

临床微生物室检验结果质量的保证

内容导学

微生物检验在感染性疾病及相关病患的预防、诊断及治疗中起着越来越重要的作用，为了保障检测结果的准确性，在日常工作中要逐一开展质量控制，包括室内质量控制和室间质量控制。室间质量控制是建立在一个较好的室内质量控制的基础上的，做好室内质量控制直接关系到日常检验工作的质量。下面我们来一起学习临床微生物室检验结果质量的保证。

检验结果质量的保证

1. 室内质量控制

对各种实验条件及实验过程进行监测，监测的对象主要有仪器设备、培养基，鉴定系统及操作全过程。

2. 室间质量控制。

一、质控菌株

1. 质控菌株：是能敏感的反应质量差异的

- (1) 如作为培养基分离能力的质控菌株，该菌株一定是对营养要求高，不容易生长的苛氧菌株。
- (2) 如作为药敏试验的质控菌株，那么该菌株对抗生素应居最敏感的状态。
- (3) 如是测定最低抑菌浓度，那么结果应最处于折点附近的。
- (4) 对于测试生化试验培养基的质控菌株，应具备稳定的生物特征，反映终点明显的特征。

2. 纸片法药敏试验的质控菌株：ATCC 25922 大肠埃希菌、ATCC 25923 金黄色葡萄球菌、ATCC 27853 铜绿假单胞菌。

3. 最低抑菌浓度（MIC）测定的标准菌株：ATCC 29213 金黄色葡萄球菌、ATCC 29212 粪肠球菌、ATCC 27853 铜绿假单胞菌、ATCC 25922 大肠埃希菌、ATCC 49247 流感嗜血杆菌、ATCC 49766 流感嗜血杆菌、ATCC 49266 淋病奈瑟菌、ATCC 49619 肺炎链球菌。

4. 常规微生物实验室需要的标准菌株

(1) 大肠埃希菌、迟缓爱德华菌、肺炎克雷伯菌、阴沟肠杆菌、粘质沙雷菌、雷极普鲁威登斯菌。上述菌株可供对靛基质、甲基红、VP、枸橼酸盐利用、氨基酸分解、硫化氢产生、苯丙氨酸脱氨酶、

尿素酶、葡萄糖产气等生化反应测试。

(2)生化反应鉴定培养基主要用来观察细菌是否具备某种生物化学反应能力，结果通常以阳性或阴性表示。

(3)用作质控的菌种，应包括该生化反应为阳性反应和阴性反应的细菌。可以参考厂家说明书及相关资料。

5. 应贮存与诊断相配套的质控菌株，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。

6. 按优先顺序依次选择标准菌株、质控菌株或其他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。

二、室内质量控制

1. 室内质控——培养基

(1) 商品培养基

①已通过了生产厂家的质量控制；

②但接收后应检查外观是否完好，培养皿有无裂开，溶血，冰冻，不均衡填充，过量气泡，以及是否有明显污染情况；

③应有明确标签，根据标签应能获得生产日期（批号）、保质期、配方、质量控制、储存条件等信息；

④商品培养基应在适当温度下储存，在有效期内使用；

⑤必要时用相应标准菌株检测其分离能力。

(2) 自制培养基

①制备培养基的记录：名称、配方、数量、灭菌、日期等；

②培养基的外观检查：检查培养基适当的颜色，强度，厚度或斜面，光滑性，溶血，以及是否有过量气泡和污染；

③无菌试验；

④生长试验。

表 1 生长试验

培养基	质控菌株	号码	鉴定标准
血琼脂	化脓性链球菌	ATCC 19615	生长, β -溶血
	肺炎链球菌	ATCC 6305	生长, α -溶血
	金黄色葡萄球菌	ATCC 25923	生长
	大肠埃希菌	ATCC 25922	生长
巧克力琼脂	淋病奈瑟氏菌	ATCC 43069	生长
	脑膜炎奈瑟氏菌	ATCC 13090	生长
	流感嗜血杆菌	ATCC 10211	生长
	肺炎链球菌	ATCC 6305	生长
营养琼脂	金黄色葡萄球菌	ATCC 25923	生长
中国兰琼脂	大肠埃希菌	ATCC 25922	生长, 蓝色菌落
	普通变形菌	ATCC 12453	生长, 无色菌落
SS 琼脂	伤寒沙门氏菌	ATCC 14028	生长, 无色菌落
	福氏志贺氏菌	ATCC 12022	生长, 无色菌落
	粪肠球菌	ATCC 29212	生长被抑制
	大肠埃希菌	ATCC 25922	部分被抑制
厌氧血琼脂	脆弱拟杆菌	ATCC 25285	生长
	产气荚膜梭菌	ATCC 13124	生长, 产气
沙保罗琼脂	白色念珠菌	ATCC 10231	生长
	大肠埃希菌	ATCC 25922	部分或完全抑制

2. 室内质控——试剂

(1) 所有试剂应标注：内含物，浓度，储存需要，制备日期，接受和（或）放置要求，以及失效日期或储存时间。如果使用者配置，应记录体积，来源和批号；按照生产者的要求储存。

(2) 购入新的试剂或自己配制，更换批号，更换生产厂家，结果发生异常等情况时均应进行质量控制。

(3) 常用试剂：如凝固酶、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。

(4) 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。

(5) 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。

(6) 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。

表 2 室内质控——试剂

试剂	阳性质控菌种	阴性质控菌种	监控频度
血浆凝固酶	金黄色葡萄球菌	表皮葡萄球菌	每天
杆菌肽纸片	A 群链球菌	B 群链球菌	新批号：每批以后每周
过氧化氢	金黄色葡萄球菌	A 群链球菌	每天
氧化酶	铜绿假单胞菌	大肠埃希菌	新制者：每批以后每天
X 因子、Y 因子、X+Y 因子	流感嗜血杆菌 ATCC 10211		新批号：每批以后每周
Optochin 纸片	肺炎链球菌 ATCC 6305	粪肠球菌 ATCC29212	新批号：每批以后每周

3. 室内质控——染色液

(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）的质控菌株检测染色程序。

(2) 例如：革兰染色用金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌作为革兰染色的质量控制。

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）。

5. 真菌：直接染色（如：抗酸染色，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）。

6. 药物敏感试验的质量控制

(1) 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）的频率应小于 1/20 或 2/30。

(2) 此后，应每周使用标准菌株进行质控。

(3) 若检测频率小于每周 1 次，则每个检测日应进行质控。

(4) 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。

(5) 常见影响因素：

① 培养基厚度（是否为 4mm，它是影响 KB 法准确性最重要的因素）；

② 抗生素的选择（效期、剂量）；

③ 菌悬液的浓度制备；

④ 接种及贴纸片的过程；

⑤培养条件（温度，气体环境）；

⑥判读方式等。

表 3 室内质控——药敏试验（纸片法）

抗菌药物	纸片含药量	大肠埃希菌 ATCC 25922	金黄色葡萄球菌 ATCC 25923	铜绿假单胞菌 ATCC27853	大肠埃希菌 ATCC35218b
阿米卡星	30	19~26	20~26	18~26	—
阿莫西林/克拉维酸	20/10	18~24	28~36	—	17~22
氨苄西林	10	16~22	27~35	—	6
氨苄西林/舒巴坦	10/10	19~24	29~37	—	13~19
阿齐霉素	15	—	21~26	—	—
阿洛西林	75 μg	—	—	24~30	—
氨曲南	30 μg	28~36	—	23~29	—

表 4 室内质控——药敏试验（纸片法）

抗菌药物	纸片含药量	流感嗜血杆菌 ATCC 49247	流感嗜血杆菌 ATCC 49766	淋病奈瑟菌 ATCC 49226	肺炎链球菌 ATCC 49619
阿莫西林/克拉维酸	20/10 μg	15~23	—	—	—
氨苄西林	10 μg	13~21	—	—	30~36
氨苄西林/舒巴坦	10/10 μg	14~22	—	—	—
阿齐霉素	15 μg	13~21	—	—	19~25
氨曲南	30 μg	30~38	—	—	—

表 5 室内质控——药敏试验（MIC）

抗菌药物	金黄色葡萄球菌 ATCC 29213	粪肠球菌 ATCC 29212	大肠埃希菌 ATCC 25922	铜绿假单胞菌 ATCC 27853	大肠埃希菌 ATCC 35218
阿米卡星	1~4	64~256	0.5~4	1~4	—
阿莫西林/克拉维酸	0.12/0.06~ 0.5/0.25	0.25/0.12~ 1.0/0.5	2/1~8/4	—	4/2~16/8
氨苄西林	0.5~2	0.5~2	2~8	—	>32
氨苄西林/舒巴坦	—	—	2/1~8/4	—	8/4~32/16
阿奇霉素	0.5~2	—	—	—	—

(6) 发生失控后应按 CLSI 程序纠控，选择对失控抗生素的标准菌株，做纸片扩散药敏，同一药物贴 5 张纸片，连续测试 5 天寻找原因，纠正错误。如第一天已找到合理的原因，可提前恢复常规药敏质控。

(7) 药敏用标准菌株种类和数量应满足实验室工作要求，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。

7. 室内质控——半自动及全自动化仪器的质控

(1) 什么情况进行质控？

- ① 改变批号；
- ② 新的技术人员使用仪器；
- ③ 仪器维护保养或故障修复后；
- ④ 软件升级后；
- ⑤ 建议最好应该每月做一次。

(2) 做质控的人员应该是每天常规使用该仪器的实验室工作人员。

(3) 菌株：质控菌株应该被当作常规标本对待，不同的试验条选择相应的质量控制菌株。可采纳仪器自带的配套标准菌株的鉴定及药敏试验标准。

(4) 鉴定实验质控

如果实验结果显示有 2~3 个生化反应不符合，鉴定菌种正确或不正确，应重复质控过程；在额外调查和（或）更正行动未采取前不能使用该批次产品。工作人员还应从以下方面寻找原因：

- ① 如仪器（主机，比浊仪、电子加样枪）：完成维护和（或）校正；
- ② 质控菌株：检查纯度和活性，必要时，使用新鲜菌株重复实验；
- ③ 是否严格遵循产品包装说明资料中的推荐方法和步骤；
- ④ 培养基质量、菌龄、接种等环节是否符合 SOP 要求；

(5) 药敏实验质控

如果 S，I，R 值和期望值不一致或 MIC 超出了期望值（和期望值有一个及以上稀释度的差异）时，不能使用该批次产品。工作人员从以下方面完成调查：除鉴定实验中要检查的内容外，还要选择悬浮液（例如：使用推荐的 API 安培悬浮培养液）；也可以换另一技术人员重复实验。如果以上步骤均未奏效，应联系生产厂家的技术人员作进一步研究。

三、室间质量控制

1. 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。

2. 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。应定期（至少每 6 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，至少包括显微镜检查、培养结果判读、抑菌圈测量、结果报告

3. 有条件建立微生物实验室的医院均应积极争取参加地区或省市级或全国的室间质量控制活动，因为它是对你实验室质量的客观评价，可以帮助你发现实验室的系统误差。当你发现室内质控结果好，但参加室间质量控制活动时与质控中心预想结果有规律地出现偏差，这是实验室系统误差的表现，你应极力找到原因并把它解决，使你的实验室前进了一大步，而这种系统误差在室内质量控制中是发现不了的。

4. 模拟临床标本

在国内外广泛采用的方法是用模拟临床标本做质量评价。主要评价实验室在病原菌的分离、鉴定和药敏试验等方面的工作能力和水平状况。该方法是由临检中心将细菌接种在培养基或制成冻干菌种，并把它作为某种临床标本，发给各个实验室。接到室间细菌质控样本后，实验室根据样本的类型，接种相应的培养基，在规定时间内，与常规工作放在一起，由常规工作人员参加操作，使用与常规工作同样的方法，同样的试剂，同样的步骤进行操作，对生长的菌株进行相应的分离鉴定及药敏试验，将结果回报临检中心。

5. 日常临床标本

(1) 细菌分离率：各类感染的病原菌特点相对稳定。比如急性呼吸道感染常见病原菌为肺炎链球菌和流感嗜血杆菌。如果一个实验室在一年中没有分离到此类细菌，说明有漏检和误诊。

(2) 细菌耐药率：有些细菌对某些抗菌药物的耐药性相对稳定。例如，金黄色葡萄球菌对万古霉素目前在我国还未见耐药的报道，溶血链球菌对青霉素耐药少见。因此一个实验室的检验结果如果与公认数据或其他多数实验室的结果差异很大，应做质量调查和分析，一旦发现问题及时纠正。

(3) 专家系统：目前半自动化或自动化细菌鉴定和药敏系统的广泛应用，它们大多都带有专家系统软件，专家系统可以提示某些抗生素结果不适用于某种细菌，也可以探测罕有表型以及探测野生型获得型表型及交叉耐药，警告不可能出现的表型，根据 CLSI 建议提示结果的修整和治疗的建议有利于保证结果的可靠性。

胡云建 供稿

医博士 编辑整理