

通用细菌采样管

一、 概要

细菌性传染病诊断的一个重要程序为采集和安全运送采集到的样本，这个过程对接下来的致病菌分离、培养、分子生物学检测等步骤起到至关重要的作用。友康细菌采样管采用改良的液体 Amies 培养基，它可以维持细菌在采集、运送过程中的生存能力，保存细菌的核酸和抗原。适用于临床上重要的致病菌：需氧菌及苛养菌的采集及运送。友康细菌采样管是一种不含营养成分的维持培养基，磷酸盐缓冲液可以维持细菌的生存能力，硫乙醇酸盐提供还原环境，氯化钠可以维持细菌细胞的渗透压平衡。

友康通用细菌采样管包含 1 支采样管（内含 1.5mL 液体 Amies 培养基）和 1 支无菌采样拭子。可用于鼻咽部、伤口、肛部、粪便、泌尿生殖道、眼部、耳部等部位的细菌采集。

样本采集后，应该将拭子立即放入采样管内部，使拭子接触到采样液。样本最好在 2h 内运送到实验室进行分析，如果不能及时送至，应将样本保存在 4℃-8℃或 20℃-25℃，48h 内送至实验室，奈瑟氏菌应在 24h 送达。相关研究显示，特定的菌种在冷藏条件下保存性能优于在室温条件下。

二、产品规格

每人份通用细菌采样管组成如下：

- 1 支无菌聚丙烯采样管，规格：90mm×16mm，内含 1.5mL 改良的液体 Amies 培养基。
- 1 支独立无菌包装的拭子。人造纤维拭子或植绒拭子。
- 50 人份/盒

三、产品用途

（一）样本的采集、保存和运送

通用细菌采样管用于人鼻咽部、伤口、直肠、粪便等部位致病菌的采集，包括常见呼吸道致病菌（肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、A 族链球菌、肺炎克雷伯杆菌、铜绿假单胞菌等），肠道致病菌（沙门氏菌、志贺氏菌、副溶血性弧菌、致泻性大肠埃希氏菌、霍乱弧菌、金黄色葡萄球菌等）的采集及运送。

为了维持微生物的最佳生存能力，通用细菌采样管采集后的样本采集后应 2h 内送至实验室。如果不能 2h 内送达，样本应 4-8℃ 或 20-25℃ 保存 48h 内送达（奈瑟氏菌 24h 内送达）。实验室接到样本后应尽快进行处理。

（二）显微镜观察

革兰氏染色技术普遍用于病人临床样本的显微镜观察。显微镜观察是实验室人员评价样本质量的一种有效手段。临床医生可以通过它对传染性疾病做初步推断。临床样本的实验室分析包括染色标本的显微镜观察。临床上有很多关于革兰氏染色有助于疾病诊断的例子；例如：疑似淋病奈瑟氏菌感染的子宫颈内膜或男性尿道的拭子样本。

显微镜染色片的制作方法如下：

- 1、取一洁净的载玻片，置于平台上，并标出样本区。
- 2、连同拭子一起剧烈震荡 5s，使样本从拭子头上释放出来，并分散均匀。
- 3、打开管盖，用无菌移液枪取 1-2 滴采样液滴在载玻片上。
- 4、将载玻片上的样本风干。
- 5、样本用高温或甲醇固定。甲醇固定更加因为它可以阻止红细胞溶解，避免破坏宿主细胞。
- 6、按照实验室操作指南进行革兰氏染色。

关于进一步的样本染色片、革兰氏染色等方法请参考实验室技术指南。

（三）分子生物学检测

将拭子连同采样管一起涡旋 15s，将拭子吸收的样本从拭子头上释放出来，形成菌悬液。该菌悬液可进行 PCR 检测及抗原的检测，具体操作方法请参照实验室操作指南或 PCR 检测试剂盒说明书。

（四）实验室中样本的培养

细菌培养时应采用微生物学指南推荐的培养基。

拭子样本可接种于固体琼脂培养基上。方法如下：

- 1、拇指和食指固定采样管，连同拭子一起剧烈震荡 15s 或用振荡器震荡 15s，使样本从拭子头上释放出来，在液体培养中分散均匀。
- 2、打开管盖，用移液枪取 100μL 混合液滴在平板的第一区，用无菌接种环进行四区划线，以达到细菌分离的目的。

四、产品配方

组成成分	含量（g/L）
氯化钠	3.0
氯化钾	0.2
氯化钙	0.1
氯化镁	0.1
磷酸二氢钾	0.2
磷酸氢二钠	1.15
硫乙醇酸钠	1.0

五、储存条件及有效期

2-8℃或室温 12 个月

六、【质控标准】

（1）外观

应为无色澄清液体。

（2）装量

1.5ml/支

（3）pH 值

灭菌后，该培养基 pH 值应为 7.3 ± 0.2

（4）无菌

产品在有效期内应保持无菌状态

（5）稳定性

产品有效期为一年，产品在过了有效期的一个月內应保持其各种性状的稳定性

（6）产品密闭性要求

采样管经 121℃ 高温、-80℃ 低温、碰撞、挤压不应有漏液现象

七、 使用方法

- 1、 打开采样管包装，将拭子取出，注意：采样前不要接触拭子头。
- 2、 按照不同的采样要求从病人不同部位采样，采样后迅速将拭子放入采样管。
- 3、 将采样管上部拭子折断。旋紧管盖，注明采样信息。

4、将样本尽快送往实验室。样本在 2h 内送达实验室，如果 2h 内不能送达，样本应 4℃-8℃或 20℃-25℃保存，48h 内送达（奈瑟氏菌 24h 内送达）。

八、产品使用的局限性

- 1、可靠的样本采集和运输取决于诸多因素，包括采集和操作技术、样本的状态、体积以及样本保存时间。为达到最佳结果，采集后样本应尽快处理。请参照相关标准和处理程序以便获得最佳的采集样本。
- 2、友康通用细菌采样管用于需氧菌和苛养菌的采集及保存，不适合病毒、衣原体、支原体和脲原体的采集及保存。
- 3、友康通用细菌采样管不建议用于厌氧菌的保存，如果进行厌氧菌的保存请选用厌氧菌专用培养基。
- 4、细菌在友康通用细菌采样管保存时间超过 48h 以后，微生物的性能没有进行评估。
- 5、样本在保存过程中应避免极端的温度。
- 6、通用细菌采样管如果同快速诊断试剂盒连用，请在使用之前进行验证。

九、【产品使用注意事项】

- 1、该产品仅用于体外诊断用途。
- 2、使用后的细菌采样管应进行灭菌处理。
- 3、产品应按要求温度储存，高温会使产品出现沉淀，影响产品性能。
- 4、采集样本后，应保持拭子头浸入采样液，否则会影响保存效果。
- 5、采样液过期或采样液浑浊，或发现漏液现象禁止使用。
- 6、采样拭子为无菌包装，若发现破损，禁止使用。采样拭子打开后即为非无菌状态，不得重新包装使用。
- 7、采集样本时应严格按照采样程序进行，做到采样部位准确，否则会影响后期的检测及分离效果。
- 8、通用细菌采样管仅用于细菌的采集运送，不适合病毒、衣原体、支原体和脲原体的采集运送。
- 9、通用细菌采样管不建议用于厌氧菌的保存、运送。厌氧菌的保存建议选用改良 Cary-Blair、Deep 运送培养基等专门保存厌氧菌的培养基。

十、产品性能研究

（一）通用细菌采样管产品对细菌的采集释放率

释放率试验方法：

- 1.用 0.85% 无菌生理盐水配制 0.5mcf 目标菌悬液(肺炎链球菌、肺炎克雷伯杆菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、志贺氏菌)，稀释到浓度为 10^7 cfu/mL。
- 2.用移液枪取 100 μ L 稀释后的菌悬液，滴入无菌 96 孔板。用采样拭子沾取菌悬液 10s，使菌悬液全部沾在拭子头上，迅速将拭子放入细菌采样管（1.0mL 液体 Amies/0.85% 生理盐水）中，折断采样管以上拭子，拧紧管盖。每次做三组平行。
- 3.将采样管涡旋振荡 20s，采样液进行 10 倍梯度稀释，吸取 200 μ L 采样液（ 10^3 、 10^2 ）滴加到营养琼脂培养基平板上（肺炎链球菌用 7% 绵羊血平板），用无菌涂布棒均匀涂抹至液体被吸干，每个梯度做两组平行。将平板放置 37℃ 培养 24h，必要时培养 48h（肺炎链球菌 5%CO₂），进行菌落计数，该数据记为 $A_{\text{细菌采样管或生理盐水}}$ 。
- 4.对照试验：将 0.5mcf 菌悬液，进行 10 倍稀释，吸取 200 μ L 采样液（ 10^3 、 10^2 ）滴加到营养琼脂培养基平板上，用无菌涂布棒均匀涂抹至液体被吸干，每个梯度做两组平行。将平板放置 37℃ 培养 24h，进行菌落计数，该数据记为： $A_{\text{对照}}$ 。
- 5、释放率计算方法：释放率= $A_{\text{细菌采样管或生理盐水}}/A_{\text{对照}} \times 100\%$

试验结果：

菌株	释放率（%）
肺炎链球菌	65.88
肺炎克雷伯杆菌	40.19
绿脓杆菌	59.75
金黄色葡萄球菌	46.15
沙门氏菌	41.36
志贺氏菌	65.17

注：试验用拭子为 copan 缠绕拭子

（二）细菌在不同保存体系中的回收率

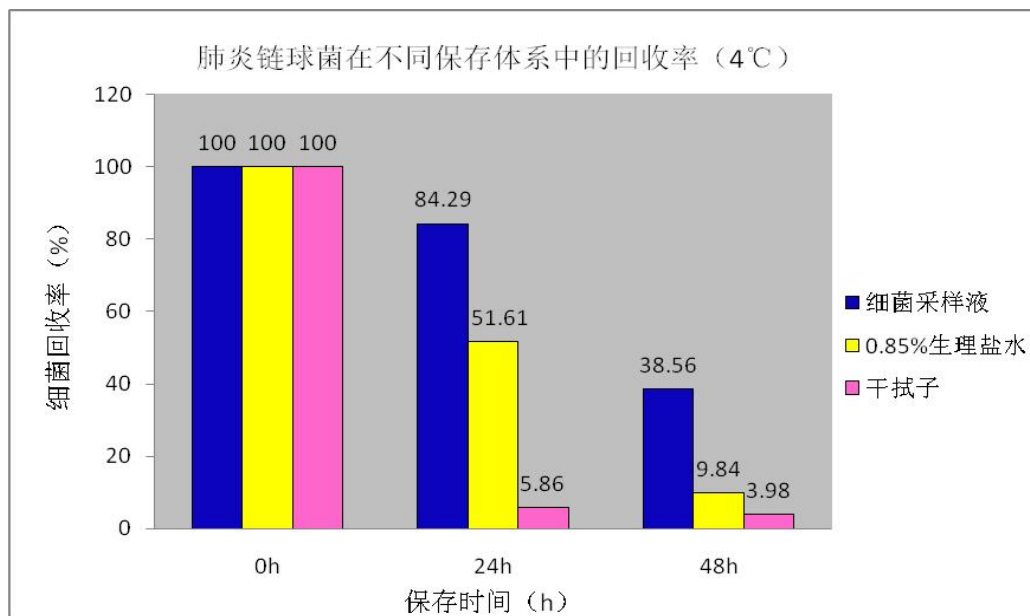
试验方法：

- 1、用 0.85% 无菌生理盐水配制 0.5mcf 目标菌悬液，稀释到浓度为 10^7cfu/mL 。
- 2、用移液枪取 $100\mu\text{L}$ 稀释后的菌悬液，滴入无菌 96 孔板。用采样拭子沾取菌悬液 10s，使菌悬液全部沾在拭子头上，迅速将拭子放入采样管(内含 1mL 细菌采样液 /0.85%生理盐水/不含液体/BHI 肉汤)中。折断采样管以上拭子，拧紧管盖。分别置于 4°C 和 20°C 下保存 0h、24h 和 48h。每次做三组平行。
- 3、放置规定时间后，将采样管涡旋振荡 20s，不加液体的空管可不震荡，采样液进行 10 倍梯度稀释，吸取 $200\mu\text{L}$ 采样液 (10^3 、 10^2) 滴加到相应培养基平板上，用无菌涂布棒均匀涂抹至液体被吸干，每个梯度做两组平行。将平板放置目标菌要求的培养条件下进行培养，待菌长出后进行菌落计数。

试验方法参照：《NCCLS. M40-4. Quality Control of Microbiological Transport Systems; Approved Standard. The Swab Elution Method.》

试验结果：

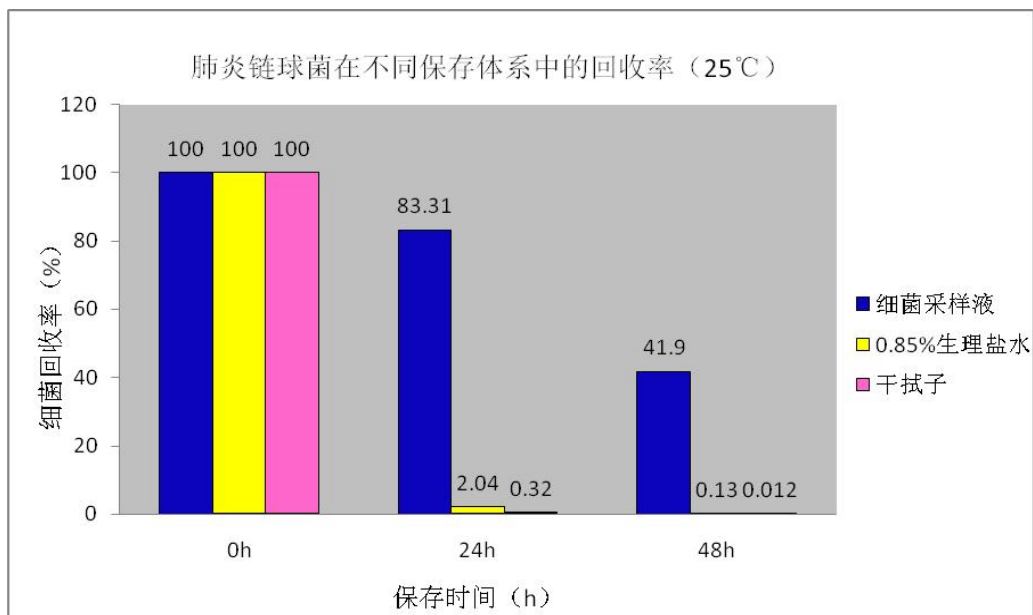
1、肺炎链球菌



结论：肺炎链球菌分别在友康通用细菌采样管、0.85%生理盐水和干拭子中 4°C 保存 24h 时，活菌的回收率分别为 84.29%、51.61%和 5.86%。而继续保存至 48h 时，活菌的回收率为 38.56%、9.84%和 3.98%。由以上结果可以看出友康细菌采样管在保存肺炎链球菌的性能上较其他两种体系效果要好，如果采样后不能立即检测，用 0.85%

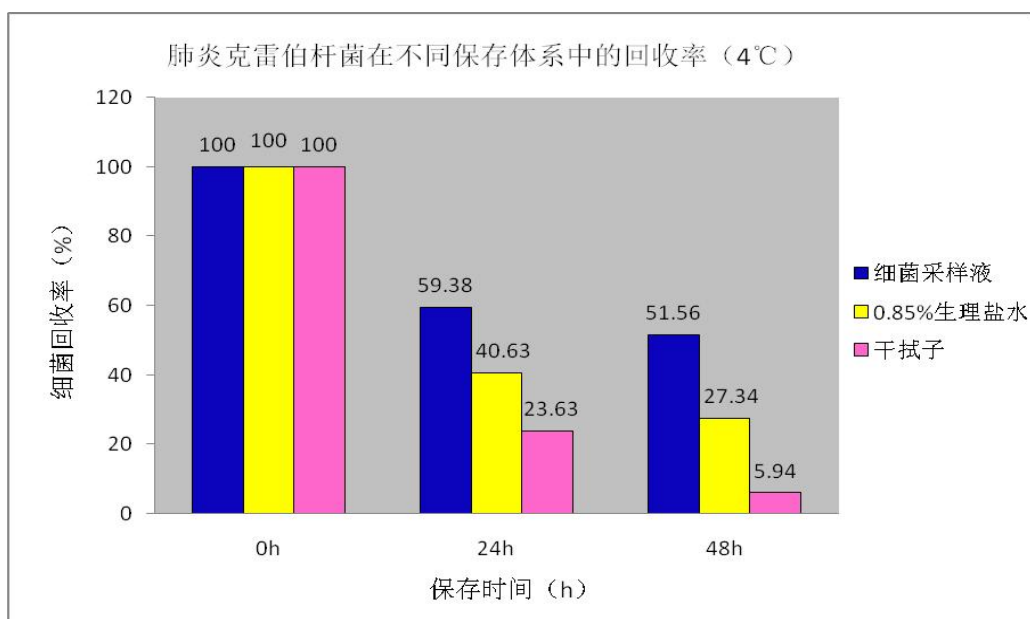
生理盐水和干拭子保存肺炎链球菌会对检测和分离结果造成较大的影响。

注：细菌采样液为液体 Amies。

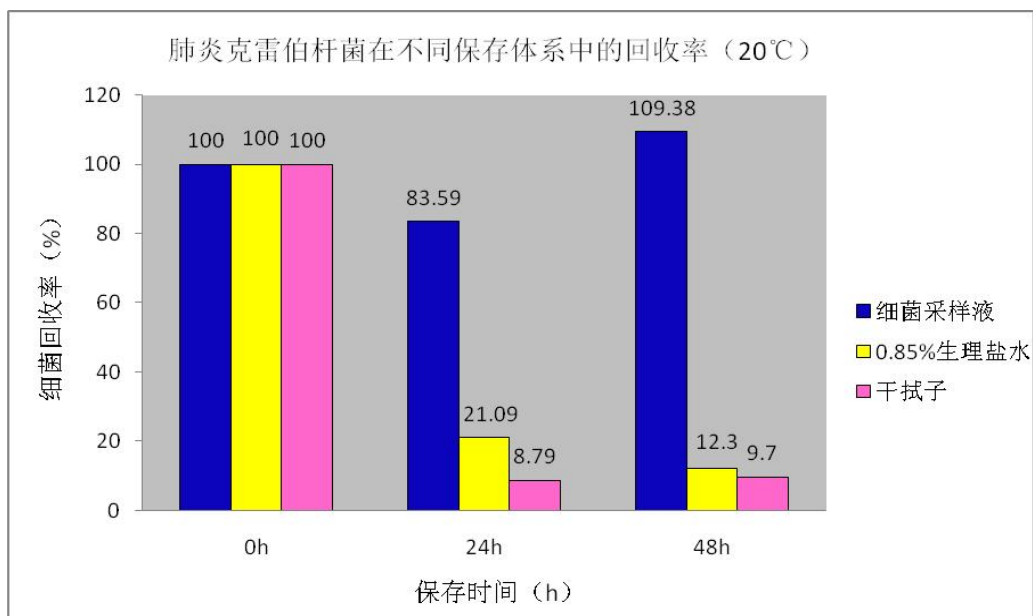


结论：肺炎链球菌分别在友康通用细菌采样管、0.85%生理盐水和干拭子中 25℃保存 24h 时，活菌的回收率分别为 83.31%、2.04%和 0.32%。而继续保存至 48h 时，活菌的回收率为 41.9%、0.13%和 0.012%。由以上结果可以看出友康细菌采样管在保存肺炎链球菌的性能上较其他两种体系效果要好，如果采样后不能立即检测，而又常温运送的话，用 0.85%生理盐水和干拭子运送，肺炎链球菌在运送过程中几乎不能存活，对检测和分离结果会有很大的影响。

2、肺炎克雷伯杆菌

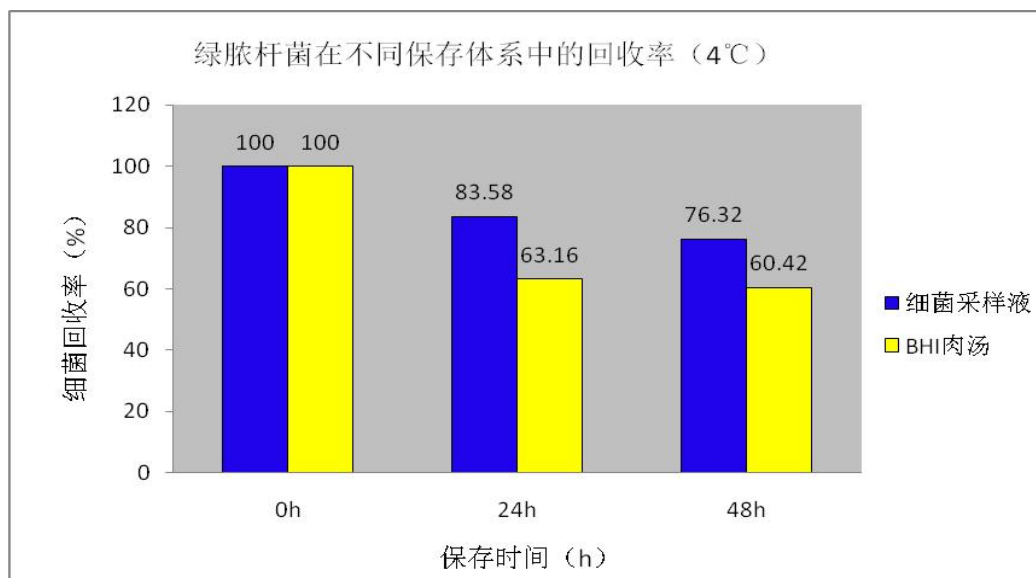


结论：肺炎克雷伯杆菌分别在友康通用细菌采样管、0.85%生理盐水和干拭子中 4℃ 保存 24h 时，活菌的回收率分别为 59.38%、40.63%和 23.63%。而继续保存至 48h 时，活菌的回收率为 51.56%、27.34%和 5.94%。由以上结果可以看出友康细菌采样管在保存肺炎克雷伯杆菌的性能上较其他两种体系效果要好。

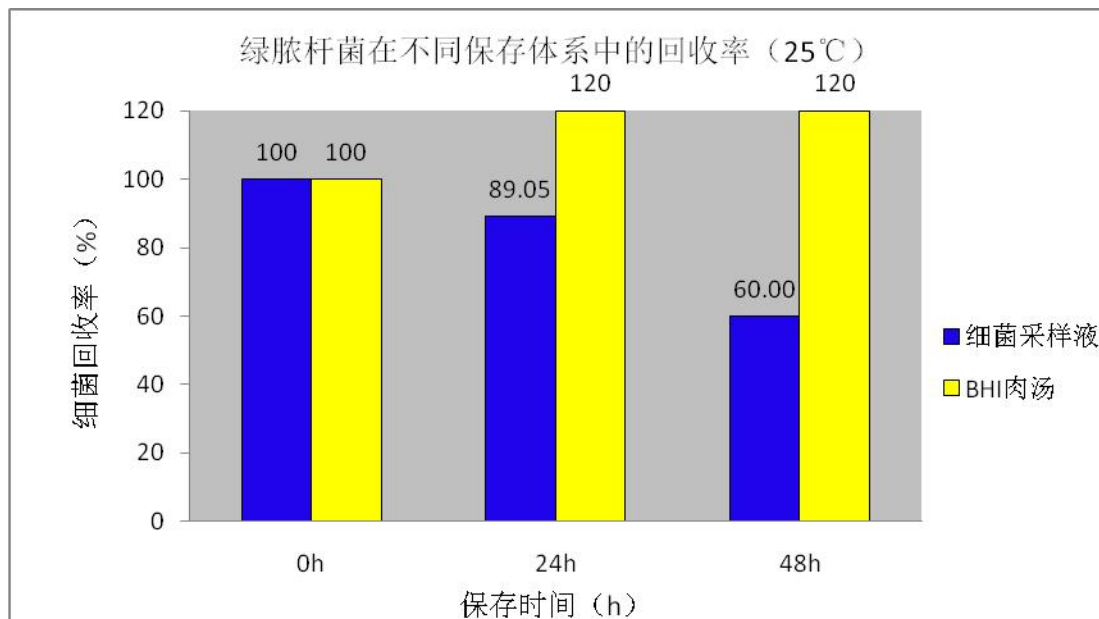


结论：肺炎克雷伯杆菌分别在友康通用细菌采样管、0.85%生理盐水和干拭子中 20℃ 保存 24h 时，活菌的回收率分别为 83.59%、21.09%和 8.79%。而继续保存至 48h 时，活菌的回收率为 109.38%、12.30%和 9.7%。由以上结果可以看出：肺炎克雷伯杆菌在采集后，进行常温保存时，友康细菌采样管的效果要远远超过其他两种体系。

3、绿脓杆菌

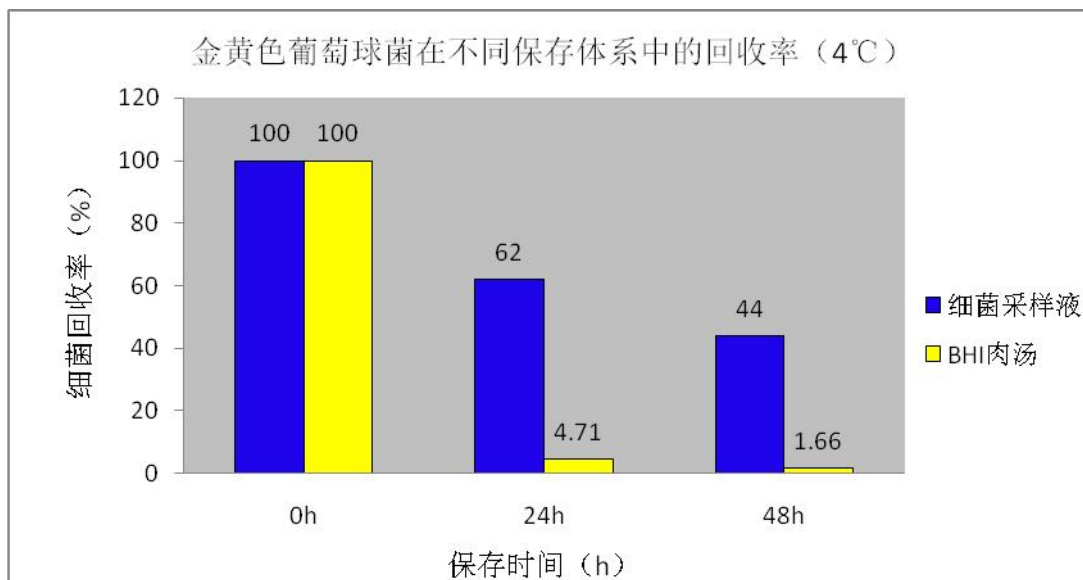


结论：在相同的保存条件下，绿脓杆菌在细菌采样液中保存 24h 和 48h 时，回收率分别比 BHI 肉汤要高。

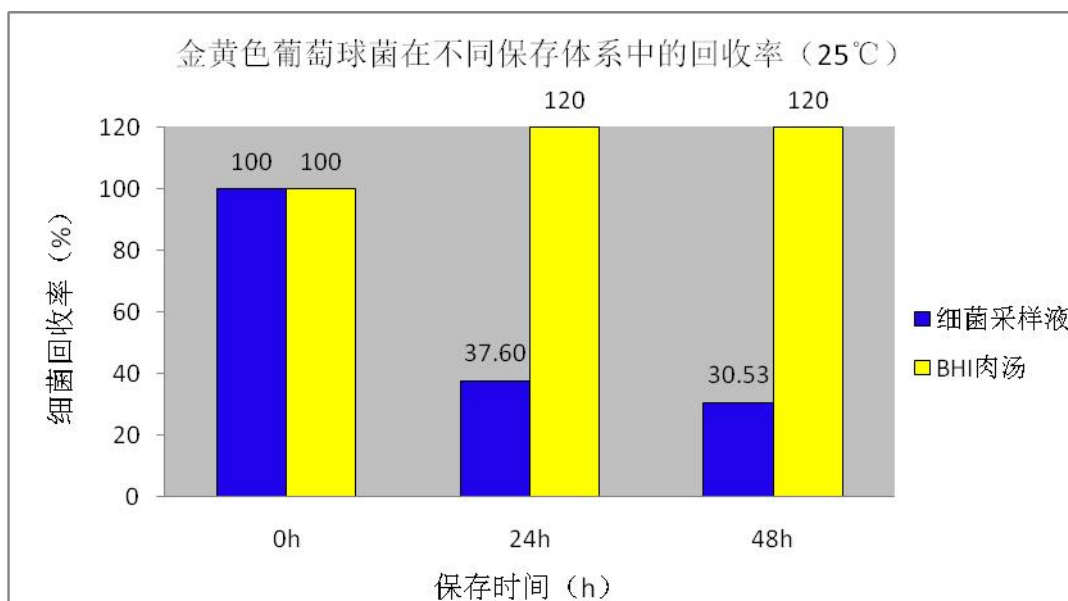


结论：绿脓杆菌在细菌采样液中 25℃ 保存 48h 时，回收率为 60%。而在 BHI 肉汤中发生了过度增殖现象，这是由于 BHI 营养丰富。在临床采集样本的过程中，如果采集部位存在其他非目标菌，而运送温度不能严格保持 4-8℃ 时，不建议采用 BHI 肉汤，丰富的营养会使采集到的各种细菌增殖，从而增加目标菌的检测和分离难度。

4、金黄色葡萄球菌

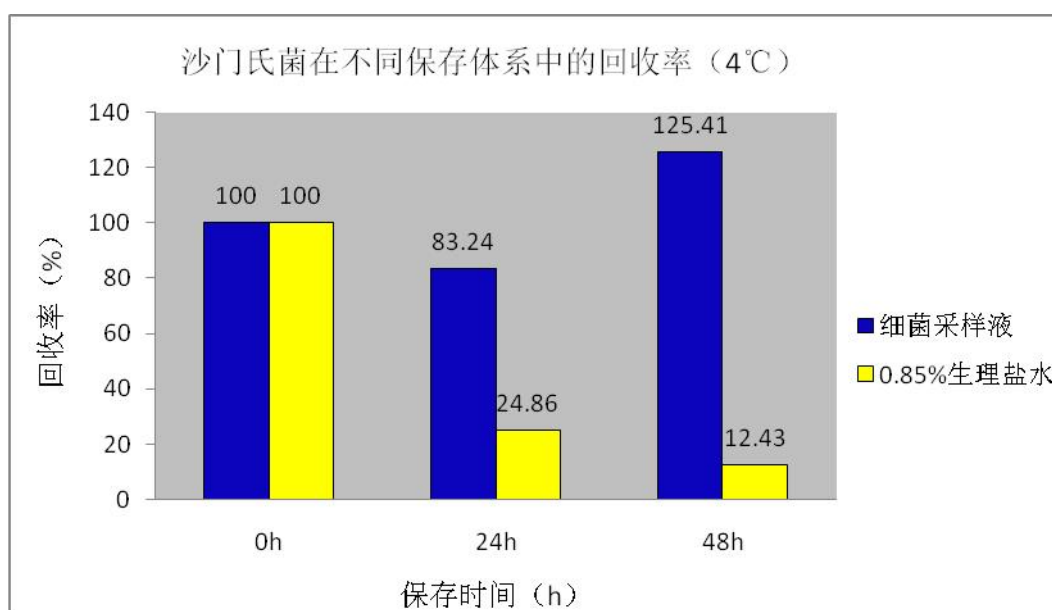


结论：在相同的保存条件下，金黄色葡萄球菌在细菌采样液中保存 24h 和 48h 时，回收率分别比 BHI 肉汤要高。



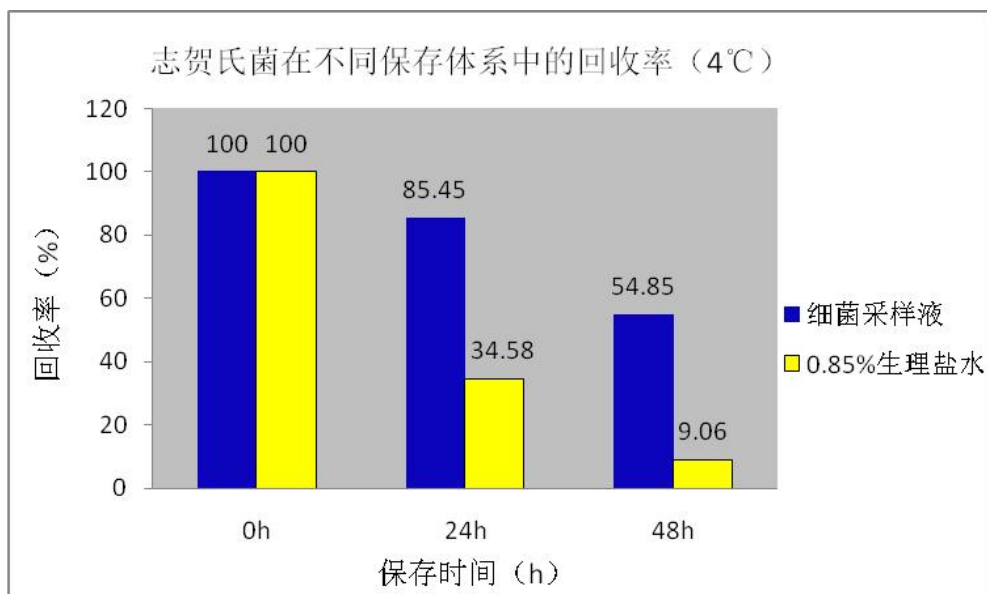
结论：金黄色葡萄球菌在细菌采样液中 25℃ 保存 48h 时，回收率为 30.53%。而在 BHI 肉汤中发生了过度增殖现象，这是由于 BHI 营养丰富。在临床采集样本的过程中，如果采集部位存在其他非目标菌，而运送温度不能严格保持 4-8℃ 时，不建议采用 BHI 肉汤，丰富的营养会使采集到的各种细菌增殖，从而增加目标菌的检测和分离难度。

5、沙门氏菌



结论：在相同的保存条件下，沙门氏菌在细菌采样液中保存 24h 和 48h 时，回收率分别比 BHI 肉汤要高。

6、志贺氏菌



结论：在相同的保存条件下，志贺氏菌在细菌采样液中保存 24h 和 48h 时，回收率分别比 BHI 肉汤要高。

十二、参考文献

纪绍梅主编.微生物培养基质控与图解

陈天寿主编.微生物培养基的制造与应用.北京.中国农业出版社.1995 年 6 月

Clinical Laboratory Standards Institute CLSI.2003