

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 640—2018

临床微生物学检验标本的采集和转运

Specimen collection and transport in clinical microbiology

2018-12-11发布

2019-06-01实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 标本采集、转运及处理的总原则	2
5 临床常见标本的采集、转运及处理	10
参考文献	21

前 言

本标准是按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准起草单位：北京大学人民医院、中日友好医院、安徽省立医院、首都医科大学附属北京友谊医院、北京医院、北京市垂杨柳医院。

本标准主要起草人：王辉、刘颖梅、张正、马筱玲、苏建荣、胡云建、宁永忠、王晓娟。

临床微生物学检验标本的采集和转运

1 范围

本标准规定了临床微生物学（病毒学、细菌学和真菌学）检验标本采集和转运的技术要求。本标准适用于开展临床微生物学检验的各级医疗机构及其临床微生物学实验室。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的用是必不可少的。凡是注明日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注明日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

WS/T 348 尿液标本的收集及处理指南

WS/T 499 下呼吸道感染细菌培养操作指南

WS/T 442 临床实验室生物安全指南

WS/T 503 临床微生物实验室血培养操作规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

微生物学检验标本 Clinical Microbiological Specimen

本文件微生物学标本指临床病毒学、细菌学和真菌学检验（包括涂片镜检、培养、抗原、抗体和分子技术等）所用的标本。

3.2

紧急检查标本 STAT

因疾病可能危及患者生命而需要立即处理的标本。

3.3

采样拭子 Sampling swab

用于采集含病原微生物标本的拭子，由两部分组成：① 涂抹棒：柄部常为塑料或铝杆，柄部的一端是具有吸附作用的采样头，采样头材质包括脱脂棉、合成聚酯纤维、聚酰胺纤维、人造丝和泡沫聚氨酯等；② 手柄：位于柄部的另一端，也可作为转运装置（容器或管）的帽。

3.4

转运 Transport

标本由采样地点运送到检验地点的过程，分为内部转运（如使用人工或气动传输等内部送样方式）和外部转运（如使用汽车、飞机或火车等外部送样方式）。

3.5

转运容器 Transport container

用于盛放转运培养基和送检标本的容器。该容器应无菌、无消毒剂及防腐剂、无污染、密封性好及透明以便于从外部观察。当采样装置具备密闭功能，且能有效保护样本不被污染时，可作为转运容器运送标本。

3.6

转运培养基 Transport medium

液体或半固体的培养基，用于保护和维持标本在转运期间（从标本采集后到实验室处理这段时间）的完整性。转运培养基一般不促进微生物增殖，但保证它们存活。对于苛养菌，可以采用分离培养用的培养基作为转运培养基（如羊血琼脂或巧克力琼脂等）。

3.7

一套血培养 A set of blood culture

从一个穿刺部位抽取血液，分别注入需氧和厌氧血培养瓶分别进行需氧和厌氧培养。

4 标本采集、转运及处理的总原则

4.1 标本采集手册

实验室应制定所在机构的临床微生物学检验标本采集手册，该手册提供的信息包括（但不限于）下列内容：

- a) 检验项目；
- b) 检验方法；
- c) 适应证；
- d) 标本采集部位；
- e) 标本类型；
- f) 标本采集、转运所需要的装置/容器和转运培养基；
- g) 标本采集方法；
- h) 标本的体积或质量；
- i) 转运时限、贮存条件；
- j) 标本的标识方法；
- k) 重复检验频率；
- l) 生物安全防护信息；
- m) 需要获得的临床资料。

4.2 检验的申请

4.2.1 样本采集依检验项目的申请，实验室应建立临床微生物学检验的申请程序。检验申请单提供的信息包括（但不限于）下列内容：

- a) 患者姓名;
- b) 患者性别;
- c) 患者年龄或出生日期;
- d) 患者唯一性标识, 如病历号;
- e) 就诊病区和病房;
- f) 检验申请者姓名;
- g) 检验申请者科室;
- h) 标本类型;
- i) 标本采集部位;
- j) 检验项目;
- k) 标本采集日期和时间;
- l) 采集标本所用的特殊方法(适用时);
- m) 临床诊断和主要临床表现;
- n) 特殊培养要求或可疑病原体(适用时);
- o) 患者是否应用抗微生物药物及具体种类;
- p) 患者和检验申请者的联系电话(适用时)。

4.2.2 细菌学和真菌学检验项目的选择:

- a) 无菌体液标本、组织标本、痰标本、支气管肺泡灌洗液(Bronchoalveolar lavage fluid, BALF)、尿液标本和脓液标本等宜同时选择标本直接涂片染色镜检和培养;
- b) 怀疑隐球菌感染的脑脊液标本: 宜同时选择墨汁染色、隐球菌荚膜多糖抗原检验和隐球菌培养;
- c) 怀疑分枝杆菌感染的标本: 宜同时选择抗酸染色、分枝杆菌培养和分枝杆菌核酸检测;
- d) 怀疑厌氧菌感染的标本: 宜同时选择革兰染色和厌氧培养, 不能排除需氧菌时, 宜同时做需氧培养;
- e) 怀疑诺卡菌感染的标本: 宜同时选择革兰染色、弱抗酸染色和培养;
- f) 怀疑侵袭性真菌感染的标本: 宜同时选择 10% KOH 压片、真菌培养和真菌抗原检验。另可进行乳酸酚棉兰染色或荧光染色等。

4.2.3 实验室发布的标本采集手册宜对特殊菌的培养要求给予明确说明, 以保证医护人员对采集的标本进行明确标识, 检验申请单中特殊培养要求包括(但不限于)下列内容:

- a) 延长培养时间, 例如: 血液标本怀疑巴尔通体、布鲁菌、弗朗西斯菌等引起的感染, 呼吸道标本怀疑诺卡菌引起的感染等;
- b) 选择专用培养基。例如: 血液中怀疑分枝杆菌感染宜选择专用的分枝杆菌培养瓶;
- c) 特殊的气体和温度环境要求。例如: 脑膜炎奈瑟菌和淋病奈瑟菌等需要 CO₂ 环境, 弯曲菌和幽门螺杆菌培养需要微需氧环境; 怀疑二相真菌感染, 宜同时选择 25 ℃ 及 37 ℃ 两个温度进行培养。
- d) 特定感染宜进行厌氧培养。例如: 肝脓肿等封闭脓肿、腹膜炎、腹腔感染和糖尿病足感染等。厌氧菌感染的特征性表现包括: ①局部有气体产生为重要指征之一; ②发生在黏膜附近的感染; ③深部外伤, 如枪伤、人或动物咬伤后的继发感染; ④分泌物有恶臭或暗红血色或在紫外光下发出红色荧光, 或脓汁中有硫磺颗粒等。

4.3 标本的选择

4.3.1 实验室标本采集手册应详细描述感染性疾病病原体检验的标本类型和临床适应证, 病原体应包括(但不限于)病毒、细菌和真菌。

4.3.2 选择标本类型须考虑感染症状、患者免疫状态、患者疾病严重程度及接受有创检查的风险、流行病学、可疑病原体的特性和播散能力和受累的器官及感染部位等多方面因素。

4.3.3 适于进行普通细菌、厌氧菌检验的标本类型见表1～表2。

表1 特定解剖部位中适合/不适合普通细菌培养的标本类型

解剖部位	适合普通细菌培养的标本	不适合普通细菌培养的标本
下呼吸道	痰、BALF、保护性毛刷、气管内抽吸物	唾液、口咽分泌物、鼻咽部窦内引流物
泌尿道	中段尿液、直接导尿液、耻骨上膀胱穿刺尿液、膀胱镜检或其它手术过程中采集的尿液、婴幼儿的尿袋尿液	导尿管收集袋中的尿液、导尿管管尖
浅表伤口	脓抽吸物、真皮下的脓拭子	表面拭子或被表面物污染的标本
深部伤口	脓液、坏死组织、或从深部取的组织	被表面物污染的标本
胃肠道	新鲜粪便、内窥镜检时采集的排泄物、直肠拭子（特定情况下）	
静脉血	抗微生物药物使用前从不同静脉穿刺点采集2~4套血标本	凝固的血液
溃疡或褥疮	组织、抽吸物	被表面物污染的标本

表2 适合或不适合厌氧菌培养的标本类型

适合厌氧菌培养的标本	不适合厌氧菌培养的标本
抽取物（用注射器）、支气管镜保护性毛刷	痰、BALF、气管内抽吸物、气管切口分泌物
鼻窦（抽取）	鼻咽拭子、鼻窦冲洗或拭子不能作为鼻窦炎的病原学诊断
尿液（耻骨上穿刺膀胱尿液）	尿液（排出或从导管导出）
后穹窿穿刺液、输卵管液或组织（抽吸/活检标本）、胎盘组织（通过剖腹产手术）、宫内节育器（针对放线菌属）、前庭大腺分泌物	会阴拭子、宫颈分泌物、恶露、阴道或外阴分泌物、前列腺液或精液、尿道分泌物
培养艰难梭菌的粪便标本	直肠拭子
血液、骨髓、外科（术中抽取物或组织）	
眼部标本（泪道/结膜等结石、房水、前房液（穿刺）、玻璃体洗液（术中采集）	

4.4 标本的采集时机、部位、方法

4.4.1 在抗微生物药物治疗之前或者在起始治疗后立即采集标本，治疗中为评估治疗效果或治疗后为评估结局可以进行相采样。

4.4.2 应当尽快在疾病初发时采集首份标本。

4.4.3 须避免感染部位周围以及感染部位附近皮肤或黏膜定植菌群的污染。

4.4.4 对于有多种细菌定植的部位，宜选择合适的方法检验特定的病原菌，并防止非致病定植菌群的污染。

4.4.5 检验呼吸道病毒宜采用植绒拭子采集鼻咽标本。

4.4.6 普通拭子标本不宜用于厌氧菌培养。

4.4.7 除了血液标本外，其他所有标本进行厌氧培养前均应进行革兰染色（粪便艰难梭菌培养除外）。

4.4.8 无菌体液（例如胸水、滑膜液、心包液和脑脊液）宜放入无菌管或含抗凝剂（注意某些抗凝剂对一些细菌有抑制作用，如果使用，则需告知临床其中的影响）的无菌管送检，也可注入一定量（最好10 mL）的样品到血培养瓶中进行增菌培养；怀疑细菌或真菌感染时，除了血液标本之外，所有无菌体液标本均宜进行革兰染色镜检。

- 4.4.9 外科手术标本，宜送液体或组织做涂片和培养，拭子标本仅用于特殊情况。
- 4.4.10 采集静脉血时，应首先采集血培养标本，再采集用于其他检验的标本。
- 4.4.11 血标本采集时机见 WS/T 503，痰标本采集时机见 WS/T 499，尿标本采集时机见 WS/T 348。
- 4.4.12 不宜送检或接收导尿管的管尖进行培养。
- 4.4.13 真菌培养宜采集深部标本或组织标本。
- 4.4.14 做病毒血清学检验时，宜根据不同病毒选择不同的采集时间和抗体类型；发病早期通常检验病毒特异的 IgM 抗体；而对恢复期患者，在疾病急性发作和发作后间隔 2 周～4 周采集双份血清，检验 IgG 抗体。
- 4.4.15 特殊情况下（如怀疑厌氧菌感染时）可以考虑床旁采样。
- 4.4.16 标本采集须符合生物安全规定。

4.5 标本采集量

- 4.5.1 采集足够量的标本用于常规细菌学检验，至少送检 0.5 mL 或者 0.5 g（除外特殊标本）。当送检标本体积不足时，与临床沟通，并根据医嘱选择优先检验项目。脑脊液标本通常 2 mL～5 mL；胸水和腹水 10 mL；BALF 10 mL～20 mL（ ≥ 5 mL）；脓液 2 mL～5 mL；羊水、胆汁、关节穿刺液、心包液、胸水、滑膜液大于 1 mL；腹透液 50 mL；眼前房液大于 0.1 mL，玻璃体洗液大于 1 mL。
- 4.5.2 采集足够量的标本用于病毒学检验，特别是液体标本（如脑脊液和血液），并严格遵照临床标准的流程操作。脑脊液标本通常 2 mL～5 mL，血液 3 mL～5 mL；
- 4.5.3 宜采集大体积量的标本用于常规真菌学检验。

4.6 标本标识

标签宜由放入冰箱后仍能粘牢的材料制成。标签贴在容器上，而非容器盖上。标签上提供的信息至少包括（但不限于）下列内容：

- a) 患者姓名、患者唯一性标识；
- b) 标本采集日期和时间；
- c) 检验项目；
- d) 标本类型；
- e) 急查标本相应的标识（适用时）。

4.7 标本转运

4.7.1 标本采集手册应当明确说明某些检验项目的特殊转运方法，以保证医护人员、标本运送人员在标本采集之前能获得有关标本采集和转运的准确信息。

4.7.2 标本的转运应由经过培训的专人负责。使用气动传输方式运送标本时，提前确认剧烈震荡、温度等因素不对检验结果产生影响。

4.7.3 标本采集后，应减少运送环节，在规定时间内运达实验室，并尽可能缩短转运时间。

4.7.4 用于细菌学检验的标本：

- a) 用于普通细菌学检验的标本：宜在 2 h 内送到实验室。如果转运时间超过 2 h，宜使用转运培养基或在冷藏条件下转运；一般而言，用于细菌培养的标本室温下保存不能超过 24 h；血培养标本不可以冷藏转运；仅用于分子诊断的标本，宜冷藏或冷冻保存（-70 ℃以下最佳，避免反复冻融）。

- b) 标本量较少的体液标本（<1 mL）或组织标本（<1 cm³）：宜在30 min内送到实验室。大体积的标本或采集于保存培养基中的标本，可以保存24 h。
- c) 可能分离出对周围环境敏感细菌的标本：采集后立即送检。对周围环境敏感的细菌如百日咳鲍特菌、志贺菌属、淋病奈瑟菌、脑膜炎奈瑟菌、流感嗜血杆菌、肺炎链球菌和厌氧菌。
- d) 可能分离出对低温敏感细菌的标本：采集后不宜冷藏，如脑脊液、生殖道、眼部、中耳及呼吸道标本。对低温敏感的细菌如淋病奈瑟菌、脑膜炎奈瑟菌、流感嗜血杆菌和肺炎链球菌。
- e) 用于厌氧菌培养的标本：在常温下转运，标本量较少的标本宜在采集后30 min内送到实验室，转运过程中标本尽可能与空气隔绝。

4.7.5 用于病毒学检验的标本：

- a) 用于病毒核酸检验的标本：采集后在2 h~4 h内送到实验室。血液标本室温运送，其他标本在2 ℃~8 ℃下转运；若运送时间超过24 h，标本宜在-70 ℃或更低的温度下保存和转运。
- b) 用于病毒培养和抗原检验的标本：在运送过程中宜保存在适当的病毒转运液（VTM）或其他相应的缓冲液中。
- c) 液体标本：如羊水、血液、脑脊液、尿液和BALF等可直接送检，一般不需使用VTM运送。

4.7.6 用于真菌培养的标本（除头发、皮肤和指甲宜干燥送检外），宜湿润条件下送检。

4.7.7 当标本需要进行多种微生物学检验时，如病毒、细菌、分枝杆菌和真菌等，分别采样或将标本分装至合适的转运液或容器中。

4.7.8 细菌学检验常用的转运培养基：

- a) Regan-Lowe 转运培养基：适用于百日咳鲍特菌和副百日咳鲍特菌的培养。
- b) Amies 或 Stuart 转运培养基：适用于分离脑膜炎奈瑟菌和白喉棒杆菌等。
- c) Cary-Blair 转运培养基：适用于肠道病原菌的检验。

4.7.9 病毒学检验常用的转运培养基：

- a) 病毒转运液可以由实验室自行配制或购买。基础成分包括：Hank平衡盐溶液、牛血清白蛋白、L-谷氨酸、HEPES缓冲液（pH7.3）、酚红、两性霉素B及抗微生物药物等。
- b) 使用商品化试剂盒进行病毒核酸或抗原检验时，遵照生产厂商对标本转运液或相应运送体系说明进行操作。

4.7.10 标本采集常用的拭子：

- a) 聚酯纤维、涤纶或人造丝头，柄部为塑料或铝的拭子：宜用于病毒学检验标本的采集。病毒学检验标本的采集不宜使用柄部为木质的拭子。
- b) 棉拭子：宜用于支原体检验的阴道、宫颈及尿道标本的采集，不宜用于细菌（特别是苛养菌）、衣原体检验标本的采集。
- c) 涤纶拭子和尼龙拭子：宜用于病毒和细菌标本的采样。
- d) 植绒拭子：由尼龙纤维经专有的喷雾技术制成，宜用于呼吸道病毒采样和真菌培养标本的采样。
- e) 藻酸钙拭子：宜用于衣原体和百日咳鲍特菌鼻咽拭子的采集。但不宜用于脂质包膜病毒及细胞培养的采样，不宜用于淋病奈瑟菌及解脲脲原体的采样。

4.7.11 实验室间转运标本时，应按照国家有关生物安全标准标识、包装标本，运送过程符合生物安全规范的要求。运送者应接受培训，经考核合格后方可上岗，运送期间配备必要的保护屏障。对于检验高

致病性病原微生物标本的转运应当按照《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》中的相关要求进行。

4.8 标本接收

- 4.8.1 标本到达实验室后记录接收时间和处理时间。
- 4.8.2 接收标本时仔细核对标本和检验申请单。
- 4.8.3 如果信息不全，实验室联系标本采集部门以获得缺失的信息。
- 4.8.4 如果标本标记错误或无患者姓名，重新采集标本；当标本不能重新采集时，才允许对标记错误的标本进行重新标记；如果是重新标记的标本，在检验结果报告中明确标出；如果是归属错误，则不能重新标记。
- 4.8.5 及时处理送检标本，并尽快将所出现的问题通知相关科室。

4.9 标本拒收

- 4.9.1 拒收标本标记错误或无患者姓名的标本。
- 4.9.2 拒收标本类型和申请检验项目不符的标本。
- 4.9.3 拒收容器破损的标本，拒收容器表面严重污染的标本，拒收使用不符合专业规范容器采集的标本。
- 4.9.4 拒收质量评估不合格的标本，合格的标本需满足相应的质量判断方法，如：痰（除用于军团菌和分枝杆菌检查的标本外）：鳞状上皮细胞<10/低倍视野。
- 4.9.5 采集部位、转运容器以及转运条件不符合要求，宜重新采集标本。表3根据标本采集、转运条件和转运时间，列出了可接受的标准。

表3 微生物学实验室检验标本的采集、转运和储存

标本类型	转运装置和/或最小体积	转运时间和温度	储存时间和温度	说明
脓液	拭子转运系统	≤ 2 h, 室温	≤ 24 h, 室温	开放性脓液取病灶部位的底部和脓肿壁
	厌氧转运系统； ≥ 1 mL			封闭性脓液避免表面物污染，减少与感染无关的定植菌的干扰
血液	血培养瓶：成人 20 mL/套；婴儿和儿童见表5	≤ 2 h, 室温	≤ 2 h, 室温或按产品说明书	
骨髓	接种于血培养瓶	若在培养瓶中， ≤ 24 h, 室温	≤ 24 h, 室温	少量骨髓可直接接种在培养基上
脑脊液	无菌螺帽管；细菌， ≥ 1 mL/管	不要冷藏； ≤ 15 min, 室温		第一管不能用于微生物学检验

表3 (续)

标本类型	转运装置和/或最小体积	转运时间和温度	储存时间和温度	说明
无菌部位体液如腹水、胸水、关节液、心包液等	无菌螺帽管, 10 mL 或更多; 或接种于血培养瓶	≤2 h, 室温	≤24 h, 室温	
中耳	无菌管、拭子转运培养基、或厌氧系统	≤2 h, 室温		不宜送检喉或鼻咽部的拭子标本用于诊断中耳炎
外耳道	拭子转运		≤24 h, 2 ℃~8 ℃	用力旋转拭子
眼结膜	直接接种培养基或拭子转运	拭子, ≤15 min, 室温; 培养基≤2 h, 室温	≤24 h, 室温	宜双侧同时分别采样
角膜刮片或角膜刮取物		≤15 min, 室温		麻醉药对于一些病原体有抑制作用
玻璃体洗液、前房液	直接接种培养基或无菌螺帽管			
粪便	清洁、防漏宽口容器	未防腐: ≤1 h, 室温	≤24 h, 2 ℃~8 ℃	普通培养: 住院超过3天或入院诊断不是胃肠炎的患者出现腹泻宜进行艰难梭菌的检验
	无菌、防漏宽口容器, >5 mL	≤1 h, 室温; 1 h~24 h, 2 ℃~8 ℃; >24 h, -20 ℃或更低	培养或核酸扩增试验: 2天, 2 ℃~8 ℃ 毒素检验: 3天, 2 ℃~8 ℃, 或-70 ℃更久	艰难梭菌: -20 ℃或以上冷冻易使细胞毒素活性快速丢失
胃液	无菌、防漏容器	≤15 min, 室温或在采集1 h内应用碳酸氢钠中和胃液。	≤15 min, 2 ℃~8 ℃	用于检验分枝杆菌, 标本立即处理, 若转运时间>1小时, 应用碳酸氢钠中和。
胃粘膜组织活检	含转运培养基的无菌管	≤1 h, 室温	≤24 h, 2 ℃~8 ℃	用于幽门螺旋杆菌
羊水、子宫内膜组织和分泌物、后穹窿穿刺液	厌氧转运系统; ≥1 mL	≤2 h, 室温	≤24 h, 室温	拒收用拭子采集的标本
宫颈分泌物、女性尿道分泌物、阴道分泌物、男性前列腺液、男性尿道分泌物	拭子转运			
BALF、支气管毛刷或洗液、支气管吸引物	无菌容器; >1 mL	≤2 h, 室温	≤24 h, 2 ℃~8 ℃	

表3 (续)

标本类型	转运装置和/或最小体积	转运时间和温度	储存时间和温度	说明
咳痰、吸痰、诱导痰	无菌容器；>1 mL	≤2 h, 室温		鳞状上皮细胞<10/低倍视野
肺组织	无菌螺帽容器；2 mL 无菌生理盐水保持组织湿润	≤15 min, 室温	≤24 h, 2 ℃~8 ℃	送检组织量尽可能多
中段尿液、导尿管尿液、留置导尿管、婴幼儿尿袋尿	无菌、宽口容器；≥1 mL	未防腐：≤2 h, 室温		使用留置导管的患者有临床症状时，可采集尿液标本
腹膜透析液	无菌容器，50 mL；5 mL~10 mL 接种需氧和厌氧血培养瓶	≤2 h, 室温	6 小时, 室温	若不能立即送检接种的血培养瓶置于 37 ℃孵育

4.9.6 标本拒收时应联系临床，向其解释拒收的原因并要求其重新采集合格标本。

4.9.7 实验室应明确规定哪些情况允许特殊处理不合格标本，规定特殊处理过程中哪些步骤需要核实和记录，规定能进行特殊处理的负责人。经特殊处理的不合格标本的检验结果，应在检验结果报告中明确标出（不合格因素、可能对结果造成的影响等）。

4.9.8 标本拒收程序实施前，实验室与临床共同审阅通过。

4.10 标本优先处理原则

4.10.1 实验室建立紧急检查程序，明确需要紧急处理的标本类型、检验项目、标本检验顺序。

4.10.2 实验室接收紧急标本后应立即处理。涂片染色镜检结果宜在 2 h 内反馈给临床。紧急检查标本包括（但不限于）下列标本：

- a) 脑脊液标本（直接涂片结果宜 30 min 内发报告）；
- b) 血培养阳性标本（直接涂片结果宜 1 h 内发报告）；
- c) 来自手术室、重症监护室、急诊室的无菌部位标本；
- d) 其他临床认为有必要紧急检查的标本。

4.11 标本的前处理与保存

4.11.1 一些标本在检查前，须进行前处理。前处理方法包括（不限于）：

- a) 混匀：尿液标本和全血标本等，检查前充分混匀恢复均相。
- b) 离心：如全血标本及时离心分离血清、血浆或细胞层。
- c) 均质化：当菌体被裹挟或黏附在其他物质内时，将菌体释放出来。例如咳痰标本培养前宜先消化释放菌体。组织标本宜采用机械研磨释放菌体。导管和假体等标本宜通过超声和机械振荡等方式释放菌体。拭子标本宜采取振荡等方式，将菌体从纤维丝上释放出来。
- d) 减少干扰：临床标本分离培养结核分枝杆菌和非结核分枝杆菌前，采用酸、碱或其他适宜的方法进行处理。

4.11.2 体液标本（除外尿液和血液）：

- a) 宜使用细胞离心机浓缩后制备涂片。
- b) 如无细胞离心机, 可使用普通离心机, 大于 1.0 mL 的标本 1500 g~2500 g 离心 10 min 后, 用移液管吸出上清, 剩余 0.1mL~0.5 mL 沉淀, 充分混匀此沉淀后用于检验。
- c) 血性标本或是明显的脓液, 宜进行直接涂片。涂片薄厚适宜, 类似于血液薄膜片。

4.11.3 组织、骨和假体标本:

- a) 用于细菌培养的组织、骨或假体标本宜在研磨器里研磨或超声处理, 组织标本可以使用手工研磨器或自动匀浆器/研磨机; 吸取混悬液制备涂片, 并接种合适的培养基;
- b) 用于真菌培养的组织或骨标本, 除了研磨后接种标准培养基外, 点种一小块完整的组织到每块琼脂培养基里面。
- c) 怀疑接合菌感染时, 标本不宜研磨, 宜剪成小块。

4.11.4 所有体液和组织标本, 感染导致的脓液、坏疽等均宜做革兰染色。一些拭子标本, 如诊断细菌性阴道病的拭子标本宜做革兰染色。

4.11.5 实验室应制定程序保留标本, 即使标本已用完, 也要保留空容器。标本保存在冰箱或者是超低温冰箱, 无菌标本建议至少要保存 5 天。

4.11.6 标本处理注意生物安全

具体见WS/T 442。

5 临床常见标本的采集和转运

5.1 血培养标本

血培养采集指征、检验申请、采集时间、采集套数和采集血量、血培养标本的转运等参照WS/T 503。

5.1.1 血培养适应证及采集套数

表4 血培养适应证及采集套数

适应证	采集套数
急性脓毒症	抗微生物药物使用之前, 10 min 内从不同部位采集 2~3 套血培养
急性细菌性心内膜炎	抗微生物药物治疗前 1 h~2 h 内, 从 3 个不同部位采集 3 套血培养。如 24 h 培养阴性, 则再采集两套
疑似菌血症	起始抗微生物药物治疗前, 24 h 内不同部位采集 2~4 套, 间隔不小于 3 h
不明原因发热	从不同部位采集 2~4 套
疑似菌血症(儿科患者)	立即采集血液标本, 接种儿童血培养瓶, 建议采集 2 套
导管相关的血流感染	方法 1. 未拔除导管的情况下, 同时从留置管和外周静脉采集血液, 各采集一套送检血液培养 方法 2. 拔除导管的情况下, 剪下 5 cm 导管尖端送检培养, 同时送检一套外周血液培养

5.1.2 推荐的采集血液体积

5.1.2.1 普通细菌培养: 儿童及成人推荐的采血量见表 5。

表5 血培养推荐的采血量

患者体重 Kg	每套培养血液体积 mL
<8	1
8~14	3
14~27	5
27~41	10
41~54	15
>54	20

5.1.2.2 分枝杆菌培养：成人患者建议采集3次，每次5 mL（或按说明书要求体积）血液直接注入分枝杆菌专用血培养瓶，室温下尽快送抵实验室。

5.1.2.3 酵母菌培养：成人患者采集2~4套血培养，每套血培养采集20 mL~40 mL血液，直接种2个需氧培养瓶，室温下尽快送抵实验室。

5.2 用于病毒学检验的血液标本

5.2.1 方法

血液标本采集方法参照WS/T 503。

5.2.2 注释

- a) 血浆核酸检验标本选择抗凝真空采血管，首选的抗凝剂是EDTA；
- b) 血清核酸检验标本选择不含抗凝剂真空采血管；
- c) 病毒分离培养时，取EDTA抗凝血5 mL~10 mL，室温下运送至实验室。白细胞分离宜在8 h内进行。

5.3 脑脊液标本

5.3.1 方法

- a) 患者去枕侧卧位，背部与检查台垂直呈90°，低头曲颈，使膝部尽量贴近腹部，脊柱前屈，使椎间隙张开便于进针；
- b) 确定穿刺点，选择腰3~腰4椎间隙，穿刺点相当于双髂后上嵴最高点连线与脊柱中线相交处；
- c) 严格无菌操作，佩戴无菌手套，使用皮肤消毒剂对腰椎穿刺点及其周围15 cm区域的皮肤消毒，待消毒剂干燥后（约1 min）再以75%的酒精擦拭两遍；
- d) 覆盖无菌孔巾，待消毒剂彻底挥发后，用1%~2%利多卡因在穿刺点行皮内、皮下浸润麻醉，然后垂直缓慢进针椎间棘突间隙，边回吸边注药，回吸注意无回血，充分麻醉后拔针；
- e) 左手固定麻醉点，右手进针，对准脊椎间隙刺入皮下，针尖斜向与脊柱平行，穿刺针穿过皮肤、皮下组织、棘上韧带、棘间韧带、黄韧带、硬脊膜，有落空感进入蛛网膜下腔，采集脑脊液分别放入3个无菌螺帽管中，做好标本标记；
- f) 最小标本量要求：细菌≥1 mL，真菌≥2 mL，分枝杆菌≥5 mL，病毒≥2 mL；
- g) 腰椎穿刺采集的第一管脑脊液用于生化学检验，第二管用于微生物学检验，第三管可以用于细胞学、分子核酸检验等。分别放入3个无菌螺帽管中，做好标本标记和标清顺序。

5.3.2 注释

- a) 注明患者年龄, 可为病原体诊断提供线索;
- b) 婴幼儿: 可选择腰4~腰5或腰5~骶1椎间隙穿刺进针, 以免损伤脊髓。

5.4 腹腔标本

5.4.1 腹水

- a) 依患者状况和腹水量, 酌情取平卧、侧卧或半卧坐位;
- b) 确定皮肤穿刺部位或切口的位置;
- c) 常规消毒穿刺点及其周围15 cm区域的皮肤, 解开穿刺包, 戴无菌手套, 覆盖消毒孔巾;
- d) 行局部逐层麻醉后, 在麻醉部位垂直刺入, 放液或抽液后拔针并敷以无菌纱布;
- e) 采集10 mL或更多液体, 置于无菌容器中, 室温下立即送检。

5.4.2 腹膜透析液

- a) 收集50 mL腹膜透析液, 置于无菌容器中, 室温下立即送检;
- b) 同时床旁接种5 mL~10 mL腹透液, 分别打入接种于需氧和厌氧血培养瓶, 室温下立即送检;
- c) 若不能立即送检, 血培养瓶可置于37 °C条件下孵育。

5.5 胸水

- a) 患者反向坐椅上, 两臂置椅背, 前额伏手臂上。不能起床者, 可取半卧位, 患侧前臂置于枕部;
- b) 用超声或叩诊方法定位穿刺点, 常规消毒穿刺点及其周围15 cm区域的皮肤, 解开穿刺包, 戴无菌手套, 覆盖消毒孔巾;
- c) 2%利多卡因麻醉穿刺部位;
- d) 沿肋骨上缘缓慢垂直刺入进针, 当针刚进入皮肤, 抽空穿刺针后乳胶管内空气, 然后用止血钳夹闭。当针穿过壁层胸膜时, 胸水即被吸入穿刺针后的乳胶管, 连接50 mL注射器, 放开止血钳即可抽液;
- e) 抽液完毕, 拔除穿刺针并敷以无菌纱布;
- f) 采集10 mL或更多液体, 置于无菌容器中, 室温下立即送检。

5.6 组织标本

5.6.1 外科手术采集的组织标本

- a) 谨慎处理组织标本, 因其很重要、很难获取。
- b) 采集足够量的组织标本, 微生物学检验所需的标本量 $\geq 1\text{cm}^3$ 为宜。
- c) 选择合适的采样方法以区别污染和真正的感染。例如: 骨科人工关节修复手术, 在同一个手术部位不同的区域采集5块分开的组织, 分别放置于五个容器并分别做5份培养。若来自同一个手术部位的三块或更多的组织生长相同的菌, 那么该菌可能是关节的病原菌而非污染菌。
- d) 选择无菌保湿容器运输组织, 小块组织宜用2 mL无菌水或生理盐水保湿; 特别小块的组织标本宜放在一个方形润湿的无菌纱布里送检。
- e) 组织厌氧菌培养, 宜采用厌氧转运管或厌氧转运瓶运送; 大块组织标本可直接用于厌氧培养。

5.6.2 经支气管镜肺活检的组织标本

- a) 患者平卧位, 局部麻醉;

- b) 经鼻导入支气管镜到达病变所在的肺段或亚段后，将活检钳插入所选择的亚段支气管内，穿过支气管壁至病变区；
- c) 打开活检钳推进少许，在患者呼气末关闭活检钳获得标本，缓缓退出；
- d) 将取出的组织放入 2 mL 无菌盐水的无菌容器中，立即送到实验室。

5.6.3 CT 引导下经皮穿刺肺活检组织标本

- a) 根据 CT 显示病变的部位选择相对舒适的体位；
- b) 确定穿刺点、进针方向、角度及深度，根据病灶位置选定穿刺针的型号和长度；
- c) 穿刺点常规消毒，待消毒剂彻底挥发后，行局部麻醉至胸膜，保留针头再次局部扫描确认进针深度和角度；
- d) 在患者屏气时快速进针至病灶后再次对病灶扫描，当穿刺针尖达到预定位置后切割取材；
- e) 切割获得的 (1.0~2.0) cm×0.1 cm 大小的组织标本，放入 2 mL 生理盐水无菌容器内送微生物实验室。放入 10% 甲醛固定液内送病理科，甲醛处理后的标本不能进行微生物学检查。

5.6.4 心律植入装置感染标本（囊袋组织、赘生物、起搏器）

- a) 行起搏器拔除术，切开囊袋部位，采用无菌操作采集培养标本。取样前不要应用抗微生物药物对囊袋内进行清创消毒。
- b) 囊袋组织：打开囊袋后，用新更换的无菌工具取囊袋内组织块约 2 cm²，放入带螺帽无菌容器中，加入适量生理盐水，浸没囊袋组织，旋紧螺帽立即送检。
- c) 心律植入装置：起搏器、导线等心律植入装置也可以作为标本送培养。将术中拔除的起搏器和导线立即放入螺帽无菌容器中，送至实验室检验。
- d) 赘生物：对于导线上附着的赘生物可将其连带导线一齐剪下，放入带螺帽无菌容器中，加入可浸没标本的生理盐水，旋紧螺帽立即送检。
- e) 对于导线这类细长标本，从患者体内拔出后尽快放入无菌容器中，全过程避免导线不慎触到手术台、患者皮肤等部位。

5.6.5 关节假体周围感染标本（关节假体、关节液及假体周围组织）

5.6.5.1 关节液

- a) 术前穿刺：患者仰卧于手术台上，下肢半屈曲位。穿刺部位按常规进行皮肤消毒，待消毒剂彻底挥发后，用局部麻醉药作局部麻醉。用注射器，一般于髌骨外上方，由股四头肌腱外侧向下刺入关节囊；或于髌骨下方，由髌韧带旁向后穿刺达关节囊。术后用消毒纱布覆盖穿刺部位，再用胶布固定。
- b) 术中穿刺：同翻修手术同时进行，患者全麻后，消毒铺巾切开皮肤、皮下脂肪组织达关节囊，用注射器穿刺抽取关节液。

5.6.5.2 假体

术中穿刺抽取关节液后，取出假体，放置于塑料无菌容器中。

5.6.5.3 假体周围组织

术中取假体后，更换手术刀采集 4~5 块组织，分别置于不同的无菌小瓶中，并标明每块组织的部位或编号。

5.6.5.4 注释

- a) 引起假体关节周围感染的病原菌可形成生物膜，建议临床在翻修术中同时送检假体、假体周围组织和关节液；
- b) 术前普通关节液穿刺培养宜在停用抗微生物药物 2 周后采集，以提高培养阳性率。

5.7 尿液标本

5.7.1 导尿管尿液标本

5.7.1.1 采集直接导尿管尿液

- a) 用肥皂水或清水清洗尿道口；
- b) 无菌操作将导管通过尿道插入膀胱；
- c) 弃去先流出的 15 mL 尿液之后，采集尿液到无菌螺帽容器或硼酸转运管。

5.7.1.2 采集留置导尿管尿液

- a) 夹住导尿管 10 min~20 min 后，用 75% 酒精消毒导管采集部位；
- b) 用注射器无菌采集 5 mL~10 mL 尿液；
- c) 将尿液转入带螺帽无菌容器或硼酸转运管。

5.7.2 中段尿液

- a) 用肥皂水或清水清洗外阴后，分开阴唇（女性），缩回包皮（男性），开始排尿；
- b) 排出几毫升后，不停止尿流，采集中段尿液。

5.7.3 用于分子诊断的清晨首次尿液

- a) 留取少于 30 mL 的清晨首次尿液；
- b) 尿液采集到无菌容器或核酸扩增试验厂商提供的专用转运培养基内送检。

5.7.4 耻骨上膀胱穿刺尿液

- a) 使用皮肤消毒剂消毒脐部至耻骨区域；
- b) 待消毒剂彻底挥发后，麻醉穿刺部位（耻骨上 2 cm 或 2 横指）；
- c) 从膀胱吸取约 20 mL 尿液；
- d) 无菌操作将尿液转入无菌容器内送检。

5.7.5 婴幼儿尿液的收集

- a) 采样人员用肥皂水或清水洗手；
- b) 分开儿童双腿；
- c) 用肥皂和水清洗耻骨和会阴区，使之干燥，无粉末、油和护肤品等污染物；
- d) 采用儿科尿液收集袋，移去胶条表面的隔离纸；
- e) 对于女性儿童，拉紧会阴部皮肤，将胶条紧压于外生殖器四周的皮肤上，固定收集袋于直肠与阴道之间的位置，避免来自肛门区域的污染；对于男性儿童，将收集袋套于阴茎上，将胶条压紧于会阴部皮肤上；
- f) 确保胶条牢固地粘于皮肤，胶条的粘贴无皱折；
- g) 定时察看收集袋中的尿液（如每隔 15 min）；
- h) 将收集袋中的尿液倒入无菌容器，室温下立即送检。

5.7.6 标识

- a) 申请单上注明标本采集自留置导尿管、直接导尿管、穿刺尿液等。若为穿刺尿液需注明是否进行厌氧培养。
- b) 申请单上标明患者是否有症状，是否使用了抗微生物药物及种类。

5.7.7 注释

- a) 拒收导尿管和长期留置导管的导管尿液；
- b) 通常情况下，带有留置管的患者 48 h~72 h 就会有定植菌，且常为多种细菌；
- c) 中段尿液标本不能进行厌氧菌培养；
- d) 仅在临床申请时进行厌氧培养；
- e) 耻骨上穿刺尿液可避免尿液标本被尿道或会阴部细菌污染。

5.8 支气管镜标本（支气管毛刷、BALF）

5.8.1 方法

- a) 用 2% 利多卡因进行局部麻醉。
- b) 患者去枕仰卧位，操作者站于患者头侧。
- c) 用局部麻醉药润滑患者两个鼻孔及支气管镜，经鼻或经口（气管插管或切开患者经人工气道）导入支气管镜。根据影像学或支气管镜下表现，选取病变段严重区域进行灌洗或采样。
- d) BALF：将支气管镜顶端紧密嵌顿在目标支气管段或亚段开口，末端连接无菌样本采集杯和负压吸引器。经操作孔道分 5 次快速注入总量为 60 mL~100 mL 的 37 ℃ 或室温灭菌生理盐水，每次灌入 20 mL~50 mL 生理盐水后，以合适的负压（推荐小于 -100 mmHg 的负压）吸引回收灌洗液，可直接使用标本采集器送检，也可在无菌操作下吸取 10 mL~20 mL BALF ($\geq 5 \text{ mL}$) 到带螺帽无菌容器中，立即送检。

注：每次回吸收量不低于灌入量的 5%（总回收率以 $\geq 30\%$ 为宜）。若每次的回收率均 $< 5\%$ ，则要及时停止灌洗以免液体大量滞留于肺内。儿科患者只能灌入 (1 mL~2 mL) / kg，通常儿童的回收量不超过 10 mL，大于 10 mL 的儿童标本可离心提高阳性率。

- e) 支气管毛刷：将检查用毛刷插入支气管镜，推进毛刷直至推出护套，刷取标本后将刷子收回护套，取出整个毛刷，用无菌剪刀将刷子头剪下，放入 1 mL 生理盐水或乳酸钠林格溶液中，立即送实验室。
- f) 支气管吸引物：通过支气管镜直接抽吸呼吸道较大管道内的分泌物。
- g) 操作结束后，迅速将支气管镜从气道内收回。

5.8.2 注释

- a) 支气管镜取材的标本会受到上呼吸道菌群的污染，宜进行质量评估；
- b) 支气管毛刷标本大概含有 0.001 mL 到 0.01 mL 的分泌物，为避免分泌物干燥引起细菌死亡，毛刷迅速置于 1 mL 的无菌盐水中；
- c) BALF 标本必须定量培养，定量结果与临床的相关性优于痰标本；
- d) 麻醉剂可抑制细菌生长，也会影响标本的质量。

5.9 痰

5.9.1 咳痰

- a) 向患者说明痰和唾液的区别;
- b) 带假牙的患者摘掉假牙;
- c) 请患者用清水漱口;
- d) 指导患者用力咳出深部痰，勿将唾液和鼻后分泌物当作痰送检;
- e) 立即盖好盖子并拧紧，立即送检;
- f) 最好选择晨起漱口后，咳出的深部痰送检。

5.9.2 诱导痰

- a) 当咳嗽无痰或少痰时，可采集诱导痰;
 - b) 患者先刷牙（口腔粘膜、舌头和牙龈），勿用牙膏;
 - c) 再用无菌水或生理盐水漱口;
 - d) 用超声雾化器，患者吸入 3% NaCl 约 3 mL~5 mL;
- 注：有气道高反应者慎用高渗NaCl诱导。
- e) 用无菌螺帽宽口容器收集诱导痰标本。

5.9.3 气管吸引物

通过气管内导管收集标本。

5.9.4 注释

- a) 真菌和分枝杆菌诊断宜连续采集多份痰标本;
- b) 痰标本不能进行厌氧培养;
- c) 痰涂片革兰染色镜检对痰培养结果具有参考价值。

5.10 鼻咽拭子

5.10.1 方法

- a) 请患者头部保持不动，去除鼻前孔中表面的分泌物;
- b) 通过鼻腔轻轻、缓缓插入拭子至鼻咽部;
- c) 当遇到阻力后即到达后鼻咽，停留数秒吸取分泌物;
- d) 轻轻旋转取出拭子，置于转运培养基中;
- e) 用于病毒学检验的拭子，将拭子头浸入病毒运送液，尾部弃去，旋紧管盖;
- f) 用于细菌学检验的拭子，插回采样装置或适宜的转运装置中。

5.10.2 注释

- a) 不推荐鼻咽拭子做普通细菌培养，特殊细菌除外，如百日咳鲍特菌、脑膜炎奈瑟菌。
- b) 若怀疑百日咳鲍特菌感染，需提前通知实验室，准备特殊的转运培养基（Regan-Lowe）。条件许可时可提供接种培养基，直接床旁接种后转运至实验室。
- c) 鼻咽拭子不能用于检验鼻窦炎的病原菌。

5.11 口咽拭子

5.11.1 方法

- a) 请患者坐下，头后倾，张大嘴，去除鼻前孔中表面的分泌物;
- b) 采样者用压舌板固定舌头，用涤纶或藻酸钙拭子越过舌根到咽后壁及扁桃体隐窝、侧壁等处;

- c) 反复擦拭 3~5 次，收集粘膜细胞；
- d) 轻轻取出拭子，避免触及舌头、悬垂体、口腔粘膜和唾液；
- e) 拭子插回采样装置中或适宜的转运装置中。

5.11.2 注释

- a) 对化脓性咽炎，口咽拭子细菌培养主要用于筛查 A 群 β -溶血链球菌和溶血隐秘杆菌；
- b) 当检验口咽拭子中的淋病奈瑟菌时，临床需提前告知实验室；
- c) 对于儿科患者，宜常规报告流感嗜血杆菌；
- d) 一般情况下，不单独选用咽拭子标本诊断上呼吸道感染，宜与鼻咽拭子或鼻咽吸取物联合检验以提高呼吸道感染的病原检出率。

5.12 飲便标本

5.12.1 送检原则

- a) 在感染急性期采集腹泻飲便标本；
- b) 排除一些病原体的携带状态，需要连续 3 份标本阴性。若需要连续采集 3 份标本，则两次采集标本间隔 48 h。

5.12.2 方法

- a) 将飲便排入干燥清洁的便盆，避免使用坐式马桶或蹲式便盆。飲便标本中不宜混入尿液及其它异物，采集过程尽量无菌操作；
- b) 用无菌竹签挑取标本中异常部分（有粘液、脓液和血液的部分）2 mL~5 mL 飲便悬液或 2 g~5 g 饮便标本置于无菌螺帽容器中，立即送检。

5.12.3 标识

申请单上建议标注特殊病史。

5.12.4 标本拒收

- a) 干燥的拭子、含钡飲便、黄软成形便、干便或明显污染的飲便；
- b) 一天内重复送检的标本；
- c) 未使用运输培养基，采集后室温条件下超过 2 h 未送检的飲便；
- d) 使用运输培养基，4 ℃条件下保存超过 48 h 或 35 ℃条件下保存超过 24 h 未送检标本。

5.12.5 注释

- a) 飲便标本常规不进行厌氧培养；
- b) 结肠造口术和回肠造口术标本的运输方式与飲便标本相同；
- c) 肠炎和发热病人宜同时送检血培养；
- d) 下列腹泻患者宜连续 3 天送检标本：社区获得性腹泻（入院前或 72 h 内出现症状）。医院获得性腹泻（入院 72 h 后出现症状），且至少有下列情况之一：大于 65 岁并伴有基础疾病、HIV 感染、粒细胞缺乏症（中性粒细胞 $<0.5 \times 10^9/L$ ）及疑似院内暴发感染时。

5.13 直肠拭子和肛拭子

5.13.1 送检原则

- a) 婴儿或重症患者腹泻时且暂时没有粪便，才可采集直肠拭子标本检验腹泻病原菌；
- b) 肛拭子不宜用于腹泻病原菌培养；
- c) 常规培养通常针对沙门菌属和志贺菌属，国际上还包括弯曲菌属。如果怀疑其他细菌感染，宜先咨询实验室。

5.13.2 方法

- a) 无菌棉拭子用生理盐水湿润，轻轻地插入肛门括约肌上方（约 6 cm~7 cm），旋转，取出，置于运输培养基中，拭子上可见粪便；
- b) 对于淋病奈瑟菌培养，采集肛环内的肛窦部位，尽量避免粪便污染；
- c) 立即将淋病奈瑟菌培养拭子置于运输培养基中，或在患者床边接种。

5.13.3 标识

在申请单上标注检查的病原菌，尤其是怀疑淋病奈瑟菌感染时。

5.13.4 注释

- a) 如果怀疑患者感染大肠埃希菌 O157:H7、耶尔森菌属、弧菌属、气单胞菌属或邻单胞菌属，宜通知实验室；
- b) 不宜使用拭子检验艰难梭菌毒素。

5.14 子宫颈内或宫颈标本

- a) 用温盐水湿润阴道窥器；
- b) 使用阴道窥器轻轻按压子宫，打开窥器，使用藻酸钙、涤纶或没有毒性的棉拭子采集分泌物。或者打开窥器，将拭子插入宫颈管 1 cm~2 cm，转 2 圈~3 圈采集分泌物，必要时停留 20 s~30 s 并转动取样；
- c) 怀疑淋病奈瑟菌时，可以同时采集直肠拭子与子宫颈标本。

5.15 男性泌尿生殖道标本

- a) 从尿道挤压分泌物，一根拭子采集分泌物用于培养，保存于转运培养基中送检。另一根拭子采集分泌物用于涂片，将拭子在玻片表面滚动 2 cm~3 cm。
- b) 若无分泌物，可将泌尿生殖道拭子插入尿道约 2 cm，轻轻旋转取出。将标本尽快接种于特殊培养基，并置于 35 °C CO₂环境中培养。接种后的拭子制备涂片用于染色，最好采集两个拭子分别用于涂片和培养。
- c) 尿道分泌物革兰染色查到白细胞内革兰阴性双球菌可作为男性淋病患者的诊断依据。

5.16 眼科标本

5.16.1 方法

- a) 结膜囊分泌物：将植绒拭子用病原体保存液或无菌生理盐水预湿，由内眦部开始从内到外旋转轻拭下方结膜囊和下睑结膜表面（注意内眦部），采集后立即接种培养基或立即转运；接种后制备涂片，将拭子在载玻片上自内而外滚动涂成直径 1.0 cm~1.5 cm 的近圆形。
- b) 角膜及结膜刮片：由眼科专业人员采集，角膜刮片推荐用 15 号手术刀片刮取溃疡基底部、溃疡进行缘或损伤部位，将刮取物直接接种于培养基；睑结膜刮片宜翻转上睑暴露睑结膜，固定后，垂直刮擦组织。将刮取物直接涂抹于载玻片上，尽量均匀涂开。

- c) 房水及玻璃体液：由眼科专业人员采集，将无菌注射器中的标本直接接种于培养基或液体增菌培养基，常规进行苛养菌、真菌及厌氧菌培养，同时直接制片或甩片制片。

5.16.2 标识

- a) 使用具体的解剖部位及类型描述来自眼部的标本，如左眼、右眼、角膜/结膜分泌物、角膜/结膜刮取物、结石、前房液、玻璃体标本等；
- b) 注明临床诊断。

5.16.3 转运

所有标本均应当迅速送至实验室。

5.16.4 注释

- a) 角/结膜刮取物、前房及玻璃体抽吸液量很少，宜在诊室或患者床边采集标本后直接接种培养皿和制备涂片；
- b) 结膜感染时，即使只有一只眼睛感染，也宜对两眼的结膜取样，有助于正常定植菌与致病菌的判断；
- c) 结膜刮片采样可在使用不含防腐剂的表面麻醉剂后进行，用于细菌、真菌、沙眼衣原体、病毒和阿米巴等培养；分泌物采集不建议使用麻醉药。

5.17 耳标本

5.17.1 方法

- a) 取中耳标本时，若鼓膜完整，先用肥皂水清洁耳道，再行鼓膜穿刺术用注射器抽出中耳内液体；
- b) 取中耳标本时，若鼓膜穿孔，通过耳镜用软杆的采样拭子收集液体（仅限于需氧培养）；
- c) 外耳道：用湿拭子将耳道的碎屑或硬皮除去，用一新拭子在外耳道用力旋转拭子取样。

5.17.2 注释

- a) 对复杂的、反复的或慢性顽固性中耳炎宜做鼓膜穿刺术；
- b) 中耳渗出液直接涂片革兰染色对临床很有帮助。

5.18 皮肤、结缔组织及伤口标本

- a) 闭合性脓肿：消毒皮肤后，用注射器抽取脓肿物，无菌转移所有抽吸物至厌氧和需氧转运装置中。
- b) 开放性脓肿：用无菌生理盐水或75%酒精擦拭去除表面分泌物，尽可能采集抽吸物，或将采样拭子插入至病灶的底部或脓肿壁取其新鲜边缘部分。
- c) 脓疱或水疱：酒精消毒挥发后，挑破脓疱，用拭子收集脓液；较大的脓疱消毒后宜直接用注射器抽取。陈旧的脓疱，去除损伤表面，用拭子擦拭损伤基底。
- d) 蜂窝织炎液化后宜先注射无菌生理盐水随后抽吸，可以获得足量的标本进行培养。若患者病情迅速进展，或蜂窝织炎没有液化则需要采集组织活检标本。
- e) 伤口标本：区分浅表伤口标本、深部伤口标本及外科手术伤口标本。宜从感染进展的前缘采集活检标本。活检标本和抽吸物（脓液、渗出液）优于拭子标本；浅表伤口标本不能进行厌氧培养。

- f) 烧伤伤口：清洁并清除烧伤创面，有液体渗出时，用拭子擦拭取样。烧伤的组织宜做定量培养，定量检验结果 $\geq 10^5$ CFU/g 则可预示有可能进展为创伤相关脓毒症。
- g) 溃疡或褥疮：用无菌生理盐水或 75% 酒精擦拭去除表面分泌物，尽可能采集抽吸物。

参 考 文 献

- [1] American Society for Microbiology. Manual of clinical microbiology. 11th Edition. 2015
- [2] American Society for Microbiology. Clinical Microbiology procedures handbook. 3rd edition. 2010
- [3] Baron EJ, Miller JM, Weinstein MP, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). Clin Infect Dis. 2013; 57:e22–e121
- [4] Johns Hopkins Medical Microbiology. Specimen collection guidelines. 2013
- [5] American Society for Microbiology. A guide to specimen management in clinical microbiology. 2nd edition. 1998
- [6] American College of Physicians. Expert Guide to Infectious Diseases. 2nd edition. 2002
- [7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 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. 中华人民共和国卫生部令第45号. 2005
- [8] Nair B, Stapp J, Stapp L, et al. Utility of gram staining for evaluation of the quality of cystic fibrosis sputum samples. J Clin Microbiol. 2002; 40:2791 – 2794.
- [9] CLSI. Principles and procedures for blood cultures; approved Guideline. CLSI document M47-A. 2007.
- [10] Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, et al. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2013; 56:e1–e25.
- [11] Kalil AC, Metersky ML, Klompaas M, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. Clin Infect Dis. 2016; 63:e61–e111.
- [12] CLSI M40-A2. Quality control of microbiological transport systems; approved standard, 2nd edition. (2014)
- [13] CLSI M54-A. Principles and procedures for detection of fungi in clinical specimens direct examination and culture; approved guideline. (2012)
- [14] WS/T 503—2017 临床微生物实验室血培养操作规范
- [15] WS/T 499—2017 下呼吸道感染细菌培养操作指南
- [16] WS/T 348—2011 尿液标本的收集及处理指南