

微生物实验室标准操作程序质量手册

实验操作者: XXXXXXXX

执行日期: X 年 X 月 X 日

启用日期: XX 年 X 月 X 日

标准操作程序文件

- 01 试剂贮存和配制区工作制度
- 02 标本处理区工作制度
- 03 细菌自动分析区工作制度
- 04 试剂贮存和配制区标准操作程序
- 05 标本处理区标准操作程序
- 06 细菌自动分析区标准操作程序
- 07 紫外消毒标准操作程序
- 08 消毒液配制使用标准操作程序
- 09 普通冰箱使用标准操作程序
- 10 超低温冰箱标准操作规程
- 11 洁净工作台使用操作规程
- 12 VITEK32 型自动分析系统标准操作程序
- 13 移液器使用标准操作程序
- 14 高速离心机操作标准操作程序
- 15 冰箱维护和保养标准操作程序
- 16 电热恒温水浴箱操作程序
- 17 洁净工作台维护和保养程序
- 18 可移动紫外消毒车使用操作程序
- 19 加样器校准标准操作程序
- 20 离心机维护保养操作程序
- 21 温度计校准程序
- 22 试剂的质检操作程序
- 23_微生物实验室岗位职责(暂行)
- 24 临床标本的保存程序
- 25 临床检验及收费程序
- 26 微生物检验收费价格
- 27 普通培养阴性操作程序
- 28 真菌培养阴性操作程序
- 29 苛养菌培养阴性操作程序
- 30 抗酸杆菌培养阴性操作程序

31 支原体培养检验操作程序

标本处理区工作制度

进入本区需穿工作服、工作鞋。

本区只能进行：临床标本的保存，标本接种、培养、及其菌株检验前处理、菌悬液制备、染色标本检查、非上机鉴定与药敏试验操作等危险操作，其它操作不得在此区进行。

在整个本区的实验操作过程中，操作者必须戴手套、口罩和帽子，严格按照操作规程进行。

工作结束后必须立即对工作区进行清洁或消毒。

非本实验室工作人员未经允许不得进入。

试剂配制和无菌区工作制度

进入该区需穿专用工作服和工作鞋。

本区只能进行贮存试剂的制备、试剂的分装和平板的制备。

在整个本区的实验操作过程中，操作者必须戴手套和帽子，严格按照操作规程进行。

工作结束后必须立即对工作区进行清洁和消毒。

非本实验室工作人员未经允许不得进入。

无菌室公能用于分装培养管或倒制平板培养基操作。

使用前以紫外灯消毒至少 30 分钟，定期用乳酸熏蒸，彻底消毒。

无菌室仅限操作者进入，操作时严格关门。

室内备有空调设备，以保证不因温度而影响工作。

仪器自动分析区工作制度

进入本区需穿专用工作服和工作鞋。

本区只能进行：微生物上机鉴定与药敏分析、血培养仪增菌培养、培养基溶解与保温、相关实验记录与报告书写、打印；其它操作不得在此区进行。

在整个本区的实验操作过程中，操作者必须戴手套和帽子，严格按照操作规程进行。

工作结束后必须立即对工作区进行清洁。

非本实验室工作人员未经允许不得进入。

试剂贮存和配制区标准操作程序

目的：规定在本区进行的工作，确保试剂正确贮存和制备。

适用范围：试剂的贮存和制备。

职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并遵守本室相关 SOP。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

4 程序：

4.1 实验人员进入该区须穿本区专用工作服。实验中须戴手套、工作鞋。

4.2 实验室所购试剂经验收登记后，按说明书中的要求贮存。

4.3 记录温湿度计读数。

4.4 记录冰箱的温度计读数。根据当天的标本验收登记表，取出当天实验须配制和使用的试剂放置于即用冰箱，其余试剂要立即收好放回贮藏冰箱内。

4.5 不同厂家的试剂勿混用，同厂家的不同检测项目试剂盒中的相同试剂也不宜混用，除非厂家有特别说明。

4.6 做好详细实验记录。

4.7 实验完毕，清洁实验台面。

4.8 每周一清点库存试剂，看有无过期或将近到期的试剂，或作报废处理或排列优先使用，避免浪费，然后记录试剂的详细保存情况。

5. 引用的文件及表格：

5.1 项目 SOP: sop_tb;sop_tc;sop_ng;sop_hbv;sop_hcv

5.2 实验室清洁程序: proc_lab_7

5.3 冰箱温度记录表: Tab-temp_record

5.4 温湿度计记录表: Tab-temp_record

标本处理区标准操作程序

目的：规定在标本制备区内所进行的工作及其操作。

适用范围：所有在本区内进行的工作。

职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

标准操作：

1.1 实验人员进入该区须穿本室专用工作服 1.2 。实验中须使用一次性鞋套，

1.3 戴手套，1.4 手套需常更换每四小时换一次。

4.2 从试剂贮存和准备区取出的试剂放入即用冰箱室试剂存放专区暂存。

4.3 记录温湿度计读数。

4.4 记录恒温箱的温度计读数。

4.5 临床标本的接收、保存，细菌手工鉴定或上机前处理在本区内进行。

4.6 标本的接收处理和保存按临床标本的管理程序进行：Pro-Sam。

4.7 不同检测项目的样本核酸的提取和保存按相应检测项目的 SOP 进行。

4.8 标本接种或涂片在本区的标本处理台内进行，接种后培养基按要求进行培养。菌落观察和处理在生物安全柜内进行。

4.9 详细做好实验记录和仪器使用记录。

4.10 保持室内空气流通，且在实验完毕后，按实验室清洁消毒程序进行清洁、消毒工作。

引用的文件及表格

5.1 临床标本的管理程序进行：proc_smpl_1

1.2 项目 SOP：sop_tb;sop_tc;sop_ng;sop_hbv;sop_hcv

1.3 实验室清洁程序：Pro-Cle。

5.4 恒温箱温度记录表：Tab-temp_record

5.5 温湿度计记录表：Tab-temp_record

细菌自动分析区标准操作程序

目的：规定在本区进行的工作，确保靶核酸扩增的准确性和有效性。

适用范围：血培养、自动分析和报告签发。

职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

标准操作：

4.1 实验人员进入该区须穿本区工作服。实验中须戴手套、帽子，手套需常更换。

4.2 本实验室采取 VITEK32 微生物自动分析技术，因此，微生物自动鉴定和分析和肥达氏试验、

外菲氏试验等均在本区内进行。

4.3 鉴定板在标本处理区准备后带入该区，放入充液箱充填，充填菌悬液后加塞，余液连同试管放入消毒桶中消毒，由工人过后洗涤回收试管。

4.4 每月必须进行至少一次所有试卡的质控，每新到的批号试剂要进行质控，过关方能投入使用。

4.5 依据不同检测项目 SOP 要求设定微生物检验工作程序，并记录备案；未经实验室负责人允许，不得随意更改。

4.6 检测报告的签发依据检测结果报告程序：Pro-Rep。

4.7 做好仪器和实验记录。

4.8 保持室内空气流通，且在实验完毕后，清洁、消毒工作台面。

引用的文件：

5.1 检测结果报告程序：proc_rept_1

5.2 项目 SOP：sop_tb;sop_tc;sop_ng;sop_hbv;sop_hcv

5.3 实验室清洁程序：proc_lab_7

紫外消毒标准操作程序

目的：每天实验后，下班后对工作区进行必要的紫外线消毒一小时，保证实验室的清洁。

适用范围：适用于本室各工作区中按装于天花板上的紫外线消毒灯。

职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

操作程序：

4.1 实验结束后先对实验室进行必要的清洁工作；

4.2 根据需要设定时间，通常为 30 分钟，根据需要适当延长时间。

4.3 关闭电源开关；

4.4 整个紫外线消毒过程中，相关工作人员不能离开实验室，以防火灾发生。

消毒液配制使用标准操作程序

1、目的：

配制消毒液，用消毒液擦拭实验台面、用具及浸泡实验废弃物。

2、适用范围：

分子生物实验室的工作人员

3、职责：

3.1 实验室工作人员应及时配制消毒液，熟知并遵守本 SOP，严防污染发生。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

4、工作程序：

4.1 确定要配制消毒液的量。

4.2 将 36% 的次氯酸钠配制成 10% 的稀溶液。以 1000 毫升为例，取 278 毫升的 36% 的次氯酸钠母液，加蒸馏水至 1000 毫升。

4.3 消佳净：20g 加水 4000ml, 作用 20-30 分钟。

4.4 所配制的消毒液只限在当天内使用，隔夜如使用时应根据本 SOP 重新配制。

普通冰箱使用标准操作程序

目的：确保冰箱的正常使用。

适用范围：本 SOP 适用于本室各类用途使用的普通冰箱、冰柜。

职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

操作程序：

4.1 开、关机：试剂冰箱按说明书要求放好后，插上电源线，冷藏室温度开关置于 4℃，冷冻室温度开关置于 -20℃，2 小时后用温度计确认。系统进入正常运行状态后即可正常使用。

4.2 关机：若冰箱较长时间不用或需要送修时需按以下步骤操作：

(1) 关闭冰箱电源，并拔下电源插头。

(2) 清空冰箱内的所有贮存物，并妥善放置到其它冰箱内。打开冰箱门，等待冰箱内的霜化完。

(3) 用肥皂水清洗干净冰箱内胆，后用 10% 次氯酸钠液擦洗一次。

(4) 保持冰箱门打开待其自然干燥。

引用的表格

5.1 冰箱温度记录表：Tab-temp_record

回目录

超低温冰箱标准操作规程

确保低温冰箱的正常使用。

适用范围：本 SOP 适用于 公司的 型超低温冰箱。

职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP，室负责人监督落实。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

操作程序

4.1 接通电源，将冰箱的开关置 ON 位置，此时温度显示屏显示冰箱的实际温度，且数字不停地闪烁。

4.2 温度设定：以调节冰箱温度为-70℃为例说明，按 SET 键，温度指示显示-85℃，且“8”闪烁，按“↑”键直至“8”变为“7”；按“→”键，此时温度指示为“-75℃”，“5”闪烁，按“↑”键直至“5”变为“0”，按 SET 键，此时温度指示“-70℃”，且不闪烁。

4.3 设定温度时应注意，一般应以 10℃递减方式进行，即每次设定的温度低于冰箱实际温度 10℃，待冰箱达到设定温度时再进行调节，直至达到所需温度。

4.3 如超低温度遇较长时间停电，其温度显示会不断闪烁，且报警指示灯（ALARM）也闪烁，此时应按上述方法调节。

4.4 由冰箱管理人或其委托人每工作日记录冰箱温度，冰箱温度记录表贴于冰箱门，每月更换 1 次，存档。

4.5 超低温冰箱由专人保管，试剂和物品应按指定位置存放。

4.6 超低温冰箱全室共用，若室外人员需存放试剂或标本，须经管理人同意。

引用的表格：

5.1 冰箱温度记录表：tab_temp_record

回目录

洁净工作台使用操作规程

目的：正确使用洁净工作台。

本 SOP 适用于实验室使用的所有国产医用洁净工作台。

职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP，室负责人监督落实。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

操作程序：

4.1 新安装或长期未使用的工作台，使用前必须用超净真空吸尘器或不产生纤维的物品认真进行清洁工作。

4.2 接通电源，使用前应提前 15~30 分钟同时开启紫外灯和风机组工作。

4.3 当需要调节风机风速时，用工作台操作面板上的风速调节钮进行调节。风机、照明均由批示灯指示其工作状态，工作时，发光。

4.4 工作台面上禁止存放不必要的物品，以保持工作区的洁净气流不受干扰。

4.5 禁止在工作台面上记录书写，工作时应尽量避免作明显扰动气流的动作；禁止在预过滤进风口部位放置物品，以免挡住进风口造成进风量减少，降低净化能力。

4.6 使用结束后，用消毒液清理工作台面后打开紫外灯，15~30 分钟后关闭紫外灯，关闭洁净台电源。

4.7 长期不使用的工作台请拨下电源插头。

回目录

VITEK32 全自动微生物分析系统标准操作程序 (待补充)

回目录

移液器使用标准操作程序

目的：正确使用移液器，确保移液的精确性。

适用范围：本实验室使用的可调式移液。

职责：实验室工作人员必须严格按照本 SOP 进行操作。

操作程序：

4.1 转动旋钮设定移液量，设定的移液量不可超出该移液器规定的范围。

4.2 装上配套的 Tip。

4.3 前进移液法

4.3.1 将按钮压至第一停点位置；

4.3.2 将移液管管嘴浸入液面下 2~3mm 深处，然后慢慢松开按钮吸入液体。待移入管嘴吸满液体后，将管嘴撤出液面，擦掉管嘴外侧的所有液滴。

4.3.3 轻轻压下操作按钮至第一停点位置，放出液体。约 1 秒钟后，继续将操作按钮向下压至第二停点位置。待管嘴液体放干净后，将管嘴贴在容器瓶壁上防止形成液滴滴入瓶中，撤出管嘴。

4.3.4 松开按钮使之回到起点位置。需要时，可更换管嘴继续移液操作。

4.4 倒退移液法：适用于高粘度液体及/或易起泡沫液体的移液。

4.4.1 将操作按钮向下压至第二停点位置。

4.4.2 将移液管管嘴浸入试剂瓶液面下 2~3mm 深处，然后慢慢松开按钮吸入液体。待移入管嘴吸满液体后，将管嘴撤出液面，擦掉管嘴外侧的所有液滴。

4.4.3 轻轻压下操作按钮至第一停点位置，放出液体。

4.4.4 遗留在管嘴时的液体或者随管嘴一起扔掉，或者放回原来的容器中。

4.5 重复操作法：重复操作移液法可以快速、简便地重复转移同体积的同种液体。

4.5.1 将操作按钮向下压至第二停点位置。

4.5.2 将移液管管嘴浸入液面下 2~3mm 深处，然后慢慢松开按钮吸入液体。待移入管嘴吸满液体后，将管嘴贴在容器瓶壁上防止形成液滴滴入瓶中。

4.5.3 轻轻压下操作按钮至第一停点位置，放出液体。待放完所需体积液体后，把按钮停在第一停点位置，不包括在移液量之内的少量液体仍留在管嘴内，管嘴外的液滴则需包括在移液量之内。

4.5.4 将管嘴浸入试剂液面下不远处，然后慢慢松开按钮使管嘴重新吸入液体。

4.5.5 重复步骤 4.5.3 和 4.5.4 继续移液操作，就可重复转移相同体积液体。

回目录

离心机操作标准操作程序

目的：使每个工作人员能正确地使用本仪器。

范围：本 SOP 仅适用于各类普通离心机。

职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP，室负责人监督落实。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

操作：

4.1 开机：接通电源，打开仪器电源开关，离心机自检。

4.2 按“Open”键，打开机盖，旋开转子盖，平衡放入离心管，旋紧转子盖，关上机盖，此时“Open”键的指示灯亮。（如果接通电源后，机盖为开状态，则无需此步操作）。

4.3 离心条件的设定：通过按“Temp”、“Speed”、“Time”键的上下箭头分别设定离心的温度、速度和时间。其中离心速度可分为每分钟转速（rpm）和离心力（cfg）两种，可通过同时按下“Speed”键的上下键头相互转换。

4.4 运行：离心条件设定好后，按“Start/Stop”键，离心机启动，“Open”键的指示灯灭。当达到设定的时间后，离心机自动停止，并发出提示音，“Open”键的指示灯亮，按“Open”键，打开机盖，旋开转子盖，取出离心管。

*若进行样本的短暂离心，只需按“Short”键数秒即可。

*若需在离心过程中停止离心，则需再按一次“Start/Stop”键。

4.5 关机：离心完毕后，应及时用干的软布拭去离心室的冷凝水，关闭离心机电源，并记录离心机使用情况。

回目录

冰箱维护和保养标准操作程序

目的：对冰箱进行适当的维护，以确保冰箱的正常使用。

适用冰箱范围：本实验室使用的各种品牌、型号的冰箱。

职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP，室负责人监督落实。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

操作方法

4.1 冰箱应放置于水平地面并留有一定的散热空间。

4.2 外接电源电压必须匹配，并要求有良好的接地线。

4.3 冰箱内禁止存放与本实验室无关的物品。

4.4 放入冰箱内的所有试剂、样品、质控品等必须密封保存。

4.5 保持冰箱出水口通畅；非自动除霜冰箱应定期除霜；定期清洁冰箱，清洁时切断电源，用软布蘸水擦拭冰箱内外，必要时可用中性洗涤剂。

4.6 每日由专人负责观察冰箱内温度并记录于表中，记录表贴于门上，每月一张，一年装订成册存档。

4.7 若温度超出规定范围，调节温控使其回到正常范围，并进行记录。

4.8 若温控调节无效，报请设备科维修，修理后须验收合格并签字后方可正常使用。

引用的表格

5.1 冰箱温度记录表：tab_temp_record

电热恒温水浴箱操作程序

1 目的：保证水浴箱工作温度恒定。

2 该 SOP 变动程序：本标准操作程序的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室技术负责人。

3 适用水浴箱范围：电热恒温水浴箱

4 标准操作：

4.1 水浴箱应置于坚固的水平台上，电源电压须匹配。

4.2 在水浴箱内注入清洁温水至总高度 1/2~1/3 处。

4.3 打开电源开关，把温度控制器的温度调节旋钮至设定温度。

4.4 当水槽内测定温度达到设定温度时，加热中断、指示灯熄灭，温度保持稳定。

4.5 在每次水浴箱使用前，放入标准温度计同时监测实际水温，以校正温度。

4.6 水浴箱工作温度波动范围是：预设+2℃范围。

4.7 每天应使用水银温度计水浴箱应记录每天温度；如温度超出正常范围，该温度应划上红圈，并把修正操作记录下来。

4.8 水浴箱内外应保持清洁，外壳忌用腐蚀性溶液擦拭。

4.9 仪器不用时，需套好防尘罩，以免温度控制器受潮影响使用。

5.0 引用的表格：tab_temp_bath

洁净工作台维护和保养程序

目的：对洁净工作台进行适当维护，以保证净化能力。

适用范围：本 SOP 适用于实验室使用的医用洁净工作台（BC1300 型）。

职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP，室负责人监督落实。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

程序：

4.1 根据环境洁净程度，定期将预过滤器中的滤料拆下清洗，一般间隔时间为 3~6 个月。

4.2 每次使用洁净台后，均需对洁净台进行清洁。

4.3 定期（一般每半年 1 次）计测工作区风速，如发现不符合技术参数要求，则可调大风机供电电压。当风机组电压调到最大时，工作区风速仍达不到 0.3m/s，则必须更换高效空气过滤器。（由厂家或院仪器维修人员进行）

4.4 做好维护记录。

引用的表格：

5.1 仪器设备维护保养记录表：sop_cl_1

可移动紫外消毒车使用操作程序

1 目的：正确使用紫外消毒车进行消毒。

2 适用范围：适用于本室使用的 ZXC 型紫外线消毒车（上海跃进医用光学器械厂生厂）。

3 职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP，室负责人监督落实。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

操作程序：

4.1 打开保护门；

4.2 用手托住灯臂往上抬至需要位置；

4.3 插上电源，打开带灯开关；

4.4 根据需要设定时间；

4.5 使用完毕将按钮摁到底，同时另一手托住灯臂慢慢将灯管放进灯箱内关上保护门。

4.6 不同实验区的紫外线消毒车勿混用。

5 消毒记录表：tab_cl_record

加样器校准标准操作程序

目的：保证加样器加样的准确性。

加样器范围：各种品牌、型号的固定、可调和多通道加样器。

职责：本 SOP 由室负责人执行落实。

校准程序

4.1 校准环境和用具要求：

4.1.1 室温：20~25℃，测定中波动范围不大于±0.5℃。

4.1.2 电子天平：放置于无尘和震动影响的台面上，房间尽可能有空调。称量时为保证天平内的湿度（相对湿度 60~90%），天平内应放置一装有 10ml 蒸馏水的小烧杯。

4.1.3 小烧杯：5~10ml 体积。

4.1.4 测定液体：温度为 20~25℃的去气双蒸水。

4.1.5 选择校准体积：(1) 拟校准体积；(2) 加样器标定体积的中间体积；(3) 最小可调体积（不小于拟校准体积的 1%）。(4) 如为固定体积加样器，则只有一种校准体积。

4.2 校准步骤：

4.2.1 将加样器调至拟校准体积，选择合适的吸头；

4.2.2 调节好天平；

4.2.3 来回吸吹蒸馏水 3 次，以使吸头湿润，用纱布拭干吸头；

4.2.4 垂直握住加样器，将吸头浸入液面 2~3mm 处，缓慢（1~3 秒）一致的吸取蒸馏水；

4.2.5 将吸头离开液面，靠在管壁，去掉吸头外部的液体；

4.2.6 将加样器以 30°角放入称量烧杯中，缓慢一致地将加样器压至第一档，等待 1~3 秒，再压致第二档，使吸头里的液体完全排出；

4.2.7 记录称量值；

4.2.8 擦干吸头外面；

4.2.9 按上述步骤称量 10 次；

4.2.10 取 10 次称量值的均值作为最后加样器吸取的蒸馏水重量，按附表 I 所列蒸馏水 Z 因子计算体积：体积=重量/Z 因子

4.2.11 按校准结果调节加样器

4.3 新购的合格的移液器出厂前经过厂家校准，使用前无需校准。

4.4 每年移液器进行校准一次，自校或由厂家有关部门校准。

4.5 做好校准记录。

引用的表格

仪器设备校准记录表：tab_pipt_cal

离心机维护保养操作程序

目的：对离心机进行正确的维护，以保证仪器正常运转。

适用范围：本 SOP 仅适用于本室使用的离心机。

职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP，室负责人监督落实。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

操作程序：

4.1 离心室的清洁：为了避免样本等残留物的污染，应经常对离心机外壳和离心室进行清洁处理。对离心室清洁，应先打开离心机盖，拔掉电源线，用专用设备将离心机转子旋下，再用中性去污剂（70%的异丙醇/水混合物或乙醇去污染）清洁离心室；离心室内的橡胶密封圈经去污剂处理后，用水冲洗，再用甘油润滑。

4.2 转子的清洁：转子会被样本残留物污染，也可能被某些化学试剂腐蚀，因此应对转子每月进行清洁维护。每月用中性的清洁剂清洁转子一次，并在仪器使用记录本上作好记录，以延长转子的寿命。

4.3 离心完毕后，应及时用干的软布拭去离心室的冷凝水。（此步仅适用于冷冻离心机）

4.4 离心结束后，使离心机盖打开，然后关机。

温度计校准程序

目的：保证温度计的精确性。

适用范围：适用于本实验室所使用的温度计。

职责：本 SOP 由室负责人落实。

程序

4.1 由设备科人员送质检局对温度计进行校准。

4.2 每年进行 1 次。

4.3 经校准过的温度计可作为微量恒温器温度校温的参照。

引用表格：

5.1 仪器设备校准记录：tab_inst_cal

临床非培养标本的采集及处理操作程序

目的：规范临床待检标本的正确采集、送检和处理。

适用范围：微生物检验实验室的所有临床检测标本。

职责：

3.1 所有采集标本的人员均需按本 SOP 操作，实验室工作人员有责任向临床医生、护士或病人宣教。

3.2 本标准操作程序的改动,可由任一使用本 SOP 的工作人员提出,并报经下述人员批准签字:室负责人、科主任。

操作程序

4.1 本实验室检测标本为:血清或血浆、痰、生殖道拭子标本、尿液及脑脊液和胸腹水。

4.2 做好标本签收,核对检验单与标本标签是否清楚无误,送检标本是否正确、合格,给所有标本按顺序编号,按如下操作规程操作。

4.3 查找抗酸菌操作:将标本置于水浴蒸箱加温杀菌 30 分钟,取标本残留物或沉淀物加温涂布玻片,液性标本以 3000 转/分钟离心 5 分钟,取标本残留物或沉淀物加温涂布玻片并标注编号后固定,行抗酸染色,先滴加抗酸染色第一液加温(用酒精灯在玻片下来回加温置染色液冒热气,但无气泡产生为宜)染色 10 分钟,自来水冲洗洗净染液,以硫酸美兰复染 2 分钟,水洗凉干。

镜检与报告:油镜下查找分枝、不规则红色杆菌,按如下标准进行结果报告。

1)、镜检 100-300 个视野(时间不少于 4 分钟)未发现抗酸菌,继续观察至 300 个视野仍未发现抗酸菌者报告抗酸菌(—);

2)、镜检 100 个视野找到抗酸菌 1-2 条者,报告抗酸菌可疑(±),或重涂片或重送标本检查;

3)、镜检 100 个视野找到抗酸菌 3-9 条者,报告抗酸杆菌阳性(+);

4)、镜检 10 个视野找到抗酸菌 1-9 条者,报告抗酸杆菌阳性(2+);

5)、镜检每个视野找到抗酸菌 1-9 条者,报告抗酸杆菌阳性(3+);

6)、镜检每个视野找到抗酸菌多于 9 条者,报告抗酸杆菌阳性(4+)。

4.4 查找普通细菌操作:液性标本取离心沉淀物涂片,拭子或脓性标本直接涂布玻片并标注编号后固定。同时取大肠标准株(ATCC25922)和金黄色葡萄球菌标准株(ATCC25922)涂片,一起行革兰氏染色,先滴加第一液染色 1 分钟,水洗,加第二液媒染 1 分钟,水洗干净;以 95%酒精脱色 30 秒钟后立即水洗,再加第四液复染 30 秒钟,水洗后凉干。油镜下查找菌体并观察球杆比例;观察质控菌是否合格。

4.5 墨汁染色查找隐球菌:液性标本离心取沉淀物涂片,脓性或拭子标本直接涂片并写号,以无菌接种环粘取少量印度墨汁与玻片上标本混匀,压盖玻片,先低倍镜下找到视野再转离倍镜观察。若找到透亮,圆形强折光,有厚荚膜的菌体报告墨汁染色阳性;否则报告阴性。

4.6 白带常规检查:盐水管直接将棉签点至玻片后以高倍镜检有无滴虫;涂片标注编号后固定,行革兰氏染色,先滴加第一液染色 1 分钟,水洗,加第二液媒染 1 分钟,水洗干净;以 95%酒精脱色 30 秒钟后立即水洗,再加第四液复染 30 秒钟,水洗凉干后镜检查找革兰氏阴性双球菌、霉菌或阳性球菌、线索细胞等。阴道清洁度的按如下判断标准报告:

I 度:阴道杆菌为主,并可见大量上皮细胞。

II 度:有部份阴道杆菌,但亦有部份脓细胞和杂菌,上皮细胞少见。

III 度:仅见少量阴道杆菌和上皮细胞,有大量脓细胞和杂菌。

IV 度:镜下无阴道杆菌,除少量上皮细胞外,主要的几乎全是脓细胞和大量杂菌。

4.7 肥达试验:标本标明编号,以 3000 转/分钟离心 5 分钟;取试管架,按每标本排 5 排试管,每排 5 支;各标本用加样器取 100μl 血清置于一支稀释用试管(注明检验号)中,加入 1.9ml 0.9%生理盐水混匀,第一排加入 1:20 倍稀释血清各 0.2ml,成 1:40 倍;后稀释管再加入 1.0ml 0.9%生理盐水,成 1:40 倍稀释,加入第二排试管各 0.2 ml。同样方法对倍稀释至第四排试管,第五排各加入 0.2ml 0.9%生理盐水作阴性对照。从冰箱中拿出肥达反应试验稀释菌悬液,第一列各加入 H 诊断菌液 0.2 ml,第二列各加入 O 诊断菌液 0.2 ml,第三列各加入甲型诊断菌液 0.2 ml,第四列各加入乙型诊断菌液 0.2 ml,第五列各加入丙型诊断菌液 0.2 ml,混匀,置 37℃水浴箱 18-24 小时。

结果判断:菌体沉淀至试管底成圆点为阴性管,出现散在颗粒状凝集为阳性管。以最高稀释管出现散在颗粒状凝集为报告滴度。若阴性对照出现凝集则需重新稀释配制诊断菌悬液重做试验。

4.8 外斐氏试验：标本标明编号，以 3000 转/分钟离心 5 分钟；取试管架，按每标本排 3 排试管，每排 5 支；各标本用加样器取 100 μ l 血清置于一支稀释用试管(注明检验号)中，加入 1.9ml 0.9%生理盐水混匀，第一排加入 1：20 倍稀释血清各 0.2ml，成 1：40 倍；稀释管留 1.0ml 再加入 1.0ml 0.9%生理盐水，成 1：40 倍稀释，加入第二排试管各 0.2 ml。同样方法对倍稀释至第四排试管，第五排各加入 0.2ml 0.9%生理盐水作阴性对照。从冰箱中拿出外斐氏反应试验稀释菌悬液，第一列各加入 OX19 诊断菌液 0.2 ml,第二列各加入 OX2 诊断菌液 0.2 ml，第三列各加入 OXK 诊断菌液 0.2 ml,混匀，置 37℃水浴箱 18-24 小时。

结果判断：菌体沉淀至试管底成圆点为阴性管，出现散在颗粒状凝集为阳性管。以最高稀释管出现散在颗粒状凝集为报告滴度。若阴性对照出现凝集则需重新稀释配制诊断菌悬液重做试验。

5.2 拒收标本记录表：tab_rejec

临床标本的保存程序

目的：临床标本正确保存，以便必要是复查。

适用范围：微生物检验实验室的所有临床检测标本。

职责：

3.1 实验室工作人员必须熟知并遵守本 SOP，室负责人监督管理。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

程序：

4.1 未检测的标本经预处理后及时置-20℃保存。

4.2 标本当天检测可置 4℃保存，如当天不检测应置-20℃保存。报告发出后丢弃。

4.3 原始样本在报告发出前均需置 4℃保存，不得丢弃。报告发出后保存 2 天，以备查。保存 2 天后标本由室负责人酌情处理。

实验室岗位职责运行程序(暂行)

1. 目的：确保日常工作的顺利进行。

2. 适用范围：本实验室工作人员。

3. 职责：

3.1 实验室工作人员均应熟知并严格遵守本 SOP。

3.2 本 SOP 的改动，可由任一使用本 SOP 的工作人员提出，并报经下述人员批准签字：室负责人、科主任。

4 为更好的使日常工作有序进行，尽可能以负责的态度，连续地完成每一个检验的发报，保证结果的可靠性，每日尽可能安排两个工作人员上班，分为两个岗位，各自的工作岗位职责如下。

1 岗位班、2 岗位班采用轮转制。如遇有当班同事休息或值班，第 3 人就顶上其所上的班。

4.1 岗位 1 班(负责样本接收、核对、接种以及上日进行的鉴定和药敏结果进行分析、发报等工作)。

- 4.1.1 上班后检查细菌自动分析仪、血液自动培养仪工作是否正常，并做好记录。
- 4.1.2 从冰箱内取出当天所需的各种平板：5%绵羊血平皿、中国蓝培养皿、淋病奈瑟菌培养皿、麦康凯平皿等。
- 4.1.3 负责对上日进行的鉴定和药敏结果进行分析。
- 4.1.4 负责报告单的打印、核对、登记与录入等工作，签发已核对的所有报告。
- 4.1.5 做好菌种的保存，对一些难得的菌株、标准菌株等要注意保存，并做好记录。
- 4.1.6 接收样本：核对各样本与化验单名是否一致，核查各送检样本是否符合要求，否则立即与病房联系以便作出相应的处理，如退单或重送样本等，并做好联系情况的记录。
- 4.1.7 样本编号：对合格的样本作出编号。
- 4.1.8 普通培养样本的接种选择：
- ① 痰液、咽拭子分别接种：血平皿、麦康凯平皿；
 - ② 尿液接种：取 100 μ l 接种血平皿、麦康凯平皿；
 - ③ 泌尿生殖道：血平板、麦康凯平板；
 - ④ 大便：SS 或中国兰、血平板；
 - ⑤ 各种无菌体液、脑脊液、脓液等标本：血平皿、麦康凯平皿，用增菌肉汤增菌；
 - ⑥ 衣原体、支原体培养+药敏，按说明书接种支原体专用培养基；
 - ⑦ 真菌培养，各种标本均接种沙保弱平皿和真菌斜面培养基；
 - ⑧ 所有标本在接种的同时应进行涂片或对其沉渣进行革兰或抗酸染色，并做相应的记录。
 - ⑨ 规定：临床申请单未明确注明培养目的时，一律按普通培养进行处理。标本送到实验室后特殊培养标本需在 1 小时内接种，普通培养标本不得超过 2 小时。
- 4.1.9 培养：一般标本接种后，平板应置于 35 $^{\circ}$ C 培养箱培养，接种过脑脊液标本、泌尿生殖道标本的血平板还应置于 5%-10%CO₂ 环境中；结核培养置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱培养，每星期检查两次有无可疑菌落生长。收到的普通血培养瓶(如 AER)应进行瓶内气压平衡处理，厌氧培养瓶直接放入培养箱中。
- 4.1.10 对新到岗的实习或进修人员应认真交代本岗位的一切事宜并且认真作好带教工作。
- 4.1.11 厌氧培养应接种血平皿或厌氧平皿置于厌氧袋中培养，同时接种 BMP 进行普通培养。
- 4.1.12 标本培养处理后帮助 2 班将需要的各种标本收集并灭菌处理。
- 4.1.13 负责配制培养基，并做好记录。

5.1 岗位 2 班（负责菌株鉴定与药敏的分析、涂片检查标本的报告、室内质控等）。

- 5.1.1 上班后首先核查各个培养箱、冰箱的工作温度是否在设定的范围内，并做好记录；检查各种培养基及试剂的库存量，做好需配制的培养基或需领出的试剂的记录工作，对需购买的试剂、平板、培养基、染色液等应及时记录并告诉室组长，以便及时计划报主任批准。
- 5.1.2 做好室内常用实验试剂如触酶、凝固酶、氧化酶或蛋白胨水的质量控制，并做好记录。
- 5.1.3 负责处理上日接种标本的菌种鉴定与药敏试验，观察血液增菌培养瓶，如发现有细菌生长，应按三级报告制度处理。观察培养平板，分析、挑取可疑菌落涂片革兰染色，能上机的做好触酶、凝固酶、氧化酶或接种蛋白胨水等相应的检查后上机，还不能上机或手工试验的则选用相应的平板分纯。用于鉴定或药敏试验的菌落应选取培养 18-24 小时的纯菌落进行试验。
- 5.1.4 对一些不适合用仪器检测的细菌，改用手工鉴定或用标准的 K-B 法进行药敏。碰到异常的耐药模式，如碰到耐万古霉素的葡萄球菌、粪肠球菌，耐泰能的大肠埃希菌、克雷伯菌属、肠杆菌属等报告时一定要慎重。遇到可疑多重耐药菌株时，加做特殊的药敏纸片帮助鉴定。
- 5.1.5 负责控感标本的处理与报告，物体表面菌落计数标本应于收到标本后 2 小时内处理，消毒液标本应于 4 小时内处理。处理方法按控感监控标本处理与报告进行。
- 5.1.6 涂片染色：

① 抗酸染色严格按照操作规程，胸腹水、尿液、脑脊液等标本应在 5000 转/分高速离心 10 分钟后，取沉淀涂厚片，自然干燥后固定，按要求染色后镜检。

② G-双球菌涂片，应用滚动式涂片法从波片一端涂向另一端，反复几次，火焰固定后进行革兰氏染色。

③ 脑脊液隐球菌涂片，应快速离心后倒去上清液，沉淀涂片、加相应的优质墨汁混匀后镜检。

5.1.7 对新到岗的实习或进修人员应认真交代本岗位的一切事宜并且认真作好带教工作。

6 注：岗位职责分开是相对的，同事间需要互相协作，互相帮助，共同完成当天的工作。如遇到三个人上班，则其中一个做好室内日常记录的检查完善和控制感染标本的处理工作。如遇一个人上班，则担负 1 岗位班、2 岗位班的所有工作。

普通培养阴性操作程序

1、仔细查对标本标签与检验单是否正确，标本质量是否合格，若收检标本与检验单查对正确，标本质量合格则进行接收检验，否则查找原因并在有关记录本上记录。

2、标本处理、检验与结果报告：

1)拭子、分泌物标本 标本涂于普通血平板、麦康凯平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 35℃温箱培养。

培养第 24、48 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至 72 小时未见可疑菌落，则报告未培养出普通致病细菌。

2)尿液标本 取 5ml 尿液,3000 转/分离心 5 分钟，取离心沉淀物，接种环取样涂于普通血平板、麦康凯平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 35℃温箱培养。

培养第 24、48 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至 72 小时未见可疑菌落，则报告未培养出普通致病细菌。

3)引流液 标本 3000 转/分离心 5 分钟，取离心沉淀物，接种环取样涂于普通血平板、麦康凯平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 35℃温箱培养。

培养第 24、48 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至 72 小时未见可疑菌落，则报告未培养出普通致病细菌。

4)痰液或咽拭子标本 无菌接种环可疑处采样涂于普通血平板、麦康凯平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 35℃温箱培养。

培养第 24、48 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至 72 小时未见可疑菌落，则报告未培养出普通致病细菌。

5)粪便或肛拭子等肠道标本 以无菌接种环挑取可疑处标本涂于普通血平板、麦康凯平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 35℃温箱培养。

培养第 24、48 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至 72 小时未见可疑菌落，则报告未培养出普通致病细菌。

6)留置针头、小导管等标本 标本置无菌管中，加入增菌液 2ml，35℃温箱培养 48 小时观察培养液有无混浊，采样涂于普通血平板、麦康凯平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 35℃温箱培养。

培养第 24、48 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至 72 小时未见可疑菌落，则报告未培养出普通致病细菌。

真菌培养阴性操作程序

1、仔细查对标本标签与检验单是否正确，标本质量是否合格，若收检标本与检验单查对正确，标本质量合格则进行接收检验，否则查找原因并在有关记录本上记录。

2、标本处理、检验与结果报告：

1)拭子、分泌物标本 标本涂于 TTC-沙保罗平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 25℃温箱培养。

培养第 24、48、72 小时观察平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 4 天未见可疑菌落，则报告未培养出真菌。

2)尿液标本 取 5ml 尿液,3000 转/分离心 5 分钟，取离心沉淀物，接种环取样涂于 TTC-沙保罗平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 25℃温箱培养。

培养第 24、48、72 小时观察平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 4 天未见可疑菌落，则报告未培养出真菌。

3)引流液 标本 3000 转/分离心 5 分钟，取离心沉淀物，接种环取样涂于 TTC-沙保罗平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 25℃温箱培养。

培养第 24、48、72 小时观察平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 4 天未见可疑菌落，则报告未培养出真菌。

4)痰液或咽拭子标本 无菌接种环可疑处采样涂于 TTC-沙保罗平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 25℃温箱培养。

培养第 24、48、72 小时观察平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 4 天未见可疑菌落，则报告未培养出真菌。

5)粪便或肛拭子等肠道标本 以无菌接种环挑取可疑处标本涂于 TTC-沙保罗平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 25℃温箱培养。

培养第 24、48、72 小时观察平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 4 天未见可疑菌落，则报告未培养出真菌。

6)留置针头、小导管等标本 标本置无菌管中，加入增菌液 2ml，35℃温箱培养 48 小时观察培养液有无混浊，采样涂于 TTC-沙保罗平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 25℃温箱培养。

培养第 24、48、72 小时观察平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 4 天未见可疑菌落，则报告未培养出真菌。

苛养菌培养阴性操作程序

1、仔细查对标本标签与检验单是否正确，标本质量是否合格，若收检标本与检验单查对正确，标本质量合格则进行接收检验，否则查找原因并在有关记录本上记录。

2、标本处理、检验与结果报告：

1)拭子、分泌物标本 标本涂于普通血琼脂平板、巧克力(含 V、X 因子)平板成原始线，再以无菌接种环画线分离后置 CO₂ 缸，35℃温箱培养。

培养第 24、48、72 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 5 天未见可疑菌落，则报告未培养出奈瑟氏菌、嗜血杆菌等苛养菌。

2)尿液标本 取 5ml 尿液,3000 转/分离心 5 分钟，取离心沉淀物，接种环取样涂于普通血平板、巧克力(含 V、X 因子)平板成原始线，再画线分离后置 CO₂ 缸，35℃温箱培养。

培养第 24、48、72 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 5 天未见可疑菌落，则报告未培养出奈瑟氏菌、嗜血杆菌等苛养菌。

3)引流液 标本 3000 转/分离心 5 分钟，取离心沉淀物，接种环取样画线分离接种普通血平板、巧克力(含 V、X 因子)平板，置 C02 缸，35℃温箱培养。

培养第 24、48、72 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 5 天未见可疑菌落，则报告未培养出奈瑟氏菌、嗜血杆菌等苛养菌。

4)痰液或咽拭子标本 无菌接种环可疑处采样涂于普通血平板、巧克力(含 V、X 因子)平板原始线，再画线分离后置 C02 缸，35℃温箱培养。

培养第 24、48、72 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 5 天未见可疑菌落，则报告未培养出肺炎球菌、嗜血杆菌等苛养菌。

5)粪便或肛拭子等肠道标本 以无菌接种环挑取可疑处标本涂于血平板、布氏血平板成原始线，再分离画线后置 C02 缸，放入 35℃温箱培养。另取约 1g 标本接种碱性蛋白胨水中，35℃温箱培养 24-72 小时，再转种高盐平板、中国兰平板、山梨醇麦康凯平板。

培养第 24、48、72 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 5 天未见可疑菌落，则报告未培养出弧菌、螺杆菌等细菌。

6)留置针头、小导管等标本 标本置无菌管中，加入增菌液 2ml，35℃温箱培养 48 小时观察培养液有无混浊，采样转种血平板、巧克力(含 V、X 因子)平板成原始线，再画线分离后置 C02 缸，35℃温箱培养。

培养第 24、48、72 小时观察各平板上有否出现可疑菌落，若继续培养至第 5 天未见可疑菌落，则报告未培养出奈瑟氏菌、嗜血杆菌等苛养菌。

抗酸培养阴性操作程序

1、仔细查对标本标签与检验单是否正确，标本质量是否合格，若收检标本与检验单查对正确，标本质量合格则进行接收检验，否则查找原因并在有关记录本上记录。

2、标本处理、检验与结果报告：

液性引流标本(如腹水、尿液、CSF 等)直接离心留沉淀物，杂菌污染标本(如大便、痰等)取样置无菌管，加入 1N NaOH1ml 作用 30 分钟，再加入 1N HCl1ml 中和，3000 转/分钟离心 5 分钟，取沉淀物 100μl 量接种罗氏培养基，置 37℃温箱培养。

每星期观察一至两次培养基斜面，结果连续观察七个星期以上未发现有可疑菌落生长，报告未培养出分枝杆菌。

支原体培养检验操作程序

一、接收标本：标本与检验单查对正确，标本质量合格。

二、标本处理：接种 Uu、Mh 培养药敏一体试剂盒：操作前将所需试剂取出置室温 30 分钟。1、A 排第一孔加入培养液 100μL 作为阴性对照；2、将标本拭子直接放入培养液中充分振荡并在瓶壁挤干拭子，若为男性尿液取离心沉淀物 150μL 或阳性标本取 50μL 于培养液中混匀。3、将混有标本的培养液各 100μL 加入 A 排余下及 B 排各孔中；4、各孔加矿物油覆盖，置于 37℃温箱培养。

第 24、48 小时分别观察记录结果。结果判断原理：培养基含有相应支原体生长所需的蛋白质、马血清、生长因子、底物及酚红指示剂，当有支原体生长时，底物被分解，使 PH 值升高，培养基由橙黄色变成红色，且清亮为阳性。培养基不变色为阴性。B1 孔阳性为解脲支原体阳性；B2 孔阳性为人型支原体阳性。药敏孔 A 排为高浓度，B 排为低浓度，变红则耐药，不变红示敏感而不生长。当高浓度与低浓度两孔均不生长(不变色)为该药敏感；高浓度不变色低浓度变红为该药物中介；高浓度与低浓度均变红为该药物耐药。

结果一：第 24 小时 B1 孔由橙黄色变成红色示解脲支原体阳性，药敏看结果判断；第 24 小时、48 小时观察 B2 孔均不变色，示无人型支原体生长或浓度极低，报告培养出解脲支原体，未培养出人型支原体。

结果二：第 24 小时 B1 孔不变色示解脲支原体阴性；第 48 小时观察 B2 孔由橙黄色变成红色示人型支原体阳性，药敏看结果判断。报告未培养出解脲支原体，培养出人型支原体附药敏结果。

结果三：第 24 小时 B1 孔由橙黄色变成红色示解脲支原体阳性，药敏看结果判断；第 48 小时观察 B2 孔由橙黄色变成红色示人型支原体阳性，药敏看结果判断，报告培养出解脲支原体与人型支原体附药敏结果。

结果四：阳性对照孔由橙黄色变成红色示支原体阳性，药敏看结果判断；第 24 小时、48 小时观察 B1 孔、B2 孔均不变色，示无解脲、人型支原体生长或浓度极低，报告培养出非解脲、人型支原体或嘱病人重留标本复查。

结果五：第 24、48 小时观察 B1 孔、B2 孔均不变色，示无支原体生长或浓度极低，报告未培养出解脲及人型支原体。