

结核病实验室 标准化操作 与网络建设

主 编 赵雁林 刘志敏



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

结核病实验室 标准化操作与网络建设

主 审 王 宇

主 编 赵雁林 刘志敏

副主编 王海英 郑建礼 徐 勇

 人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

结核病实验室标准化操作与网络建设 / 赵雁林, 刘志敏主编. — 北京: 人民卫生出版社, 2013.9

ISBN 978-7-117-16925-7

I. ①结… II. ①赵… ②刘… III. ①结核病-实验室-技术操作规程②计算机网络-应用-结核病-实验室管理 IV. ①R52

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 158533 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

结核病实验室标准化操作与网络建设

主 编: 赵雁林 刘志敏

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 三河市双峰印刷装订有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 710×1000 1/16 印张: 32

字 数: 591 千字

版 次: 2013 年 9 月第 1 版 2013 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-16925-7/R · 16926

定 价: 72.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

编委名单

(以姓氏笔画为序)

于永焕	于春宝	万康林	王 庆	王 瑞	王 燕	王秀梅
王春花	王俊玲	王胜芬	王晓蕾	王海英	王新锋	王甦民
尹诗维	龙 波	冯 苗	司红艳	吕 冰	刘 洁	刘 敏
刘志广	孙 岱	孙昭辉	孙道芳	苏云开	李 辉	李 强
李月华	李发滨	李国刚	李欣欣	李学政	李桂莲	杨修军
肖慧霞	吴蓓蓓	宋媛媛	张学志	陆 伟	陈 晋	陈 涛
陈马秀	陈田雄	陈连勇	欧喜超	周 杨	周丽平	郑 扬
郑建礼	赵 冰	赵 静	赵丽丽	赵秀芹	赵雁林	柳正卫
逢 宇	袁 薇	夏 辉	柴 琦	徐 勇	唐骁威	黄 庆
梅 建	梁庆福	斯 琴	葛 伟	董海燕	蒋 毅	蒋彩花
景 辉	蓝如束	谭云洪	谭耀驹			

结核病是一种严重危害人类健康的慢性呼吸道传染病，危害人类健康的历史已有数千年。20 世纪 80 年代以来，结核病疫情在全球“复燃”并逐渐趋于严重。世界卫生组织（World Health Organization, WHO）于 1993 年宣布“全球结核病紧急状态”。结核病不再仅仅是一个公共卫生问题，更成为制约人类健康和社会发展的严重社会问题。

结核病实验室检查是为结核病的确诊提供病原学证据，也是确定传染性肺结核尤其是耐多药结核病的重要依据，是开展结核病疫情监测、治疗和防治效果评价的技术关键。结核病实验室体系规范化建设是国家结核病防治规划的重要组成部分。目前，我国结核病实验室网络建设状况尚不能适应国家结核病防治工作发展的需求，存在诸如经费投入不足、基础设施薄弱、人力资源有限等方面的问题，成为我国结核病防治规划有效实施所面临的挑战之一。随着《十二五全国结核病防治规划》工作的深入开展，规范结核病实验室的标准化操作、提高结核病实验室的服务质量和水平、建立健全全国结核病实验室网络服务体系已成为当前我国结核病控制工作中十分重要和紧迫的任务。然而，目前我国尚缺乏系统全面介绍结核病实验室规范化管理和标准化操作以及全国结核病实验室网络建设内容的书籍。

因此，我们希望能够通过本书的编写，从微观的角度详述结核病实验室最为规范化管理和标准化操作模式，从宏观的角度介绍当前我国结核病实验室网络建设的发展重心和工作重点，供广大结核病实验室工作人员、临床医护人员、结核病预防控制工作人员以及结核病相关研究者等参考使用。

本书是集体创作的成果，参加编著的成员都具有多年结核病实验室或结核病预防控制工作经验。虽然集体编著与适当分工会带来一些诸如前后文衔接、文字风格等不可避免的问题，但在本书的编著过程中编者们都带着强烈的责任感与使命感，从拟定编写计划、编写提纲、写作方式到审稿、定稿整个过程中，多次开会讨论、认真商榷、交叉审稿、相互砥砺，真正发挥了集体的力量与个人的所长，在一定程度上弥补了上述不足。编者们不辞劳苦、无私奉献的精神促成了本书的成功出版，特此衷心地向他们表示感谢。

本书在编写和出版过程中，始终得到卫生部结核病预防控制专家委员会、华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科孙自镛主任、人民卫生出

版社编辑的积极支持，在此一并表示衷心的感谢！

结核病实验室的体系建设是一个庞大的系统工程，所涉及的操作方法、设备、相关标准和准则繁多，同时有新的技术不断涌现，很难仅仅通过一本书就可以完全涵盖。因此，我们只能遴选结核病实验室标准化操作和网络建设中应用性强、可操作性好、指导意义重要的内容展示于本书中，以达到抛砖引玉的作用。希望本书的编写能够与国内出版的同类书籍起到相得益彰的作用，共同促进我国结核病实验室的建设和发展。同时，本书在编写过程中难免有许多不足之处，敬请各位专家、学者与读者赐教指正。

编 者

2013年8月

上篇 结核病实验室标准化操作

第1章 结核病实验室的管理要求	3
第1节 组织和管理	4
1.1 结核病实验室设置及管理程序	4
1.2 人员招聘、培训和考核的管理程序	6
1.3 工作人员岗位职责设置程序	10
1.4 检验人员行为规范程序	13
1.5 检验人员内务行为规范程序	14
1.6 持证上岗管理程序	15
1.7 机密信息管理程序	17
1.8 投诉解决程序	18
第2节 质量管理	19
2.1 质量管理程序	19
2.2 室内质量控制管理程序	21
2.3 室间质量评价管理程序	23
2.4 试剂和物品管理程序	25
2.5 设备管理程序	28
2.6 仪器设备检定/校准程序	33
2.7 质量和技术记录的管理程序	35
2.8 不符合项的识别和纠正程序	38
2.9 纠正措施管理程序	40
2.10 预防措施管理程序	41
2.11 持续改进程序	43
第3节 安全管理	44
3.1 人员准入程序	44

3.2	实验室安全防护工作程序	45
3.3	个人防护装备的选择、使用、维护程序	48
3.4	实验室感染性材料的操作与防护程序	52
3.5	实验室仪器设备去污染和维护程序	56
3.6	化学品和其他危险物品的确认、安全存放与处置及 监控程序	57
3.7	实验室材料安全数据单的获得、维持和分发程序	59
3.8	紧急事件处理程序	61
3.9	事件记录、报告及调查程序	63
3.10	菌（毒）种保藏管理程序	64
3.11	高致病性病原微生物运输、接/送程序	65
3.12	实验室生物安全自查制度	68

第2章 结核病实验室的技术要求 69

第1节 原始标本采集手册 69

1.1	痰标本采集标准操作规程	69
1.2	尿液标本采集标准操作规程	72
1.3	血液标本采集标准操作规程	73
1.4	其他标本采集标准操作规程	76

第2节 检验前操作程序 79

2.1	检验项目申请程序	80
2.2	检验标本条形码生成程序	80
2.3	采样前患者的准备程序	81
2.4	采样前患者识别程序	82
2.5	标本采集、运送程序	83
2.6	标本接收、验收程序	84
2.7	标本拒收程序	86

第3节 检验中标准操作规程——仪器的使用及维护 88

3.1	Ⅱ级生物安全柜使用及维护标准操作规程	88
3.2	CO ₂ 培养箱使用及维护标准操作规程	92
3.3	光学显微镜使用及维护标准操作规程	96
3.4	蒸汽凝固器使用及维护标准操作规程	98

3.5	电动高速组织捣碎机使用及维护标准操作规程	100
3.6	组织匀浆器使用及维护标准操作规程	101
3.7	低速冷冻大容量离心机使用及维护标准操作规程	102
3.8	台式高速冷冻离心机使用及维护标准操作规程	104
3.9	医用低速离心机使用及维护标准操作规程	106
3.10	超低温冰箱使用及维护标准操作规程	108
3.11	大容量冷藏冰箱使用及维护标准操作规程	110
3.12	普通冰箱使用及维护标准操作规程	112
3.13	BacT / ALERT 3D全自动细菌培养仪使用及维护 标准操作规程	115
3.14	BACTEC MGIT 960培养仪使用与维护标准操作规程	122
3.15	荧光定量PCR仪使用与维护标准操作规程	125
3.16	遗传分析仪使用及维护标准操作规程	127
3.17	高效液相色谱仪使用及维护标准操作规程	130
3.18	真空离心浓缩系统使用及维护标准操作规程	135
3.19	真空转印仪使用及维护标准操作规程	136
3.20	杂交炉使用及维护标准操作规程	139
3.21	凝胶电泳系统使用及维护标准操作规程	140
3.22	电泳仪使用及维护标准操作规程	143
3.23	酶标仪使用及维护标准操作规程	144
3.24	洗板机使用及维护标准操作规程	146
3.25	电子天平使用及维护标准操作规程	147
3.26	pH计使用及维护标准操作规程	149
3.27	移液器使用及维护标准操作规程	153
3.28	普通卧式压力蒸汽灭菌器使用及维护标准操作规程	155
3.29	PCR仪使用和维护标准操作规程	159
3.30	芯片杂交仪使用及维护标准化操作规程	161
3.31	芯片洗干仪使用及维护标准化操作规程	163
3.32	结核分枝杆菌检测芯片判别系统使用及维护标准化 操作规程	165
第4节	检验中标准操作规程——常用培养基及试剂配制	167
4.1	萆尔-尼尔逊染色液配制标准操作规程	167

4.2	金胺O染色液配制标准操作规程	169
4.3	N-乙酰-L-半胱氨酸-NaOH处理液配制标准操作规程	170
4.4	pH6.8磷酸盐缓冲液(PBS)配制标准操作规程	172
4.5	改良罗氏培养基制备标准操作规程	173
4.6	结核菌比例法药敏培养基制备标准操作规程	177
4.7	结核菌绝对浓度法药敏培养基制备标准操作规程	182
4.8	对硝基苯甲酸培养基制备标准操作规程	184
4.9	噻吩-2-羧酸胍培养基制备标准操作规程	185
4.10	Middlebrook 7H9培养基制备标准操作规程	186
4.11	苏通培养基制备标准操作规程	188
4.12	液体Dubos培养基制备标准操作规程	190
第5节	检验中标准操作规程——生化和血清学试验	191
5.1	对硝基苯甲酸生长试验标准操作规程	191
5.2	28℃生长试验标准操作规程	193
5.3	耐热触酶试验标准操作规程	194
5.4	噻吩-2-羧酸胍培养基生长试验标准操作规程	195
5.5	硝酸还原试验标准操作规程	197
5.6	烟酸试验标准操作规程	198
5.7	生长速度试验标准操作规程	199
5.8	色素产生试验标准操作规程	201
5.9	苦味酸培养基生长试验标准操作规程	203
5.10	5%NaCl培养基生长试验标准操作规程	204
5.11	谷氨酸钠葡萄糖琼脂培养基生长试验标准操作规程	206
5.12	麦康凯琼脂培养基生长试验标准操作规程	207
5.13	吐温-80水解试验标准操作规程	209
5.14	尿素酶试验标准操作规程	210
5.15	芳香硫酸酯酶试验标准操作规程	211
5.16	铁离子吸收试验标准操作规程	213
5.17	亚硝酸盐还原试验标准操作规程	214
5.18	酶联免疫法检测血清抗结核菌抗体标准操作规程	216
5.19	胶体金法检测血清抗结核菌抗体标准操作规程	218
5.20	结核感染T细胞检测标准操作规程	219

第6节 检验中标准操作规程——临床分枝杆菌检查基本技术	224
6.1 抗酸杆菌检查涂片制备标准操作规程	224
6.2 萋尔-尼尔逊染色显微镜检查法标准操作规程	227
6.3 荧光染色显微镜检查法标准操作规程	232
6.4 结核分枝杆菌核酸扩增荧光检测标准操作规程	235
6.5 环介导等温扩增技术检测结核分枝杆菌标准操作规程	239
6.6 简单法痰标本分枝杆菌培养标准操作规程	241
6.7 离心法分枝杆菌培养标准操作规程	244
6.8 分枝杆菌液体培养法标准操作规程	249
6.9 分枝杆菌菌种鉴定标准操作规程	256
6.10 分枝杆菌分枝菌酸法菌种鉴定标准操作规程	265
6.11 16SrRNA基因测序法菌种鉴定标准操作规程	268
6.12 基因芯片法分枝杆菌菌种鉴定标准操作规程	272
6.13 结核菌绝对浓度法药物敏感性试验标准操作规程	277
6.14 结核菌比例法药物敏感性试验标准操作规程	280
6.15 鸟-胞内分枝杆菌复合群药物敏感试验标准操作规程	283
6.16 快速生长分枝杆菌药敏试验标准操作规程	287
6.17 结核菌快速药物敏感性检测标准操作规程	292
6.18 结核分枝杆菌耐药检测基因芯片法标准操作规程	294
6.19 分子线性探针技术检测结核分枝杆菌耐药标准 操作规程	298
6.20 Xpert MTB/RIF标准操作规程	304
6.21 血液药物浓度检测标准操作规程	308
第7节 检验后操作程序	312
7.1 检验结果评审程序	312
7.2 检验结果报告程序	313
7.3 结果解释与咨询服务程序	316
7.4 检验后标本和废弃物管理程序	317
7.5 实验室数据保存、备份管理程序	319
7.6 记录资料的管理程序	320
7.7 菌株短期保存程序	322
7.8 菌株长期保存程序	323

第3章 结核分枝杆菌基因分型技术	328
第1节 结核分枝杆菌染色体DNA提取标准操作规程	329
第2节 结核分枝杆菌IS6110-RFLP基因分型方法标准操作规程	334
第3节 结核分枝杆菌MIRU-VNTR分型方法标准操作规程	341
第4节 结核分枝杆菌Spoligotyping基因分型法标准操作规程	346
第5节 结核分枝杆菌基因分型技术的应用	354

下篇 结核病实验室网络建设

第4章 全国结核病实验室建设现状	363
第5章 全国结核病实验室检测能力建设与发展规划 (2011—2015年)	365
第1节 工作目标及原则	365
第2节 建设任务和标准、资金安排	367
第3节 相关政策和保障措施	368
第4节 主要活动	370
第6章 加强结核病实验室网络建设	372
第1节 全国结核病实验室网络框架及各级实验室的主要任务	372
第2节 全国各级结核病实验室的基本要求	374
第3节 加强结核病实验室信息网络平台建设	379
第4节 结核病实验室网络建设优秀示例	380
第7章 加强结核病实验室人力资源	385
第8章 落实结核病实验室生物安全相关要求	389
第9章 提高结核病防治规划服务水平	393
第10章 强化结核病实验室的质量保证	397
第11章 大力推进结核病实验室的国家认可工作	400

第12章 积极开展结核病实验室的行业内合格评定工作	405
第13章 加强结核病实验室的科研与国际合作	406
附 录	410
CNAS-CL02:2008医学实验室质量和能力认可准则 (ISO 15189:2007)	410
CNAS-CL36: 2007医学实验室安全认可准则 (ISO 15190:2003)	445
附表1 实验室管理要求相关表格	477
附表2 实验室技术要求相关表格	482
附表3 仪器的使用及维护相关表格	485
附表4 实验室质量控制相关表格	490

近年来,我国正在各级医疗机构和疾病预防控制机构中大力推动医学实验室规范化管理工作,并逐步与国际接轨。实验室通过试验、化验、检验和分析等手段为疾病的预防、诊断和治疗等提供各种相关数据和信息。实验室标准化操作是实验室活动具有科学性和有效性的基础和前提,实验室认可可是实验室质量保证的有效手段,也是市场国际化的需要。截至2012年10月,国内先后有近百余家医学实验室通过了中国合格评定国家认可委员会(CNAS)的ISO 15189和/或ISO 17025等质量管理体系和(或)能力认可。建立既符合国际标准又适合自身实验室发展的质量管理体系是医学实验室发展的方向。结核病实验室工作是国家结核病防治规划中的重要组成部分,在结核病防治中发挥着不可或缺的作用,实验室的建设方针和职能定位以及机制和制度等管理措施是构成实验室健康发展的根本要素,管理到位、务实高效是实验室又好又快发展的前提条件和保证。本篇的第一章节中,笔者将从管理的层面介绍结核病实验室的质量管理要求。

建立符合国家相关法律、法规、标准和要求,同时满足国际标准的质量管理体系,加强检验流程的标准化操作有利于提高实验室的质量和能力的实现,实现实验室间检测结果的互认,提高服务对象对实验室结果的信任度。结核病实验室应该按照相关标准和要求建立实验室运行体系,以质量管理体系为基础平台、以标准化操作规程为基本标尺,推动结核病预防控制工作的可持续发展。本篇的第二章节中,笔者将从技术的角度着眼,按照检验流程的先后顺序详述结核病实验室的标准化运行要求。

结核病分子流行病学的应用对结核分枝杆菌的流行和传播研究有了突破性的进展。结核分枝杆菌基因分型的方法在临床、结核病控制和结核病发病机制方面有着重要的作用。本篇的第三章节中,笔者将对三种主要的结核分枝杆菌基因分型技术及相关标准化操作程序进行详细介绍。

结核病实验室的管理要求

2006 年 2 月, 卫生部颁布了《医疗机构临床实验室管理办法》, 对实验室管理中的质量和安全提出了基本要求, 其核心是通过建立实验室质量管理体系, 实施规范化管理, 提高员工的质量意识、安全意识和专业素质, 进而推进实验室的质量和能力建设, 促进符合国际管理规范的临床实验室建成; 2008 年 12 月 1 日, CNAS 重新发布实施了 CNAS-CL02: 2008 医学实验室质量和能力认可准则 (ISO 15189: 2007), 成为指导我国医学实验室标准化建设的最新指导准则。该准则条款“4 管理要求”中对医学实验室的管理要素做了详细的规定, 包括: 4.1 组织和管理, 4.2 质量管理体系, 4.3 文件控制, 4.4 合同的评审, 4.5 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 投诉的处理, 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 质量和技术记录, 4.14 内部审核, 4.15 管理评审。

2003 年, SARS 在全国肆虐, 随后几年的禽流感、手足口病、甲型 H1N1 流感等传染性疾病都曾在我国大范围的流行, 造成了严重的后果, 生物安全问题已引起我国政府的高度重视。我国近年来相继出台了一系列实验室生物安全方面的法律、法规: 2004 年 12 月 23 日, 国务院发布了《病原微生物实验室生物安全管理条例》; 2005 年 12 月 28 日, 卫生部发布了《可感染人类的高致病性病原微生物菌(毒)种或样本运输管理规定》; 2007 年 4 月 30 日, CNAS-CL36: 2007《医学实验室安全认可准则》发布实施; 2008 年 12 月 26 日, 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局修订了 2004 版并发布了 2008 版的《实验室生物安全通用要求》; 2009 年 7 月 1 日, CNAS-CL05: 2009《实验室生物安全认可准则》发布实施。以上条例、法规和准则对实验室安全管理工作具有重要的指导意义。

结核病实验室的各项工作均应严格遵守国家相关的法律法规, 以质量和能力认可准则以及生物安全认可准则为指导, 建立符合实验室自身特点的科学管理体系, 以保证实验室的所有工作都有章可循、有法可依、有据可查。

第1节 组织和管理

医学实验室的任务是为临床提供准确可靠的数据或确切的描述，为诊断与治疗提供参考依据或证据。为了达到这一目的，必须对与实验室的“人、机、料、法、环”五个环节的所有要素都进行规范。在实验室的组织与管理过程中，应尽可能达到“人”尽其才，“物”尽其用。实验室要达到上述要求，就需要有一套科学的管理体系支持。ISO 15189: 2007 中的 4.1 条款规定了医学实验室的组织和管理认可准则。结核病实验室应根据准则要求同时结合自身特点，制订完善的组织与管理程序。

1.1 结核病实验室设置及管理程序

1. 目的

为规范结核病实验室的设置及管理，保证检验结果的准确性和可靠性，保证工作人员和环境的安全，特制订本程序。

2. 范围

适用于结核病实验室的设置及管理。

3. 职责

3.1 专业室负责人负责组织本程序的设置和管理。

3.2 生物安全责任人负责生物安全的监督和实施。

3.3 质量监督员负责室内质量控制管理。

3.4 技术责任人负责室间质量评价管理。

4. 工作程序

4.1 涂片实验室的设置要求

4.1.1 实验室的分区、布局应符合生物安全防护的基本要求。

4.1.2 实验室应设洗手池，宜设置在靠近出口处。

4.1.3 在实验室入口处应设挂衣装置，个人便装与实验室工作服需分开放置。

4.1.4 实验室的墙壁、天花板和地面应平整、易清洁、不渗水、耐化学药品和消毒剂的腐蚀。地面应防滑，不应铺设地毯。

4.1.5 实验台面应防水、耐腐蚀、耐热。

4.1.6 实验室中的橱柜和实验台应牢固，选择与放置应便于清洁。

4.1.7 实验室应有足够的存储空间用于摆放物品以方便使用。

4.1.8 实验室可利用自然通风，如有可开启的窗户，应设置可防蚊虫的纱窗。