

第十九章 感染性疾病实验诊断

第一节 概述

1. 感染性疾病流行病学特点
病原体的种类不断发生变迁
宿主的免疫防御能力下降
内源性感染与条件致病菌的感染增加
2. 类型
病原体
感染部位
感染的结局
病原体来源
3. 医院感染诊断标准
 - 1) **医院感染的定义***: 是指住院病人在医院内获得的感染, 包括在住院期间发生的感染和在医院内获得出院后发生的感染; 但不包括入院前已开始或入院时已存在的感染。医院工作人员在医院内获得的感染也属医院感染。
 - 2) 属于医院感染的情况
 - a) 无明确潜伏期的感染, 规定入院 48 小时后发生的感染为医院感染; 有明确潜伏期的感染, 自入院时起超过平均潜伏期后发生的感染为医院感染。
 - b) 本次感染直接与上次住院有关。
 - c) 在原有感染基础上出现其它部位新的感染(除外脓毒血症迁徙灶), 或在原感染已知病原体基础上又分离出新的病原体(排除污染和原来的混合感染)的感染。
 - d) 新生儿在分娩过程中和产后获得的感染。
 - e) 由于诊疗措施激活的潜在性感染, 如疱疹病毒、结核杆菌等的感染。
 - f) 医务人员在医院工作期间获得的感染。
 - 3) 不属于医院感染的情况
 - a) 皮肤粘膜开放性伤口只有细菌定植而无炎症表现。
 - b) 由于创伤或非生物性因子刺激而产生的炎症表现
 - c) 新生儿经胎盘获得(出生后 48 小时内发病)的感染, 如单纯疱疹、弓形体病、水痘等。
 - d) 患者原有的慢性感染在医院内急性发作。
4. 医院感染的病原体
 - 1) 病原体种类
各类病原体都可导致医院感染。
细菌为医院感染的主要病原体。
 - 2) 病原体特点
大多数为条件致病菌
多数病原菌对抗菌药物具有耐药性或多重耐药
5. 医院感染的流行病学
 - 1) 传染源: 革兰阴性菌、金葡菌、白念、曲霉菌
住院患者、医务人员、医院环境、医疗器械
 - 2) 传播途径: 接触传播、血液传播、空气传播、消化道传播
 - 3) 易感人群: 气管插管、留置导尿、放化疗、免疫抑制剂、多次手术、老年
6. 医院感染的临床类型
手术切口感染、尿路感染、下呼吸道感染、皮肤软组织感染、胃肠道感染、血液感染

7. 医院感染微生物学检测的特点
 - 1) 标本的收集：严格
 - 2) 感染菌的鉴定：种
 - 3) 药敏试验与耐药表型的检测
 - 4) 报告和资料保存
 - 5) 菌株的保存
8. 医院感染的暴发

医院感染暴发是指在医疗机构或其科室的患者中，短时间内发生 3 例以上同种同源感染病例的现象。

在处理医院感染的暴发流行时，对于不同的致病菌、不同的患者群应有不同的规定。

医院感染爆发流行时应及时进行环境卫生学监测。
9. 医院感染的环境卫生学监测

空气消毒效果的监测

物体表面消毒效果的监测

医务人员的手消毒效果的监测

消毒灭菌效果的监测：高压蒸汽、紫外线、消毒剂
10. 感染性疾病的实验诊断

一般实验诊断：白细胞常规检查、C-反应蛋白（CRP）、降钙素原（procalcitonin PCT）、器官功能改变的检测

病原学实验诊断：关键步骤、基本要求、其它

第二节 感染性疾病的常用病原学检测

1. 标本采集和运送的基本原则：【正确的微生物标本采集和运送，是准确的病原学诊断的前提！】
 - 1) 根据病史与临床表现确定标本采集的类型与部位，尽量采集病变明显部位标本。
 - 2) 在发病的早期或急性期采集标本，最好在抗生素使用前采集。
 - 3) 采集标本防止污染，并置于无菌容器，加盖密封、立即送检。
 - 4) 标本必须贴上标签，与检验申请单同时送检。正确注明标本类型和检验目的。
 - 5) 烈性传染病标本需专人护送
2. 主要标本采集注意事项
 - 1) 血培养（9）
 - A) 采血指征【只有在发热时，才需要进行血培养】

当怀疑血流感染或脓毒症时，患者出现以下任一指征，可考虑采集血培养：

体温 $>38^{\circ}\text{C}$ 或 $<36^{\circ}\text{C}$ ，寒战

外周血白细胞增多（计数 $>10.0\times 10^9/\text{L}$ ，特别有核左移时）或减少（计数 $<4.0\times 10^9/\text{L}$ ）

呼吸频率 >20 次/min 或动脉血二氧化碳分压（ PaCO_2 ） $<32\text{mmHg}$

心率 >90 次/min；皮肤粘膜出血；昏迷；多器官功能障碍；血压降低；

炎症反应参数如 CRP、PCT、G 试验升高
 - B) 采血时机【何时采血进行血培养，无特殊时间要求】

采集血培养样本的最佳时间：

在患者接受抗微生物药物治疗前立即采血

如患者已经应用抗微生物药物进行治疗，应在下一次用药前采血培养

不必等待患者寒战或高温期采血
 - C) 采血套数及采血量【为减轻患者痛苦，只从一个穿刺部位采一份血液标本即可】

至少**双抽四瓶即两套** **双抽四瓶：每瓶8-10mL，最低5mL**

套数：穿刺点的数量 **医嘱单标识：“左侧”、“右侧”**

每套：1 个需氧瓶、1 个厌氧瓶。

儿童一般只做需氧培养，一般为 1-5ml，但仍需从多个部位采集多次。新生儿，采集一瓶儿童需氧瓶，建议同时做尿液和脑脊液培养。

采血量过多会使肉汤无法有效中和血液中的抑制物质（补体、抗体、抗生素）。血液与肉汤的最佳比例为 1：5-1：10

厌氧瓶的作用：提高阳性率；增加厌氧菌的分离机会；增加兼性厌氧菌的分离机会

厌氧瓶平均报阳时间快于需氧瓶

双侧双瓶的优势：增加捕捉细菌的机会，提高阳性率；判断污染菌；厌氧瓶的重要性

D) 血培养污染

血培养的污染菌是指在采血过程中被引入血培养瓶，但实际不存在于病人的血液中的微生物污染将会导致血培养的阳性结果

最常见的污染菌：凝固酶阴性葡萄球菌(70-80%)、微球菌、草绿色链球菌、痤疮丙酸杆菌、棒状杆菌、芽孢杆菌

降低血培养污染率：

- 血培养污染率应以 < 3%为达标阈值
- 同时采集生化、凝血等标本时，要最先采集血培养标本
- 规范血培养瓶和采血部位的消毒操作

E) 培养瓶消毒

- 移去保护外套
- 使用 75%酒精消毒胶塞
- 使用前风干 1 分钟，避免消毒剂进入血瓶，影响阳性率
- 采血时保持血瓶直立，便于查看采血量，防止培养物倒流入血
- 颠倒混匀标本与肉汤，以避免血液凝固

F) 皮肤消毒

严格执行三步法



- 对碘过敏的患者，则用75%酒精消毒60秒，待酒精挥发干燥后采血，整个过程严格遵从无菌操作，不允许在消毒后用未经消毒的手按压静脉
- 2个月以下患儿：使用70%异丙醇消毒，自然干燥

G) 血培养瓶的保存和运送

4℃冷藏？ 35℃的温箱？ 室温？

培养瓶夜班未能及时送到检验科，**存在室温即可**，不能冷藏也不能放入 35℃的孵箱。过夜不会对检测造成影响，但仍需尽快送检。

原因：

- 冷藏可能导致对温度敏感的奈瑟氏菌等死亡。
- 孵箱会导致细菌进入生长对数期，放入血培养仪中，会出现假阴性

H) 血培养瓶的核收和拒收

拒收：标签错误或未贴标签；血培养瓶破碎、损坏的或渗漏、血液凝固

让步检验：采血量不足、采集套数不足、培养瓶类型错误

D) 中心静脉导管

导管相关性血流感染：5cm 导管尖端；半定量平板滚动培养或定量培养

2) 尿液标本

- a) 清洁中段尿、导尿管尿液、耻骨上膀胱穿刺尿液
- b) 尿道口或尿道周围皮肤的菌群会污染尿液标本，从而可能导致错误的培养结果。
- c) 多次收集或 24 小时尿不能用作培养。
- d) 集尿袋内的尿液不能用作培养。
- e) 清洁的中段尿尽量取早晨第一次尿液。
- f) 标本宜在应用抗菌药物之前或停用抗菌药 5 天后采集。
- g) 不能立即送检者，可暂存 4℃冰箱，但保存不超过 8h
- h) 申请单上必须注明病人症状是否明显,这对于定量培养分析非常重要,尤其只有少量尿液标本。

3) 粪便标本

- a) 主要采集含脓、血或粘液的粪便。培养菌种包括沙门氏菌、志贺氏菌、霍乱弧菌及副溶血弧菌等；在无法获得粪便的情况下，可用直肠拭子采集。
- b) 根据细菌种类不同选用合适的培养液以提高阳性检出率。
- c) 一次粪便培养阴性不能完全排除胃肠道病原菌的存在，传染性腹泻患者需三次送检（非同一天）进行培养。

4) 呼吸道标本

鼻咽拭子、自然咳痰、诱导痰（咳痰困难时）、气管吸痰、支气管肺泡灌洗液(理想标本)

临床上约半数咳痰标本不合格！

咳痰标本应用最早且广泛，但也是最受争议的标本

痰标本的质量评估：外观（唾液痰、白色粘液痰、黄色粘液样痰、带血痰）、痰涂片（白细胞、上皮细胞）

- a) 下呼吸道感染病原体种类繁多而复杂，使病原诊断成为难题
细菌（包括放线菌与奴卡菌，厌氧菌与分支杆菌）、真菌（包括肺孢子菌）、病毒、支原体、衣原体与立克次体、原虫、寄生虫
- b) 咳痰途经口咽部，不可避免地受到污染，感染菌与污染菌不易区分
- c) 培养检出率低，结果重复性差，药敏结果与治疗反应存在差距
- d) 对于普通细菌性肺炎，**痰标本送检每天 1 次，连续 2~3 天**。不建议 24h 内多次采集，除非痰液外观性状出现改变
- e) 怀疑分枝杆菌感染者，应连续收集 3 天清晨痰液送检
- f) 采集后尽快（<2h）送至实验室
- g) 如不能及时送达，应将标本暂存于 4℃，但放置时间不可超过 24h。

5) 脑脊液与其它无菌体液

- a) 脑脊液一般由腰穿取得，分别收集于小试管中，每管 1-2ml，做化学和免疫学检查、微生物学检查、一般性状检查和显微镜检查、脱落细胞学检查等
- b) 首管易被皮肤定植菌污染，不应做涂片、培养和分子检测
- c) 采集的脑脊液标本应立即**保温**送检（或床边接种）
- d) 胸水、腹水、心包液、关节液、鞘膜液等标本由临床医师行穿刺术抽取。胸水、腹水和心包液等因标本含菌量少宜采集较大量标本送检以保证检出率。立即送检。

6) 眼、耳部标本

眼科标本：

- a) 结膜囊分泌物、角膜及结膜刮片、房水及玻璃体液；

- b) 眼科标本量少，宜床旁接种及制备涂片；
 - c) 使用具体的解剖部位及类型描述来自眼部的标本
- 耳标本：外耳道标本、中耳标本

7) 生殖道标本

- a) 根据不同疾病的特征及检验目的采集不同标本。
- b) 性传播疾病常取尿道口分泌物、外阴糜烂面病灶边缘分泌物、阴道宫颈口分泌物和前列腺液等。
- c) 生殖道疱疹常穿刺疱疹液。
- d) 盆腔脓肿则于直肠子宫陷凹处穿刺脓液。
- e) 淋病奈瑟菌需保温送检。

8) 创伤、组织和脓肿标本

- a) 清创：防止表面污染菌混入影响检测结果
- b) 开放性：无菌棉拭子采集病灶边缘及深部分泌物或采集组织标本
- c) 闭合性：无菌注射器穿刺抽取脓肿边缘及深部脓液
- d) 组织：不可用甲醛固定；微量标本可直接接种在培养基内

3. 标本的实验室质量评估

无标识的标本；延误送检的标本；收集样本容器错误、破损或渗漏；样本储存、运送方式错误；标本量明显不足或已干涸；明显被污染的标本；超过送检频次的标本；标本与送检的目的不符合

4. 检测方法

1) 直接镜检

- a) 涂片染色显微镜检查

结果对病原学诊断具有一定意义，尤其对无菌体液的直接镜检更具有诊断价值。

腔道分泌物涂片镜检对进一步检出的步骤、采用的方法和选用的培养基有重要提示作用。

- b) 涂片不染色显微镜检查

借助暗视野显微镜或相差显微镜观察标本中病原菌的生长和运动方式，有助于病原体诊断。

2) 病原体分离、培养和鉴定

- a) 能人工培养的病原体

选择合适的培养基

提供合适的气体、温度和 pH 值

鉴定：菌落性状

细菌的形态和染色性；真菌菌丝、孢子形态

细菌生化反应结果和血清学试验

- b) 不能人工培养的病原体（如病毒、立克次体、衣原体）将标本接种易感动物、鸡胚或行细胞培养，进行病原体分离。用血清学方法作最后鉴定。

- c) 临床意义：分离、培养和鉴定是细菌、真菌、病毒感染性疾病诊断的“金标准”

3) 病原体抗原检测

是指用已知抗体检测标本中未知病原体抗原的方法。

细菌菌体、鞭毛、毒素、侵袭性酶；病毒衣壳蛋白、包膜抗原；真菌细胞壁抗原。

在检测中使用特异性好、效价高的单克隆抗体具有重要的意义。

临床意义：

- a) 在无菌体液、血液等标本中，阳性结果有诊断价值，提示某种感染性病原体的存在。

- b) 对存在正常菌群的标本，要考虑共同抗原引起的交叉反应，必须在有严格的对照试验和排除试验时，对阳性结果才能作出正确判断。

4) 病原体核酸检测

主要采用 PCR、DNA 探针杂交技术、实时荧光定量 PCR 技术。

临床意义：适用于目前尚不能分离培养或很难分离培养的微生物检测，尤其在病毒学研究和诊断方面越来越被广泛应用。易出现假阴性和假阳性结果。

5) 病原体抗体检测

是指用已知病原体抗原检测患者血清中相应抗体的方法。大多数抗体检测中，所用的为病原体特异性抗原；少数抗体检查使用的是病原体的共同抗原，这类实验称非特异性试验。

临床意义：

- a) 特异性试验对细菌感染性疾病的诊断有一定的价值，但不能等同于病原体检出，更适于流行病学调查和回顾性分析或慢性细菌性感染。
- b) 血清学检查是实验室诊断已知病毒感染的主要手段。
- c) 抗体检测的价值常用敏感性、特异性和预测值来评估。当目的为排除某一疾病时，即选用高敏感度、高阴性预测值的试验，当目的为确诊某一疾病时，即选用高特异性、高阳性预测值的试验。

6) 细菌毒素检测

a) 外毒素检测

使用生物学、免疫学、分子生物学等方法检测葡萄球菌肠毒素、肉毒毒素、霍乱肠毒素

b) 内毒素检测

鲎实验——革兰阴性菌脂多糖（LPS）

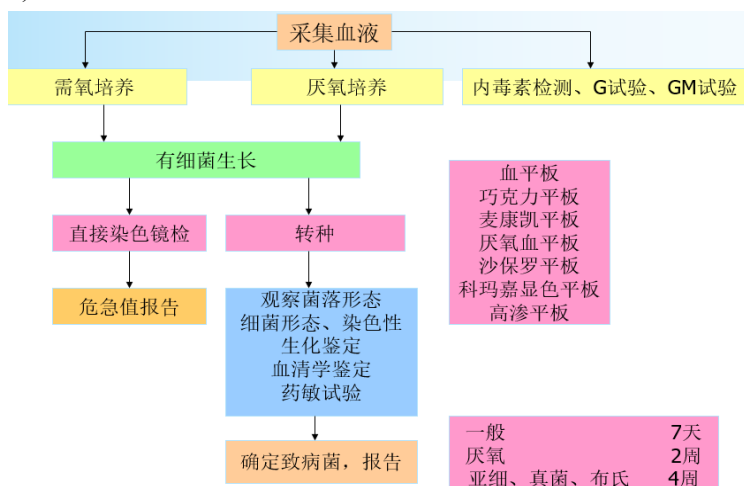
有利于判定细菌感染严重程度，及早预防和发现内毒素休克的发生

第三节 常见感染性疾病的实验诊断

1. 血流感染

引起血流感染的常见微生物与常见疾病：

- 1) 血液感染常指菌血症和脓毒血症，菌血症通常是用血液培养来诊断的，但有时因在用药后不易有阳性结果，因此采用骨髓培养可获得更高的阳性率，特别是伤寒沙门菌的菌血症。
- 2) 血培养是诊断血液感染的金标准。
- 3) 菌血症与脓毒血症：葡萄球菌、肠球菌、链球菌、肠杆菌目细菌、非发酵菌、厌氧菌等。
- 4) 真菌血症：白色念珠菌、其他念珠菌、丝状真菌等。
- 5) 病毒血症



2. CNS 感染

引起中枢系统感染常见微生物与常见疾病：

- 1) 中枢神经系统感染系指各种病原体侵犯 CNS 实质、被膜及血管等引起的急性或慢性炎症性(或非炎症性)疾病，常见疾病有脑膜炎、病毒性脑炎、脑脓肿等。
- 2) 常见病原体有脑膜炎奈瑟菌、肺炎链球菌、产单核李斯特菌、流感嗜血杆菌、B 群链球菌、乙型脑炎病毒、单纯疱疹病毒、新生隐球菌等。

中枢神经系统感染的病原学检查

1) 细菌学、真菌学检验

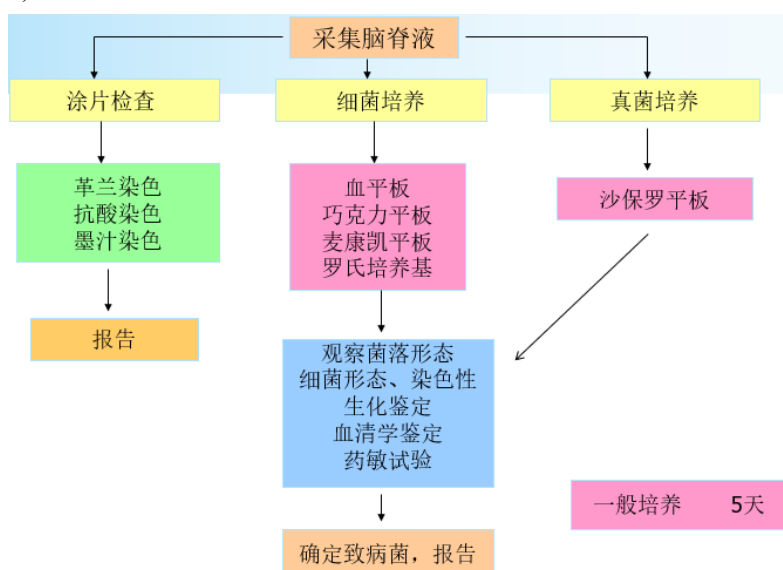
临床意义：

- a) 涂片染色显微镜检查：正常脑脊液无病原体，诊断化脓性、结核性、新型隐球菌脑膜炎可分别采用革兰染色、抗酸染色及墨汁染色。
- b) 培养出细菌或真菌可确诊 CNS 感染。

2) 病毒学检验

临床意义：流行性乙型脑炎病毒的特异性 IgM 抗体检测，可用于流行性乙型脑炎早期诊断。

3) 寄生虫学检验



3. 呼吸系感染

呼吸系统感染的常见微生物与常见疾病

- 1) 急性上呼吸道感染：病毒为主，细菌常见溶血性链球菌、流感嗜血杆菌、肺炎链球菌、葡萄球菌等。
- 2) 急性气管-支气管炎
- 3) 肺炎：以细菌性肺炎最常见
 - a) 细菌：肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、金黄色葡萄球菌、革兰阴性杆菌、军团菌。在医院感染中，革兰阴性杆菌占 50% 以上而成为主要病原体，一些条件致病菌和耐药菌成为医院内肺炎主要致病菌。
 - b) 真菌：目前以条件致病性真菌感染致病为主，曲霉菌、毛霉菌、白假丝酵母菌和隐球菌。
 - c) 其他：肺炎支原体、肺炎衣原体、流感病毒、呼吸道合胞病毒等。

呼吸系统感染的病原学检查

1) 细菌学、真菌学检验

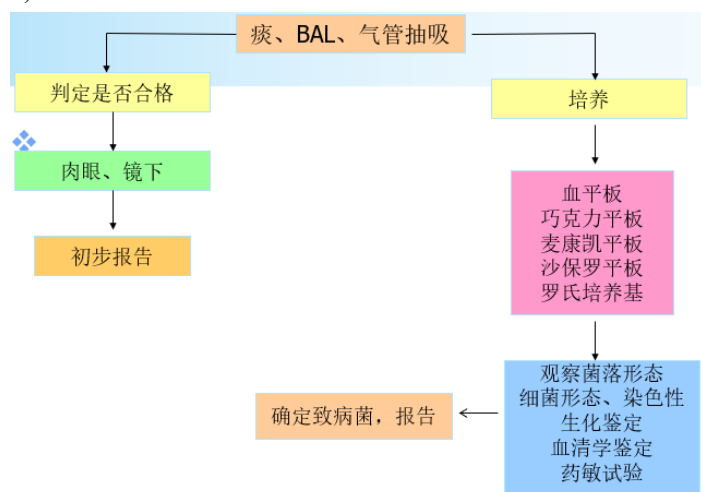
临床意义：

- a) 肉眼观察 痰液中有颗粒状、菌块、干酪样物质可能与放线菌和曲霉菌感染有关；异常恶臭的脓性痰可能与厌氧菌有关。
- b) 痰涂片结核分枝杆菌检查有诊断价值。

c) 培养出呼吸道正常菌群时应结合涂片解释培养结果。检出肺炎支原体、军团菌、双相型真菌、结核分枝杆菌等即可认为该病原体肺部感染。

2) 病毒学检验

3) 寄生虫学检验



4. 泌尿系感染

泌尿系统感染的常见微生物与常见疾病

- 1) 尿路感染是指微生物在尿路中生长繁殖而引起的尿路炎症，分为上尿路感染和下尿路感染。
- 2) 病原体以细菌和真菌为主，常见大肠埃希菌、变形杆菌等肠杆菌目细菌、肠球菌、葡萄球菌、铜绿假单胞菌、酵母菌等。
- 3) 尿液细菌培养是诊断尿路感染的主要依据。尿培养标本的采集应无菌操作，并结合菌落计数判别是否为尿路感染病原菌。

5. 胃肠感染

6. 皮肤感染

7. 性传播疾病病原体检测

1) 性传播疾病

性传播性疾病（STD）：是一类能通过各种性接触、类似性行为及间接接触而传播，主要侵犯皮肤、性器官和全身脏器损害的疾病，简称性病

流行病学：传染源、传播途径、易感人群

2) 经典性病

性病性淋巴肉芽肿-沙眼衣原体；软下疳-杜克雷嗜血杆菌；尖锐湿疣-人乳头瘤病毒；生殖器疱疹-人疱疹病毒 1,2；艾滋病-HIV；梅毒-梅毒螺旋体；淋病-淋病奈瑟菌；生殖道沙眼衣原体感染-沙眼衣原体

3) STD 病原体常用实验检测

- a) 显微镜：细菌、螺旋体
- b) 培养：细菌、病毒、衣原体
- c) 抗体：主要用于艾滋病和梅毒的诊断
- d) 抗原：病毒、衣原体
- e) 核酸：病毒、衣原体、细菌

4) 性传播疾病病原体检测

A) 艾滋病的实验诊断

a) 检测项目选择

HIV 抗体检测：筛查试验、确证试验

P24 抗原检测

HIV 病毒载量检测

其它：CD4 细胞计数、其它机会性感染病原体检测

b) 临床应用

HIV 抗体检测是 HIV 感染的诊断依据

筛查试验：酶联免疫法；灵敏度>99%；有假阳性可能；普通人群阴性可排除 HIV 感染

确证试验：免疫印迹试验；灵敏度和特异性均较高；阳性结果可报 HIV 抗体阳性

B) 梅毒的实验诊断

a) 检测项目选择

暗视野显微镜检查

梅毒螺旋体抗体检测

梅毒螺旋体核酸检测

b) 临床应用

梅毒是由苍白密螺旋体（TP）引起的性传播疾病，临床分为三期，病程可持续多年。TP 感染后，经过一段时间血清中可产生两种抗体，一种是抗类脂质抗原的非特异性抗体，也称为反应素，另一种是抗 TP 的特异性抗体。

暗视野显微镜检查是诊断早期梅毒的简便快速方法。

二期和三期梅毒常用抗体检测方法，血清学诊断是目前临床诊断梅毒的主要方法，有非特异性和特异性两类试验，分别用于筛查和确诊。

①非密螺旋体抗原试验：属于筛查试验。用牛心肌的心脂质作抗原测定患者血清或脑脊液中的反应素（抗脂质抗体），具有较高的灵敏度，但假阳性率也较高。目前临床常用快速血浆反应素（rapid plasma reagin, RPR）环状卡片试验。阳性结果应作确证试验。

一期梅毒晚期和二期梅毒早期此类实验呈阳性，可作为疗效观察指标。注意抗体过量引起的前带现象。

②密螺旋体抗原试验：属于确诊试验。用密螺旋体抗原检测血清或脑脊液中螺旋体的特异性抗体。阳性说明该患者现在或既往曾经有过梅毒螺旋体感染

C) 淋病的实验诊断

a) 检测项目选择

生殖道分泌物涂片镜检

淋病奈瑟菌培养

核酸检测

b) 临床应用

c) 诊断 淋病：

淋病奈瑟菌对柱状上皮和移行上皮有特别的亲和力。

培养结果准确可靠、阳性即可确诊，故分离培养为广泛采用的实验项目。

生殖道分泌物直接涂片，革兰染色后镜检，在多形核白细胞内见到卵圆形或肾形成对排列的革兰阴性双球菌，对男性病人淋病的诊断具有较高价值。对女性病人须细菌培养阳性才能诊断。

D) 尖锐湿疣的实验诊断

a) 检测项目选择

醋酸白试验

HPV DNA 检测

b) 临床应用

c) 诊断：病史 + 典型皮损 + 辅助检查 + 组织病理