



CNAS-CL42

医学实验室质量和能力认可准则在
临床微生物学检验领域的应用说明

**Guidance on the Application of Accreditation
Criteria for the Medical Laboratory Quality and
Competence in the Field of Clinical Microbiology**

中国合格评定国家认可委员会

前 言

本文件由中国合格评定国家认可委员会（CNAS）制定，是CNAS根据临床微生物学检验的特性而对CNAS-CL02：2012《医学实验室质量和能力认可准则》所作的进一步说明，并不增加或减少该准则的要求。

本文件与CNAS-CL02：2012《医学实验室质量和能力认可准则》同时使用。

在结构编排上，本文件章、节的条款号和条款名称均采用CNAS-CL02：2012中章、节条款号和名称，对CNAS-CL02：2012应用说明的具体内容在对应条款后给出。

本文件的附录A为规范性附录。附录的序号及内容与CNAS-CL02:2012不对应。

本文件于2012年制定，本次为第3次修订。

医学实验室质量和能力认可准则

在临床微生物学检验领域的应用说明

1 范围

本文件规定了 CNAS 对医学实验室临床微生物学检验领域的认可要求。

临床微生物学检验领域中涉及的病毒血清学检验、基因扩增检验、寄生虫检验等应符合相关专业领域应用说明的要求。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括修改单）适用于本文件。

CNAS-RL02 能力验证规则

3 术语和定义

4 管理要求

4.1 组织和管理责任

4.1.1.2 实验室为独立法人单位的，应有医疗机构执业许可；实验室为非独立法人单位的，其所属医疗机构执业证书的诊疗科目中应有医学实验室；自获准执业之日起，开展医学检验工作至少 2 年。

4.1.1.4 e) 应根据工作流程及性质定期实施生物安全风险评估，根据生物安全理论和技术的进展制定、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。

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。

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、气溶胶传播危险的样品或病原体在生物安全柜内操作；
- (c) 样品安全运送及处理，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) 渗漏样品的处理措施；

(e) 工作环境及设备的消毒措施。

4.1.2.5 应至少有 1 名具有副高及以上专业技术职称，从事医学检验工作至少 5 年的人员负责技术管理工作。

4.2 质量管理体系

4.3 文件控制

4.4 服务协议

4.5 受委托实验室的检验

4.6 外部服务和供应

4.7 咨询服务

4.8 投诉的解决

4.9 不符合的识别和控制

4.10 纠正措施

4.11 预防措施

4.12 持续改进

4.13 记录控制

4.14 评估和审核

4.15 管理评审

5 技术要求

5.1 人员

5.1.2 临床微生物学实验室（以下简称“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。

授权签字人应具有中级及以上专业技术职称，从事申请认可授权签字领域专业技术工作至少 3 年。

有颜色视觉障碍者不应从事涉及辨色的微生物学检验。

5.1.5 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、质量保证等培训。

5.1.6 应每年评估员工的工作能力。对新进员工，在最初 6 个月内应至少进行 2 次能力评估。

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估，合格后才可继续上岗，并记录。

5.2 设施和环境条件

5.2.2 c) 实验室内照明宜充足，避免阳光直射及反射，如可能，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。

5.2.5 患者样品采集设施应将接待/等候和采集区分隔开。同时，实验室的样品采集设施也应满足国家法律法规或者医院伦理委员会对患者隐私保护的要求。

5.2.6 应依据所用分析设备和实验过程的要求，制定环境温湿度控制要求并记录。应有温湿度失控时的处理措施并记录。

必要时，实验室可配置不间断电源（UPS）和（或）双路电源以保证关键设备（如需要控制温度和连续监测的分析仪、培养箱、冰箱等）的正常工作。

5.3 实验室设备、试剂和耗材

5.3.1.1 生物安全柜的类型和安装应满足工作要求；培养箱的数量和种类（如特殊温度范围和气体要求）、冰箱应满足诊断需要；无菌体液的显微镜检查应配备细胞离心机。

5.3.1.4 设备校准、验证等应符合如下要求：

- (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；
- (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、培养箱、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）。

5.3.1.5 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。

如果设备故障影响了方法学性能，在设备修复、校准后，实验室可通过检测质控

菌株或已知结果的样品的方式进行性能验证。

5.3.2.3 试剂和耗材验收试验应符合如下要求：

- (a) 新批号及每一货次试剂和耗材使用前，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；
- (b) 新批号及每一货次试剂和耗材，如吡啶试剂，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；
- (c) 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；
- (d) 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；
- (e) 新批号及每一货次直接抗原检测试剂（无论是否含内质控）应用阴性和阳性外质控进行验证；
- (f) 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；
- (g) 一次性定量接种环每批次应抽样验证。

5.3.2.7 各种培养基（试剂）的制备过程应有记录，内容至少应包括：

- (a) 培养基（试剂）名称和类型；
- (b) 配制日期和配制人员；
- (c) 培养基（试剂）的体积；
- (d) 分装体积；
- (e) 成分及其含量、制造商、批号；
- (f) 最初和最终pH值（适用时）；
- (g) 无菌措施，包括实施的方式、时间和温度（适用时）。

5.4 检验前过程

5.4.3 e) 应包括临床诊断，必要时说明感染类型和（或）目标微生物，宜提供抗菌药物使用信息。

5.4.4.3 c) 不同部位样品的采集方法。如：明确说明并执行血培养样品采集的消毒技术、合适的样品量。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）。痰样品直接显微镜检查找抗酸杆菌或结核分枝

杆菌培养，应送检三份痰样品；最好至少连续 3 日，采集每日清晨第一口痰；

g) 延迟运送时，样品的保存方法。

5.4.5 a) 明确规定需要尽快运送的样品；

b) 合适的运送培养基；

c) 安全运送样品的方法（如：密封容器、无样品外漏等）。

5.4.6 b) 应制定样品接收标准，如无肉眼可见的渗漏、合适的样品类型/量、正确的保存、预防拭子干燥、适当的运送培养基等；

e) 宜评估样品的质量并反馈评估结果（如：血培养标本的血量、套数、污染率等）。不合格的样品（如：痰样品等）宜尽快通知医生、护士或患者（门诊），以便重新采集。

5.5 检验过程

5.5.1.1 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、培养基应能从样品中分离、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；应有处理组织样品的能力；

(b) 应明确伤口样品培养程序，深部伤口感染应至少包括样品采集、需氧菌及厌氧菌的培养及鉴定。如果不具备厌氧培养条件，则应将样品置合格的运送系统迅速送有条件的实验室。应有适当的检测苛养菌（如放线菌，快速生长的分枝杆菌等）的方法；

(c) 厌氧菌培养时间与样品类型、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及适当的鉴定方法（适用时）。

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/或样品的检测药物、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。

分枝杆菌样品应置密闭的防渗漏容器内；某些样品（如：尿液、脑脊液）抗酸染

色应浓缩，所有样品培养前应浓缩。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。经空气传播有高度感染性的真菌样品、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。

病毒培养时，应详细记录细胞类型、传代数、细胞来源、培养基及生长状况；应检测并记录培养基和稀释剂的无菌试验和 pH；应监测细胞病变效应，以优化培养的最佳时间。应比较未经接种或接种无菌物质的单层细胞与接种临床样品的培养物。

法定传染病病原微生物的检验程序应满足如下要求：

(a) 检验程序应至少符合国家标准或卫生行业标准；

(b) 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。

5.5.1.2 适用时，检验程序验证内容宜包括精密度、线性、准确度、分析灵敏度、分析特异度、生物参考区间。通常，培养方法的性能特征不包括精密度和线性。

新的鉴定系统使用前，应查阅已发表的完整、科学的系统评估文献作为性能验证的初级证据，再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/药敏结果的符合性进行验证。

5.5.3 j) 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，应只接种一份样品。

5.6 检验结果质量的保证

5.6.2.1 质量控制应满足如下要求：

(a) 使用中的染色剂（革兰染色、特殊染色和荧光染色），至少每周（若检测频率小于每周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；

(b) 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。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；

(c) 实验室采用的抗菌药物敏感性试验方法应以质控标准菌株连续检测20—30天，每一组药物/细菌超出参考范围（抑菌圈直径或MIC）的频率应不超过（ \leq ）1/20

或3/30；也可采用替代质控方案，即连续5天，每天对每一组药物/细菌重复测定3次，每次单独制备接种物，15个数据超出参考范围（抑菌圈直径或MIC）的结果应不超过（ \leq ）1个，若失控结果为2-3个，则如前述，再进行5天，每天3次重复试验，30个数据失控结果应不超过（ \leq ）3个。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。

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、厌氧菌或其它适当方法）。

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；荧光染色应每次实验以阴性和阳性质控验证。

真菌：直接染色（如：抗酸染色，PAS，吉姆萨染色，墨汁染色）检查患者样品时，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）。

病毒：连续细胞传代时应定期监测支原体污染（宜监测阴性未传代的质控株，而不是培养支原体）；应监测用于细胞生长培养液的动物血清的细胞毒性；应具备相应的细胞株用于病毒培养。

5.6.2.2 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。

药敏用标准菌株种类和数量应满足工作要求，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。

5.6.3.1 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。应能提供参加能力验证/室间质评的结果和证书。实验室负责人或指定人员应监控能力验证/室间质评活动的结果，并在结果报告上签字。

5.6.4 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比对的方法和判断标准，至少包括显微镜检查、培养结果判读、抑菌圈测量、结果报告，定期（至少每6个月1次，每次至少5份临床样品）进行检验人员的结果比对、考核并记录。

5.7 检验后过程

5.8 结果报告

5.8.1 结果报告应与检验的内容一致，如粪便沙门菌、志贺菌培养，报告为“未检出沙门菌、志贺菌”。血培养阴性结果报告应注明培养时间。

5.8.2 c) 血液、脑脊液、国家规定立即上报的法定细菌性传染病显微镜检查及培养阳性结果应立即报告临床。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。

5.9 结果发布

5.9.1 b) 血液、脑脊液样品的培养鉴定应及时发送分级报告，如样品直接涂片或湿片直接镜检、培养结果的判读等阳性发现。其它无菌部位来源样品宜报告直接涂片镜检的阳性结果。

当同一个血培养、脑脊液培养分级报告间的结果不一致时应进行原因分析，必要时与临床沟通或反馈，并记录。

应保存抗菌药物敏感性试验资料，至少每年向临床医师报告流行病学分析结果。

5.10 实验室信息管理

附录A（规范性附录）

临床微生物学检验项目认可要求

以下临床微生物检验项目，每一组项目为完整能力，如果实验室开展以下项目组合，则申请该组中任一项目时，应同时申请其它项目；同一项目使用不同仪器/方法报告结果时，全部仪器/方法均应申请认可。

A.1 上呼吸道样品培养和鉴定（普通细菌）、化脓链球菌（6BXXX）、流感嗜血杆菌（6BXXX）。

A.2 下呼吸道样品培养和鉴定（普通细菌）、肺炎链球菌（6B075）、流感嗜血杆菌（6BXXX）。

A.3 粪便培养和鉴定（普通细菌）、沙门菌鉴定（6B085）+血清型分类（6B820）、志贺菌鉴定（6BXXX）+血清型分类（6B825）、弧菌属鉴定（6BXXX）+血清型分类（6B890）。

A.4 脑脊液培养和鉴定（普通细菌）、肺炎链球菌（6B075）、脑膜炎奈瑟菌（6B080）和流感嗜血杆菌（6BXXX）。

A.5 普通细菌药敏试验自动化仪器检测法、纸片扩散法和/或药敏试验（最低抑菌浓度）（6C205）组合申请认可；

A.6 纸片扩散法、药敏试验（最低抑菌浓度）（6C205）。