



CNAS-CL36

医学实验室质量和能力认可准则
在分子诊断领域的应用说明

**Guidance on the Application of Accreditation
Criteria for the Medical Laboratory Quality and
Competence in the Field of Molecular Diagnostics**

中国合格评定国家认可委员会

目 次

前 言	2
1 范围	3
2 规范性引用文件	3
3 术语和定义	3
4 管理要求	3
5 技术要求	4
附录 A（规范性附录）	10
分子诊断项目分析性能标准	10
附录 B（规范性附录）	11
分子诊断领域申请认可项目要求	11

前 言

本文件由中国合格评定国家认可委员会（CNAS）制定，是CNAS根据分子诊断领域的特性而对CNAS-CL02：2012《医学实验室质量和能力认可准则》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-CL02：2012《医学实验室质量和能力认可准则》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-CL02：2012中章、节条款号和名称，对CNAS-CL02：2012应用说明的具体内容在对应条款后给出。

本文件的附录A、B为规范性附录。附录的序号及内容与CNAS-CL02:2012不对应。

本文件于2012年制定，本次为第3次修订。

医学实验室质量和能力认可准则在分子诊断领域的应用说明

1 范围

本文件规定了CNAS对分子诊断领域的认可要求，包括：病原体核酸和人体基因等领域涉及的核酸扩增试验、杂交试验（包括原位杂交试验）、核酸电泳分析等。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括修改单）适用于本文件。

GB/T 20468-2006 临床实验室定量测定室内质量控制指南

CNAS-RL02 能力验证规则

CNSA-CL31 内部校准要求

临床技术操作规范·病理学分册，人民军医出版社，2004

医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则

病理科建设与管理指南（试行），卫办医政发（2009）31号

3 术语和定义

4 管理要求

4.1 组织和管理责任

4.1.1.2 实验室为独立法人单位的，应有医疗机构执业许可；实验室为非独立法人单位的，其所属医疗机构执业证书的诊疗科目中应有医学实验室；自获准执业之日起，开展分子诊断工作至少 2 年。

4.1.2.5 应至少有 1 名具有副高及以上专业技术职务任职资格，从事分子诊断工作至少 5 年。

4.2 质量管理体系

4.3 文件控制

4.4 服务协议

4.5 受委托实验室的检验

4.6 外部服务和供应

4.7 咨询服务

4.8 投诉的解决

4.9 不符合的识别和控制

4.10 纠正措施

4.11 预防措施

4.12 持续改进

4.13 记录控制

4.14 评估和审核

4.15 管理评审

5 技术要求

5.1 人员

5.1.2 分子诊断实验室（以下简称实验室）负责人应至少具有中级专业技术职称、从事分子诊断工作至少 3 年。

分子诊断实验室操作人员应经过有资质的培训机构培训合格取得上岗证后方可上岗。

签发分子病理报告的医师应至少具有中级病理学专业技术职务任职资格，并有从事分子病理工作的经历。

认可的授权签字人应至少具有中级专业技术职务任职资格，从事申请认可授权签字领域专业技术工作至少3年。

5.1.3 实验室应至少具有 2 名检验/检查人员。

5.1.6 应每年评估员工的工作能力。对新进员工在最初 6 个月内应至少进行 2 次能力评审，保存评估记录。当职责变更时，或离岗 6 个月以上再上岗时，或政策、程序、技术有变更时，应对员工进行再培训和再评估，合格后才可继续上岗，并记录。

5.2 设施和环境条件

5.2.1 应实施安全风险评估，如果设置了不同的控制区域，应制定针对性的防护措施及合适的警告。

5.2.2 涉及基因扩增检验的实验室原则上分四个独立的工作区域：试剂贮存和准备区；样品制备区；扩增区；扩增产物分析区。如使用自动分析仪（扩增产物闭管检测），扩增区和扩增产物分析区可合并。具体实验室分区应依据其所使用的技术平台及检验

项目和工作量而定。

上述每个区域应有充足空间以保证：

- 样品处置符合分析前、后样品分区放置；
- 仪器放置符合维修和操作要求；
- 样品制备区放置生物安全柜、离心机和冰箱等仪器设备；
- 打印检验报告时交叉污染的控制。

工作区域应符合如下要求：

c) 实验室各分区应配置固定和移动紫外线灯，波长为254nm，照射时离实验台的高度一般为60~90cm；

e) 样品制备区应配置二级生物安全柜和洗眼器，实验室附近应有喷淋装置。

所有分子病理实验室均应设置独立的标本前处理区，包括切片区和脱蜡区，用于组织切片、脱蜡、水化、染色等。脱蜡、水化及染色应在通风设施中进行。

5.2.3 用以保存临床样品和试剂的设施应设置目标温度和允许范围，并记录。实验室应有温度失控时的处理措施并记录。

5.2.5 患者样品采集设施应将接待/等候和采集区分隔开。同时，实验室的样品采集设施也应满足国家法律法规或者医院伦理委员会对患者隐私保护的要求。

5.2.6 不同的实验区域应当有其各自的清洁用具以防止交叉污染。工作结束后应立即对工作区进行清洁，必要时进行消毒及去污染。

应依据所用分析设备和实验过程的要求，制定环境温湿度控制要求并记录。应有温湿度失控时的处理措施并记录。

扩增仪应配备不间断电源（UPS）；

应依据用途（如：RNA检测用水），制定适宜的水质标准（如：应除RNase），并定期检测。

分子检验各工作区域应有明确的标记。进入基因扩增实验室各工作区应按照单一方向进行，即试剂贮存和准备区→样品制备区→扩增区→扩增产物分析区。不同的工作区域宜使用不同的工作服（如不同的颜色）。工作人员离开各工作区域时，不应将工作服带出。

5.3 实验室设备、试剂和耗材

5.3.1.1 如从事 RNA 检测，宜配备-70℃的冷冻设备。需要时，配备高速冷冻离心机。标本制备区使用的一次性加样器吸头应带有滤芯。PCR 试验用容器应可密闭，

不同工作区域内的设备、物品不能混用。

组织标本前处理区的设备通常应包括切片机、裱片机、切片刀、电热恒温箱、脱蜡缸、水化缸及HE染色缸等。

5.3.1.4 应按国家法规要求对强检设备进行检定。应进行外部校准的设备，如果符合检测目的和要求，可按制造商校准程序进行。应至少对分析设备的加样系统、检测系统和温控系统进行校准（适用时）。分析设备和辅助设备的内部校准应符合 **CNAS-CL 31**《内部校准要求》。

应定期对基因扩增仪、加样器、温度计、恒温设备、离心机和生物安全柜等进行校准。

5.3.1.5 设备故障后，应首先分析故障原因，如果设备故障可能影响了方法学性能，故障修复后，可通过以下合适的方式进行相关的检测、验证：

- (a) 可校准的项目实施校准验证，必要时，实施校准；
- (b) 质控物检验；
- (c) 与其他仪器或方法比对，偏差符合附录A.3的要求；
- (d) 以前检验过的样品再检验，偏差符合附录A.5的要求。

5.3.2.1 实验室应建立试剂和关键耗材（如离心管、带滤芯的吸头）的验收程序，相应程序中应有明确的判断符合性的方法和质量标准（宜参考附录 A）。

5.3.2.3 实验室应对新批号或同一批号不同货运号的试剂和关键耗材进行验收，验收试验至少应包括：

- (a) 外观检查：肉眼可看出的，如包装完整性、有效期等；
- (b) 性能验证：通过实验才能判断的，如试剂的核酸提取效率和核酸扩增效率、试剂的批间差异、关键耗材的抑制物等。

- 试剂性能验证记录应能反映该批试剂的核酸提取效率和核酸扩增效率。一般情况下，临床实验室在新批号试剂或关键耗材使用前，应验证试剂批间差异和耗材的抑制物，符合附录 A.6 要求即可视为满足要求。特殊情况下，如实验室怀疑提取试剂有质量问题，可采用凝胶电泳试验比较核酸提取物与核酸标准物确认核酸片段提取的完整性、260nm 紫外波长测定确认核酸提取的产率、260nm/280nm 比值确认核酸提取的纯度。
- 用于定性检验的试剂，选择阴性和弱阳性的样品进行试剂批号验证。
- 用于定量检验的试剂，应进行新旧试剂批间的差异验证，方法和要求参照附

录 A.6 要求。

- 耗材的抑制物验收：对关键耗材应检测是否存在核酸扩增的抑制物，方法和要求参照附录 A.6 要求。

5.4 检验前过程

5.4.4.3 应规定分子诊断样品留取的具体要求，如：

- (a) 使用无 DNase 和/或无 RNase 的一次性密闭容器；
- (b) 正确使用抗凝管：通常全血和骨髓样品应进行抗凝处理，EDTA 和枸橼酸盐为首选抗凝剂，不使用肝素抗凝（核酸提取采用吸附法而不受肝素干扰时除外）；
- (c) 用于 RNA（如 HCV RNA）扩增检测的血样品宜进行抗凝处理，并尽快分离血浆，以避免 RNA 的降解；如未作抗凝处理，则宜尽快分离血清。
- (d) 分泌物、拭子、肿瘤组织等样品留取的注意事项等。

5.4.6 e) 基于组织/细胞学形态基础的分子检测项目应由具有病理诊断资质的医师确认样品是否满足检测要求。

5.4.7 样品应尽快处置并以适当方式储存，以尽可能减少核酸降解。超长期储存后的标本，使用前应再次评估标本的完整性。

检测样品若为组织，应采用 10%中性缓冲的福尔马林固定，固定液的量和固定时间应符合检测要求。

5.5 检验过程

5.5.1.2 定量检测方法和程序的分析性能验证内容至少应包括精密度、正确度、线性、测量和/或可报告范围、抗干扰能力等。定性检测项目验证内容至少应包括测定下限、特异性、准确度（方法学比较或与金标准比较）、抗干扰能力等。验证结果应经过授权人审核。

应使用验证过的核酸抽提和纯化方法，必要时进行核酸定量。

对产前检验，在完成分子诊断前应保留备份培养物并跟踪监测实验的准确性；在检验胎儿标本前，应检验父母一方或双方的突变状态，宜由同一实验室检验；如有足够的标本，应从两份不同标本中提取 DNA 进行双份检验。实验室应了解检验方法受母体细胞污染的影响，应有程序评估并减少这种影响。

应有明确和统一的原位杂交（ISH）阳性信号的标准，并建立本实验室的阳性阈值。组织病理 ISH，应结合组织形态进行结果判读，并采用国际通用的评分标准。

5.6 检验结果质量的保证

5.6.2.1 总则

应制定室内质量控制程序，定量测定可参照 GB/T 20468 -2006 《临床实验室定量测定室内质量控制指南》。质量控制程序中应有针对核酸检测防污染的具体措施。

应保留 DNA 质量评价记录。需要时，应对 RNA 的质量进行评价，并选择合适的“管家” mRNA 作为内对照以评价所提取 RNA 的完整性，并保留 RNA 质量评价记录及假阴性率监测记录。

对于基因突变检测的石蜡包埋样品，应有病理医师从组织形态学对肿瘤细胞的存在与否及其数量进行评价，并决定是否需要对肿瘤细胞进行富集。

当分子诊断结果与临床和其他实验结果不符时，应记录并分析原因，适当时采取纠正措施。

5.6.2.2 质控物

定性检测项目，每次实验应设置阴性、弱阳性和/或阳性质控物。如为基因突变、基因多态性或基因型检测，则应包括最能反映检测情况的突变或基因型样品，每批检测的质控至少应有一种基因突变或基因型。

定量检测项目，每次实验应设置阴性、弱阳性和阳性质控物。

5.6.2.3 质控数据

质控规则应确保试验的稳定性和检验结果的可靠性。

定量检测项目质控图应包括质控结果、质控物名称、浓度、批号和有效期、质控图的中心线和控制界线、分析仪器名称和唯一标识、方法学名称、检验项目名称、试剂和校准物批号、每个数据点的日期和时间、干扰行为的记录、质控人员及审核人员的签字、失控时的分析处理程序和纠正措施等。

定性检测项目：阴阳性符合预期。

5.6.3.1 应按照 CNAS-RL02 《能力验证规则》的要求参加相应的能力验证/室间质评。应保留参加能力验证/室间质评的结果和证书。实验室负责人或指定人员应监控室间质评活动的结果，并在结果报告上签字。

5.6.3.2 通过与其他实验室（如已获认可的实验室、使用相同检测方法的实验室、使用配套系统的实验室）比对的方式确定检验结果的可接受性时，应满足如下要求：

- (a) 规定比对实验室的选择原则；
- (b) 样品数量：至少 5 份，包括正常和异常水平或不同常见基因突变或基因

型；

(c) 频率：至少每年 2 次；

(d) 判定标准：应有 $\geq 80\%$ 的结果符合要求。

5.6.4 实验室使用两套及以上检测系统检测同一项目时，应有比对数据表明其检测结果的一致性，比对频次每年至少 1 次，样品数量不少于 20，浓度水平应覆盖测量区间；应定期（至少每年 1 次，每次至少 5 份临床样品）进行检验人员的结果比对、考核并记录。比对结果应符合附录 A 的要求。

使用不同生物参考区间的检测系统间不宜进行比对。

比对记录应由实验室负责人审核并签字，并应保留至少 2 年。

5.7 检验后过程

5.7.2 原始样品、核酸提取物和/或核酸扩增产物应规定保存期，便于复查。为便于追溯，凝胶图像和斑点杂交条带和/或通过扫描、拍照等方式保留的结果应作为技术记录保存，保存期限参照相关行业要求。

5.8 结果报告

5.8.3 除了通用要求外，适用时，分子诊断报告内容还应包括方法的局限性、进一步检测的建议、相关咨询人员姓名及联系方式。

5.9 结果发布

5.10 实验室信息管理

附录A（规范性附录）

分子诊断项目分析性能标准

A.1 应不低于国家标准、行业标准、地方法规要求。

A.2 自建检测系统不精密度要求：以能力验证/室间质评评价界限（靶值 ± 0.4 对数值）作为允许总误差（TEa），重复性精密度 $< 3/5TEa$ ；中间精密度 $< 4/5TEa$ 。

A.3 设备故障修复后，分析系统比对：5 份样品，覆盖测量区间，至少 4 份样品测量结果偏倚 $< \pm 7.5\%$ 。

A.4 实验室内分析系统定期比对：样品数 $n \geq 20$ ，浓度应覆盖测量区间，计算回归方程，系统误差应 $< \pm 7.5\%$ 。

A.5 留样再测判断标准：按照项目稳定性要求选取最长期限样品，5 个样品，覆盖测量区间，至少 4 个样品测量结果偏倚 $< \pm 7.5\%$ 。

A.6 试剂批间差异、耗材的抑制物的验收判断标准：选取 5 个旧批号检测过的样品，覆盖测量区间（包括阴性、临界值、低值、中值和高值），至少 4 个样品测量结果偏倚 $< \pm 7.5\%$ ，其中阴性和临界值样品必须符合预期。

A.7 没有标准和室间质评要求时，实验室间结果比对合格标准可依据制造商声明的性能标准而制定。

附录B（规范性附录）

分子诊断领域申请认可项目要求

B.1 以下分子检验项目，每一组项目为完整能力项目，如果实验室开展以下项目组合，则申请该组中任一项目时，应同时申请其它项目（第 3 系列除外，但须至少申请其中的 3 项）。同一项目使用不同仪器 / 方法报告结果时，全部仪器 / 方法均应申请认可。

1. 肝炎系列：HBV、HCV（实验室仅开展 1 项者除外）；

2. 优生优育（TORCH）系列：TXO、RV、CMV、HSV；

3. 泌尿生殖道性传播疾病病原体系列：CT、NG、UU、HPV、HSV、TP。

B.2 分子病理检测项目，至少应申请以下任意两个系列，每个系列至少申请一项。同一项目使用不同仪器 / 方法报告结果时，全部仪器 / 方法均应申请认可。

1. 突变检测：EGFR、KRAS、BRAF、C-KIT、PDGFRA 等；

2. 扩增系列：Her-2 等；

3. 易位：EWS、Bcl-2、C-MYC、Bcl-6、ALK 等；

4. 基因重排：IGH、IGK、IGL、TCR 等。