



苏州市立医院
SUZHOU Municipal
HOSPITAL

南京医科大学附属苏州医院

临床微生物检验规范化及质量控制

苏州市立医院本部
徐卫东

博爱

诚信

敬业

创新

临床微生物的质量控制

- * 临床微生物实验室是以诊断，预防，质量感染性疾病或评估健康提供信息为目的，对标本进行微生物学检验，并提供微生物学检查的咨询性服务。微生物检验结果必须具有高度的准确性，可靠性及重复性。为实现此目标，必须实施全面地质量控制，包括对检验人员进行评估，建立质量控制文件，对标本质量进行评估，对试剂，培养基，仪器设备进行监测，对检测结果和结果的临床应用进行评估，并参加室间质量质评。



临床微生物的质量控制-室间质评（EQA）

临床微生物
室参加室间
质评

1

卫计委临检中心

2

省临检中心

3

市临检中心

4

其他机构组织

合格：该项目的测定成绩 $\geq 80\%$

合格证书

不合格：该项目的测定成绩 $< 80\%$

注意：若失控，应将调查所有失控原因及相关纠正措施，并做好记录，上报科质量控制小组和科主任，由科主任签字后，质控结果归档保存。

室间质评

- * 积极参加
- * 接收标本应有检查、登记并正确保存
- * 未接到标本时或标本有破损或错误时应及时与组织者联系
- * 质评标本检测应用常规方法
- * 反馈信息应进行评估、总结与改进



能力验证/室间质评要求

- * 1、应按照CNAS-RL02《能力验证规则》的要求参加相应的能力验证/室间质评。
- * 2、应使用相同的检测系统检测质控样本与患者样本；应由从事常规检验工作的人员实施能力验证/室间质评样品的检测；应有禁止与其他实验室核对能力验证/室间质评检测结果的规定；应能提供参加能力验证/室间质评的结果和证书。实验室应对“不满意”和“不合格”的能力验证/室间质评结果进行分析并采取纠正措施，并记录。
- * 3、实验室负责人或指定负责人应监控能力验证/室间质量评价活动的结果，并在结果报告上签字。



能力验证/室间质评要求

- * 4、对没有开展能力验证/室间质评的项目，应至少每6个月进行一次性能评估，方法包括：与参考实验室或其它实验室分割标本检测；与本实验室建立的已经获得证实的方法分割标本检测；分析纯物质、地方数据库或临床证实资料；或其它适宜的和规定的方法。实验室选择的进行性能评估的标本的检测内容应与患者标本一致。
- * 5、应制定人员比对的程序，规定由多个人员进行的手工检验项目验证的方法和判断标准。应至少每年进行工作人员的能力比对，至少包括显微镜检查、培养结果判读、抑菌圈测量、结果报告。



临床微生物的室内质量控制

- * 一. 检验人员的评估
- * 二. 质量控制文件
- * 三. 标本质量控制
- * 四. 仪器设备质量控制
- * 五. 培养基质量控制
- * 六. 试剂的质量控制
- * 七. 药物敏感试验质量控制
- * 八. 分析后质量控制(结果报告要求)
- * 九. 分析后标本的处置



人员要求

- * **1.资质：**必须具有相关的教育背景；每年接受专业知识和知识培训；熟悉微生物实验室操作流程及生物安全等知识；
- 2.能力：**包括对微生物检验分析前，分析中，分析后特定阶段的专业经历和熟练操作技术；
- 3.培训：**制定培训计划，组织新员工培训，老员工的再培训；鼓励学习和掌握新理论，新技术，提高专业技术水平；
- 4.评估：**要进行定期的考核，测试检验人员的检验能力及操作熟练程度；结合参加外部能力验证等活动，建立人员绩效制度；应建立检验人员档案；



人员要求 (ISO15189)

- * 有颜色视觉障碍的人员不应从事涉及到辨色的微生物学检验。
- * 临床微生物学实验室负责人至少应具有以下资格：中级技术职称，医学、医学检验专业背景，或相关专业背景经过医学检验培训，3年临床微生物工作经验。
- * 认可的授权签字人应至少具有中级以上专业技术职称，从事申请认可授权签字领域专业技术工作至少3年。



人员要求 (ISO15189)

- * 应每年对各级工作人员制定培训计划并进行微生物专业技术及知识培训、质量保证/质量管理培训、客户服务培训、安全培训、继续教育培训。
- * 应制定员工能力评审的内容和方法，每年评审员工的工作能力；对新进员工在最初2个月内应至少进行2次能力评审（间隔为30天），保存评审记录。当职责变更时，或离岗6个月以上再上岗时，或政策、程序、技术有变更时，应对员工进行再培训和再评审。没有通过评审的人员需经再培训和再评审，合格后方可继续上岗，并记录。
- * 应提供工作人员对患者隐私及结果保密的声明及签字。



质量控制文件

- * 质量控制操作手册（SOP）是质量控制的重要环节之一
- * 临床微生物检验SOP至少应包括以下内容：①标本采集，运送与处理；②标本检验流程；③检验方法与质控方法（微生物分离，培养，鉴定与药物敏感试验）；④临床意义；⑤报告方式；⑥仪器操作手册；⑦试剂质量鉴定；⑧质量控制；⑨其他各项制度（生物安全，标本管理制度等）；⑩参考文献。



ESP 使用记录表
成品化商品购入情况登记表

冰箱温度(℃)记录表
仪器及培养箱温度(℃)、CO₂(%)浓度记录表

Walkaway-40 维护保养记录表
Walkaway-40 使用记录表

生物安全柜、超净工作台使用维护记录表
培养基配制情况登记表

细菌药敏质控图

微生物室病区标本退检登记表

微生物室仪器档案

试剂(纸)及染色液质控情况登记表
试剂及染色液配制情况登记表

微生物室质量管理手册(第二版)

生物安全管理手册

操作手册（作业指导书）

细菌药敏质控图

试剂（纸）及染色液质控情况登记表
试剂及染色液配制情况登记表

微生物室病区标本退检登记表

微生物室仪器档案

生物安全管理手册

微生物室质量管理手册（第二版）

ESP 使用记录表
成品化商品购入情况登记表

生物安全柜、超净工作台使用维护记录表
培养基配制情况登记表

Walkaway-40 维护保养记录表
Walkaway-40 使用记录表

冰箱温度（℃）记录表
仪器及培养箱温度（℃）、CO₂（%）浓度记录表

试剂的质量控制

- * 1.染色液质控：细菌室常用染色液是革兰染色液和抗酸染色液。
 - a. 商品化染色液应具备品牌、试剂名称、批号、存放条件、失效期等说明，并向客户提供质量保证书。
 - b. 每周应用金黄色葡萄球菌(ATCC 25923), 大肠埃希菌(ATCC25922), 结核分枝杆菌H37Ra(ATCC 25177)分别对革兰染色液、抗酸染色液进行室内质控。过期的染色液不应再使用。



试剂的质量控制

- * 2.常用生化试剂质控。随着细菌鉴定仪和快速微量生化鉴定板条的普及,实验室常用生化试剂种类日趋减少,应注意试剂贮存时避光、冷藏等要求,保证试剂的稳定性,不要使用过期试剂。



试剂的质量控制

- * 3.诊断血清质控
 - a. 诊断血清应从有资质的生产单位购买。
 - b. 验收时必须注意生产批号、血清效价、透明度与色泽。
 - c. 初次使用时应注意工作浓度并与原用的诊断血清对照比较后再用于患者标本的测试。
 - d. 试验中应注意无菌操作, 避免细菌污染。
 - e. 要经常检查贮存在4 °C 冰箱中的各种血清, 若发现混浊, 出现絮状, 应停止使用。



试剂质量验证

- * 新批号及每一货次的试剂使用前，应通过直接分析参考物质、新旧批号平行实验或常规质控等方法进行验证，并记录；
- * 新批号及每一货次的试剂、纸片，如吲哚试剂，杆菌肽，奥普托辛，X、V、XV 因子纸片等应使用阴性和阳性质控物进行验证；
- * 新批号及每一货次的药敏试验纸片使用前应以标准菌株进行验证；
- * 新批号及每一货次的染色剂（革兰染色、特殊染色和荧光染色），应用已知阳性和阴性（适用时）的质控菌株进行验证；



试剂（纸）和染色液质控情况登记表

（苏州市立医院本部）

2010年9月

附表 5

检测日期	试剂（纸）染色液	阳性对照菌	结果		阴性对照菌	结果		检测人	说明
			预期	检测		预期	检测		
9.8	革兰	金黄色葡萄球菌	+	+	大肠杆菌	-	-	张亚楠	
	吡啶	肺炎链球菌	+	+	大肠杆菌	-	-		
	VP	肺炎链球菌	+	+	大肠杆菌	-	-		
	吡啶	大肠杆菌	+	+	肺炎链球菌	-	-		
	α-D-glucosidase	肺炎链球菌	+	+	金黄色葡萄球菌	-	-		
	吡啶	大肠杆菌	+	+	金黄色葡萄球菌	-	-		
9.9	OX	金黄色葡萄球菌	+	+	大肠杆菌	-	-	张亚楠	
	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	肺炎链球菌	-	-		
	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	金黄色葡萄球菌	-	-		
	吡啶	MIRSE	+	+	ATCC 25923	-	-		
	OX	金黄色葡萄球菌	+	+	大肠杆菌	-	-		
9.10	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	肺炎链球菌	-	-	张亚楠	
	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	金黄色葡萄球菌	-	-		
	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	金黄色葡萄球菌	-	-		
	吡啶	MIRSE	+	+	25923	-	-		
	OX	金黄色葡萄球菌	+	+	大肠杆菌	-	-		
9.13	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	肺炎链球菌	-	-	张亚楠	
	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	金黄色葡萄球菌	-	-		
	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	金黄色葡萄球菌	-	-		
	吡啶	MIRSE	+	+	25923	-	-		
	OX	金黄色葡萄球菌	+	+	大肠杆菌	-	-		
9.14	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	肺炎链球菌	-	-	张亚楠	
	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	金黄色葡萄球菌	-	-		
	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	金黄色葡萄球菌	-	-		
	吡啶	MIRSE	+	+	25923	-	-		
	OX	金黄色葡萄球菌	+	+	大肠杆菌	-	-		
9.15	OX	金黄色葡萄球菌	+	+	肺炎链球菌	-	-	张亚楠	
	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	金黄色葡萄球菌	-	-		
	吡啶	金黄色葡萄球菌	+	+	金黄色葡萄球菌	-	-		

培养基质量控制

- * 目前实验室多采用商业化的培养基，需要提供质量保证书。
- * 自制培养基需要记录其配置的过程：
 - 如名称、配置数量、配置日期、灭菌记录等
- * 培养基外观良好（平滑、水分适宜、无污染、适当的颜色和厚度，试管培养基湿度适宜），新批号及每一货次的商品或自配培养基应检测相应的性能，包括无菌试验、生长试验或与旧批号平行试验、生长抑制试验（适用时）、生化反应（适用时）等，应以质控菌株进行验证。



培养基配制情况登记表

(苏州市立医院本部)

2010年5月

配制日期	培养基名称	配制量	无菌试验	生长试验	有效期	配制者	备注
5.20	沙培琼脂板	300ml	无生长	流感嗜血杆菌生长	1月	刘仰	
5.26	沙培琼脂板	350ml	无生长	流感嗜血杆菌生长	1月	刘仰	
	沙培琼脂	400	无生长	流感嗜血杆菌生长	2月	刘仰	
5.27	SF-1琼脂板	500	无生长		3月	刘仰	
6.2	沙培琼脂板	350	无生长	流感嗜血杆菌生长	1月	刘仰	
	沙培琼脂板	400	无生长	流感嗜血杆菌生长	2月	刘仰	
6.8	沙培琼脂板	350	无生长	流感嗜血杆菌生长	1月	刘仰	
	沙培琼脂板	400	无生长	流感嗜血杆菌生长	2月	刘仰	
6.15	沙培琼脂板	150	无生长	流感嗜血杆菌生长	1w	刘仰	
	沙培琼脂板	400	无生长	流感嗜血杆菌生长	2w	刘仰	
6.23	沙培琼脂板	300	无生长	流感嗜血杆菌生长	1月	刘仰	
	沙培琼脂板	400	无生长	流感嗜血杆菌生长	2月	刘仰	
6.26	SF-1琼脂板	600	无生长	流感嗜血杆菌生长	3月	刘仰	
6.28	沙培琼脂板	300	无生长		1月	刘仰	
6.29	沙培琼脂板	300	无生长	流感嗜血杆菌生长	1月	刘仰	
	沙培琼脂板	400	无生长	流感嗜血杆菌生长	2月	刘仰	
7.2	沙培琼脂板	350	无生长	流感嗜血杆菌生长	1w	刘仰	
	沙培琼脂板	400	无生长	流感嗜血杆菌生长	2w	刘仰	
7.9	沙培琼脂板	350	无生长	流感嗜血杆菌生长	1w	刘仰	
	沙培琼脂板	400	无生长	流感嗜血杆菌生长	2w	刘仰	
7.15	沙培琼脂板	250	无生长	流感嗜血杆菌生长	1/2	刘仰	

设施和环境条件

- * 实验室应有足够的办公、文字处理、培养基制备、实验工作空间。宜有适当的水池、排水管道、电源插座、通风设施、通讯设备。
- * 应定期根据工作流程及性质实施安全风险评估，根据生物安全理论和技术的新进展制定、修订相应的生物安全操作和防护规程并进行培训，以减小职业暴露的危险。当工作流程及性质发生变动时，应及时实施再评估。



设施和环境条件

- * 至少应规定如下安全要求：
 - * (a) 不同控制区域的防护措施及合适的警告；
 - * (b) 已知或有潜在经空气、气溶胶传播危险的标本或病原体在生物安全柜内操作；
 - * (c) 标本安全运送及处理，如工作人员接种疫苗，戴手套和进行呼吸道防护（适用时），确保容器密封性，嗅平板时的潜在危害及其防护等；
 - * (d) 渗漏标本的处理措施；
 - * (e) 工作环境及设备的消毒措施。



设施和环境条件

- * 实验室内照明宜充足，避免阳光直射及反射，如果可能，可在实验室内不同区域设置照明控制，以满足不同实验的需要。应有可靠的电力供应和应急照明。
- * 应制定生物安全事故和危险品、危险设施等意外事故的预防措施和应急预案，并对全体人员进行培训。



仪器设备质量控制

- * 制定仪器设备的作业指导书和检定校准计划。列出仪器设备的清单，并指定专人负责，仪器档案应该包含以下内容：①仪器名称，编号，型号，制造商，启用日期；②常规校准方法和期限（每天，每周，每月还是每季）；③常规维护保养日期（按制造商的推荐意见）；④完整仪器的使用，维修和保养记录；⑤仪器只要不报废，维修记录均应保存。



实验室设备要求

- * 设备配置应与实验室服务相适应。生物安全柜的类型和安装应满足工作要求；孵育箱的数量和种类应满足诊断需要（如特殊温度范围和气体要求）；应贮存与诊断相配套的质控物，以便在染色、试剂、试验、鉴定系统和抗菌药物敏感性试验中使用；无菌体液的显微镜检查应配备细胞离心机。



实验室设备要求

- * 设备校准、维护及性能等应符合如下要求：
- * (a) 自动化鉴定仪、血培养仪的校准应满足制造商建议；
- * (b) 每6个月进行检定或校准的设备至少应包括浊度仪；
- * (c) 每12个月进行检定或校准的设备至少应包括：生物安全柜（高效过滤器、气流、负压等参数）、CO₂浓度检测仪、细胞离心机、压力灭菌器、游标卡尺、培养箱、温度计、移液器、微量滴定管或自动分配器；



实验室设备要求

- * (d) 应保存仪器功能监测记录的设备至少应包括：温度依赖设施（冰箱、孵育箱、水浴箱、加热块等每日记录温度）、CO₂培养箱（每日记录CO₂浓度）、超净工作台（定期做无菌试验）、压力灭菌器（至少每个灭菌包外贴化学指示胶带、内置化学指示卡，定期进行生物监测）；
- * (e) 应制定预防性维护计划并记录的设备至少应包括：生物安全柜；CO₂培养箱、自动化鉴定仪、血培养仪、压力灭菌器、超净工作台、显微镜和离心机。



实验室设备要求

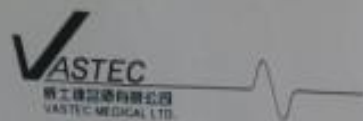
- * 所有试剂应标注或能追溯的信息包括：名称、浓度或滴度，存放条件，失效期。若试剂启封，改变了有效期和储存条件，应记录新的有效期。试剂的储存条件应遵循生产商的建议，并在标明的有效期内使用。
- * 培养基标签应包含生产日期（批号）、保质期（或失效期），适用时包括配方、质量控制、贮存条件等信息。
- * 药敏用标准菌株种类和数量应满足实验室工作要求，并保存其来源、传代等记录，并有证据表明标准菌株性能满足要求。



实验室设备要求

- * 如果设备故障影响了方法学性能，在设备修复、校准后，实验室应对设备性能进行验证，例如检测质控菌株或已知结果的标本。





威士达医疗设备（上海）有限公司
VASTEC MEDICAL EQUIPMENTS (SHANGHAI)
CO., LTD

为了让用户更好使用本公司仪器，现为我司销售的血培养仪 ESP-128 做以下保养维护：

1. 对仪器进行除尘工作
2. 对仪器机械位置加润滑油
3. 检测仪器分析位置的感应器（所有感应器值均在 +75~-75 之间）
4. 检测校准仪器温度为 35℃
 经过检查仪器工作正常。



威士达工程部
 2010 年 8 月 16 日



仪器测试报告

仪器名称 全自动血培养仪
 用户地址 _____
 城市/邮政编码 _____
 联系人 吴文
 电话 0512-65222881
 仪器型号/编号 ESP-128 S/N: R1027



ESP POST completed without errors	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Computer boots without errors	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Software enables without errors	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Drawers open easily/smoothly	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Bottle loaded without errors	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Bottle Finalized without errors	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Test History printed without errors	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Temperature Set point	<u>35℃</u>	
Time and Date set correctly on instrument	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
LOf Default Settings on VTI	<u>5Days</u>	
Aerobic	<u>5Days</u>	
Anaerobic	<u>35Days</u>	
Myco		

Walkaway-40 维护保养记录表

附表 17

2010年 4月

日常维护	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
日期																																
温度检查	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
检查水位	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
清洁检查Dispense Tip	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
检查试剂位	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
签名	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨	

每周维护	1	2	3	4	5
Waste Bag检查	✓	✓	✓	✓	✓
Photodiode Shield 清洁	✓	✓	✓	✓	✓
Fluormeter Shield 清洁	✓	✓	✓	✓	✓
Fluormeter Reference 清洁	✓	✓	✓	✓	✓
Purge Reagent	✓	✓	✓	✓	✓
签名	王雨	王雨	王雨	王雨	王雨

月度维护	日期
清洗空气滤网	✓
检查Renok 状态是否完好	✓
签名	王雨

仪器及培养箱温度(℃)、CO₂(%)浓度记录表
(苏州市立医院本部)

附表10

2010年 9 月

日期	CO ₂ 培养箱				普通培养箱		25℃培养箱		ESP		WalkAway-40		检测人
	温度		CO ₂ 浓度(%)		温度		温度		温度		温度		
	(35±1℃)	0.5%	(35±1℃)	(25±2℃)	(35±1℃)	(35±1℃)	(35±1℃)	(35±1℃)	(35±1℃)	(35±1℃)	(35±1℃)	(35±1℃)	
	上午	下午	上午	下午	上午	下午	上午	下午	上午	下午	上午	下午	
1	24.9	25.0	5.0	5.0	35.0	35.1	24.7	24.9	35.0	35.1	34.9	34.8	王红
2	35	34.9	5	4.9	35	34.9	24.9	24.5	35	35.1	34.7	34.7	王红
3	35.0	35.1	5.0	5.0	35	34.9	25.0	25.1	35.1	35.1	34.9	35.0	王红
4	35.1	35	5	5	35	35.1	24.1	25.0	35.1	35	34.8	34.9	王红
5	35	35	5	5	35.8	35.2	24	24.2	35.2	35	34.8	34.8	王红
6	35	35	5	5	35.6	35.2	25.6	25.2	35	35.2	34.8	34.8	王红
7	35.0	35.1	5.0	5.0	34.9	35.0	25.0	25.0	35.1	35.1	34.9	34.9	王红
8	35	34.9	5	4.9	35.1	35	25.3	24.1	35.1	35	34.9	34.9	王红
9	34.9	35.0	5.0	5.0	35.0	35.1	24.1	24.8	35.0	35.1	34.9	34.8	王红
10	35.0	34.9	5.0	4.9	35.1	35.1	24.3	24.2	35.0	35.1	34.9	34.9	王红
11	35	34.8	5.0	5.0	35	35	24.8	24.2	35	35	34.8	34.6	王红
12	35	35	5.0	5.0	35	35.1	24.0	24.4	35	35.1	34.8	35.0	王红
13	35.0	34.9	5.0	5.0	35.1	35.0	24.9	25.0	35.0	35.1	34.8	34.9	王红
14	35.0	34.9	5.0	5.0	35.0	35.1	25.1	25.0	35.1	35.1	34.8	34.8	王红
15	24.9	25.0	5.0	5.0	35.1	35.0	24.7	24.2	35.0	35.1	34.7	34.8	王红
16	34.8	35.0	5.0	4.9	35.0	35.0	25.1	25.1	35.0	35.0	34.9	35.0	王红
17	35	35	5	5	35	35.1	24.5	24.6	35	35.1	34.9	34.9	王红
18	35	35	5	5	35	35.1	24.9	25.2	35.1	35	34.8	34.9	王红
19	35	35	5	5	35.8	35.2	23.8	25	35.2	35.0	34.8	34.8	王红
20	35.1	35.1	5.0	5.1	35.1	35.1	24.6	25.7	35	35.0	34.8	34.9	王红
21	35.1	35.0	5.0	5.0	35.1	35.0	25.0	25.1	35.0	35.0	34.9	34.9	王红
22	35.0	35.0	5.0	5.0	35.0	35.0	24.1	24.8	35.1	35.1	34.8	35.0	王红
23	24.9	25.0	5.0	5.0	35.1	35.0	24.7	25.0	35.0	35.1	34.8	34.9	王红

冰箱温度(℃)记录表
(苏州市立医院本部)

附表11

2010年 9 月

监测日期	低温冰箱	陈列柜1	陈列柜3	陈列柜4	陈列柜5	冰柜	检测人
上限	-20℃	4℃	4℃	4℃	4℃	4℃	
下限	-90℃	2℃	2℃	2℃	2℃	2℃	
1	-80	4.6	4.4	2.5	2.7	-27	王红
2	-79	5.5	2.5	5.2	4.3	-27	王红
3	-80	5.1	2.9	4.9	3.8	-27	王红
4	-80	6.3	4.7	5.9	6.3	-28	王红
5	-77	4.8	5.6	3.8	6.3	-27	王红
6	-78	5.8	3.6	6.7	5.2	-27	王红
7	-77	5.0	4.2	4.8	4.6	-27	王红
8	-80	7.5	5.8	5.7	6.6	-27	王红
9	-73	1.5	2.1	5.9	5.7	-27	王红
10	-80	7.2	2.0	6.8	6.4	-27	王红
11	-78	5.2	4.6	3.8	2.2	-26	王红
12	-75	5.2	4.9	5.1	5.3	-27	王红
13	-73	5.5	5.2	7.1	6.9	-27	王红
14	-80	5.1	4.3	4.9	4.8	-27	王红
15	-77	4.2	4.3	4.9	5.0	-27	王红
16	-79	4.9	5.2	5.1	4.0	-27	王红
17	-79	5.1	4.3	3.6	4.4	-25	王红
18	-78	5.7	3.6	6.5	3.3	-27	王红
19	-77	4.8	3.8	5.8	4.6	-26	王红
20	-77	5.6	4.7	3.2	5.3	-27	王红
21	-78	4.9	2.9	4.1	6.2	-27	王红
22	-77	6.1	4.4	3.9	4.5	-27	王红
23	-76	3.0	3.1	4.0	5.0	-27	王红
24	-79	5.0	5.3	5.3	5.9	-27	王红
25	-77	5.7	4.0	3.9	5.8	-27	王红
26	-78	4.8	4.7	5.6	6.2	-27	王红
27	-78	5.6	3.8	5.2	5.8	-27	王红

表 1. 废弃物消毒/销毁记录表

2010 年 10 月

日期	消毒/销毁物品 (数量)	条件 (Mpa/°C/min)	化学监测	生物监测 (嗜热芽孢)	消毒时间	签名
1	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
2	平板(100) 样品(20) 鉴定板() 血培养瓶(//) 菌种()	<input checked="" type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input checked="" type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做(✓)	11:30	张明
3	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
4	平板(60) 样品(20) 鉴定板() 血培养瓶(11) 菌种()	<input checked="" type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input checked="" type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做(✓)	12:00	张明
5	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
6	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
7	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
8	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
9	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
10	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
11	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
12	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
13	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
14	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
15	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
16	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
17	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
18	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
19	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
20	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
21	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
22	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
23	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
24	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
25	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		
26	平板() 样品() 鉴定板() 血培养瓶() 菌种()	<input type="checkbox"/> 0.15 /121 /30 <input type="checkbox"/> 0.1/115/20	<input type="checkbox"/> 阳性 <input type="checkbox"/> 阴性	灭菌管() 对照管() 未做()		

标本质量控制

- * 建立样本采集和运送标准操作手册（SOP），制定从检测申请，样本收集开始到发出检测结果报告为止的全过程的操作和管理程序。
- * 实验室应负责向采集和运送标本的医院相关人员提供指导手册，并且要定期对相关的人员进行培训。同时，实验室应持续监测样本采集和运送过程。并且对标本质量进行评估，对于不合格样本拒收。



正确的微生物标本采集和运送，是准确的病原学诊断的前提

- * 标本采集、运送是分析前质量控制的重要部分。

实验室必须制定**标本采集和运送手册**发布给临床。



除通用要求外微生物标本的采集及运送指南，还应包括以下内容：

- * (a) 不同部位标本的采集方法。如：明确说明并执行血培养标本采集的消毒技术、合适的标本量。诊断成人不明原因发热、血流细菌感染时宜在不同部位抽血2套，每套2瓶（需氧、厌氧各一瓶）；
- * (b) 合格的标本类型、送检次数、标本量。如：痰标本直接显微镜检查找结核杆菌或结核杆菌培养，应送检三份痰标本。最好至少连续3日，采集每日清晨第一口痰；
- * (c) 明确规定需要尽快运送的标本；
- * (d) 合适的运送培养基；
- * (e) 延迟运送时，标本的保存方法；
- * (f) 安全运送标本的方法（如：密封容器、无标本外漏等）；
- * (g) 标本标识。



标本接收标准的制定

- * 如无肉眼可见的渗漏、合适的标本类型/量、正确的保存、预防拭子干燥、适当的运送培养基等。
宜评估标本的合格性并反馈评估结果。不合格的标本（如：痰标本等）宜尽快通知医生、护士或患者（门诊），以便重新采集。



细菌培养和鉴定程序应满足如下要求

- * A、所选择的涂片、染色技术、培养基应能从标本中分离、识别相应的病原菌；鉴定方法应符合要求（如：通过血清学、革兰染色、菌落形态、生长条件、代谢反应、生化和酶活性、抗菌药物耐药性谱等特性鉴定）；应有处理组织标本的能力；
- * B、应明确伤口标本培养程序，深部伤口感染应至少包括标本采集、需氧菌及厌氧菌的培养及鉴定。如果不具备厌氧培养条件，则应有程序表明，标本置合格的运送系统迅速送有条件的实验室。应有适当的方法检测苛养菌（如放线菌，快速生长的分枝杆菌等）；
- * C、厌氧菌培养时间与标本类型、诊断有关，在第一次培养评估之前应有足够的培养时间（至少48小时）。应有合适的液体培养基，有合适的鉴定方法（适用时）。
- * D、除通用内容外，检验程序还应包括适宜的培养环境和足够的培养时间；**初次分离用非选择性培养基的平板直径应不小于9cm，应只接种一份标本。**



细菌抗菌药物敏感性试验程序应满足如下要求

- * A、应制定常规药敏试验方法（纸片扩散法、琼脂稀释法、微量肉汤稀释法、E试验或其他）的操作程序（含各类病原体和/或标本的检测药物、质控标准、结果解释等）；
- * B、抗菌药物敏感性试验方法包括纸片扩散法、稀释法（琼脂稀释法、肉汤稀释法）、浓度梯度扩散法（E试验）或自动化仪器检测；实验室应提供与服务相适应的抗菌药物敏感性试验；
- * C、抗菌药物敏感性试验方法及结果判断至少应遵循上一年的标准。
- * D、应按优先顺序依次选择标准菌株、质控菌株或其它已知菌株对商业鉴定系统（包括自动、半自动、手工）每种板（条/卡/管）的鉴定/药敏结果符合性进行验证。



其它培养要求

- * 分枝杆菌标本应置密闭的防渗漏容器内；某些标本（如：尿液、脑脊液）抗酸染色应浓缩，所有标本培养前应浓缩。应以密闭试管置密封的离心架内离心。
- * 真菌培养宜使用含和不含抗菌药物的两类培养基。如果在室温下培养，应每天监测并记录室温（22°C-26°C）。经空气传播有高度感染性的真菌标本、含菌丝体的真菌应在生物安全柜内处理。若采用平皿培养，应封盖。



对我国法定传染病病原微生物的检验程序应满足如下要求

- * 1、检验程序应至少符合中华人民共和国卫生行业标准；
- * 2、当培养过程中发现人间传染的高致病性病原微生物（依据“人间传染的病原微生物名录”）时，应按相关法规要求进行处理，或送至相应级别的生物安全实验室进行检验。



检验程序的质量保证

- * 1、使用中的染色剂（革兰染色、特殊染色和荧光染色），至少每周（若频率小于每周1次，则实验当日）用已知阳性和阴性（适用时）的质控菌株检测染色程序；
- * 2、凝固酶、过氧化氢酶、氧化酶、 β 内酰胺酶，实验当日应做阴性和阳性质控，商业头孢菌素试剂的 β 内酰胺酶试验可遵循制造商的建议。诊断性抗血清试剂，实验当日至少应做多价血清阴性和阳性质控。定性试验试剂每次检测时应至少包括阳性和阴性质控菌株或样本。不含内质控的直接抗原检测试剂，实验当日应检测阳性和阴性质控；



检验程序的质量保证

- * 3、实验室采用的抗菌药物敏感性试验方法应以标准菌株连续检测20—30天，每一组药物/细菌超出参考范围（抑菌圈直径或MIC）的频率应小于1/20或2/30。此后，应每周使用标准菌株进行质控。若检测频率小于每周1次，则每个检测日应进行质控。采用自动或半自动仪器检测MIC时，应按照制造商的要求进行质控。应保存抗菌药物敏感性试验资料（细菌耐药监测信息），并至少每年向临床医师报告（一般为每季度）。
- * 4、厌氧菌应以有效的方法检测厌氧培养环境（如以亚甲兰试条、厌氧菌或适当的程序检测厌氧系统的厌氧条件）。



检验程序的质量保证

- * 5、分枝杆菌抗酸染色应在实验当日用适当的阴性和阳性质控验证（结核分枝杆菌H37Ra(ATCC 25177)）；荧光染色应每次实验以阴性和阳性质控验证。
- * 6、真菌直接染色（如：PAS，吉姆萨染色，墨汁染色）检查患者标本时，应在实验当日做阴性和阳性质控（某些染色如吉姆萨染色，玻片本身作为阴性质控。KOH制备的玻片不需要质控）。



结果报告要求

- * 分析后质量控制主要包括报告的核对和审核，危急值及分级报告，报告结果的保存并加强与临床的沟通交流。
- * 1.在发出报告前确保所有室内质控在控。检验结果的审核：检测项目与申请单内容是否一致；细菌的分离和鉴定流程是否符合标准；鉴定的细菌和临床标本是否相符；细菌的耐药情况是否合理；此次结果与近期测定结果不符。



结果报告要求

- * 2.异常检验结果的审核：对检验过程进行审核，如标本编号是否正确、结果录入是否准确；细菌鉴定结果与药敏实验果相矛盾；此次结果与近期测定结果不符；是否存在标本采集、运输及保存中问题，应该加以注明，并及时与临床联系；如对以上情况无法确认，应对标本进行必要的复检，所有重复或特殊处理均应在备注栏中标明。



结果报告要求

- * 3.危急值报告至少包括：血培养阳性的结果；脑脊液的病原学检查（镜检及培养）；国家规定立即上报的法定传染病；如发现炭疽芽孢杆菌、鼠疫耶尔森氏菌等，应立即报告给公共卫生机构。
- * 4、血液、脑脊液标本的培养鉴定应及时发送分级报告，如标本直接涂片或湿片直接镜检、培养结果的判读等阳性发现。其它无菌部位来源标本宜报告直接涂片镜检的阳性结果。



结果报告要求

- * 5.血培养的分级报告。一级报告：血液骨髓标本培养瓶发现报警后，立即涂片做革兰染色，将涂片结果电话通知临床医生，并询问医生用药情况；二级报告：报告直接药敏结果及初步鉴定结果；三级报告：书面报告细菌鉴定结果（种属）、正式药敏试验、结果解释或建议等。
- * 6、应在收到样品24小时内报告分枝杆菌抗酸或荧光染色结果。



结果报告要求

- * 7.报告结果应保留所有检验申请单及检验流程单备查，检验申请单及检验流程单保留2年，原始结果的电子数据在指定电脑中保存。
- * 8.加强与临床沟通交流，提高自身能力，加强与临床医师、护士的沟通交流，做好标本的质量控制。加强与临床医生联系，提供良好的解释和咨询服务。使临床医生能正确理解和解释报告并用于临床诊治。加强与临床医生联系，倾听意见和建议。



分析后标本的处置

- * 已经检测完的标本盖回塞子，每天的标本统一放入注明当天日期的袋子里，血液标本 4~8°C 冰库保存 2 周，其他标本 4~8°C 冰库保存 1 周。
- * 对于超过保存期微生物所有的标本，由生物安全员、或指定人员对其进行高压灭菌后，放入医用垃圾桶中，再由环卫部门定期上门接收统一处理。



规范化操作：

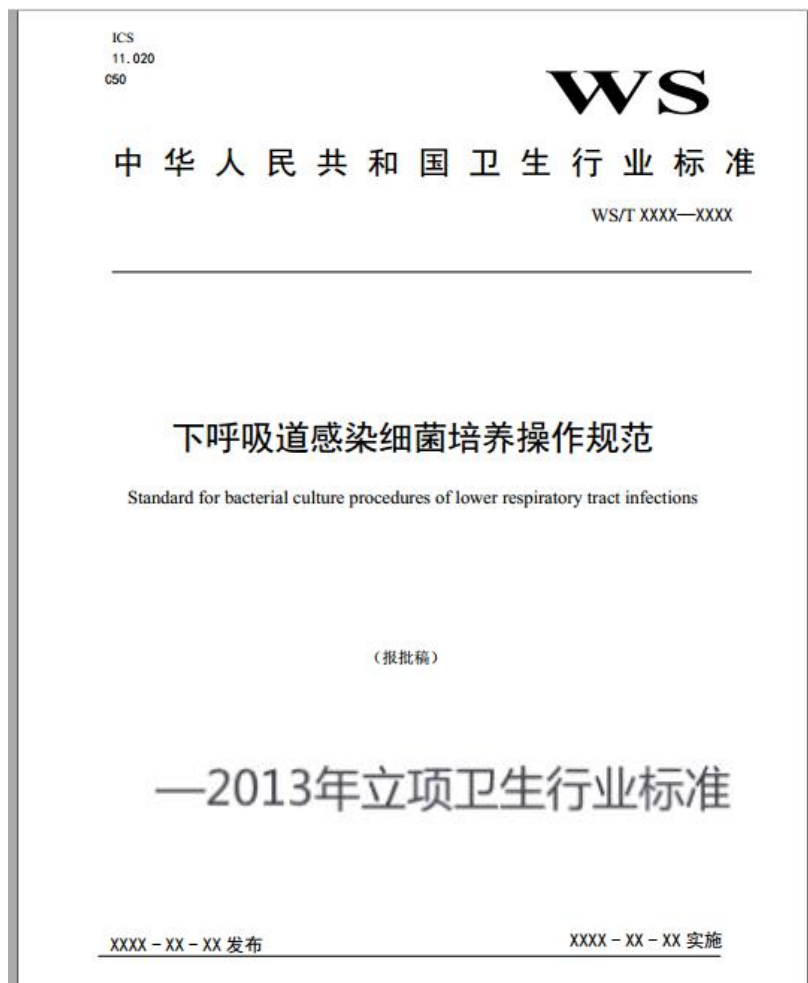
是我们微生物检验质量的保障



苏州市立医院
SUZHOU Municipal
HOSPITAL

南京医科大学附属苏州医院

下呼吸道感染常规细菌培养的操作规范



前言

本标准按照GB/T1.1 2009给出的规则起草。

本标准起草单位：

卫生部临床检验中心、陕西省人民医院、安徽省立医院、北京医院、北京大学人民医院、中国医学科学院北京协和医院、首都医科大学附属北京友谊医院、解放军总医院、浙江省温州医科大学附属第二医院。

本标准主要起草人：胡继红、任健康、马筱玲、胡云建、王辉、徐英春、苏建荣、罗燕萍、李向阳。

1 范围

本标准规定了下呼吸道感染常规细菌培养的操作规范。

本标准适用于医疗机构微生物实验室。



苏州市立医院
SUZHOU Municipal
HOSPITAL

南京医科大学附属苏州医院

本规范的特点：

- (1) 明确：下呼吸道标本**适合诊断的病原和检验项目**；
- (2) 规定：细菌培养项目需同时做革兰染色涂片——
(培养+药敏+涂片)；
- (3) 规范：痰培养/气管吸出物的**定性培养程序**、气管镜采集标本的**定量培养程序**；
- (4) 明确：报告的**临床意义和格式内容**。



操作规范内容

- * 标本采集
- * 标本运送
- * 筛选并拒收的标本
- * 标本处理基本要求
- * 接种和培养
- * 标本涂片及革兰染色
- * 显微镜观察革兰染色结果



血培养规范化操作

ICS 11.020
C50
备案号:

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T XXXX—XXXX
代替

临床微生物实验室血培养操作规范

Operating procedures of blood culture for clinical microbiology laboratory

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

(报批稿)

(本稿完成日期: 20120424)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国卫生部

发布

目次

前言	II
1 范围	1
2 术语	1
3 血样采集和培养瓶接种	1
4 血培养瓶运送	3
5 血培养标本的接收与拒收标准	3
6 实验室操作方法及流程	3
7 血培养安全防护	6
8 血培养结果的处理及报告程序	8
9 血培养质量控制	9
10 儿童血培养	10
11 导管相关血流感染	10
12 感染性心内膜炎	10
13 血培养不常见病原体的特殊处理流程	12
14 血培养污染	13
15 菌株保存	14
参考文献	15



苏州一院
SUZHOU Municipal
HOSPITAL

南京医科大学附属苏州医院

血样采集和培养瓶接种

* 采血时间和套数

3.2.1 采血时间

宜在寒战或高热高峰前后采集，用抗菌药物之前采集。

3.2.2 血培养套数

应同时采集 2~3 套血培养，2d~5 d 内无需重复采集血培养。只有在怀疑感染性心内膜炎或其它

血管内感染（如导管相关性感染）时，才有必要间隔多次采集血培养。对于新生儿，采集一瓶儿童需氧

瓶，宜同时做尿液和脑脊液培养。

3.3 采血量

成人每瓶采血量 8 mL~10 mL，儿童 1 mL~5 mL，但不应超过患儿总血量的 1%。血液和肉汤之比

为 1：5~1：10。新生儿 0.5mL。



目 次

前言	II
1 范围	1
2 术语	1
3 导言	1
4 临床表现	1
5 标本采集	1
6 标本运送	3
7 标本接收	3
8 标本拒收	3
9 实验室检查	3
10 菌尿快速筛查	5
11 结果解释	6
12 报告结果	9
13 直接抗菌药物敏感试验	9
参考文献	10



目 次

前言	IV
1 范围	1
2 术语	1
3 导言	1
4 临床表现	2
5 标本采集	2
5.1 粪便标本	2
5.2 十二指肠、结肠造口术或回肠造口术的内容物	2
5.3 直肠拭子	2
5.4 注意事项	2
6 标本运送	3
7 标本拒收	3
8 标本接收	3
9 实验室检查	3
9.1 信息互通	3
9.2 标本外观及显微镜下检测	3
9.2.1 外观检测	3
9.2.2 生理盐水湿片镜下检测	3
9.3 病原菌的培养及鉴定	4
9.3.1 培养基	4
9.3.2 粪便等肠道标本培养及病原菌鉴定检测流程	6
9.4 抗血清凝集试验及艰难梭菌毒素检测	11
9.4.1 抗血清凝集试验	11
9.4.2 艰难梭菌毒素 A/B 检测	11
9.5 结果报告	12
9.5.1 培养阴性	12
9.5.2 培养阳性	12
9.5.3 霍乱弧菌	12
9.5.4 药敏试验	12
9.6 质量控制	13
9.6.1 培养基质控	13
9.6.2 抗血清凝集试验质控	16
9.6.3 药敏试验质控	16
参考文献	19



谢谢！



苏州市立医院
SUZHOU **Municipal**
HOSPITAL

南京医科大学附属苏州医院