



中华人民共和国国家标准

GB/T 27403—XXXX
代替 GB/T 27403—2008

实验室质量控制规范 食品分子生物学检测

Criterion on Quality Control of Laboratories –Molecular Biological Testing of Food

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

草案版次选择

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目 次

| | |
|----------------------------|-----|
| 前言 | III |
| 引言 | IV |
| 1 范围 | 5 |
| 2 规范性引用文件 | 5 |
| 3 术语和定义 | 5 |
| 4 通用要求 | 7 |
| 4.1 公正性 | 7 |
| 4.2 保密性 | 7 |
| 5 结构要求 | 7 |
| 6 资源要求 | 8 |
| 6.1 总则 | 8 |
| 6.2 人员 | 8 |
| 6.3 设施和环境条件 | 9 |
| 6.4 设备 | 10 |
| 6.5 计量溯源性 | 10 |
| 6.6 外部提供的产品和服务 | 10 |
| 7 过程要求 | 11 |
| 7.1 要求、标书和合同的评审 | 11 |
| 7.2 方法的选择、验证和确认 | 12 |
| 7.3 抽样 | 12 |
| 7.4 检测或校准物品的处置 | 12 |
| 7.5 技术记录 | 13 |
| 7.6 测量不确定度的评定 | 13 |
| 7.7 确保结果有效性 | 13 |
| 7.8 报告结果 | 13 |
| 7.9 投诉 | 14 |
| 7.10 不符合工作 | 14 |
| 7.11 数据控制和信息管理 | 14 |
| 8 管理体系要求 | 14 |
| 8.1 方式 | 14 |
| 8.2 管理体系文件（方式 A） | 14 |
| 8.3 管理体系文件的控制（方式 A） | 14 |
| 8.4 记录控制 | 15 |
| 8.5 应对风险和机遇的措施（方式 A） | 15 |
| 8.6 改进措施（方式 A） | 15 |
| 8.7 纠正措施（方式 A） | 16 |

| | |
|--|----|
| 8.8 内部审核（方式 A） | 16 |
| 8.9 管理评审（方式 A） | 16 |
| 附录 A（资料性） 基因扩增实验室区域划分 | 18 |
| 附录 B（资料性） 分子生物学实验室常用设备及计量要求 | 19 |
| 附录 C（资料性） 核酸检测中涉及 PCR 污染的预防和处理原则 | 21 |
| 附录 D（资料性） RNA 检测中核糖核酸酶(RNase)污染的预防 | 23 |
| 附录 E（资料性） 危害性废弃物管理 | 24 |
| 附录 F（资料性） 移动式分子生物学实验室管理要求 | |
| 参考文献 | 25 |

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替GB/T 27403-2008《实验室质量控制规范 食品分子生物学检测》，与GB/T 27403-2008相比，除编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 结构调整，按照GB/T 27025-2019，主要章节调整为：通用要求、结构要求、资源要求、过程要求、管理体系要求；
- b) 修改了前言、引言、范围、规范性引用文件；
- c) 基于分子生物学检测技术和质量控制要求发展考虑，更改了规范性引用文件、术语和定义、部分章节和条款，并做了细化；
- d) 更改了附录A的名称和内容（见附录A，2008年版的附录B）；
- e) 增加了附录F。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件的附录A、附录B、附录C、附录D、附录E、附录F均为资料性附录。

本文件由全国认证认可标准化技术委员会（SAC/TC261）提出并归口。

本文件起草单位：中国海关科学技术研究中心、中国合格评定国家认可中心

本文件主要起草人：

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——GB/T 27403-2008；

——本次为第一次修订。

引 言

本文件旨在规范、指导和帮助相关实验室，使其满足GB/T 27025《检测和校准实验室能力的通用要求》（ISO/IEC 17025:2017，IDT）和本专业领域质量控制的具体要求，明确和理解相关的质量控制措施的实施。

GB/T 27025《检测和校准实验室能力的通用要求》（ISO/IEC 17025:2017，IDT）的全部条款适用于本文件。建议相关实验室在使用本文件前，应熟悉和掌握GB/T 27025《检测和校准实验室能力的通用要求》（ISO/IEC 17025:2017，IDT）的相关内容。

本文件虽然包括了适用于本专业领域的部分我国现行法规以及部分安全相关的内容，但不作为判断实验室是否满足相关法规及安全要求的依据。

实验室质量控制规范 食品分子生物学检测

1 范围

本文件规定了食品分子生物学检测实验室质量控制的通用要求、结构要求、资源要求、过程要求、管理体系要求。

本文件适用于从事以分子生物学技术为主要手段,以食品及其相关产品等为检测对象的实验室的质量控制。其它领域的分子生物学检测实验室亦可参照使用。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 19000 质量管理体系 基础和术语

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 27000 合格评定 词汇和通用原则

GB 27421 移动式实验室 生物安全要求

GB/T 29471 食品安全检测移动实验室通用技术规范

GB/T 37868 核酸检测试剂盒溯源性技术规范

JJF 1265 生物计量术语及定义

SN/T 4562 转基因检测实验室测量不确定度评估指南

RB/T 032 基因扩增检测方法确认与验证指南

ISO 22174 食物链微生物学—用于检测和定量微生物的聚合酶链反应(PCR)——一般要求和定义

ISO 23418 食品链微生物学—细菌分型和基因组特征的全基因组测序——一般要求和指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

GB/T 19000、GB/T 27000和JJF 1265中的以及下述的术语和定义适用于本标准。

注 GB/T 19000规定了与质量有关的通用定义,GB/T 27000 则专门规定了与认证和实验室认可有关的定义。若GB/T 19000与GB/T 27000 和JJF 1265中给出的定义有差异,优先使用GB/T 27000和JJF 1265中的定义。

3.1

食品分子生物学检测实验室 molecular biological testing laboratories of food

以分子生物学检测技术为主要手段,以食品及相关产品为检测对象的实验室。

3.2

聚合酶链式反应 polymerase chain reaction; PCR

是体外酶促合成特异DNA片段的一种分子生物学实验方法,主要由高温变性、低温退火和适温延伸三个步骤反复的热循环构成:即模板DNA先经高温变性为单链,在DNA聚合酶和适宜的温度下,两

条引物分别与两条模板DNA链上的一段互补序列发生退火，接着在DNA聚合酶的催化下以四种dNTP为底物，使退火引物得以延伸。如此反复，使位于两段已知序列之间的DNA片段呈几何倍数扩增。

3.3

生物安全柜 biological safety cabinets; BSCs

一种能通过机械装置吸入空气，在工作区域内造成负压环境，柜内气体环流，废气经过滤后排放的装置。

3.4

生物危害工作区 biohazard work Area; BWA

预留出来进行生物材料相关工作的区域。它可以是一个完整的房间，或是房间的一部分。

3.5

气溶胶 aerosol

分散在气体中的固体粒子或液滴所构成的悬浮体系。

3.6

阴性过程对照 negative process control

贯穿分析过程所有阶段，不含靶基因的样品。

注：该过程可能包括样本制备、增菌、核酸提取和目标扩增。

【来源，ISO 22174-2024 3.5.1】

3.7

阳性过程对照 positive process control

样品中掺入微生物，以与样品相同的方式处理，以监测基于聚合酶链式反应的方法的整个过程。

【来源，ISO 22174-2024 3.5.2】

3.8

内部过程对照 internal process control

添加到样品中，以进行与目标微生物相同程序的测试，以评估整个方案的质量。

注：该内部过程对照，应在测试样品中天然不存在。

【来源，ISO 22174-2024 3.5.3】

3.9

阴性提取对照 negative extraction control

提取空白

在没有测试样品的情况下，对核酸提取过程的所有步骤进行控制。

【来源，ISO 22174-2024 3.5.4】

3.10

内部扩增对照 internal amplification control

以规定的量或拷贝数添加到每一反应中的核酸，作为内部扩增对照。

注1：这种核酸序列可以是内源性的（天然存在于被测基质中）或外源性的（非天然存在于被测基质中）

注2：外源性内部扩增对照可以是同源的（所用引物与扩增靶标的引物相同）或异源的（所用引物与扩增靶标的引物不同）。同源内部扩增控制扩增子应与微生物靶扩增子区分开来（例如，通过大小或插入不同的探针结合序列）。

【来源，ISO 22174-2024 3.5.5】

3.11

外部扩增对照 external amplification control

以规定的量或拷贝数添加到所提取核酸的等分试样中，作为单独反应中扩增的对照。

注：强烈建议将外部扩增控制扩增产物与靶扩增产物区分开（例如通过插入限制性酶靶序列）。

【来源，ISO 22174-2024 3.5.6】

3.12

阳性 PCR 对照 positive polymerase chain reaction control

含有规定量或拷贝数的目标核酸的反应。

【来源，ISO 22174-2024 3.5.7】

3.13

阴性 PCR 对照 negative polymerase chain reaction control

无模版对照，no-template control, NTC

用不含目标核酸和PCR抑制剂的水（或其他PCR惰性底物，如研磨或洗脱缓冲液）制成的PCR对照

【来源，ISO 22174-2024 3.5.8】

3.14

缩略语

3.14.1

PCR: polymerase chain reaction, 聚合酶链式反应, 简称 PCR。

3.14.2

DNA: deoxyribonucleic acid, 脱氧核糖核酸。

3.14.3

RNA: ribonucleic acid, 核糖核酸。

3.14.4

dNTPs: deoxyribonucleoside triphosphate, 脱氧核苷酸三磷酸。

3.14.5 DNA

Taq DNA 聚合酶: Taq DNA polymerase, 耐热 DNA 聚合酶。

3.14.6

RNase: 核糖核酸酶, RNA 酶。

3.14.7

DEPC: diethylpyrocarbonate, 焦碳酸二乙酯。

4 通用要求

4.1 公正性

实验室不应使用同时在两个及以上检验检测机构从业的人员。

4.2 保密性

实验室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

5.1 实验室一般为独立法人，非独立法人的实验室，应有其在母体机构中的位置，以及母体对不干涉其检测活动的承诺。

5.2 实验室技术管理层中必要时应包括一名具有丰富的分子生物学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。

5.3 涉及生物安全实验室，应符合相应国家、行业、地方的标准和规定等。

5.4 在本实验室固定设施以外场所，如在临时实验室、移动实验室、客户的设施、抽样现场或野外现场采样，都必须在适当的技术控制和有效监督下进行。需要时，可在提供检测结果的上述场所设授权签字人，且应保留其所有相应活动的记录。

5.5 适宜时，实验室应任命至少一名放射性物质保护员和多名放射性物质保护监督员。放射性物质保护员负责设计、执行和维护放射性物质保护规划；放射性物质保护监督员负责监督日常工作，保证良好的放射性物质使用行为。实验室应明确规定放射性物质保护员和放射性物质保护监督员的任命、作用和职责。

5.6 实验室应设置生物安全责任人和生物安全监督员，负责生物安全。实验室应规定生物安全责任人的作用和职责。

6 资源要求

6.1 总则

实验室应获得管理和实施实验室活动所需的人员、设施、设备、系统和支持服务。

6.2 人员

6.2.1 实验室分子生物学检测人员应具备以下条件：

- a) 熟悉分子生物学基础知识；
- b) 熟悉生物检测安全知识和消毒知识；
- c) 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；
- d) 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。
- e) 从事检测活动的人员应具备分子生物学相关专业大专以上学历。如果学历或专业不满足要求，应有 10 年以上相关专业检测经历。
- f) 授权签字人具有分子生物学专业本科以上学历，且在本专业领域工作 5 年以上，或具有同等能力。

注1：“同等能力”指需满足以下条件：

- a) 大学专科毕业，从事分子生物学检测工作8年及以上；
- b) 大学本科毕业，从事分子生物学检测工作5年及以上；
- c) 硕士研究生毕业，从事分子生物学检测工作3年及以上；

d) 博士研究生毕业，从事分子生物学检测工作1年及以上。

注2：“同等能力”的年限可以累计，但仅累计从事食品分子生物学检验检测工作的年限。

6.2.2 应当按照所开展检测项目及样品量配备检测人员，以保证准确、及时、高效完成检测和结果报告。

6.2.3 适用时，实验室相关人员应接受有关放射性技术、放射性保护方面的指导和培训，应遵守放射性试剂操作程序。

6.2.4 只有经过技术能力评价确定满足要求的人员才能授权其独立从事检测活动。实验室可通过质量控制结果，包括能力验证、测量审核、实验室间比对、人员比对、留样再测、盲样测试、现场监督实际操作、核查记录等方式，定期监控人员的持续能力。

6.2.5 应对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 实验室的设计和布局应符合相关法律法规的要求，生物安全应符合《实验室 生物安全通用要求》（GB 19489）。实验室的设计和布局应以能获得准确可靠的检测结果为重要依据，并减少潜在的对样品的污染和对人员的危害，应将不相容活动的相邻区域进行有效隔离，合理设计实验室分区，防止不同区域间的交叉污染对实验结果造成影响，并确保技术工作区域中的生物、化学、辐射和物理危险控制在已经过评价的、适当的风险程度；实验室应能将意外伤害和职业病的风险降到最低，并能保证所有工作人员和来访者免受某些已知危险的伤害。基因扩增实验室的区域划分可参见附录A。

6.3.2 实验室的各个区域内都应有适于在区域内开展工作的环境和设施，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，要留有足够的无障碍安全工作区，其中包括大件设备周围的空间，以便于维修保养人员的工作。对于从事测序或全基因组序列分析工作的实验室，空气流动、振动、温度和湿度会对众多测序仪的性能带来干扰，在实验室放置设备时应对此予以考虑。实验室应参考测序仪制造商的现场操作指南以获取具体指导。

6.3.3 实验室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。

6.3.4 必要时，应实现样品在工作区内的单向流动。进入各个工作区域应遵循单一方向顺序，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。只有在更换个人防护设备后，才能允许人员从后实验工作区转移到前实验工作区。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，当人员离开工作区时，不得将各区特定的工作服带出。

6.3.5 实验室的气流不应导致空气从后实验区域循环到前实验区域。适宜时，房间内动态环境空气送风和排风路径应相互独立。

6.3.6 用于检测的设施，包括（但不限于）能源、照明、供水、废弃物处理和环境条件等，应有助于检测的正确实施。实验室应确保其环境条件满足检测工作需要并确保安全，不会使检测结果无效或检测质量受到不良影响。在实验室固定设施以外的场所进行抽样、检测时，应将影响检测结果的设施和环境条件的技术要求形成文件。

6.3.7 实验室应建立相应的程序，监测、控制和记录环境条件。适用时，对防止交叉污染、生物消毒、灰尘、辐射、温度、湿度、气溶胶等问题应予重视，使其与相关的分子生物学检测工作相适应。当环境条件危及到检测结果时，应停止检测。

6.3.8 实验室应有相应的安全消防保障条件和措施。实验室在使用、存放及处理放射性、爆炸性、毒害性和污染性物质时，应符合有关安全、防护、疏散、环境保护等规定。

6.3.9 实验室应有限制进入的措施，对影响检测质量的区域的进入和使用，应加以控制。应采取适当的措施保护样品及环境，防止未经授权者访问。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。

6.3.10 实验室应采取措施确保实验室的良好内务。不同的实验区域应有其各自的清洁用具以防止交叉污染。

6.3.11 实验室应提供适宜的存储空间和条件，以保证样品、核酸提取物、PCR 产物、蛋白质、芯片、试剂、文件、记录等的完整性。

6.3.12 实验室应制定清洁和维护程序，并告知清洁和维护的人员实验室空间工作流程的限制和具体条件。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。

6.3.13 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。危害性废弃物管理可参考附录 E。

6.4 设备

6.4.1 实验室应配备正确进行食品分子生物学检测（包括样品处理、核酸和蛋白质制备、PCR 扩增、杂交、电泳、芯片扫描、数据处理与分析等）所必备的抽样和检测设备，具体设备可参见附录 B。但实验室需要使用永久控制以外的设备时，应确保这些设备满足本标准的要求。

6.4.2 分子生物学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 用于检测和抽样的设备及其软件应达到要求的准确度，并符合相应的检测方法要求。

6.4.4 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。

6.4.5 实验室应根据制造商的使用说明、操作手册或其它相关文件，制定设备使用和操作规程，并及时更新。若无上述文件时，实验室应按照规定编制设备的使用和操作程序。这些文件应便于实验室有关人员取用。所有主要设备均应有使用记录、维护记录和故障检修记录等。实验室固定场所以外的检测设备也应该按照实验室制定的相关程序进行管理。

6.4.6 对于进行测序分析的实验室，在用于数据分析之前应对软件和生物信息学分析流程进行验证。分析流程可参见 ISO 23418。实验室应制定并实施相关计划，确保在软件组件更新时能够更新生物信息学分析流程。应评估和记录软件更新的影响。在遇到软件更新的情况下，可能需要重新验证。

6.4.7 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。

6.4.8 对结果有重要影响的仪器的关键量或值，如生物安全柜、超净工作台、PCR 仪、荧光定量 PCR 仪等，应纳入设备的校准/检定计划。

6.4.9 微量移液器要定期进行期间核查以保证容积的准确。

6.4.10 试剂和耗材

6.4.10.1 实验室应有对试剂和耗材进行接收/拒收、核查和贮存的程序，确保所用的试剂和耗材质量符合相关检测的需要。实验室不得使用未达到相关标准的试剂和耗材。

6.4.10.2 实验室应在初次使用前，验证并记录每一批对检测起决定性作用的试剂。所用 Taq 聚合酶/反应预混液/试剂盒/引物和探针等在使用前应进行性能验证，应通过核酸阳性物质及阴性物质验证其性能。适用时，保存期限内应对其适用性进行核查。

6.4.10.3 实验室应编制在整个分析过程中关键试剂和耗材的清单，对试剂进行管理控制，包括全部相关试剂、质控材料以及校准品的批号、实验室接收日期以及这些材料投入使用的日期等。

6.4.10.4 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。

6.4.10.5 除非另有说明，否则只能利用适用于分子生物学的分析级试剂，不含 DNA、DNA 酶、RNA 和 RNA 酶。水应为分子级，不含核酸酶。

6.4.10.6 试剂应在适当的条件下得到储存和使用，可根据供应商的建议进行储存、稀释、过期处理等。试剂在储存过程中，应保护其所承装的容器和耗材等免受污染剂（如灰尘等）的污染。除非另有规定，否则试剂和溶液不得在过有效期后使用，应在-20° C 条件下储存。试剂应采用小份储存的方式，以尽量降低因频繁冷冻/解冻而造成的污染或活性丧失的风险。应验证分子生物学实验中所用的试剂（如酶）在储存或处理后的可接受活性。

6.4.11 化学试剂

6.4.11.1 化学试剂应按照其类别（如自燃性、氧化性、腐蚀性、易燃性和毒性等）存放。有危害的液体试剂应用有周边保护的托盘存放。所有盛装危险化学品试剂的容器都应有清晰标记。对于有毒有害、易燃易爆、腐蚀性试剂，实验室应建立相应的安全管理程序。

注 1：试剂的发放宜采取“先入先出”的原则，并注意保质期较短的物品的发放。

注 2：具有毒性、放射性、致癌或致突变性的试剂应该有明显的危险标识。

6.4.11.2 所有试剂应正确标明，包括试剂的名称、浓度、配制日期、配制人的姓名、有效期以及危险/安全标识。实验室应保留所有储存、发放、使用和处理实验试剂的记录。

6.4.12 放射性试剂

6.4.12.1 适用时，实验室应制定放射性试剂的操作程序。该程序应包括对以下内容的详细说明：

- a) 使用放射性试剂的地方应有显著的标识（包括提示、警告和禁止）；
- b) 出现放射性事故时应采取的行动和处理措施；
- c) 使用放射性试剂区域和未使用放射性试剂区域的划分；
- d) 未使用放射性试剂区域被放射性试剂污染的处理措施；
- e) 放射性试剂使用区域日常清洁和消毒的程序和方法。

6.4.12.2 在使用放射性试剂之前，实验室应对使用目的、范围和地点进行评价。

6.4.13 生物试剂使用

6.4.13.1 所有生物试剂的储存应符合其生物学特性。储存生物试剂的区域应位于生物危害工作区之内并用适当的标记注明。按照适合的操作规程对生物试剂进行使用及处置。

6.4.13.2 荧光 PCR，应使用既无明显 PCR 抑制作用也无荧光干扰的试剂和耗材，荧光通常来自有色反应容器和增菌液的某些成分；荧光 PCR 反应混合液的配置，应避免使用有色移液管吸头和反应管，应留意预防反应管外的灰尘颗粒污染。

6.4.13.3 如果采用光敏试剂（如荧光染料、生物发光试剂等），在储存和处理过程中应避免直接光照。

6.5 计量溯源性

6.5.1 基因识别结果或鉴定结果可溯源至公认的基因序列。

6.5.2 核酸测试试剂盒标示的试剂组分的标称特性值和量值的溯源性可参照 GB/T 37868 执行。

6.6 外部提供的产品和服务

6.6.1 实验室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 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。

6.6.3 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。

6.6.4 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：分子生物学领域具有探索性，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，即合同可能处于变化过程中，因而对合同要实施动态管理。

7.1.2 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。

7.1.3 实验室应制定能力评审的方案，以证实实验室具备必要的人力、物力和信息资源，且实验室工作人员具有相应的专业技能与经验，以满足所从事检测项目的要求。该评审也可包括以前参加的用定值样品检测确定测量不确定度、检出限、置信区间等外部质量评估的结果。

7.1.4 实验室应关注合同中约定的结果符合性判定规范或标准与检测方法的一致性，适用时，还应明确所使用的抽样方法。

7.1.5 当核酸提取或其他分子生物学试验无法完成时，应向客户做出说明并保留相关记录。

7.1.6 在客户或其代表合理进入实验室的相关区域观察为其开展的检测时，实验室应严格按照相关管理规定，确保对检测环境和检测结果没有造成影响，并确保观察人员的安全。

7.1.7 实验室应保存合同评审记录，包括任何重大的改动和相关讨论。评审也应包括外部供应商实施的实验室活动，并获得客户同意。

7.2 方法的选择、验证和确认

7.2.1 实验室应选择适合的方法和程序进行所有检测活动，包括抽样活动。该方法和程序还应充分考虑到分子生物学实验中污染的预防和处置。对于 PCR 实验中的污染和 RNA 酶污染的预防和处置可参考附录 C 和附录 D。

7.2.2 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初加工的样品，实验室应该充分认识到这些限制。

7.2.3 必要时，应制定作业指导书以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等。

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

7.2.4 标准方法在引入检测之前，实验室应验证能够正确地运用这些方法。方法验证应包括对标准方法执行能力的验证和相关食品基质的验证。

注：标准方法中未纳入的食品基质的验证指南，可参考 RB/T 032。

7.2.5 方法验证试验时，应至少由 2 名不同的授权人员进行，应使用污染水平达到灵敏度试验最低要求的样本进行。应验证方法适用范围内的每种基质类别，从核酸提取开始，每个样品至少应进行两次。

7.2.6 对于定性检测项目，优先选择天然污染样品，不可得时，可采用人工污染样品进行。

7.2.7 对于定量检测项目，应验证其最低检出限（LOD）和定量限（LOQ）。采用标准曲线法进行定量检测时，应采用适当数量的校准点和平行样，应覆盖定量范围，例如，采用至少4个校准点，每个校准点2个平行样，共 4×2 个值，或6个校准点，对每个点进行一次测量，共六个值。

7.2.8 对于全基因组测序（WGS），可以先针对试验不同环节，如纯培养、DNA提取、DNA测序、生物信息学分析等，分开进行验证，然后再验证完整流程。验证应能证明其方法的重复性、再现性和准确性。具体工作流程的验证，可参考ISO 23418。

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。

7.3.2 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。

7.3.3 运输和储存应在一定的条件下（如合适的冷藏或冰冻），以保持样品的完整。监测条件并保存记录。如果条件合适，应有从取样到送达检测实验室的运输和储存的详细的责任档案。样品的检测要尽可能在取样之后及时进行，并且要符合相关标准要求。

7.4 检测或校准物品的处置

7.4.1 实验室检测或校准物品的管理程序，应包括为保护检测样品的完整性以及实验室与客户利益所需的全部条款。并考虑到样品中可能存在的有毒有害病原体或毒素等对人员和环境的危害。

7.4.2 实验室应根据检测项目、检测方法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。

7.4.3 样品的接收

7.4.3.1 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，如发现异常情况，或与被告知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。

7.4.3.2 针对部分分子生物学检测，如物种鉴定等，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，应在分子生物学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。

7.4.3.3 用于全基因组测序分析的细菌分离物等样本，实验室在收到后，应能确保分离物的纯度，最好在执行后续步骤之前确认到种。并在其储存和培养过程应尽量降低基因变化的可能性，例如在培养或传代过程中引入的质粒丢失等，如果担心样本可能会出现质粒丢失等不稳定的情形，在条件允许的情况下，应从至少两个重复样本中收集序列。实验室应记录收到细菌分离物后进行传代的次数。

7.4.4 核酸的提取与质量

7.4.4.1 实验室应选择适宜的核酸提取程序，以确保提取的核酸的质和量具有重复性和再现性，并与后续分子生物学检测相匹配，实验室应评估并记录核酸的数量和质量。

7.4.4.2 实验室可通过分光光度法、荧光法或凝胶电泳等来估算提取的核酸浓度，可通过分光光度法或凝胶电泳等来估算提取的核酸的纯度。

7.4.4.3 用于PCR、荧光PCR、数字PCR等扩增反应的核酸片段的平均长度应该大于或等于被测PCR产物，且不应含有表现出明显PCR抑制作用或荧光干扰的物质；用于定量检测的核酸提取物，应确保目标核酸片段的量具备高度的可重复性；用于全基因组测序分析的DNA提取物，应满足测序平台所需质量。

7.4.4.4 适用时，可在裂解前加入浓缩步骤（如离心或过滤）和/或在裂解后采取纯化步骤，从而确保提取的目标核酸含量及质量满足要求。

7.4.4.5 荧光干扰通常来自有色反应容器和增菌液的某些成分。

7.4.4.6 煮沸等核酸制备方法得到的核酸不稳定，制备后应立即使用。

7.4.4.7 细菌的核酸提取物可能会受到诸多因素的影响，包括细胞类型（革兰氏阳性或阴性）、生长阶段（早期、中期、晚期或静止期）和培养基等。

7.4.5 样品的储存与转移

7.4.5.1 实验室应制定程序，以保证样品的储存、转移满足检测要求，特殊样品还需低温、避光保存，以保证样品中核酸的完整性。该程序还应包括过程/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。实验室应配备足够的冷冻冷藏设备，监控和记录这些环境条件。

7.4.5.2 实验室应避免反复冻融核酸溶液。

7.4.5.3 实验室应使用适宜的塑料容器，如低结合塑料制品来储存低拷贝数的核酸，尤其是 RNA，以避免其吸附核酸。

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。

7.5.2 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。

7.6 测量不确定度的评定

7.6.1 实验室应意识到所进行的定性实验中出现假阳性和假阴性结果的概率。

7.6.2 某些情况下，检测方法的性质会妨碍对测量不确定度进行严密的计量学和统计学上的有效计算。这种情况下，实验室至少应努力找出不确定度的所有分量且作出合理评定，并确保结果的表达方式不会对不确定度造成错觉。合理的评定应依据对方法性能的理解和测量范围，并利用过去的经验和确认的数据。

注1： 测量不确定度评定所需的严密程度取决于某些因素，如：

- 检测方法的要求；
- 客户的要求；
- 以作出满足某规范决定的窄限。

注2：某些情况下，公认的检测方法规定了测量不确定度主要来源的值的极限，并规定了计算结果的表示方式，这时，实验室只要遵守该检测方法和报告的说明，并经技术确认，即被认为符合本款的要求。

7.6.3 转基因检测实验室的不确定度评估可参考 SN/T 4562 进行。

7.7 确保结果有效性

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。

7.7.2 应定期使用有证标准物质/标准样品进行监控，或使用均匀性和稳定性满足要求的质控样品开展内部质量控制活动。实验室应根据工作量、人员水平、上一年度质量控制结果、能力验证结果、外部评审等情况对定期做出明确规定，必要时，可调整质量控制活动的频次和方式。内部质量控制的频率还应考虑到实验的频次、样品量、实验的自动化程度、实验的技术难度、方法的可靠性等。

7.7.3 内部质量控制是由实验室对其所承担工作进行连续评估的所有程序组成，其主要目的是确保每个工作日检测结果的连贯性及其与特定标准的一致性。实验室应制订周期性检查程序以证实检测可变性（例如检测者之间的差异和设备或材料之间的差异等）处于控制之下，该程序应覆盖实验室的所有检测项目和所用检测人员。

7.7.4 实验室监控活动数据分析结果不仅可评定检测结果的偏差，还可以检查整个质量管理体系的有效性。

7.7.5 对于定量 PCR，标准曲线的动态范围必须涵盖特定应用的预期值，扩增效率应介于 90%至 110% 之间（ $-3.6 > \text{斜率} > -3.1$ ）， R^2 系数应 > 0.98 。

7.8 报告结果

7.8.1 针对源性成分等检测，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。

7.8.2 针对转基因检测，报告中应详细给出靶基因名称及其检测结果，如 pCaMV 35S：检出，而不应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。

7.8.3 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。

7.8.4 当检测规范或标准中未规定判定规则，实验室需要作出规范或标准符合性声明时，应与客户商定，并在报告中明确所使用的判定规则及其来源。必要时，考虑抽样方案和不确定评估的结果。

7.8.5 报告生物信息学分析结果时，应包括以下信息：

- a) 分析流程的版本；
- b) 输入数据的标识；
- c) 适用时，所用的参考基因组或 MLST 数据库，以及版本；
- d) 可选情况下的分析设置（例如，针对确认、过滤或屏蔽的最小覆盖度设置）；
- e) 基因组比较结果的解读和结论（如果是应用的一部分）。

7.9 投诉

7.9.1 实验室应有政策和程序处理来自客户或其它方面的投诉，方式应多样、多渠道。实验室应保存投诉以及针对投诉所开展的调查和处理措施的记录。客户投诉及处理情况应作为管理评审的输入之一。

7.9.2 鼓励实验室对其服务客户进行调查，获取正面和负面的反馈信息，改进、完善实验室管理体系。

7.10 不符合工作

7.10.1 实验室应有专门的程序和规定，以识别、控制检验过程中的不符合工作。这些程序和规定应保证：

- a) 指定专人负责处理不符合工作问题；
- b) 明确规定应采取的措施；
- c) 考虑不符合工作可能产生的影响，必要时应通知客户；
- d) 必要时终止检验，不外发报告；
- e) 立即纠正，必要时采取纠正措施；
- f) 若检验结果已向外发布，应考虑是否需要收回，或以适当方式善后；
- g) 指定专人有权中/终止检验和批准恢复检验工作；
- h) 记录每一次出现的不符合工作并归档保存，应定期评审这些记录，以发现趋势并采取预防措施。

7.10.2 实验室应制定并实施相关程序，规定如何审核、发布存在不符合工作时的检测报告，并保存这

些工作记录。

7.10.3 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。PCR 污染的原因分析和处置及 RNase 污染的处置可参考附录 C 和附录 D。

7.10.4 对从事测序和全基因组序列分析的实验室，应建立监控运行质量和错误（样本错误识别或交叉污染）的程序。如果样本识别错误或遭到污染，应调查测序错误的根源：

a) 确保包含错误识别样本或被污染的样本的运行不会被用于生物信息学分析（样本解读或上传到数据库）；

b) 实施相关措施以维持质量并防止错误再次发生。

7.11 数据控制和信息管理

7.11.1 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。

7.11.2 用于生物信息学分析的目标基因检测的数据库（如毒力基因、抗菌药物耐药基因、血清分型）应予以记录，包括版本号和更新信息。用于确定目标基因是否存在的标准应得到明确界定，例如覆盖度和同一性的百分比等。

8 管理体系要求

8.1 方式

针对分子生物学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。

8.2 管理体系文件（方式 A）

8.2.1 实验室应制定生物安全规章制度，确保生物安全。

8.2.2 实验室在职业行为、检验质量以及遵守管理体系和相关法规政策方面的承诺。

8.3 管理体系文件的控制（方式 A）

8.3.1 实验室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。

8.3.2 管理体系相关文件均应有唯一性标识，包括：

- a) 标题、文件号及发布日期；
- b) 修订日期或修订号，版本标识；
- c) 页码和页数（如适用）；
- d) 发布机构；
- e) 来源的标识；
- f) 文件分发号（如果适用）。

8.4 记录控制

- 8.4.1 实验室应建立并实施对记录进行识别、采集、索引、查取、存放、维护以及安全处理的程序。
- 8.4.2 所有记录均应清晰明确，便于检索，并应符合有关规定。应提供一个适宜的存放环境，以适当的形式进行存放，以防损毁、破坏、泄密、丢失或被盗用。
- 8.4.3 实验室应明确规定各种记录的保存期。保存期限应根据检验的性质或每个记录的具体情况而定，某些情况下还需符合有关法律法规的要求。

记录至少包括：

- a) 检验申请表或采样记录；
- b) 检验结果和报告；
- c) 仪器打印出的结果；
- d) 试验计划；
- e) 原始工作记录簿 / 记录单；
- f) 试验数据统计记录；
- g) 质量控制记录；
- h) 投诉及所采取的措施；
- i) 内部及外部审核记录；
- j) 能力验证 / 实验室间的比对记录；
- k) 质量改进记录；
- l) 仪器使用及维护记录，包括内部及外部的校准记录；
- m) 外部服务供应的有关记录；
- n) 设备、耗材的验收记录；
- o) 差错 / 事故记录及应对措施；
- p) 人员培训及能力记录。

8.4.4 当记录中出现错误时，每一个错误应划改，并将正确值填写在其旁边，应能识别出更改前内容。记录的所有改动应有改动人的签名或签名缩写。电子存储的记录也应采取同等措施，以避免原始数据的丢失或改动。

8.5 应对风险和机遇的措施（方式 A）

分子生物学实验室应充分识别可能导致实验室安全和影响检测质量所带来的风险，这种风险可能来自于环境、样品制备、人员操作的规范性、设备的污染处理等方面，实验室应有程序和措施规避该风险。应建立突发事件的应急预案，实验室应保存突发事件及其处理措施的记录。

8.6 改进措施（方式 A）

- 8.6.1 实验室应通过满足关于检测质量和客户的要求，持续改进实验室的管理体系。
- 8.6.2 实验室应通过利用质量方针、质量目标、数据分析、沟通、管理评审、内部审核、能力验证、预防和纠正措施、客户投诉等渠道，持续改进实验室管理体系的有效性。
- 8.6.3 实验室应建立质量指示系统，用于监控、评价检验工作的效果。如该指标评价结果表明有改进的可能性，应予以考虑，以使实验室工作质量得到持续改进。

8.7 纠正措施（方式 A）

如所采取的纠正措施涉及某项变更时，应将这些变更形成文件并发布给有关人员执行。如果对不符合工作的调查分析表明管理体系可能存在问题，则实验室应进行旨在解决存在问题的管理体系附加审核或管理评审。应对纠正措施的结果进行评审。

8.8 内部审核（方式 A）

8.8.1 为检查证实分子生物学检测及相关工作与管理体系的符合性，应定期（至少每年一次）对管理体系各要素的执行情况进行检查审核，应包含质量体系的所有要素和所有相关部门及人员。

8.8.2 应由质量负责人或指定有资质的人员负责对内部审核进行策划、组织并实施，只要资源允许，审核人员应与被审核的工作无直接关联。应制定内部审核的程序文件，其中包括人员职责、审核类型、频次、依据、工作流程、采用方法以及所需的相关文件。

8.8.3 审核中如果发现不符合工作，实验室应立即停止工作，并进行纠正，必要时采取适当的纠正措施或预防措施，并将这些措施形成文件，送达相关部门实施整改，在约定时间内完成，并指定专人负责跟踪审核，验证整改的有效性。如果审核发现的存在问题可能影响到已发出的检测结果，应书面通知客户。

8.8.4 审核结果要以文件形式发布至各相关部门和人员。

8.8.5 审核结果及问题整改跟踪验证情况应予以记录，并作为管理评审的输入之一。

8.9 管理评审（方式 A）

8.9.1 实验室应对管理体系及其它相关工作进行评审，包括分子生物学检测相关咨询工作，以确保得到管理体系的适宜性和有效运行所需要的资源保证等外部条件，并及时进行必要的变动或改进。管理评审应至少每年一次，必要时可临时进行评审。

8.9.2 管理评审由最高管理者主持，应确保管理评审的输入和输出的完整性，评审结果应包括对管理体系适宜性做出评价，以及影响管理体系适宜性、有效性存在问题的解决方案，并跟踪解决方案实施情况。

8.9.3 管理评审结果应向相关人员通报，并将文件和记录归档。

附录 A

(资料性)

基因扩增实验室区域划分

A.1 总体要求

A.1.1 实验室应设置单独的工作区域（房间和/或工作站），以减少潜在的对样本的污染和对人员的危害，各工作区域之间应实现物理隔离，相对独立，不能有空气的直接相通。适用时，各分隔的工作区域设置缓冲间。

注：工作区域指特定的房间，专用于一个或多个分析阶段的封闭房间；或工作站：用于某一分析阶段的工作台或紫外线柜上的物理分隔区域，可能是房间的一部分。

A.1.2 各工作区域应有明显的标记。

A.1.3 各工作区域均应配备专用设备、器具和耗材，包括加样设备。适当时，可以用颜色或其他方式对不同区域内的用品，包括工作服，加以区分，避免不同工作区域内的设备、用品混用。

A.1.4 实验室可根据检测方法及使用仪器的功能，区域可适当合并。例如使用实时荧光PCR仪，扩增区、扩增产物分析区可合并；采用样本处理、核酸提取及扩增检测为一体的自动化分析仪，则样品制备区、扩增区、扩增产物分析区可合并。

A.1.5 实验室应避免在试剂配制和贮存区、预混液配置区采用负压气流，在样品制备区、核酸扩增区和扩增产物分析区采用正压气流。

A.2 实验室工作区域的设置及要求

A.2.1 试剂配制和贮存区

用于试剂的制备、分装和贮存（包括商品化的试剂），及实验耗材，如离心管、吸头等的贮存和准备。

注意：

- 1、试剂和耗材等材料应当直接运送至该区域，不能经过扩增区。
- 2、试剂经验收合格后，可根据需要将其分装贮存备用，贮存试剂的分装体积可根据实验室内一次测定所需的扩增反应数决定。
- 3、用于扩增的试剂应低温贮存。试剂盒中的阳性对照品及质控品不应当保存在该区域，可以根据类别保存在核酸扩增区或样品制备区。

A.2.2 预混液配置区

用于预混液（包括引物、探针、dNTPs等）的配置、分装等。

注意：本区域可由符合要求的工作站替代，适宜时，也可放在试剂配制和贮存区内。

A.2.3 样品制备区

用于待检样品制备，核酸（RNA、DNA）的提取、纯化、质量检查、贮存及其加入至预混液内，各种标准物质或质控品的制备等。进行RNA检测的实验室，在此区域应有专门的RNA操作区。

注意：

1、粉碎样品的器皿应单独使用，所用的器具在使用前应经过彻底清洗并采取高压等适当的消毒方式，防止交叉污染。

2、已纯化的核酸应保存于-20℃或-80℃，避免反复冻融，阳性和阴性标准物质核酸可调整至常用的使用浓度后分装并冷冻保存。

3、在制备具有高浓度细胞和/或核酸材料（如阳性对照等）时，宜与样品制备分开不同时间制备，且宜在工作区内的不同分区处理这些材料。

4、为避免样本间的交叉污染，加入待测核酸后，必须盖好含反应混合液的反应管。

5、对具有潜在传染危险性的材料，应符合生物安全实验室防护设备、个人防护和操作规范的要求，且必须在生物安全柜内开盖，并有明确的样品处理和灭活程序。

A.2.4 核酸扩增区：

用于核酸扩增、检测和序列确认等。

注意：该区域被视为存在扩增产物污染可能。在该工作区内，装有扩增反应产物的反应管应保持密闭；应尽量减少在本区内的走动，严格限制无关人员出入；加样应在超净工作台或生物安全柜内进行，超净工作台的气流方向宜选择垂流式；巢式 PCR 的第二次加样必须在此区进行。

A.2.5. 扩增产物分析区

用于扩增产物的检测和各種处理，如电泳和图像捕获、杂交、酶切、测序、质谱分析等。

注意：

1、如果不要操作扩增产物，例如实时PCR，则不需要该工作区。

2、该区域被认为会受到扩增产物的高度污染。应避免通过本区的物品及工作服将扩增产物带出；使用PCR-ELISA方法检测扩增产物时，应使用洗板机洗板，废液必须收集至1 mol/L HCl中，并且不能在实验室内倾倒。

3、只有在事先采取预防措施的情况下，才能获得授权返回到先前的工作区。

4、由于本区有可能会用到某些可致基因突变和有毒物质如溴化乙锭、丙烯酰胺、甲醛或放射性核素等，故应当注意实验人员的安全防护。

A.3 流动控制

A.3.1 气流

对于气流方向，不应允许气流从后扩增区循环到前扩增区。

适宜时，各区域内的送风和排风系统应相互独立。

A.3.2 人员

应在空间和/或时间上采用人员正向流动原则。不同工作区应采用专用的个人防护装备（如实验服、防护帽、鞋套、手套等）。在制备样本和设置扩增参数时应戴一次性手套。应定期更换实验室个人防护装备。只有在更换个人防护装备后，才允许人员从后扩增工作区进入前扩增工作区。在这些工作区开展工作之前，不熟悉人员正向流动原则的技术人员应接受相关培训。

A.3.3 文件、试剂、水、设备、扩增子和废物的流动

应避免文件、试剂、耗材、设备、样本、扩增子、废物等在转移和储存过程中出现交叉污染事件。应注意扩增子、阳性对照和样本应保存在与储存PCR试剂不同的容器中。

在后扩增工作区，应利用一次性耗材和专用器材（如架子）。装有扩增子的反应管在使用后不得进行清洗、或高压灭菌、或再次利用，以最大程度上降低污染风险。如需返回前PCR工作区之前，应实施核酸去污程序。

如果实验室采用净水系统，则不应将其安装在核酸扩增区及以后的区域。

A.4 实验室清洁

A.4.1 实验室的清洁应按照上述区域的顺序进行。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。适宜时，制定清洁和维护程序，并事先告知清洁和维护人员。

A.4.2 每个工作区域的顶部应安装紫外灯，紫外灯的波长为254nm，安装数量为每20m²安装一支40W的紫外灯，灯与地面的距离不宜超过2.0m±0.1m。实验室也可配置便携式紫外消毒装置（波长254nm），在工作完成后调至实验台上60~90cm内照射。用于各工作区域内的实验表面、台面、地面等的紫外消毒。由于扩增产物仅几百或几十碱基对（bp），对紫外线损伤不敏感，因此紫外照射扩增片段必须延长照射时间，至少2小时以上，最好是照射过夜。

A.4.3 对于可能被核酸污染的表面，应立即进行去污染处理，具体参见附录C。

A.5 环境监测

实验室应通过阴性过程对照、提取对照和PCR对照对环境进行监测，参见表1。这种环境对照可表明在试验执行过程中是否存在污染，结果判断参见表2。

附录 B

(资料性)

分子生物学实验室常用设备及计量要求

B.1 常用设备

B.1.1 温控设备：包括冰箱（4℃，-20℃，-80℃）、恒温水浴、恒温箱和液氮罐等。

B.1.2 水的净化设备：纯水仪，用于制作符合分子生物学使用标准的去离子水或超纯水。

B.1.3 消毒设备：如紫外灯、高压锅和干热灭菌锅等。

B.1.4 量值设备：包括各种型号的移液器、量筒和pH计等。实验室应按照工作区域按需配备移液器。

B.1.5 离心设备：如冷冻离心机、水平离心机和手掌式离心机等。

B.1.6 电泳设备：如电泳仪和电泳槽等。用于核酸和蛋白的检测。

B.1.7 DNA热循环仪（PCR仪）：如普通PCR仪、梯度PCR仪、荧光PCR仪、数字PCR仪等，用于核酸的扩增，可做定性和定量检测。热循环仪应符合所用聚合酶链式反应方法要求的温度和光学规范。

注：1、在PCR程序的每一温度步骤中，热循环仪的精度和均匀性均会决定PCR结果的精确性和准确性。

2、在本规范发布之际，尚无可用于光学校准的计量溯源方法。因此，应自行选择方法或采用制造商说明中推荐的方法进行光学验证。

B.1.8 凝胶成像系统：用于电泳结果的观察、拍照和分析。

B.1.9 核酸蛋白分析仪：通过核酸和蛋白在紫外260nm和280nm有不同的吸收峰的特性，用于核酸和蛋白的定量检测，及提取的DNA纯度的检测。

B.1.10 制冰机：用于制造大多数核酸和蛋白的实验操作所需的低温环境，以减少核酸酶和蛋白酶的降解。

B.1.11 微波炉：用于一些溶液的快速加热和定温加热。

B.1.12 工作环境保障设备：如生物安全柜、超净工作台等。

B.1.13 超声破碎仪：用于组织匀浆，样品的提取。

B.1.14 安全防护设备：用于紧急情况下，实验室及工作人员的安全防护，如洗眼装置、紧急喷淋等。

B.2 计量要求

B.2.1 高压灭菌锅

以下列出了校准、验证和监控高压灭菌锅的一般性方法。定量检测相同批次内和不同批次间经过高压灭菌的物品的变化，也可以提供等效的质量保证。

- a) 高压灭菌锅的时间和温度指示的准确度应满足使用要求，不能仅依靠高压锅的压力表测定时间，应使用感应器控制和监控运转循环情况；
- b) 初始验证应包括实际应用每个运转循环和每一种装载状态时的性能。经过大型维修或调试（如更换温度调节器的探测器或程序器、调整安装位置及工作循环）后或需要对培养基的质量进行控制时，应重复性能初始验证程序。应在每一批物品不同位置放置足够的温度感应器（置于充满水或培养基的容器中）以显示不同位置的温度。
- c) 在验证过程中，应提供基于加热分布图的清晰明了的操作说明。确定接受/拒绝的标准和高压灭菌锅的使用记录，包括每个运转循环的温度和时间；
- d) 通过下列措施之一进行监控：应用热电偶和记录仪打印输出图表，或者直接观察和记录达到的最高温度及达到最高温度值的时间。除直接监控高压灭菌锅的温度外，还可使用化学或生物指示剂检查每个灭菌/去污染循环的运转效果。

- e) 应及时除锈和排水。

B.2.2 砝码和天平

砝码和天平应在规定时间间隔内进行校准和送检定。使用中可能造成污染时，应使用非腐蚀性消毒剂进行清洁和消毒。

B.2.3 定容设备

- a) 应对定容设备进行初始验证，以后应定期检查以确保其准确度。对于已经过校准或检定证明符合使用要求的玻璃器皿不必进行初始验证。应检查移取不同体积液体的准确度（如在体积可变设备的几个不同设置），测定反复移取液体所得的精密度。
- b) 对于单用途的一次性定容设备，应要求供应商具备保证产品质量稳定可靠的质量体系。对此类定容设备的稳定性进行初始验证后，应对其准确度进行随机抽查。必要时应对每批定容设备的适用性进行核查。

B.2.4 生物安全柜

应定期对生物安全柜进行校准和性能确认，校准和性能确认的方法和频率见 GB 50346。

B.2.5 其它设备

- a) 应定期或在使用前验证传导计、氧气表、pH 计和其它类似设备的性能。在适当的条件下储存验证用的缓冲液，并且标记有效期。
- b) 如果湿度对于检测结果很重要，则应对湿度计进行校准。
- c) 若所测量的时间对检测结果有影响时，应使用经过校准的定时器或计时器。
- d) 若检测过程中使用离心机，应评估离心力的危险程度。如果离心机是关键性的，则需要校准。

附录 C

(资料性)

核酸检测中涉及 PCR 污染的预防和处理原则

C.1 适用范围

本原则适用于涉及PCR方法进行食品安全检测的实验室。

本原则适用于PCR实验室污染的预防和处理。

C.2 污染来源

C.2.1 样品间交叉污染：样品污染主要是由于样品在运输、储存、放置过程中处置不当造成的污染。样品核酸模板在提取过程中，由于操作不当也会导致样品间的污染。

C.2.2 试剂的污染：由于操作不当，造成核酸提取、扩增过程中各相关试剂的污染。

C.2.3 PCR扩增产物污染：这是PCR反应中最主要最常见的污染。极微量的PCR产物污染就可造成假阳性。最可能造成PCR产物污染的形式是气溶胶污染。操作时比较剧烈地摇动反应管、开盖、反复吹吸样液都可形成气溶胶而引起污染。

C.2.4 克隆质粒的污染：在用克隆质粒做阳性对照时，有时会出现克隆质粒的污染。

C.2.5 实验器具的污染：如移液器等。

C.3 防止污染的方法

C.3.1 合理的实验室分区：见附录A。实验室内的各工作区的实验用品，包括移液器等应专用。如有可能，应在装有紫外灯的层流式工作台（如生物安全柜、超净工作台）内，吸加PCR试剂，工作台内应放置PCR专业用的微量离心机、一次性手套、各量程的移液器和其他必需物品。

C.3.2 正确的实验操作：

- a) 吸加 PCR 试剂和模板的操作应严格按照要求进行，吸样要慢，尽量一次性完成，忌多次抽吸，加样时应该将枪头伸入液面以下，以免交叉污染或产生气溶胶污染。
- b) 实验中应戴手套工作，每当污染、破损或戴一定时间后，应更换手套，在进出不同区域或进行模板操作后，都应及时更换手套。
- c) 装有 PCR 试剂的微量离心管在打开之前应先做瞬时离心（约 10 秒），将管壁及管盖上的液体甩至管底部，从而减少污染手套或加样器的机会。开管动作要轻，以防管内液体溅出或形成气溶胶，造成污染。
- d) 在同时进行多个 PCR 反应时，应制备主反应混和液，再分装至 PCR 反应管，然后添加样品核酸模板。待所有待测样品和阴性对照加完样并盖好盖子后，最后加入阳性对照，以减少单个添加操作繁琐造成的污染。
- e) 各个区域的移液枪不得带出本区域，不同区域的移液枪不能交叉使用。

C.3.3 实验器具和试剂：

- a) 实验室自己配制的试剂，如去离子水、缓冲液等，在使用之前均应高压灭菌或过滤除菌。

- b) 分装 PCR 试剂：所有的 PCR 试剂都应小量分装，以减少重复取样次数，并置于-20℃保存，适当时，最好做到专人专用。另外，PCR 试剂、PCR 反应液应与样品及 PCR 产物分开保存，不应放于同一冰盒或冰箱。
- c) 所有吸头、反应管等应一次性使用，使用之前，都应经过高压灭菌器处理。若条件允许，最好使用带滤器的枪头。各工作区内的移液器要有标识，应固定使用用途，不能交叉使用

C.3.4 设置对照

实验的每一步均应纳入适宜的阳性、阴性和内部/外部对照。PCR定性和定量检测所用对照，详见表1。

表 1 PCR 分析所要求的对照

| 实验步骤 | 阴性过程对照 a | 阳性过程对照 a | 内部过程对照 b | 阴性提取对照 c | 内部/外部扩增对照 d | 阳性 PCR 对照 e | 阴性 PCR 对照 e |
|------|----------|----------|----------|----------|-------------|-------------|-------------|
| 样品处理 | ↓ | ↓ | ↓ | | | | |
| 核酸提取 | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | | | |
| 扩增 | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ |
| 检测 | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ |

注：

↓ 该对照所涵盖的程序。

a 作为实验室质量控制计划的一部分应对使用频率予以确定。

b 对于定量检测，实验室每次都应使用内部过程对照；对于定性检测，实验室应根据工作情况，按照规定的频次使用该对照。

c 除执行阴性过程对照外，该对照在任何时候都是必要的。

d 除使用内部过程对照外，每次核酸提取时，都应进行内/外部扩增对照。

e PCR 运行中，每批次样品都应使用该对照。

表 2 中给出了 PCR 结果及其解释的示例。对照中可能会出现其他结果，实验室应对其原因进行逐一分析。

表 2 PCR 结果示例

| 靶基因 | 阳性过程对照 | 阳性 PCR 对照 | 阴性过程对照 阴性提取对照 阴性 PCR 对照 | 内部过程对照 | 内部/外部扩增对照 | 结果的解读 |
|-----|--------|-----------|-------------------------------|--------|-----------|------------------|
| + | + | + | - | + | +/- | 靶基因检出 |
| - | + | + | - | + | + | 靶基因未检出 |
| + | + | + | + | +/- | +/- | 无结论 ^a |
| - | - | + | - | - | - | 无结论 ^b |
| +/- | +/- | - | - | +/- | +/- | |

- a 可能污染。
- b 可能抑制。
- c 预混液或 PCR 设置过程中可能出现错误。

C.4 分析污染原因

C.4.1 试剂污染：检测阴阳性对照反应结果。如果阴性对照反应结果为阳性，说明PCR反应体系中某一种或数种试剂被污染。若阳性对照反应结果为阴性，则说明PCR反应体系中存在抑制物质，或一种至数种PCR反应试剂失效。

C.4.2 环境污染：在排除试剂污染的可能性之后，如果污染情况仍存在，则考虑可能为环境污染。常见的污染源可能为各种实验表面的污染，包括实验台面、仪器设备表面、各种开关或把手等；对于这些污染可用擦拭实验来查找可疑污染源。其步骤如下：

- a) 用无菌水浸泡过的灭菌棉签擦拭可疑污染源；
- b) 0.1ml 去离子水浸泡；
- c) 取 5 μ L 做 PCR 实验；
- d) 电泳检测结果。

如果经过上述追踪实验，仍不能查找到确切污染源，则污染可能是由空气中PCR产物的气溶胶造成的。

C.5 污染处理

C.5.1 环境污染

C.5.1.1 稀酸处理法：对可疑器具用1mol/L盐酸擦拭或浸泡，使残余DNA脱嘌呤；

C.5.1.2 紫外照射（UV）法：紫外波长（nm）一般选择254/300nm，照射30min即可。选择UV作为消除残留PCR产物污染时，要考虑PCR产物的长度与产物序列中碱基的分布，UV照射仅对500bp以上长片段有效，对短片段效果不大。

C5.1.3 若可能是气溶胶污染，应该更换实验场所，若条件不允许，则重新设计新的引物（与原引物无相关性）。

C.5.2 试剂污染：

若经对照实验显示，为试剂造成的污染，应立即更换试剂。

附录 D

(资料性)

RNA 检测中核糖核酸酶(RNase)污染的预防

RNA酶无处不在，在实验操作的任何一步，任何疏忽或不当操作都有可能造成RNA酶污染，从而导致整个实验失败。因此，严格控制实验条件，避免任何可能的污染是保证实验成功的关键。

D.1 实验室分区：

如果可能，实验室应辟出专门的RNA操作区，离心机、移液器、试剂等均应专用。RNA操作区应保持清洁，并定期进行消毒。

D.2 人员的操作：

RNA酶最主要的污染源是操作人员的手。因此，在准备分离和分析RNA的材料和溶液时，以及在涉及RNA的一切操作过程中，都应佩戴无滑石粉的一次性手套，并勤于更换。

D.3 玻璃器皿、塑料制品和电泳槽的处理：

D.3.1 玻璃制品：实验室用的普通玻璃器皿经常有RNA酶污染，使用前必须于180℃干烤至少8小时或240℃烘烤4小时。也可用0.1%焦碳酸二乙酯（DEPC）的水溶液浸泡12小时后，121℃高压灭菌15分钟。

D.3.2 塑料制品：尽量使用一次性枪头、离心管等塑料制品，尽量避免与其它实验共享，以防止交叉污染。灭菌的一次性使用的塑料制品基本上无RNA酶，可以不经预处理直接用于制备和贮存RNA。所有旧塑料制品都必须用0.5M的NaOH处理10分钟，并用DEPC水彻底冲洗后灭菌，也可用0.1%的DEPC水浸泡过夜后灭菌烘干。

D.3.3 电泳槽 用于RNA电泳的电泳槽应用去污剂洗干净，再用水冲洗，乙醇干燥，然后灌满3%的H₂O₂溶液，于室温放置10分钟，然后用0.1%的DEPC处理过的水彻底冲洗电泳槽。

D.3.4 实验台面：当怀疑有RNA酶污染时，实验台面应进行去RNA酶处理，可以用3%的H₂O₂溶液擦拭试验台面。

D.4 试剂的处理：

能用DEPC处理的试剂应用0.1%的DEPC水配制，于37℃处理过夜后，121℃高压蒸汽灭菌15分钟。不能用DEPC处理的试剂，应用DEPC处理过的水和RNA研究专用的化学试剂配制溶液，或者在反应液内加入RNA酶抑制剂。用于干烤过的药匙称取试剂，将溶液装入无RNA酶的玻璃器皿。

附录 E

(资料性)

危害性废弃物管理

E.1 废弃物的管理原则是：

- a) 将获取、收集、运输和处理废弃物的风险减至最小；
- b) 将废弃物对人体和环境的危害影响减至最小。

E.2 危害性废弃物的管理应符合相关法律法规的要求。

E.3 实验室应建立管理危害性废弃物（包括化学性、生物性和放射性危害废弃物等）的政策和程序，该程序应满足国家或地方的相关的法律法规的要求，还应包括危害性废弃物的堆放和处置等方面的管理。

E.4 存放危害性废弃物的容器、冰箱等，应加贴通用的危害标识。

E.5 实验室应指定专人协调和负责处理危害性废弃物。应确保危害性废弃物只能由经过相关培训的人员处理，同时必须采用适当的人员防护设备。无法在实验室妥善处理的剧毒品、致癌性废弃物应交环保部门或其他有资质的单位统一处理，并做好处理记录。

E.6 实验室宜尝试建立废弃物的减少方案，如化学物质的再利用程序等。

附录 F (资料性)

移动式分子生物学实验室管理要求

F.1 基本要求

F.1.1 实验室应将移动式分子生物学实验室（以下简称移动实验室）的管理纳入实验室管理体系，依据 GB/T 29471、GB 27421 等通用要求和生物安全要求，及本规范的要求，建立实验室移动、设施维护和现场工作等的文件化的规定，并有效运行。

F.2 设施和环境

F.2.1 载具的安全性：

- a) 应满足 GB 7258 的相关要求；
- b) 应具备在行驶过程中减缓仪器设备振动的装置；
- c) 应取得工业和信息化部《道路机动车辆生产企业及产品》公告及强制性产品认证证书（CCC 证书），合规行驶。

F.2.2 移动实验室内部空间布局应满足相关业务操作并兼顾大型设备搬运、安装及维护维修要求。

F.2.3 移动实验室应按照本规范附录 A 的要求，及实验目的、类型等工作实际设置实验室工作区，各区域在物理空间上相互独立，不应有空气的直接相通。各区域间应配备供实验样本和物品单向传送的装置，各实验区应根据工作性质设置出入缓冲间。

F.2.4 移动实验室工作区应配备洗眼装置。

F.2.5 移动实验室应配备高压蒸汽灭菌器或其他适当的消毒、灭菌设备，所配备的消毒、灭菌设备应以风险评估为依据。

F.2.6 移动式实验室应采用机械送排风，实验室内部空气单向流动。各区域送排风设置应独立控制，样本制备区排风应设置高效过滤装置，送排风口应保持一定距离并应有放风、防雨、防鼠、防虫设计。

F.2.7 移动实验室检测点设置场地的环境温度、湿度和气压等条件应按移动实验室相关运行条件说明书执行。

F.2.8 移动实验室检测点设置场地应平整，并满足安装运行空间要求，必要时可配备样本接收处理、试剂耗材补充和废弃物收集处理等工作站。

F.2.9 移动实验室应具备外接市政电源的装置，对于自带发电机供电和（或）UPS 供电的移动实验室，应保障后续燃料、充电条件和电压稳定。

F.3 设备

F.3.1 移动实验室应根据实验目的、类型等工作实际，配备各实验区的仪器设备，满足检测工作安全与质量控制需要。

F.3.2 移动实验室设备的运输、安装、调试和监控应按 GB/T 29475 规定执行。

F.3.3 移动实验室内设备、器具与载具的安装连接应牢固、可靠，设备的防震性、抗运输性、电磁兼容性应满足 GB/T 29476 中相关要求。

F.3.4 移动实验室应配备行车记录仪、车用导航仪、倒车监控设备、远程监控系统（包括车辆定位功能、车辆音视频监控、语音监听、车载端视频监控、远程语音对讲通信）、报警系统（防盗、放火）和数据处理系统等，能够进行卫星定位、实时监测和数据远程接收和传输，能将现场检测的数据汇总分析。

参 考 文 献

1. GB/T 15000.4-2019 标准样品工作导则 第4部分：证书、标签和附带文件的内容
2. GB 15603-2022 常用化学危险品贮存通则
3. GB 18597-2023 危险废物贮存污染控制标准
4. GB/T 19001-2016 质量管理体系 要求
5. GB 19489-2008 实验室 生物安全通用要求
6. GBT 19495.1-2004 转基因产品检测 通用要求和定义
7. GB/T 19495.2-2004 转基因产品检测 实验室技术要求
8. GB/T 27011-2019 合格评定 认可机构要求
9. GB/T 29472-2012 移动实验室安全管理规范
10. GB/T 29473-2020 移动实验室分类、代号及标记
11. GB/T 29474-2012 移动实验室内部装饰材料通用技术规范
12. GB/T 29475-2012 移动实验室设计原则及基本要求
13. GB/T 29476-2012 移动实验室仪器设备通用技术规范
14. GB/T 29477-2012 移动实验室实验舱通用技术规范
15. GB/T 29478-2012 移动实验室有害废物管理规范
16. GB/T 29479-2012 移动实验室通用要求
17. GB/T 32146.1-2015 检验检测实验室设计与建设技术要求 第1部分：通用要求
18. GB/T 32146.3-2015 检验检测实验室设计与建设技术要求 第3部分：食品实验室
19. GB/T 33682-2017 基质辅助激光解析电离飞行时间 质谱鉴别微生物方法通则
20. GB 50346-2011 生物安全实验室建筑技术规范
21. SN/T 1194-2020 植物及其产品转基因成分检测抽样和制样方法
22. SN/T 4835-2017 实验室生物废弃物管理要求
23. SN/T 5334.1-2020 转基因植物产品的数字PCR检测方法 第1部分：通用要求与定义
24. WS/T 230-2024 实时荧光聚合酶链反应临床实验室应用指南
25. WS 233-2017 病原微生物实验室生物安全通用准则
26. 农业部2031号公告-19-2013 转基因植物及其产品成分检测抽样
27. 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
28. 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
29. 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
30. 农业部2406号公告-1-2016 农业转基因生物安全管理通用要求 实验室
31. 农业农村部公告第111号-17-2018 转基因生物良好实验室操作规范 第2部分：环境安全检测
32. 农业农村部公告第323号-9-2020 转基因植物及其产品成分检测 环介导等温扩增方法制定指南
33. 农业农村部公告第323号-21-2020 转基因植物及其产品成分检测 数字PCR方法制定指南
34. 农业农村部公告第323号-24-2020 转基因生物良好实验室操作规范 第3部分：食用安全检测
35. DB51/T 2780-2021 移动式新型冠状病毒核酸检测实验室技术规范
36. 医疗机构临床基因扩增检验实验室工作导则
37. 医疗机构新型冠状病毒核酸检测工作手册（试行第二版）
38. 药品检验所实验室质量管理规范(试行)
39. ISO 5725-1 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results —Part 1: General principles and definitions
40. ISO 5725-2:2019 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method
41. ISO 5725-3 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results —Part 3: Intermediate measurement of the precision of a standard measurement method
42. ISO 5725-4:2020 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 4: Basic methods for the determination of the trueness of a standard measurement method
43. ISO 5725-6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results —Part 2: Use in

practice of accuracy values

44. ISO 15189:2012 Medical laboratories — Requirements for quality and competence
 45. ISO 15190:2020 Medical laboratories — Requirements for safety
 46. ISO 15194:2009 In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in samples of biological origin — Requirements for certified reference materials and the content of supporting documentation
 47. ISO 20836:2021 Microbiology of the food chain — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of microorganisms — Thermal performance testing of thermal cyclers
 48. ISO 20837:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens - Requirements for sample preparation for qualitative detection
 49. ISO 20838:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens - Requirements for amplification and detection for qualitative methods
 50. ISO 22118:2011 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection and quantification of food-borne pathogens — Performance characteristics
 51. ISO 22119:2011 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Real-time polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens - General requirements and definitions
 52. ISO 23418:2022 Microbiology of the food chain — Whole genome sequencing for typing and genomic characterization of bacteria — General requirements and guidance
 53. ISO 24914 Microbiology of the food chain — Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for the detection of microorganisms — General requirements and guidance
 54. ISO 22174:2024 Microbiology of the food chain — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection and quantification of microorganisms — General requirements and definitions
 55. The NIH Guidelines for Research Involving Recombinant or Synthetic Nucleic Acid Molecules (NIH Guidelines) (April 2019 or latest revision)
 56. CDC Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 6th Edition, June 2020
-

