



CNAS-GL029

基因扩增领域检测实验室认可指南

Guidance on the accreditation in gene amplification testing
laboratory

中国合格评定国家认可委员会

前 言

本文件是对CNAS-CL01-A024:2018《检测和校准实验室能力认可准则在基因扩增检测领域的应用说明》的解释和说明，并不增加其他的要求。

本文件代替：CNAS-GL42:2016。

相对于CNAS-GL42:2016，本文件除编辑性修订外，主要内容变化为：

1) 结构框架进行了调整。

本文件所代替文件的历次版本发布情况为：

——CNAS-GL42:2016。

基因扩增领域检测实验室认可指南

1 范围

本指南旨在促进基因扩增领域检测实验室对认可技术的理解与执行。适用于申请认可的基因扩增检测实验室建立质量管理体系，已经认可的基因扩增检测实验室规范其质量和技术活动，也可供 CNAS 评审员在基因扩增检测实验室认可评审过程中参考使用。

2 规范性引用文件

GB/T 6682 《分析实验室用水规格和试验方法》

GB/T 20001.4 《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准》

4 通用要求

4.2 保密性

4.2.1 实验室有责任和义务保护本国的物种信息资源和基因资源，包括动物、植物和微生物等物种资源。

适用时，实验室应在保护客户的机密信息和所有权的政策和程序中体现医学伦理，在采集、接受样本及结果报告期间均应充分保护客户隐私。

6 资源要求

6.3 设施和环境条件

6.3.4 b) 实验室总体布局和各部位的安排应减少潜在的对样本的污染和对人员的危害，原则上应设分隔开的工作区域，包括（但不限于）：

a) 试剂配制与贮存区

用于试剂的配制和贮存（包括商业化的试剂），所有试剂的配制与分装。

b) 核酸提取区

用于样品的前处理，核酸的提取、纯化与贮存，核酸提取质量检查等。样品前处理所用器皿应经过彻底清洗和高压消毒处理，并单独使用。用过的器皿应采取措施消除核酸的污染，否则不可重复使用。

进行RNA检测的实验室，在此区域内应有专门的RNA操作区。

c) 核酸扩增区

用于扩增反应体系的配制和模板的加入，核酸扩增。

d) 扩增产物分析区

用于扩增产物的检测和确认。若实验室仅采用全自动扩增检测仪（如实时荧光定量PCR仪），可将核酸扩增区与扩增产物分析区合并为一个区。

适用时，各分隔的工作区域设置缓冲间，缓冲间的压力为负压，与其相连的工作间为正压，工作间与缓冲间之间宜安装磁性连锁装置。未设置缓冲间的工作区域的压力设计一般遵循试剂配制与贮存区为正压，其它三个工作区域为负压或减压的原则。

实验室管理者应确保由经过培训合格的人员使用适当的个人防护装备和设备处理危险废弃物或委托具有资质的专业机构统一处理。污染物的最终弃置应符合国家（国际）环境或健康安全规则。

6.4 设备

6.4.3 基因扩增检测实验室每个工作区域都应配备专用的仪器设备，并有明确标识，避免不同区域内的设备物品（如微量移液器）发生混淆或误用。建议各工作区内配备可移动紫外灯对工作台面、地面等进行消毒。

6.5 计量溯源性

6.5.3 当使用无证标准物质（包括克隆目的基因的阳性质粒、阳性核酸参考物质）不能进行溯源时，实验室应尽量利用生产厂商提供的有效证明，进行验证试验或比对试验，以确认其有效浓度。

6.6 外部提供的产品和服务

6.6.2 c) 分析过程所有实验仅用不含 DNA 酶和 RNA 酶的分析纯或生化试剂，所用的水应符合 GB/T 6682 一级水的要求。适用时，自制试剂使用前应高压灭菌，不宜高压灭菌的试剂应使用超滤设备（孔径 0.22 μ m）除菌。

7 过程要求

7.1 要求、标书和合同的评审

7.1.1 c) 评审的内容应包括被实验室分包出去的任何工作，如基因测序工作等。

7.1.6 当核酸提取或基因扩增无法完时，应向客户做出说明。

注：测试样品过度加工、测试核酸样品含量不足或降解等原因，可能导致基因扩增无法进行。

7.2 方法的选择、验证和确认

7.2.1.6 当实验室采用从知名的技术组织或有关科学书籍和期刊公布的，或由设备制造商指定的方法，实验室应制定相应的非标方法，并进行方法确认。

非标方法的制定应满足 GB/T 20001.4 的要求，方法中至少应包含下列信息：

- a) 方法的适用范围；
- b) 被检测样品类型的描述和处理；
- c) 所需基因扩增的仪器和设备，包括技术性要求；
- d) 试剂和材料，包括所需的标准物质；
- e) 基因扩增方法的描述（包括引物、探针的序列信息）；
- f) 质量控制方法的描述（如检测对照的设置及结果分析）；
- g) 结果判定和表述；
- h) 方法的检测限。

7.2.2.1 方法的确认

实验室制定的非标准方法在引入检测前应进行方法确认。确认方法可采用实验室内及实验室间的比对试验。基因扩增非标准方法的确认技术指标至少应包括以下几个方面：

- a) 灵敏度。可通过量化样品中被分析物的最小检测量来评估；
- b) 特异性。可通过分析相关基因进行评估，主要考虑方法的选择性、排他性和涵盖性；
- c) 重复性。可通过同一实验室在相同条件下的组内重复和组间重复来评估。
- d) 再现性。至少需要3个实验室测试同一组样品来评估。

实验室应记录确认过程中所使用的程序、所获得的结果，并对该方法是否适合预期用途作出评价。

7.4 检测和校准物品的处置

7.4.1 可采取（但不限于）以下措施降低实验样品对结果的影响：

- a) 器材专用，实现实验样品在试验室工作区间的单向流动；
- b) 做好技术人员的自身防护，如使用个人防护装备，包括作业服、鞋套、手套、口罩和发罩，尽可能一次性使用，并根据具体情况及时更换；
- c) 做好设备、设施的定期清理和消毒；
- d) 具备实验区的外部屏障，能有效阻止无关人员未经许可进入实验区；
- e) 各功能区的空调、换气系统独立，进气与排气通道不混用。

7.5 技术记录

7.5.1 适用时，基因扩增检测中应包括以下技术记录信息：

- a) 样品的性状描述；
- b) 样品制备方法和使用的设备；
- c) 中间样品的标识；
- d) 检测方法的选择和验证；
- e) 检测对照的设置；
- f) 统计分析方法。

7.6 测量不确定度的评定

7.6.1 必要时，实验室应对基因扩增检测结果进行测量不确定度评定，找出不确定度的所有分量且做出合理评定（如，样品质量、引物及探针的质量、目标序列长度、检测方法及仪器等）。

7.7 确保结果的有效性

7.7.1 a) 基于基因扩增检测方法结果的可靠性，每个基因扩增检测步骤均应设置阳性质控对照、阴性质控对照和空白质控对照，当一种对照达不到预期结果时，以一定的时间间隔加入其它对照方法。

适用时，阳性对照可包括阳性提取对照、阳性目标序列对照、弱阳性目标序列对照、抑制反应阳性对照、方法阳性对照和基质添加；阴性对照可包括实验室环境对照、核酸提取空白对照、基因扩增试剂对照、阴性目标序列对照和方法空白对照。

附录A (资料性附录)

基因扩增领域检测实验室质量控制标准 (部分) 列表

标准号	标准名称
GB 19489-2008	实验室生物安全通用要求
GB/T 27025-2008	检测和校准实验室能力的通用要求
GB/T 19495.1-2004	转基因产品检测 通用要求和定义
GB/T 19495.2-2004	转基因产品检测 实验室技术要求
GB/T 19495.3-2004	转基因产品检测 核酸提取纯化方法
GB/T 19495.4-2004	转基因产品检测 核酸定性 PCR 检测方法
GB/T 19495.5-2004	转基因产品检测 核酸定量 PCR 检测方法
GB/T 19495.6-2004	转基因产品检测 基因芯片检测方法
GB/T 19495.7-2004	转基因产品检测 抽样和制样方法
GB/T 19495.8-2004	转基因产品检测 蛋白质检测方法
GB/T 27403-2008	实验室质量控制规范 食品分子生物学检测
SN/T 2102.1-2008	食源性病原体 PCR 检测技术规范 第 1 部分: 通用要求和定义
SN/T 2102.2-2008	食源性病原体 PCR 检测技术规范 第 2 部分: PCR 仪性能试验要求
SN/T 2102.3-2008	食源性病原体 PCR 检测技术规范 第 3 部分: 定性检测方法样品制备要求
SN/T 2102.4-2008	食源性病原体 PCR 检测技术规范 第 4 部分: 定性检测方法扩增和检测要求
SN/T 2965-2011	植物病原真菌分子生物学检测规范
SN/T 2964-2011	植物病毒检测规范
SN/T 3767.1-2014	出口食品中转基因成分环介导等温扩增 (LAMP) 检测方法 第 1 部分: 通用要求和定义
SN/T 1194-2014	植物及其产品转基因成分检测抽样和制样方法
NY/T 672-2003	转基因植物及其产品检测 通用要求
农业部 2259 号公告 -13-2015	转基因植物试验安全控制措施 第 1 部分: 通用要求
农业部 2259 号公告 -19-2015	转基因生物良好实验室操作规范 第 1 部分: 分子特征检测
农业部 2259 号公告 -5-2015	转基因植物及其产品成分检测 实时荧光定量 PCR 方法制定指南
农业部 2259 号公告 -4-2015	转基因植物及其产品成分检测 定性 PCR 方法制定指南
卫办医政发 (2010) 194 号	医疗机构临床基因扩增管理办法