**CNAS-CLXX**

**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**

**Guidance on the Application of Testing and Calibration**

**Laboratory Competence Accreditation Criteria**

**in the Field of Gene Amplification Testing**

中国合格评定国家认可委员会

**前 言**

本文件是中国合格评定国家认可委员会（英文缩写：CNAS）根据基因扩增检测领域的特性而对CNAS-CL01：2006《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。

本文件需与CNAS-CL01：2006《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-CL01:2006中章、节的条款号和条款名称，对CNAS-CL01:2006应用说明的具体内容在对应条款后给出。

实验室需注意：符合本应用说明并不意味着满足所有检测标准的要求。实施检测时,个别检测标准可能还有某些特殊要求。

**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**

**1 范围**

1.2 本应用说明适用于从事基因扩增检测领域实验室的认可活动，本应用说明中的基因扩增方法主要用于转基因检测、动植物源性成分鉴定、过敏原检测、物种分子鉴定、功能基因检测等，该领域涉及植物学、动物学、微生物学、病毒学、人类学、古生物学、藻类学、昆虫学等。

1.5各个专业领域如果有相应的法律法规和/或相应的资质要求等，不包含在本应用说明中。

注：如司法鉴定对实验室资质的要求等。

**2 引用标准**

**3 术语和定义**

基因扩增（gene amplification）：

通过生物体外试验的方法，为一特定的基因的拷贝数选择性地增加而其它基因并未按比例增加的过程（仅适用本应用说明，不包括自然基因扩增），即以扩增检测DNA或RNA为方法的检测技术。

**4 管理要求**

4.1 组织

4.1.2实验室不得从事法律禁止的活动，包括不允许发布在国家法律法规禁止范围内的检测结果，有责任和义务保护本国的物种信息资源和基因资源。

4.1.5 c）应确保样本及其相关的遗传信息不被用于鉴定及客户的委托以外的其他目的。

4.1.5 h) 实验室技术管理者中应至少包括一名具有丰富的基因扩增检测经验和相关知识的人员，应具有分子生物学专业或与所从事检测专业范围密切相关（以下简称分子生物学及相关专业）的本科以上学历和五年以上分子生物学检测的工作经历。

4.2 管理体系

4.2.1 针对基因扩增检测领域的基础性和前瞻性，应建立与其活动范围相适应的管理体系。

4.3 文件控制

4.3.3.4 应制定程序来描述如何更改和控制保存在计算机系统中的文件，尤其是结果的处理软件。

注：在科学研究领域，大量的数据是通过计算机来采集、并通过计算机软件来处理、汇总和输出检测报告的，计算机软件的发布、更改（更新）、受控就显得特别重要。

4.4要求、标书和合同的评审

4.4.1a）对包括所用方法在内的要求应予规定，并充分考虑国家法律法规及伦理道德的要求。形成文件，并易于理解；

适用时，应包括客户的要求或标书与合同之间的任何差异、任何变化的动态管理。

注：基因扩增领域具有探索性，在实际检测工作中经常根据前期的检测结果确定下一步的检测工作，因而合同是处于变化过程中，因而对合同要实施动态管理。

4.4.1b）实验室应根据客户样品的信息，如样品类型及样品的处理程度，确定此技术在该样本的适用性。

4.4.5 当核酸提取或基因扩增无法完成，无法出具结果报告时，应向客户做出说明。

4.5 检测和校准的分包

4.5.1 如基因扩增后需要进行测序，该测序工作可以优先分包给已获认可的权威或专业技术机构来进行。

4.6 服务和供应品的采购

4.6.2应制定文件验证所有环节，包括分子生物学试剂、染料、培养基、血清、抗血清和分析软件等符合预期性能；尤其要对影响结果质量的重要供应品、试剂和消耗性材料进行技术性验收。

用于基因扩增前处理的试剂应为不含干扰检测结果成分的分析纯或生化试剂。适用时，提取缓冲液或溶液使用前应采用适当方式灭菌。应遵循前处理的注意事项或试剂的使用说明（包括试剂对声、光、热及化学物质的稳定性信息）并形成相应记录。

实验室配制的试剂应贴好标签，并在标签上注明试剂名称、容量、溶剂类型、配制及使用日期和/或保质期。若试剂有特殊使用说明、有毒有害提示或使用限制也应在标签上注明。

所用Taq聚合酶/反应预混液/试剂盒/引物和探针在使用前应进行性能验证。引物应通过核酸阳性物质及阴性物质验证其性能；并出具证明证实引物的性质或序列。

4.6.3 采购文件中可包括对服务和供应品性能的技术要求。

4.6.4实验室应优先选择已经获得产品认证和/或质量管理体系认证的供应商提供的产品。检测机构也可以通过调查或实地考察的方式进行合格供应商的评价，证明供应商的组织能力、技术能力，并保存对其评价的记录。

4.7 服务客户

4.7.1实验室在确保其他客户信息机密的前提下，允许客户或其代表合理进入检测机构的相关区域，还应考虑法律法规、样品安全、人身安全、污染防范等多方面因素。

4.8 投诉

4.9 不符合工作的控制

4.9.1 实验室应制定污染处理文件。污染一旦发生，应立即停止检测工作，并评价是否对检测结果造成影响。应确保所有检测人员能够识别污染的发生，并执行不符合工作程序。

4.10 改进

4.11 纠正措施

4.12 预防措施

4.13 记录的控制

4.13.2 实验室应有程序确保电子记录的安全性和完整性，并定期进行备份和杀毒处理。授权专门人员负责电子记录的保存、使用、传输、审核以及维护等。

4.14 内部审核

4.15 管理评审

**5 技术要求**

5.1 总则

5.2 人员

5.2.1实验室使用人员时，应考虑以下条件：

- 应熟悉生物检测安全知识和消毒知识；

-应得到与其工作内容相适应的培训，具备相应的实际操作技能；

- 当检测机构使用数据库软件、专业分析软件对检测的结果进行检索、处理时，对检测报告中所含意见和解释负责的人员必须对相关软件性能、操作等有充分的了解。

- 所有专业技术人员应有相关专业的教育经历。

- 授权签字人应具有相关专业本科以上学历，且在本专业领域工作5年以上或具有同等学历。

注：博士研究生毕业，从事相关专业检验检测工作1年及以上；硕士研究生毕业，从事相关专业检验检测工作3年及以上；大学本科毕业，从事相关专业检验检测工作5年及以上；大学专科毕业，从事相关专业检验检测工作8年及以上可视为具有同等能力。

5.2.2 应对工作人员定期进行持续技能培训和重新确认，并提供记录。

如：每12个月至少1次技能确认，在一个认可周期内，对主要检测和技术管理人员的确认内容应覆盖其所从事技术工作的全部内容。

5.2.5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。

5.3 设施和环境条件

5.3.2 实验室内温湿度控制应能满足仪器正常运行和不同试验程序的需要。

5.3.3对实验室设施的要求以能获得可靠的检测结果为重要依据。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，原则上应设分割开的工作区域，包括（但不限于）：

- 试剂储存、准备和试剂配制区；

- 样品准备区

- 核酸提取区；

- 扩增区;

- 扩增产物分析区；

各功能区使用面积能够保证合理安放仪器设备和符合相应业务工作的需求，功能区间实现有效隔离。

各区域应有明确的标识，避免不同工作区域内的设备、物品混用。必要时应实现样品在工作区内的单向流动。进入各个工作区域必须严格遵循单一方向顺序，即只能从试剂储存和准备区、样品准备区、扩增区至扩增产物分析区，避免发生交叉污染。在不同的工作区域应使用有明显区别标志的工作服，以便于鉴别。此外，当工作者离开工作区时，不得将各区特定的工作服带出。

实验室的清洁应按试剂储存和准备区至扩增产物分析区的方向进行。不同的实验区域应有其各自的清洁用具，不得混用，以防止交叉污染。

5.3.4 实验室应有限制进入的措施，应控制非实验人员进入或使用可能会影响检验质量的区域。应采取适当的措施保护样品及环境，防止未授权者访问。适用时，实验室应为进入实验室的人员提供有效的生物安全防护。

5.3.5 实验室应有妥善处理废弃样品和有害废弃物的设施和制度。如用到某些可致基因突变和/或有毒物质如溴化乙锭、丙烯酰胺、甲醛或同位素等，应注意实验人员的安全防护。

5.4检测和校准方法及方法的确认

5.4.1 实验室应明确检测方法的适用范围，如有些转基因检测方法规定样品只能是未加工的或者进行了加工但未污染其他物种DNA的样品，实验室用此方法进行认可时应该充分认识到这些限制。

必要时，操作指导书应规定检测结果的判定方法、判定依据、判定结果等的表述，包括对过程产物的确认要求。

 注：如在进行下一步操作时，前一步结果（产物）如何进行验证和判定以及对判定结果的处理。

5.4.7 数据控制

5.4.7.2 b) 实验室应建立并实施数据保护的程序，对数据输入或采集、数据存储、数据转移和数据处理的方法、备份方式、数量和时间、杀毒方式进行规定，并定期核查，以确保数据的真实性、完整性、保密性和安全性。同时，实验室应将以图像形式（如电泳图）保存的数据资料纳入到数据保护程序中。

5.5设备

5.5.2对于没有检定规程的仪器设备，实验室应建立用于定期检测并证实设备经过了适当校准并处于正常功能状态的程序和记录，并建立定期预防性维护程序和应急预案。该程序至少应遵循制造商的建议。

可根据制造商的说明确定可接受标准、维护、验证和/或校准的程序和频次。

5.5.6 基因扩增检验实验室每一区域都须有专用的仪器设备。各区域仪器设备都必须有明确的标识，以避免设备物品（如微量移液器或试剂等）从其各自的区域内移出，造成不同的工作区域间的交叉污染。

5.5.10 微量移液器要定期进行期间核查以保证容积的准确。

5.6 测量溯源性

5.6.2.2.2基因识别结果或鉴定结果可溯源至公认的基因序列。

5.6.3 基因扩增领域标准物质可包括目标生物（微生物、病毒、寄生虫、转基因品系等）、阳性DNA参考物质、质粒/载体、公共的基因序列数据库的参考DNA序列等。

5.6.3.4 检测过程中的阳性或阴性对照以及参照标本，使用和储存应参照标准物质进行管理。

5.7 抽样

5.7.1某些检测项目涉及特殊取样，应有保护个人隐私的措施。

某些检测项目实验室在开始进行检测前，应告知检测项目的要求和影响检测的因素，保证检测有效完成。

5.8测试和校准物品的处置

5.8.3 实验室应根据检测项目制定样品的接收条件，明确提出对样品的要求，列出不符合要求样品的类型和拒收条件。

在接收检材/样本时，应对其来源、名称、数量及性状进行详细的审查，如发现有异常情况，或与被告知的情况或提供的说明不符时，应及时向委托方问询、核实，做好记录并由委托方签字确认。

针对物种鉴定方面，样品的物理特性（包括外观，气味，纹理等）可能有助于识别样品的物种来源，应在DNA测试之前进行这些检测，且应记录所有相关的信息。如果物理特性的分析结果与声称的物种不匹配，实验室应要求客户说明原因。

5.8.4 由于检测目的不同，样本会被分装或转移。因此，实验室应提供操作手册，以保证样本满足检测要求。特殊样本还需冷冻、避光保存保证样本中核酸的完整性。实验室应有程序规定过程/中间样品的保存和使用要求，例如从样本中提取的核酸、基因扩增反应产物等中间样品的保存和使用。

5.9检测和校准结果质量的保证

5.9.1 实验室应制订质量控制计划，对外部质量控制和内部质量控制活动的实施内容、方式、责任人等作出明确的规定；对内部质量控制活动，计划中还应给出结果评价依据。

 在一个认可周期内，质量控制活动的实施内容应覆盖获得认可的全部项目和所有关键检测人员。

5.10 结果报告

5.10.1 针对样品掺假检测，如果检测方法中给出了检出限，则无论结果是“检出”还是“未检出”，在报告中均应注明方法的检出限。

针对转基因检测，报告中应详细给出靶序列类型，如“35S启动子：检出”或“抗草甘膦转基因：未检出”或“Bt-176：未检出”，而不应该仅仅报告“不含转基因成分”，后者的表述会造成所有转基因成分都已检测的歧义。

同时应按照标准要求给出空白对照、阴性对照和阳性对照等检测结果。

5.10.2.f） 如果由于提取核酸的质量或数量不足或其他技术原因，不能得出结论，应在报告中明确指出。

5.10.5 应有措施对检测结果和检测中获得的信息或个人隐私保密。

6 参考资料

1. HOKLAS\_SC-21 HOKLAS Supplementary Criteria No. 21 “Food” – Detection and quantification of Genetically Modified Organisms (GMO) in food by Polymerase Chain Reaction (PCR) 5 November 2008.
2. HOKLAS SC-43 HOKLAS Supplementary Criteria No. 43 “Food” test category – Species Identification by DNA Sequencing for Authentication Purpose 25 July 2011.
3. NATA Biological Testing ISO/IEC 17025 Application Document Annex D: Accreditation of facilities testing for genetically modified organisms (GMO) March 2013.
4. GB/T 19495.1Y2004 转基因产品检测 通用要求和定义。
5. GB/T 19495.2Y2004 转基因产品检测 实验室技术要求。
6. 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。