



结核病实验室质量管理与生物安全

中国疾控中心结核病预防控制中心
2021年X月X日 北京



主要目录

01

培训目标

02

职责分工

03

工作内容

04

知识要点



1

培训目标



实验室检查及其质量的重要性

- **70%的临床决策是基于医学实验室检查结果推断或证实的。**

(More than 70% of clinical decision-making is predicated upon, confirmed by, or documented by medical laboratory test results. *Dighe et al. 2007*)

- **应确保实验室检查结果及时、准确、可靠，避免重复检测、误诊、漏诊、不适当的治疗，从而导致不必要的成本增加，甚至危害公共卫生安全（如结核病）。**



结核病实验室检查质量的重要性

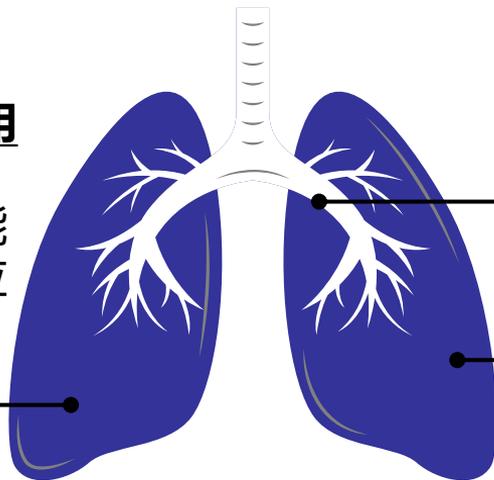
- 分级诊疗诊断，治疗过程不同机构实验室检测结果互认；
- 在疫情处置、溯源过程中结果的准确性；
- 各种基于实验室的监测（耐药、菌株流行及进化监测）结果的准确性以及对于结核病防治规划的影响；
- 结核病检测方法很多自动化程度较低，依赖手工操作步骤多，受人为影响因素多。



结核病实验室检查-提供病原学及耐药性依据

新诊断技术的临床应用

在持续提升诊断服务能力同时，应更加强调应用于患者。



实验室的检测方法相关

准确性更高的检测技术和检测方法将提高实验室检测的病原学阳性率及耐药检测准确性。

实验室的检测质量相关

实验室检测质量是获得准确、及时、有效的检测结果的保障。



培训目标

- **了解质量管理的基本概念和组成内容。**
- **掌握2021版结核病防治工作技术指南中质量管理相关的重要工作内容和要求。**
- **熟悉结核病实验室质量管理的评审流程和评审方式。**
- **掌握结核病实验室生物安全设置的变化和基本要求。**



2

职责分工



职责分工

疾控机构结核病实验室应**逐步建立并运行实验室质量管理体系**，确保能够提供准确的检测服务。

积极推动并促进辖区内疾控及定点医疗机构结核病实验室逐步建立实验室质量管理体系，并**鼓励**有条件的实验室优先参与国家结核病参比实验室组织的质量管理评审（结核病实验室星级评定）。

对开展结核病实验室检测的医疗机构结核病实验室**提供技术支持及定期考核**，考核内容包含生物安全、参加室间质评、实验室质量指标。

医疗机构

为了确保检测质量，各级结核病实验室要**逐步建立并运行实验室质量管理体系**，定期开展质量管理体系的内部检查和管理评审，落实纠正措施，不断提高体系的运行水平，提升实验室的整体质量和服务水平。

积极参加结核病实验室质量管理评审（结核病实验室星级评定）和实验室室间质评。



3

工作内容



2008→2021指南实验室质量管理主要更新内容

2008 质量保证系统相对简单

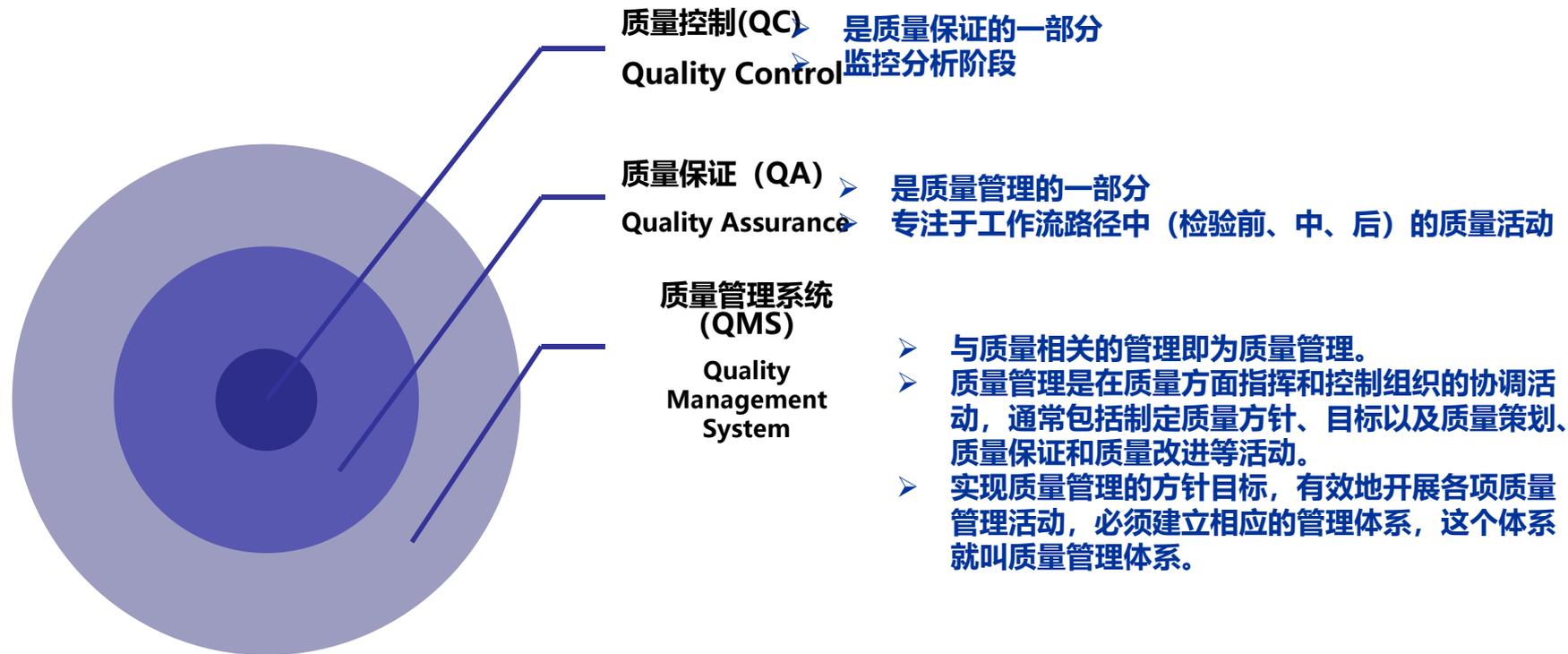
- 质量保证中对于室内质量控制没有进行描述
- 室间质评仅包含针对痰涂片镜检的盲法复检和批量测试
- 辅以现场评价作为补充

2021 质量保证扩展为更加系统的质量管理

- 各疾控和定点医疗机构实验室应逐步建立并运行完善的质量管理体系
- 建立针对结核病实验室检测项目的特异性质量指标
- 室间质评在原有痰涂片镜检的基础上，增加了表型药敏实验室熟练度测试、针对分子生物学检测技术的能力验证等



质量管理体系概念





结核病实验室质量管理体系建设-支持保障

- 结核病实验室应确保足够的经费用于实验室开展相应的检测活动，包括充足的经费确保实验室用房、设施和设备满足工作相关生物安全要求和分子生物学检测分区；
- 保证实验技术人员队伍的稳定，确保充足的、经过培训的工作人员承担预期开展试验；
- 提供足够的实验室试剂、消耗品及个人防护用品。

场所

人员

材料



结核病实验室质量管理体系建设-组织管理

- 实验室应**逐步建立质量管理体系**，确保其政策、过程、计划、程序和指导书**形成文件**，并确保其实施、维持及**持续改进**。
- 应保证质量管理体系文件（包括质量手册、程序文件、作业指导书、质量和技术记录）**易于理解并实施**。
- 实验室应规定对体系所有管理及技术要素定期进行**内部审核**，以证实体系运行持续符合质量管理体系的要求，并定期对质量管理体系和检验活动进行评审，以确保为患者服务提供持续适合及有效的支持，并进行必要的变更与改进。
- 实验室应**加强质量控制**，保证检验结果的可比性和准确性。
- 实验室应**建立管理制度**，包括（但不限于）准入制度、持证上岗制度、安全防护规定、考核制度等。所有工作人员都应遵守实验室管理制度。



结核病实验室质量管理体系建设-人员



- 实验室应有**足够的人力资源**以满足工作需求，根据各学科、专业的特点，结合科室管理要求，**制定年度培训计划并实施。**
- 实验室检验人员应具备适当的理论基础和实践经验,所学专业与从事工作相适应。实验室应建立**员工档案。**
- **上岗培训、在岗培训及能力评估**



结核病实验室质量管理体系建设-文件和记录

文件	记录
建立	收集
修订和审阅	审阅
控制和分配	储存
	保留
	



结核病实验室质量管理体系建设-设施环境

- 涂片镜检、分离培养、菌种鉴定需要在分区合理、布局良好并符合**生物安全二级**防护要求的实验室进行
- 表型药敏试验需要在**加强型生物安全二级实验室**进行
【具体要求参照《病原微生物实验室生物安全通用准则》（WS 233—2017）】
- 大量结核分枝杆菌活菌操作的试验，需要在符合**生物安全三级**的实验室进行。
- 结核分枝杆菌核酸及耐药基因检测的基本分区为试剂配制区、标本制备区、扩增检测区和产物分析区；根据采用的方法、仪器的功能及具体操作等，**区域可适当合并。**





设施环境-常用分子生物学检测技术实验室设置要求

MTB核酸检测技术	操作步骤	实验室设置要求
环介导等温扩增检测	试剂储存和配制、核酸提取、恒温扩增及检测	三区
交叉引物恒温扩增检测	试剂储存和配制、核酸提取、恒温扩增及检测（扩增后闭管试验，无需开管）	三区
RNA恒温扩增检测	试剂储存和配制、核酸提取、恒温扩增及检测	三区
多色巢氏实时荧光定量PCR检测	样本处理，核酸提取、扩增及检测（无需配制试剂但试剂存储需要房间）	二区（三区）

耐药基因检测技术	操作步骤	实验室设置要求
熔解曲线技术	试剂储存和配制、核酸提取、扩增及检测	三区
基因芯片技术	试剂储存和配制、核酸提取、扩增、杂交及检测	四区
线性探针技术	试剂储存和配制、核酸提取、扩增、杂交及检测	四区
多色巢氏实时荧光定量PCR检测	核酸提取、扩增及检测	二区

**基因扩增检验实验室设置应符合国家实验室生物安全有关规定。



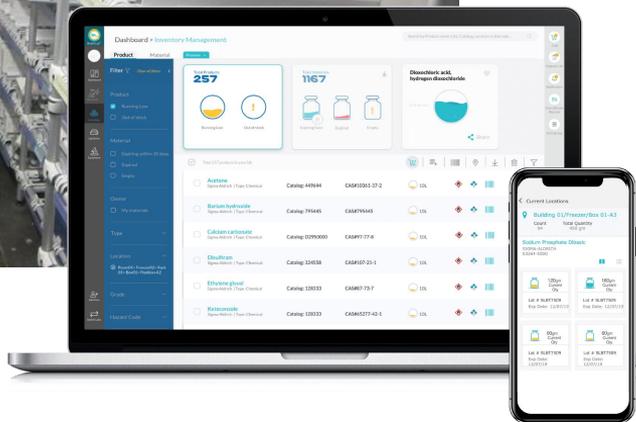
结核病实验室质量管理体系建设-设备

- 获得
- 安装
- 验证
- 维护
- 校准
- 故障排除
- 服务和维修
- 记录





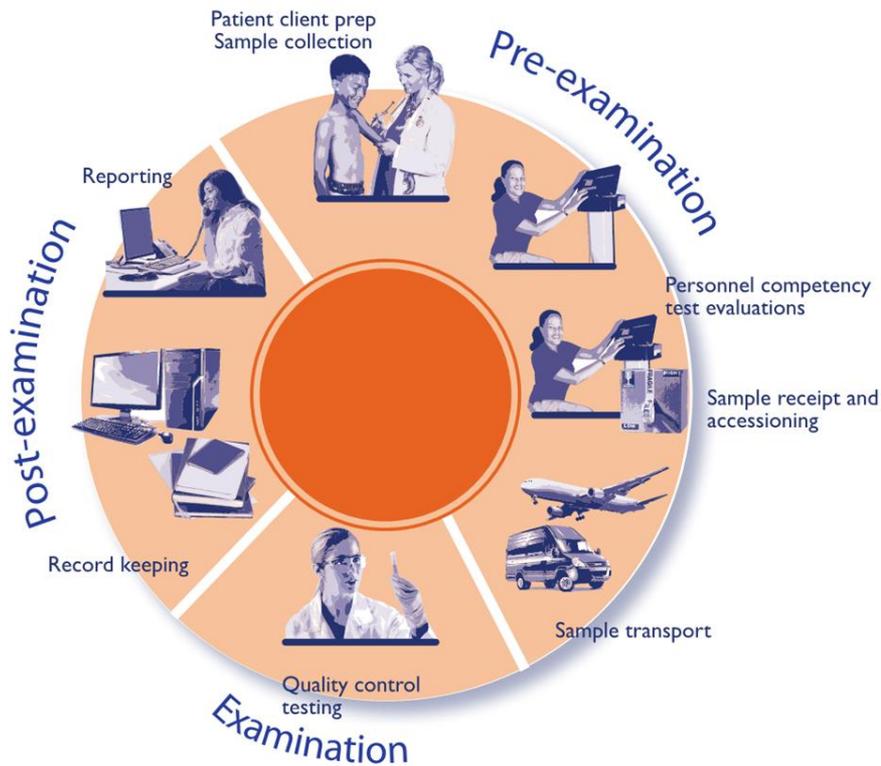
结核病实验室质量管理体系建设-试剂耗材



- 供应商资质
- 试剂耗材接收储存
- 试剂耗材验收, 使用说明
- 不良事件服务
- 合同审查
- 库存管理



结核病实验室质量管理体系建设-检验前程序和检验程序



➤ 检验前程序

- 病人的准备及样本采集
- 样本的接收和保存
- 样本的运输

➤ 检验程序

- 检验方法的选择, 验证, 确认
- 质量控制 (QC)



结核病实验室质量管理体系建设-室内质量控制

- 室内质量控制**目的是监控检测过程是否稳定**，凡开展的检验项目均应有室内质量控制方案。若室内质控失控，须查找失控原因，纠正失控状态，杜绝在质控失控状态下发出检验结果。
- 开展室内质量控制前，应建立和健全相关**程序文件**。包括规定实验室工作人员资格和职责；制定标准操作程序；检验结果的审核程序；设备管理程序；仪器设备检定校准程序；试剂和物品管理程序；内部质量控制程序等。
- 应定期**评审质控数据**，以发现可能的系统误差及随机误差。
- 对试剂、校准品要选购质量可靠的、稳定性好的、批间差小的。
- 室内质控方法应根据检测项目特点来确定，最常用的方法是在检测临床样本的同时，加上阳性和阴性质控品，只有阳性或阴性质控品得到预期的结果时，才能发出患者检测的报告。



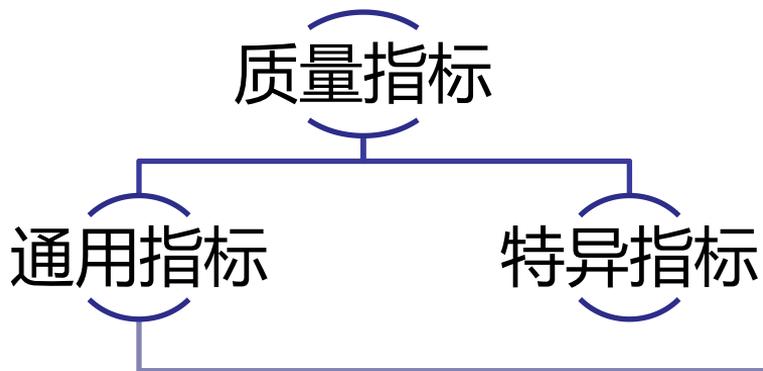
室内质量控制-要点

	试剂	设备	阳性质控	阴性质控
涂片镜检	效期及新批次染剂验证	显微镜日常维护和清洁	每批次加入阳性质控片	每批次加入阴性质控片
培养	新批次培养基无菌及生长度测试	温箱的正常运行和温度监测	NA	NA
药敏	效期及新批次试剂的验证 比浊管/比浊仪常规维护	温箱的正常运行和温度监测 液体培养仪器日常维护	NA	定期加入H37Rv/H37Ra质控
分子生物学检测	试剂效期及验证、确认	PCR仪等日常维护	每批次加入阳性质控品或内对照	每批次加入阴性质控品



室内质量控制-质量指标

每月定期汇总、分析各指标。



标本合格率、标本运输时间不当率、标本运输温度不当率、检验前周转时间、实验室内周转时间、设备故障时间、试剂耗材断货时间、检测阳性率、检验报告错误率、投诉数、满意度、室内质评是否合格等



室内质量控制-涂片镜检质量指标

痰涂片镜检质量指标：包括初诊患者痰涂片镜检阳性率、初诊患者涂片中低阳性级别（实际条数/300视野、1+）结果比例、随访患者痰涂片镜检阳性率、痰涂片镜检周转时间等。

$$\text{初诊患者痰涂片镜检阳性率 (\%)} = \frac{\text{初诊痰涂片检查阳性的患者数}}{\text{开展痰涂片检查的初诊患者总数}} \times 100\%$$

$$\text{初诊患者涂片中低阳性级别结果比例 (\%)} = \frac{\text{初诊患者低阳性级别 (实际条数/300视野、1+) 结果的痰涂片数}}{\text{初诊患者阳性痰涂片总数}} \times 100\%$$

$$\text{(二月末) 随访患者痰涂片镜检阳性率 (\%)} = \frac{\text{痰涂片镜检阳性的随访患者数}}{\text{开展痰涂片镜检的随访患者总数}} \times 100\%$$

实验室内痰涂片镜检周转时间=自实验室收到痰标本后至实验室报告痰涂片镜检结果的时间间隔。



室内质量控制-分枝杆菌分离培养质量指标

分枝杆菌分离培养质量指标：包括初诊患者培养阳性率、初诊患者结核分枝杆菌培养阳性率、涂阳标本培养阳性率、培养发生污染率(固体)、培养发生污染率(液体)、分离培养周转时间(固体)、分离培养周转时间(液体)。

$$\text{初诊患者分枝杆菌分离培养阳性率 (\%)} = \frac{\text{分离培养阳性的初诊患者数}}{\text{开展分离培养的初诊患者总数}} \times 100\%$$

$$\text{初诊患者结核分枝杆菌培养阳性率 (\%)} = \frac{\text{分离培养阳性且菌株鉴定为结核分枝杆菌的初诊患者数}}{\text{开展培养的初诊患者总数}} \times 100\%$$

$$\text{痰涂片镜检阳性标本培养阳性率 (\%)} = \frac{\text{痰涂片镜检阳性且分离培养阳性的标本数}}{\text{痰涂片镜检阳性且开展分离培养的标本数}} \times 100\%$$

$$\text{分离培养污染率 (\%)} = \frac{\text{分离培养发生污染的培养管 (基) 数}}{\text{开展分离培养的总培养管 (基) 数}} \times 100\%$$

实验室内分离培养周转时间=自实验室接收到标本至实验室报告分离培养结果报告的时间间隔。



室内质量控制-表型药敏试验质量指标

表型药敏试验质量指标包括利RR-TB/MDR-TB检出率、因污染而缺失药敏结果率、因对照培养基菌落生长不足或未生长而缺失药敏结果的比例、实验室周转时间（自接种至结果报告时间）、实验室周转时间（自分离培养至结果报告时间）等。

$$\text{RR-TB/MDR-TB检出率 (\%)} = \frac{\text{RR-TB/MDR-TB患者检出数}}{\text{开展表型药敏试验的患者总数}} \times 100\%$$

$$\text{因污染而缺失药敏结果率 (\%)} = \frac{\text{因污染而缺失药敏结果的菌株数}}{\text{开展药敏试验的总数}} \times 100\%$$

$$\text{因对照培养基菌落生长不足或未生长而缺失药敏结果率 (\%)} = \frac{\text{因对照培养基菌落生长不足或未生长而缺失药敏结果的菌株数}}{\text{开展药敏试验的总数}} \times 100\%$$

表型药敏实验室周转时间（自接种至结果报告时间） = 自痰标本前处理接种至培养基时间至药敏结果报告的时间间隔（天）。

表型药敏试验实验室周转时间（自分离培养阳性至结果报告时间） = 自分离培养阳性（或二次转种阳性）开始操作时间至药敏结果报告的时间间隔（天）。



室内质量控制-结核分枝杆菌核酸检测质量指标

结核分枝杆菌**核酸检测**质量指标：包括结核分枝杆菌核酸检测阳性率、检测发生批次污染率（针对分批量操作的检测）、检测发生错误、无结果、无效比例、结核分枝杆菌核酸检测实验室周转时间。

$$\text{结核分枝杆菌核酸检测阳性率 (\%)} = \frac{\text{结核分枝杆菌核酸检测阳性患者数}}{\text{开展结核分枝杆菌核酸检查的患者数}} \times 100\%$$

$$\text{结核分枝杆菌核酸检测发生批次污染率 (\%)} = \frac{\text{结核分枝杆菌核酸检测发生污染的批次}}{\text{结核分枝杆菌核酸检测的总批次}} \times 100\%$$

$$\text{检测发生错误 (无结果或无效) 率 (\%)} = \frac{\text{检测发生错误 (无结果或无效) 的标本数}}{\text{开展多色半巢式实时荧光定量PCR检测的标本数}} \times 100\%$$

结核分枝杆菌核酸检测实验室内周转时间=实验室自接收到痰标本至报告结核分枝杆菌核酸检测结果的时间间隔。



室内质量控制-结核分枝杆菌耐药基因检测质量指标

结核分枝杆菌**耐药基因检测**质量指标在上述结核分枝杆菌核酸检测质量指标的基础上可以补充根据检测药物的不同制定相应的抗结核药物耐药检出比例指标。

$$\text{结核分枝杆菌耐药基因某种药物耐药检出率 (\%)} = \frac{\text{耐药患者数量}}{\text{开展结核分枝杆菌耐药基因检测的总患者数}} \times 100\%$$

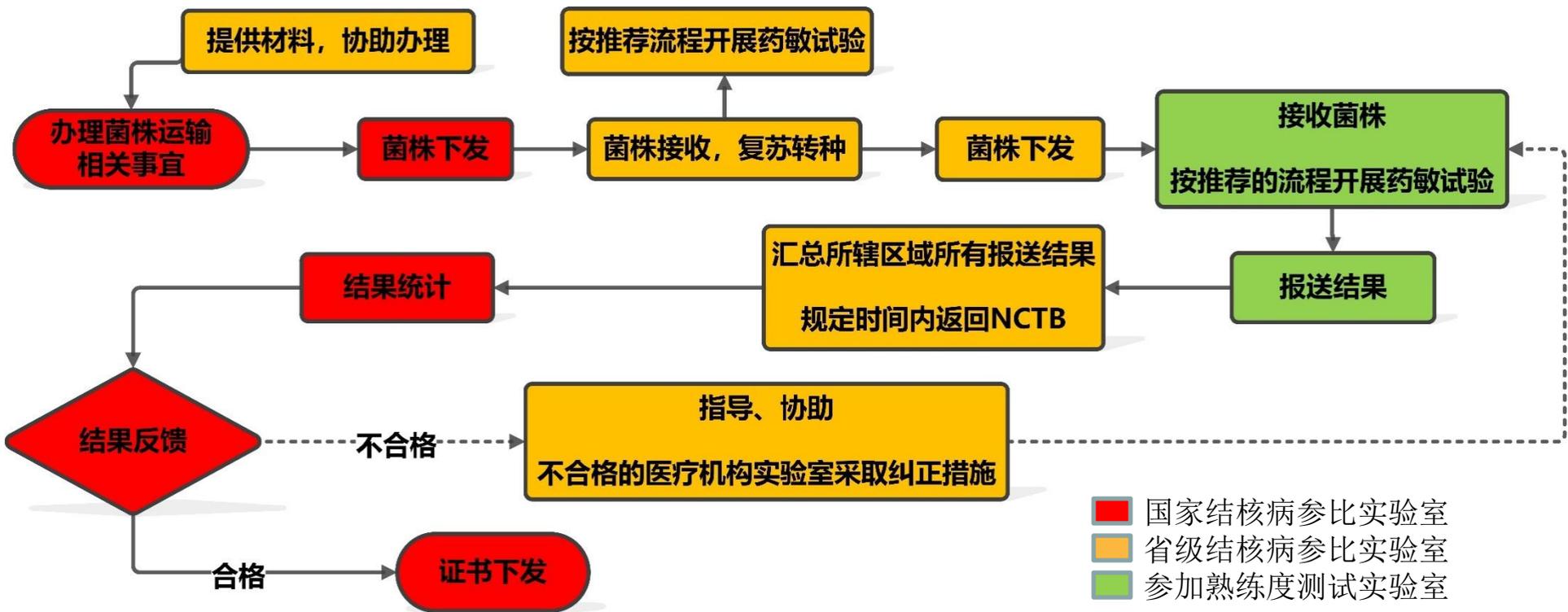


结核病实验室质量管理体系建设-空间质量评价

- 室间质量评价是通过实验室间的比对判定实验室的校准、检测能力的活动。
- 各级结核病实验室应积极参加中国疾控中心国家结核病参比实验室、临检中心及所在辖区疾控中心组织的室间质量评估活动，至少包括表型药敏试验熟练度测试、结核分枝杆菌分子生物学检测能力验证、痰涂片镜检盲法复检等。
凡实验室开展项目，原则上均应参加室间质评。
- 实验室应编制**年度能力评价及室间比对活动计划**。
- 质评物的接收和验收：收到质评物后由相关人员记录质评物的接收时间、登记并签字，根据质评物有关说明对质控物的数量、批号、包装进行验收并将质评物按要求保存。
- 质评物的检测：如同患者样本一样，室间质评应由**常规工作人员**操作，工作人员必须使用实验室的**常规检测方法**进行检测。实验室检测质评物的次数必须与常规检测患者样本的次数一样。实验室进行质评物检测时，必须将处理、准备、方法、审核、检验的每一步骤和结果的报告文件化。实验室必须保存所有记录的复印件至少2年。
- 质评统计结果的评价：实验室管理层负责监控外部质量评价结果。返回的质评结果无论合格与否，都必须进行**评价**。

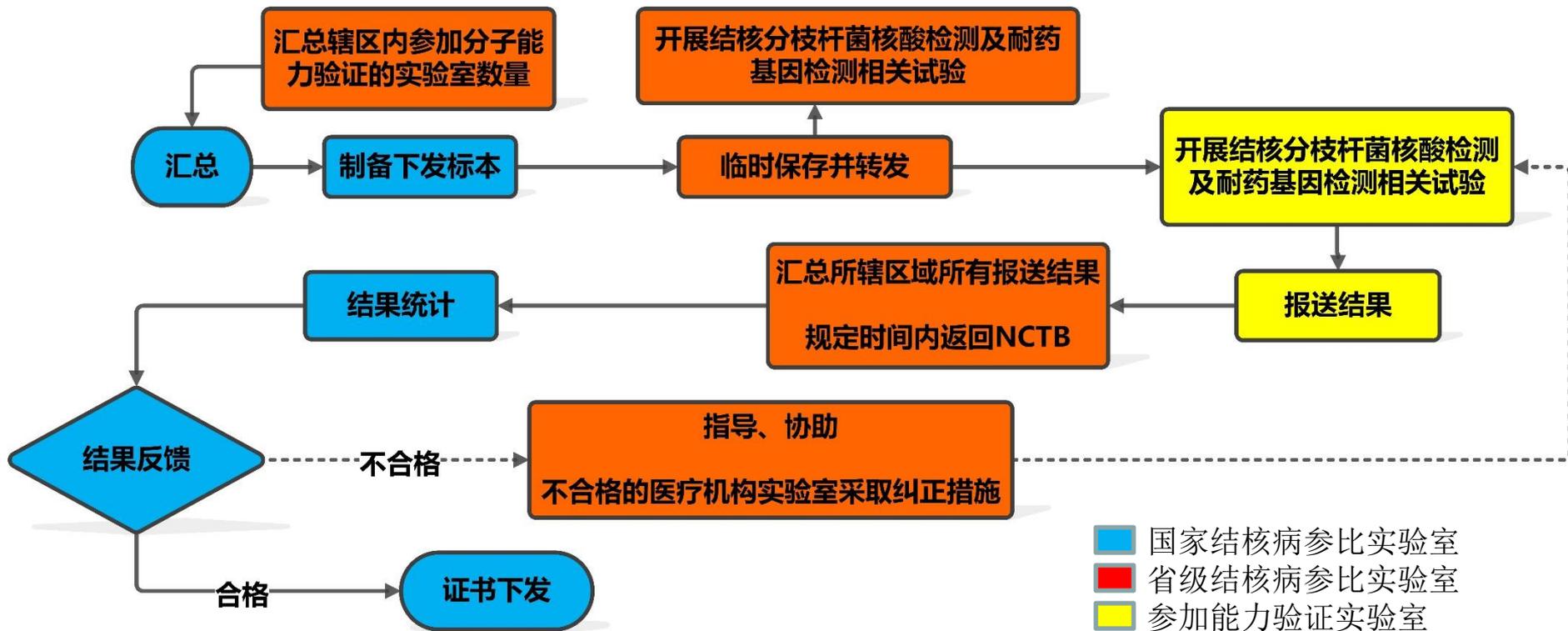


空间质量评价-药敏试验熟练度测试





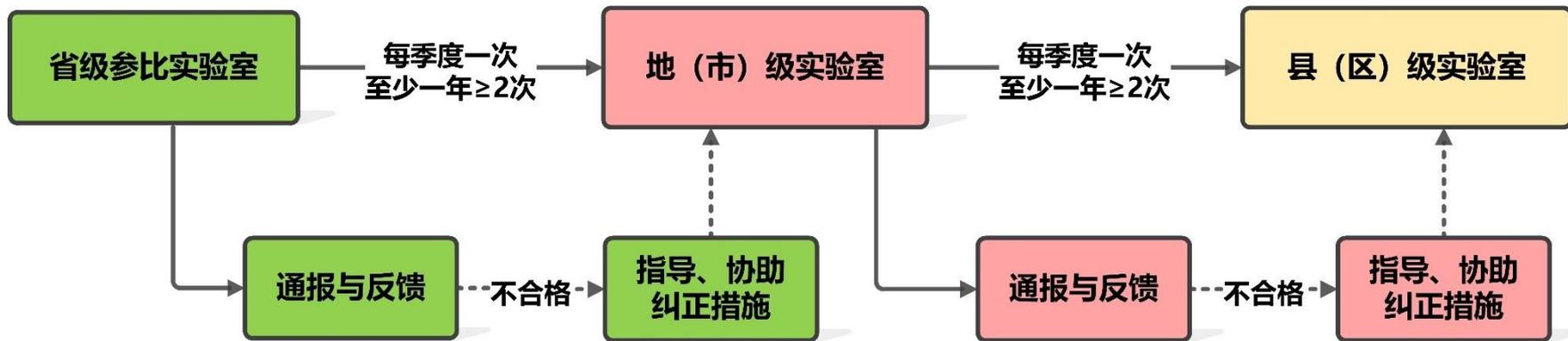
室间质量评价-分子生物学检测技术能力验证





空间质量评价-痰涂片镜检盲法复检

- 针对涂片镜检，目前仍然推荐使用痰涂片镜检盲法复检方法作为室间质评方法，批量测试涂片可作为盲法复检的补充方法。





结核病实验室质量管理体系建设-结果报告

- 检测结果的审核程序及检验报告
- 危急值的设定
- 客户（医生和患者）服务
 - 充分考虑客户（医生和患者）的需求
 - 注重客户（医生和患者）的反馈意见





结核病实验室质量管理体系建设及网络职能评估-星级评定

- 通过评定监测全国结核病实验室质量管理体系、能力及网络职能情况，确保各级实验室提供可靠、快速的检测服务。

结核病实验室星级评定

Strategic TB lab audit rating system

结核病实验室星级评定实施
方案

结核病实验室星级评定建设
指南

结核病实验室星级评定核查
清单

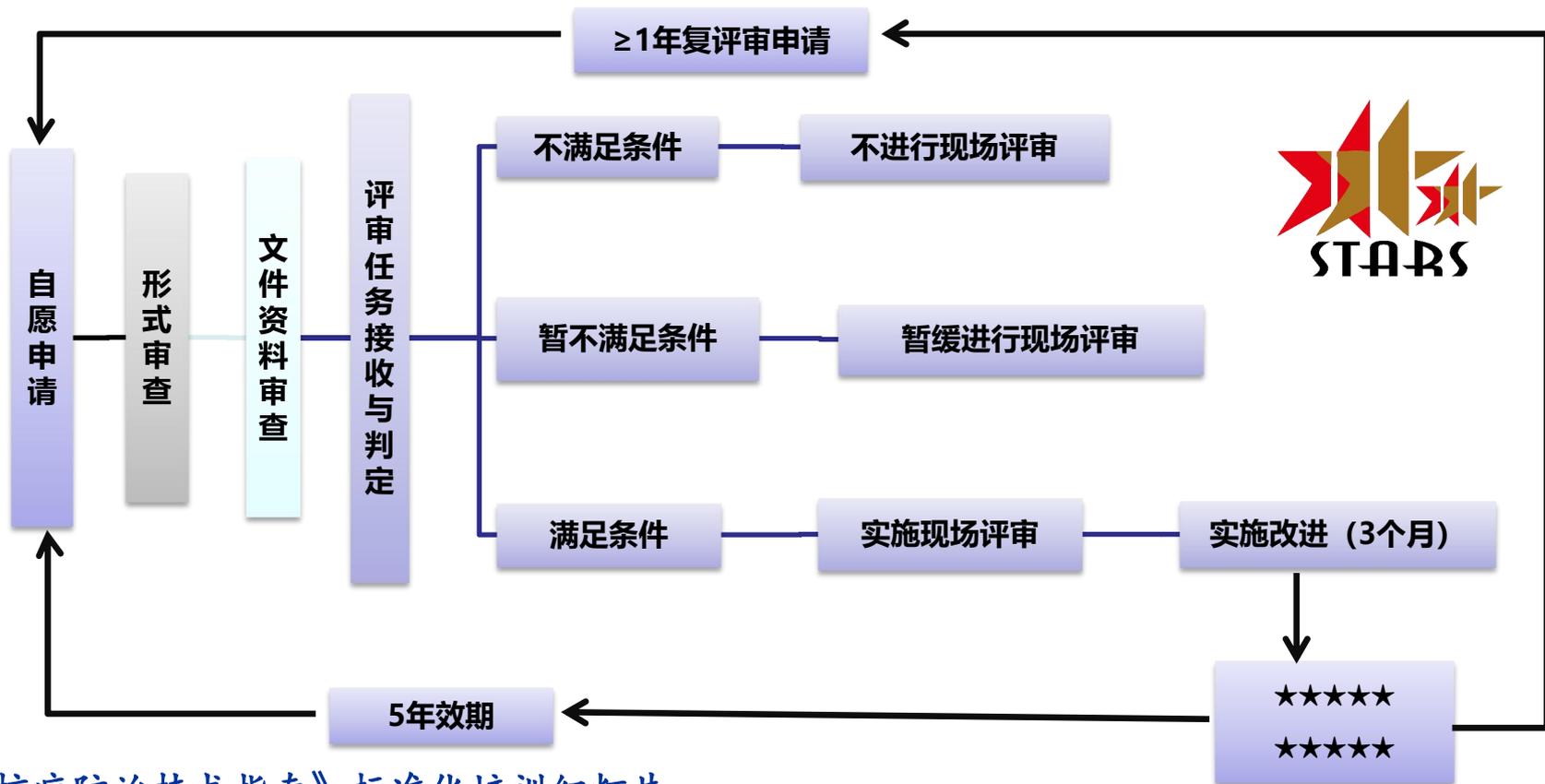
结核病实验室星级评定
申请表



结核病实验室星级评定
现场评审表
评审报告



结核病实验室质量管理体系建设及网络职能评估-星级评定组织流程





生物安全



2008→2021指南实验室生物安全主要更新内容

2008 提出基本的实验室生物安全要求

- 重点描述了痰涂片镜检、分枝杆菌分离培养及表型药物敏感性试验的基本要求
- 结核分枝杆菌相关样本检测在符合生物安全二级实验室的环境中即可

2021 提出了开展各项结核并检测项目匹配的生物安全实验室要求以及临床基因扩增实验室要求

- 表型药敏试验要求在加强型生物安全二级实验室开展
- 应建立与使用与分子生物学技术相匹配的临床基因扩增实验室



建立实验室生物安全制度

- 按照《病原微生物实验室生物安全通用准则》（WS 233—2017）要求，实验室应建立并维持风险评估和风险控制制度，并明确实验室持续进行风险识别、风险评估和风险控制的具体要求，实验室应建立生物安全管理要求、人员管理制度、菌（毒）种及感染性样本的管理制度、设施设备运行维护管理制度、实验室活动的管理制度、生物安全监督检查制度、消毒和灭菌制度、实验废物处置制度、实验室感染性物质运输制度、应急预案和意外事故的处置制度、实验室生物安全保障制度。
- 实验室设立单位应有明确的法律地位，实验室的设立单位应成立生物安全委员会；实验室设立单位的法定代表人负责本单位实验室的生物安全管理，建立生物安全管理体系，落实生物安全管理责任部门或责任人；实验室负责人为实验室生物安全第一责任人，全面负责实验室生物安全工作。



实验室环境要求



抗酸杆菌涂片镜检、分枝杆菌分离培养、结核分枝杆菌核酸检测及耐药基因检测，可在生物安全二级（Laboratory Biosafety Level 2）实验室中进行，表型药物敏感性试验要求在加强型生物安全二级实验室中进行。实验室所用设施、设备和材料（含防护屏障）均应符合国家相关的标准和要求。从事结核病实验室检测活动应事先取得《高致病性病原微生物实验室资格证书》和相关行政部门的审批。



实验室操作安全



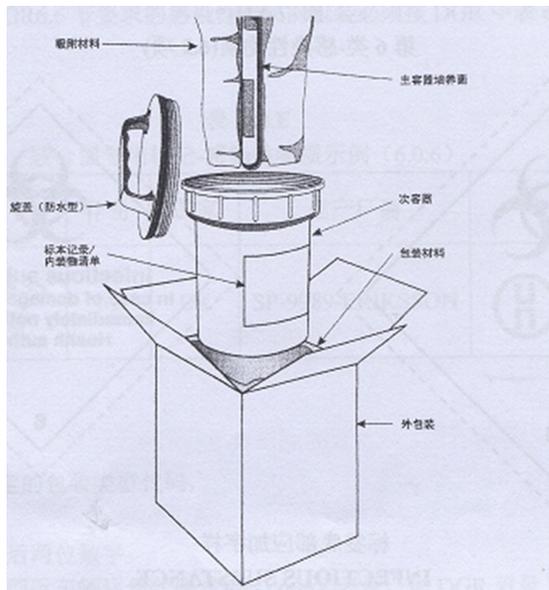
实验室的**标准操作程序**应包括对涉及的任何危险以及如何在风险最小的情况下开展工作的详细指导书。

由具有相关专业知识和操作技能的工作**人员**进行实验室操作，实验人员应该认真负责，严格按照**标准化、规范化**的操作程序进行各项实验室操作。对大型的仪器设备或属于安全管理体系中**关键控制点**的仪器，应由培训过的**专人**进行操作。



菌种或标本运输安全

在运输结核分枝杆菌菌株及含有或疑似含有结核分枝杆菌的标本时，须按照《可感染人类的高致病性病原微生物菌（毒）种或标本运输管理规定》的要求进行包装、运输、操作、保藏和管理。





感染性废弃物处置安全

- 医疗废弃物的处理应严格按照《中华人民共和国传染病防治法》和《中华人民共和国固体废物污染环境防治法》，以及《医疗废物管理条例》的相关规定妥善处理。

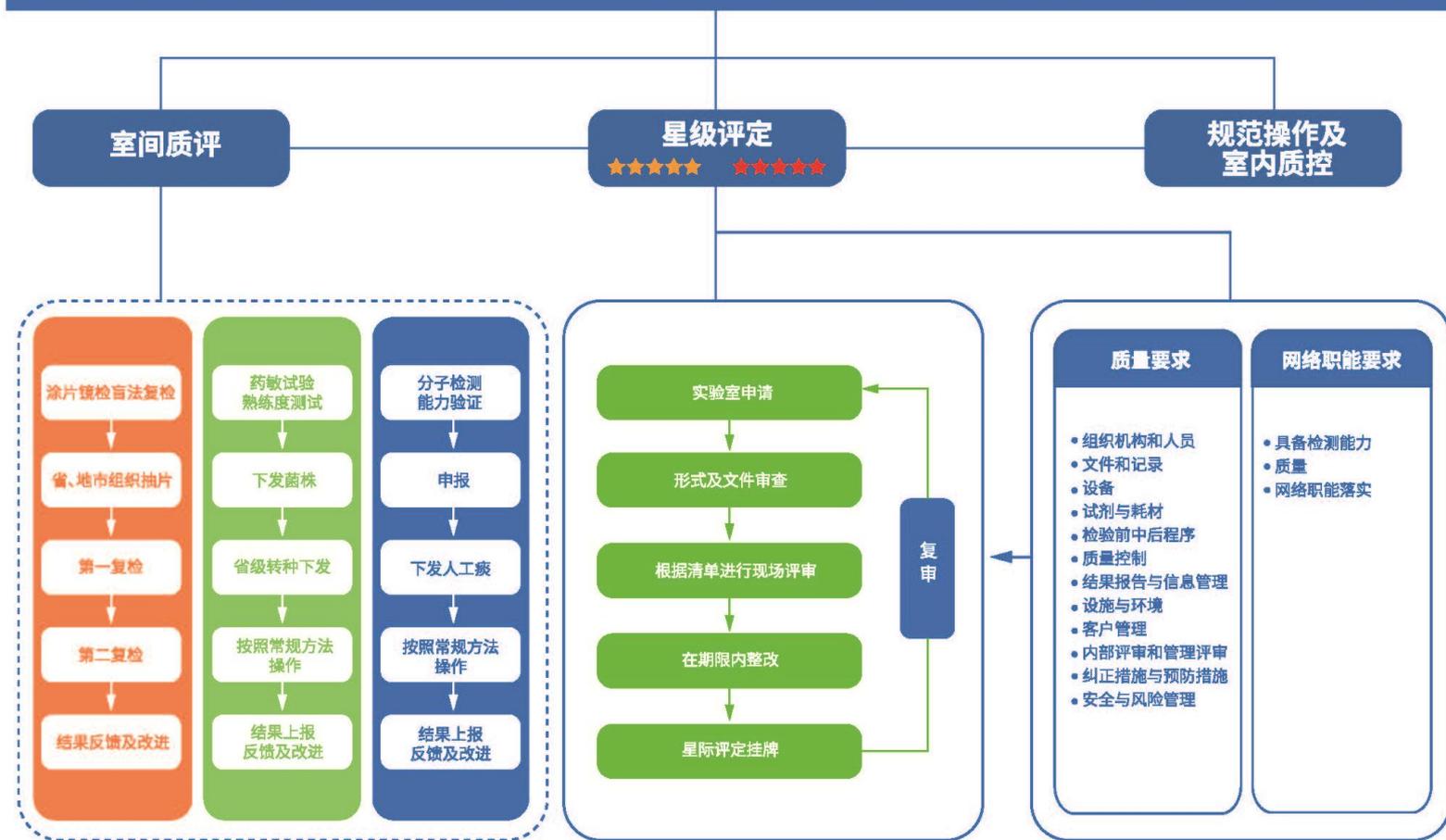




4

知识要点

结核病实验室质量管理





习题

单选题：

1.表型药敏试验，需要在符合（ ）的实验室进行。

- A. 生物安全一级
- B. 生物安全三级
- C. 生物安全二级
- D. 加强型生物安全二级

2. 室间质量评价的目的是（ ）

- A. 监控检测过程是否稳定
- B. 监控分析阶段的质量活动
- C. 通过比对判定实验室的校准、检测能力
- D. 在质量方面指挥和控制组织的协调活动



习题

多选题:

1. 目前开展的室间质评项目包括 ()

- A. 痰涂片镜检盲法复核
- B. 药敏熟练度测试
- C. 基因分型能力验证
- D. 分子检测能力验证

2. 2021指南中关于质量管理部分内容的正确描述包括 ()

- A. 各疾控和定点医疗机构实验室应逐步建立并运行完善的质量管理体系
- B. 建立针对结核病实验室检测项目的特异性质量指标
- C. 室间质评在原有痰涂片镜检的基础上, 增加了表型药敏实验室熟练度测试、针对分子生物学检测技术的能力验证等
- D. 应建立与使用与分子生物学技术相匹配的临床基因扩增实验室



The clock is ticking



《中国结核病

2021

3/24

世界防治结核病日

终结结核流行
自由健康呼吸



肺结核是
呼吸道传染病，
人人都有可能被感染。



勤开窗通风，
加强营养，适度运动，
提高身体抵抗力，
有助于预防肺结核。



不随地吐痰，
咳嗽、打喷嚏时
避开他人、掩住口鼻，
可减少肺结核传播。



国家卫生健康委员会疾病预防控制中心
中国健康教育中心 中国疾病预防控制中心