

全国高等院校医学实验教学规划教材

供医学检验等专业使用

临床检验技能学

主编 伊正君 高昆山



科学出版社

全国高等院校医学实验教学规划教材
供医学检验等专业使用

临床检验技能学

主 编 伊正君 高昆山

副主编 张 霞 李 猛 宋 伟 付玉荣

编 委(按姓氏拼音排序)

付玉荣(潍坊医学院)

孙铭艳(潍坊医学院附属医院)

高昆山(潍坊医学院附属医院)

孙艳丽(潍坊医学院)

耿会娟(潍坊医学院附属医院)

陶元勇(潍坊医学院附属医院)

官旭俊(潍坊医学院附属医院)

王洪省(潍坊医学院附属医院)

李洪军(潍坊医学院附属医院)

王鲁娟(潍坊医学院)

李 猛(潍坊医学院)

杨斌斌(潍坊医学院)

李 娜(潍坊医学院附属医院)

杨桂茂(潍坊医学院附属医院)

李 倩(潍坊医学院)

伊 鑫(潍坊医学院附属医院)

李 晓(潍坊医学院)

伊正君(潍坊医学院)

刘胜男(潍坊医学院附属医院)

张文忠(潍坊医学院附属医院)

裴景亮(潍坊医学院附属医院)

张 霞(潍坊医学院)

彭效祥(潍坊医学院)

张旭光(潍坊医学院附属医院)

宋 伟(潍坊医学院)

科 学 出 版 社

北 京

林蜂做数学蜂创实学因封题等高国全

用封业专等创实学因封

内 容 简 介

为适应新世纪对医学检验技术专业应用型人才培养的要求,教材的编写理念是以社会需求为导向,适应应用型人才知识、能力与素质协调发展的新要求,以提高学生的动手技能、知识运用技能、逻辑思维技能、职业素养等综合技能为核心,凸显教学内容的实践性、应用性、思维性、人文性、综合性与现代性。内容共分三大模块:第一模块为医学生必须具备的基本临床技能,目的是使学生在大一期间早期接触临床,培训医学生的自救、救人的基本技能;第二模块为医学检验专业学生必须具备的专业基础技能;第三模块为医学检验专业综合技能,目的是培养学生的专业技能,进一步提升学生利用所学知识分析问题与解决问题的技能、逻辑思维技能、职业素养等综合技能。为方便读者,本书在附录中列举了常见培养基、试剂、缓冲液的配制等内容。

本书适合医学检验专业类学生使用。

图书在版编目(CIP)数据

临床检验技能学 / 伊正君,高昆山主编. —北京:科学出版社, 2016.3

全国高等院校医学实验教学规划教材

ISBN 978-7-03-047563-3

I. ①临… II. ①伊… ②高… III. ①临床医学—医学检验—医学院校—教材 IV. ①R466.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 046721 号

责任编辑:胡治国 周 园 / 责任校对:李 影

责任印制:赵 博 / 封面设计:陈 敬

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

天津市新科印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016 年 3 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2016 年 3 月第一次印刷 印张:21

字数:500 000

定价:55.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

医学检验技术专业是一门临床实践性很强的技术类专业,主要培养具有基础医学、临床医学、医学检验等基本理论知识和基本能力,能在各级医疗机构、防疫机构、血站、医学科研等单位从事临床检验、卫生检验及病理检验等工作的应用型医学检验技术人才。

为适应新世纪对医学检验技术专业应用型人才培养的要求,针对医学检验技术专业的培养目标,该教材的编写理念是以社会需求为导向,适应应用型人才知识、能力与素质协调发展的新要求,以提高学生的动手技能、知识运用技能、逻辑思维技能、职业素养等综合技能为核心,特别是紧密结合现代医学发展趋势,教材创新性编入实验室质量控制技能、临床循证医学技能、医学伦理技能与实验室管理技能等章节,凸显教材内容的实践性、应用性、思辨性、人文性、综合性与现代性。

教材内容层次递进,遵循学生认知规律。综合临床基础技能、专业基础技能、专业综合技能,贯穿医德、人文素质的培养,进行教学内容的逻辑层次与一体化设计,融会贯通,相互联系、交叉融合,旨在强化培养学生的动手操作技能、知识运用技能、分析问题与解决问题的综合思维技能。教材内容共分为三大模块:第一模块为医学生必须具备的基本临床技能(共四章),包括无菌术、生物安全及防控院内感染技能、心肺复苏、外伤急救等内容,目的是使学生在大一期间早期接触临床,培训医学生的自救、救人的基本方法;第二模块为医学检验专业学生必须具备的专业基础技能(共两章),包括常用检验器材及仪器的使用,目的是为进一步的专业技能训练打好基础;第三模块为医学检验专业技能(共十三章),既包括临床检验基础技能、临床生物化学检验技能、临床免疫学检验技能、临床微生物检验技能、临床血液检验技能等常规内容,又创新性加入了临床病理技术技能、临床循证医学技能、医学伦理技能等适应现代医学发展趋势的新技能内容,目的是培养学生的职业素养技能,进一步提升学生利用所学知识分析问题与解决问题的技能、逻辑思维技能、职业素养等综合技能。为方便读者,本书在附录中列出了常用试剂配制。

据检索,本教材是当前国内第一本关于临床检验技能学的教材,全体编者教材的编写工作竭尽全力,但限于我们的学术水平和编写能力,尽管做了很大努力,仍难免存在不妥之处,恳请广大师生和读者批评指正。教材的编写工作之所以能顺利完成,与各位编者老师的高度责任感、团结协作与精益求精的精神分不开的;同时科学出版社也给予了大力支持,谨在此一并表示衷心的感谢!

伊正君

2015年8月

目 录

第一模块 基本临床技能	1
第一章 无菌术、生物安全及防控院内感染技能	1
第一节 无菌操作技术	1
第二节 生物安全	3
第三节 院内感染	6
第二章 心肺复苏	9
第三章 外伤急救	13
第四章 火场逃生及自救	21
第二模块 专业基础技能	26
第五章 常用检验器皿技能	26
第一节 容量瓶的使用	26
第二节 量筒、量杯的使用	27
第三节 移液管和刻度吸管的使用	28
第四节 加样器(枪)的使用	30
第六章 常用检验仪器技能	33
第一节 显微镜的使用	33
第二节 离心机的使用	34
第三节 分光光度计的使用	35
第四节 电泳仪的使用	35
第五节 电子天平的使用	36
第六节 洗板机的使用	37
第七节 水浴箱的使用	38
第八节 干燥箱的使用	39
第九节 高压蒸汽灭菌器的使用	40
第十节 超声波清洗器的使用	40
第十一节 酶标仪的使用	41
第三模块 专业技能	44
第七章 临床检验基础技能	44
第一节 血液标本采集之皮肤采血法	44
第二节 血液标本采集之静脉采血法	45
第三节 血涂片的制备与染色	47
第四节 红细胞计数	50
第五节 红细胞形态检查	53
第六节 白细胞计数	55
第七节 白细胞分类计数	58

第八节 白细胞形态检查	61
第九节 PT、APTT、Fib 测定	63
第十节 血液分析仪的使用及其结果分析	66
第十一节 尿有形成分显微镜检查	70
第十二节 粪便检验	71
第十三节 体液检验之脑脊液理学检验	74
第十四节 体液检验之脑脊液显微镜检查	75
第十五节 体液检验之脑脊液蛋白质定性检查	78
第十六节 体液检验之浆膜腔积液黏蛋白定性实验	79
第十七节 体液检验之前列腺液检验	81
第十八节 体液检验之阴道分泌物检验	82
第八章 临床生物化学检验技能	84
第一节 离心分离技术	84
第二节 光谱分析技术	87
第三节 质谱技术	93
第四节 层析技术	95
第五节 电泳技术	99
第六节 电化学分析技术	103
第七节 临床诊断酶学分析技术	105
第八节 自动生化分析仪技术	106
第九章 临床免疫学检验技能	109
第一节 凝集反应	109
第二节 沉淀反应	113
第三节 酶免疫技术	119
第四节 免疫荧光标记技术	127
第五节 化学发光免疫分析技术	130
第六节 胶体金技术	135
第七节 流式细胞术	139
第十章 临床微生物检验技能	144
第一节 标本的采集与运送	144
第二节 细菌形态结构检查	147
第三节 细菌的分离培养	150
第四节 细菌的生化反应鉴定	152
第五节 抗菌药物敏感实验	155
第六节 菌株保存和管理	158
第十一章 临床寄生虫检验技能	161
第一节 粪便中寄生虫的检查	161
第二节 体液、排泄物与分泌物、皮肤、器官组织中的寄生虫检查	174

第十二章 临床分子诊断技能	181
第一节 人外周血基因组 DNA 的分离与纯化	181
第二节 人外周血总 RNA 的分离与纯化	182
第三节 聚合酶链反应	184
第四节 荧光定量 PCR	187
第五节 核酸分子杂交技术——Southern 印迹杂交	189
第六节 HLA 基因分型	191
第七节 基因芯片技术	193
第八节 核酸测序技术	197
第九节 质谱技术	198
第十节 蛋白质印迹技术	200
第十一节 产前诊断	203
第十三章 临床输血检验技能	208
第一节 临床输血相关免疫学技术基础	208
第二节 临床输血检验常规技术	215
第三节 临床输血其他检验技术	224
第四节 血液成分的分离制备技术	231
第十四章 临床血液检验技能	238
第一节 正常血细胞形态学检验	238
第二节 骨髓细胞学检验	257
第三节 血细胞化学染色检验	265
第四节 常见血液病细胞形态学检验	272
第十五章 临床病理学技术	280
第一节 常规病理组织制片技术	280
第二节 手术中快速活体组织制片技术	288
第三节 免疫组织化学染色	292
第四节 细胞病理学技术	295
第十六章 实验室质量控制技能	298
第一节 如何做好实验室的质量控制	298
第二节 案例分析	298
第十七章 临床循证医学技能	301
第十八章 医学伦理技能	304
第十九章 医学实验室管理技能	308
附录 常用试剂的配制	314

第一模块 基本临床技能

第一章 无菌术、生物安全及防控院内感染技能

第一节 无菌操作技术

防止微生物进入人体或其他物体的操作方法，称为无菌技术或无菌操作。是医疗操作中防止发生感染和交叉感染的一项重要操作技术，也是医务人员树立无菌观念的重要一环。

对于医学检验人员，无菌操作技术主要是指在微生物实验工作中，控制或防止各类微生物的污染及其干扰的一系列操作方法和有关措施。

无菌操作技术包括无菌环境、无菌器材和无菌操作三个方面。

一、无 菌 环 境

无菌环境只是相对而言的，是指人们利用物理的方法或化学的方法，在某一可控制空间内使微生物数量降低至最低限度，接近于无菌的一种空间。而无菌室、无菌柜、超净工作台就可做到这样的空间。无菌室是最常用的无菌环境之一。无菌室的建筑设计应考虑布局合理，使用方便，操作安全以及造价适宜等条件。无菌柜的优点是简单轻便体积小，易于灭菌消毒，安全并可移动，但操作不便，适用于一般接种操作，尤其适用于致病菌检验中阳性菌的接种、划线等操作。超净工作台目前较常用，它是通过通入经超细过滤的无菌空气以维持其无菌状态的。

二、无 菌 器 材

无菌器材是无菌技术的主要组成部分，微生物检验和实验用器材可分为两类。

1. 器材灭菌 灭菌是杀灭物体上所有微生物的方法，包括全部病原微生物和非病原微生物以及细菌的芽孢。经过灭菌的物品称为无菌物品。凡是检验中使用的器材，能灭菌处理的必须灭菌，如玻璃器皿，微生物实验所用玻璃器皿不但要像化学实验那样要求清洁，而且还要无菌，主要包括培养皿、三角瓶、试管等。除了玻璃器皿，培养基、稀释剂、无菌衣、口罩、胶管、乳胶头等也需要灭菌。金属器材(如外科刀、剪、镊子、针头等)，凡能包裹的，应先用包装纸包裹后，再进行灭菌。对于微生物实验器材的灭菌多选用高压蒸汽灭菌。

2. 器材消毒 消毒是能杀死物体上或环境中病原微生物，但不一定能杀死细菌芽孢或非病原微生物的方法。凡检验用器材无法灭菌处理的，使用前必须经消毒处理，例如无菌室内的凳、试管架、天平、工作服等，这些虽然无法灭菌，但是可以消毒。消毒可用化学药品熏蒸、喷洒或擦拭。

上述的无菌环境条件只是相对而言,实际上不可能保持环境的绝对无菌。因此关键是要严格进行正确的无菌操作。

三、无 菌 操 作

无菌操作一般是在无菌环境条件下,使用无菌器材进行检验或实验过程中,防止微生物污染和干扰的一种常规操作方法。无菌操作的目的,一是保持待检物品不被环境中微生物所污染;二是防止被检微生物在操作中污染环境和感染操作人员,因而无菌操作在一定意义上讲又是安全操作。

微生物个体微小,必须借助显微镜才能观察到,因此在微生物学的各项实验技术中,显微镜就成为研究者不可缺少的工具。在实验室观察微生物形态常用的显微镜,以光学显微镜最为常见。在显微镜技术中必不可少的是涂片、染色等技术,无论是在制片还是染色等过程中,防止杂菌的污染即无菌操作都是非常重要的,一旦被观察的玻片遭到杂菌污染,将使观察结果受到严重偏差和影响。

因此在操作过程中为保证无菌操作应注意:在实验室观察平板培养物时,一般不宜开盖观察;检验结果,可以开盖检查,如取菌作涂片染色或移植培养时。培养皿上下盖可适度开缝,但不准完全揭开;涂片染色时应使用夹子夹持玻片,切勿用手直接拿玻片,以防感染细菌;用过的玻片应进行消毒,冲洗液也应消毒处理后再倒掉以免污染环境。

在微生物实验中,菌种的移植、接种和分离工作等,都要排除杂菌的污染,才能获得纯的符合要求的微生物纯培养体。为此,除严格按无菌操作进行外,尚需要有一个无杂菌污染的工作环境。通常,可在酒精灯旁进行无菌接种;小规模的操作可以使用无菌箱(接种箱)或超净工作台;工作量大的使用无菌室(接种室);要求严格的可在无菌室内再结合使用超净工作台。

在微生物学中,为了研究某种微生物的特性,必须把它们从混杂的微生物群体中分离出来,从而获得某一菌株的纯培养物,这种获得只含有某一种或某一株微生物纯培养的过程,称为微生物的分离与纯化。

为了获得某种微生物的纯培养物,一般是根据该微生物的特性,设计适宜的培养基和培养条件,以利于该微生物的生长繁殖,或加入某些抑制因素,造成只利于此菌生长,而不利于其他菌生长的环境条件,从而淘汰其他杂菌。然后再通过各种稀释法,使所需的菌在固体培养基上形成单菌落。当然,从微生物群体中经分离后生长在平板上的单个菌落,并不能保证一定是纯培养,还要经过一系列的分离、纯化和鉴定,才能获得所需要的纯菌株。

常用的微生物分离纯化的方法有:稀释混合倒平板法、稀释涂布平板法、平板划线分离法、稀释摇管法、液体培养基分离法、单细胞分离法、选择培养基法等。其中前三种方法最为常用,不需要特殊的仪器设备,分离纯化效果好。

在微生物学实验技术中,常需要用接种环把微生物纯培养物,由一个器皿移接到另一个培养容器中进行培养。由于周围环境(主要是空气)中,存在着大量肉眼无法发现的各种污染物,只要一打开器皿,就可能会引起器皿内的培养基或培养物,被环境中其他微生物所污染。因此,微生物菌种移植的所有操作,均应在无菌环境下进行严格的无菌操作。

将微生物的培养物或含有微生物及可疑含有微生物的样品移植到培养基上的操作技术称之为接种。接种是微生物实验及研究中的一项最基本的操作技术。无论微生物的分离、培养、纯化或鉴定以及有关微生物的形态、生理的实验及观察研究都必须进行接种,接种的关键要严格的无菌操作,如操作不慎引起污染则实验结果就不可靠,影响下一步工作的进行。因此应注

意：一切操作均应在火焰旁进行，要充分利用火焰周围的高温区（无菌区），即接种时，管口和瓶口始终保持在火焰（如酒精灯焰）旁边，进行熟练地移接种操作，以便保证微生物的纯种培养。棉塞应该始终夹在手中，如掉落应更换无菌棉塞。如不慎使棉塞触及火焰着火，切勿用口吹，应在刚着火时迅速塞入试管，因管内氧气不足很快熄灭，若棉塞外端着火，则可用手捏灭，或废弃踩火后更换无菌棉塞。接种液体培养物时应特别注意勿使菌液溅在工作台上或其他器皿上，以免造成污染，如有溅污，应进行局部消毒。凡吸过菌液的吸管或滴管应立即放入有消毒液的容器内。此外，挑取和移接微生物纯培养物用的接种环及接种针，应采用易于迅速加热和冷却的镍铬合金等金属制备，使用时用火焰灼烧灭菌；转移液体纯培养物时，应采用无菌吸管或无菌移液枪。接种和培养过程中必须保证不被其他微生物污染，因此，除工作环境要求尽可能地避免或减少杂菌污染外，熟练地掌握各种无菌操作技术是很重要的。

微生物无处不在，无孔不入，因此，在对微生物的研究和应用过程中，必须随时注意保持微生物纯培养物的纯洁性，防止其他微生物（杂菌）的混入；在进行分离、转接及培养微生物纯培养物时，要采用严格的无菌操作技术，防止被其他微生物所污染。

实际上，人工创造的无菌环境条件只是相对而言，不可能保证环境的绝对无菌。因此，在实验过程中必须保证不被其他微生物污染，关键是要严格进行正确的无菌操作，熟练地掌握各种无菌操作技术。

第二节 生物安全

医学检验专业人员工作性质特殊，日常工作中要直接、频繁的接触患者的血液、体液、分泌物等，随着乙肝病毒（hepatitis B virus, HBV）、丙肝病毒（hepatitis C virus, HCV）、人类免疫缺陷病毒（human immunodeficiency virus, HIV）、肺结核等发病率的不断上升，危害检验人员身体健康的因素也日益增加。

生物安全是指在处理具有生物危害物质的过程中，为避免自身或他人的感染以及对环境的污染，所采取的各种措施。实验室生物安全具有以下特点：实验室生物安全的范围限定在从事涉及各种生物因子实验的实验室内，其防护贯穿于整个实验过程；生物安全实验室的保护对象包括实验人员、操作对象、实验人员周围的人和环境四个方面；实现操作对象和操作者的隔离，以及生物安全实验室与外部环境的隔离。

实验室生物安全防护是一种综合行为，通过在实验室设计建造、个体防护装置、严格遵从标准化的工作及操作程序和规程等方面采取综合措施，确保实验室工作人员不受实验对象感染，确保周围环境不受其污染。

一、实验室生物安全水平

世界卫生组织（WHO）在《实验室生物安全手册》中根据操作不同危险度等级微生物所需的实验室设计特点、建筑构造、防护设施、仪器、操作以及操作程序的不同，将生物安全防护水平（biosafety level, BSL）分为1~4级，以BSL-1、BSL-2、BSL-3和BSL-4表示：

1. 生物安全水平 1 (BSL-1) 用于不太可能引起人或动物致病的微生物，适用于教学实验室要求。例如：大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌和传染性犬肝炎病毒等。BSL-1要求微生物学操作技术规范。在安全操作设备上无特殊要求。

2. 生物安全水平 2 (BSL-2) 用于具有中度潜在危害的病原的实验操作。BSL-2除了要满

足 BSL-1 要求外,实验室应有进、出实验室的规定程序,门保持关闭并张贴生物危害警告标志,要制定生物安全手册和处理病原暴露事故的制度。在生物安全柜中进行可能发生气溶胶的操作程序。在个人防护上,要求穿防护服;在可能接触病原时要戴合适的手套,脱去手套后要洗手;为防止眼睛和面部受到泼溅物,碰撞物或人工紫外线辐射的伤害,要进行面部保护,如戴口罩、眼罩、面罩等。将潜在被污染的废弃物同普通废弃物隔开,进行高压灭菌处理。

3. 生物安全水平 3(BSL-3) 用于可通过气溶胶传播的,可引起严重或致死性疾病的病原的操作。例如:结核分枝杆菌、路易斯脑炎病毒等。BSL-3 需要比 BSL-1 和 BSL-2 的基础实验室更严格的操作和安全程序。工作人员必须严格按操作规程操作,并进行强制的医学检查。BSL-3 实验室与公共通道分开并通过缓冲间或气锁室进入。处理废物前,在实验室内先进行高压灭菌。应有非手控的水槽。形成向内气流并且涉及感染性材料的全部工作应在生物安全柜中进行,要注重个人防护,必要时要进行呼吸保护。

4. 生物安全水平 4(BSL-4) 用于可通过气溶胶传播的,能引起致死性感染的高风险剧毒病原的操作;亦用于风险不明,可能引起致死感染的病原的操作。在实验室操作上实行双人工作制,禁止单独操作。人员进入实验室前及离开实验室时,要求更换全部衣服和鞋子,所有物品出实验室时都要消毒。所有操作均要在Ⅲ级生物安全柜中操作,如在Ⅱ级生物安全柜中操作,则操作者要对整个身体进行保护,穿正压供气工作服。在实验室设施和结构上,除了 BSL-3 的要求外,要封闭产生气溶胶的设备,要有双门的高压灭菌器。内墙、地板和顶均要密封。连接内、外的两个门要装内锁,以防两个门同时打开。要有内部和外部进行对话的装置。

二、实验室生物安全防护

实验室生物安全防护(biosafety protection for laboratories)是指实验室工作人员所处理的实验对象含有致病的微生物及其毒素时,通过在实验室设计建造、使用个体防护装置、严格遵从标准化的工作及操作程序和规程等方面采取综合措施,确保实验室工作人员不受实验对象感染。

实验室生物安全防护的实施主要包括如下几个方面。

1. 建立健全实验室的各项生物安全制度,重在执行 只有建立并严格执行生物安全防护规章制度,才能获得令人满意的实施效果。因此医学检验实验室应结合科室实际情况,制定实验室生物安全操作流程,对可能接触到的传染源加以明确分类。规程的内容务求详细,包括检验人员进出实验室的着装要求、标本操作要点、防护用品的使用、实验室内外的消毒、医疗废弃物的处理等,只有按照要求规范行事,才能实现对生物危害的有效预防。除此之外,对实验室人员进行生物安全知识培训,有利于提高其对实验室感染危害性的认识,是提高实验室生物安全的最重要基础。

2. 体检和免疫 对实验室工作人员进行岗前健康检查,应记录工作人员的医学情况(病史),建议进行临床检查和收集基线血清。不让高危人群(如孕妇)从事较高危险的实验室工作。为保障实验室工作人员的安全,应根据各工作人员接触的不同的传染性生物菌(毒)株、标本和不同的工作性质,以及目前所能提供的疫苗种类和免疫效果,来确定各工作人员所应接种的具体疫苗种类,从事传染性生物菌(毒)株、标本检测试验工作的人员必须接种相应疫苗经主动免疫后方可上岗。

3. 配备安全防护设备 为达到生物安全的目的,实验室应具有相应的安全装备。安全装备包括两部分,一部分是实验操作设备,如生物安全柜(biological safety cabinets, BSCs)、超净

工作台、高压蒸汽灭菌器等；另一部分是个体防护装备(personal protective equipment, PPE)。

(1)生物安全柜(BSCs)：最有效、最常用的防护设施是生物安全柜。生物安全柜是为操作原代培养物、菌毒株以及诊断性标本等具有感染性的实验材料时，用来保护操作者本人、实验室环境及实验材料，使其避免暴露于上述操作过程中可能产生的感染性气溶胶和溅出物而设计的。必须由专人安装，定期监测、维护，遵循标准化操作规程。生物安全柜根据其入口气流风速、再循环空气量、排出空气量、排风系统、压力设置等分为三级。

1)Ⅰ级生物安全柜：空气自开口处进入，将工作台面形成的气溶胶送入排风管，通过高效空气过滤器，经实验室或建筑物排风系统排出，或直接排出建筑物，以保护操作者和环境，不保护操作对象。

2)Ⅱ级生物安全柜：流过工作台面的空气经高效空气过滤器过滤后无菌，且柜内保持负压状态，对操作者和操作对象都有保护作用。可用于操作危险度2级和3级的微生物，穿正压防护服时可处理危险度为4级的微生物。

3)Ⅲ级生物安全柜：工作空间内为经高效空气过滤器净化的无涡流的单向流空气，排出气流经双层高效空气过滤器过滤，所有接口密封为负压。适用于3级和4级生物安全水平实验室，用于操作危险度为4级的微生物，对操作者防护最好。

有些操作应在生物安全柜内进行：处理感染性物质；处理潜在空气传播的物质；离心前后封闭离心杯的装样、取样；可能产生气溶胶的操作(离心、研磨、混匀、剧烈摇动、超声破碎、打开有感染性或潜在感染性物质的密闭容器等)。实验者应在生物安全柜的后部操作，并能通过玻璃挡板观察和操作，使用中玻璃挡板不可打开，柜内尽量少放器材和样本，以免影响空气循环。

(2)超净工作台：超净工作台是一种局部层流装置，能形成局部洁净无菌的工作环境。室内空气经预过滤器和高效过滤除尘，吹过操作区域的垂直层或水平层可防止工作区域外粉尘或微生物的污染，使操作区保持无菌状态。超净工作台操作方便、无菌效果可靠、无消毒药剂、对人体危害小、占用面积小。但预过滤器和高效过滤器需要定期清洗和更换。

(3)高压蒸汽灭菌器：高压蒸汽灭菌器是一个密闭的、可以耐受一定压力的双层金属锅。锅底或夹层内盛水，加热产生蒸汽，随着蒸汽压力的不断增加，温度随之升高，通常压力在103.4kPa时，高压蒸汽灭菌器内可达121.3℃，维持15~20min可杀灭包括芽孢在内的所有微生物。如果灭菌物品体积较大，蒸汽穿透困难，可以适当提高蒸汽压力或延长灭菌时间。此法常用于一般培养基、生理盐水、手术器械及敷料等耐湿和耐高温物品的灭菌。

高压蒸汽灭菌器使用时的注意事项：待灭菌物品的放置不易过密；必须将冷空气充分排出，否则锅内温度达不到规定温度，影响灭菌效果；灭菌结束后不可快速放气减压，否则瓶内液体会剧烈沸腾，冲掉瓶塞而外溢，甚至导致容器爆裂。

(4)个体防护装备：个体防护装备是抵御外来伤害，保护人体安全和健康的重要装备。在恶劣环境下，个体防护装备可以保证人员进行正常的工作和生活，同时它也是保证人员安全的最后防线。实验室的常见个体防护装备主要有：

1)手套：在接触感染性物质时，必须使用合适的手套以保护操作者避免受到污染物溅出、生物污染或切割损伤。使用手套要确保有效遮盖、无漏损，要完全遮住手及手腕。

2)防护服：背面开口，置于日常服装外，防止污染衣服，当可能发生喷溅时，使用塑料围裙或防水长罩服，必要时可穿戴其他个人防护装备。

3)面部防护用具：如护目镜、防毒面具等，为防止眼睛或面部受到喷溅物的污染或人工紫外线的辐射伤害，必须佩戴合适的眼镜、面罩等。

4) 鞋：实验室应穿舒适、防滑、不露脚趾的鞋，避免碰撞和喷溅暴露。推荐穿着皮质或合成材料的防水鞋。特殊区域穿专用鞋。

要正确使用防护装备，除了考虑选用的类型以外，还需考虑佩戴尺寸、个体防护装备的使用期限、舒适程度及清洁保养等因素。

实验室不同于一般性场所，它是从事对人可能产生危害的试验的场所，尤其是从事对于人、畜有高度传染性的烈性传染病的研究和检测工作的实验机构。因此，这些实验室的安全性至关重要，如果防范措施不力，轻则造成实验室工作人员的感染，重则因传染性微生物外泄，殃及社会，造成大范围传染病的流行，甚至可能导致某些生物灾难的发生。

第三节 院内感染

医院感染(nosocomial infection, NI)又称医院内感染，指住院患者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而出院后发生的感染，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于医院感染。

一、医院感染的来源

1. 人类 感染来源于其他患者、医务人员或探视者，也可以来自患者自身。感染源可能是患者或处于潜伏期的感染者，或为病原携带者。

2. 环境 感染来自于污染的物品、食物、水、空气，病原体存在于不同的环境，如大肠埃希菌、克雷伯菌属、假单胞菌属等革兰阴性杆菌存在于潮湿环境中，链球菌、葡萄球菌、分枝杆菌及不动杆菌属等耐干燥，可经空气或尘埃传播。来自于环境的医院感染，常存在污染库，只有消除环境污染库，才能控制传播。

3. 动物 受感染的动物或某些昆虫也是医院感染的感染源。如带有汉坦病毒的家鼠，带有乙脑病毒或疟原虫的蚊子。

二、医院感染的传播途径

医院感染的病原体从感染源排出，到其新的易感者体内定植或感染之前在外界环境中所经历的全部过程称为传播途径。医院感染的传播途径主要有空气、接触及媒介传播。

医院感染的常见传播途径：结核分枝杆菌、军团菌、曲霉菌、水痘-带状疱疹病毒等经空气传播；流感、呼吸道合胞病毒、化脓性链球菌(咽炎)经飞沫传播；金黄色葡萄球菌、化脓性链球菌(皮肤)经直接接触传播；志贺菌、甲型肝炎病毒经粪-口传播；乙型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒可经血液传播。

三、医院感染的预防与控制

检验科检验的标本来自于患者的血液、体液、分泌物、排泄物等，工作人员直接接触这些带有不同种类病原微生物的标本，很有可能造成自身感染甚至交叉感染，并导致患者的医源性感染。除此之外检验科人员被污染的注射针、采血针等一些利器刺伤也是造成感染的一个重要原因，检验科工作人员如果皮肤破损而未采取有效防护措施也可以造成感染。因此，加强医院

检验科的感染管理十分重要。

1. 标准预防

(1) 加强管理, 建立健全各项规章制度: 据《消毒技术规范》、《医院感染管理办法》和《医疗机构临床实验室管理办法》等法规制定实验室工作人员安全防护、实验室安全防护、消毒隔离等规章制度。

(2) 强化自我防护, 严格执行标准预防技术: 标准预防的观点既强调防止疾病从患者传至医务人员, 也强调防止疾病从医务人员传至患者和从患者传至医务人员再传至患者, 因此应加强防护。

(3) 严格执行无菌技术操作规程, 防止院内交叉感染: 静脉采血必须做到一人一针一管一巾一带; 微量采血应做到一人一针一管一片; 对每位患者进行操作前要进行洗手或手消毒。无菌棉签、棉球、纱布等开启后使用时间为 24h, 未用完的重新灭菌。

(4) 注意手的消毒: 医院感染性病原体传播最主要的媒介物是污染的手。检验科人员由于工作环境, 手上携带的病原微生物较多, 在接触患者前、后, 工作结束或工作间歇特别是在接触血制品、污染物品后, 使用无菌物品及各种无菌操作技术前, 应认真、彻底、有效的清洗。洗手时用洗手液认真揉搓掌心、指缝、手指、手背、关节、指腹、指尖、拇指、腕部, 最后用流动水洗净。用“六步洗手法”能有效地去除医务人员手上的细菌。

(5) 检验报告单的消毒: 检验报告单必须经过消毒, 然后再发出或用电脑打印, 逐步实行无纸化, 以免交叉感染。

(6) 正确使用各种防护设备及用品: 在操作中戴防护手套、口罩, 对有潜在感染性的血液、体液等物品在操作时要穿隔离衣, 戴防护眼镜。检验中被血液、分泌物排泄物污染的地方, 要马上用消毒剂擦拭。每日对检验科的空气、物品表面、地面定时进行消毒。

(7) 预防针刺伤或锐器伤: 小心处理用过的尖锐物品, 不用手去除针头, 用后的针头及尖锐物品应弃于利器盒内, 无论使用与否均按感染性废物处理。一旦发生职业暴露事件后, 立即挤压伤口旁, 尽可能挤出损伤处血液, 用肥皂液、流动水进行冲洗, 再用碘酊和乙醇进行消毒, 并根据患者血液的情况进行相应的处理。

(8) 废弃物的处理: 医疗废物与生活垃圾分类存放, 分别用防渗漏的黄色和黑色垃圾袋收集后集中至指定地点进行无害化处理; 使用过的试管、加样器吸头、酶标板等一次性检验用品应放入消毒桶内, 经高温高压消毒后, 再做废弃处理; 污染的针头放入利器盒存放, 再运送到医疗废品处理厂统一处理; 检验剩余的尿液、自动化分析仪产生的废液等应经过严格消毒, 达到无害化标准后再排入下水道。

2. 医院感染监测 医院感染监测是指系统地收集一定人群中的医院感染发生、分布及其各种影响因素的资料, 经过分析将信息及时反馈, 以便采取相应的改进措施, 达到控制医院感染的目的。通过医院感染监测掌握医院感染的变化趋势, 及早发现感染病例与感染种类的变化, 及时采取预防措施。医院感染监测资料来源于微生物学报告、病房巡视、医务人员健康记录、出院患者随访等。除医院感染病例监测外, 还常规监测灭菌消毒效果、医院配制产品及血液透析液等。

医院是一个复杂、特殊的环境, 有大量的易感人群在这里聚集。尤其检验科是病原体和易感人群集中的地方。要求管理程序要完善、隔离措施要落实、监控措施要到位。这样才能提高医疗护理质量, 使患者、医务人员和社会人群免受环境有害因素的侵袭。

思考题

- (1) 无菌操作技术在微生物学实验中有何意义？在接种细菌时应如何注意无菌操作？
- (2) 生物安全实验室有几个等级，什么级别的实验室可以研究埃博拉病毒？
- (3) 医院发生疑似医院感染暴发或者医院感染暴发，应当及时采取何种有效处理措施？

小结

防止微生物进入人体或其他物体的操作方法，称为无菌技术或无菌操作。对于医学检验人员，无菌操作技术主要是指在微生物实验工作中，控制或防止各类微生物的污染及其干扰的一系列操作方法和有关措施。无菌操作技术包括无菌环境、无菌器材和无菌操作三个方面。生物安全是指在处理具有生物危害物质的过程中，为避免自身或他人的感染以及对环境的污染，所采取的各种措施。医院感染又称医院内感染，指住院患者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而出院后发生的感染，但不包括入院前已开始或入院时已存在的感染。加强医院检验科的感染管理十分重要。要求管理程序要完善、隔离措施要落实、监控措施要到位。这样才能提高医疗护理质量，使患者、医务人员和社会人群免受环境有害因素的侵袭。

(陶元勇)

参考文献

- 吕厚东, 赵玉玲. 2015. 临床微生物与检验. 武汉: 华中科技大学出版社.
- 倪语星, 尚红. 2010. 临床微生物学与检验, 第4版. 北京: 人民卫生出版社.
- GB19489-2008. 2008. 实验室生物安全通用要求. 北京: 中国标准出版社.

第二章 心肺复苏

心肺复苏(cardiopulmonary resuscitation, CPR)是指在基础生命支持的基础上为减轻心脏骤停患者的中枢神经系统损害进行的一系列综合治疗,以达到部分或全部恢复脑组织的功能。

(一) 目的要求

- (1) 熟练掌握心肺复苏操作步骤。
- (2) 熟悉心肺复苏有效指征、心肺复苏终止指标。

(二) 原理

空气中氮气约占 80%, 氧气及其他微量气体约占 20%, 而经由人体呼吸再呼出的空气成分经化验分析氮气仍占约 80%, 氧气却降低为 16%, 二氧化碳占了 4%, 这项分析让我们了解经由正常呼吸所呼出的气体中氧的分量仍足够供应我们正常所需的要求。利用人工呼吸吹送空气进入胸腔, 再配合心外按摩以促使血液从肺部交换氧气再循环到脑部及全身以维持脑细胞及器官组织之存活。

(三) 材料、试剂与仪器

医院内应备好纱布、弯盘、硬板等。

(四) 步骤与方法

1. 操作前准备

- (1) 发现情况异常的患者, 迅速到位。
- (2) 利用地形, 使患者快速脱离险处。

2. 操作过程

(1) 判断患者心脏骤停: 确定患者意识已丧失, 自主呼吸停止, 颈动脉搏动消失。判断动作要快, 要求在 10s 内完成。

1) 判断意识: 立即扶住患者颈部, 轻拍患者肩部, 对着耳旁大声呼喊“喂, 你怎么了!”或呼叫其姓名。

2) 判断呼吸: 患者无呼吸或仅仅是喘息。

3) 判断动脉搏动: 护士用食指和中指指尖触及患者气管正中部(相当于喉结的部位), 旁开两指至胸锁乳突肌前缘凹陷处感觉搏动。

(2) 呼救: 诊断明确, 如果患者无反应, 立刻寻求旁人帮助, 高声呼救: “快来人呀! 救命啊!”或打急救电话“120”。电话要简单明了, 要讲清以下几点: ①患者性别、年龄; ②目前最危险的状况; ③发病现场的详细地址、电话以及等候救护车的确切地址; ④如为群体意外伤害, 要讲明受害人数、受害原因。

(3) 体位

1) 患者: 将患者平放地上或去枕仰卧于坚硬的平面上, 如木板床、地板。注意, 如果需要翻转时, 患者的头部与脊柱同时整体翻转。双手放于身体两侧。立即解开衣领、上衣、腰带。

2) 操作者：立于或双膝跪地于患者右侧，左腿与患者肩平齐，两腿之间相距一拳，膝部与患者一拳距离。

(4) 心脏按压

1) 定位：迅速、正确(胸骨中下段或中下 1/3 交界处)。在胸骨中垂线下按压。

2) 方法：一手掌根部紧贴手指，另一手重叠其上，手指反扣、向上翘起，以掌根部接触按压部位，两臂伸直并与患者胸部成垂直方向，利用上半身重量及肩臂肌力量向下用力按压，力量均匀，使胸骨下陷至少 5cm，每次按压后使胸廓完全回复，但掌根部不离开定位点，按压时间：放松时间=1：1，节律规整，频率 ≥ 100 次/min，连续按压 30 次（备注：婴儿和儿童的按压幅度至少为胸部前后径的 1/3 处，婴儿大约为 4cm，儿童大约为 5cm）。

(5) 清理气道

1) 观察患者口腔有无活动性义齿。

2) 将患者头偏向一侧，清理患者的口鼻分泌物。

(6) 顺畅气道：仰额举颌法：一手放在患者前额上，手掌向后下方施力，使头向后仰；另一手的示指和中指置于患者的下颌骨下方，将颈部向前抬起；使患者口张开。

(7) 人工呼吸：连续吹两大口气：一手捏紧患者鼻孔，患者口上垫纱布，操作者吸气后将患者的口完全包在操作者的口中，用力将气吹入，看到患者胸部抬起。一次吹气完毕后，松开捏鼻的手，离开患者的口，见到患者胸部向下塌陷。接着做第二次吹气。要求：每次吹气时间大于 1s，潮气量 400~600ml 或 7~10ml/kg。

(8) 复苏结果

1) 每按压 30 次，口对口吹气 2 次，再按压 30 次，如此反复进行。

2) 连续 5 个循环。

3) 判断复苏效果：五个有效循环以后判断复苏是否有效。复苏有效指征为：面色，口唇，指甲由发绀转红润；大动脉搏动恢复；自主呼吸恢复；心音恢复；双侧瞳孔缩小，角膜反射和对光反应恢复；收缩压 ≥ 60 mmHg；肌张力恢复；心电图证实恢复窦性心律。

3. 后续处理

(1) 检查有无复苏并发症：骨折、气胸、肝破裂等。

(2) 移去硬板或将患者移至床上，为患者取舒适卧位。

(3) 整理衣被保暖。

4. 积极创造条件 准备气管插管，建立输液通道及应用药物。

5. 整体要求

(1) 操作熟练、准确、动作迅速。

(2) 积极创造条件，进行高级心肺复苏，包括：气管插管建立通气，电除颤/电复律，建立输液通道，应用必要的药物维持已恢复的循环。

6. 双人心肺复苏步骤

(1) 基本上与单人心肺复苏术步骤相同；双人复苏时按压和开放气道同时进行，即一人开始按压，另一人立即清理异物，开放气道。

(2) 两人动作必须协调配合，一人按压，一人吹气，以 30：2 比率进行；做口对口人工呼吸者，负责开放气道，观察瞳孔，触摸颈动脉搏动。

(3) 施行心肺复苏的人可分别站在(或跪在)患者的左侧和右侧，便于交替进行人工呼吸和心脏按压。受到条件的限制，也可站(跪)在同侧。

(4) 每五个循环或两分钟心肺复苏后，做心脏按压和人工呼吸者必须交换位置，互换操作，