

JIEHEBINGSHIYANSHI
JIANYANGUICHENG

结核病实验室 检验规程

中国防痨协会

主编 赵雁林 逢 宇



人民卫生出版社

结核病实验室 检验规程

主 审 庄玉辉 潘毓萱

主 编 赵雁林 逢 宇

副主编 夏 辉 宋媛媛 周 杨 郑 扬

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

结核病实验室检验规程/赵雁林,逢宇主编.—北京:人民卫生出版社,2015

ISBN 978-7-117-20769-0

I. ①结… II. ①赵… ②逢… III. ①结核病-医学检验-规程 IV. ①R520.4-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 100934 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询,在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导,医学数据库服务,医学教育资源,大众健康资讯

版权所有,侵权必究!

结核病实验室检验规程

主 编:赵雁林 逢 宇

出版发行:人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址:北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编:100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线:010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷:北京铭成印刷有限公司

经 销:新华书店

开 本:787×1092 1/16 印张:17

字 数:424 千字

版 次:2015 年 6 月第 1 版 2015 年 6 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号:ISBN 978-7-117-20769-0/R·20770

定 价:38.00 元

打击盗版举报电话:010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)



编写委员会

主 审 庄玉辉 潘毓萱

主 编 赵雁林 逢 宇

副主编 夏 辉 宋媛媛 周 杨 郑 扬

编 委 (以姓氏笔画为序)

丁北川	万利亚	万康林	马振亚	马爱静	王 庆
王 洁	王 瑞	王 静	王玉峰	王甦民	王秀梅
王国治	王春花	王胜芬	王海英	邓云峰	龙 波
包训迪	冯 苗	司红艳	成诗明	朱国峰	伍仕敏
刘 泓	刘 洁	刘 敏	刘宇红	刘志广	刘家云
孙炳奇	孙惠平	苏云开	杜 建	李 亮	李 辉
李 强	李月华	李发滨	李君莲	李国刚	李学政
李桂莲	杨 华	杨修军	肖慧霞	吴雪琼	吴蓓蓓
沈 鑫	宋媛媛	张学志	张智健	陆 伟	陆俊梅
阿尔泰	陈 晋	陈 涛	陈心春	陈田雄	欧喜超
易 星	周 杨	周丽平	郑 扬	郑惠文	郑瑞娟
赵 冰	赵丽丽	赵秀芹	赵雁林	胡忠义	胡继红
柳正卫	钟 敏	逢 宇	姜广路	秦莲花	袁 薇
夏 辉	柴 琦	钱 明	徐东芳	徐英春	朗 珍
措 姆	黄海荣	梅 建	崔振玲	符彩云	梁庆福
斯 琴	蒋 毅	蒋明霞	鲁 洁	鲁辛辛	蓝如束
谭云洪	谭耀驹				

序

规程,即为实现特定的检验检测目标而采取的一系列前后相继的行动组合,也即多个活动组成的工作程序。其中,科学制订、严格执行标准化操作规程,是保证实验诊断结果稳定、准确可靠的关键因素。我国各地结核病实验室在规模大小和水平上,尽管参差不齐,但是,都从多方面努力改进提高。这种提高当然也得益于1995年11月,中国防痨协会基础专业委员会编著了《结核病诊断细菌学检验规程》一书。随着结核病检验诊断技术方法的不断发展,该委员会又于2006年1月修订出版《结核病诊断实验室检验规程》。十几年来,在全国各级结核病专科医院与结核病防治机构以及各级综合医院中被广泛应用。从发表的论文中看出,作为标准方法被广泛引证。但是,自2006年以来,伴随着对结核分枝杆菌分子生物学及相关领域的研究不断深入,特别是基于分子生物学检测的结核诊断产品为数不少。第2版规程已经不能完全满足结核病实验室工作需要。为此,2013年,中国疾病预防控制中心结核病预防控制中心副主任、国家参比实验室主任赵雁林研究员率领组织结核界众多专家编著《结核病实验室检验规程》。在策划、拟定专著写作框架、审查初稿、定稿中,团结协作,集思广益,保证该书顺利完成。本专著分别从实验室人力资源、用房与功能分区、标本采集及保存、分枝杆菌保藏和管理、传统细菌学方法、分子生物学方法、生物安全等相关事宜做了系统的介绍。并且进行纵横向相互关系的协调设计,内容具有新颖性和较强的实用性,是一本重要的参考书。

2013年7月世界卫生组织(World Health Organization, WHO)发布了稍早前至近期的结核病诊断技术研究进展和评估状况:不同类型的诊断产品计28项,分为上市、评价、认可(或不)、推荐(或不)。我国近几年研制开发结核病实验诊断产品(试剂、仪器等),约有23项(个、台、件)之多获得医疗器械注册证书。本专著系统地介绍了包括国内外传统的及新的实验诊断技术方法。在实践中,各级结核病实验室因等级和条件不同,如何合理地选用符合实际的实验诊断技术项目,本人有几点建议供同道们参考:

首先,WHO曾提出,试剂(盒)获得医疗器械注册证书后在正式上市用于临床诊疗之前,拟通过多中心、大样本的临床实践验证、评估。以便比起前期的临床试验更能了解、评估两者的相互关系与符合率。从中选出若干项甚至更多的已获得认可的实验诊断产品。这样,有利于提高检验检测的准确率,也有利于推荐上市,用起来也更有把握,进而为临床诊疗服务。

其次,紧紧围绕着实验诊断“早期快速、操作简便、价格便宜、准确可靠、适于推广”目标的总要求,在国家结核病预防控制中心统筹下,结合实际选用符合不同等级实验室的实验诊断技术项目。

最后,由于结核病病原菌生物学特性和结核病诊断与鉴别诊断的特点,如,约有70%为菌阴肺结核、还有少数非结核分枝杆菌肺炎及肺外结核。若用单一的生物标志物或试剂,时常会出现检测的敏感度、特异度高低不一的现象。拟改变研究或实验诊断的策略,如用两种

或两种以上联合或先后检测,力求获得敏感度、特异度更合理的结果。又如,先用显示各自不同优势的液体培养技术,择时用分子生物学或其他诊断技术做快速检测、药物敏感试验等。检测结果表明,这样做既缩短了检验结果报告的时间,也因液体培养增菌又能提高检测的阳性率。

本专著是全国结核病预防控制工作人员,特别是各级实验室检验人员的重要参考书,也适用于全国广大医护人员、检验人员以及相关科研工作人员参考应用。期待着专著的正式出版能带动全国结核病实验室操作规程标准化的深入开展,促进全国结核病实验室标准化操作水平以及检验技术人员的素质不断提高。

解放军第 309 医院
庄玉辉研究员
2015 年 3 月 24 日于北京



前 言

近年来,检验医学得到了飞速发展,许多基础医学领域的成果通过检验医学的桥梁成功转化到了临床应用工作中,结核病实验室诊断新技术不断涌现,适宜的新技术应用需要良好的筛选、验证和评估,并确保其在临床诊治中提供有质量保证的临床服务,质量是实验室的生命,遵循标准化的操作规程是实验室各项检验活动质量保证中所不可或缺的重要环节,本书在 2005 版《结核病实验室操作规程》的基础上增补了近年来市场可得的实验室检查和基因分型等方法,并结合国家结核病防治规划的需要增补了一些新型实验室诊断技术,按照实验室质量保证和国家对实验室生物安全的要求增添了相应章节。本规程从标本采集到标本保存和运送,从标本前处理到结果报告,以期对实验室检验操作前、中和后,以及人、机、料、法和环各个环节进行标准化和规范化,以利于结核病实验室在国家结核病防治规划中更好地发挥作用。

本书参考了我国临床检验相关操作规程、实验室认证认可相关内容,并结合世界卫生组织、美国临床实验室标准委员会等国际权威学术组织的文献资料,组织国内相关领域的专家们一起编写,在本书的编写过程中不仅得到了国内众多综合医院和结核病专科医院同道们的鼎力支持,而且也得到了中国合格评定国家认可委员会王荣老师、国家临床检验中心郭健和蔡剑平老师、中国防痨协会及中华医学会结核病学分会专家们的帮助和指导,然而限于编者的专业水平,错误在所难免,我们热忱欢迎临床医务人员和业内人士对本规程提出中肯的意见,以利于改进结核病实验室服务工作。

编者

2015 年春于北京



目 录

第一章 结核病实验室基本要求	1
第一节 总则	1
第二节 结核病实验室设置要求	1
第三节 实验室生物安全管理要求	3
第四节 实验室质量保证	4
第二章 结核病实验室样本采集和保存	5
第一节 样本采集的要求	5
第二节 痰标本	8
第三节 其他类型标本	10
第三章 分枝杆菌菌株的保存、运输和管理	11
第一节 菌株保存	11
第二节 痰标本及菌株运输	12
第三节 菌株保存、运输相关注意事项	16
第四章 抗酸杆菌显微镜检查标准化操作程序	18
第一节 萋-尼氏染色显微镜检查	18
第二节 荧光染色显微镜检查	25
第三节 液基夹层杯法	27
第五章 分枝杆菌分离培养标准化操作程序	32
第一节 分枝杆菌固体培养	32
第二节 分枝杆菌液体培养	39
第六章 分枝杆菌菌种鉴定标准化操作程序	45
第一节 生化鉴定	45
第二节 免疫学鉴定	53
第七章 分枝杆菌药物敏感性测定标准化操作程序	59
第一节 结核分枝杆菌固体药敏试验	59
第二节 结核分枝杆菌液体药敏试验	67
第三节 非结核分枝杆菌药物敏感性试验	75
第八章 分枝杆菌核酸检测标准化操作程序	88
第一节 传统实时荧光定量 PCR 检测	88
第二节 半巢式全自动实时荧光定量 PCR 检测	94
第三节 环介导等温扩增检测	98

第四节	实时荧光核酸恒温扩增检测	100
第五节	交叉引物恒温扩增检测	102
第六节	基因探针检测	105
第九章	分枝杆菌分子生物学菌种鉴定标准化操作程序	111
第一节	核酸测序鉴定	111
第二节	质谱技术鉴定	114
第三节	核酸探针法鉴定	116
第四节	基因芯片鉴定	120
第五节	线性探针鉴定	125
第十章	结核分枝杆菌耐药性分子检测标准化操作程序	133
第一节	线性探针技术检测耐药	133
第二节	基因芯片耐药检测	139
第三节	实时荧光 PCR 熔解曲线耐药检测	144
第十一章	结核病免疫学诊断标准化操作程序	151
第一节	结核病免疫学诊断技术概述	151
第二节	卡介苗菌结核菌素皮肤试验	152
第三节	结核分枝杆菌结核菌素纯皮肤试验	153
第三节	免疫斑点干扰素释放试验	159
第四节	全血干扰素释放试验	163
第五节	酶联免疫斑点干扰素释放试验	167
第六节	结核抗体检测	170
第十二章	结核分枝杆菌基因分型标准化操作程序	179
第一节	限制性片段长度多态性分析	179
第二节	间隔区寡核苷酸分型	185
第三节	多位点可变数目串联重复序列分析	190
第十三章	分枝杆菌测序检测技术标准化操作程序	196
第一节	传统测序技术	196
第二节	离子耐受测序法	200
第十四章	仪器的使用与维护	206
第一节	生物安全柜	206
第二节	恒温培养箱	208
第三节	离心机	209
第四节	蒸气凝固器	210
第五节	天平	211
第六节	高压灭菌器	212
第七节	显微镜	214
第八节	聚合酶链式反应仪	217
第九节	电泳仪	218

第十节 凝胶成像仪	219
第十一节 酶标仪	220
第十五章 个人防护及废弃物处理操作程序	222
第一节 隔离衣的使用	222
第二节 呼吸防护用具的使用	224
第三节 手套的使用	226
第四节 鞋套和工作鞋的使用	227
第五节 帽子的使用	228
第六节 手卫生	228
第七节 废弃物处理	229
第八节 分枝杆菌的消毒	229
第十六章 培养基制备与储存	238
第一节 改良罗氏培养基	239
第二节 药敏试验培养基	243
第三节 液体、琼脂培养基	245
附录 1 分枝杆菌菌种分类与中文名称命名	250
附录 2 离心力换算表	259



第一章

结核病实验室基本要求

第一节 总 则

1. 结核病实验室提供的检验服务应满足临床和结核病预防控制工作的需要。
2. 保证结核病实验室检验工作客观、公正,不受任何部门、经济利益等影响。
3. 结核病实验室应集中设置,统一管理,资源共享。
4. 结核病实验室所在机构应当保证与其检验工作相适应的专业技术人员、场所、设施、设备等条件。
5. 结核病实验室应建立健全并严格执行各项规章制度,严格遵守相关技术规范和标准,保证实验室检验质量。
6. 按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》等有关规定严格管理,建立并严格遵守生物安全管理制度与安全操作规程。
7. 结核病实验室应按照生物安全防护级别配备必要的安全设备和个人防护用品,保证实验室工作人员能够正确使用。
8. 对结核病实验室工作人员进行岗前培训 and 安全教育,持证上岗。每年进行生物安全防护知识培训。
9. 病原微生物样本的采集、运输、储存严格按照《病原微生物实验室生物安全管理条例》等有关规定执行。
10. 结核病实验室应按照有关规定加强生物安全和感染控制工作,妥善处理医疗废弃物。

第二节 结核病实验室设置要求

一、涂片实验室基本要求

1. 涂片显微镜检查实验室应具备一个独立房间,分区(涂片区、染色区和读片镜检区)与布局应符合生物安全防护的基本要求。
2. 实验室门应有可视窗并可锁闭,门锁及门的开启方向应不妨碍室内人员逃生。
3. 在实验室门口处应设挂衣装置,个人服装与实验室工作服分开放置。
4. 实验室有上下水及电的供应,在靠近实验室出口处设非接触式洗手池。

5. 实验室墙壁、天花板和地面应易清洁、不渗水、耐化学品和消毒灭菌剂的腐蚀,地面应平整、防滑。

6. 在实验室工作时,应穿防护服、戴防护口罩和手套等个人防护用品。

7. 实验室台、柜等摆放应便于清洁,实验台面应防水、耐腐蚀、耐热和坚固。

8. 应根据工作性质和 workflow 合理摆放实验室设备、台柜、物品等,避免相互干扰、交叉污染,并应不妨碍逃生和急救。

9. 实验室可以利用自然通风,可开启的窗户应安装纱窗。如果采用机械通风,应避免交叉污染。

10. 实验室内应保证操作时的照明,避免不必要的反光和闪光。

11. 实验室应有Ⅱ级及以上生物安全柜、高压蒸气灭菌器、紫外灯等适当设备和有效消毒剂。

12. 实验室应配备开展涂片检查所需要的仪器设备。

二、分离培养实验室基本要求

在满足涂片实验室的基本要求上,还需满足以下要求:

1. 分枝杆菌分离培养实验室应满足国家生物安全Ⅱ级(BSL-Ⅱ)及以上实验室的基本要求。

2. 实验室主入口的门、放置生物安全柜实验间的门应可自动关闭,实验室主入口的门应该标有国际通用的生物危害警告标志,未经批准的人员不可进入实验室工作区域。

3. 实验室有上下水及电的供应,在靠近实验室的出口处设置洗眼器和感应式洗手池。

4. 实验室内应配备Ⅱ级及以上生物安全柜、高压蒸气灭菌器以及分离培养所需的仪器设备。

三、药物敏感性试验实验室基本要求

在满足分离培养实验室的基本要求上,还需满足以下要求:

1. 药物敏感性试验实验室应满足国家生物安全Ⅱ级(BSL-Ⅱ)及以上实验室的基本要求。

2. 实验室主入口的门、放置生物安全柜实验间的门应可自动关闭,实验室主入口的门应该标有国际通用的生物危害警告标志,未经批准的人员不可进入实验室工作区域。

3. 实验室内应配备Ⅱ级及以上生物安全柜、高压蒸气灭菌器以及药敏试验所需的仪器设备。

4. 在实验室工作时,应穿防护服、隔离衣,戴防护口罩(面具)和手套等个人防护用品。

5. 实验室宜采用机械通风控制气流,避免交叉污染。

四、基因扩增检验实验室基本要求

1. 结核分枝杆菌基因扩增检验实验室应当设置试剂储存和准备区、标本制备区、扩增区、扩增产物分析区。4个区域在物理空间上必须是完全相互独立的;根据使用仪器的功能,区域可适当合并,例如使用实时荧光PCR仪,扩增区、扩增产物分析区可合并;采用样本处理、核酸提取及扩增检测为一体的自动化分析仪,则标本制备区、扩增区、扩增产物分析区可合并。

2. 基因扩增检验实验室的空气流向可按照试剂储存和准备区→标本制备区→扩增区→扩增产物分析区进行,防止扩增产物顺空气气流进入扩增前的区域。

3. 进入各工作区域应当严格按照单一方向进行,即试剂储存和准备区→标本制备区→扩增区→扩增产物分析区。

4. 各工作区域必须有明确的标记,不同工作区域内的设备、物品不得混用。

5. 不同的工作区域使用不同的工作服(例如不同的颜色)。工作人员离开各工作区域时,不得将工作服带出。

6. 实验室的清洁应当按试剂储存和准备区→标本制备区→扩增区→扩增产物分析区的方向进行。不同的实验区域应当有其各自的清洁用具以防止交叉污染。

7. 工作结束后,必须立即对工作区进行清洁。

8. 实验室的安全工作制度或安全标准操作程序,所有操作符合《实验室生物安全通用要求》。

9. 开展临床基因扩增的结核病实验室设置、审核和质量管理严格按《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》执行。

第三节 实验室生物安全管理要求

一、实验室环境安全

1. 根据我国《病原微生物实验室生物安全管理条例》、《实验室生物安全通用要求》、《人间传染的病原微生物名录》和《医疗机构临床实验室管理办法》的要求,对结核分枝杆菌大量活菌操作须在符合生物安全Ⅲ级(BSL-Ⅲ)的环境中进行;对样本检测(包括涂片、显微镜观察、样本的病原菌分离纯化、药物敏感性试验、生化鉴定、免疫学实验、PCR 核酸提取等初步检测活动)可以在符合生物安全Ⅱ级(BSL-Ⅱ)的环境中进行。

2. 实验室所用设施、设备和材料(含防护屏障)均应符合国家相关的标准和要求。

二、组织机构与制度管理

1. 实验室所在单位应成立实验室生物安全委员会,法人代表必须为生物安全委员会负责人,实验室负责人必须是生物安全委员会成员。

2. 根据本实验室的工作需要、实验室工作类型以及本地的情况,生物安全委员会制订完整的安全政策、安全手册,以及执行安全手册的支持程序、制订意外事故处理方案等,并监督实施。

3. 实验室中管理制度必须包括准入制度、个人防护制度、标本接收制度、废弃物处理制度、意外事故处理预案、生物安全培训制度、生物安全自查制度、废弃物处理制度、仪器维护维修制度等。

三、实验室操作

1. 实验室应制订各种试验操作和仪器设备操作的标准化操作程序。

2. 实验员必须接受相关专业知识和操作技能的培训才能进行试验操作。

3. 受过相关培训的实验员操作时,必须符合标准化操作程序。

4. 负责生物安全管理的人员,有责任制止不规范操作,以及处理意外事故。
5. 具有相关专业知识和操作技能的工作人员进行实验室操作,实验人员应该认真负责,严格按照标准化、规范化的操作程序进行各项实验室操作。

四、菌种或样本运输安全

为保障人体健康和公共卫生安全,在运输可感染人类的高致病性病原微生物菌(毒)种或样本时,须按照《可感染人类的高致病性病原微生物菌(毒)种或样本运输管理规定》的要求进行审批、包装、运输、操作、保藏和管理。

五、医疗废弃物处理安全

为了防止疾病传播,保护环境,保障人体健康,医疗废弃物的处理应该严格按照《中华人民共和国传染病防治法》和《中华人民共和国固体废物污染环境防治法》以及《医疗废物管理条例》的相关规定妥善处理医疗废物。

第四节 实验室质量保证

一、室内质量控制(QC)

1. 制订适合本实验室的标准化操作手册,并严格执行。
2. 实验人员经过培训持证上岗。
3. 实验室人员、设备、房间相对固定。
4. 配制试剂和商品化试剂要有相关记录、确保在有效期内使用。
5. 使用的仪器需要有使用、检测、维修等记录。
6. 所有原始实验记录必须装订成册并单独存档保存,如有条件应同时保存电子版,定期进行数据统计分析。

二、室间质量评估(EQA)

按照国家结核病参比实验室和国家临床检验中心的管理要求,通过实验室现场评价、盲法复检和批量测试等开展质量保证工作。

三、质量提高(QI)

通过做好室内质量控制和室间质量控制达到质量持续改进。



第二章

结核病实验室样本采集和保存

正确的标本采集、运送、保存和处理对于保证结核病实验室的工作质量至关重要,应予以高度重视。实验室有责任将标本选择(包括时间和解剖部位)、收集、保存、运送、接受和安全等关键信息。本章表述用于结核杆菌检测的痰标本,支气管抽吸物、支气管肺泡灌洗标本、肺穿刺物、肺活检标本、胃灌洗液、体液、组织、脓肿物、吸出的脓液、创伤标本、血液、大便标本等的采集、保存及运送,适用于各级结核病实验室开展抗酸杆菌涂片镜检、分枝杆菌的分离培养、分枝杆菌菌种鉴定、结核抗体检测、IFN- γ 释放试验(IGRAs)检测、核酸检测、耐药检测。

第一节 样本采集的要求

一、标本要求

(一) 病人准备

1. 实验室应编制详细的正确采集和处理原始标本的专用指导书,供采集原始标本者使用。

2. 根据检验申请单检验项目的要求,确认采样计划并进行适当的准备工作:制订标本唯一性编码、选择合适的标本容器、指导病人做好采样前的准备工作等。采集标本前应认真核对病人、标本容器和检验申请是否一致,严防差错。

(二) 标本类型

1. 痰标本、支气管抽吸物、支气管肺泡灌洗标本、肺穿刺物、肺活检标本、胃灌洗液、体液、组织、脓肿物、吸出的脓液、创伤标本、大便标本可用于抗酸杆菌涂片镜检。

2. 痰标本、支气管抽吸物、支气管肺泡灌洗标本、肺穿刺物、肺活检标本、胃灌洗液、体液、组织、脓肿物、吸出的脓液、创伤标本、血液、大便标本可用于分枝杆菌分离培养和结核分枝杆菌的核酸检测。

3. 抗酸杆菌涂片阳性痰标本或临床分枝杆菌分离培养物可用于基于分子生物学方法开展的分枝杆菌分子菌种鉴定和结核分枝杆菌耐药基因检测。

4. 结核杆菌涂片阳性痰标本、临床分离结核杆菌纯培养物可用于结核分枝杆菌药物敏感性试验。

5. 血清可用于结核抗体的检测。

6. 肝素锂或钠抗凝血可用于 IFN- γ 释放试验(IGRAs)检测。

(三) 标本的采集

用于分枝杆菌培养的标本:采集后如 1 小时内不能运送到实验室,除血液标本外,其他标本应 4℃ 保存。实验室收到标本后,如不能及时处理,仍需冰箱冷藏,标本采集到接种时间间隔不能超过 7 天。

(四) 标本处理、储存与稳定性

1. 痰标本

(1)可疑肺结核患者:初诊病人应收集 3 份痰标本(当日即时痰、夜间痰和次日晨痰),治疗中或随访病人应按期留取 2 份痰标本(晨痰、夜间痰),体积 3~5ml,盛于广口和具有螺旋盖子的痰瓶中。不推荐实验室接收合并的痰标本和留取时间超过 24 小时的痰标本。

(2)即时痰采集后立即送检:夜间痰和晨痰采集后常温保存不应超过 12 小时,对当日不能进行涂片检查的标本,须置于 4℃ 冰箱保存,注意防止痰液干涸或污染。

(3)对无法咳痰的患者:可使用高渗盐水(3%NaCl)诱导痰或收集清晨胃液标本,或使用支气管镜采集支气管灌洗液标本。

2. 支气管抽吸物、支气管肺泡灌洗标本、肺穿刺物、肺活检标本

(1)对于不能留取痰标本的患者:推荐使用侵入性采集技术获取标本,比如纤维支气管镜检查、细针肺穿刺、肺活组织检查。

(2)严格器械清洁和消毒,避免引起交叉污染和感染。

(3)支气管镜不能接触自来水,避免污染环境分枝杆菌。

(4)对难以诊断的病例推荐使用其他侵入性技术采集标本,比如细针穿刺、开放肺活组织检查,无菌条件下采集的经支气管活检和其他活检标本,运输过程中,应加入 0.5~1ml 无菌 0.9% 的生理盐水。

3. 胃灌洗液

(1)婴幼儿、儿童和迟钝者诊断肺结核时,鉴于无法采集痰标本或支气管灌洗液,推荐采集胃液标本,通过胃灌洗吸出咽下去的痰液。

(2)标本应在采集后 4 小时内送到实验室,否则实验室应该提供一次性内含 100mg 碳酸钠的无菌容器。实验室不应接受未经中和的胃液标本。

4. 尿液

(1)采集标本前,应清洗外生殖器,推荐连续采集 3 天清晨中段尿于无菌容器中,用于培养的尿液标本至少需要 40ml。

(2)只有在不能获得中段尿时,可以使用导尿术采集标本。

(3)实验室收到标本后,应立即处理或离心冷藏贮存尿沉渣。

5. 无菌采集的体液(脑脊液、胸水、腹水、心包积液、关节液、骨髓)

(1)临床医生采用抽吸技术或外科操作无菌收集体液标本于无菌容器。为防止标本凝固,体液标本中应加入灭菌草酸钾(每毫升体液加 0.01~0.02ml 10% 的中性草酸盐),或肝素(每毫升体液加 0.2mg 肝素),或柠檬酸钠(每 10ml 的体液加 2 滴 20% 的柠檬酸钠)。

(2)推荐标本床边接种至分枝杆菌液体培养基中。

(3)标本尽可能快的运送到实验室。

6. 无菌采集的组织(淋巴结、皮肤和其他活检标本)

(1)采集标本尽可能无菌操作,放置到无固定剂或防腐剂的无菌容器中,不能浸泡在盐

水或其他液体或用纱布包裹,重量不少于 1g。应迅速运送到实验室,对于长时间的运输,为防止脱水可加入无菌盐水,保持温度在 4~15℃。

(2)针对皮肤溃疡,宜从病变组织周边采集活检标本,应在 30℃ 和 37℃ 不同条件下进行培养。

(3)福尔马林溶液浸泡过的标本不能用于涂片和培养检查。

(4)极少量的活检标本可以浸泡在少量无菌盐溶液中。

7. 脓肿物、穿刺脓液、创伤标本

对于皮肤溃疡,应该从感染性皮肤周边下层抽吸标本。这种标本用于做分枝杆菌培养时,推荐在常规 37℃ 条件培养外,增加在 30℃ 条件下培养。

8. 血液

(1)如果血液标本接种培养基之前需要运输,磺酸钠、肝素或柠檬酸盐可以用于抗凝。EDTA 抗凝和凝固的血不能用于做培养。

(2)不推荐血液标本直接接种至固体培养基上。

(3)血液和脑脊液标本培养推荐使用 MYCO/FLYTIC 瓶(BD)或 MB/BactT ALERT 血培养瓶。

9. 大便标本

(1)合并 AIDS 的胃肠道患者,推荐采集大便标本和其他部位采集的标本一起,用于检测鸟-胞内分枝杆菌复合菌群(*Mycobacterium avium intracellular complex*, MAC)。标本量 >1g。

(2)大便标本涂片的敏感性只有 32%~34%,不能根据涂片的结果决定是否进行培养。

(五) 标本量

1. 痰标本应足量,且满足质量要求。

2. 支气管分泌物至少 2~5ml;支气管肺泡灌洗液至少 20~50ml。

3. 胃灌洗液需连续采集 3 天,体积 5~10ml,调节 pH 至中性。

4. 推荐连续采集 3 天清晨中段尿于无菌容器中,用于培养的尿液标本至少需要 40ml。

5. 应提交足够量的样本,脑脊液 >5ml,胸水和腹水 5~10ml。

6. 采集标本尽可能无菌操作,重量不少于 1g。

7. 无菌穿刺采集尽可能多的脓肿物、穿刺脓液、创伤标本。

8. 血液标本量 5~10ml。

9. 大便标本的标本量 >1g。

(六) 不可接受样本

1. 不推荐实验室接收合并的痰标本和留取时间超过 24 小时的痰标本。

2. 实验室不应接受未经中和的胃液标本。

3. 24 小时全尿或者量不足的尿液标本(除非不能获得足够量的标本)属于不合格标本。

(七) 标本的运送

1. 采集后无论运送距离远近都应按要求进行包装和标识。随标本应附有与标本唯一性编码对应的送检单。送检单应与送检标本容器分开,应含有受检者姓名、样本种类等信息。

2. 运送过程要按照相关要求的温度范围内运送,并使用指定的保存剂。要注意容器的密封性以保证样本的完整性,必要时应避光或保湿。