

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 227—2002

临床检验操作规程编写要求

**Requirement for the technical procedure
manual in clinical laboratory**

2002-04-20 发布

2002-07-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

为了使临床检验操作规程编写规范化,确保检验人员严格按规程进行常规操作,保证检验质量,特制定本标准。

本标准从 2002 年 7 月 1 日起实施。

本标准由卫生部医政司提出。

本标准的附录 A 是标准的附录。

本标准起草单位:上海市临床检验中心。

本标准主要起草人:冯仁丰、胡晓波。

本标准由卫生部委托卫生部临床检验中心负责解释。

中华人民共和国卫生行业标准

临床检验操作规程编写要求

WS/T 227—2002

Requirement for the technical procedure manual in clinical laboratory

1 范围

本标准规定了设计、制定和使用临床检验操作规程的基本要求。

本标准适用于各级各类医疗卫生单位编写临床检验操作规程,也适用于临床检验产品厂商编写产品使用方法说明。

2 总则

- 2.1 操作规程是检测系统的组成部分,是临床检验的技术档案。是保证检验结果准确可靠的必须内容。
- 2.2 操作规程应是指导检验人员正确操作的依据。但操作规程不能用来弥补检验方法设计上的缺陷。
- 2.3 操作规程必须含有质量管理内容,包括进行检验的说明,明确质量控制和纠正作用系统等。这些书面文件是临床检验操作规程的必须组成部分。
- 2.4 操作规程由主任或主管技术人员负责编写,编写内容含义必须明确(无疑义)、完整。要确保每个检验人员能理解,并严格按操作规程的精确说明进行操作。

3 操作规程的内容要求

每个检验项目都必须具有明确而完整的操作规程资料以及精确的叙述。应具备下列内容:

- 3.1 实验原理和/或检验目的(概述);可包括临床应用和/或实用性。
- 3.2 使用的标本种类和收集方法、病人准备要求、标本容器的要求、拒收标本的规定、标本处理方法、标本储存规定、标本外送规定等。
- 3.3 使用的试剂、校准品、控制品、培养基以及其他所需物品。所有材料都须写明厂商名、产品号、包装量、配制要求、使用和储存要求等。
- 3.4 使用的仪器厂商名、型号,本项目仪器使用具体要求和校准程序。
- 3.5 每步操作步骤,直至报告结果。
- 3.6 控制品使用水平和频率,允许限的纠正措施。
- 3.7 计算方法。
- 3.8 参考值范围。
- 3.9 操作性能的概要。如:精密度、病人结果可报告范围、方法学比较等。
- 3.10 对超出可报告范围的结果的处理。
- 3.11 对检验结果为病危报警值的处理。
- 3.12 方法局限性(如干扰物和/或注意事项)。
- 3.13 参考文献。
- 3.14 其他必须内容。

4 程式样和内容

根据实验室的大小和功能,操作规程的格式也应有不同。在小型(单一)实验室中,有一本包括所有内容的操作规程即可。在大型综合的、多部门的实验室,应有不同专业和内容的操作规程,分放于各个专业室组。整套汇集的操作规程存放于科室负责人或相应场所。

4.1 操作规程手册的式样应按实验室要求和结构来确定。但都须包括质量管理内容,以及汇集有关检验项目操作规程。每个规程须包括第3章中叙述的内容。规程手册可设计成活页本形式,便于补充和修改。

4.1.1 每个项目规程均应从第1页起,自成一册,便于更换。

4.1.2 尽可能使用图表或表格形式,便于查阅。

4.1.3 使用编号系统,便于查阅。

4.1.4 可做一些查阅卡、流程图、厂商产品索引等为规程附录,反映最新动态。

4.1.5 鼓励使用电脑编写规程,简化编辑和修订程序。

4.2 规程的使用对象

4.2.1 行政和业务主管人员依据规程具体要求,进行质量管理。规程也反映实验室开展检验技术水平。

4.2.2 熟练检验人员应随时对照操作规程,检查实际操作状况,保证检验质量。对出现的问题及时纠正。在进行不熟悉的项目检验时,按规程进行,实现无人指导完成不熟悉的检验。

4.2.3 新的检验人员和进修人员可从规程中学到详细内容,并严格按规程进行实际操作。

5 以产品说明书直接作为规程的要求

5.1 厂商一般都提供了详细的产品使用说明。但是实验室只有确实完全按照厂商要求,使用指定牌号和型号的仪器、指定的试剂、指定校准品(包括厂商和品种的一致)以及指定具体每一步操作步骤,而且定期对仪器做保养和校准,实验室才可直接采用厂商产品说明书作为自己的操作规程。

5.2 实验室对厂商规程要求有任何变动和修改的,则产品说明书不能直接作为实验室的操作规程。

5.3 直接引用的产品说明书必须是中文的使用说明,不可用外文说明。必须包括第3章中叙述的内容。

6 操作规程的格式要求

在实验室中各种类型、各个项目、各个操作方法的规程应确定统一格式。

6.1 每个项目、每个方法的操作规程的第1页页首,要注明:

6.1.1 操作规程项目名称。

6.1.2 操作规程的单位及部门。

6.1.3 文件编号。

6.1.4 版本。

6.1.5 页序和总页数。

6.1.6 批准实施日期。

6.1.7 规程有效期,以及复审计划。

6.1.8 规程分发部门和/或个人。

6.1.9 规程编写者、审批者,以及保管者。

6.1.10 规程修订记录。

6.2 在以后各页的眉首均有操作规程字样及文件编号,并印有横线。在每页的右下脚印有页序。

6.3 在定期复审或发现问题时,需要作部分修改的或更新的,应注明新确认的年月及版本。并由主任或主管签名认可。

7 操作规程的修改

7.1 在使用和复审中,需要对规程作修改或更新时,应有充分的实验资料证明确有修改的必要,并明确须修改的具体内容。

7.2 编写者完成修改后,由实验室主任审核,经审核同意,修改稿以新版本形式更换原有规程,并通知各有关部门。

7.3 实验室主任应将原版本和新版本规程,以及实验资料,合并为规程修改文件,另行保管备查。

附 录 A
(标准的附录)
检验操作规程示例

A1 例 1:血清总胆固醇(TC)测定

A1.1 第 1 页页首内容

血清总胆固醇(TC)测定(酶法,CHOD-PAP 法)

××医院检验科

操作规程文件号:CG ××××

第 3 版

共××页

1999 年 1 月 20 日起实施

本规程每 2 年复审一次

复审日期:××××年××月××日

复审人:×××(签名)

规程编写者:×××

审批者:×××

批准日期:1999 年 1 月 19 日

文件分发部门和/或个人:

医务科;保管者:×××(签名)

院长办公室;保管者:×××(签名)

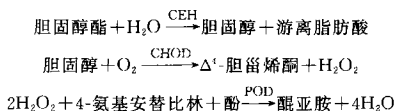
院档案室;保管者:×××(签名)

检验科;主任:×××(签名)

临床化学检验室:×××(签名)

A1.2 原理

血清中的胆固醇酯(CE)被胆固醇酯水解酶(CEH)水解成游离胆固醇(Chol),后者被胆固醇氧化酶(CHOD)氧化成 Δ^4 -胆甾烯酮,并产生过氧化氢,再经过氧化物酶(POD)催化 4-氨基安替比林与酚(三者合称 PAP),生成红色醌亚胺色素(Trinder 反应)。醌亚胺的最大吸收在 500 nm 左右,吸光度与标本中总胆固醇呈正比。反应式如下:



A1.3 标本采集与处理

对于血脂分析,特别需要强调“分析前”各个环节的质量管理。

A1.3.1 受检者(体检对象或病人)的准备:除总胆固醇不一定用空腹血外,测定甘油三酯、脂蛋白与载脂蛋白的病人必须空腹 12 h,不饮酒 24 h 后采集血样。对于体检对象抽血前应有 2 周时间保持平时的饮食习惯,近期内体重稳定,无急性病、外伤、手术等意外情况。妊娠后期各项血脂都会增高,应在产后或终止哺乳后 3 个月检验才能反映其基本血脂水平。注意有无应用影响血脂的药物,如降血脂药、避孕药、噻嗪类利尿剂、 β 受体阻滞剂、免疫抑制剂、某些降压剂、降糖药、胰岛素及其他激素制剂等,检验以前应根据所用药物的特性停止用药数天或数周,否则应记录用药情况。对体检对象及做前瞻性观察者,还应

注意采血的季节,因为血脂水平有季节性变动,为了前后比较应在每年同一季节检验。应嘱体检对象在抽血前 24 h 内不作剧烈运动。

A1.3.2 静脉采血:除非是卧床的病人,一般在采血时取坐位。体位影响水分在血管内外的分布,因此影响血脂水平。例如站立 5 min 可使血脂浓度提高 5%,15 min 提高 16%,故在采血前至少应静坐 5 min。一般从肘静脉取血,使用止血带的时间不超过 1 min,穿刺成功后立即松开止血带。静脉阻滞 5 min 可使甘油三酯增高 10%~15%。

A1.3.3 抗凝剂:我国多用血清作血脂检验。如用血浆,多主张用 EDTA_{Na₂}(1 mg/mL)抗凝。抗凝血浆中的总胆固醇和甘油三酯水平比血清中约低 3%,EDTA 用量越多,血浆水平偏低越明显。但肝素抗凝不影响血浆中水平。

A1.3.4 标本处理:标本应尽快送实验室。室温下放置 30 min~45 min 后离心分离血清或血浆。置洁净试管加盖保存。在室温中放置不超过 3 h,4℃ 保存可稳定 4 天。置 -70℃ 可长期保存,但不可反复冻融。

A1.4 试剂

A1.4.1 酶试剂:本科使用××公司××产品号试剂盒,为干粉试剂。临用前用水复溶即可使用。每瓶干粉用水×× mL 复溶。复溶后试剂内各主要成分如下:

磷酸盐缓冲液 pH7.7	0.4 mol/L
假单胞菌胆固醇酯水解酶	≥800 U/L
奴卡氏菌胆固醇氧化酶	≥400 U/L
辣根过氧化物酶	≥1 000 U/L
胆酸钠	3 mmol/L
4-氨基安替比林	0.5 mmol/L
酚	3.5 mmol/L
聚乙烯表面活性剂	3 g/L

A1.4.2 总胆固醇校准血清:也由××公司提供,产品号为××。

A1.4.3 试剂与校准血清的稳定性:未开瓶的试剂于 4℃ 保存,可稳定至有效期。复溶的试剂在 2℃~8℃ 可稳定 7 天,15℃~25℃ 可稳定 3 天。如在稳定期内试剂出现明显的粉红色,弃去不用。

A1.5 仪器

××型号光电比色计,具 500 nm~520 nm 滤光片。

A1.6 操作

标本为及时分离的空腹血清,以及肝素或 EDTA 抗凝血浆。本法为终点法。测定时标本管与标准管分别加入标本与校准血清各 10 μL,酶试剂 1.00 mL,混匀后在 37℃ 放置 5 min,或 20℃~25℃ 放置 10 min 后用比色计比色,以试剂空白调零,波长 500 nm 或 520 nm,颜色至少稳定 60 min。

A1.7 计算

$$C = \frac{A_{\text{测定}}}{A_{\text{标准}}} \times C_0 \quad \dots\dots\dots (A1)$$

式中: C——测定血清总胆固醇浓度,mmol/L;

$A_{\text{测定}}$ ——标本管吸光度;

$A_{\text{标准}}$ ——标准管吸光度;

C_0 ——校准血清中总胆固醇浓度,mmol/L。

A1.8 操作性

A1.8.1 精密度:批内 CV<1.5%,批间 CV<2.5%。

A1.8.2 准确度:以参考方法(ALBK 法)定值的血清为校准品时,本法测定结果与 ALBK 法基本一致。

A1.8.3 灵敏度:以酚为显色剂,总胆固醇为 5.2 mmol/L 时的显色吸光度 $A_{500\text{nm}}$ 约 0.30~0.35。

A1.8.4 可报告范围:血清与酶试剂用量之比为1:100时,测定上限为13 mmol/L。

A1.8.5 特异性:血清中多种非胆固醇甾醇会不同程度地与本试剂显色。一般人血清中非胆固醇甾醇约占胆固醇的1%,在常规测定时这种影响可以不计。

A1.8.6 干扰:血红蛋白高于2 g/L时会引起正干扰;胆红素 $>170 \mu\text{mol/L}$ 时有明显负干扰。抗坏血酸与甲基多巴血中浓度高于治疗水平时也使结果偏低。高甘油三酯血症(血清混浊)在本法中(血清与试剂量1:100时)一般无明显影响。

注

- 1 本法为中华医学会检验学会推荐的胆固醇测定常规方法(见中华医学检验杂志1995,18:185)。
- 2 试剂中两种酶胆固醇酯水解酶和胆固醇氧化酶的质量十分重要。必须能有效地水解各种脂肪酸的胆固醇酯(有些微生物来源的酯酶不易水解花生四烯酸酯),对胆固醇的氧化必须完全。选择试剂盒时应测试对血清标本胆固醇的反应速度,好的试剂一般能在5 min内(有的只要1 min~2 min)反应达到终点。反应不能在10 min内完成的试剂不宜采用,其原因可能是原酶质量不好或酶用量太少,后者可使高胆固醇结果偏低。本法所用试剂,要求标本与酶试剂用量的比例为1:100,使可报告范围上限达13 mmol/L,过多地提高标本比例,会使测定上限降低。如果标本中胆固醇浓度超过13 mmol/L,可用生理盐水稀释后重新测定。现在临床很少要求做游离胆固醇测定,如需做游离胆固醇测定,最简便的也是酶法,即在上述胆固醇试剂中省去酯水解酶。一般游离胆固醇约占胆固醇的30%左右。
- 3 胆固醇测定要求标准化,与国际标准取得一致,必须有准确可靠的标准参考物质(SRM)。
 - 1) 酶法测定胆固醇时,血清中大部分胆固醇是酯化的,而且血清基体对酶反应有明显影响,不可使用纯胆固醇溶液为标准。国际上由美国国家标准与技术研究院(NIST)提供代号为SRM909的人参血清,作为胆固醇测定的一级标准;我国也已建立了国家一级标准GBW 09138“人血清胆固醇标准物质”。常规使用的试剂盒必须具有可追溯到以上参考血清的校准血清,方能保证检验结果准确可靠。
 - 2) 不可使用胆固醇的定值控制品作标准。
 - 3) 本法使用的校准血清为液态,用前必须充分混匀。

A1.9 参考值

人群血脂水平主要决定于生活因素,特别是饮食营养,所以各地区调查所得参考值高低不一,应根据冠心病流行病学研究及临床经验统一制定胆固醇划分标准。欧美国家制定的标准大致相同,40岁以上人群胆固醇水平高低的划分大致可定为:

合适水平 $<5.17 \text{ mmol/L}$ (200 mg/dl);

边缘水平 $5.17 \text{ mmol/L} \sim 6.46 \text{ mmol/L}$ (201 mg/dl~219 mg/dl);

高胆固醇血症 $\geq 6.47 \text{ mmol/L}$ ($\geq 220 \text{ mg/dl}$)。

A1.10 临床意义

影响胆固醇水平的因素有:

A1.10.1 年龄与性别。胆固醇水平往往随年龄上升,但到70岁或80岁后有所下降,中青年期女性低于男性,50岁以后女性高于男性;

A1.10.2 长期高胆固醇、高饱和脂肪酸和高热量饮食可使胆固醇增高;

A1.10.3 遗传因素;

A1.10.4 其他。如缺少运动、脑力劳动、精神紧张等可使胆固醇升高。

高胆固醇血症是冠心病的主要危险因素之一。病理状态下胆固醇有原发与继发的两类。原发的如家族性高胆固醇血症(低密度脂蛋白受体缺陷)、家族性apo-B缺陷症、多源性(polygenic)高胆固醇、混合性高脂蛋白血症。继发的见于肾病综合征、甲状腺功能减退、糖尿病、妊娠等。

低胆固醇血症也有原发的与继发的,前者如家族性的无 β 或低脂蛋白血症;后者如甲亢、营养不良、慢性消耗性疾病等。低胆固醇者容易发生脑出血,也可能易患癌症(未证实)。肝脏是胆固醇及卵磷脂胆固醇酰基转移酶(LCAT)合成的器官,严重肝病病人血清总胆固醇不一定很低,但由于血清卵磷脂胆固醇酰基转移酶活力低下,血清胆固醇酯占胆固醇的比例可高达50%以下。

A1.11 参考文献

中华人民共和国卫生部医政司编. 全国临床检验操作规程(第二版). 南京:东南大学出版社,1997. 268

A2 例 2: C 反应蛋白测定

A2.1 第 1 页页首内容

C 反应蛋白测定(散射比浊法)

××医院检验科

操作规程文件号:CG××××

第 1 版

共××页

2000 年 9 月 16 日起实施

本规程每 2 年复审一次

复审日期:××××年××月××日

复审人:×××(签名)

规程编写者:×××,×××

审批者:×××

批准日期:2000 年 9 月 10 日

文件分发部门和/或个人:

医务科;保管者:×××(签名)

院长办公室;保管者:×××(签名)

院档案室;保管者:×××(签名)

检验科;主任:×××(签名)

免疫检验室:×××(签名)

A2.2 原理

用抗人 C 反应蛋白抗体和样品中 C 反应蛋白作用,形成抗原-抗体复合物使光散射增加。检测散射光变化速率峰值反映样品中 C 反应蛋白量。本检验科使用××公司的××型号特定蛋白测定仪及其公司提供的配套试剂、校准品等进行 C 反应蛋白测定。

A2.3 标本要求

A2.3.1 使用新鲜血清,不使用血浆。

A2.3.2 在采集血液后的 2 h 内分离血清。并置于具塞试管中。

A2.3.3 8 h 内不及时测定的血清可存放于 2 C~8 C 冰箱保存。3 天后测定的血清置-15 C~-20 C 冰冻保存。但冰冻血清只能做一次复融。反复冻融会使测定结果下降。

A2.3.4 严重溶血或脂血的标本不能作测定。

A2.4 试剂

A2.4.1 每个试剂均购自××公司。

1) C 反应蛋白抗体(公司试剂盒代号 P/N ××)。每个抗体试剂瓶内含已处理过的山羊抗血清 5.0 mL,叠氮钠为 0.1%(W/W)。

2) ××系统专用稀释液(公司试剂盒代号 P/N ××)。

3) C 反应蛋白校准品(公司试剂盒代号 P/N ××)。

4) 缓冲液(代号 P/N ×××)。

5) 至少用 2 个水平的控制品。

A2.4.2 试剂准备

从冰箱中取出试剂,立即可用。在上机前,须将缓冲液及稀释液颠倒彻底混匀。

A2.4.3 试剂性能可接受性

按测定项目资料手册中质量控制章节所规定内容进行质量控制。结果必须在实验室规定的可接受范围内。

A2.4.4 超过失效期的试剂不可使用。

A2.5 仪器和校准

A2.5.1 使用××公司的××型号特定蛋白分析仪。

A2.5.2 将校准品在室温中平衡后,按仪器要求上机校准。

A2.6 操作步骤

A2.6.1 校准步骤

1) 在仪器的主显示菜单上按[F5]键做系统设置。按[F1]键做项目设置,在显示信息中确定抗体盘上本项目位置。按[F1]键修正盘设置,回到主显示菜单。

2) 按[F2]键进入校准状态,选择相应项目。按[F1]键要仪器阅读抗体卡资料,并插入C反应蛋白抗体卡。按[F2]键进入校准品盘设定,确认校准品所在位置。按[F2]键要仪器阅读校准品卡,并插入相应校准品卡。阅读后,按[F1]键。

3) 将C反应蛋白校准品 200 μL 加于样品盘的指定位置,另外将校准品 5 约 400 μL 也加于相应位置,按开始键,启动校准。完成校准后,按[F4]键确认。

A2.6.2 样品操作步骤

1) 在主显示菜单上按[F1]键进入样品测定程序。

2) 在各种样品杯确认后,若只做C反应蛋白测定。放置测定样品或控制品 200 μL 置于样品盘内。若同时做类风湿因子,抗“O”,则需样品 400 μL 。这些样品足够做双份测定。

3) 若做样品预稀释,用缓冲液对样品做 1:6 稀释后,将稀释样品 250 μL 置于样品盘内。

(注:请参见××型仪器操作手册,了解使用原始管和微量管)

A2.7 质量控制

每批测定都使用××公司控制品做质量控制。请参见××型系统项目手册附录本规程要求,每月天间 CV 不超过 4%。

A2.8 计算

系统会自动地计算出结果。

A2.9 参考值

××公司 CRP 测定以 IFCC 推荐的欧洲共同体参考局的 CRM 470 特定蛋白参考血清为标准。使 CRP 测定在国际上具有良好的可比性。

本法的 99% 参考上限为 9 mg/L。

A2.10 操作性能

A2.10.1 本法的 C 反应蛋白可报告范围为 4 mg/L~120 mg/L,若使用 1:6 稀释样品上限可达 720 mg/L。

A2.10.2 精密度

批内 $n=20$

低浓度: $x=17.8 \text{ mg/L}$ $S=0.7 \text{ mg/L}$ $CV=3.68\%$

中浓度: $x=56.7 \text{ mg/L}$ $S=1.1 \text{ mg/L}$ $CV=2.02\%$

高浓度: $x=79.4 \text{ mg/L}$ $S=0.9 \text{ mg/L}$ $CV=1.13\%$

天间(每天作 2 批,共 10 天) $n=20$

低浓度: $x=7.4 \text{ mg/L}$ $S=0.28 \text{ mg/L}$ $CV=3.89\%$

中浓度: $x=51.4 \text{ mg/L}$ $S=1.4 \text{ mg/L}$ $CV=2.72\%$

高浓度: $x=90.8 \text{ mg/L}$ $S=2.7 \text{ mg/L}$ $CV=3.03\%$

A2.10.3 准确度

与胶乳散射(LNA)法及放射免疫扩散法(RID)比较,对正常和不正常 CRP 浓度血清作对比:

与 LNA 法比较: $n=100, y=1.08x+3.9, r=0.99$

与 RID 法比较: $n=100, y=1.10x+5.2, r=0.99$

A2.11 参考文献

Array Systems, Chemistry Information Manual. Beckman Instruction 015 249712 AB. Jan 1996.
Beckman Instruments, Inc. Brea, CA 92621—6209. U. S. A.
