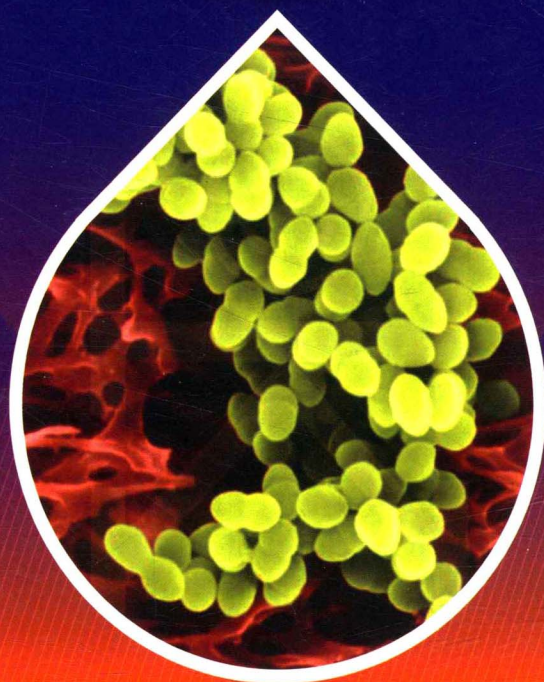


国家骨干高职院校建设项目成果教材

微生物检验 技术实训

胡生梅 主编 李智山 董明驹 副主编



化学工业出版社

国家骨干高职院校建设项目成果教材

微生物检验技术实训

胡生梅 主 编

李智山 董明驹 副主编



化学工业出版社

· 北 京 ·

内容提要

本教材以培养实用型医学检验技术人才为目标,坚持从医学检验岗位对人才的要求出发,按照以学生为主体的行动导向教学原则进行编写。全书包括临床标本采集、标本的前处理、微生物分离培养、微生物的鉴定、药物敏感试验、检验结果报告六大学习情境共二十二个学习项目,最后设计了五个综合技能训练内容。每个学习项目设计了“学习目标”、“知识链接”、“技能训练”、“目标检测”、“技能考核”五个栏目,在明确学习目标和掌握了必备理论知识的前提下,同步进行操作技能训练和理论知识的再学习,最后按照技能考核内容及评分标准对学生进行项目技能的考核,既体现了教学的目的性和可操作性,又便于科学评价学生的学习效果。

本书既可供全国高职高专医学检验技术专业师生学习使用,也可供临床检验工作者在临床检验实际工作中参考。

图书在版编目(CIP)数据

微生物检验技术实训/胡生梅主编. —北京:化学工业出版社,2012.8

国家骨干高职院校建设项目成果教材

ISBN 978-7-122-14843-8

I. ①微… II. ①胡… III. ①病原微生物-医学检验-
高等职业教育-教材 IV. ①R446.75

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 158879 号

责任编辑:王蓉蓉 梁静丽 洪 强
责任校对:吴 静

装帧设计:张 辉

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷:北京永鑫印刷有限责任公司

装 订:三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 9 1/4 字数 231 千字 2012 年 9 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:22.00 元

版权所有 违者必究

《微生物检验技术实训》编写人员名单

主 编 胡生梅

副主编 李智山 董明驹

编 者 (以姓氏笔画为序)

卢恩昌 (襄阳职业技术学院)

史 莉 (襄阳市第一人民医院)

孙 莉 (襄阳职业技术学院)

李宗武 (恩施州来凤县疾病预防控制中心)

李智山 (襄阳市中心医院)

邹玖明 (襄阳市中心医院)

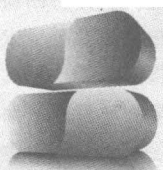
张家忠 (襄阳职业技术学院)

武小樱 (襄阳职业技术学院)

周乐翔 (襄阳市中心医院)

胡生梅 (襄阳职业技术学院)

董明驹 (襄阳市第一人民医院)



前言

微生物检验技术是医学检验技术专业学生必须具备的一项专业技能，直接对应医院检验科微生物检验室这一特定的临床岗位，也是高职高专医学检验技术专业不可缺少的一门专业核心课程。《微生物检验技术实训》为国家精品课程微生物检验技术（<http://jpkc.hbxftc.com/wswjyjs/course/index.asp>）的配套教材，是由襄阳职业技术学院骨干教师和医院医学检验技术人员联合编写的教学改革系列教材。

全书基于临床微生物检验岗位，设计了临床标本采集→标本的前处理→微生物分离培养→微生物的鉴定→药物敏感试验→检验结果报告六大学习情境共二十二个学习项目，最后设计了五个综合技能训练内容。全书内容设计科学合理，突出岗位职业能力和以学生为主体两大特点，紧贴行业发展动态，学习内容与岗位实际工作任务相一致。每个学习项目设计了“学习目标”、“知识链接”、“技能训练”、“目标检测”、“技能考核”五个栏目，在明确学习目标和掌握了必备理论知识的前提下，同步进行操作技能训练和理论知识的再学习，最后按照技能考核内容及评分标准对学生进行项目技能的考核，既体现了教学的目的性和可操作性，又便于科学评价学生的学习效果。

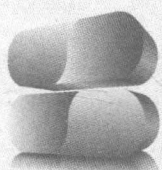
与本教材配套的微生物检验技术国家精品课程网站（<http://jpkc.hbxftc.com/wswjyjs/course/index.asp>）教学资源十分丰富，包括课程标准、授课计划、教学活动设计、电子课件、临床案例、实训项目手册、技能考核、综合习题、政策法规及参考资源等基本教学资源，还包含网络课堂、技术视频、虚拟训练、岗位学习、鉴定流程、动态鉴定、图片资源、操作规程等特色学习资源，并以视频、动画和图片等直观的形式展示，同时还建有在线测试系统和在线答疑交流平台，既可为教师的教学提供丰富的教学资源，也是学生自主学习的优质平台。

本教材在编写的过程中，得到了襄阳职业技术学院各级领导的大力支持，得到了湖北省襄阳市中心医院、襄阳市第一人民医院、恩施州来凤县疾病预防控制中心等医学检验同仁的热忱鼓励与支持，在此谨表示诚挚的感谢。

由于本人的学术水平和编写能力有限，疏漏和不当之处在所难免，恳请使用本教材的师生和同仁批评指正。

胡生梅

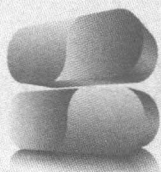
2012年8月



目 录

微生物检验技术实训室规则	1
微生物检验工作中的注意事项	2
学习情境一 临床标本采集	4
项目一 血液标本的采集	4
项目二 脓液、痰液标本采集	7
项目三 尿液、粪便标本采集	12
学习情境二 标本的前处理	16
项目四 细菌形态结构辨认	16
项目五 细菌革兰染色	19
项目六 细菌抗酸染色	23
项目七 痰液洗净与液化	26
学习情境三 微生物分离培养	29
项目八 常用培养基的制备	29
项目九 细菌接种技术	34
项目十 细菌培养技术	40
项目十一 标本的分离培养	44
学习情境四 微生物的鉴定	51
项目十二 形态学检查	51
项目十三 细菌的生物化学试验	54
项目十四 病原性球菌鉴定	63
项目十五 肠杆菌科鉴定	70
项目十六 非发酵菌鉴定	76
项目十七 厌氧菌的鉴定	81
项目十八 分枝杆菌鉴定	86

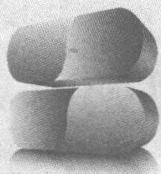
项目十九 病原性真菌的鉴定	91
学习情境五 药物敏感试验	96
项目二十 扩散法药敏试验	96
项目二十一 稀释法药敏试验	103
学习情境六 检验结果报告	106
项目二十二 检验结果报告	106
综合技能训练 临床标本的微生物检验	110
综合技能训练一 血液标本的微生物检验	110
综合技能训练二 脓液标本的微生物检验	114
综合技能训练三 痰液标本的微生物检验	117
综合技能训练四 尿液标本的微生物检验	121
综合技能训练五 粪便标本的微生物检验	125
附录	129
附录一 常用生化试剂的配制	129
附录二 常用培养基配制及用途	131
附录三 常用菌种保存方法	137
参考文献	141



微生物检验技术实训室规则

微生物检验技术实训的内容主要是病原微生物的检验技术。病原微生物具有传染性，因此实训过程中需要严格遵守以下规则。

- (1) 书包、衣物等放于实训室外。必须带入的书籍和文具应远离操作区。
- (2) 进入实训室应穿好隔离衣，离室时脱下反叠并放在指定处，隔离衣应经常消毒洗涤。
- (3) 禁止在实训室内饮食，不得用嘴湿润标签、铅笔等。
- (4) 操作时严格按照无菌操作进行，如发生以下情况，应立即报告教师，并按下述方法进行处理。
 - ① 如吸入菌液，则应立即用 0.1% 高锰酸钾或 3% 双氧水漱口，并根据吸入的不同细菌服用相应的抗生素以预防感染。
 - ② 如污染手部，则应立即将手浸于 3% 来苏儿中 5~15min。然后用肥皂洗涤，自来水冲洗干净。
 - ③ 如有菌材料污染桌面或衣物，则应立即用抹布蘸取 3% 来苏儿或 84 消毒液等，泡洗污染部位 30min 后抹去。
- (5) 凡接触过菌液的吸管、玻片等实训器材应放在指定的含消毒液的容器内，绝对不能乱放在桌面上或冲洗于水槽中。
- (6) 爱护室内仪器设备，节约使用实训材料。损坏实训材料时，应报告教师，登记并酌情处理。
- (7) 实训完毕后应整理桌面、地面、用具等，需培养的培养物应放入温箱内，观察结果后的培养物等放污染筒，送消毒室处理、洗刷。
- (8) 离开实训室前，用消毒液泡洗双手，然后用自来水洗净，每组轮流值日，负责实训室的卫生，关好门、窗和水、电后，方可离开实训室。



微生物检验工作中的注意事项

1. 细菌室注意事项

(1) 细菌室必须经常保持整洁, 装有消毒空气的紫外线灯, 每天开始工作前, 照射 20min。入室前要穿白大衣, 戴帽子、口罩, 并做好实验前的各项准备工作。检验材料必须进行登记、编号后才能进行检验。

(2) 实验用具用完后一律放回原处, 已污染的用具应立即置 5% 的来苏儿罐或烧灼后再行高压灭菌。未污染之纸绳、火柴杆等应集中扔在污物桶内。

(3) 分离的一类或二类菌种, 除按卫生部颁发的《中国医学微生物菌种保藏管理办法》执行外, 未经领导批准, 不得带出实验室或擅自处理。

(4) 工作人员进入实验室不得携带书籍和资料, 实验室的其他物件在保证未污染、安全的前提下方可带出。

(5) 应在指定房间进行无菌操作, 实验者除着白大衣外, 要着前挂, 戴口罩、防护眼镜、胶皮手套和穿胶鞋, 工作结束后应彻底消毒。

(6) 在操作污染材料时, 如有事故发生 (如打破平皿、注射针头脱落喷出感染材料等), 所有被污染的物品及工作人员不得擅自离开原地, 应就地呼唤他人彻底消毒后方可离开原地。

(7) 工作人员于操作中感染病原菌或认为可能感染时, 必须立即报告领导, 尽快采取预防或隔离治疗等措施。

(8) 一类病原菌检验由实际工作三年以上的细菌检验人员担当, 操作时应当有两名以上人员。

(9) 细菌检验操作必须严格遵守有关制度及操作规程, 加强消毒和无菌观念, 以免发生意外。

2. 操作中的注意事项

(1) 从被检验标本或培养物中取材观察细菌形态时, 必须使用接种环。接种环系采用一段长约 5~8cm 硬度适中的镍质电阻丝或特制铂丝, 安置在一金属或玻璃棒上制成。无环者则称接种针。

(2) 接种环或接种针每次使用前后, 均须火焰灭菌。即在酒精灯火焰上彻底烧灼一次, 金属棒或玻璃棒部分亦须转动着通过火焰外焰三次。用后烧灼时, 先将近环处镍丝置于火焰

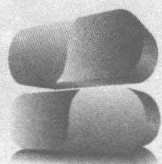
外焰，使热导向接种环，如直接将环烧灼，则环上残余菌液可因突然受高热而爆裂四溅，有传染危险。待环上菌液蒸发干涸后，再将接种环以垂直方向于火焰中烧灼灭菌，最后再将金属棒或玻璃棒部分往复通过火焰外焰。接种针用后灭菌时与接种环相同。

(3) 接种环（针）经灭菌后，需待冷却后再蘸取标本或放置于工作台上，以防烫死微生物和烧损桌面。

(4) 由培养基或试管培养物中蘸取标本时，培养瓶口、试管口在打开后及关闭前，应于火焰外焰通过 1~2 次，以杀死可能从空气中落入的杂菌和由培养物而来的致病菌。打开瓶塞或试管塞时，应将棉塞上端夹于手指间适当的位置，不得将棉塞任意放置别处。

(5) 不染色标本和染色标本观察后，应立即投入消毒液内灭菌。

(6) 使用过的玻片，必须彻底消除玻片上的染色细菌后再用，否则再次使用时可能做出错误诊断。



学习情境一 临床标本采集

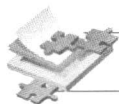
项目一 血液标本的采集

学●习●目●标

能力目标：会根据检验申请单采集临床血液标本；会对临床标本进行分类、编号、登记存档；能正确进行合格标本的评价与拒收；会正确保存临床血液标本。

知识目标：明确血液标本的采集方法及要求；知道血液标本的评价指标；知道血液标本接收相关信息登记内容与要求。

态度目标：严格无菌操作采集标本；仔细核对申请单与送检标本的各项信息；具有团队合作意识。



知识链接

对感染性疾病进行病原学检查和鉴定，需要采集临床标本，对标本进行系统化鉴定，才能获得明确的病原学诊断。采集的临床标本质量的好坏直接关系到检验结果的正误，因此在标本采集及相关环节都要标准化操作，严格控制。血液标本采集的质量直接关系到血液培养的阳性率，而标本采集质量受多种因素影响，如采血的时间、部位、容量和频率，因此，严格控制每种因素都可提高血液培养的阳性率。

1. 采集一般原则

在出现临床症状后应尽快抽血样进行细菌培养，最好在发热初期、高热或寒战时，原则上应选择在抗菌药物应用之前。对已应用药物而病情不允许停药的患者应在下一次用药前采血。

2. 血液标本采集

(1) 采血部位 肘静脉。疑似细菌性心内膜炎时，以肘动脉或股动脉采血为宜，切忌在静脉点滴抗菌药物的静脉处采取血标本。

(2) 采血最佳时间与频率 急性败血症应在治疗前 24h 内抽血 3 次或者更多次，并在不同部位，如左、右手臂或颈部，分别做厌氧、需氧培养；急性心内膜炎在治疗前 1~2h 内分别在 3 个不同部位抽血样；怀疑伤寒的病人，在病程的第 1~2 周内采静脉血液，在第 1~3 周内是采集骨髓的最佳时间，在病灶或髂前（后）上棘处严格消毒后抽取骨髓 1mL 作细菌培养；肺炎链球菌在寒战、高热或者休克时采集；布氏杆菌感染除在发热期采血，还要多次采血，一般是 24h 抽 3~4 次；分枝杆菌感染早期采血样阳性率高。怀疑菌血症者应尽早采

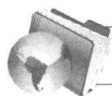
血, 体温上升阶段采血可提高阳性率, 但要防止因等待而延误时机, 对已用抗菌药物而不能停药者, 可在下次用药前采血。

(3) 消毒 采血部位的局部皮肤应严格消毒。将采集的血液注入血培养瓶前, 认真识别相应颜色的瓶, 并仔细检查培养瓶有无变色或浑浊。血培养瓶撕掉塑料盖后, 瓶口不是无菌部位必须消毒。做需氧和厌氧培养时, 因注射器活塞处易残留空气, 应先将标本接种到厌氧瓶中, 然后再注入需氧瓶, 严格防止将空气注入厌氧瓶。

(4) 采血量 每次采血量为成人 5~10mL, 婴幼儿 1~2mL, 培养基与血液之比以 10:1 为宜, 以稀释血液中的抗生素。

(5) 标本的送检和保存 血培养瓶务必立即送至临床微生物室, 如因故不能立即送检时, 应将已接种的瓶放在室温或 35℃ 温箱中保存, 切勿放在冰箱存放。

(6) 其他无菌体液 胸水、腹水、脑脊液、心包积液、胆汁等穿刺取得后都可按照无菌操作注入血培养瓶内送检。



技能训练

1. 训练目的

- (1) 学会无菌操作采集静脉血液标本。
- (2) 掌握血液标本采集的皮肤消毒程序。

2. 材料准备

- (1) 试剂 75% 酒精、2.5% 碘伏。
- (2) 培养基 增菌肉汤培养基、需氧及厌氧血培养瓶、血琼脂平板、麦康凯平板、不含万古霉素的巧克力平板。
- (3) 其他材料 5mL 一次性无菌注射器、消毒棉签、止血带等。

3. 训练内容

(1) 确定采血部位 大多由肘静脉采集, 对亚急性心内膜炎的患者一般采集股动脉血, 多部位采集血液标本可以增加阳性率。

(2) 消毒皮肤的准备 ① 2.5% 碘伏作用 30s, 以穿刺点为中心向外画圈消毒, 消毒区域直径应达 3cm 以上。② 75% 酒精脱碘。有碘过敏体质者, 可用 75% 酒精消毒 60s, 待酒精挥发干燥后采血。

(3) 培养瓶的消毒 75% 酒精擦拭血培养瓶橡皮塞, 作用 60s; 然后用无菌纱布或无菌棉签清除橡皮塞表面残余酒精。

(4) 采血 戴乳胶手套固定静脉防止静脉滑动, 注意手套不可接触穿刺点。用无菌注射器穿刺取血。成人采血量每次 10~20mL, 儿童 3~5mL。血液与培养基的比例应为 1:5~1:10。

(5) 标本运送 标本采集后应立即送检, 对于不能立即送检的标本需室温保存或置 35℃ 孵箱中, 切勿冷藏。

(6) 接种 血液和骨髓标本采集后直接注入需氧瓶和厌氧瓶中, 其他无菌体液标本在采集量少的情况下, 也可划线接种血琼脂平板、麦康凯平板和不含万古霉素的巧克力平板。

(7) 其他无菌体液 胸水、腹水、脑脊液、心包积液、胆汁等穿刺取得后都可按照无菌操作注入血培养瓶内送检。

4. 注意事项

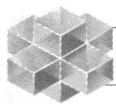
- (1) 血液标本应在病人发热 1~2d 内或发热高峰采集培养为宜, 此时阳性率较高。

(2) 培养基与血液的比例为 5:1~10:1。

(3) 用无菌注射器穿刺取血后, 勿换针头 (如果进行第二次穿刺, 应换针头), 直接注入已消毒好的血培养瓶。

(4) 标本应同时接种一套培养瓶, 以兼顾厌氧菌和需氧菌的检出; 做厌氧培养的血液标本, 应避免接触空气, 立即注入专用厌氧培养瓶内; 如果同时做厌氧培养和需氧培养, 应先将血液标本接种厌氧培养瓶, 然后再接种需氧培养瓶。

(5) 标本操作过程中应严格按照标准化操作规程, 严格无菌操作, 避免污染, 注意生物安全。



目标检测

一、填空题

1. 急性败血症、脑膜炎、骨髓炎、关节炎、细菌性肺炎、肾盂肾炎应该在_____前从不同部位采集血液标本, 分别接种于_____和_____血培养瓶内。
2. 疑为细菌性心内膜炎体温不太高的持续性菌血症急性病例应在治疗前 1~2h 内, 分别在_____部位采集_____标本; 亚急性病例应在第一天取_____个标本, 24h 后再取_____个标本; 若已用抗生素则连续_____天, 每天取_____个标本。
3. 需要做培养的血液、骨髓等标本, 尽可能在应用_____前采集, 若已用过的, 在_____最低时采集, 从而提高培养的阳性检出率。

二、选择题

1. 血液标本采集常使用的部位是 ()
A. 肘静脉 B. 股静脉 C. 颈静脉 D. 尺静脉
2. 能较快速度分离到细菌的培养基是 ()
A. 血琼脂平板 B. 巧克力平板 C. 双相培养基 D. 胰脓肉汤
3. 采集血液标本培养时, 血液至少应采取 ()
A. 培养基的 1/2 B. 培养基的 1/4 C. 培养基的 1/8 D. 培养基的 1/10
4. 取血注入厌氧瓶时, 应注意 ()
A. 全量注入 B. 半量注入 C. 加气注入 D. 尽量避免空气注入
5. 关于做细菌培养的血液标本, 下列正确的是 ()
A. 在发热 1~2d 内或发热高峰时采集为宜
B. 尽量在抗生素应用前采集
C. 采血量一般为成人 8~10mL、儿童 3~5mL、婴幼儿 1~2mL
D. A+B+C

三、简答题

简述血液标本采集方法和适应证。



技能考核

一、考核内容

1. 口试内容 (20 分)

- (1) 说出采血的时间、次数、部位及采血的量。
- (2) 采血的注意事项有哪些?



2. 操作内容（80 分）

血液标本采集。

二、操作评分标准

顺序	考核内容	标准分	评分标准	实得分
准备质量标准分(10 分)	一次性无菌注射器、75%酒精、碘伏、棉签、止血带、抗凝管等实训材料的准备	10	少一种扣 1 分	
操作流程质量标准分(50 分)	① 选择恰当的采血部位	15	选择部位不恰当扣 5 分	
	② 消毒：先用碘伏，再用 75%酒精脱碘	15	消毒方法不对扣 5 分	
	③ 检查注射器是否完好	5	不检查注射器的扣 5 分	
	④ 扎止血带、进针采血	15	未将针头的斜面与刻度调一致的扣 5 分；扎止血带方式不正确扣 5 分；进针方式不正确扣 5 分	
终末质量标准分(20 分)	① 采血量恰当	10	未采到血液扣 10 分；采血量不当扣 5 分	
	② 卫生清理	5	消毒用过的棉签处理不当扣 2 分	
	③ 规定时间内完成	5	延时 2min 以上扣 2 分	

（武小樱 卢恩昌）



项目二 脓液、痰液标本采集

学 习 目 标

- 能力目标：**会根据检验申请单采集脓液、痰液标本；能对临床科室送检的标本进行分类、编号、登记存档；能正确进行脓液、痰液合格标本的评价与拒收。
- 知识目标：**知道脓液、痰液标本的采集方法及要求；知道脓液、痰液标本的评价指标及评价方法；知道脓液、痰液标本接收相关信息登记内容与要求。
- 态度目标：**严格无菌操作采集标本；仔细核对申请单与送检标本的各项信息；具有团队合作意识。



知识链接

1. 脓液标本的采集

- (1) 开放性感染和已溃破的化脓灶 标本采集前先用无菌生理盐水冲洗表面污染菌，用无菌拭子采取脓液及病灶深部的分泌物，如慢性感染、污染严重、很难分离到致病菌，可取感染部位下的组织，研磨成组织匀浆接种于适宜的培养基。
- (2) 闭锁性脓肿
- ① 皮肤化脓和皮下软组织化脓感染：用 2.5%~3%碘伏和 75%酒精消毒周围皮肤，穿

刺抽取脓汁及分泌物送检；也可在切开排脓时，以无菌注射器或棉拭子采取。

② 淋巴结脓肿：淋巴结穿刺术取脓液，盛于无菌容器内送检。

③ 乳腺脓肿：在手术引流时采集脓液，盛于无菌容器内送检；也可作脓肿穿刺，采集脓液标本检查。

④ 肺脓肿：体位引流使病肺处于高处，引流的支气管开口向下，痰液顺体位引流至气管咳出；也可在纤维支气管镜检或手术时采集。

⑤ 肝脓肿：在手术引流时采集脓液，盛于无菌容器内送检；也可作脓肿穿刺，采集脓液标本检查。

⑥ 胆囊炎：十二指肠引流术采集胆汁（标本分三部分，即来自胆总管、胆囊及肝总管）；手术时采集（在行胆囊及胆管手术时，可从胆总管、胆囊直接采取）；胆囊穿刺法（进行胆道造影时采集胆汁）。

⑦ 脑脓肿：在手术引流时采集脓液，盛于无菌容器内送检；也可作脑脓肿穿刺采集脓液标本送检。

⑧ 肾周脓肿：在手术引流时采集脓液，盛于无菌容器内送检；也可作肾周穿刺采集脓液标本检查。

⑨ 阑尾脓肿：在手术时采集脓液，盛于无菌容器内送检。

⑩ 胸腔脓肿：以胸腔穿刺术抽取脓液，盛于无菌容器内送检。

⑪ 腹腔积液：以腹腔穿刺术抽取脓液，盛于无菌容器内送检。

⑫ 心包积液：在手术引流时采集脓液，盛于无菌容器内送检；也可作心包穿刺采集脓液标本送检。

⑬ 盆腔脓肿：已婚妇女可经阴道后穹窿切开引流或穿刺采集脓液检查；也可在肛肠暴露下经直肠穿刺或切开引流采集脓液标本检查。

⑭ 关节腔积液：采用膝关节腔穿刺术取关节液，留于无菌容器内送检。

⑮ 肛周脓肿：在患者的皮肤和黏膜表面，先用碘伏消毒，然后用 75% 酒精脱碘，再用无菌干燥注射器穿刺抽取，将采集的标本置于无菌容器中。疑为厌氧菌感染时，应做厌氧培养，取出标本后应将注射器内空气排空，同时将针头插入胶塞内，以防空气进入。

（3）注意事项

① 尽可能在用药前采集标本，如患者在采集标本前已用药，请在检验申请单上注明，检验人员可在培养基内加入相应拮抗物，以利于提高阳性检出率。

② 采集标本时应注意脓汁及分泌物的性状、色泽及气味，为分离鉴定致病菌提供依据。

③ 疑有某种细菌感染，若该细菌对干燥敏感，用棉拭子采集标本后，应立即放入液体培养基内；或采标本前先将棉拭子蘸少许肉汤以保持标本湿度。

④ 不能立即送检的标本，应放 4℃ 保存；培养淋病奈瑟菌和脑膜炎奈瑟菌的标本除外。

⑤ 深部脓肿常由包括厌氧菌在内的混合细菌感染所致，采集标本应遵守厌氧菌感染标本的采集原则。

⑥ 操作过程中要严格无菌操作，避免污染。

2. 痰液标本采集

（1）采集方法

① 自然咳痰法：清晨起床后用凉开水漱口多次，以除去口腔内大量杂菌，用力咳出肺深部的脓痰，痰量极少者可用 45℃，3%~10% 的 NaCl 溶液约 25mL 雾化，利于痰液的排出，获得的痰液置于清洁干燥容器送检。

② 小儿取痰法：对于咯痰量少的幼儿，可轻轻压迫胸骨上部的气管，当其咯痰后用无菌棉棒采集标本。

③ 咽拭采集法：嘱病人在留取标本之前，用清水反复漱口以减少正常菌群的污染。将拭子越过舌根到咽后壁或悬雍垂后侧，反复涂抹数次，注意避免拭子接触口腔或舌黏膜。咳嗽无力或昏迷病人，可用吸痰管由鼻腔或口腔经气管腔内吸引痰液送检。

④ 气管切开者可以深入透气孔中取痰。

⑤ 气管镜采集法：可用支气管镜直接在病灶部位采集高浓度的病原菌；也可用无菌导管经鼻腔插入气管镜内，缓慢注入无菌蒸馏水 5mL，取出导管，留取患者在 3h 内咳出的痰液，放入无菌容器中送检。

⑥ 胃内采痰法：无自觉症状的结核病人，有时可把痰误咽入胃内，因而可采用胃内容物做结核菌培养，其阳性结果比咯痰高 10% 左右，该方法于晨起空腹时，把无菌的胃管，从鼻腔送入胃内，用 20mL 注射器抽取胃液。

(2) 注意事项

① 痰标本的采集以晨痰为最佳，此时患者痰量较多且含菌量也多。咳前要充分漱口，减少口腔正常菌群的污染。

② 标本采集后立即送检，若不能及时送检者，可暂存 2~8℃ 冰箱。若晚 1~2h 接种，会失去苛氧菌，并使得革兰阴性菌过分生长。

③ 可接收的标本：痰、支气管灌洗液、支气管刷、支气管活检、肺吸出物和肺活检；不能接收的标本：唾液、24h 留的痰（结核杆菌培养除外）。

④ 痰标本的质量评价：痰涂片镜检 >25 个白细胞/低倍镜视野， <10 个鳞状上皮细胞/低倍镜视野，就可判断为合格并可用于细菌培养的标本。



技能训练

1. 训练目的

(1) 掌握脓液及痰液的标本采集方法。

(2) 学会采集、评价合格痰液标本。

(3) 掌握痰液标本的细胞学评价内容。

2. 材料准备

(1) 试剂 生理盐水、革兰染液。

(2) 培养基 血琼脂平板、麦康凯平板、含万古霉素的巧克力平板。

(3) 其他 显微镜、无菌注射器、载玻片、无菌拭子、一次性痰杯。

3. 训练内容

(1) 采集脓液标本

① 表浅部位皮肤黏膜的化脓性感染：可用拭子采集，先用无菌生理盐水擦去表面分泌物，以避免污染，然后用拭子深入伤口，在新生组织边缘用力擦拭，采集两份，分别做培养及革兰染色。

② 深部组织感染：若形成脓肿，可用注射器抽吸。先用生理盐水去除表面分泌物，避免污染，闭合性脓肿抽吸脓肿壁，接种时要兼顾厌氧菌培养。开放性伤口尽量抽取深部脓液送检。标本最好每天送检一次，每次采集 ≥ 1 mL。

③ 标本运送：拭子标本容易干燥，应立即运送以便及时处理；深部组织脓液标本室温下 2h 内，最长不超过 24h 送达实验室。

④ 标本接种：根据培养目的不同选择不同的培养基，有条件应兼顾厌氧菌的培养。一般细菌培养可接种血琼脂平板及麦康凯平板。

(2) 采集痰液标本

① 自然咳痰法：以晨痰为佳，采集标本前应用清水、冷开水漱口或牙刷清洁口腔和牙齿，应在抗菌药物应用之前采集标本，用力咳出呼吸道深部的痰，痰液直接吐入无菌、清洁、干燥、不渗漏、不吸水的广口带盖的容器中，标本量应 $\geq 1\text{mL}$ 。咳痰困难时，可雾化吸入加温至 45°C 的 100g/L NaCl水溶液，使痰液易于排出。标本应尽快送检，不能及时送检的标本，室温保存 $\leq 2\text{h}$ 。

② 小儿取痰法：用弯压舌板向后压舌，将拭子深入咽部，小儿经压舌刺激咳嗽时，可喷出肺部或气管分泌物黏在拭子上送检。幼儿还可用手指轻叩胸骨柄上方来诱发咳痰。

③ 标本运送：痰标本应及时送检，以免苛养菌死亡而漏检。

④ 标本接种：接种前应液化洗痰，去除口腔正常菌群的干扰，提高致病菌分离率。标本接种于血琼脂平板、麦康凯、含万古霉素的巧克力平板。

(3) 痰液标本的评价 肉眼观察痰液的颜色、黏稠度、有无血丝、是否呈脓性，如见有颗粒存在，应想到可能与放线菌属或奴卡菌属感染有关。痰液标本的细胞学涂片检查很重要，其目的就是判别送检痰液是否适合做细菌培养，并初步判定有无病原菌、病原菌的种类及数量，有助于初步报告、选择培养基和对培养结果的综合分析。挑取痰液中脓性或带血部分涂成均匀薄片，革兰染色，低倍镜计数上皮细胞及白细胞数量，油镜下观察细菌形态、排列和染色性。合格痰液标本的判别标准见表 2-1。

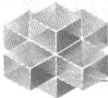
表 2-1 痰涂片显微镜细胞学检查判别标本合格的标准

分类	细胞数/低倍镜		备注
	白细胞	鳞状上皮细胞	
A	>25	<10	合格
B	>25	$10\sim 25$	基本合格
C	<10	>25	不合格

(4) 标本接收、记录标本信息 将接收的脓液、痰液标本的颜色、性状、量等记录在相应记录单上，在标本接收单上记录日期、姓名、性别、标本类型、科别、临床诊断等信息。

4. 注意事项

- (1) 标本盛器为无菌器皿。
- (2) 棉拭子应无脂肪酸。
- (3) 咳痰时应尽量防止唾液及鼻咽部分泌物混入，以减少污染。
- (4) 拭子采集的标本应立即送达实验室接种，避免干燥。
- (5) 采集的脓液标本应立即接种，厌氧培养要床边接种。
- (6) 操作时注意生物安全防范。



目标检测

一、填空题

- 1. 适合培养的痰液标本一般根据_____倍镜下_____和_____的数量来定，通常要求_____ >25 ，_____ <10 ，当_____ <10 ，_____ >25 时，为不合格痰，应要求重留。
- 2. 一般先_____，用注射器抽取标本，开放性脓肿一般用_____采集，放置有引流纱