



CNAS-CL01-A001

**检测和校准实验室能力认可准则
在微生物检测领域的应用说明**

Guidance on the application of testing and calibration
laboratory competence accreditation criteria in the field of
microbiological testing

中国合格评定国家认可委员会

前 言

本文件由中国合格评定国家认可委员会（CNAS）制定，是CNAS根据微生物检测领域的特性而对CNAS-CL01:2018《检测和校准实验室能力认可准则》所作的进一步说明，并不增加或减少该准则的要求。

本文件与CNAS-CL01:2018《检测和校准实验室能力认可准则》同时使用。

在结构编排上，本文件章、节的条款号和条款名称均采用CNAS-CL01:2018中章、节的条款号和条款名称，对CNAS-CL09:2013应用说明的具体内容在对应条款后给出。

本文件代替：CNAS-CL09:2013。

相对于CNAS-CL09:2013，本文件除编辑性修订外，主要内容变化为：

——5.5.2条将质量手册中应规定生物安全责任人的作用和职责，改为实验室应规定的作用和职责；

——6.6.2c)将关键培养基和自制培养基技术验收合并在一个条款中改为“对检测结果有影响的培养基和试剂应进行技术验收：”然后分条款描述；

——7.3.1去掉了“取样应由经过培训合格的人员进行”。

本文件所代替文件的历次版本发布情况为：

——CNAS-CL09：2006；

——CNAS-CL09：2013。

检测和校准实验室能力认可准则在微生物检测领域的应用说明

1 范围

本文件适用于食品及其相关产品、化妆品、环境样品、玩具、医药、纺织品、卫生用品、消毒产品等微生物检测领域实验室的认可活动。微生物检测领域包括对样品中微生物进行的定性分析或定量检测。微生物专业中涉及的病毒检验、基因扩增检验等应符合相关专业的要求。

2 规范性引用文件

3 术语和定义

4 通用要求

4.2 保密性

4.2.2 适用时，当样品中检出致病菌（包括客户要求以外的致病菌）时应及时通知客户，必要时上报相关的主管部门。

5 结构要求

5.4.1 开展动物试验的机构，应当取得省级以上实验动物管理部门颁发的《实验动物使用许可证》。涉及生物安全实验室，应符合相应国家、行业、地方的标准和规定等。

5.4.2 在本实验室固定设施以外场所，如在临时实验室、移动实验室、抽样现场或野外现场进行检测和抽取样品，都必须在适当的技术控制和有效监督下进行。需要时，可在提供检测结果的上述场所设授权签字人，且应保留其所有相应活动的记录。

5.5.1 实验室应设置生物安全负责人和生物安全监督员，负责生物安全。

5.5.2 实验室应规定生物安全负责人的作用和职责。

5.5.3 实验室技术管理者中应至少包括一名在申请认可或已获认可的微生物检测范围内具有微生物专业或与微生物密切相关的本科以上学历和三年以上微生物检测的工作经历的成员；负责指导或培训检验人员常规微生物实验。

6 资源要求

6.2 人员

6.2.2.1 适用时，食品生产区抽样人员应独立于实验室的微生物检测活动，以防止交叉污染。

6.2.2.2 如实验室使用的高压蒸汽灭菌器不属于简单压力容器（定义参见 TSG R0003-2007《简单压力容器安全技术监察规程》）时，操作人员需持有特种作业人员证书。

6.2.2.3 实验室从事微生物检测的关键检测人员应至少具有微生物或相关专业专科以上的学历，或者具有 10 年以上微生物检测工作经历。授权签字人应具有相关专业本科以上学历，并具有 3 年以上相关技术工作经历，如果不具备上述条件，应具有相关专业专科以上的学历和至少 10 年的微生物相关领域检测工作经历。

6.2.2.4 实验室人员应熟悉生物检测安全操作知识和消毒灭菌知识。

6.2.3 实验室选用检测人员时,应考虑有颜色视觉障碍的人员不能执行某些涉及到辨色的试验。

6.2.5 c) 实验室应制定人员培训和继续教育计划,包括常规微生物检测、无菌操作、生物防护、生物安全柜维护等方面知识的专门培训,掌握相关的知识和专业技能。

6.2.5 f) 实验室可通过内部质量控制、能力验证或使用实验室间比对等方式评估检测人员的能力和确认其资格。新上岗人员以及间隔一定时间重新上岗的人员需要重新评估。当检测人员或授权签字人职责变更或离开岗位 6 个月以上再上岗,应重新考核确认。

6.3 设施和环境条件

6.3.1.1 实验室的建设、总体布局和设施应能满足从事检验工作的需要,并以能获得可靠的检测结果为重要依据,且符合所开展微生物检测活动生物安全等级的要求。

6.3.1.2 实验室与食品等生产区应有相应的物理隔断,确保实验室和生产区不能有交叉污染。

6.3.2 对影响检测结果或涉及生物安全的设施和环境条件的技术要求应制定成文件。

6.3.3.1 对需要在洁净条件下工作的区域,实验室应能有效地监控和记录环境条件。当条件不满足检测方法要求或者可能影响到检测的结果时,应停止检测。

6.3.3.2 对需要使用的无菌工器具和器皿应能正确实施灭菌;无菌工器具和器皿应有明显标识以与非无菌工器具和器皿加以区别。

6.3.4 a) 不同的功能区域应有清楚的标识。实验室应正确使用与检测活动生物安全等级相对应的生物危害标识。实验室应对授权进入的人员采取严格控制,并明确以下内容:

- 1) 特殊区域的特定用途;
- 2) 特殊工作区域的限制措施;
- 3) 采取这些限制措施的原因;

6.3.4 b) 实验室总体布局应减少和避免潜在的污染和生物危害,即实验室布局设计宜遵循“单方向工作流程”原则,防止潜在的交叉污染。

1) 适用时,应限定在某个工作区域专门使用的物品如防护服、移液器、离心管等。

2) 检测样品中的霉菌时,要有适当的措施控制孢子在空气中的扩散。

3) 实验室应有妥善处理废弃样品和废弃物(包括废弃培养物)的设施和制度。

4) 实验室应配备满足要求的生物安全柜。

5) 进入实验室要穿工作服,不允许穿着工作服到实验室以外的地方。

6.3.4 c) 办公室应与实验室有效隔离。实验室间应有有效的隔离,有措施防止交叉污染。

6.4 设备

6.4.1.1 实验室应配备满足检测工作要求的仪器设备,如培养箱、水浴锅、冰箱(如

菌种用冰箱、冷冻样品缓化用的冰箱、试剂用的冰箱等)、均质器、显微镜等。其中培养箱的配置应考虑到用途、控温范围、控制精度和数量的要求。

6.4.1.2 实验室必须保存有满足试验需要的标准菌种/菌株(标准培养物),除检测方法(如药物敏感试验、抗菌性能测试)中规定的菌种外,还应包括应用于培养基(试剂)验收/质量控制、方法确认/证实、阳性对照、阴性对照、人员培训考核和结果质量的保证等所需的菌株。

a) 标准菌种必须从认可的菌种或标本收集途径获得。

b) 实验室应有文件化的程序管理标准菌种(原始标准菌种、标准储备菌株和工作菌株),涵盖菌种申购、保管、领用、使用、传代、存储等诸方面,确保溯源性和稳定性。该程序应包括:

1. 保存菌株应制备成储备菌株和工作菌株。标准储备菌株应在规定的时间转种传代,并做确认试验,包括存活性、纯度、实验室中所需要的关键特征指标,实验室必须加以记录并予以保存。

2. 每一支标准菌种都应以适当的标签、标记或其它标识方式来表示其名称、菌种号、接种日期和所传代数。

3. 记录中还应包括(但不限于)以下内容:

——从原始菌种传代到工作用菌种的代数;

——菌种生长的培养基及孵育条件;

——菌种生存条件。

6.4.1.3 对实验室自制的培养基即实验室制备各别成分培养基,实验室应有培养基质量控制程序。该程序包括培养基的性能测试、实验室内部的配制规范等,以监控基础材料的质量,目的是保证培养基验收合格,确保不同时期制备的培养基性能的一致性和符合检测的要求。

6.4.3.1 所有的标准菌种从原始标准菌种到储备菌株和工作菌株传代培养次数原则上不得超过 5 次,除非标准方法中有明确要求,或实验室能够证明其相关特性没有改变。

6.4.3.2 实验室应有程序和措施以保证标准菌种/菌株的安全,防止污染、丢失或损坏,确保其完整性。

6.4.3.3 对设备的维护要考虑生物安全,避免生物危害和交叉污染。

6.4.5 用于检测和抽样的设备及其软件应达到要求的准确度,并符合检测和相应的规范要求。

6.4.6 对结果有重要影响的仪器的关键量或值,如培养箱温度及其均匀性和稳定性等指标要求,应纳入设备的校准/检定计划;

6.4.10 如果温度直接影响分析结果或对设备的正确性能来说是至关重要的,实验室应监控这类设备(如培养箱)的运行温度,并保存记录。

6.4.11 保证校准/检定设备的修正因子/误差得到及时更新和正确使用。并对校准/检定证书进行确认,以证实其能够满足实验室的规范要求和相应的标准规范。

6.4.13 c) 应定期使用生物指示物检查灭菌设备的效果并记录,指示物应放在不易达到灭菌的部位。日常监控可以采用物理或化学方式进行。

6.6 外部提供的产品和服务

6.6.1 实验室可以把一个检测项目中的部分内容委托其他实验室完成,但如果这部分内容是该项目不可分割的部分,即实验室不具备该检测项目的完整技术能力,则该项目不予认可。

6.6.2 a) 实验室应建立和保持有效的适合试验范围的培养基(试剂)验收程序。该程序包括对即用型培养基、商品化脱水合成培养基(包括完全培养基和需添加补充物的基础培养基)进行评估的方式和储存的规定、拒收的标准等。

6.6.2 c) 对检测结果有影响的培养基和试剂应进行技术验收:

1) 对于关键培养基和试剂,要求进行技术性验收,可参考 ISO/TS 11133 或 SN/T1538《培养基制备指南》。当有足够数据证明其可信性时,验收的技术性指标可以减少。实验室不得使用不符合要求的培养基和试剂。实验室应有关键培养基(试剂)的批号、入库日期、开启日期等的记录。

2) 针对即用型培养基、商品化脱水合成培养基,对每批培养基除用标准菌株进行测试验收,适用时,用人工污染实际样品进行检测,以更好地验证培养基的适用性;含有指示剂或选择剂的培养基,应使用能证明其指示或选择作用的菌株进行试验。

6.6.3 a) 实验室应保留生产厂商提供的培养基质量测试报告。要求厂商在培养基任何配方的改变时应及时告知实验室。

7 过程要求

7.1 要求、标书和合同的评审

7.1.7 a) 在客户或其代表合理进入实验室的相关区域观察为其开展的检测时,实验室应严格按照相关管理规定,确保对检测环境和检测结果没有造成影响,并确保观察人员的安全。

7.2 方法的选择、验证和确认

7.2.1 方法的选择和验证

7.2.1.3 a) 适用时,至少每两个月在国家卫生和计划生育委员会网站上对食品安全国家标准微生物检测方法进行方法查新。

7.2.1.3 b) 当有几种方法可供选择,或标准化方法提供多种可选程序时,实验室应有相应的选择规定。

7.2.1.5 标准方法在引入检测之前,实验室应证实能够正确地运用这些方法。在进行方法证实时,样品的选择最好采用自然污染样品或人为添加目标微生物的样品进行方法证实试验。

7.2.2 方法确认

7.2.2.1 微生物检验非标方法的确认,可以参照 AS/NZS 4659、AOAC INTERNATIONAL Methods Committee Guidelines for Validation of Qualitative and

Quantitative Food Microbiological Official Methods of Analysis 、ISO16140 或 SN/T 3266-2012。

7.3 抽样

7.3.1 对于有完整包装的样品，尽可能整件抽取，减少操作过程，避免污染。对于无完整包装或需要打开包装抽取的样品，要求无菌取样，监控并记录需要控制的因素包括相关的环境条件如采样时间、采样点的环境状况等。

7.3.3 运输和储存应在一定的条件下（如合适的冷藏或冰冻），以保持样品的完整。监测条件并保存记录。如果条件合适，应有从取样到送达检测实验室的运输和储存的详细的责任档案。样品的检测要尽可能在取样之后及时进行，并且要符合相关标准。

7.4 检测和校准物品的处置

7.4.1 致病菌检测项目的结果报告发出后，方能处理剩余的微生物样品，并满足实验室对样品保存的规定要求。检出致病菌的样品以及疑似病原微生物污染的样品应经过无害化处理。

7.4.2 建立样品的标识系统，确保样品在传递过程中不会对测试结果造成影响、不会混淆和误用，保护样品的完整性及实验室与客户的利益。样品标识系统中应包括样品检测过程中涉及的增菌液和培养皿等的标识规定，确保在容器上和培养皿上等的标记要安全可见并可追溯。

7.4.3 样品储存和运输过程中诸如温度、持续时间等因素对微生物定量检测的结果会有影响，实验室应核查并记录所接受样品的状态。

7.4.4 样品贮存设备应足够保存所有的试验样本，并具备保持样本完整性和不会改变其性状的条件。在试验样本需要低温保存时，冷冻冷藏设备必须有足够的容量和满足样本保存所要求的条件。剩余的微生物样品不宜存放在食品加工车间冷库中。

7.5 技术记录

7.5.1 针对自制的培养基除有性能测试记录外，要求各种自制培养基（试剂）的准备细节都要有记录，内容可包括：

- 培养基名称；
- 培养基外观特性；
- 配制日期和配制人员的标识；
- 培养基/溶液的类型、体积；
- 分装的体积（作为稀释液或其他原因要对体积进行控制）；
- 灭菌后体积（作为稀释液或其他原因要对体积进行控制）；
- 成分名称、每个成分物质的含量、制造商、批号；
- pH（最初和最终）值；
- 灭菌措施，包括方式、设备、时间和温度等。

7.6 测量不确定度的评定

7.6.3 在微生物检测领域，某些情况下，一些检测无法从计量学和统计学角度对测量

不确定度进行有效而严格的评估，这时至少应通过分析方法，考虑它们对于检测结果的重要性，列出各主要的不确定度分量，并作出合理的评估。有时在重复性和再现性数据的基础上估算不确定度也是合适的。

7.7 确保结果的有效性

7.7.1 实验室应制订质量控制计划，对内部质量控制活动的实施内容、方式、责任人作出明确的规定；对内部质量控制活动，计划中还应给出结果评价依据。质量控制计划应尽可能覆盖实验室的所有检测项目和所有检测人员。

7.7.1 a) 针对微生物定量检测项目，应定期使用有证标准物质/标准样品（如菌落总数标准物质、大肠菌群标准物质等）进行监控，或使用质控样品开展内部质量控制活动。针对微生物定性检测项目，应定期使用标准物质/标准样品、质控样品或用标准菌种人工污染的样品开展内部质量控制。实验室应根据工作量、人员水平、能力验证结果、外部评审等情况对定期做出明确规定，如：定量检测项目 6 次/年，定性检测项目 4 次/年等。

7.7.1 f) 在实施人员比对、设备比对和方法比对时，要选取均匀性和稳定性符合要求的样品进行。

7.8 结果报告

7.8.3.1 e) 如样品的有关信息或附加信息为委托方提供的，应在报告中注明。

7.10 不符合工作

7.10.1 实验室应有生物安全事故（包括生物危险物质溢洒）的处理程序。

7.10.1 c) 生物安全事故要立即进行处置，并评价是否对人员、环境、设施和客户等造成危害，是否对检测结果和客户造成影响。

8 管理体系要求

8.2 管理体系文件（方式 A）

8.2.1 实验室应制定生物安全规章制度，确保生物安全。

8.3 管理体系文件的控制（方式 A）

8.3.2 适用时，文件控制程序应包括基于生物安全考虑的现场文件的管理。

8.4 记录控制（方式 A）

8.4.1 适用时，记录的管理应包括基于生物安全考虑的质量/技术记录。

8.4.2 微生物实验室应列明可能存在的危险因子的清单，以便在意外事故发生后能将详细信息及时提供给医生。

8.5 应对风险和机遇的措施（方式 A）

8.5.2 应有在培养基的配制过程中避免接触性和吸入性危害的措施。

8.8 内部审核（方式 A）

8.8.1 内部审核应涵盖实验室生物安全的内容。

8.9 管理评审（方式 A）

8.9.2 评审应考虑到生物安全规章制度的执行情况。

