**临床基因扩增检验实验室管理暂行办法**

**(广州禄米实验室设备科技有限公司)**

【导读】临床基因扩增检验实验室管理暂行办法 第一章 总 则 第一条 为规范临床基因扩增检验实验室管理，保证临床基因扩增检验质量，使临床诊断和治疗更为科学、合理，特制定本办法。 第二条 临床基因扩增检验技术指以临床诊断治疗为目的，以扩增检测DNA或RNA为方法的检测技术，如聚合酶链反应（PCR）、连...

**临床基因扩增检验实验室管理暂行办法**  
**第一章 总 则**  
     第一条 为规范临床基因扩增检验实验室管理，保证临床基因扩增检验质量，使临床诊断和治疗更为科学、合理，特制定本办法。  
     第二条 临床基因扩增检验技术指以临床诊断治疗为目的，以扩增检测DNA或RNA为方法的检测技术，如聚合酶链反应（PCR）、连接酶链反应（LCR）、转录依赖的放大系统（TAS）自主序列复制系统（3SR）和链替代扩增（SDA）等。  
     第三条 本办法适用于开展临床基因扩增检验的实验室。临床基因扩增检验实验室设立在二级以上医院。  
     第四条 临床基因扩增检验实验室必须使用经国家药品监督管理局批准的临床检验试剂开展临床基因扩增检验项目。  
     第五条 卫生部临床检验中心（以下简称卫生部临检中心）和省、自治区、直辖市临床检验中心（以下简称省临检中心）负责对所辖行政区域内临床基因扩增检验实验室的质量监督管理工作。  
**第二章 实验室设置和验收**  
     第六条 拟设置临床基因扩增检验实验室的医疗机构按照《临床基因扩增检验实验室基本设置标准》（见附件）筹建实验室；筹建完成后，由法定代表人向卫生部临检中心提出技术验收申请。申请时需提交以下材料：  
     （一）《医疗机构执业许可证》复印件；  
     （二）可行性研究报告；  
     1、 拟设临床基因扩增检验实验室机构的所在地医疗卫生资源状况、本机构的基本情况、对临床基因扩增检验的需求以及临床基因扩增实验室运行的预测分析；  
     2、 拟设临床基因扩增检验实验室的设置平面图；  
     3、 拟设临床基因扩增检验实验室将开展的检验项目、实验设备条件和有关技术人员资料  
     第七条 卫生部临检中心和省临检中心共同组织相关专业的专家组（以下简称专家组），按照《临床基因扩增检验实验室基本设置标准》对提出申请的临床基因扩增检验实验室进行技术验收。验收完成后，在20日内将验收报告寄送至申请机构。  
     第八条 经专家组技术验收合格的医疗机构将本办法第六条规定的材料及专家组验收报告送至省级行政部备案。在将符合规定的全部材料送达省级卫生行政部门后15日内未收到省级卫生行政部门不同意的意见，方可开展专家组技术验收合格的临床基因扩增检验项目。  
     第九条 未经专家组验收合格并报省级卫生行政部门备案的医疗机构不得擅自开展临床基因扩增检验项目。  
**第三章 实验室监督管理**  
     第十条 临床基因检验实验室必须按照《临床基因扩增检验实验室工作规范》（另发）开展临床基因扩增检验工作。  
     第十一条 临床基因扩增检验实验室技术人员必须进行上岗培训。经培训合格者，由培训单位发给合格证书，并将培训合格人员名单报卫生部临检中心备案。获得培训合格证书者方可从事临床基因扩增检验工作。  
     培训单位为卫生部临检中心，或由省级卫生行政部门指定并经卫生部临检中心认定的机构。培训时使用规定的统一教材。  
     第十二条 以科研为目的的基因扩增检验项目。不得向临床出具检验报告，不得向病人收取任何费用。  
     第十三条 临床基因扩增检验实验室必须按照《临床基因扩增实验室工作规范》开展室内质量控制，并参加卫生部临检中心组织的室内质量评价。  
     第十四条 卫生部临检中心按照本方法和《临床基因扩增实验室工作规范》协调、组织省临检中心对临床基因扩增检验实验室的检验质量进行监测。监测结果报省级卫生行政部门，同时抄送被监测的临床基因扩增检验实验室所在医疗机构。  
     第十五条 卫生部临检中心或省级临检中心受省级以上卫生行政部门委托可对临床基因扩增检验实验室进行现场检查，现场检查工作人员在履行职责时应出示证件。在进行现场检查时，检查人员有权调阅有关资料，被检查机构不得拒绝或隐瞒。  
     第十六条 卫生部临检中心对在室间质量评价中不合格的临床基因扩增检验实验室提出警告，对连续二次或三次中有二次发现临床基因扩增检验结果不合格的临床基因扩增检验实验室，卫生部临检中心报省级以上卫生行政部门由省级以上卫生行政部门责令其暂停有关临床基因扩增检验项目，限期整改。经专家组进行再次技术验收并合格，并报省级卫生行政部门核准后，方可重新开展临床基因扩增检验项目。  
     第十七条 对于未经卫生部临检中心组织的专家组技术验收合格并报省级卫生部门备案，擅自开展临床基因检验项目的医疗机构，由省级卫生行政部门依据《医疗机构管理条例》第四十七条和《医疗机构管理条例实施细则》第八十条予以处罚，并予以公告。公告所需费用由被公告机构支付。  
     第十八条 出现下列情况之一的临床基因扩增检验实验室，由省级卫生行政部门责令其停止开展临床基因扩增检验，并对其所在医疗机构予以公告。公告所需费用由被公告机构支付：  
     （一） 开展超出卫生部临检中心组织的技术验收合格并报省级卫生行政部门备案 临床基因扩增检验项目的；  
     （二） 使用未经国家药品监督管理局批准的试剂开展临床基因扩增检验的；  
     （三） 在临床基因扩增检验中未开展室内质量控制的；  
     （四） 在临床基因扩增检验中未参加室间质量评价的；  
     （五） 在临床基因扩增检验中弄虚作假的；  
     （六） 以科研为目的的基因扩增检验项目向病人收取费用的；  
     （七） 使用未经培训合格的专业技术人员从事临床基因扩增检验的；  
**第四章 附 则**  
     第十九条 对采供血机构的基因扩增检验实验室开展基因扩增检验项目的管理，参照本办法执行。  
     第二十条 卫生部临检中心组织的专家组对申请开展临床基因扩增检验的实验室进行技术验收所需费用按国家有关规定执行。  
     第二十一条 本办法由卫生部负责解释。  
     第二十二条 本办法自发布之日起施行。  
     附：临床基因扩增检验实验室基本设置标准  
**根据《临床检验扩增检验实验室管理暂行办法》，制定本标准**  
     一、 临床基因扩增检验实验室区域设置原则  
     （一） 临床基因扩增检验实验室区域设置原则  
     1、 试剂储存和准备区  
     2、 标本制备区  
     3、 扩增反应混合物配制和扩增区  
     4、 扩增产物分析区  
     如使用全自动分析仪，区域可适当合并。  
     （二） 各工作区域必须有明确的标记，避免不同工作区域内的设备、物品混用。  
     （三） 进入各工作区域必须严格按照单一方向进行，即试剂储存和准备区 —>标本制备区—>扩增反应混合物配制和扩增区—>扩增产物分析区。  
     （四） 不同的工作区域使用不同的工作服（例如不同的颜色）。工作人员离开各工作区域时，不得将工作服带出。  
     二、 工作区域仪器设备配置标准  
     （一） 试剂储存和准备区  
     1、2-8C和-15C冰箱  
     2、混匀器  
     3、微量加样器（覆盖1-1000ul）  
     4、移动紫外灯（近工作台面）  
     5、消耗品：一次性手套、一次性吸水纸、耐高压处理的离心管和加样器吸头（带滤心）  
     6、专用工作服和工作鞋  
     7、专用办公用品  
     （二） 标本制备区  
     1、2-8C冰箱、-20C或-80C冰箱  
     2、高速台式冷冻离心机  
     3、混允器  
     4、水浴箱或加热模块  
     5、微量加样器（覆盖1-1000ul）  
     6、可移动紫外灯（近工作台面）  
     7、超净工作台  
     8、消耗品：一次性手套、一次性吸水纸、耐高压处理的离心管和加样器吸头（带滤心）  
     9、专用工作服和工作鞋  
     10、专用办公用品  
     如需处理大分子DNA，应具有超声波水浴仪。  
     （三） 扩增反应混合物配制和扩增区  
     1、 核酸扩增仪  
     2、 微量加样器（覆盖1-1000ul）  
     3、 可移动紫外灯（近工作台面）  
     4、 消耗品：一次性手套、一次性吸水纸、耐高压处理的离心管和加样器吸头（带滤心）  
     5、 专用工作服和工作鞋  
     6、 专用办公用品  
     (四)扩增产物分析区  
     视检验方法不同而定。基本仪器设备如下：  
     1、 微量加样器（覆盖1-1000ul）  
     2、 可移动紫外灯（近工作台面）  
     3、 消耗品：一次性手套、一次性吸水纸、加样器吸头（带滤心）  
     4、 专用工作服和工作鞋  
     5、 专用办公用品  
    为了对以个特定序列进行PCR做重复检测,需要三个不同的区域,每一个区域的具体技术操作和试剂在下面详细列出.  
    1、样品准备区  
    这个区域专门用作样品的准备，在制备和操作用于核酸提取的试剂时应该采  
    取预防措施：  
    1）PCR产物和带有要扩增序列的DNA克隆不能在这个房间操作。  
    2）组织培养物、组织标本和血清样品都带进样品准备间处理，以根据应用的需要提取DNA或RNA。  
    3）用于样品处理的工具不能被用作普通分子克隆的工具，也不能用作操作靶序列。  
    4）DNA样品应该用有专门的防护或正压活塞式移液管操作，以防止在吸取样品时有气溶胶遗留。  
    5）大体积样品应该用单独包装的无菌一次性移液管吸取。  
    6）管子打开前都要简短离心以减少气溶胶的产生，而且管子不能用力崩开，这样会产生气溶胶。  
    7）任何时候都应该穿实验服和带手套，手套要经常更换，尤其在抽提过程中每一步之间都要更换。实验服要专门用于样品准备间，经常清洗。  
    2、样品准备和RNA-PCR  
    RNA-PCR的额外步骤需要额外的样品操作，这样增加了样品之间污染的机会。为了避免这一问题，反转录一步可以在样品准备区进行。在RNA-PCR中应用UNG以防止污染的方法也有报道。  
    3、前PCR区  
    必须有专门用于准备各种反应的区域，这个区域必须保持干净，而且没有来自克隆和样品准备的污染。前PCR区必须要有试剂和准备，特别是专门用于前PCR区的正压活塞式移液管。  
    4、PCR实验室试剂的操作  
    1）所用的所有溶液都应该没有核酸和（或）核酸酶（DNase和RNase）污染。  
    2）所有PCR试剂中使用的水都应该是高质量的－新鲜蒸馏的去离子水，用0.22μm过滤的，并且是高压灭菌。  
    3）在20℃到25℃贮存的试剂建议加点像叠氮钠一类的抗微生物剂，在扩增试剂或样品制备试剂中加入0.025%的叠氮钠不抑制扩增反应。  
    4）所用试剂都应该以大体积配制，实验一下看试剂是否满意，然后分装成仅够一次使用的量进行贮存。  
    5）所有试剂和样品准备过程中都要使用一次性灭菌的瓶子和管子。  
    6）新配制的试剂在用于准备新的标本之前应该加以检验。  
    7）样品准备和前PCR区所使用的移液管在不使用时都应该小心保存。  
    5、在前PCR区建立PCR混合物  
    1）可以把即刻可用的“主混合物”溶液配好、分装并保存在-20℃或4℃，在实验室只涉及到扩增一种或少数几种特异序列时这样做很有用。  
    2）如果你的实验室使用多套引物，以致于配制包括所有试剂的单一反应混合物不够经济，可以考虑分装保存够一天的PCR成分。  
    3）作为一个规则，应该保存一套阴性、弱阳性和强阳性对照样品来分析样品配制和PCR前过程的效率和洁净程度。而且，你也希望通过使用一个已知的弱阳性样品来验证你的样品缓冲液以证明里面不含扩增抑制物。  
    4）阴性样品要与每组样品同时做，以分析是否存在样品与样品之间的污染以及是否存在PCR产物的污染，阴性对照应该包括核酸以外的所有试剂。  
    5）当做阳性对照时，有两个理由决定了应该使用最少数量的核酸。  
    6）由于必须有对照反应，对照模板的特点应该予以考虑。  
    6、控制污染的方法  
    已设计出很有力的酶学方法用来消除一种形式的污染—使用UNG，这一技术能有效地消除由PCR产物引起的污染。另一种控制污染的方法是使用紫外线，这种方法不能完全消除污染问题，但可以将污染降低几个数量级。  
    7、PCR仪的位置  
    8、后PCR区  
    PCR完成以后，需要分析样品并解释数据，应该留出一个专门用于反应后处理样品的地方。后PCR活动中使用的所用试剂、一次性耗材和仪器都必须是专门用于这一目的，决不能把实验室这一区域的试剂或仪器用于任何前PCR活动。