础理论和临床实践相结合,体现高素质复合型人才培养的要求。

(2)适应新世纪医学教育模式的要求,注重学生的临床实践技能、初步科研能力和创新能力的培养。突出实用性和针对性,以临床应用为导向,同时反映相关学科的前沿知识和发展趋势。

(3)以问题为导向,导入临床案例。通过案例与提问激发学生学习的热情,以学生为中心,以利于学生主动学习。

(4)纸质与数字融合发展。全套教材采用全新编写模式,以扫描二维码形式帮助老师及学生在移动终端共享优质配套网络资源,通过使用华中科技大学出版社数字化教学资源平台将移动互联、网络增值、慕课等新的教学理念和学习方式融入教材建设中,开发多媒体教材、数字化教材等新媒体教材形式。

本套教材得到了教育部高等学校医学技术类教学指导委员会和中国医师协会检验医师分会相关领导和专家,以及各院校的大力支持与高度关注,我们衷心希望这套教材能为高等医药院校医学检验技术教学及人才培养做出应有的贡献。我们也相信这套教材在使用过程中,通过教学实践的检验和实际问题的解决,能不断得到改进、完善和提高。

全国高等医药院校医学检验技术专业“十三五”规划教材
建设指导委员会

前言

QIANYAN

2012年教育部制定的新本科专业目录将医学检验专业归入新设置的“医学技术”一级学科,学制由五年改为四年,学位由医学学士改为理学学士。学制、学位授予和人才培养目标均发生了较大变化。基于这种变化,2018年6月在湖北省武汉市召开了全国高等医药院校医学检验技术专业“十三五”规划教材编写研讨会,决定将《临床微生物学检验》改版为《临床微生物学检验技术》,根据四年制医学检验技术专业的培养目标,继续坚持“三基”(基本理论、基本知识和基本技能)、“五性”(思想性、科学性、先进性、启发性和适用性)、“三特定”(特定的对象、特定的要求、特定的限制)的原则,充分体现素质教育、创新能力与实践技能的培养。坚持“贴近实际、关注需求、注重实践、突出特色”的基本原则,适应现代教育思想与理念,以学生认知规律为导向,以培养目标为依据,以现行的教学计划和教学大纲为纲领,充分注重医学检验技术专业特点,尽可能地调动学生主动学习的积极性,培养学生应用所学知识解决实际问题的能力和创新精神。我国高等医学检验(技术)教育始于1983年,至今已经历了36年的探索与发展历程,其培养目标与要求趋于统一。

为了尽量体现教材的延续性,在编排形式上保留了上一版的编写风格。全书共分为四篇,即临床细菌学及检验技术、临床真菌学及检验技术、临床病毒学及检验技术、微生物实验室质量保证与生物安全,共42章。书中的“学习目标”“知识链接”“案例分析”等都是本版次的特色,另外,在每章后增加了小结及思考题,有助于学生对相关知识的学习与复习。本书适合于医学检验技术专业本科生、专科生使用,也可供从事医学检验技术工作的医师、技师和各级微生物学实验室工作人员参考。

本书的修订得到了各位编委及华中科技大学出版社的大力支持,同时也得到了临床微生物学界同仁们的热心指导和帮助,在此表示衷心感谢。尽管我们已倾尽全力,但限于学术水平、编写能力,加之临床微生物学检验技术发展迅速,书中不足和错误之处在所难免。恳切期望读者不吝指正,并提出宝贵意见。

吕厚东

目录

MULU

绪论	/1
第一篇 临床细菌学及检验技术	
第一章 细菌的形态结构	/8
第一节 细菌的大小与形态	/8
第二节 细菌的结构	/9
第二章 细菌的生理	/18
第一节 细菌的细胞化学和物理性状	/18
第二节 细菌的营养和生长繁殖	/19
第三节 细菌的代谢	/21
第三章 理化因素对细菌的影响	/24
第一节 物理因素对细菌的影响	/24
第二节 化学因素对细菌的影响	/27
第四章 细菌的遗传与变异	/31
第一节 噬菌体及其在细菌遗传变异中的应用	/31
第二节 细菌遗传的物质基础	/33
第三节 细菌的变异	/35
第五章 细菌的感染与免疫	/39
第一节 宿主与菌群的相互关系	/39
第二节 细菌的致病作用	/41
第三节 宿主的免疫防御机制	/42
第四节 感染的发生与发展	/45
第六章 医院内感染	/48
第一节 医院内感染的概念与分类	/48
第二节 医院内感染的预防与控制	/49
第七章 细菌的分类与命名	/54
第一节 细菌分类单位、分类系统和命名	/54
第二节 细菌的分类方法	/55
第八章 细菌学检验的基本方法与技术	/58
第一节 细菌形态学检查	/58
第二节 细菌的分离培养技术	/61
第三节 细菌的生化鉴定技术	/64
第四节 细菌的非培养检测技术	/70
第五节 细菌自动化检测系统	/74
第六节 菌株保存和管理技术	/75
第九章 抗菌药物敏感试验及细菌耐药性检测	/79
第一节 临床常用抗菌药物	/79



第二节	一般细菌的抗菌药物敏感试验	/81
第三节	分枝杆菌药敏试验	/92
第四节	厌氧菌药敏试验	/93
第五节	酵母样真菌的药敏试验	/95
第六节	细菌耐药性检测	/96
第十章	病原性球菌检验	/104
第一节	葡萄球菌属	/104
第二节	链球菌属	/109
第三节	肠球菌属	/115
第四节	奈瑟菌属	/117
第十一章	肠杆菌科细菌检验	/122
第一节	概述	/122
第二节	埃希菌属	/125
第三节	克雷伯菌属	/129
第四节	志贺菌属	/130
第五节	沙门菌属	/134
第六节	耶尔森菌属	/138
第七节	变形杆菌属、普罗威登菌属及摩根菌属	/141
第八节	肠杆菌科的其他菌属	/143
第十二章	非发酵菌检验	/147
第一节	概述	/147
第二节	假单胞菌属	/149
第三节	窄食单胞菌属	/152
第四节	不动杆菌属	/153
第五节	伯克霍尔德菌属	/154
第六节	产碱杆菌属和无色杆菌属	/156
第七节	莫拉菌属	/157
第八节	金黄杆菌属和伊丽莎白菌属	/159
第十三章	弧菌属、气单胞菌属和邻单胞菌属检验	/162
第一节	弧菌属	/162
第二节	气单胞菌属和邻单胞菌属	/169
第十四章	弯曲菌属与螺杆菌属检验	/173
第一节	弯曲菌属	/173
第二节	螺杆菌属	/175
第十五章	其他革兰阴性杆菌检验	/178
第一节	嗜血杆菌属	/178
第二节	鲍特菌属	/181
第三节	军团菌属	/183
第四节	布鲁菌属	/185
第五节	巴斯德菌属	/187
第六节	弗朗西斯菌属	/189
第十六章	需氧革兰阳性杆菌检验	/192
第一节	棒状杆菌属	/192
第二节	炭疽芽胞杆菌	/194

第三节	蜡样芽胞杆菌	/198
第四节	产单核细胞李斯特菌	/200
第五节	红斑丹毒丝菌	/202
第六节	阴道加特纳菌	/203
第十七章	分枝杆菌属检验	/206
第一节	结核分枝杆菌	/206
第二节	非结核分枝杆菌	/212
第三节	麻风分枝杆菌	/214
第十八章	放线菌检验	/216
第一节	放线菌属	/216
第二节	诺卡菌	/218
第十九章	厌氧菌检验	/222
第一节	概述	/222
第二节	厌氧菌检验	/223
第三节	厌氧球菌	/225
第四节	革兰阴性无芽胞厌氧杆菌	/226
第五节	革兰阳性无芽胞厌氧杆菌	/228
第六节	梭状芽胞杆菌属	/230
第二十章	螺旋体检验	/237
第一节	概述	/237
第二节	密螺旋体属	/239
第三节	钩端螺旋体属	/242
第四节	疏螺旋体属	/244
第二十一章	支原体检验	/248
第一节	概述	/248
第二节	肺炎支原体	/250
第三节	溶脲脲原体	/252
第四节	其他支原体	/254
第二十二章	衣原体检验	/256
第一节	概述	/256
第二节	沙眼衣原体	/258
第三节	肺炎衣原体	/260
第四节	鹦鹉热衣原体	/261
第二十三章	立克次体检验	/263
第一节	分类	/263
第二节	斑疹伤寒立克次体	/264
第三节	恙虫病东方体	/267
第二十四章	临床标本的细菌学检验	/270
第一节	血液标本的细菌学检验	/270
第二节	尿液样本的细菌学检验	/273
第三节	粪便样本的细菌学检验	/275
第四节	呼吸道样本的细菌学检验	/277
第五节	脑脊液标本的细菌学检验	/279
第六节	脓液及创伤分泌物标本的细菌学检验	/281



第七节 生殖道标本的细菌学检验 /284

第二篇 临床真菌学及检验技术

第二十五章 真菌学概论 /288

第一节 分类与命名 /288

第二节 真菌的生物学特性 /289

第三节 真菌的致病性与免疫性 /292

第二十六章 真菌检验基本技术 /295

第一节 标本的采集与送检 /295

第二节 真菌的形态学检查 /296

第三节 真菌的培养与鉴定技术 /298

第四节 真菌的非培养检验技术 /300

第二十七章 浅部感染性真菌检验 /303

第一节 毛癣菌属 /303

第二节 表皮癣菌属 /305

第三节 小孢子癣菌属 /305

第二十八章 深部感染性真菌检验 /307

第一节 假丝酵母菌属 /307

第二节 隐球菌属 /310

第三节 曲霉 /311

第四节 组织胞浆菌属 /314

第五节 卡氏肺孢菌 /315

第三篇 临床病毒学及检验技术

第二十九章 病毒的基本性状 /318

第一节 病毒的形态结构 /318

第二节 病毒的增殖 /321

第三节 病毒的遗传与变异 /325

第四节 理化因素对病毒的影响 /328

第五节 病毒的分类与命名 /329

第三十章 病毒的感染与免疫 /334

第一节 病毒的致病作用 /334

第二节 宿主的抗病毒免疫 /338

第三十一章 病毒学检验基本技术 /342

第一节 标本的采集、送检、保存与处理 /342

第二节 病毒的形态结构检查法 /344

第三节 病毒的分离与鉴定技术 /345

第四节 病毒的非培养检验技术 /348

第三十二章 呼吸道病毒检验 /351

第一节 正黏病毒科 /352

第二节 副黏病毒科 /357

第三节 冠状病毒科 /361

第四节 其他呼吸道病毒	/364
第三十三章 肠道病毒检验	/368
第一节 概述	/368
第二节 脊髓灰质炎病毒	/369
第三节 柯萨奇病毒与埃可病毒	/370
第四节 新型肠道病毒	/371
第三十四章 急性胃肠炎病毒检验	/373
第一节 轮状病毒	/373
第二节 其他病毒	/375
第三十五章 肝炎病毒检验	/377
第一节 甲型肝炎病毒	/377
第二节 乙型肝炎病毒	/379
第三节 丙型肝炎病毒	/382
第四节 丁型肝炎病毒	/384
第五节 戊型肝炎病毒	/385
第六节 其他肝炎病毒	/386
第三十六章 虫媒病毒检验	/388
第一节 流行性乙型脑炎病毒	/388
第二节 森林脑炎病毒	/389
第三节 登革病毒	/390
第三十七章 出血热病毒检验	/393
第一节 汉坦病毒	/393
第二节 新疆出血热病毒	/394
第三十八章 疱疹病毒检验	/396
第一节 单纯疱疹病毒	/396
第二节 水痘-带状疱疹病毒	/398
第三节 EB病毒	/400
第四节 巨细胞病毒	/401
第五节 其他疱疹病毒	/403
第三十九章 逆转录病毒检验	/405
第一节 人类免疫缺陷病毒	/405
第二节 人类嗜T细胞病毒	/411
第四十章 其他病毒与朊粒检验	/413
第一节 狂犬病病毒	/413
第二节 人乳头瘤病毒	/415
第三节 细小病毒	/417
第四节 朊粒	/418

第四篇 微生物实验室质量保证与生物安全

第四十一章 微生物实验室质量保证	/424
第一节 检验前质量保证	/424
第二节 检验中质量保证	/425



第三节 检验后质量保证	/430
第四十二章 微生物实验室生物安全	/432
第一节 微生物危害程度分类	/433
第二节 微生物实验室生物安全水平	/434
第三节 生物安全技术	/436
第四节 微生物实验室常用生物安全设备	/440
参数文献	/443

绪 论

一、微生物与微生物学

(一) 什么是微生物?

微生物(microorganism)是存在于自然界中的一群形体微小、结构简单、肉眼不能直接看到,必须借助于光学显微镜或电子显微镜放大数百倍、数千倍,甚至数万倍才能看到的微小生物。

(二) 微生物的分类

微生物的种类众多,根据其大小、结构、组成及分化程度等可分为三型、八大类。

1. 非细胞型微生物(acellular microorganism) 最小的一类微生物,无典型的细胞结构,缺少产生能量的酶系统,只能在易感活细胞内生长增殖。核酸类型为 DNA 或 RNA,两者不同时存在。如病毒。

2. 原核细胞型微生物(prokaryotic microorganism) 这类微生物有原始核,呈环状裸 DNA 团块结构,无核膜、核仁。细胞器不完善,只有核糖体。DNA 和 RNA 同时存在。该类微生物众多,包括细菌、支原体、衣原体、立克次体、螺旋体和放线菌。由于后五类微生物的结构和组成与细菌接近,所以将其列入了广义细菌的范畴。

3. 真核细胞型微生物(eukaryotic microorganism) 细胞核分化程度高,有核膜和核仁,细胞器完整。如真菌。

(三) 微生物的分布

微生物在自然界中的分布极其广泛,如江河、湖泊、海洋、土壤、空气等都有数量不等、种类不一的微生物存在。其中以土壤中的微生物数量最多,1 g 肥沃土壤中可有几亿到几十亿个。在人类、动物和植物的体表以及与外界相通的人类和动物的腔道中,亦有大量的微生物存在。

(四) 微生物与人类的关系

绝大多数微生物对人类、动物、植物是有益的,而且有些甚至是必需的。自然界中 N、C、S 等元素的循环要依靠有关微生物的代谢活动完成。如土壤中的微生物可以将死亡动物、植物中的有机含氮化合物转化为无机含氮化合物,以供植物生长之需要,而植物又可为人类及动物所食用。此外,空气中有大量游离氮,也只有依靠固氮菌等作用后才能被植物吸收。微生物在自然界物质循环中扮演着重要角色。因此,没有微生物植物就不能进行代谢,人类和动物也将难以生存。

在农业方面,可以利用微生物制造菌肥、植物生长激素等;也可利用微生物感染昆虫这一自然现象来杀死害虫。例如苏云金杆菌能在一些农作物害虫的肠腔中生长繁殖并分泌毒素,导致寄生昆虫的死亡。从而开辟了以菌造肥、以菌催长、以菌防病、以菌治病等农业增产的新途径,为人类创造更多的物质财富。

在工业方面,微生物已广泛应用于食品、皮革、纺织、石油、化工、冶金、采矿等行业。例如过去采用盐酸水解法生产 1 吨味精需要 30 吨小麦,现改用微生物发酵法只需 3 吨薯粉,既降低了生产成本,又节约了细粮。如在炼油工业中,利用多种以石油为原料的微生物进行石油脱蜡,可以提高石油的质量和产量。

在医药工业方面,许多抗生素是微生物的代谢产物。另外,也可利用微生物来制造一些维生素、辅酶、ATP 等药物。

在环境保护方面,利用微生物降解有机磷、氰化物、塑料、甲苯等,可使废水中的有毒物质降解转化为无毒物质。

近年来,随着分子生物学的飞速发展,微生物在基因工程技术中的作用日显突出。不仅提供了多种





工具酶和载体系统,而且人为地定向创建了许多有益的工程菌新品种,利用这些工程菌,可制造出胰岛素、干扰素、乙肝疫苗等,以满足疾病的治疗和预防之需要。

寄生于人类和动物口、鼻、咽部及消化道中的微生物通常是无害的,而且有的还能拮抗某些病原微生物。近年来,微生物研究取得许多突破,越来越多的研究证实,人体肠道微生物生态的失衡与多种疾病有关,如糖尿病、肥胖等。另外,定植在肠道中的大肠埃希菌等可以为宿主提供必需的硫胺素、核黄素、烟酸、维生素 B₁₂、维生素 K 和多种氨基酸等营养物质。在牛、羊、鹿、骆驼等反刍动物的胃中,因有分解纤维素的微生物定植,故能利用草饲料作为其营养物质。

并非所有微生物对人类、动物和植物都是有益的,有少数微生物能引起人类、动物和植物疾病或病害,这些具有致病性的微生物称为病原微生物(pathogenic microorganism)。它们可以引起人类的伤寒、痢疾、结核、破伤风、麻疹、脊髓灰质炎、肝炎、艾滋病(AIDS)、严重急性呼吸综合征(SARS)等,引起动物致病,如鸡霍乱、鸡瘟、牛炭疽、猪气喘、疯牛病等,以及农作物的水稻白叶枯病、小麦赤霉病、大豆病毒病等。有些微生物,在正常情况下并不致病,只是在特定情况下才导致疾病,这类微生物称为条件致病微生物或机会致病微生物(opportunistic organism)。例如大多数大肠埃希菌在肠道一般不致病,而在泌尿道或腹腔中就会引起感染。此外,有些微生物的破坏性还表现在使工业产品、农副产品及生活用品的腐蚀和霉变等。

(五) 微生物学

微生物学(microbiology)属于生命科学,是研究微生物的类型、分布、形态、结构、代谢、生长繁殖、遗传变异以及与人类、动物、植物等相互关系的一门学科。

随着微生物学研究范围的日益广泛和深入,逐渐形成了许多分支。着重研究微生物学基础的有普通微生物学、微生物分类学、微生物生理学、微生物生态学、微生物遗传学、分子微生物学等;根据研究对象的不同微生物学分为细菌学、病毒学、真菌学等;根据所涉及的应用领域的不同,分为农业微生物学、工业微生物学、医学微生物学、诊断微生物学、兽医微生物学、食品微生物学、海洋微生物学、石油微生物学、土壤微生物学等;最近又增加了一门由细胞生物学与微生物学融合的分支学科——细胞微生物学(cellular microbiology)。该学科是用病原体来研究细胞生物学问题,这一分支的发展将有利于病原微生物致病机制的研究。这些分支学科的相互配合与促进,使整个微生物学不断向纵深发展。

(六) 医学微生物学

医学微生物学(medical microbiology)主要研究与医学有关的病原微生物的生物学特性、致病性、免疫性、微生物学检查和防治措施,以控制或消灭感染性疾病和与之有关的免疫损伤等疾病,达到保障和提高人类健康水平的目的。

(七) 临床微生物学与临床微生物学检验

临床微生物学(clinical microbiology)与临床医学密切结合,属于医学微生物学的范畴。临床微生物学检验(inspection of clinical microbiology)是应用医学微生物学的基本理论、基本知识和基本技术,研究感染性疾病的快速、准确的诊断方法,为临床感染性疾病的诊断、治疗和预防提供科学依据,因此,也称为诊断微生物学(diagnostic microbiology)。

二、临床微生物学发展简史

微生物学的发展过程大致可分三个时期。

1. 微生物学经验时期 古代人类虽未观察到具体的微生物,但早已将微生物学知识用于工农业生产 and 疾病防治之中。如北魏(386—534)贾思勰在《齐民要术》一书中,已详细记载了制醋的方法。民间常用的盐腌、糖渍、烟熏、风干等方法储藏食物,实际上都是防止食物因微生物生长繁殖而腐烂变质的有效措施。11世纪北宋末年刘真人就有肺癆由虫引起之说。奥地利 Plenciz(1705—1786)主张传染病的病因是活的物体,每种传染病由独特的活物体所引起。1793年云南师道南在《鼠死行》中写道:“东死鼠,西死鼠,人见死鼠如目虎……昼死人,莫问数,日色惨淡愁云护。三人行,未十步,忽死二人横截路。”



生动地描述了鼠疫猖獗流行的凄惨景况,同时也推测了鼠疫的流行环节。在预防医学方面,我国自古以来就有将水煮沸后饮用的习惯。明代李时珍在《本草纲目》中指出,将病人的衣服蒸过再穿就不会感染疾病,表示已有消毒的记载。

2. 实验微生物学时期 荷兰人列文虎克(Leeuwenhoek, 1632—1723)于1676年用自磨镜片制造了一架能放大266倍的原始显微镜,并用其检查污水、齿垢、粪便等,发现了许多肉眼看不见的微小生物,描述了微生物的形态有球形、杆状和螺旋状等,为证实微生物的存在提供了科学依据,也为微生物学的发展奠定了坚实的基础。法国科学家巴斯德(Louis Pasteur, 1822—1895)于1857年实验证明有机物质发酵和腐败是由微生物引起的,而酒类变质是因污染了杂菌所致,从而推翻了当时盛行的“自然发生说”。为防止酒类发酵成醋,巴斯德采用了加温处理法,这就是至今仍沿用于酒类和牛奶的巴氏消毒法。巴斯德开创了微生物的生理学时代,自此微生物学成为一门独立的学科。在巴斯德的影响下,英国外科医生李斯特(Joseph Lister, 1827—1912)创用石炭酸喷洒手术室和煮沸手术器具以防止术后感染,为防腐、消毒以及无菌操作奠定了基础。微生物学的另一奠基人是德国学者郭霍(Robert Koch, 1843—1910),他利用琼脂制成了固体培养基,可以将细菌从环境或病人排泄物等标本中分离出来,然后对各种细菌的特性进行研究。他还创立了染色方法和实验动物感染模型,为发现多种传染病的病原菌提供了实验手段,并提出了著名的郭霍法则(Koch's postulates, 1884)。1892年俄国学者伊凡诺夫斯基(Ивановский ДИ)发现了第一个病毒,即烟草花叶病病毒(tobacco mosaic virus, TMV)。随后相继分离出许多种对人类、动物和植物致病的病毒。美国保罗艾利希(Paul Ehrlich)1910年合成了治疗梅毒的砷凡纳明(编号606),从而开创了感染性疾病的化学治疗时代。1929年,英国人弗莱明(Alexander Fleming)发现了青霉素,使许多由细菌引起的感染性疾病得到了控制和治愈,为人类健康作出了巨大贡献。

3. 现代微生物学时期 进入20世纪中期,随着分子生物学的发展和许多新技术的建立与改进,微生物学也得到极为迅速的发展。自1973年以来,新发现的病原微生物已有30余种。其中重要的病原体有军团菌、幽门螺杆菌、霍乱弧菌 O139 血清群、大肠埃希菌 O157:H7 血清型、肺炎衣原体、伯氏疏螺旋体、人类免疫缺陷病毒、汉坦病毒、轮状病毒、埃博拉病毒、SARS 冠状病毒、大肠埃希菌 O104:H4 血清型等。1967—1971年间,美国植物学家 Diener 等从马铃薯纺锤形块茎病中发现一种不具有蛋白质组分的 RNA 致病因子,称为类病毒(viroid),后来在研究类病毒时发现另一种引起苜蓿等植物病害的拟病毒(virusoid)。1983年在有关国际会议上将这些微生物统称为亚病毒(subvirus)。1982年,美国科学家 Prusiner 从患羊瘙痒病(scrapie)的鼠脑中分离出一种称为朊粒(prion)的传染性蛋白因子。该因子只含蛋白质,无核酸组分,属于未定类的传染因子。朊粒除引起羊瘙痒病外,还可引起疯牛病、人类的库鲁(kuru)病、克-雅病(Creutzfeldt-Jakob disease, CJD)、格斯综合征(Gerstmann's syndrome, GSS)、致死性家族失眠症(fatal familial insomnia, FFI)等。近年来,由于分子生物学技术的介入,对病原微生物致病机制的认识已深入到分子水平和基因水平。在NCBI数据库中(2018.6),已对17607株病毒进行了全基因测序。已完成原核微生物基因组测序工作的有144330株。病原微生物基因组序列测定具有重大意义,除了能更好地了解其致病机制以及与宿主的相互关系外,尚能发现更灵敏而特异的致病分子标记,作为诊断、分型等依据,为临床筛选有效药物和开发疫苗提供资料。在医学微生物学领域,国内外虽都取得不小成绩,但距离控制和消灭传染病的目标尚存在巨大差距。目前,由病原微生物引起的多种传染病仍严重威胁人类的健康。据WHO报道,近年全球平均每年有1700多万人死于传染病。新病原体仍然不断出现,引起了一些新的传染病;原流行病原体因变异、耐药等而重新流行,导致再现传染病成为病死的主要原因。近几年发生了来源于畜禽病原体感染人类事件,值得人们高度警惕。迄今为止,仍有一些感染性疾病的病原体尚未发现;某些病原体的致病和免疫机制还有待阐明;不少疾病仍缺乏有效的防治措施。因此:临床微生物学工作者今后要继续加强对病原微生物的生物学特性、致病性和免疫机制的研究,研制出安全、有效的疫苗;运用分子生物学和免疫学等新手段,创建特异、灵敏、快速、简便的诊断方法;深入研究微生物的耐药机制,探讨防止和逆转耐药性措施,并积极开发抗细菌、真菌和病毒的新型药物等,为控制、消灭传染病做出新贡献。





三、临床微生物学检验技术的主要任务与内容

临床微生物学检验技术(technology of clinical microbiology laboratory)是医学检验技术专业的一门重要专业课程,它利用微生物学的基础理论与技能,侧重研究感染性疾病的病原体特征,并通过系统的检查方法,及时、准确地对临床标本作出病原学诊断,对抗菌药物敏感性作出报告,为临床诊断、治疗和预防提供科学的依据。

临床微生物学检验技术的主要任务如下。①研究感染性疾病的病原学特征:抗生素的广泛使用甚至滥用,常导致正常菌群失调和耐药菌株的形成,细菌的形态、结构也可发生变异;感染性疾病的病原体谱型也在发生变化,由革兰阳性菌为主向革兰阴性菌转变,条件致病菌和耐药菌逐渐代替了原来的致病菌。今后应加强对条件致病菌、变异细菌、耐药性细菌的研究,监测临床感染优势菌的组成、变迁规律及趋向,不断提高诊疗水平。②提供快速、准确的病原学诊断:临床微生物学检验技术的发展方向应遵循“微量、快速、敏感、特异”的八字方针。根据临床医生提供的临床诊断和合适的临床检查资料,选择最佳的检测方法,及时准确地得出检测结果,为临床病原学诊断和治疗提供科学依据。③指导合理应用抗生素:安全有效地使用抗生素,即在安全的前提下确保有效,是合理使用抗生素的基本原则。正常情况下,大多数新启用的抗生素在若干年内就会因细菌产生耐药性而失去原有效力,农牧业、渔业过量使用抗生素以及临床上不正确地使用抗生素,更是加重了细菌的耐药性。目前,多重耐药菌感染的治疗越来越困难。世界卫生组织(WHO)于每年11月举办“世界提高抗生素认识周”,目的在于提高全球对抗生素耐药性的认识,并鼓励公众、卫生工作者和决策者采取最佳做法,避免抗生素耐药性的进一步蔓延。例如,在2018年人们提出了“急需作出改变,否则我们将很快就没有可用的抗生素了”的主题口号。抗生素在临床上应用量大、品种多、更新快、各类药品之间相互关系复杂,联合用药日趋增多,预防性用药日趋广泛,因此临床上抗生素的不良反应发生率及耐药性呈逐年上升之趋势。如何避免上述现象的发生?临床微生物学检验技术的任务不仅要做出病原学诊断,而且通过药物敏感试验,为临床治疗提供科学依据;同时,鉴于临床感染的复杂性,临床微生物学工作者应与临床医师、临床药师等积极参与临床会诊,帮助临床明确诊断,以避免盲目使用抗生素,充分发挥抗生素的治疗作用,防止或减少抗生素造成的危害。④监控医院感染:随着现代医疗技术的进步和人群构成的日益老龄化,免疫功能低下者逐渐增多,条件致病微生物逐步替代了毒力强的病原微生物而成为主要病原体,医院感染日趋增多,严重威胁了住院患者的身心健康和预后。临床微生物学工作者必须与临床各科室密切协作,以减少或监控医院感染的发生,及时准确诊断医院感染和治疗医院感染。

通过本门课程的学习,能正确、熟练掌握病原微生物的生物学特性、病原微生物检验的基本技术和基本技能,熟悉临床上常见病原微生物,特别是病原性细菌的特性及其鉴定方法,能对常见临床标本进行病原学检验及抗菌药物的敏感试验,并正确分析检验结果,作出正确的检验报告,以指导临床合理用药。

四、临床微生物学检验技术的进展

临床微生物学检验技术是临床医学、基础医学、预防医学、生物技术以及信息科学等的交叉学科。随着相关学科的不断发展,临床微生物学检验技术也获得了一定的进展。

1. 感染性疾病的现状决定了临床微生物学检验技术的发展 新传染病的出现是临床微生物学检验技术受到的挑战之一。自1973年以来出现了许多新的病原体及其引起的新传染病,这是由于对新传染病的认识和准备不足,缺乏有效的预防和临床诊断、治疗措施所致。通过对这些新病原体的深入研究,在揭示其致病机制的同时,寻找出快速检测方法和有效的预防与治疗措施是当前的任务。

2. 开发快速诊断方法以适应临床需要 首先重视对原始标本通过染色与不染色的显微镜检查,充分发挥其对微生物检验过程中的导航作用;其次是采取限时、分级报告制度,将有意义的信息尽快报告给临床,如临床实验室要优化血培养流程。先做标本的直接药物敏感试验,及早报告药物敏感试验的初筛结果,以争取治疗的最佳时机,然后再进行细菌的分离培养、鉴定和药物敏感试验,最后报告鉴定的菌



种名称及纯种细菌药物敏感试验结果。近年来,基于高通量测序技术可同时检测数千种常见微生物的微生物宏基因组学技术,在复杂的传染性、感染性疾病诊断方面发挥越来越重要的作用。

3. 侧重于基因型方法进行微生物鉴定与分型 采用分子生物学分型技术,如核糖体分型、脉冲场凝胶电泳分型和序列分型等。核糖体分型是核酸杂交分型技术;脉冲场凝胶电泳分型是细菌分型的最敏感的方法,一度曾被认为是基因分型的“金标准”,也逐步被更加快速、灵敏、经济的分型方法取代,如 MLST、MLVA 等;序列分型是通过提取细菌 DNA,克隆后对细菌的全基因序列进行分析,借助序列对比软件,实现对细菌的分型。

4. 计算机技术的发展推动了临床微生物学检验技术的进步 计算机的介入为临床微生物检验技术的自动化开辟了广阔的前景,细菌鉴定数码分类技术集数学、计算机、信息及自动化分析于一体,采用商品化和标准化的配套鉴定,可快速、准确地对数百种常见细菌进行自动分析鉴定和药物敏感试验。在 DNA 自动测序技术、气相色谱等技术中,计算机技术发挥了重要作用。

5. 展望 随着科学的发展、技术的进步,现代化、自动化检验仪器甚至全自动流水线的应用,以高通量测序技术为代表的分子生物学检测技术以及以 MALDI-TOF 为代表的质谱技术逐渐应用于临床并不断得以推广,临床微生物学检验技术正向着“微量、快速、敏感、特异”的方向发展,为临床提供快速、准确、可靠的信息,对感染性疾病的预防、控制或消灭发挥着越来越重要的作用。

(吕厚东)

