



CNAS-CL01-A024

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-CL01:2018**《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。

本文件需与**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-CL01:2018**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。

本文件代替：**CNAS-CL62:2016**。

相对于**CNAS-CL62:2016**，本文件除了编辑性修订外，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-CL62: 2016**。

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

本文件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。

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和医学检验领域对相关机构的特殊要求等。

3 术语和定义

基因扩增（gene amplification）：

通过生物体外试验的方法，为某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 通用要求

4.2 保密性

4.2.4 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，如：样品及其相关的遗传信息等保密。有责任和义务保护本国的物种信息资源和基因资源。

5 结构要求

5.4 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。

5.5 b) 实验室技术管理层中必要时应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的本科以上学历和五年以上分子生物学检测的工作经历。

6 资源要求

6.2 人员

6.2.2 实验室工作人员应具备以下条件：

- 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；
- 当实验室使用数据库软件、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，或具有同等能力。

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。

6.2.5 f) 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。

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 对实验室设施的要求以能获得准确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品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）：试剂配制与贮存区、核酸提取区、核酸扩增区和扩增产物分析区。

6.3.4 a) 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。

6.3.4 b) 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，即只能从试剂配制与贮存区、核酸提取区、核酸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制备与贮存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。

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。

6.3.4 c) 各功能区使用面积应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。

6.4 设备

6.4.1 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）、阳性核酸参考物质、质粒/载体等。

6.4.3 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。

6.4.4 对于没有检定、校准规程，但需出具检测数据的仪器设备，实验室应根据随机说明书和有关技术资料确定可接受标准、维护和验证的程序及频次。

6.4.10 微量移液器要定期进行期间核查以保证容积的准确。

6.5 计量溯源性

6.5.3 基因识别结果或鉴定结果可溯源至公认的基因序列。

6.6 外部提供的产品和服务

6.6.2 a) 采购文件中应包括对服务和供应品性能的技术要求。

6.6.2 b) 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。实验室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。

6.6.2 c) 应制定文件验证所有环节，包括分子生物学试剂和分析软件等是否符合预期性能；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等）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。

6.6.3 c) 实验室（专门的基因测序实验室除外）如基因扩增后需要进行测序，应优先选择已获认可的权威专业技术机构提供的测序服务。

7 过程要求

7.1 要求、标书和合同的评审

7.1.1 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，也就是说合同可能处于变化过程中，因而对合同要实施动态管理。

7.1.1 b) 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, 确定此技术在该样品的适用性。

7.1.6 当核酸提取或基因扩增无法完成时, 应向客户做出说明。

7.1.7a) 实验室在确保其他客户信息机密的前提下, 可允许客户或其代表合理进入实验室的相关区域, 还应考虑法律法规、样品安全、人身安全、污染防范等因素。

7.2 方法的选择、验证和确认

7.2.1.1 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。

7.2.1.3 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)应该进行验证和判定, 并对判定结果进行处理。

7.3 抽样

7.3.1 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。

7.4 检测和校准物品的处置

7.4.3 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。

在接收样品时, 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, 应在基因扩增测试之前进行这些检验, 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。

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

7.5 技术记录

7.5.1 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, 应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。

检测记录中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。

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。如果检测方法中规定了内部质量控制计划和程序，包括规定限值，实验室应严格执行。

两年内，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。

7.8 报告结果

7.8.1 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。

7.8.2.1 g) 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。

7.10 不符合工作

7.10.1 实验室应制定污染处理文件。

7.10.1 c) 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。

7.11 数据控制和信息管理

7.11.3 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。

7.11.3 d) 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。

8 管理体系要求

8.1 方式

8.1.1 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。

8.3 管理体系文件的控制（方式 A）

8.3.2 c) 应制定程序来描述如何更改和控制保存在计算机系统文件，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。

9 参考资料

- [1] 6.1 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] 6.2 HOKLAS SC-43 HOKLAS Supplementary Criteria No. 43 “Food” test category – Species Identification by DNA Sequencing for Authentication Purpose 25 July 2011.
- [3] 6.3 NATA Biological Testing ISO/IEC 17025 Application Document Annex D: Accreditation of facilities testing for genetically modified organisms (GMO) March 2013.
- [4] 6.4 GB/T 19495.1-2004 转基因产品检测 通用要求和定义
- [5] 6.5 GB/T 19495.2-2004 转基因产品检测 实验室技术要求
- [6] 6.6 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