

临床微生物检验技术知识要点

LINCHUANGWEISHENGWUJIANJISHUZHISHIYAODIAN

(一)

主编 姚伯程 王临艳 王 勇



兰州大学出版社

临床微生物检验技术知识要点

(一)

主 编 姚伯程 王临艳 王 勇

副主编



兰州大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

临床微生物检验技术知识要点. 1 / 姚伯程等主编 .

— 兰州 : 兰州大学出版社 , 2009. 8

ISBN 978-7-311-03462-7

I . ①临… II . ①姚… III . ①病原微生物—医学检验
IV . ①R446.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 146556 号

策划编辑 宋 婷

责任编辑 佟玉梅

封面设计 管军伟

书 名 临床微生物检验技术知识要点(一)

主 编 姚伯程 王临艳 王 勇

副 主 编 董雪梅 李 庆 王红洲 魏 敏

出版发行 兰州大学出版社 (地址: 兰州市天水南路 222 号 730000)

电 话 0931-8912613(总编办公室) 0931-8617156(营销中心)
0931-8914298(读者服务部)

网 址 <http://www.onbook.com.cn>

电子信箱 press@onbook.com.cn

印 刷 兰州德辉印刷有限责任公司

开 本 880 × 1230 1/32

印 张 6.625

字 数 241 千

版 次 2009 年 8 月第 1 版

印 次 2009 年 8 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-311-03462-7

定 价 38.00 元 (共 2 册)

(图书若有破损、缺页、掉页可随时与本社联系)

前 言

为了适应当今微生物学检验技术的快速发展和微生物相关专业知识的不断更新,为各级微生物检验工作者提供微生物检验知识参考,我们编辑了《临床微生物检验知识要点》一书。

本书共分九部分,内容包括:呼吸道感染标本检验,泌尿生殖道标本检验,无菌部位标本的采集、送检及检验前的质量控制,革兰阳性球菌,革兰阴性球菌,革兰阴性杆菌检验的基本技术,非发酵菌,弧菌科,革兰阴性苛氧菌。对鼻、咽、喉分泌物,脑脊液,血液,骨髓,胸腹水,粪便,尿液以及生殖道分泌物等标本中临床常见感染病原菌检验基本知识和基本技能进行了较详细的讨论。本书以要点的形式将临床微生物检验知识分条列出,简明扼要,条理清楚,重点突出。本书可供从事微生物学和微生物相关学科的广大科技工作者及医学院校的学生参考。

本书在编写过程中,参考了现有的微生物学有关著作和国内外最新相关资料;得到了甘肃政法学院公安分院研究员俞发荣博士及其他好友的大力协助和热忱指导,特表谢意。

由于编者水平有限,书中难免存在错误,恳请同行专家和读者批评指正。

编者

2009年8月

目 录

第一部分 呼吸道感染标本检验	1
一、痰标本的采集、送检及检验前的质量控制	1
二、痰标本的涂片检查及培养	4
三、鼻、咽、喉分泌物的采集、送检和接种处理	7
四、上呼吸道标本细菌培养的临床意义	14
第二部分 泌尿生殖道标本检验	15
一、尿液标本的采集、送检及分离培养	15
二、尿液标本的运送与验收	17
三、尿液标本的直接涂片检查与接种	17
四、女性生殖系统标本的采集、送检及接种培养	21
五、男性生殖系统标本的采集、送检及分离培养	27
六、前列腺按摩液的细菌培养	29
七、精液的细菌培养	30
第三部分 无菌部位标本的采集、送检及检验前的质量控制	32
一、概述	32
二、脑脊液(CSF)标本的采集、送检和接种培养	32
三、脑脊液(CSF)标本的培养环境	36
四、胸腹水和胆汁标本的采集、送检和接种培养	37
五、胆汁标本的采集及运送	38
六、胸腹水、胆汁标本的检查	39
七、血液及骨髓标本的采集、送检和接种培养	40
八、导管相关性血流感染的血培养	48
九、管内导管尖端培养标本的采集、送检和接种培养	49
十、关节液标本的采集、送检和接种培养	50
第四部分 革兰阳性球菌	52
一、化脓性标本的采集、送检及检验前的质量控制	52

二、伤口分泌物标本的采集、送检和接种培养	55
三、病原性球菌的分类.....	59
四、革兰阳性球菌的分离培养及鉴定	60
第五部分 革兰阴性球菌	68
一、淋病奈瑟菌标本的采集、送检和接种培养	68
二、女性生殖系统标本的采集与处理	70
三、革兰阴性球菌的分离培养与鉴定	71
第六部分 革兰阴性杆菌检验的基本技术	77
一、消化道标本的采集、送检和接种培养	77
二、伪膜性肠炎粪便标本的培养	79
三、其他肠道致病菌的分离培养	81
四、肠杆菌科细菌检验的基本技术	82
五、肠杆菌科细菌的初步分群	89
六、埃希菌属的分离培养与鉴定	91
七、沙门菌属的分离培养与鉴定	95
八、志贺菌的分离培养与鉴定	103
九、肠杆菌属的分离与鉴定	110
十、克雷伯菌属的分离与鉴定	112
十一、沙雷菌属细菌的分离与鉴定	114
十二、哈夫尼亚菌属细菌的分离培养与鉴定	116
十三、变形杆菌属的分离培养与鉴定	118
十四、枸橼酸杆菌属细菌的分离培养与鉴定	121
十五、普罗威登斯菌属的分离培养与鉴定	123
十六、摩根菌属的分离与鉴定	124
十七、爱德华菌属的分离与鉴定	125
十八、耶尔森菌属的分离与鉴定	127
第七部分 非发酵菌	130
一、非发酵菌的分离培养与鉴定	130
二、假单胞菌属的分离培养与鉴定	136
三、嗜麦芽寡养单胞菌的分离培养与鉴定	141
四、伯克菌属的分离培养与鉴定	142
五、不动杆菌属的分离培养与鉴定	143

六、莫拉菌属的分离培养与鉴定	146
七、产碱杆菌属、无色杆菌属、苍白杆菌属和根瘤菌属的分离 培养与鉴定	148
八、金色杆菌属的分离培养与鉴定	149
九、其他非发酵菌的分离培养与鉴定	150
第八部分 弧菌科	156
一、霍乱标本的采集、运送及接种培养	156
二、弧菌科的分类	157
三、弧菌属的分离与鉴定	158
四、气单胞菌的分离和鉴定	166
第九部分 革兰阴性苛氧菌	170
一、革兰阴性苛氧菌的初步认识	170
二、嗜血杆菌的分离与鉴定	171
三、放线杆菌属的分离培养与鉴定	179
四、心杆菌属的分离培养与鉴定	181
五、艾肯菌属的分离培养与鉴定	181
六、金氏菌属的分离培养与鉴定	183
七、军团菌属的分离培养与鉴定	183
八、巴斯德菌属的分离培养与鉴定	187
九、鲍特菌属的分离培养与鉴定	189
十、布鲁氏菌属的分离培养与鉴定	192
十一、链杆菌属的分离培养与鉴定	198
十二、色杆菌属的分离培养与鉴定	199
参考文献	200

第一部分 呼吸道感染标本检验

一、痰标本的采集、送检及检验前的质量控制

1. 在微生物学实验室要建立抵制标本的制度

(1) 在临床微生物学检验中,一份合格的标本将会产生一份有价值的诊断报告,在制定某一治疗方案的过程中起着决定性的作用。而一份不合格的标本只能提供一个错误的信息,导致错误的诊断,最终造成治疗失败。

(2) 临床微生物学实验室建立抵制标本的制度是非常必要的,尤其做好下呼吸道标本检验前的质量控制更为重要。

(3) 为了病人的利益,实验室须与医护人员沟通、解释建立抵制标本的制度和意义,取得支持和理解,并且相互配合、协商解决任何不一致的意见,以确保收集到合适的标本。

2. 呼吸道感染及其症状引起上呼吸道感染的主要病原菌种类

(1) 呼吸道感染是包括鼻、咽、喉、气管、支气管及肺部的感染性炎症。上呼吸道感染包括鼻、咽、喉的感染。下呼吸道感染包括气管、支气管及肺泡的感染。

(2) 引起上呼吸道感染的病原体有病毒和细菌。上呼吸道感染的症状:鼻塞、喷嚏、流鼻涕、咽部不适、轻咳、发热,重者畏寒、高热、头痛、食欲不振、全身乏力等。

(3) 引起下呼吸道感染的病原体有细菌、真菌、病毒、支原体、衣原体、立克次体等微生物及寄生虫等。下呼吸道感染的症状为咳嗽、咯血、呼吸困难、发热伴白细胞增高,尤其是中性粒细胞呈明显增高等。

3. 痰液形成的生理过程及痰液培养的临床意义

(1) 痰液的形成:①位于人体气管、支气管的内壁都覆盖着一层黏膜,由纤毛柱状上皮和杯状细胞组成,在黏膜下层含较多的黏液腺和浆液腺,腺体导管开口于黏膜表面;②正常情况下,杯状细胞和腺体分泌少量黏液覆盖在黏膜层表面,对黏膜起保护作用,可保持气管黏膜的湿润,以便把吸入气管、支气管内的尘埃颗粒、细菌等黏附住,阻挡其进入肺组织深处,然后再借助于纤毛柱状上皮的纤毛摆动,将其排到气管上端的喉头部位,经口腔咯出,即形

成了痰；③当气管、支气管及肺受到有害因素的刺激或致病菌感染而发生炎症时，呼吸道的黏膜充血、水肿，大量炎性细胞浸润，血管扩张，渗出物增加，黏膜层的杯状细胞和黏膜下层的腺体增生肥大，黏液分泌量也随之增多，有利于清除异物；④黏液分泌过多，就加重了纤毛柱状上皮的负担，不利于黏液的排出，在细菌及毒素的作用下，产生一些变性坏死组织细胞，滞留在支气管内，黏液和这些变性坏死的组织细胞就构成了病理状态下的脓痰。

(2)痰液培养的临床意义：①协助诊断呼吸道感染病原菌；②确诊呼吸系统感染性疾病，如肺结核、细菌感染等；③观察疗效和预后判断等。

4. 下呼吸道感染标本的培养指征

(1)发热、咳嗽和咳痰，痰呈脓性、黏稠或血性，并伴有胸痛、气急，肺部湿啰音。

(2)外周血白细胞总数及中性粒细胞比例明显增高。

(3)影像学检查显示肺部炎症性浸润或胸腔积液、感染性休克等患者，应采集痰液或下呼吸道标本进行细菌培养。

5. 掌握用于痰培养的标本及其采集的时间和送检次数

(1)在使用抗生素前采集痰标本。

(2)以清晨采集痰标本为宜，清晨痰量多、菌量高，对痰少的患者，更应该以清晨最为理想。

(3)疑似分枝杆菌感染的患者，应连续采集3d清晨痰标本送检。

6. 正确采集痰标本的方法

(1)采集痰标本前应刷牙、清水漱口3次，然后用力深部咳痰液至无菌的容器内，盖好盖子送检。痰量不少于1mL。

(2)支气管镜抽吸法：用支气管镜可直接在病灶部位采集高浓度的感染病原菌，适用于不能咳出足够痰液的患者，并可获取进行分枝杆菌及其他病原菌培养的标本。常用支气管肺泡灌洗(BAL)的采集。

(3)小儿取痰法：用弯压舌板向后压舌，用棉拭子伸入咽部，小儿因压舌刺激咳嗽时，可将喷出肺部或气管内的分泌物粘在拭子上，从而获得标本进行细菌培养。

(4)雾化吸入法：无痰或痰量极少时可用3%~5%的NaCl溶液5mL先雾化吸入5min，进行导痰。当NaCl浓度过高时，患者常常不能耐受。

7. 在痰标本采集前清洁口腔的意义

(1)上呼吸道黏膜表面及其分泌物中含有的大量微生物，通过清洁口腔

尽量减少污染。

(2)唾液含菌量为 $10^8\sim10^9/mL$,老年、重症及住院患者的上呼吸道定植细菌更多,导致途经口腔、咽喉部位咳出的痰液常常受到大量细菌的污染,影响结果的判定。

因此,清洁口腔可减少污染,提高痰标本的质量。

8. 痰标本在保存和运送过程中应该注意的问题

(1)标本采集后应在2 h内送至实验室检验,否则将可能导致肺炎双球菌、流感嗜血杆菌等苛养菌因不适应外界环境和自溶现象而死亡。

(2)除疑似肺炎双球菌、流感嗜血杆菌等苛养菌感染标本外,延迟送检或待处理的标本应置于4℃冰箱保存,以免杂菌生长,但保存标本应在24 h内处理。

(3)对于疑似烈性呼吸道传染病,如SARS、肺炭疽、肺鼠疫等患者的痰标本,在采集、保存或运送过程中必须注意生物安全防护。

9. 用于微生物学检验的痰标本质控的操作

(1)申请单等资料应正规填写完整。

(2)标本贴标本联号且标识清晰并与申请单相符合。标识采集时间、部位及检验目的等内容。

(3)对于侵人性操作获取的标本应与医生沟通后,可按常规处理标本,但报告单上必须注明标本不规范操作的具体原因。

(4)标本容器必须符合规定,灭菌、加盖、防漏渗,标本采集后置于合适的运送容器及时送检。

(5)痰标本呈水样、唾液样的口腔标本拒收,应及时与送检医生沟通重新送检。

(6)经细胞学检查发现为口咽部位分泌物明显污染的标本应拒收,并及时与送检医生联系重新送检。

(7)对于标本送检时间超过2 h应拒收,应及时通知送检医生并要求重新采集痰标本送检,并在报告单上注明“标本延时送检”。

(8)对于送检标本量少于1 mL时,除不易获取标本的特殊患者外均应拒收,并及时通知临床医生重新采集标本送检。

10. 下呼吸道感染标本中不适合做厌氧培养和标本可以用于厌氧培养的原因

(1)不适合做厌氧培养:①明显被口腔分泌物污染的痰;②经纤维支气

管镜吸引的下呼吸道标本。因为在健康人群上呼吸道寄居着许多需氧、微需氧和厌氧菌，因此，这些标本不合适做厌氧培养。

(2)适合做厌氧培养：①防污染标本毛刷及气管穿刺吸引物；②胸壁穿刺吸引物及开胸肺活检组织标本；因为这些标本没有受上呼吸道正常菌群的污染，可用于厌氧菌培养；③标本必须按厌氧菌培养要求规范采集。

二、痰标本的涂片检查及培养

1.痰标本进行细胞学和细菌学显微镜检查的临床意义

痰标本涂片进行细胞学和细菌学显微镜检查其主要目的：①标本的质量控制，鉴别送检标本是否适合做细菌培养的要求；②判断标本是否有病原菌及其数量、类别，有助于初步诊断。假如是真菌、革兰阴性杆菌或革兰阳性双球菌等感染，可将镜检结果直接报告临床医生，医生可根据涂片结果，参考本病区或本院近期细菌感染谱及耐药谱选择抗菌药物进行经验治疗；③用于培养结果的综合性分析及解释。

2.痰标本合格的标准，痰标本进行涂片的细胞学检查的原因

(1)合格的痰标本应该符合含脓细胞和支气管柱状上皮细胞较多。

(2)扁平鳞状上皮细胞较多，说明受口腔及咽部分泌物污染严重，为不合格的痰标本。

(3)痰标本涂片的细胞学检查，对于剔除上呼吸道污染的标本有着非常重要的临床意义。

3.对细菌培养的痰标本通过细胞学检查进行质量控制

(1)细菌室收到痰标本后应先涂片，进行革兰染色镜检确证标本合格后再接种培养。

(2)符合细菌培养要求的痰标本应在低倍镜视野中鳞状上皮细胞≤10、白细胞≥25，或鳞状上皮细胞为10~25、白细胞≥25；否则视为不合格标本，应通知临床重新采集标本送检。

4.痰涂片湿片检查的目的和规范操作

(1)痰标本的湿片检查可快速提供重要的诊断信息，尤其是真菌感染的检查。

(2)规范操作：取被检标本与适量的含有10%甘油的10%KOH溶液于载玻片上充分混匀，并盖上盖玻片，在保湿盒中放置15~30 min。当标本中含有大量细胞碎片时，载玻片应在火焰上微微加热，再轻轻按下盖玻片使标本分散成薄膜，然后进行显微镜检查。

5. 痰培养标本在接种时要进行洗净的前处理原因和规范操作

(1) 由于上呼吸道为人体四大菌库之一,故其寄居着一定的正常菌群,除侵入性操作采集的标本外,经气管穿刺、胸壁穿刺吸引物、开胸肺活检组织等标本避开了上呼吸道及口腔等部位的正常菌群的污染,其他呼吸道标本,如咳痰液、支气管冲洗液均不可避免上呼吸道正常菌群的污染。见于上述情况对痰培养标本必须进行洗净的前处理。

(2) 规范操作:将痰液加入含有 15~20 mL 灭菌生理盐水的无菌试管中,盖紧橡皮塞子,在振荡器上剧烈振荡 5~10 s,静止片刻,然后用接种环将沉淀于管底的脓痰碎块儿取出,放入另一个含有 15~20 mL 灭菌生理盐水的无菌试管内,如此反复操作 2 次,最后弃出清洗液将脓痰接种在合适的培养基上。

6. 痰培养标本在接种前要进行均质化的前处理和规范操作

(1) 病原菌感染肺脏的部位在下呼吸道深部,炎性渗出物为了将炎症范围局限,使病原菌包裹在其中,如将痰液直接接种于培养基上,那么,包裹在其中的细菌很难破包裹物而接触培养基进行生长繁殖,所以痰的匀质化对痰块儿内部细菌的暴露起着很大的作用,有利于提高痰培养标本的阳性检出率。

(2) 规范操作:常规痰均质化法以胰酶均质化最为普遍。其方法是向痰液中加入等量的 pH7.6 磷酸盐缓冲液(无菌)配制的 1% 胰蛋白酶溶液,放置 37 ℃环境中液化 90 min,即可使痰液达到均质化,而对细菌培养无任何影响。

7. 痰培养时不能用肉汤增菌或强选择性培养基分离培养的原因

用于痰培养的标本不能用肉汤增菌,更不能用强选择性培养基进行分离或增菌:

(1) 强选择性培养基分离出来的细菌只能是痰标本中很少的部分细菌,也许真正的致病菌被强选择性培养基中抑制剂所抑制,这种方法分离出来的细菌临床意义不是很大,故不可选取。

(2) 采用肉汤培养基对痰标本进行增菌最容易产生误导,原因是各种细菌在肉汤培养基中生长的速度不同,增菌后原始标本中细菌比例大大发生改变,根本无法判断哪种是优势菌,哪种不是优势菌,更无法确证致病菌。故也不可采取。

8.选择、接种痰标本的分离培养基并说明培养基的用途,正确分析解释痰培养结果

(1)痰培养常规采用分区划线法接种:①血琼脂平板:用于分离溶血性链球菌、肺炎链球菌和其他细菌,观察细菌溶血情况;②加抗生素的巧克力琼脂平板:用于分离嗜血杆菌;③麦康凯或中国蓝平板:用于分离革兰阴性杆菌。

(2)培养条件的选择:血琼脂和巧克力琼脂平板、麦康凯或中国蓝平板,通常放置35℃,5%~10%CO₂的环境中孵育。

(3)挑取可疑菌落进行细菌鉴定和药敏试验:痰标本易受到上呼吸道正常菌群的污染,临床微生物学实验室通常可从送检的呼吸道标本中分离出多种细菌,但分离出的细菌是否真正是下呼吸道感染的病原菌,这对于临床诊断与治疗感染性疾病至关重要。实验室人员在检验过程中应重视判断所分离出的细菌是污染的上呼吸道正常菌群,还是真正引起下呼吸道感染的病原菌。在实际工作中,有时由于细菌的生长速度不一,如肺炎链球菌、溶血性链球菌可能被生长速度快的肠杆菌科的细菌或正常菌群的菌落所掩盖,如不仔细观察、客观评价往往就会被忽视其存在而被终止检验。

(4)如果在同一种培养基上分离出多种病原菌,应主动与临床医生联系,了解患者的临床症状并结合痰标本涂片染色镜检结果及近期同病区细菌培养结果来判断,如近期在同一病区不同患者标本中多分离培养出同一种菌等情况,来综合判断所分离的多种细菌中哪一种菌可能为病原菌。

(5)分离出的优势菌与涂片染色镜检结果相符合时,优势菌应继续鉴定到种并进行药敏试验。

9.痰标本培养结果的报告

痰标本检验结果一般包括初步检查结果报告和最终检查结果报告。

(1)初步检查结果报告:①标本涂片革兰染色细胞学(包括白细胞和鳞状上皮细胞数/低倍镜,细胞内是否有吞噬细菌和细胞内细菌染色及形态学特性)及细菌学镜检的描述性报告,如发现有诊断价值的细菌学镜检结果时应及时向临床医生口头报告,并记录报告结果、时间以及接受报告的临床医生姓名等相关内容。②细菌学镜检的描述性报告。I见到排列成葡萄状的革兰阳性球菌,可报告“找到革兰阳性球菌,形似葡萄球菌”;II见到矛头状、钝端相对、尖端相背的成双排列,具有明显荚膜的革兰阳性球菌时,可报告“找到革兰阳性双球菌,形似肺炎链球菌”;III见到难以识别的细菌时可报告

“找到革兰阳性(或阴性)球菌(或杆菌)”等。

(2)最终鉴定结果报告:①送检标本肉眼观察的结果;②直接涂片革兰染色白细胞和鳞状上皮细胞计数;③细菌学镜检结果报告;④致病菌鉴定结果及药敏试验结果报告。

三、鼻、咽、喉分泌物的采集、送检和接种处理

1.在正常人体上呼吸道常见的细菌和上呼吸道感染时能检出的主要致病菌

(1)正常人鼻、咽部常见的细菌有:①革兰阳性球菌,即金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、草绿色链球菌、化脓性链球菌、肺炎链球菌等;②革兰阳性杆菌,即乳酸杆菌、类白喉杆菌等;③革兰阴性球菌,即卡他莫拉菌、脑膜炎奈瑟菌等;④革兰阴性杆菌,即非脆弱拟杆菌、流感嗜血杆菌;⑤真菌,即白色假丝酵母菌等。

(2)引起上呼吸道感染常见的主要致病菌:①急性细菌性鼻炎、鼻窦炎多为金黄色葡萄球菌、化脓性链球菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯氏菌、臭鼻克雷伯氏菌、大肠埃希氏菌等;②引起慢性鼻窦炎多为需氧菌与厌氧菌混合感染;③引起猩红热多为化脓性链球菌;④引起白喉疾患为白喉棒状杆菌;⑤引起百日咳疾患多为百日咳鲍特菌;⑥引起会厌炎疾患多为流感嗜血杆菌等病原菌。

2.上呼吸道标本包括的种类和如何正确采集这类标本

(1)上呼吸道标本有:鼻、咽、喉分泌物等标本。

(2)上呼吸道标本的正确采集:①根据患者的临床症状及疾病感染部位的不同有目的、有选择的采集标本,以便真正分离出致病菌;②采集标本时应选择预先沾湿(用无菌生理盐水或肉汤)无菌的、不含抑制剂及抗生素污染的拭子,并仅取感染部位,严格防止周围正常菌群的污染。

3.疑似为百日咳患者要采集鼻、咽部位的标本进行微生物学检验的原因

(1)百日咳鲍特菌是百日咳疾患的主要病原菌,多寄居于鼻、咽部有纤毛上皮的特殊生理结构环境中,具有吸附、侵袭呼吸道中有纤毛的上皮细胞和吞噬细胞及长期寄居生存的习性。

(2)见于咽、喉部菌群的多样性和复杂性远远超过了鼻、咽部,在咽、喉部采集标本会导致更高的污染,所以使用鼻、咽部拭子进行百日咳鲍特菌培养时分离率较高。

4. 患流行性脑膜炎时采集鼻、咽拭子分离脑膜炎奈瑟菌的意义

(1) 流行性脑膜炎是由脑膜炎奈瑟菌引起的急性传染病。

(2) 健康人，特别是老年人和儿童吸入带菌的空气飞沫后，病原菌可能先侵犯呼吸道黏膜，表现为发热、咳嗽、流涕等上呼吸道感染症状。如感染不能及时控制时，病原菌可从鼻、咽部播散引起脑膜炎或菌血症。

(3) 脑膜炎奈瑟菌存在于带菌者或感染者的鼻、咽部，流行期间人群的带菌率可高达 50%，因此，采集鼻、咽拭子分离脑膜炎奈瑟菌在流行性脑膜炎的流行病学调查方面有着重要的意义。

(4) 在流行病学调查脑膜炎奈瑟菌带菌率时，采集鼻、咽拭子进行分离脑膜炎奈瑟菌时更为适宜。

5. 需采集鼻拭子检查麻风分枝杆菌的时机及其原因

因为节结型麻风患者在治疗前的鼻分泌物中含大量的抗酸杆菌。而鼻分泌物较皮肤损伤部位更易传播麻风病的病原菌，所以在节结型麻风病患者治疗前采集鼻黏膜标本可提高阳性检出率。

6. 白喉病的主要临床表现、分离白喉棒状杆菌采集标本和采集部位

(1) 白喉棒状杆菌是引起白喉病主要病原菌，临床表现为：①全身不适、低热、头痛、咽痛、吞咽困难、淋巴腺炎等症状；②在鼻、咽部形成的黏着物有时会导致呼吸阻塞等是此病的特征。

(2) 由于白喉棒状杆菌侵入机体仅在咽、喉部生长，产生的白喉毒素入血，可引起心肌炎、肾上腺功能障碍等病损。故在疑似患者由白喉棒状杆菌引起的感染时应采集咽、喉部的标本进行细菌学检查。

7. 引起会厌炎的主要病原菌及进行细菌学检查时应采集标本的部位

(1) 会厌炎是由流感嗜血杆菌、金黄色葡萄球菌或肺炎链球菌引起的一种可导致呼吸道阻塞的快速、进行性蜂窝组织炎。

(2) 患会厌炎时可采集喉拭子标本进行细菌学检查。

8. 临床常采集喉拭子标本进行细菌学检查来诊断的疾病种类

(1) 喉拭子标本主要用来分离流感嗜血杆菌、白喉棒状杆菌、A 群链球菌、溶血隐秘杆菌、脑膜炎奈瑟菌、奋森螺旋体及梭形杆菌等。

(2) 喉拭子标本细菌学检查多用于诊断：A 群链球菌性喉炎，流感嗜血杆菌可引起会厌炎、白喉，溶血隐秘杆菌可引起咽炎及扁桃体脓肿，淋球菌可引起口咽炎，奋森螺旋体及梭形杆菌可引起急性坏死性溃疡性扁桃体炎等疾病。

9. 正确采集鼻拭子标本的流程

由于鼻腔的空间范围有限，并在其黏膜上皮含有大量的正常菌群，因此，在鼻拭子的采集时最好使用扩鼻器，先用第一支拭子拭去表面的分泌物并丢弃，再用第2支蘸取无菌生理盐水的拭子插入鼻孔采集病灶部位的标本，及时送细菌室进行检验。

10. 正确采集鼻、咽拭子标本的流程

(1)首先患者用清水漱口。

(2)由检查者将被检者的舌向外拉出，使腭垂尽可能向外牵引，用蘸取无菌生理盐水的一端弯曲的金属棉拭由口腔进入，越过舌根到咽后壁或腭垂的后侧，采集鼻、咽红肿部位的标本；

(3)取材后将拭子小心退出(避免口腔正常菌群的污染)，立即放入无菌试管内送检。

(4)采集鼻、咽拭子标本时，如果发现咽部有肉眼可见的明显发红或有伪膜存在时，应在局部擦拭采集标本，最好拭子从膜底下擦拭，采集标本时也可在鼻、咽部多点采集，以提高阳性率。

11. 正确采集咽、喉拭子标本的流程

(1)准备高压灭菌的压舌板和棉拭子。

(2)指导患者对光坐立，头部向后仰起张大口。

(3)用压舌板轻轻压住舌根，直接将棉拭子越过舌根到咽后壁或悬雍垂的后侧反复涂擦红肿部位、伪膜边缘部分或组织深层的分泌物进行细菌学检查。

(4)若无局部病变或做带菌者检查，则应在咽部或扁桃体上擦拭后，立即送细菌室进行细菌学检查。

12. 采集鼻、咽、喉拭子时的注意事项

(1)医生在采集鼻、咽、喉拭子标本时应戴口罩和手套，以防传染。

(2)采集标本时应在使用抗菌药物治疗前采集。

(3)标本采取前数小时不得用消毒药物漱口或涂擦病灶局部。

(4)准确把握采集病灶局部的分泌物，避免触及舌、口腔黏膜和唾液，以防周围正常菌群的污染。

(5)疑似白喉棒状杆菌感染，应采集咽部深层组织中的标本，避免咽部表面正常菌群的污染。

(6)扁桃体标本应以扁桃体窝部为宜。

(7)由于咽部是呼吸和进食的通道,所以采集此部位的标本时应选择早晨起床后采集最为适宜。

(8)最好采集2支拭子,以分别用于直接涂片染色镜检和接种分离培养,防止病原菌的漏检。

13. 分离百日咳鲍特菌的标本采集应采用拭子的材料

怀疑患者为百日咳鲍特菌感染时标本应该采用涤纶拭子采集鼻、咽部标本,不要用人造纤维、棉拭子,因为人造纤维和棉拭子可能含有对百日咳鲍特菌产生毒性作用的脂肪酸及其他化学物质,如棉丝中含有化肥、农药等的污染也会对百日咳鲍特菌的培养产生负面影响。

14. 鼻、咽、喉拭子标本在运送过程中应注意的问题,因某些特殊情况未能及时送检时应做的处理

(1)鼻、咽、喉拭子标本采集后,在正常情况下应立即送检,室温运送时间应小于2h,如果未能及时送检接种处理,必须放入运送培养基中保存,避免由于干燥而使某些细菌死亡导致培养失败。

(2)如果怀疑苛养菌感染时标本如推迟送检时间应以室温保存,防止细菌由于不适应外界环境和自溶现象而死亡。

(3)如果怀疑非苛养菌感染时标本若延迟送检时间或待处理标本应置于4℃冰箱保存以免杂菌生长,影响病原菌的分离培养。

(4)延迟送检的标本必须在24 h内进行处理。

15. 分离淋病奈瑟菌的拭子标本采集后应该注意的问题

淋病奈瑟菌抵抗力极弱,对冷、热、干燥及化学消毒剂均很敏感,细菌若干燥1~2 h或加热55℃,5 min即可死亡。因此分离培养淋病奈瑟菌在采集标本后,立即进行接种培养,并于5%~10%CO₂湿润的环境中分离培养,以防细菌死亡。

16. 在采集鼻、咽、喉拭子标本时应拒收标本的情况

采集鼻、咽、喉拭子标本时发生以下情况可拒收标本:

(1)申请单上患者信息填写不完整;标本标识不清楚,与申请单不相符;未标明采集时间、部位或检验要求等均可拒收标本,并与临床医生联系重新送检。

(2)标本容器不符合规定,发生溢漏、无盖者拒收,应与临床医生及时联系,要求重新采集标本送检,并于报告单上注明标本不规范操作的原因。

(3)鼻、咽、喉拭子标本量过少甚至干燥者拒收,并及时与送检医生联系