

临床细菌检验 操作手册

主编 徐修礼 郝晓柯

LINCHUANG
XIJUN JIANYAN
CAOZUO SHOUC



第四军医大学出版社

临床细菌检验 操作手册

主 编 徐修礼 郝晓柯

副主编 杨佩红 孙怡群 刘家云 马越云

编 委 (按姓氏笔画排序)

马越云(第四军医大学)	王迎春(第四军医大学)
刘家云(第四军医大学)	刘艳武(第四军医大学)
孙怡群(第四军医大学)	苏明全(第四军医大学)
李 兵(第四军医大学)	李晓晔(第四军医大学)
杨玉琪(第四军医大学)	杨佩红(第四军医大学)
吴子祥(第四军医大学)	宋立强(第四军医大学)
张利侠(陕西省人民医院)	张鹏亮(第四军医大学)
陈 潇(第四军医大学)	周 珊(第四军医大学)
赵碧君(第四军医大学)	郝晓柯(第四军医大学)
胡雪慧(第四军医大学)	耿 燕(西安交通大学医学院)
徐 焰(第四军医大学)	徐修礼(第四军医大学)
崔志利(第四军医大学)	康 炜(西安医学院)
彭道荣(第四军医大学)	程晓东(第四军医大学)
雷金娥(西安交通大学医学院)	樊 新(第四军医大学)

图书在版编目(CIP)数据

临床细菌检验操作手册 / 徐修礼, 郝晓柯主编.
—西安: 第四军医大学出版社, 2012. 6
ISBN 978 - 7 - 5662 - 0223 - 9

I. ①临… II. ①徐… ②郝… III. ①病原细菌 - 实验室诊断 - 技术手册 IV. ①R446.5 - 62

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 119845 号

临床细菌检验操作手册

主 编 徐修礼 郝晓柯
责任编辑 杨耀锦
出版发行 第四军医大学出版社
地 址 西安市长乐西路 17 号(邮编:710032)
电 话 029 - 84776765
传 真 029 - 84776764
网 址 <http://press.fmmu.sn.cn>
印 刷 陕西翔云印务有限公司
版 次 2012 年 6 月第 1 版 2012 年 6 月第 1 次印刷
开 本 889 × 1194 1/32
印 张 16.25
字 数 450 千字
书 号 ISBN 978 - 7 - 5662 - 0223 - 9/R · 1017
定 价 40.00 元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

前 言

Qianyan

ISO15189 是国际标准化组织专门为医学实验室标准化认可建立的质量保证体系。通过开展 ISO15189 认可工作,有利于提高医学实验室的综合水平,加强检验全过程控制,确保检验工作质量,提高工作效率,确保微生物检验结果的准确性和有效性。目前,我国许多医疗机构临床实验室逐步开展 ISO15189 认可工作,但由于微生物检验工作的特殊性,其标准化存在一定的难度,因此如何按照国际化标准体系文件指导医学实验室的管理,提高检验质量并通过国际认可,是一个迫切需要解决的问题。

根据临床现代细菌检验和 ISO15189 实验室认可标准的要求,我们编写了《临床细菌检验操作手册》一书。目的是:①按 ISO15189 实验室认可标准的专用要求编制细菌实验室标准操作规程;②规范细菌检验标准操作程序,使各种作业均有标准规范可供依循;③在管理方面强调所有的文件、检验报告必须要有回溯性,发生问题的时候可以回溯到原始的数据;④操作有指导、过程有记录,保证检验结果的质量和可追溯性。

全书共十二章,系统地阐述了现代临床细菌检验的标准操作规程,是临床细菌实验室认可及从事细菌

检验人员很好的操作参考书。

本书在编写过程中,得到第四军医大学西京医院检验科微生物室全体工作人员的鼎力相助;在出版过程中,得到第四军医大学出版社、生物梅里埃诊断产品中国有限公司、西安科林生物科技有限公司、北京世纪广通生物科技有限公司的大力帮助和支持,在此表示衷心的感谢。

尽管编写人员尽职尽责,但由于编写时间紧,书中疏漏与不完善之处在所难免,需要在同仁们的实践中不断完善,亦恳请各位读者及专家教授批评指正。

编 者

目 录

Mulu

第一章 绪言	(1)
第一节 批准书	(1)
第二节 细菌室简介	(2)
第二章 细菌室岗位职责	(3)
第三章 细菌室室内质量控制程序	(14)
第一节 细菌室室内质量控制管理程序	(14)
第二节 细菌药敏试验的质控程序	(19)
第三节 细菌培养基的质控程序	(23)
第四节 细菌常用酶学试验的质控程序	(26)
第五节 细菌标本采集盒的质控程序	(28)
第四章 细菌室室间质量控制程序	(31)
第一节 细菌质控品管理程序	(31)
第二节 细菌室室间质评操作程序	(32)
第五章 各类标本检验项目操作程序	(38)
第一节 呼吸道标本微生物学检验操作程序	(38)
第二节 血液及骨髓标本微生物学检验操作程序	(48)
第三节 尿液标本微生物学检验操作程序	(56)
第四节 脑脊液标本微生物学检验操作程序	(61)
第五节 胸腹水等体液标本微生物学检验操作程序	(66)
第六节 粪便标本微生物学检验操作程序	(71)
第七节 生殖道分泌物标本微生物学检验操作程序	(75)
第八节 脓液标本微生物学检验操作程序	(79)
第九节 眼、耳、鼻、喉分泌物微生物学检验操作程序	(84)
第十节 组织标本微生物学检验操作程序	(88)



第十一节	静脉插管微生物学检验操作程序	(93)
第十二节	抗菌药物敏感性试验操作程序	(96)
第十三节	各类细菌鉴定操作程序	(126)
第十四节	淋菌培养鉴定操作程序	(204)
第十五节	厌氧菌培养鉴定操作程序	(205)
第十六节	真菌培养鉴定操作程序	(216)
第十七节	结核杆菌培养操作程序	(229)
第十八节	内毒素(革兰阴性菌脂多糖)定量检测操作 程序	(232)
第十九节	真菌感染检测(1,3- β -D 葡聚糖)操作 程序	(235)
第二十节	半乳甘露聚糖检测操作程序	(239)
第二十一节	T 淋巴细胞斑点试验操作程序	(244)
第二十二节	降钙素原(PCT)检测操作程序	(247)
第二十三节	溶菌酶检测操作程序	(250)
第二十四节	支原体培养操作程序	(252)
第二十五节	衣原体检测操作程序	(255)
第二十六节	艰难梭菌 A/B 毒素检测操作程序	(259)
第二十七节	肺炎链球菌抗原检测操作程序	(261)
第二十八节	肺炎支原体检测操作程序	(263)
第六章	细菌室仪器设备操作程序	(267)
第一节	VITEK II 全自动细菌鉴定仪操作程序	(267)
第二节	ATB 细菌鉴定系统操作程序	(274)
第三节	WalkAway 96 全自动细菌鉴定和药敏 分析仪操作程序	(279)
第四节	BACT /ALERT 3D 血培养仪操作程序	(287)
第五节	BACTEC 9120/9240 全自动血培养仪操作 程序	(292)
第六节	BD MGIT960 全自动分枝杆菌检测/药敏 系统操作程序	(298)
第七节	MB - 80 微生物快速动态检测系统操作程序	(312)
第八节	BIOMIC Vision 药敏分析仪操作程序	(314)

第九节	离心涂片染色机操作程序	(316)
第十节	AES 培养基罐装仪操作程序	(318)
第十一节	HIRAYAMA(HV-50)高压蒸汽灭菌器 操作程序	(323)
第十二节	ZEALWAYG154DW 高压蒸汽灭菌器 操作程序	(325)
第十三节	新华普通卧式 XG1.X 型高压蒸汽灭菌器 操作程序	(328)
第十四节	BIOBSE BSC-1100 II B2-Z 型生物 安全柜操作程序	(330)
第十五节	BIOBSE BSC-1500C+II 型生物安全 柜操作程序	(333)
第十六节	BIOBSE BSC-1360 II B2 型生物安全柜 操作程序	(336)
第十七节	SW-CJ-1FB 型净化工作台操作程序	(339)
第十八节	SW-CJ-1CU 型净化工作台操作程序	(341)
第十九节	BUG BOX 厌氧培养箱操作程序	(343)
第二十节	BPC-250 型生化培养箱操作程序	(346)
第二十一节	SHH.W21.600 型三用电热恒温水箱 操作程序	(348)
第二十二节	Rowsen PHW-80Q 型恒温培养箱 操作程序	(350)
第二十三节	Rowsen PHW-200S 型水套式恒温培 养箱操作程序	(352)
第二十四节	WiseCube 数显恒温恒湿箱操作程序	(354)
第二十五节	Heraeus CO ₂ 培养箱操作程序	(356)
第二十六节	细菌多点接种仪操作程序	(358)
第二十七节	海尔低温 DW-40L508 冰箱操作程序	(360)
第二十八节	ROUSEN BYY-660 药品冷藏箱操作	



程序	(362)
第二十九节 海尔 DW-40L262 医用低温保存箱 操作程序	(364)
第三十节 OLYMPUS CK40 生物显微镜操作程序	(365)
第三十一节 OLYMPUS CX21 生物显微镜操作程序	(367)
第三十二节 OLYMPUS CX41 示教显微镜操作程序	(368)
第三十三节 OLYMPUS CX31 生物显微镜操作程序	(371)
第三十四节 TDZ5-WS 多管架自动平衡离心机 操作程序	(373)
第三十五节 TGL-20MS 低温离心机操作程序	(375)
第三十六节 TDL-5M 低温离心机操作程序	(377)
第三十七节 赛多利斯 BS124S 电子天平操作程序	(379)
第三十八节 奥豪斯 AR2130 电子天平操作程序	(381)
第三十九节 赛多利斯 PB-10 精密酸度计操作程序	(383)
第四十节 红外电热灼烧器操作程序	(386)
第四十一节 涡旋混合器操作程序	(387)
第四十二节 连续加样移液器(ATB 专用)操作程序	(388)
第四十三节 移液器操作程序	(390)
第四十四节 VITEK II 电子比浊仪操作程序	(392)
第四十五节 MicroScan WalkWay 96 电子比浊仪 操作程序	(393)
第四十六节 ATB 电子比浊仪操作程序	(395)
第四十七节 不间断电源 UPS 使用维护保养程序	(397)

第七章 细菌室常用染色方法操作程序	(398)
第一节 革兰染色操作程序	(398)
第二节 抗酸染色操作程序	(401)
第三节 墨汁染色(负染法)操作程序	(403)
第四节 阿培染色操作程序	(405)
第八章 细菌室常用酶学试验操作程序	(407)
第一节 氧化酶试验操作程序	(407)
第二节 触酶试验操作程序	(408)
第三节 凝固酶试验操作程序	(410)
第四节 β -内酰胺酶试验操作程序	(412)
第五节 超广谱 β -内酰胺酶(ESBL 酶)试验操作 程序	(415)
第六节 AmpC 酶试验操作程序	(419)
第七节 碳青霉烯酶试验操作程序	(421)
第八节 D-test 试验操作程序	(426)
第九节 耐甲氧西林葡萄球菌纸片法筛选操作程序 ...	(427)
第九章 细菌室常用生化和血清学试验操作程序	(431)
第一节 奥普托新敏感试验操作程序	(431)
第二节 杆菌肽敏感试验操作程序	(433)
第三节 CAMP 试验操作程序	(434)
第四节 卫星试验操作程序	(435)
第五节 X、V、X+V 因子纸片试验操作程序	(436)
第六节 制动试验操作程序(霍乱弧菌血清学检测)	(438)
第七节 沙门菌血清凝集试验操作程序	(439)
第八节 致病性大肠埃希菌血清凝集试验操作程序 ...	(442)
第九节 链球菌血清凝集试验操作程序	(443)
第十节 志贺菌血清凝集试验操作程序	(445)
第十一节 葡萄糖 O/F 试验操作程序	(449)
第十二节 甲基红试验操作程序	(450)
第十三节 吲哚试验操作程序	(452)
第十四节 吲哚及尿素试验操作程序	(454)



第十五节	赖氨酸脱羧酶试验操作程序	(455)
第十六节	鸟氨酸脱羧酶试验操作程序	(457)
第十七节	枸橼酸盐利用试验操作程序	(458)
第十八节	乳糖利用试验操作程序	(460)
第十九节	甘露醇利用试验操作程序	(461)
第二十节	蔗糖利用试验操作程序	(463)
第二十一节	丙二酸盐利用试验操作程序	(464)
第二十二节	七叶苷试验操作程序	(466)
第十章	细菌常用培养基的配制操作程序	(468)
第一节	羊血琼脂配制操作程序	(468)
第二节	M-H 琼脂配制操作程序	(470)
第三节	念珠菌显色培养基配制操作程序	(472)
第四节	沙保弱肉汤/琼脂配制操作程序	(473)
第五节	高盐卵黄琼脂配制操作程序	(475)
第六节	葡萄糖肉汤配制操作程序	(477)
第七节	SS 琼脂配制操作程序	(478)
第八节	麦康凯琼脂配制操作程序	(480)
第九节	葡萄糖美兰 MH 琼脂配制操作程序	(481)
第十节	双糖培养基配制操作程序	(483)
第十一节	厌氧血琼脂配制操作程序	(484)
第十二节	庖肉培养基配制操作程序	(486)
第十三节	L 型琼脂配制操作程序	(488)
第十四节	自制生化反应管操作程序	(489)
第十五节	巧克力琼脂配制操作程序	(490)
第十一章	细菌菌种保存程序	(493)
第十二章	细菌室人员和仪器性能验证比对程序	(500)
第一节	VITEKII 全自动细菌鉴定仪性能验证程序	(500)
第二节	血培养仪的性能验证程序	(501)
第三节	细菌鉴定仪的比对程序	(503)
第四节	细菌涂片检查人员比对程序	(505)
第五节	K-B 纸片扩散法药敏试验人员比对程序	(508)

第一章

绪 言

第一节 批准书

为确保检验结果公正、科学、准确、及时,实验室依据CNAS-CL02《医学实验室质量和能力认可准则》(ISO15189:2007)、《检验科质量手册》和《检验科程序文件》编制了《细菌室作业指导书》。它具体描述了细菌实验室检验项目和仪器设备、质量控制的操作方法和程序,指明了相应的安全注意事项和应急措施,并对具体岗位进行了授权。

经审核,《临床细菌检验操作手册》符合实际情况,并满足CNAS-CL02《医学实验室质量和能力认可准则》(ISO15189:2007)的要求。要求操作人员仔细阅读,认真执行,确保实现质量目标,并持续改进。

批准人:

检验科主任:

年 月 日



第二节 细菌室简介

工作职能：

各类感染标本中病原微生物的检测和药物敏感性测定、院内感染控制的微生物监测工作、配合临床开展科研协作和新药验证工作及负责参加国内外细菌耐药性的监测工作等。

主要人员：

高级职称__人；中级职称__人；初级职称__人；合同技工__人。

重要仪器和设备：

如：

VITEK - TWO 和 ATB - EXPRESS 细菌鉴定和药敏分析系统

PHEONEX 100 细菌鉴定和药敏分析系统

MICROSCAN WALK - AWAY - PLUS 96 细菌鉴定和药敏分析系统

Vitek - MS 全自动细菌质谱鉴定仪

COPAN WASP 全自动微生物样本处理系统

Diversi Lab 医院感染病原菌分型仪

BacTAlert/3D 和 BACTEC9000 系列快速血液培养系统

MGIT 960 结核菌培养和药敏试验分析仪

Geno - type HAIN 分枝杆菌检测与耐药基因检测仪

GEN - PROBE 结核基因探针杂交化学发光快速检测仪

MB80 微生物动态快速分析仪

BIOMIC 自动药敏检测分析仪

细菌室岗位职责

1 目的

规范细菌室各岗位职责,以保证细菌室检验工作的正确管理。

2 适用范围

细菌室全体工作人员。

3 要求

3.1 细菌室专业组长

3.1.1 任职条件:主管检验师或主治医师以上职称,研究生以上学历。从事细菌专业工作5年以上,有丰富的实践技术经验和组织管理能力。

3.1.2 在科主任领导下,实行专业组组长负责制,负责本专业组的医疗质量、教学科研及行政管理工作。定期向科主任汇报本月工作开展及发展状况。

3.1.3 负责本组人员的工作安排、培训和考核。带头执行各项技术操作程序,认真贯彻执行医院与科室的各项规章制度,做好组内资料的登记、统计和财产保管工作。

3.1.4 组织编写细菌专业检验项目的作业指导书,检查执行情况。要根据细菌学发展状况,不断丰富、完善本室检验内涵,提高业务质量。

3.1.5 亲自参加检验工作和临床咨询工作,解决本专业的疑难问题,审签本组检验报告。每月深入临床科室征询意



见,介绍新的检验项目及临床意义,主动配合医疗教学工作。

3.1.6 负责本专业检验人员的业务学习、继续教育和技术考核等工作。

3.1.7 负责指定技术主管、质量主管、试剂主管、文件主管、外部主管、内务(安全)主管、设备仪器主管,并制定相应职责。

3.1.8 结合临床医疗和本科实际情况,制定本专业的科研计划,不断引进和吸收国内外新理论、新技术,改进、完善检验方法。

3.1.9 及时与本组人员交流思想,协调关系,保持良好的工作氛围。

3.1.10 负责组内考勤,协调人员轮转,保证组内成员技术全面,保证一定的在岗在位率,保障常规医疗任务的顺利完成。月初统计本组工作量及收入以及上月试剂消耗情况,上报科内相应(管理)负责人。

3.1.11 负责进修、实习人员和外来科研人员的管理和学习培训工作。

3.2 主管

任职条件:技术、质量主管要求主管检验师或主治医师以上职称,最好研究生以上学历。从事细菌专业工作5年以上,有丰富的实验技术经验和一定的管理能力。其他主管要求在细菌专业工作3年以上。

3.2.1 技术主管

3.2.1.1 协助组长负责本专业技术管理及部分行政管理工作。

3.2.1.2 负责实验室的技术开展及监督工作,以及解决与临床沟通和技术疑难问题。

3.2.1.3 协助组长编写本专业检验项目的操作手册,带头执行各项技术操作规程,认真贯彻执行医院与科室的各项规章制度。

3.2.1.4 亲自参加检验工作,协助组长解决本专业的复

杂疑难问题,审签本专业组的检验报告。

3.2.1.5 经常深入到临床科室征询意见,介绍新的检验项目及临床意义,主动配合临床医疗工作。负责本专业检验人员的业务学习、继续教育、培训和技术考核等工作。

3.2.1.6 结合临床医疗实际情况,不断引进和吸收国内外新理论、新技术、新方法,不断更新和改进各种检验方法。

3.2.2 质量主管

3.2.2.1 规划及落实本专业质量计划,检查执行情况,参加陕西省及卫生部临床检验中心组织的室间质量评价活动。

3.2.2.2 负责实验室的质量检查和监督工作。

3.2.2.3 每月检查各检验项目的室内质控,分析质控数据,失控时提出纠正措施并监督实施。

3.2.2.4 审查和监督填写室间质评回报表,分析质评成绩,撰写室间质评总结报告,并提出改进措施。

3.2.3 仪器主管

3.2.3.1 负责本实验室仪器的日常管理和检查登记工作。

3.2.3.2 负责本室设备、仪器的校准、保养和维修工作。

3.2.3.3 制定仪器的操作规程,负责仪器使用人员的培训、考核和使用管理工作。

3.2.4 文件主管

3.2.4.1 协助组长做好室内资料的登记、统计和财产保管工作。

3.2.4.2 负责实验室的文件、LIS 系统的管理及检查和监督工作。

3.2.5 试剂主管

3.2.5.1 负责实验室的试剂采购、出入库管理和质量监督工作。

3.2.5.2 负责试剂和实验用品的请领、使用和保管(记录)。

3.2.5.3 每月底负责试剂的清查和厂商的质量跟踪服务。

3.2.6 教学科研主管

3.2.6.1 负责实验室的教学科研工作及临床会诊工作。



3.2.6.2 协助组长制定本专业的科研计划和课题、成果的申报。

3.2.6.3 协同技术主管开展国内外新理论、新技术、新方法。

3.2.6.4 协助组长解决本专业的复杂疑难问题。

3.2.7 内务(安全)主管

3.2.7.1 负责实验室的安全检查和消毒清洁工作。

3.2.7.2 负责实验室标本的保存、废弃物的处理和实验室常用物品的请领工作。

3.2.7.3 负责实验室的常规记录、工作量统计、票据的清算和保管工作。

3.2.8 外部主管

3.2.8.1 负责外来试验及人员的管理工作。

3.2.8.2 负责外部事物的处理,医疗纠纷、投诉及临床的抱怨等问题的解决和处理。

3.2.8.3 负责进修、实习人员的管理和学习安排。

3.3 检验医师

3.3.1 在科主任领导和上级医师指导下,按照分工,参加本科专业的诊疗教学和科研工作。参加室内日常工作和值班,通过对细菌检验技术的学习和掌握,有针对性地开展临床咨询和会诊工作。

3.3.2 能够对检验申请、患者准备、患者识别以及样本采集、运送、保存、处理、检测和结果给予指导培训答疑和咨询。

3.3.3 有能力独立出具检验诊断报告单。有权对报告单进行审核,对异常结果可以给出合理的解释。追踪危急报告和三级报告的落实情况。

3.3.4 能够参与临床查房和疑难危重病例的会诊,正确解释检验结果,并对临床诊断和治疗提出建议。尤其对呼吸科、SICU、血液科、肿瘤科、头颈外科、普通外科感染患者给予重点关注。

3.3.5 能够理解细菌检验项目的临床意义,收集和了解