

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 805—2022

临床微生物检验基本技术标准

Basic technical standard for clinical microbiology laboratory

2022 - 11 - 02 发布

2023 - 05 - 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 无菌操作及消毒灭菌技术要求	2
5 标本处理及制片技术要求	3
6 染色技术要求	4
7 显微镜检查技术要求	4
8 接种技术要求	5
9 培养技术要求	7
10 鉴定技术要求	8
11 分子检测技术要求	11
12 免疫学检测技术要求	12
13 质量保证	12
参考文献	15

前 言

本标准由国家卫生健康标准委员会临床检验标准专业委员会负责技术审查和技术咨询，由国家卫生健康委医疗管理服务指导中心负责协调性和格式审查，由国家卫生健康委医政司负责业务管理、法规司负责统筹管理。

本标准起草单位：华中科技大学同济医学院附属同济医院、中国人民解放军总医院、北京医院/国家卫生健康委临床检验中心、中国医学科学院北京协和医院、北京大学人民医院、安徽省立医院。

本标准主要起草人：沈定霞、孙自镛、胡继红、徐英春、胡云建、王辉、马筱玲、简翠。

临床微生物检验基本技术标准

1 范围

本标准规定了医学实验室在临床微生物检验领域的基本技术要求。
本标准适用于开展临床微生物检验的医学实验室。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本标准；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

GB 19489 实验室生物安全通用要求
WS/T 442 临床实验室生物安全指南
WS/T 639 抗菌药物敏感性试验的技术要求
WS/T 497 侵袭性真菌病临床实验室诊断操作指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

消毒 disinfection

杀灭或清除物体上活的病原微生物的方法。

3.2

灭菌 sterilization

杀灭物体上所有微生物（包括细菌芽胞在内的全部病原微生物和非病原微生物）的方法。

3.3

无菌 asepsis

指不存在活菌。

3.4

无菌操作 aseptic operation

防止微生物进入人体或无菌物品、无菌区域的操作。

3.5

接种 inoculation

将目标微生物转移至适于生长繁殖的人工培养基或活的生物体内的方法。

3.6

荧光淬灭 fluorescence quenching

指由于荧光分子与其他分子发生作用而出现的光度降低、发光时间缩短乃至停止发光的现象。

3.7

一套血培养 a set of blood culture

从同一个穿刺点采集的血液，通常分别注入一个需氧血培养瓶和一个厌氧血培养瓶进行血培养。

3.8**微生物培养 microbial culture**

利用人工培养基和适宜的培养条件（如温度、气体环境等），使微生物生长繁殖的技术。

3.9**细菌鉴定 identification of bacteria**

以细菌系统分类学为原则，通过一系列的方法，将未知细菌归到一定种属的过程。

4 无菌操作及消毒灭菌技术要求**4.1 无菌操作技术要求**

对各类标本进行采集、接种等过程及对已生长的微生物进行血清凝集、鉴定和药敏试验等操作时需要进行无菌操作。无菌操作技术要求包括：

- a) 接触培养标本的所有器材必须经过灭菌处理；
- b) 稀释标本或制备菌液的液体必须经过灭菌处理；
- c) 用于微生物培养的各类培养基在使用前应保证无菌生长；
- d) 接种标本或转种菌株应将接种环（针）加热灭菌，或使用一次性无菌接种环（针）；
- e) 打开容器挑取标本或培养物后，应尽快盖回盖子，防止他们被污染或造成交叉污染；
- f) 用加样器和吸头从试管中吸取体液标本或菌液时，应注意加样器勿接触管壁。

4.2 消毒灭菌技术要求

临床微生物实验室常用的消毒与灭菌技术及要求见表1。

表1 临床微生物实验室常用的消毒与灭菌技术及要求

待消毒灭菌对象	化学法消毒与灭菌技术	物理法消毒与灭菌技术
工作台面和地面	一般采用含有效氯 400 mg/L~700 mg/L 的消毒液，作用 30 min； 经血传播病原体、结核分枝杆菌等，采用含有效氯 2000 mg/L 的消毒液，作用>60 min。	紫外灯辐照强度应不低于 70 μW/cm ² ，安装紫外灯的数量≥1.5 W/m ³ ，照射时间≥30 min。
实验室空气	无人状态下： 1) 3%过氧化氢，或 5000 mg/L 过氧乙酸，或 500 mg/L 二氧化氯等喷雾； 2) 15%过氧乙酸水溶液（7 mL/m ³ ）或二氧化氯（10 mg/m ³ ~20 mg/m ³ ）或臭氧（20 mg/m ³ ）熏蒸。	无人状态下，紫外灯消毒：紫外灯辐照强度应不低于 70 μW/cm ² ，安装紫外灯的数量≥1.5 W/m ³ ，照射时间≥30 min。有人状态下，采用循环风紫外线空气消毒器或静电吸附式空气消毒器，遵循产品使用说明。
仪器表面、内壁	用 70%酒精擦拭（适用时）。	/
玻璃器材	玻璃器材用含有效氯 1000 mg/L 的含氯消毒剂或 70%酒精浸泡后清水冲洗，过 3 遍蒸馏水，干燥后包装高压。	高压蒸汽灭菌：121 °C 15 min~30 min。
配制的培养基	/	大部分培养基经 121 °C 15 min 高压蒸汽灭菌，含葡萄糖培养基 115 °C 15 min；XLD 培养基煮沸 10 min；SS 培养基煮沸 1 min~2 min； 显色培养基 100 °C 15 min。
检测后标本	/	高压蒸汽灭菌 121 °C 20 min。
培养物	/	高压蒸汽灭菌 121 °C 20 min。

5 标本处理及制片技术要求

5.1 标本处理的技术要求

微生物实验室根据标本类型、性状以及目标微生物种类进行标本处理的技术要求见表2。

表2 微生物标本处理的技术要求

标本处理	技术要求
离心	对肉眼所见清亮的体液标本，使用普通离心机离心后取沉淀进行接种及涂片；对脑脊液涂片标本宜使用细胞离心机（1500 g~2500 g, 15 min）进行甩片离心；进行结核分枝杆菌培养的脑脊液标本量建议至少在5 mL以上。
剪切	进行毛霉目真菌培养的标本，用无菌剪刀或手术刀片将组织剪成碎条状、块状或团状。
研磨	对块状组织标本，用无菌组织研磨器或研钵和杵，加入适量的生理盐水或营养肉汤进行研磨。研磨后的组织浆液用于接种及涂片。
去污染	对可能存在目标菌之外的污染菌的标本，进行去污染处理。如从痰标本中分离军团菌可采用KCL-HCL缓冲液（pH2.2）对痰标本进行1:10稀释，室温放置4 min后进行接种；分离厌氧菌（如产气荚膜梭菌或艰难梭菌），可采用与标本等量的无水（或95%）乙醇混合标本，室温（25℃）放置1 h，或采用80℃加热10 min后，接种至厌氧培养基。
液化	对黏稠痰，用消化液分散黏液成份。如对痰标本中的结核分枝杆菌，可采用N-乙酰-L-半胱氨酸（NALC）及2%~4% NaOH，作用一定时间后进行涂片及接种。

5.2 制片的技术要求

5.2.1 制片的种类与技术要求

制片宜在生物安全柜内进行并尽可能使其自然干燥，不建议加热干燥，若采用烤片机，温度宜控制在60℃以下。用于检查分枝杆菌的涂片必须在Ⅱ级生物安全柜内进行。制片的种类与技术要求见表3。

表3 制片的种类与技术要求

种类	技术要求
涂片	用拭子或接种环取干酪样、脓性或血性痰均匀涂抹于玻片上；或用滴管吸取穿刺液、脓液滴到载玻片中央，使其均匀涂抹开；也可将采取了标本的拭子在玻片上轻柔滚动；也可用接种环取菌落在滴有生理盐水的载玻片上研磨。制备涂片要注意：1）避免标本因留置时间过长导致杂菌过多或致病菌溶解；2）避免采用陈旧培养物影响革兰染色的染色性；3）所形成涂膜的大小通常1 cm×2 cm，厚度以透过涂膜能辨认报纸上的文字为宜。
悬滴	显微镜检查有鞭毛的细菌时，可采用滴管吸取粪便标本直接滴到载玻片上；或将在碱性蛋白胨水增菌培养后的培养物滴到载玻片上。
粘片	对丝状真菌菌落，采用胶带粘性面粘取真菌菌落，然后将胶带置于已滴加乳酸酚棉蓝染液的载玻片上，用以保持真菌特征性结构的原始位置。
压片	对浓稠或颗粒状标本，要先将其放到载玻片上，再用另一张载玻片放其上，两张载玻片对压后分开，两张载玻片接触标本的一面均可作为压片标本。
印片	大块组织标本要先用无菌刀片切（或用无菌剪刀剪）成小组织块，再用镊子取组织放到玻片上，稍加用力使组织在载玻片上形成印迹，去掉组织块。

5.2.2 固定

为了使标本贴紧载玻片，需进行固定，防止染色过程中脱落。可采用加热固定或使用甲醇固定。加热固定时，载玻片要迅速通过酒精灯的外焰，来回3次；利用电热灭菌器固定时，不要将载玻片紧贴电

热灭菌器，时间不宜超过10 s；采用甲醇固定时，将无水甲醇覆盖在已加有标本的载玻片上，待其挥发干后即可使用。

6 染色技术要求

微生物实验室常用的染色方法、技术要求及质量控制见表4。

表4 常用微生物染色方法、技术要求及质量控制^注

染色方法		技术要求	质量控制
革兰染色		1) 染色与脱色时间不宜过长或过短，以免影响染色结果； 2) 不推荐对鼻拭子、咽拭子等拭子标本及血标本直接进行涂片染色，导管不宜涂片染色。	金黄色葡萄球菌（ATCC 25923）或已知革兰阳性菌染成紫蓝色，大肠埃希菌（ATCC 25922）或已知革兰阴性菌染成粉红色。
抗酸染色		1) 采用石炭酸复红染色时，推荐加热染色，时间为5 min；如采取不加热染色，时间宜不低于15 min； 2) 血液及导管不宜进行抗酸染色。	龟分枝杆菌（ATCC 93326）或已灭活分枝杆菌或已知抗酸杆菌染成红色。
弱抗酸染色		采用“1%~2%硫酸水溶液脱色1 min~2 min代替抗酸染色中的“3%盐酸酒精脱色2 min”。	诺卡菌或马红球菌属或戈登菌属或冢村菌属标准菌株（或质控菌株或已知弱抗酸染色细菌）染成红色。
荧光染色	金胺(0)染色	1) 使用金胺(0)染色的时间为15 min； 2) 在暗室中镜检。	分枝杆菌标准菌株（或质控菌株或已知分枝杆菌）呈橙黄色荧光。
	真菌荧光染色	真菌荧光染色的时间一般数秒即可，但对于指甲等厚硬组织及黏稠标本，需先经10%~30% KOH消化，再加入荧光染色液，可适当延长染色时间。	黑曲霉菌孢子和菌丝呈蓝绿色荧光（视荧光染液不同而不同）。
墨汁染色		1) 墨汁与脑脊液标本的比例以1:1或1:2为宜； 2) 加盖玻片应轻放以防止气泡产生，影响观察。	新型隐球菌具有厚荚膜，并可见芽生细胞。
六胺银染色		1) 玻片处理：甲醇固定后，自然风干，1%过碘酸滴染10 min，流水冲洗； 2) 银染1 h~1.5 h，通常念珠菌染色1 h即可，疑为曲霉菌或其他丝状真菌须适当延长染色时间（银染试剂现用现配，只用一次）。	根据ATCC 90028白念珠菌着色（棕黑色）的深浅调整染色时间。
乳酸酚棉蓝染色		1) 待检物在乳酸酚棉蓝染液中应静置5 min，以使真菌菌丝及孢子着色； 2) 对于透明菌丝的丝状真菌，采用75%酒精进行适当稀释可以更清晰看到产孢结构和孢子排列方式。	黑曲霉菌具有孢子和菌丝的形态，染成蓝色。
注：使用商品化染液应遵循产品说明书。			

7 显微镜检查技术要求

7.1 普通光学显微镜检查的技术要求

7.1.1 革兰染色标本的镜检要求

在进行革兰染色标本观察时，需要注意：

- 在油镜下观察菌体形态、排列、染色性，以及细菌是否在白细胞内或白细胞周围；
- 将血液及脑脊液培养阳性标本革兰染色镜检结果作为危急值报告；对于痰及气管抽吸物标本宜根据低倍镜下鳞状上皮细胞数量及白细胞数量判断是否合格；未离心尿液中，若每个油镜视野看到1个细菌，相当于尿液细菌计数 10^5 /mL；生殖道标本若见到革兰阴性双球菌，宜报告其是否位于中性粒细胞内；
- 若在低倍镜下发现真菌菌丝或孢子，应转换至高倍镜或油镜确认。

7.1.2 抗酸及弱抗酸染色标本的镜检要求

在观察抗酸染色及弱抗酸染色标本时，需要做到：

- a) 观察抗酸染色标本时，要将玻片按一定方向及顺序移动，做到不漏检、不重复。连续观察300个油镜视野未发现抗酸杆菌，方可报告抗酸染色阴性；
- b) 观察弱抗酸染色标本时，应注意尽可能全范围、多视野进行观察，并注意菌体的形态和排列。

7.1.3 墨汁染色标本的镜检要求

在低倍镜下寻找有荚膜的酵母细胞，找到后，转换至高倍镜下确认。具有宽厚荚膜且伴有或不伴有出芽者为隐球菌，脑脊液中发现隐球菌需按危急值报告。治疗后菌体减少，荚膜变薄，要注意识别。

7.1.4 乳酸酚棉蓝染色标本的镜检要求

观察真菌菌丝、孢子的形态，以及菌丝与孢子的关系。注意培养基种类和丝状真菌的培养时间会影响孢子的形成。

7.1.5 不染色标本的镜检要求

对不染色标本的显微镜检查，需要注意：

- a) 经阴道采样制作的湿片：注意观察白细胞、黏附细菌的鳞状上皮细胞、酵母菌和阴道滴虫等；
- b) KOH湿片：注意观察真菌结构，如酵母细胞、菌丝和横隔等。

7.2 荧光显微镜检查的技术要求

荧光显微镜主要用于观察没有自发荧光、经荧光染色后能发出荧光的病原体。荧光染色后的标本要尽快观察，避免荧光淬灭对观察结果的影响；用油镜观察标本时，采用无荧光的特殊镜油；可在高倍镜（物镜40倍，目镜10倍）观察涂片，至少连续观察50个视野未发现抗酸杆菌，方可报告荧光染色抗酸杆菌阴性；荧光染色观察真菌时，应注意具有不同荧光颜色和荧光强度的真菌孢子和菌丝。

7.3 暗视野显微镜检查的技术要求

在暗室内进行暗视野显微镜的观察。如无暗室，应尽可能使用遮光装置，以阻止目镜周围的光线射入。若视场中样品与背景明暗反差不强，可调节聚光器的位置以提高照明光源的照明强度。在暗视野显微镜下观察到运动活泼、呈穿梭状或流星状运动的细菌，应用O1群及O139群霍乱弧菌凝集血清分别做制动试验。暗视野显微镜下观察梅毒螺旋体时，应注意寻找细长、两端尖锐、弹簧或螺旋状、折光强的菌体，并注意其是否沿纵轴旋转并可前后运动。

8 接种技术要求

8.1 微生物不同接种方式的技术要求

微生物不同接种方式的技术要求见表5。

表5 微生物不同接种方式的技术要求

接种方式	技术要求
平板划线法	分三区（或四区）划线，后面一区划线的起始处与前一划线有所重叠，以获得单个菌落。平板划线时，平板宜适当倾斜，防止空气或环境微生物落入平板。
平板涂布法	用玻璃棒（或棉签）将一定量的菌液均匀密涂于平板培养基表面。
平板倾注法	先将培养基溶化并冷却至45℃~50℃，再加入一定量标本，混匀后倾入灭菌空平板内，待凝固后放入孵箱进行培养。
点种法	将标本或菌种采用单点或多点接种至平板或斜面培养基表面。同一块平板上仅点种来自同一患者的标本。
穿刺法	穿刺时，接种针伸入半固体培养基，但不要触到管底。
斜面接种法	接种针穿刺至下层时勿触及管底，在斜面上接种时作蛇形划线。

表5 微生物不同接种方式的技术要求（续）

接种方式	技术要求
液体接种法	接种至液体培养基或血培养瓶的标本要与培养液混匀。
滚动接种法	将静脉导管在血平板上来回滚动4次。
自动化接种仪法	采用自动化接种仪进行接种时，需提前对痰、粪便等黏稠标本进行液化处理；导管、组织块及低于接种仪器取得量的脑脊液等液体标本不宜进行自动化接种。

8.2 微生物接种通用的技术要求

接种临床送检的微生物标本时，应做到：

a) 临床微生物标本接种应在二级生物安全柜中进行（参见GB 19489和WS/T 442）。标本接种过程要注意无菌操作，避免培养基受到环境微生物污染；

b) 实验室收到标本后应尽快接种。如果不能及时接种，应根据所培养的目标细菌选择合适的标本存储条件，或在收集标本时，选用适当的转运培养基。避免延迟接种导致的细菌自溶或死亡，避免污染菌过度生长掩盖致病菌，避免因标本存储不当而降低培养阳性率。

8.3 初次分离用培养基的选择及接种的技术要求

针对微生物检测项目和标本类型，应适当选择初次分离用的培养基种类，接种的技术要求见表6。

表6 不同送检项目和标本类型所需的培养基种类与接种的技术要求

项目	标本	选择培养基种类 ^注	接种的技术要求
细菌需氧培养	尿液	A, B。	进行定量培养的尿液标本需要接种至血平板（见9.2.1）。
	呼吸道标本	A, B, C+。	对痰、气管及支气管吸取物分区划线至平板培养基；对支气管肺泡灌洗液宜进行定量接种培养（见9.2.2）。
	粪便	常规：A, B, SS平板/XLD平板；根据目标致病菌选用液相增菌培养基。	划线法接种至常规培养基；按液体接种法接种至液相增菌培养基，增菌后再用划线法转种至相应固相培养基。
	血液	血培养瓶，儿童患者需采用儿童瓶。	每个穿刺点进行一套血培养；宜从不同穿刺点进行至少两套血培养。建议每个血培养瓶接种8 mL~10 mL血液，儿童血培养的接种量宜遵循儿童采血规范。
	脑脊液	A, C, 脑心浸液或血培养瓶。	离心，取沉淀进行接种。若无脑心浸液肉汤，可接种血培养瓶。
	体液（胸水、腹水、心包积液、关节液）	A, C, 增菌肉汤或血培养瓶。	若直接接种血培养瓶，建议接种8 mL~10 mL。
	组织	A, B, C, 增菌肉汤。	组织经研磨后取匀浆接种。难以研磨者可经超声处理后接种。
	腹透液	A, B, C。	取50 mL腹透液，离心后用沉渣进行接种。
	导管	A。	导管长度5 cm，在血平板上来回滚动4次。
淋病奈瑟菌培养	生殖道标本	A, B, C。	分区划线以获得单个菌落。
	生殖道标本	C+。	分区划线以获得单个菌落。
厌氧菌培养	脓肿穿刺液、膀胱穿刺尿等	A, 厌氧血平板。	分区划线以获得单个菌落。需氧及厌氧血平板分别放于需氧和厌氧环境培养。
厌氧放线菌培养	痰、组织、穿刺液等		
诺卡菌培养	阴道拭子、直肠拭子等	A, 无乳链球菌显色平板，选择性增菌肉汤。	平板划线法，液体接种法。
艰难梭菌培养	粪便	CCFA或艰难梭菌显色培养基。	在培养基中添加抗菌素或将粪便标本与等量无水乙醇混匀以去除粪便中的杂菌。
霍乱弧菌培养	水样或米泔样粪便	碱性蛋白胨水，TCBS培养基。	将粪便标本按液体接种法接种至碱性蛋白胨水；或按划线法接种至TCBS培养基。

表6 不同送检项目和标本类型所需的培养基种类与接种的技术要求(续)

项目	标本	选择培养基种类 ^注	接种的技术要求
无乳链球菌培养	阴道拭子、直肠拭子	A, 无乳链球菌显色平板。	分区划线以获得单个菌落。
真菌培养	呼吸道标本、尿液等	含抗生素的沙保弱平板或斜面, 念珠菌显色培养板(可选)。	需要较长时间培养时, 接种沙保弱斜面培养基。
	脑脊液、胸水、腹水等	D, 含抗生素的脑心浸液, 念珠菌显色培养板(可选), 真菌培养瓶。	注入真菌培养瓶或离心后取沉淀进行接种。
	组织	D。	将组织剪切或研磨后点种。如怀疑为毛霉目真菌感染时, 不宜研磨。
	毛发、皮肤、甲标本	含抗生素的沙保弱平板。	直接点种沙保弱平板。
分枝杆菌培养	血液	需氧血培养瓶或真菌血培养瓶。	从不同穿刺点采样, 分别注入2个需氧血培养瓶, 或2个真菌血培养瓶, 每瓶采集8 mL~10 mL血液。
	痰、尿液、脑脊液等	分枝杆菌液体培养基, 罗氏固体培养基。	标本经处理(液化、离心、去污染)后接种。
	血液	分枝杆菌血培养瓶。	将抽取的血液注入分枝杆菌血培养瓶。

注: A: 血平板; B: 中国蓝/麦康凯平板; C: 不加万古霉素巧克力平板; C+: 加万古霉素巧克力平板; D: 含或不含抗生素的沙保弱平板或斜面; CCFA: 环丝氨酸头孢西丁果糖琼脂平板; TCBS: 硫代硫酸盐柠檬酸盐胆盐蔗糖琼脂平板。

9 培养技术要求

9.1 微生物主要培养方式的技术要求

针对微生物的主要培养方式, 技术要求(营养条件、气体环境、培养温度、培养时间等)见表7。

表7 微生物主要培养方式的技术要求^{注1}

培养方式	技术要求				
	营养条件(培养基)	气体环境 ^{注2}	培养温度 ^{注3}	培养时间 ^{注4}	质控菌株 ^{注5}
需氧菌培养	各种营养培养基(血平板、巧克力平板)、肉汤(脑心浸液)等。	空气, 含5%~10% CO ₂ 气体。	35℃±2℃	18 h~48 h	肺炎链球菌(α溶血性) ATCC 49619; 化脓链球菌(β溶血性) ATCC 19615。
苛养菌培养	各种营养培养基(血平板、巧克力平板)。	含5%~10% CO ₂ 气体。	35℃±2℃	18 h~48 h	肺炎链球菌 ATCC 49619(血平板); 流感嗜血杆菌 ATCC 49766(巧克力平板)。
厌氧菌培养 ^{注6}	厌氧血平板、厌氧菌选择培养基。	5% CO ₂ 、10% H ₂ 和85% N ₂ 混合气体。	35℃±2℃	48 h~72 h	溶组织梭菌 ATCC 19401 或产气荚膜梭菌 ATCC 13124。
微需氧菌培养	专用血平板、肉汤等。	5% O ₂ 、10% CO ₂ 和85% N ₂ 混合气体。	35℃±2℃, 或42℃	48 h~72 h	幽门螺杆菌 ATCC 43504。
分枝杆菌培养	罗氏固体培养基、分枝杆菌液体培养基。	空气。	35℃±2℃	3 d~8 w	卡介苗(BCG)菌株或堪萨斯分枝杆菌。
真菌培养	酵母样真菌培养		35℃±2℃	2 d~14 d	白念珠菌 ATCC 14053。
	丝状真菌培养 真菌小培养 (玻片琼脂块法)		27℃±1℃, 35℃(双相真菌) 27℃±1℃	2 d~14 d, 或8 w(荚膜组织胞浆菌) 2 d~14 d	烟曲霉 ATCC 96918。

表7 微生物主要培养方式的技术要求^{注1} (续)

培养方式	技术要求				
	营养条件(培养基)	气体环境 ^{注2}	培养温度 ^{注3}	培养时间 ^{注4}	质控菌株 ^{注5}
				2 d~14 d	
支原体培养	肺炎支原体培养		35 ℃±2 ℃	4 d~20 d	解脲支原体 ATCC 27815 (血清III型)
	泌尿生殖道支原体培养		35 ℃±2 ℃		

注1: 病毒培养可选用鸡胚培养、组织或细胞培养等, 根据拟培养病毒的生长特性确定, 必要时送专门的病毒实验室。
注2: 表中空气指普通大气环境;
注3: 根据目标菌的生长特点, 选择适宜的培养温度;
注4: 根据目标菌的生长特点, 可适当延长培养时间(如诺卡菌的培养时间为5天);
注5: 可采用标准菌株、质控菌株或临床分离菌株;
注6: 厌氧菌培养宜采用从封闭腔隙或深层组织如脓肿穿刺液、蜂窝织炎深处组织等获取的标本。

9.2 微生物定量培养技术要求

9.2.1 尿液定量培养的技术要求

对尿液标本进行定量培养, 应做到:

- 采用中段尿、膀胱穿刺尿、导管直接导出的尿液或夹住导尿管远端从导尿管穿刺出来的尿液进行定量培养, 不可使用导管导出至尿袋中的尿液进行定量培养;
- 采用血平板进行尿液定量培养;
- 使用定量接种环取混匀但未离心的尿液标本时应见接种环内有尿液形成的薄膜;
- 接种环在血平板上不可重复划线, 避免菌落重叠导致计数不准;
- 接种好的平板放入含5%~10%的CO₂孵箱, 35 ℃±2 ℃培养24 h, 观察并进行菌落计数。若无菌生长, 应继续培养至48 h观察并计数, 报告计数单位为每毫升菌落形成单位(Colony forming units per milliliter, CFU/mL)。

9.2.2 支气管肺泡灌洗液定量培养的技术要求

对支气管肺泡灌洗液标本进行定量培养, 应做到:

- 采用血平板及巧克力平板进行呼吸道标本的定量培养;
- 将支气管肺泡灌洗液震荡混匀, 用加样器或定量接种环进行接种, 采用L型玻璃棒或接种环进行均匀涂布;
- 将接种好的血平板和巧克力平板放入含5%~10% CO₂的孵箱, 35 ℃±2 ℃培养, 24 h后, 观察并进行菌落计数。若无菌生长, 则继续培养至48 h或更长长时间后观察并计数, 报告计数单位为“CFU/mL”。

10 鉴定技术要求

10.1 微生物鉴定通用的技术要求

不管采用何种方法, 当进行微生物鉴定时, 需要注意:

- 选择可疑致病菌的纯培养物进行鉴定;
- 尽可能将病原菌鉴定到种(或属), 可采用一种或多种鉴定方法。若实验室不具备对特殊重要致病菌的鉴定能力, 应将其送至有能力鉴定的实验室或所属的临床检验中心进一步鉴定;
- 当鉴定发现具有生物安全危害的病原菌时(如炭疽杆菌、O1群或O139型霍乱弧菌、布鲁杆菌等)应及时上报当地疾病预防控制中心进行确认;
- 对明确鉴定的、有临床意义的致病菌按照相关指南进行药物敏感试验(参见WS/T 639和WS/T 497)。

10.2 手工法鉴定的技术要求

常用手工法鉴定试验的技术要点与要求见表8,开展手工法鉴定时应当注意:

- a) 利用手工法进行鉴定时,应选择合适的鉴定试验;
- b) 根据菌落形态、革兰染色性、手工生化反应(如葡萄糖发酵、氧化酶、触酶等)试验将待测细菌初步分类;
- c) 进行生化鉴定试验时,应挑取纯菌落,进行触酶试验时,不要取到血平板上的琼脂,进行氧化酶试验时,不要用在含有染料的培养基(如麦康凯平板、中国蓝平板)上或含有葡萄糖的培养基上生长的菌落;
- d) 注意培养时间对鉴定试验结果的影响。如芽管试验因孵育时间超过3 h,非白念珠菌会出现假阳性;
- e) 手工法鉴定时,应同时设立阳性和阴性质控对照。

表8 常用手工法鉴定试验的技术要点、要求和应用范围

试验名称	技术要点及要求	应用举例 ^{注1}
氧化酶试验	纸片法:取菌落至加有氧化酶试剂的滤纸上,观察纸片颜色变化;平板法:将氧化酶试剂直接滴到平板中的菌落上,观察菌落颜色变化。在10 s~30 s或30 s~60 s出现蓝色至紫色变化者为阳性或弱阳性;60 s内没有颜色变化为阴性。	肠杆菌目细菌为阴性;弯曲菌、非发酵菌(除不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌及个别假单胞菌外)为阳性。巴斯德菌为弱阳性。
吲哚试验	挑取纯培养物接种蛋白胨液体培养基,于35℃~37℃培养1 d~2 d,沿管壁加入Kovac氏试剂0.5 mL,在两种液面接触处出现红色为阳性,无色为阴性。	普通变形杆菌、大肠埃希菌为阳性;奇异变形杆菌、沙门菌为阴性。
脲酶试验	采用纸片法、琼脂或肉汤培养基法检测细菌产生的脲酶。如酚红指示剂由黄色变为红色为脲酶试验阳性。	变形杆菌属、耶尔森菌属、幽门螺杆菌、新型隐球菌及格特隐球菌为阳性;布鲁杆菌显示快速阳性。
双糖铁试验	用接种针挑取纯培养物,穿刺至双糖琼脂底部以上5 mm处,然后在斜面上蛇形划线,于35℃~37℃培养18 h~24 h,观察斜面和管底的颜色变化。	大肠埃希菌:斜面黄色/底部黄色、产气;志贺菌:斜面红色/底部黄色;产硫化氢的沙门菌:斜面红色/底部黑色。
动力试验	半固体法:用接种针挑取纯培养物,垂直穿刺入半固体培养基内,35℃~37℃培养18 h~24 h。若穿刺线清晰未扩散为动力阴性;若穿刺线模糊或有扩散生长的痕迹,则动力阳性。 悬滴法:将细菌悬液滴于盖玻片中央,翻转,置于凹玻片的凹窝中央,直接放在显微镜下观察细菌形态和运动。	大肠埃希菌、变形杆菌为阳性;志贺菌为阴性。
DNA酶试验	将新鲜培养的待检菌涂抹至含有指示剂及DNA的培养基中,经22℃~25℃培养24 h~72 h后观察培养基的颜色变化,或在含有指示剂的培养基中加入1 mol/L盐酸后观察菌苔周围的晕圈。培养基改变颜色(或形成晕圈)为DNA酶试验阳性。	金黄色葡萄球菌、卡他莫拉菌、沙雷菌和嗜麦芽窄食单胞菌为阳性;大肠埃希菌和表皮葡萄球菌为阴性。
触酶试验	先取18 h~24 h培养的纯菌落至玻片,再滴加3% H ₂ O ₂ (鉴定厌氧菌时采用15% H ₂ O ₂),观察气泡的形成。立即见气泡为阳性,无气泡或20 s后形成少数气泡为阴性。	葡萄球菌、微球菌及芽胞杆菌属为阳性;链球菌、肠球菌及梭状芽胞杆菌属为阴性。
凝固酶试验	玻片法(检测结合型凝固酶):将待检菌与生理盐水混匀,20 s内无自凝,则取兔血浆(或EDTA抗凝的健康体检人群混合血浆)至菌液中,若10 s内出现凝集为阳性。 试管法(检测结合型及游离型凝固酶):取单个菌落加入EDTA抗凝的经1:4稀释的血浆管中,35℃ 4 h或25℃ 24 h血浆凝固为阳性。	金黄色葡萄球菌玻片法及试管法均为阳性;路邓葡萄球菌、施氏葡萄球菌玻片法阳性但试管法阴性;中间葡萄球菌玻片法及试管法均可阳性。
CAMP试验 ^{注2}	先将金黄色葡萄球菌ATCC25923直线接种至血平板中央,再将待检菌与此接种线垂直划线(不能触及金葡萄的接种线),置于35℃±2℃ CO ₂ 孵箱中培养24 h。在金葡萄与待检菌的交叉处出现明显箭头型或方型溶血增强现象为阳性。	无乳链球菌为阳性,化脓性链球菌为阴性。产单核细胞李斯特菌及马红球菌也为阳性。

表8 常用手工法鉴定试验的技术要点、要求和应用范围(续)

试验名称	技术要点及要求	应用举例 ^{注1}
胆盐溶菌试验 ^{注3}	试管法: 在已加有1麦氏单位待检菌悬液的2个试管(各约0.25 mL)中分别加0.25 mL胆盐试剂及0.25 mL生理盐水, 35℃孵育3 h, 加胆盐试剂的试管中菌液变为清亮视为阳性。 平板法: 将胆盐试剂滴到经18 h~24 h培养的待检菌落, 盖上盖子, 菌落面朝上, 置35℃±2℃孵育15 min~30 min. 菌落被溶解留下α溶血区或菌落变扁平为胆盐溶菌试验阳性。	肺炎链球菌胆盐溶菌为阳性; 其他α溶血性链球菌为阴性。
卫星试验	将0.5麦氏浓度菌液均匀涂布于胰蛋白酶大豆琼脂平板, 贴上V、X和V+X因子纸片, 在含5% CO ₂ 气体环境35℃培养20 h~24 h。如果待检菌在纸片周围生长, 而远离纸片处生长菌落越小或不生长, 即卫星现象。	流感嗜血杆菌需要V+X因子; 副流感嗜血杆菌仅需要V因子。
拉丝试验	将待检菌加到已有4% NaOH(或4% KOH)的载玻片上, 混匀后用接种环向上拉起, 可见明显拉丝者为阳性。	革兰阴性细菌为阳性; 革兰阳性细菌为阴性。
奥普托欣敏感试验 ^{注4}	将具有α溶血性的链球菌菌株密集划线接种至5%羊血平板上, 再贴含5 μg、直径为6 mm的奥普托欣纸片, 置5%~10% CO ₂ 孵箱中35℃±2℃培养18 h~24 h。纸片周围抑菌圈直径≥14 mm为敏感, <14 mm为中介, 纸片周围无抑菌圈为耐药。	肺炎链球菌对奥普托欣敏感; 其他α溶血性链球菌对奥普托欣耐药。
杆菌肽抑菌试验	将含0.04 U的杆菌肽纸片贴到已按药敏试验方法接种有待检菌的MH(或血琼脂)平板上, 于35℃±2℃孵箱中培养18 h~24 h。抑菌圈直径6 mm为耐药; ≥10 mm为敏感; 7 mm~10 mm需要重复试验。	A群链球菌对杆菌肽敏感, 其他链球菌对杆菌肽耐药; 金黄色葡萄球菌对杆菌肽耐药; 微球菌和罗斯菌对杆菌肽敏感。
新生霉素敏感试验	将含5 μg的新生霉素纸片贴到已按药敏试验方法接种有待检菌的MH(或血琼脂)平板上, 于35℃±2℃孵箱中培养18 h~24 h。抑菌圈直径>16 mm(或≥12 mm)为敏感; ≤16 mm(或<12 mm)为耐药。	腐生葡萄球菌表现为耐药。
芽管形成试验	将1个酵母样真菌菌落加入盛有小牛(或其他动物)血清的试管中, 35℃±2℃培养2 h~3 h, 取生长的酵母菌液滴到载玻片上, 盖上盖玻片, 高倍镜下若见到至少5个芽管(即芽生孢子从母细胞向外生长出来的管状结构), 为阳性。	白念珠菌和都柏林念珠菌为阳性; 热带念珠菌为阴性。
厚膜孢子形成试验	将酵母菌纯培养物接种在1% Tween-80玉米淀粉培养基中, 25℃~30℃培养72 h, 取生长的酵母菌涂在载玻片上, 盖上盖玻片, 在高倍镜下观察。特征性的厚膜孢子为大而壁厚、位于菌丝末端的圆形孢子。	白念珠菌厚膜孢子一般呈单个; 都柏林念珠菌厚膜孢子呈双生或簇生; 其他念珠菌无厚膜孢子或厚膜孢子位于菌丝中间。

注1: 此列中的细菌或真菌指标准菌株或经过鉴定确认的菌株。
注2: 其他链球菌可见溶血增强现象(如火柴棍状);
注3: 试管法较平板法更为敏感; 极个别肺炎链球菌菌株由于失去了荚膜, 不被胆盐溶解; 陈旧培养物因为肺炎链球菌自溶导致结果不可信;
注4: 少数肺炎链球菌对奥普托欣呈中介或耐药, 需要进行胆盐溶菌试验。

10.3 微生物分析仪鉴定的技术要求

采用自动化微生物鉴定仪进行病原菌鉴定时, 需要注意:

- 根据手工法初步分类选择相应的鉴定卡, 切忌不进行初步分类直接使用鉴定卡进行鉴定;
- 仪器提示需增加补充试验时, 应按要求增加相应试验;
- 每一批鉴定卡应按要求进行质控, 使用前检查包装是否有破损, 是否在有效期内;
- 根据制造商对于鉴定数据库的更新要求, 定时更新微生物鉴定系统的数据库。

10.4 质谱仪器法鉴定的技术要求

采用质谱仪进行病原菌鉴定时, 需要注意:

- 待鉴定菌的培养时间应足够, 以满足其达到所需的量和菌株生长状态的要求;
- 对待鉴定菌进行恰当的破壁和蛋白提取处理;

- c) 靶板涂抹应均匀且厚度适中；
- d) 不同的样本应使用不同的基质和配制溶剂，应避免基质液被污染，基质液应加适当量，并与样本形成均匀共结晶；
- e) 应知晓所用质谱系统数据库能够覆盖的菌属种类及局限性，能够识别并采取措施避免质谱仪可能出现的错误鉴定。如将志贺菌属错误鉴定为大肠埃希菌，将肺炎链球菌错误鉴定为缓症链球菌群，将多糖奈瑟菌错误鉴定为脑膜炎奈瑟菌。

10.5 血清凝集法鉴定的技术要求

开展血清凝集试验进行病原菌鉴定时，需要注意：

- a) 应同时做生理盐水对照和阳性质控；
- b) 应先用多价血清再用分型的因子血清做凝集试验；
- c) 当生化反应结果与多价血清凝集试验结果不一致时，应考虑特殊表面抗原的存在。如生化反应符合沙门菌，但A-F多价血清不凝集，应考虑是否存在Vi抗原；又如生化反应符合志贺菌，而与4种多价血清不凝集，应考虑K抗原存在。可将新制成的菌悬液放入沸水浴中加热15 min~30 min，冷却后再次做凝集试验；
- d) 注意商品化血清试剂盒的局限性。若不能分型，需要用其他血清试剂盒或其他方法来分型。

11 分子检测技术要求

微生物分子诊断包括以核酸扩增为核心的荧光定量PCR、巢式PCR、多重PCR、逆转录PCR、数字PCR、等温扩增检测，以核酸杂交为核心的基因芯片检测，以及以测序为核心的扩增子测序、宏基因组测序、全基因组测序检测等。不需要单独进行核酸提取的快速即时检测技术能做到样本进、结果出，已应用于微生物检测。用于微生物分子检测的技术类型和特点见表9。分子诊断技术因其高灵敏性的特点，需要特别注意避免污染。主要的技术要求有：

- a) 基因扩增实验室需要进行严格的物理分隔，设置不同工作区。各区所用的器材(如移液器和吸头)不可混用。工作流程和空气流向按照单一方向进行(如试剂贮存和准备区→样品制备区→扩增区→扩增产物分析区)；如使用全自动扩增检测仪，区域可适当合并；
- b) 用于分子检测的标本宜单独送检，并注意避免污染。不能及时进行检测的标本需要进行适当保存；
- c) 对提取的核酸，宜采取适当的方法确认核酸片段的完整性、核酸的产率及核酸的纯度；
- d) 核酸扩增管在检测后应保持密闭，防止产物逸出及扩散；
- e) 工作结束后应立即对工作区进行清洁，必要时进行消毒及去污染；
- f) 根据所用试剂的检测能力，进行定性或定量结果报告。

表9 用于微生物分子检测的技术类型和技术特点

技术类型	代表技术	技术特点	
核酸扩增	荧光定量 PCR	需要进行核酸提取	高精度、可定量、敏感度高，需防止假阳性。
	巢式 PCR		二次扩增，提高敏感性和特异性。
	多重 PCR		多靶标检测。
	逆转录 PCR		先将 RNA 逆转录为 DNA，再进行 PCR 扩增。操作时应防 RNA 降解。
	数字 PCR		绝对定量。
	等温扩增		简单、快速，特异性高。
基因芯片	核酸杂交		高通量，高灵敏度。
基因测序	扩增子测序 宏基因组测序 全基因组测序		可以检测未知序列，对难培养、慢生长，不明病原菌感染的检测有优势。
即时检测 (point of care, POCT)		不需要单独的核酸提取步骤	安全、简单、快速。样本进，结果出。减少中间环节产生的误差和污染。

12 免疫学检测技术要求

针对不同微生物，采取的免疫学检测方法各异。如胶体金免疫层析法检测嗜肺军团菌（抗原）、肺炎链球菌（抗原）、幽门螺杆菌（抗原）、布鲁杆菌（抗体）及隐球菌（抗原），免疫荧光法检测艰难梭菌（毒素），酶联免疫吸附试验检测真菌（半乳甘露聚糖），分光光度法检测革兰阴性菌（脂多糖内毒素）及真菌{（1-3）- β -D 葡聚糖}等。各免疫学方法的检测敏感性与技术特点有所不同。主要技术要求包括：

- a) 选择适宜的标本类型进行相关微生物的免疫学检测；
- b) 设置与检测方法相适应的质控及对照；
- c) 分析可能影响结果的因素及临床意义；
- d) 了解不同免疫学检测方法的敏感性和特异性；
- e) 根据所用试剂的检测能力，进行定性或定量结果报告。

针对细菌及真菌（成分），目前临床微生物实验室进行免疫学检测的标本类型、检测方法和技术特点见表10。

表10 针对细菌及真菌进行微生物免疫学检测的标本类型、检测方法及技术特点

细菌或真菌（成分）	标本	检测方法	技术特点
嗜肺军团菌（LP1 型抗原）	尿液	胶体金免疫层析法	单份检测、操作简单、快速，灵敏度、特异度较高，肉眼判读结果。只能检测 LP1 型嗜肺军团菌，对于其他 14 种血清型嗜肺军团菌无法检测。
肺炎链球菌（抗原）	尿液/脑脊液	胶体金免疫层析法	单份检测、操作简单、快速，灵敏度、特异度较高、肉眼判读结果，48 h 内接种过肺炎链球菌疫苗可能会产生假阳性结果。
幽门螺杆菌（抗原）	粪便	胶体金免疫层析法	单份检测、操作简单、快速，灵敏度、特异度较高、肉眼判读结果。
布鲁杆菌（IgG 抗体）	血液	胶体金免疫层析法	定性检测、单份检测、操作简单、快速，灵敏度、特异度较高，肉眼判读结果。
新型隐球菌及格特隐球菌（荚膜抗原）	血液/脑脊液	胶体金免疫层析法	单份检测、操作简单、快速，灵敏度、特异度较高，肉眼判读结果。
艰难梭菌（毒素 A/B）	粪便	免疫荧光法	两步酶免夹心法及终点荧光检测技术，半定量检测艰难梭菌毒素 A/B，具有特异度、灵敏度均较高的特性。
真菌（半乳甘露聚糖）	血液/肺泡灌洗液	酶联免疫吸附试验	又称 GM 实验。用特异性抗体检测目标抗原，经酶标抗体包被后在特定波长测定吸光度，实现对真菌半乳甘露聚糖定量检测。
革兰阴性菌（脂多糖内毒素）	血液	分光光度法	定量测定血液中脂多糖含量。
真菌 {（1-3）- β -D 葡聚糖}	血液	分光光度法	又称 G 实验。定量测定血液中（1-3）- β -D 葡聚糖含量。

13 质量保证

13.1 质量管理通用的技术要求

临床微生物实验室的质量管理，至少应涵盖：

- a) 临床微生物检验人员、设备、设施、试剂、耗材、环境等的质量和数量应符合相关规定，满足所提供服务的需要。PCR实验室需通过资质认证。实验室应进行相应的性能验证及质量控制，并保存记录；

- b) 实验室应遵循法规以及行业标准、规范、指南；制定包括检验前、中、后全过程的标准化操作规程，定期审核、修订实验方法，并让员工易于获得；
- c) 应定期进行人员能力评估。由多名专业人员实施的手工检验项目应定期进行人员能力比对；
- d) 制定质量改进目标，如血培养标本质量改进目标。

13.2 微生物检验过程质量保证的技术要求

13.2.1 检验前的技术要求

13.2.1.1 标本选择、采集、储存和运送

临床微生物实验室应明确以下与标本送检相关的内容：

- a) 规定用于检测的标本种类和标本采集的时间；
- b) 规定并提供采集标本的方法和容器；
- c) 规定标本采集后的储存及运送要求，包括温度和时限；
- d) 制定并提供规范的应用单。

13.2.1.2 标本接收

实验室应制定标本接收和拒收标准。拒收时立即反馈，以便必要时重新采集。

13.2.1.3 周转时间

应告知临床医生标本到达实验室至发出报告的时间。

13.2.2 检验中的技术要求

13.2.2.1 标本质量评估

实验室应评估标本质量，退检不合格标本。特殊情况需要检测不合格标本时，应在报告单中说明。

13.2.2.2 检验方法

采用不同检验方法进行临床微生物实验检验前，应明确：

- a) 未经修改的已确认的检验方法（也称为检验程序，已确认的检验方法包括经国家卫生管理部门批准的体外诊断医疗器械使用说明书中的方法，或国家、地区法规规定的方法，或公认的标准、文献中的方法）在性能验证满足要求后，可用于患者标本检测；
- b) 经修改的已确认的检验方法或实验室自建方法，在性能确认满足要求后，方可用于患者标本检测。

13.2.2.3 结果准确性评价

对临床微生物检验结果进行准确性评价，需要做到：

- a) 通过参加室间质量评价或实验室间比对活动评价检验结果的准确性。不能进行室间质量评价或实验室间比对应通过临床评估来评价检验结果的准确性。实验室应保留原始记录和结果；
- b) 检验结果准确性评价应由从事常规工作的人员使用与患者标本相同的检验方法进行。不可与其他实验室核对开展能力验证的检测结果。

13.2.3 检验后的技术要求

13.2.3.1 结果报告

对临床微生物检验结果进行报告，需要注意：

- a) 结果报告内容应与检验目的一致；
- b) 按确定的“危急值”清单，及时报告危急值结果，保留报告记录；
- c) 宜将药敏试验结果分组选择性报告；
- d) 应向临床提供联系方式以便其对可疑结果进行确认，并进行相关咨询。

13.2.3.2 菌种保存

实验室应保存开展室内质量控制及性能验证所需的菌株。

13.2.3.3 标本保存与废弃处置

实验室应规定对检测后标本的保存时间及处置方式。

参 考 文 献

- [1] 国家市场监督管理总局、中国国家标准化管理委员会. 医学实验室 质量和能力的要求 第1部分: 通用要求:GB/T 22576.1-2018. 2018.
- [2] 国家市场监督管理总局、中国国家标准化管理委员会. 医学实验室 质量和能力的要求 第6部分: 临床微生物学检验领域的要求:GB/T 22576.6-2021. 2021.
- [3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会医政医管局. 全国临床检验操作规程(第四版). 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [4] World Health Organization (WHO). Diagnostic stewardship: a guide to implementation in antimicrobial resistance surveillance sites, 2016.
- [5] Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Principles and Procedures for Detection of Fungi in Clinical Specimens – Direct Examination and Culture; Approved Guideline, M54, 2012.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 肺结核诊断:WS 288-2017. 2017.
- [7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 下呼吸道感染细菌培养操作指南:WS/T 499-2017. 2017.
- [8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 尿路感染临床微生物实验室诊断:WS/T 489-2016. 2016.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构消毒技术规范:WS/T 367-2012. 2012.
- [10] 中国医师协会检验医师分会儿科疾病检验医学专家委员会. 儿童血培养规范化标本采集的中国专家共识. 中华检验医学杂志, 2020, 43(5):547-552.
- [11] 胡继红, 马筱玲, 王辉, 等. MALDI-TOF MS在临床微生物鉴定中的标准化操作专家共识. 中华检验医学杂志, 2019, 42(4):241-249.
- [12] American Society of Microbiology (ASM). Clinical Microbiology Procedures Handbook, Washington DC, 2016.
- [13] 王辉, 马筱玲, 钱渊, 等. 临床微生物学手册(第12版). 北京: 中华医学电子音像出版社, 2021.
- [14] 沈定霞. 医学重要真菌鉴定指南(第五版). 北京: 中华医学电子音像出版社, 2016.
- [15] 王辉, 任健康, 王明贵. 临床微生物学检验, 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [16] 赵雁林, 逢宇. 结核病实验室检验规程. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [17] 王端礼. 医学真菌学—实验室检验指南. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
-