

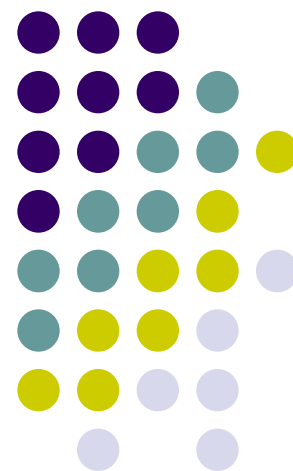
临床基因扩增实验室的设计 及质量管理体系的建立

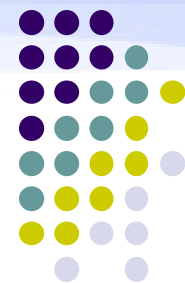
卫生部临床检验中心 李金明

Tel.010-58115061

Email: jmli63hn@gmail.com

2014.3.26-28 广州





临床基因扩增检验实验室的设计

- 依据：卫生部颁发的《临床基因扩增检验实验室管理暂行办法》（卫医发[2002]10号）
- 《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》（卫办医政发〔2010〕194号）



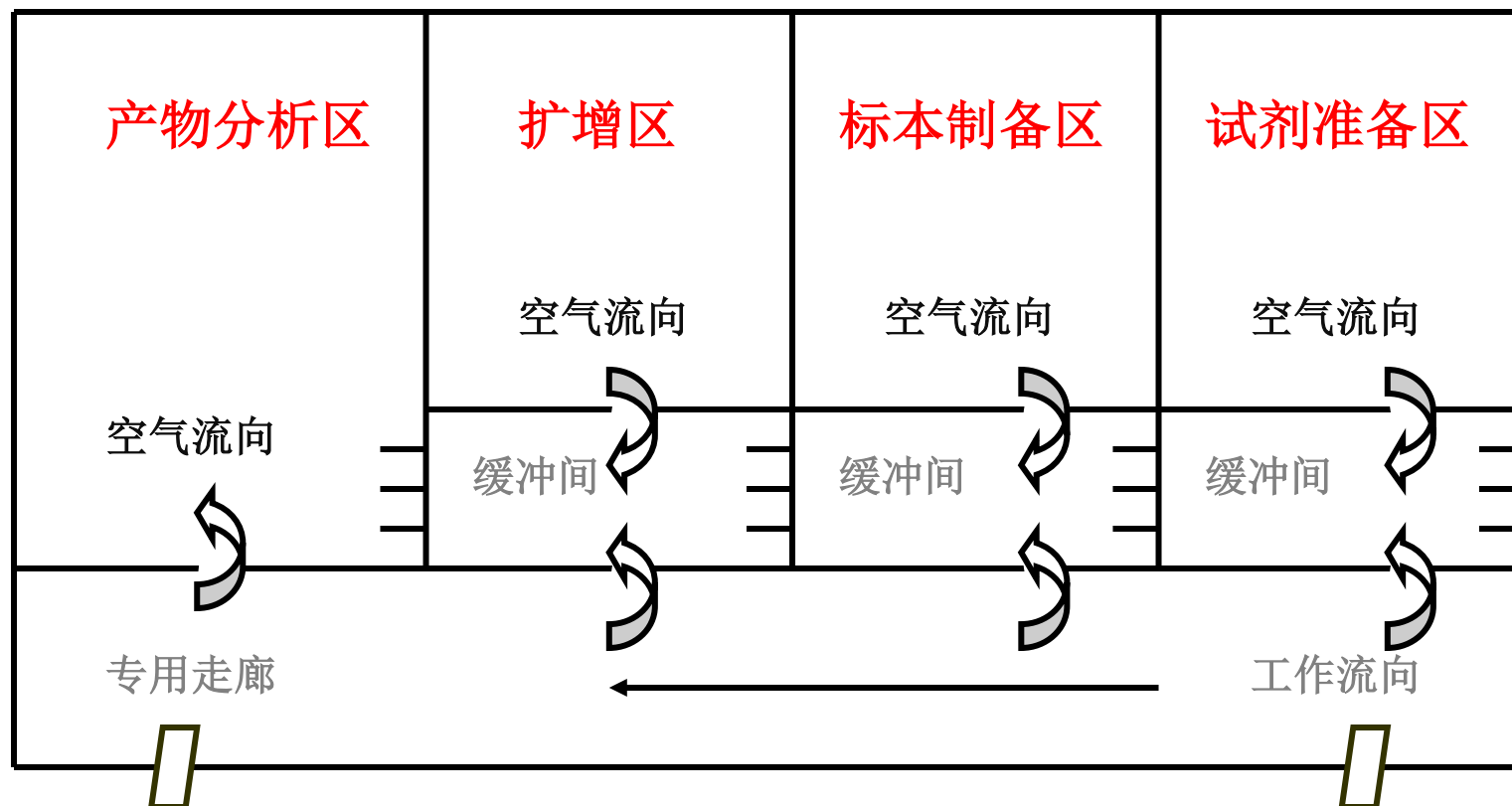
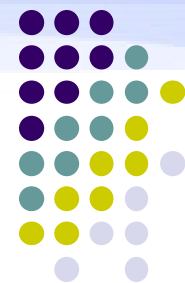
实验室设计



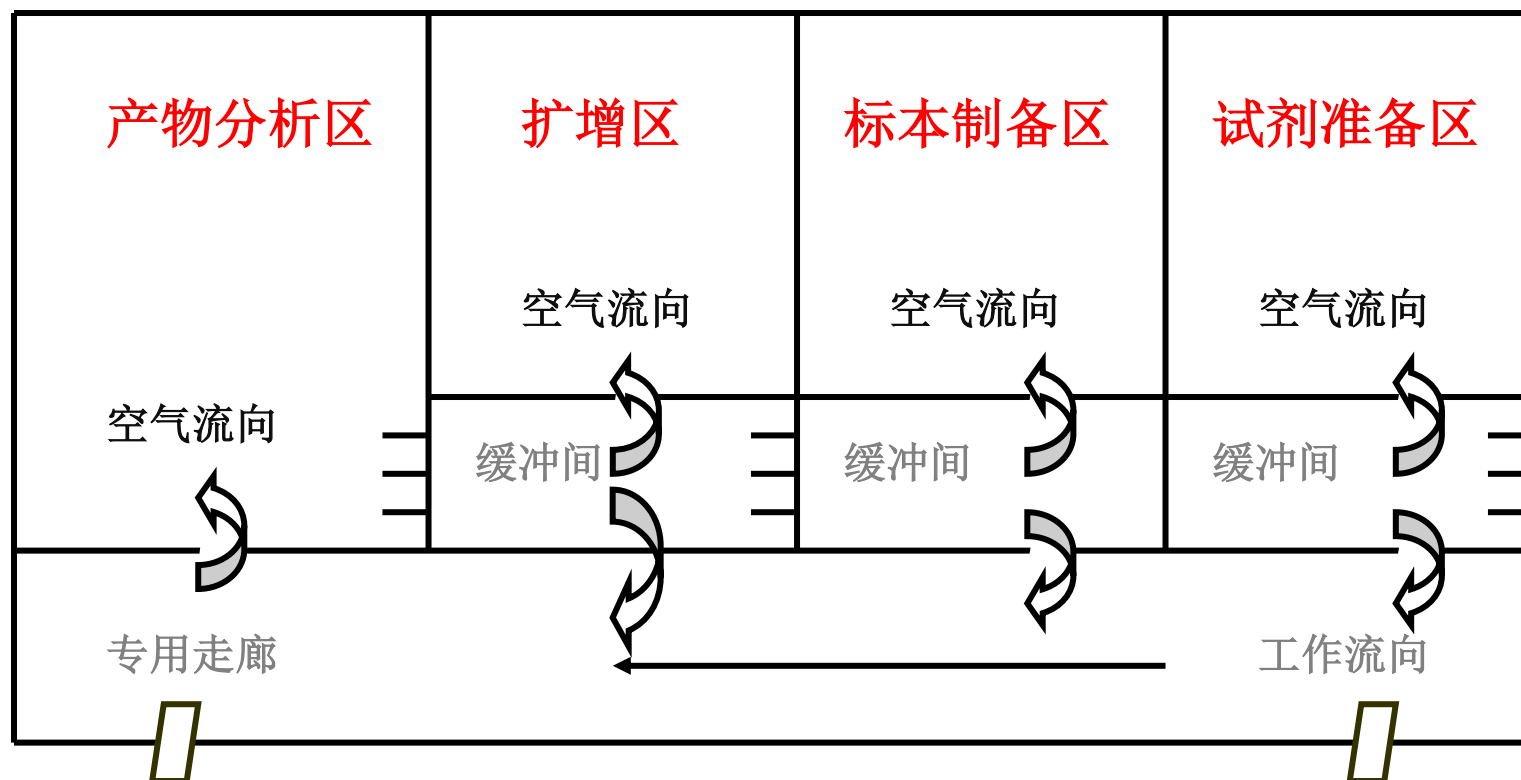
- 空间充分合理的空间
- 良好的照明
- 空调设备

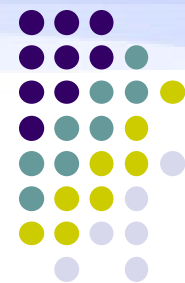


理想的PCR实验室设计A



理想的PCR实验室设计B





临床PCR实验室设计的一般原则

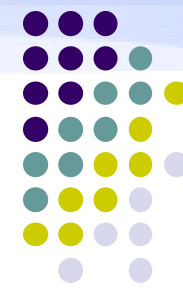
- 各区独立
- 注意风向
- 因地制宜
- 方便工作

(1) 在物理空间上，必须是完全相互独立的，各区域无论是在空间还是在使用中，应始终处于完全的分隔状态；(2) 不能有空气的直接相通。

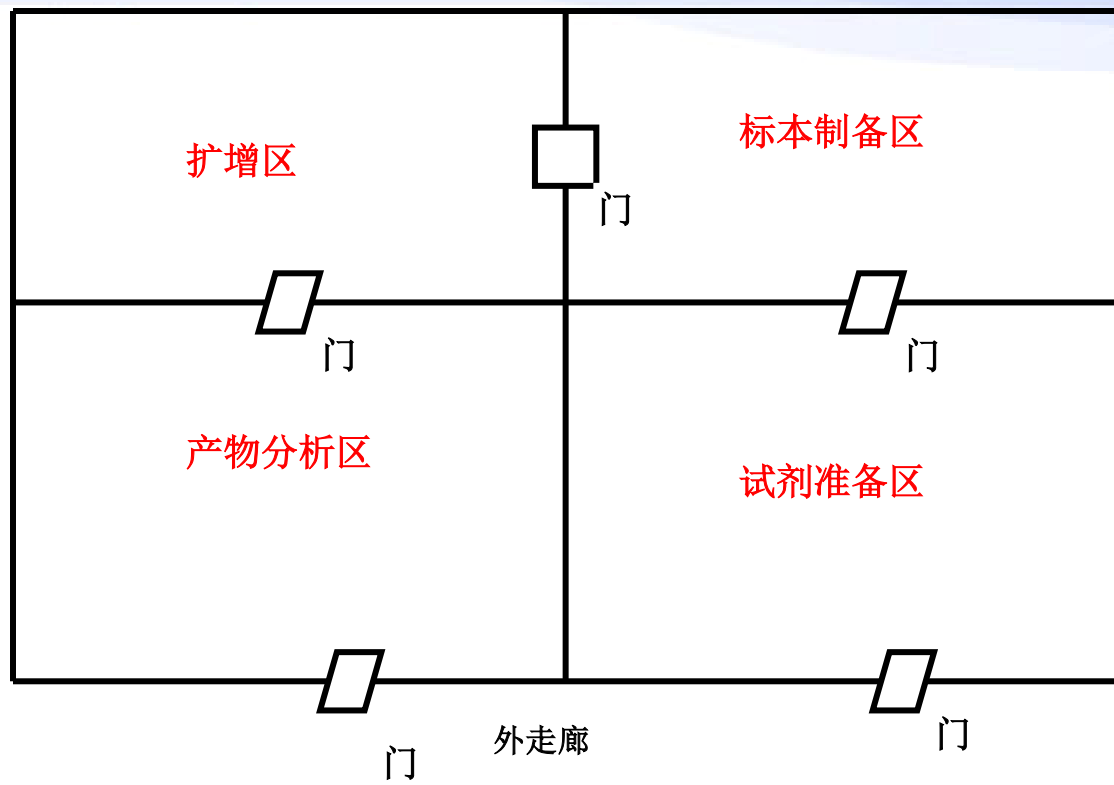
由清洁区域向污染区域流动

“十六字口诀”

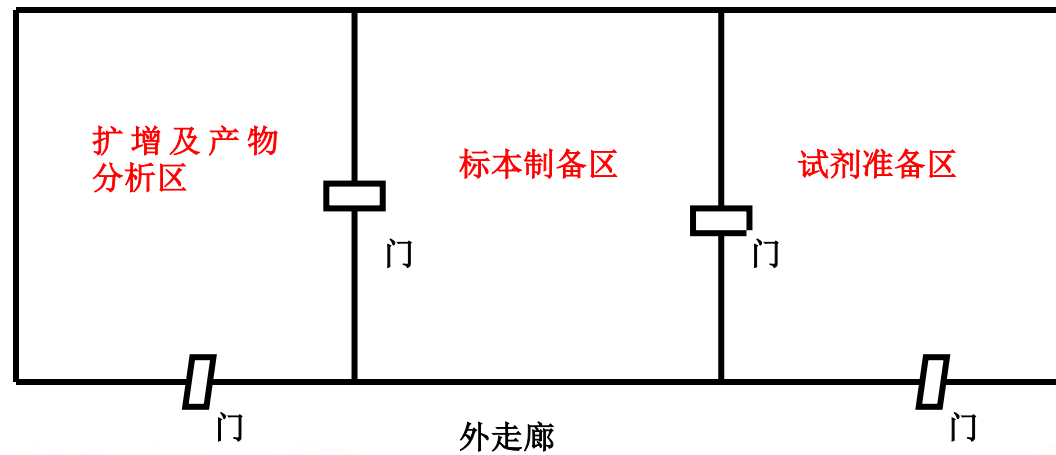


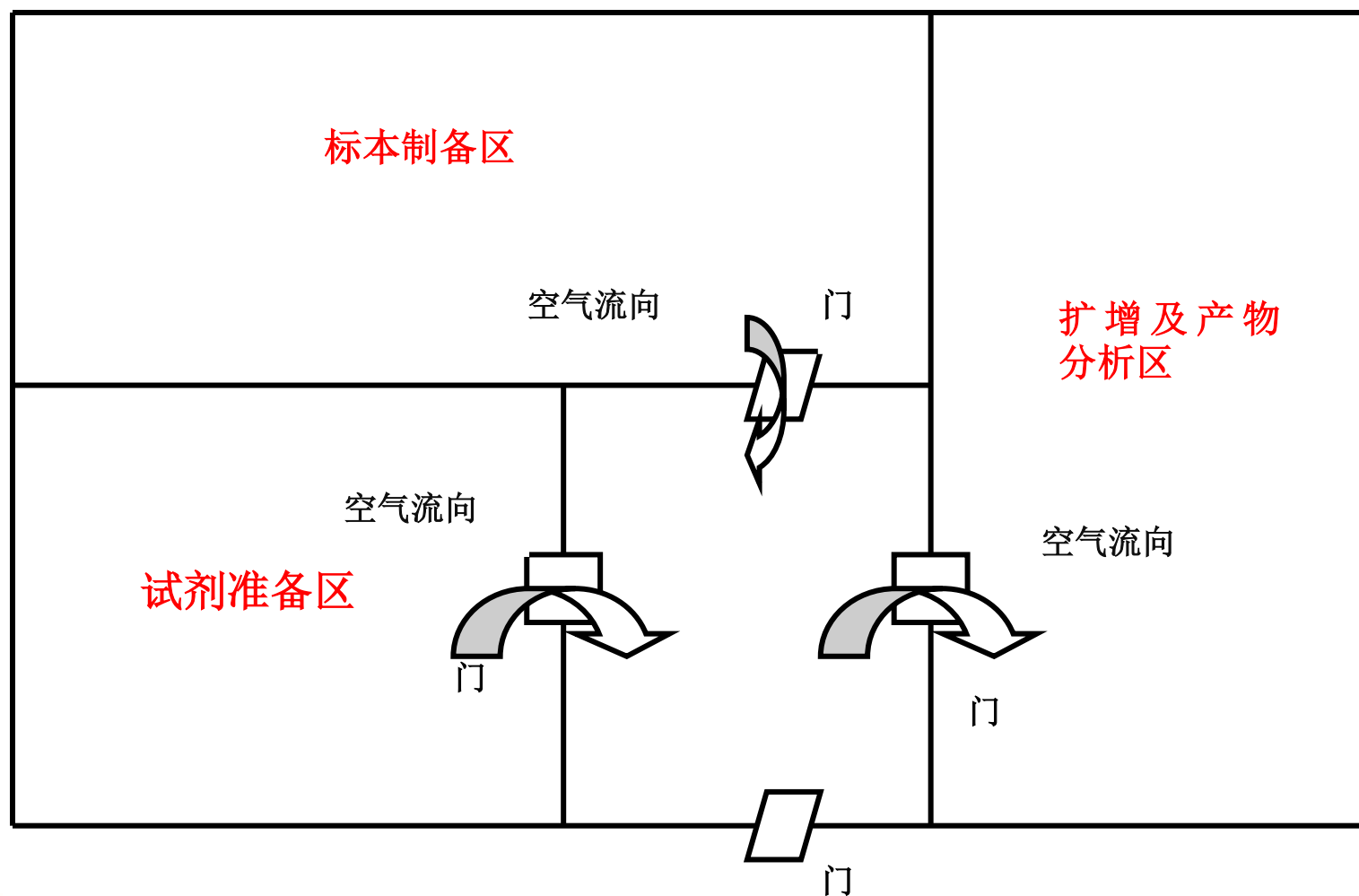


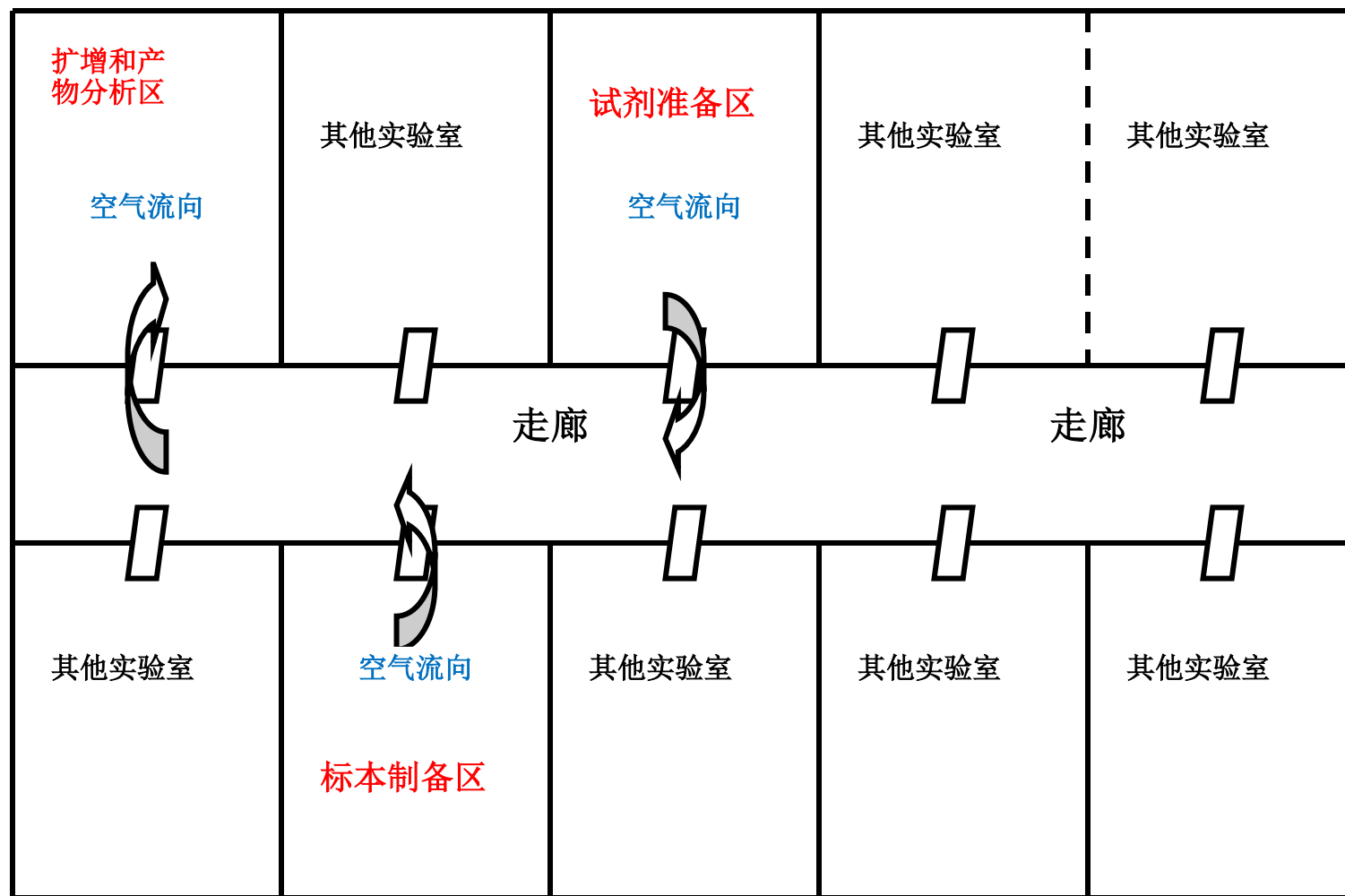
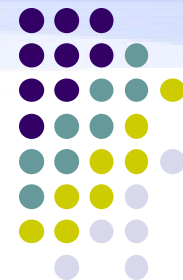
A

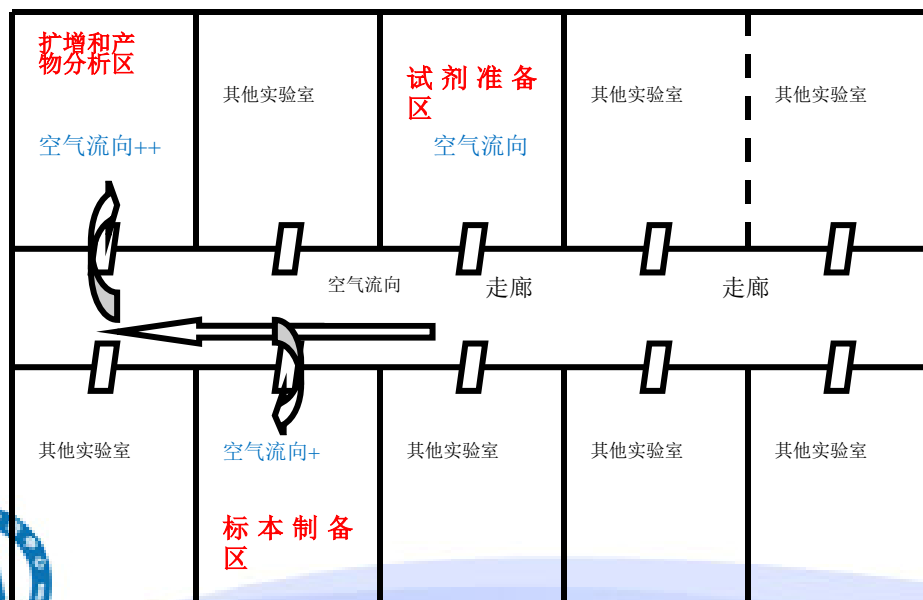
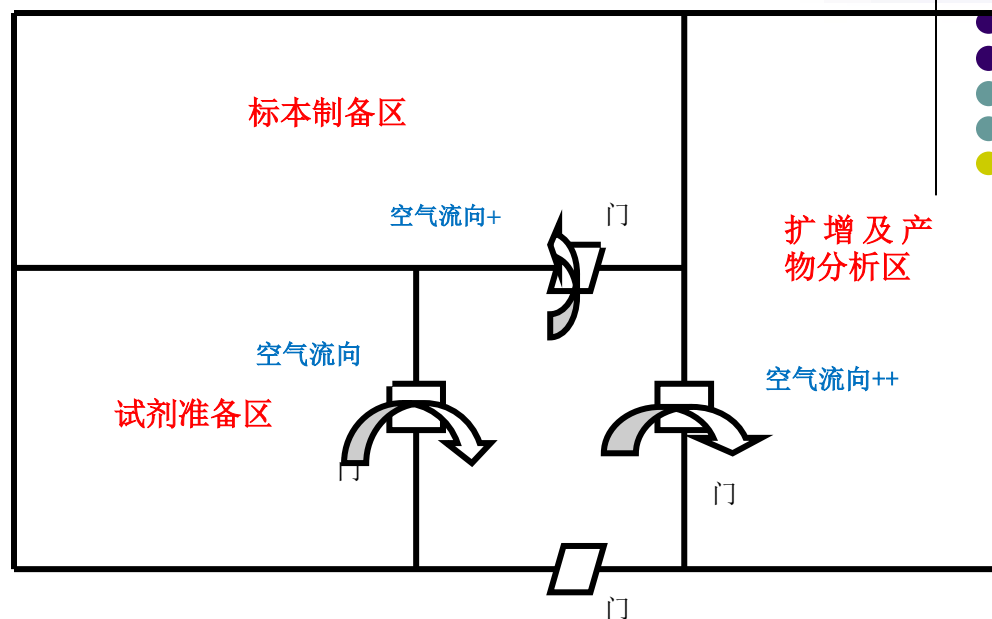


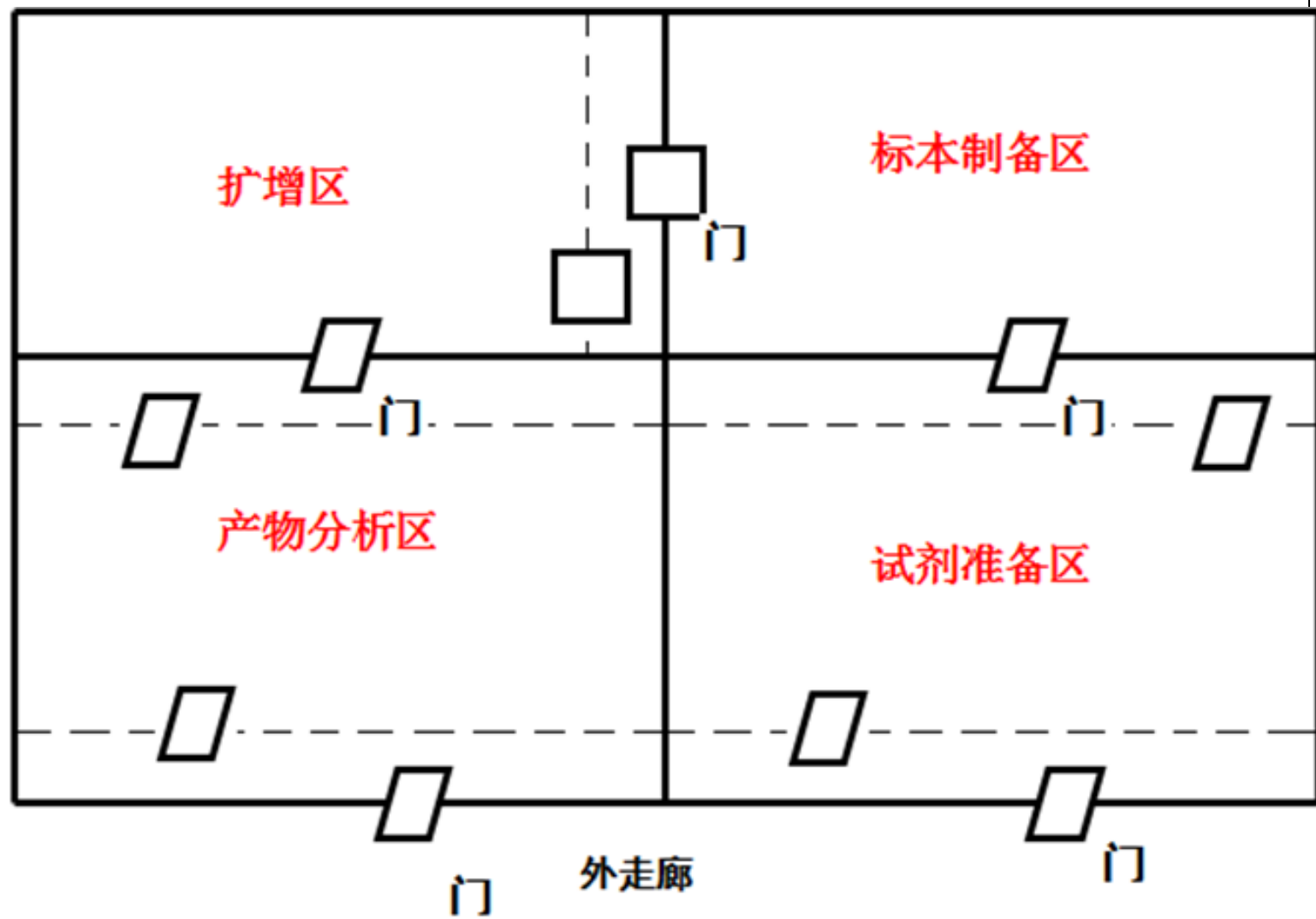
B

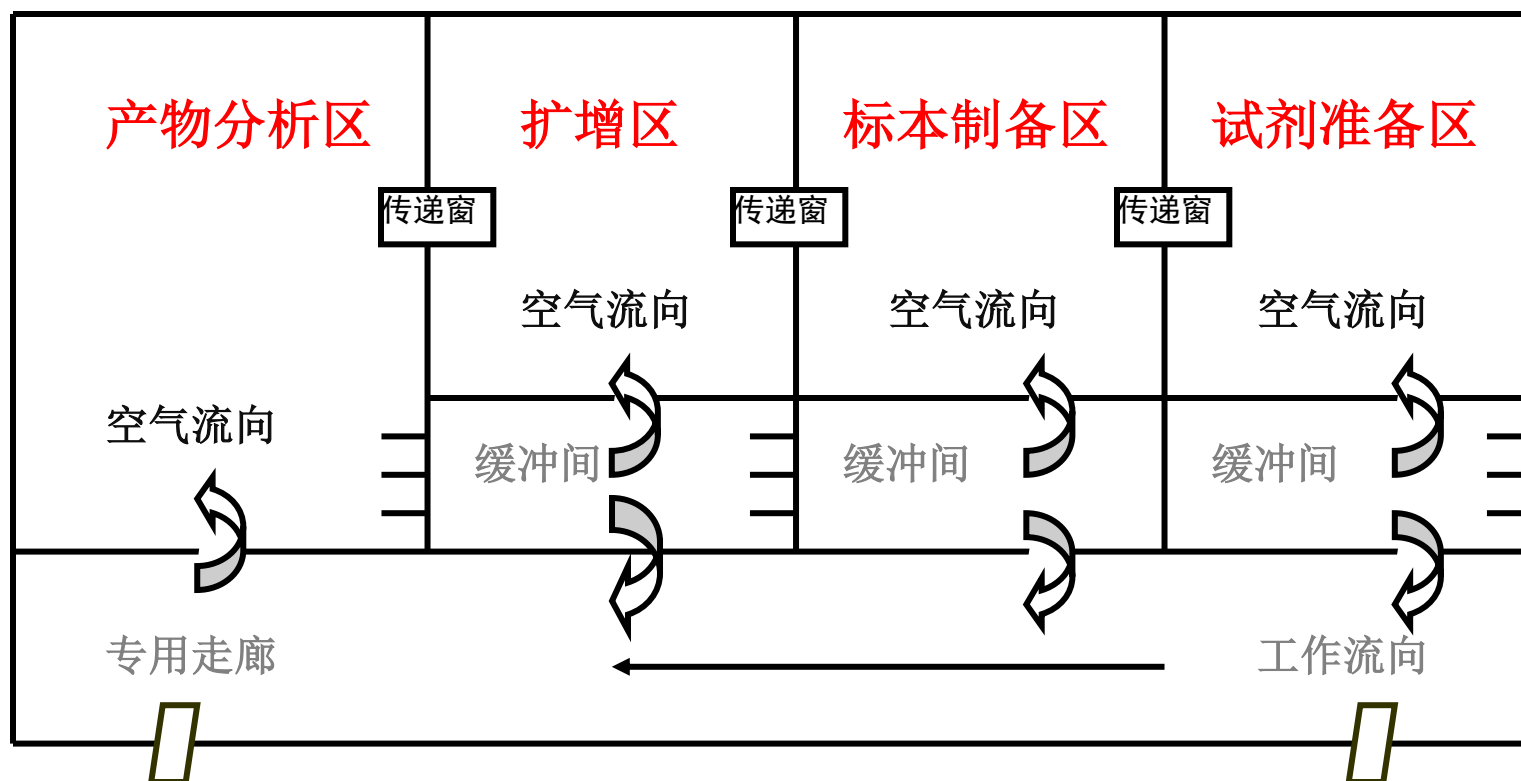
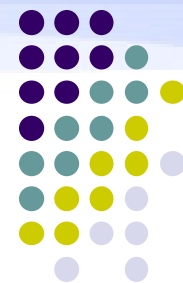


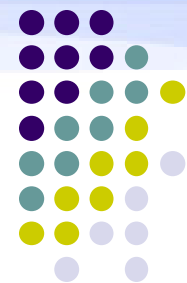








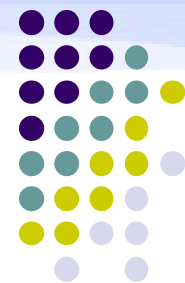




“无基因” 或 “无核酸” 概念的重要性！！！！



质量管理的发展



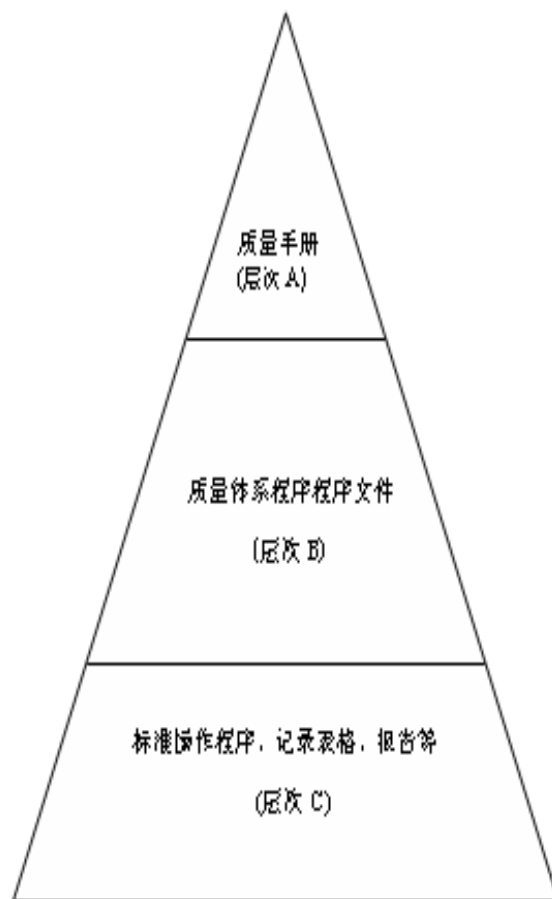
- 经验管理
- 质量检验管理
- 统计质量管理
- 全面质量管理（ISO9000、17025、15189）
- 标准化+全面质量管理



实验室质量管理体系的建立



- 质量手册
- 质量体系程序文件
- 标准操作程序
(相关记录表格)



文件内容

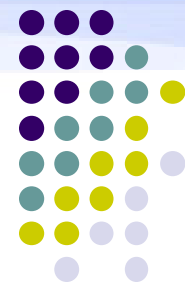
按确定的质量方针和目标以及适用的相关认可标准描述质量体系

描述为实施质量体系要素所涉及到的各职能部门的活动

详细的技术作业文件

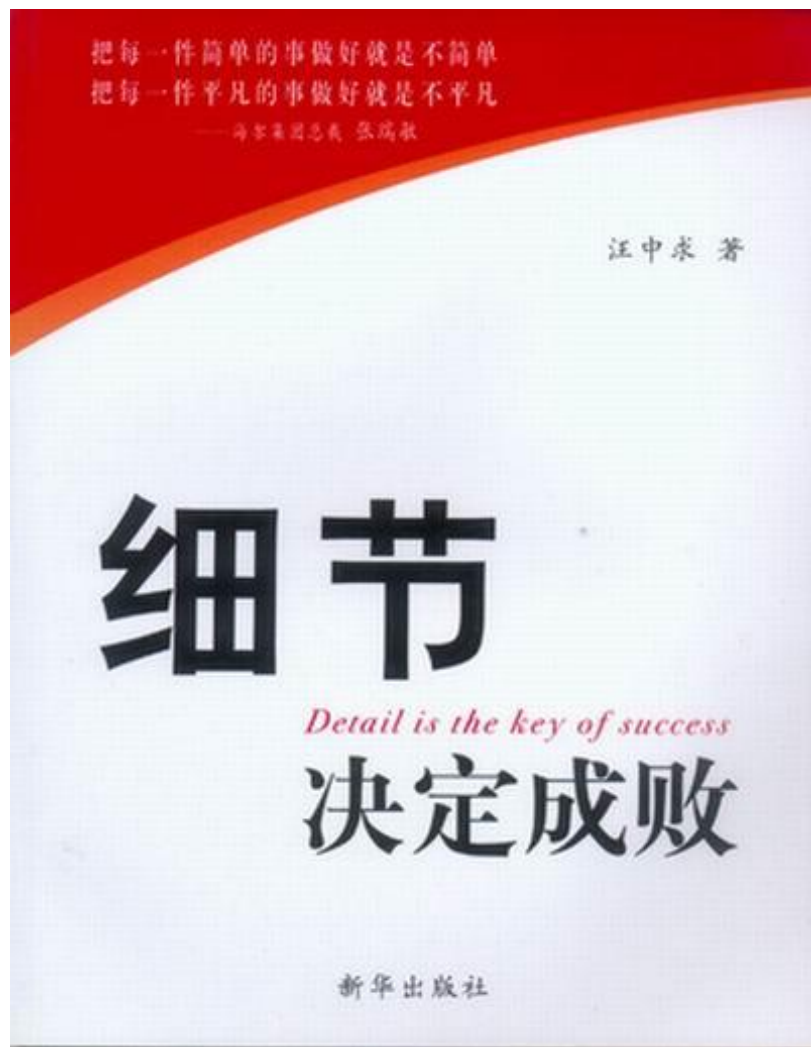
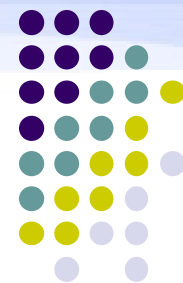


质量管理的内涵



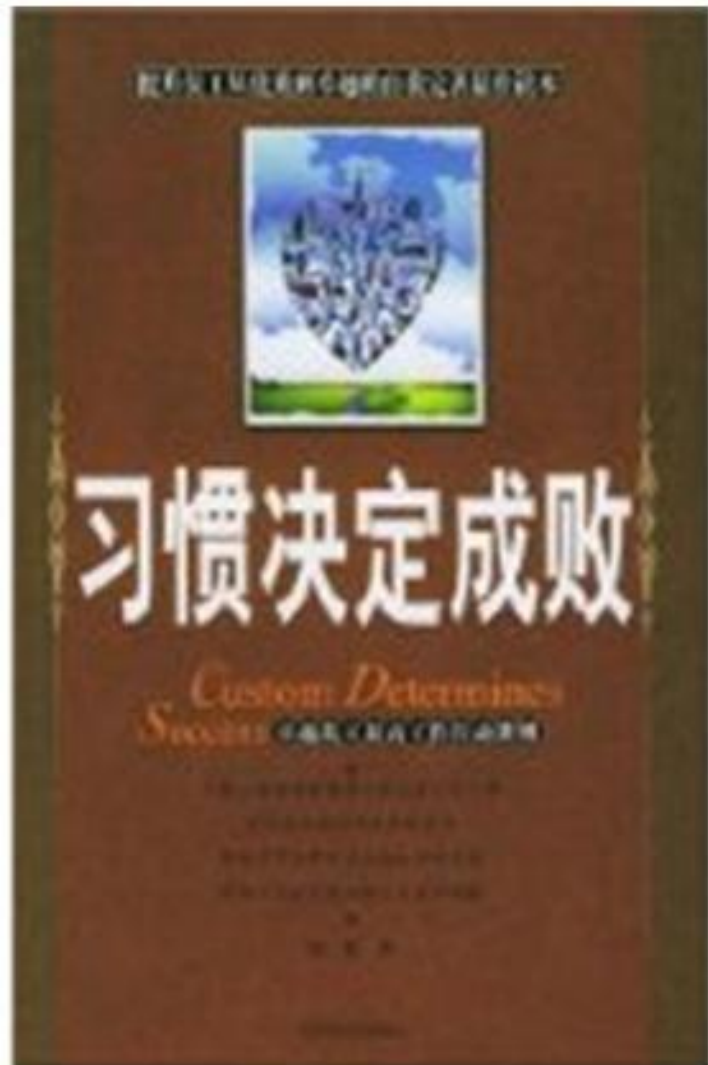
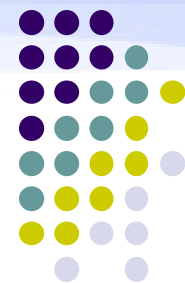
- 写你所应做的
- 做你所写的
- 记录你已做的
- 分析你已做的





- 看得见的
- 看不见的





- 好习惯是生产力
- 罗马不是一天建成的
(Rome was not built in a day)
- 任何事情只要能够坚持不断去加强它，它终究会变成一种习惯。

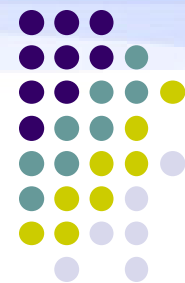




质量体系文件的编写

- 实验室“质量体系”：是指实验室实施质量管理所需的**组织结构、程序和资源**。
- 设计质量体系和编写质量体系文件的基本原则：就是“**最有效和符合实际**”





质量体系文件的三大特性

- **法规性、唯一性和适用性。**
- **法规性**:是指文件一旦制定完成并批准实施,就必须认真执行,按照相应的文件去完成日常检验工作,也就是前面所说的做你所写的。并且文件的修改不能随意,只能按规定的程序进行。
- **唯一性**:则是指(1)一个实验室只能有一个质量体系文件系统;(2)一项检验活动只能有唯一的操作程序;(3)一项规定只能有唯一的理解,不产生歧义;(4)只能使用文件的有效版本,无效版本在实验室的任何地方都不能使用。
- **适用性**:是指质量体系文件无统一格式;无标准文本;怎么做怎么写,切合实际,具有可操作性,不拘一格。所有文件的规定均应保证在临床实际检测工作中能完全做到。当发现文件有不适合情况时,则应立即按规定程序对文件进行修改。





XXX单位 XXX实验室	XXX 标准操作程序	编号： 启用日期： 版本： 第 页 共 页
-----------------	---------------	--------------------------------

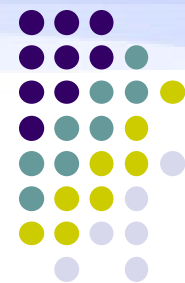
怎样编写 SOP?

- 一目的：
- 二适用范围：
- 三职责或责任人：
- 四（方法原理）
- 五（检测设备和试剂）
- 六（所需的环境条件）
- 七操作步骤：
 - 1.
 - 2.
 - 3.

- 五、本操作程序变动程序：
- 六、相关的文件
- 七、相关的记录表格和报告

编写人	审核人	批准人

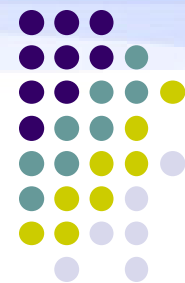




SOP（5W和1H）

- 谁来做(Who): **责任人**
- 做什么(What): **适用范围**
- 何时 (When) : **适用范围**
- 何地 (Where) : **适用范围**
- 为什么做 (Why) : **目的**
- 如何做 (How) : **操作步骤**





SOP等于试剂盒说明书吗？

SOP是实验室的“**最高标准**”！
是**质量管理**的“**灵魂**”！

源于一些**标准文件**（如仪器试剂说明书、国际国内标准文件）和实验室**实际工作经验积累**。

因此**高于相关标准文件**！！！！



“文字”加“图片”的SOP能给我们带来什么？



Written by 编写人:	Date 日期: 20100120	Effective Date 生效日期:
Distribution Scope 发放范围: Gene Lab		Reviewed by 审核者:
临床基因扩增实验室		Approved by 批准人:
Document Annually Reviewing 文件年度审核		
Reviewed by 审核者:	Reviewed by 审核者:	Reviewed by 审核者:
Date 日期:	Date 日期:	Date 日期:
Reviewed by 审核者:	Reviewed by 审核者:	Reviewed by 审核者:
Date 日期:	Date 日期:	Date 日期:

乙型肝炎病毒（HBV）DNA PCR（ABI7300）检测标准操作程序

1. INFORMATION FOR TEST 检测信息

Assay 项目名称	English 英文 Chinese 中文	HBV DNA 乙型肝炎病毒核酸
Method 方法	聚合酶链反应	
Basis for method 方法依据	卫生部《全国临床检验操作规程》第3版（2006年）第七篇第六章第一节二	

2. ANALYTICAL PRINCIPLE 检测原理

聚合酶链式反应（PCR）可对特定核苷酸片断进行指数级的扩增，而实时荧光定量PCR技术，是指在PCR反应体系中加入荧光基团，利用荧光信号积累实时监测整个PCR进程，最后通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法。在实时荧光定量PCR反应中，引入了一种荧光化学物质，荧光物质有两种：荧光探针和荧光染料。我们目前是使用TaqMan荧光探针的检测原理：PCR扩增时在加入一对引物的同时加入一个特异性的荧光探针，该探针为一寡核苷酸，两端分别标记一个报告荧光基团和一个淬灭荧光基团。探针完整时，报告基团发射的荧光信号被淬灭基团吸收；PCR扩增时，Taq酶的5'→3'外切酶活性将探针酶切降解，使报告荧光基团和淬灭荧光基团分离，从而荧光监测系统可接收到荧光信号，即每扩增一条DNA链，就有一个荧光分子形成，荧光信号强度也等比例增加【图1】。这样就可以通过荧光强度变化监测产物量的变化，从而得到一条荧光扩增曲线图。

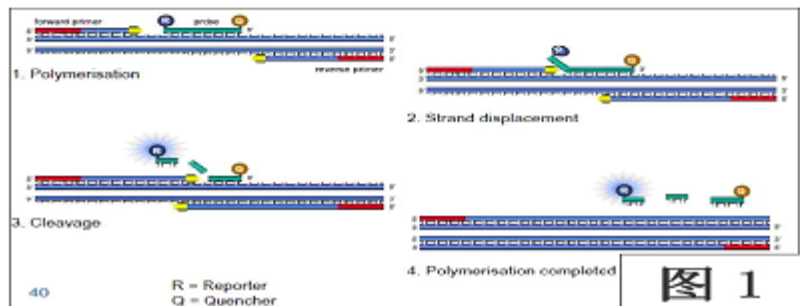


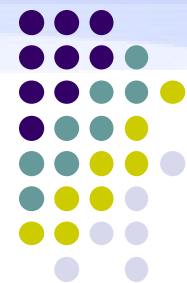
图 1



实验记录表格的设计



存在问题



- 表格种类繁多
- 重复记录
- 表格无实用性，用于检查的痕迹很重



实验室环境温湿度记录表

年 月

请选择: 1. PCR 试剂区 ☐ 2. PCR 标本操作区 ☐ 3. PCR 扩增检测区 ☐

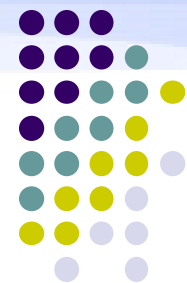
日期	温度℃	湿度%	记录者签名	备注
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				
31				

拒收标本记录表

年 月

编号	日期	拒收原因	送检人 签 字	接收人 签 字	备 注
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					





记录表格设计的基本原则

- 信息充分
- 简单明了
- 临床标本的检测信息能有机联系起来
- 融入LIS系统？



临床PCR检验流程记录表

检验日期_____ 检验项目：_____ 扩增仪中保存文件名：

使用说明：

1. 本记录表须严格遵循试剂准备区→标本制备区→扩增区（产物分析区）单一流向移动，严禁逆向移动。
2. 各项工作执行后，在相应叙述前的“□”内打“√”。
3. 本记录表最后与相应的标本接收记录等归档保存于扩增区的专用文件柜内，以备查找。

实验前准备

- ☐ 试剂在有效期内
- ☐ 扩增仪、加样器和温度计在校准的有效期内
- ☐ 生物安全柜的滤膜在使用有效期内
- ☐ 消毒溶液在有效期内
- ☐ 冲眼器内无菌生理盐水在有效期内
- ☐ 离心管、带滤芯吸头已经过质检合格

操作者：



试剂准备区（1区）

实验前：☐ 打开通风设备 ☐ 实验台面清洁（水或70%酒精擦拭）

☐ 冰箱温度：冷藏室（2~8℃）_____℃； 冷冻室（-18℃±2℃）_____℃

☐ 实验室温度：_____℃（允许范围：10~30℃）；相对湿度：_____（允许范围：30%~70%）

PCR试剂来源：_____（可直接列出有关厂家名称） 批号：_____

检验项目：_____ 本次实验用量：_____人份，剩余量：_____人份。

其他有关试剂配制：

☐ 按XXX（将有关SOP编号列出）SOP配制1%含氯消毒液_____毫升；

☐ 按XXX（将有关SOP编号列出）SOP配制4%NaOH溶液_____毫升；

☐ 按XXX（将有关SOP编号列出）SOP配制0.1%焦磷酸二乙酯_____毫升；

☐ 按XXX（将有关SOP编号列出）SOP配制 _____ 毫升；

☐ 其他：

仪器设备使用：

离心机：☐ 正常 ☐ 不正常

振荡器：☐ 正常 ☐ 不正常

实验后：☐ 按XXX（将有关SOP编号列出）SOP清洁实验室台面、地面、加样器和离心机，并进行紫外照射30分钟以上。

☐ 按XXX（将有关SOP编号列出）SOP处理实验废弃物。

操作者：



标本制备区（2区）

实验前： ☐ 打开通风设备 ☐ 实验台面清洁（水或70%酒精擦拭）

☐ 冰箱（柜）温度：冷藏室（2~8℃）_____℃； 冷冻室（-18℃±2℃）_____℃

☐ 实验室温度：_____℃（允许范围：10~30℃）； 相对湿度：_____（允许范围：30%~70%）

阳性室内质控物来源：_____ 浓度及批号：_____ 扩增位置：

阴性室内质控物来源：_____ 批号：_____ 扩增位置：

所取理的标本（对应标本接收的唯一编号）及拟扩增位置：

1	9	17	25
2	10	18	26
3	11	19	27
4	12	20	28
5	13	21	29
6	14	22	30
7	15	23	31
8	16	24	32

核酸提取及加样过程：按XXX（列出编号）SOP进行。

仪器设备使用： 生物安全柜：☐ 正常 ☐ 不正常 恒温仪温度校准：_____℃

离心机：☐ 正常 ☐ 不正常 振荡器：☐ 正常 ☐ 不正常

实验后：☐ 按XXX（将有关SOP编号列出）SOP清洁实验室台面、地面及仪器设备。

☐ 按XXX（将有关SOP编号列出）SOP处理实验废弃物。

操作者：



扩增及产物分析区（3区）

实验前 ☐ 打开通风设备 ☐ 实验台面清洁（水或70%酒精擦拭）

☐ 实验室温度：____℃（允许范围：10~30℃）；相对湿度：____（允许范围：30%~70%）

扩增仪操作：☐ 开机自检及运行正常 ☐ 按XXX（列出编号）SOP进行编程、参数设定

标准曲线计算值：Slope值：____（ ） Intercept值：____（ ） r值：____（ ）

室内质控结果：结果：____ ☐填写室内质控记录、描质控图 是否失控：☐否 ☐是

失控原因及分析：（失控判断标准及原因分析按XXXSOP进行）

实验结果：见所附扩增仪打印结果

实验后：☐ 按XXX（将有关SOP编号列出）SOP清洁实验室台面、地面及仪器设备。

☐ 按XXX（将有关SOP编号列出）SOP处理实验废弃物。

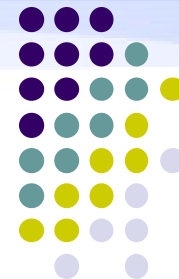
操作者：





仪器设备的维护记录





COBAS AmpliPrep™ Instrument Maintenance

PURPOSE

The purpose of the SOP is to provide instructions for the frequency and performance of maintenance of the COBAS AmpliPrep Instrument.

SCOPE

This procedure is performed by properly trained NAT Lab personnel.

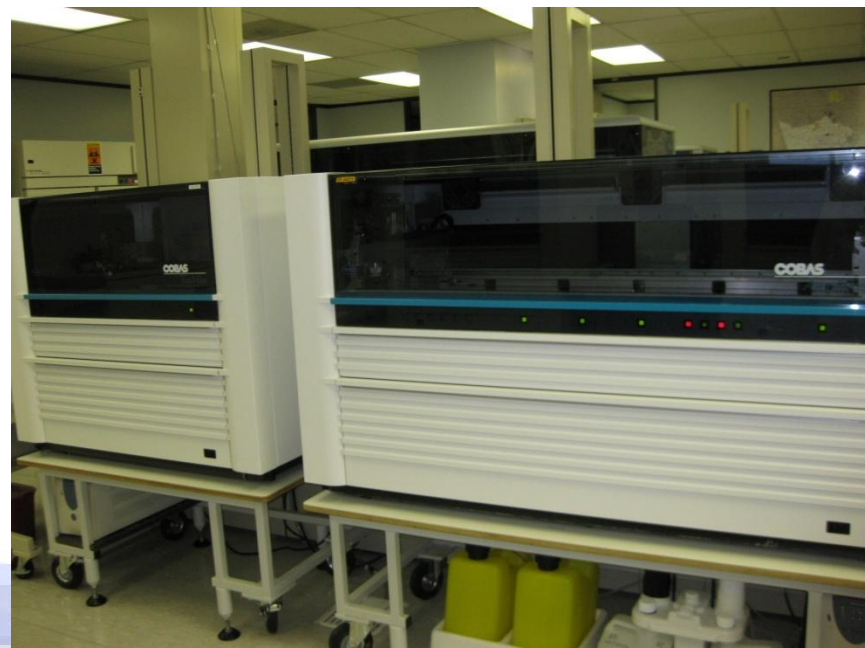
MATERIALS

- Deionized water
- Lint-free laboratory cloth
- 70% Isopropanol or an acceptable PCR Laboratory cleaner
- 10% sodium hypochlorite solution
- COBAS AmpliPrep wash cube container and System Wash Reagent
- COBAS AmpliPrep waste reservoir
- Tubing stands
- Replacement parts as appropriate
- TaqScreen WNV Test COBAS AmpliPrep Maintenance Log

PROCEDURE

AMPLILINK ASSISTED PROCEDURE

Step	Action
1	Verify that the Power ON LED light on the right side of the COBAS AmpliPrep is green.
2	Select the " Service " icon to display daily, weekly, and periodic service information.
3	Select the desired tab. <ul style="list-style-type: none"> 3.1 Due – Displays all tasks whose counters have passed the defined Elapsed %. 3.2 ALL – Displays all the service required for the TaqMan instrument. 3.3 Begin/End of Day (BOD) – Displays the service that will be performed when the next BOD occurs. 3.4 Service Log – Displays a log of completed service actions.
4	Select the desired service action to highlight
5	Select the <Perform> button to activate the Service Wizard (a wizard dialog box is displayed).
6	Perform the displayed step according to the displayed instructions and select the <Next> button when the displayed step is complete.

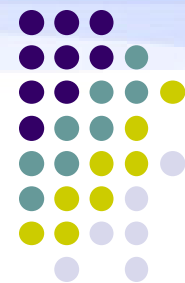


cobas AmpliPrep Maintenance Log

Serial Number: _____

Month/Year: _____

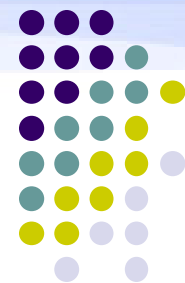
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31		
DAILY TASK																																	
Clean/Disinfect Spills																																	
Check/Replace Wash Buffer Cubes																																	
Empty Waste Reservoir																																	
Clean Rack Area																																	
Clean Initialization Posts																																	
Clean Sample Recognition Transceiver																																	
Check/Clean Tube Handler																																	
Check/Clean SPU Gripper																																	
Prime System (Normal Prime)																																	
Check Reagent Tip for Droplets																																	
Check Tubing for Leaks																																	
Clean Sensors and Light Barriers																																	
WEEKLY TASK																																	
Clean AmpliPrep Surfaces																																	
Clean SK24 Racks																																	
Clean SPU Racks																																	
Clean Reagent Racks																																	
Clean/Rinse Waste Containers																																	
Perform Extended Prime																																	
Not Used																																	
Out of Service																																	
Reviewer Initials																																	
PERIODIC TASK					Tech Initials				Reviewer Initials				PERIODIC TASK				Tech Initials				Reviewer Initials												
Replace Gripper O-rings (60 days)													Replace Filter Fan (180days)																				
Replace Reagent Tips (10,000 tests)													Change HEPA Filter (365 days)																				
Replace Syringe Plunger Tips (10,000 tests or 180 days)													Replace Syringes (730 days)																				



分析你已做的

- 每次实验结果的分析
表象与真象
- 多次实验结果的综合分析
趋势的内在含义
- 仪器设备的使用情况分析
维护与校准周期的有效性

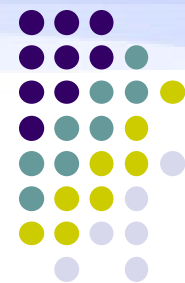




技术验收的其它内容

- 就有关实验室质量管理方面与具体工作有关的内容进行口试和/或笔试；
- 已知HBV DNA和/或HCV RNA血清盘的实际检测结果和结果报告。

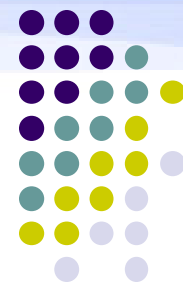




另外两个存在较多问题的档案记录

- **人员的技术档案**：一人一个档案（包括个人基本情况；学历、学位、任职资格、培训证、上岗证、荣誉证书等的复印件；论文、著作、成果等的目录和必要的证明文件复印件；培训考核的记录等。）
- **仪器设备的技术档案**：一台仪器一个档案（包括仪器基本情况，如仪器设备名称、型号、序列号、生产厂家、购置日期、启用日期、目前放置地点、责任人等；仪器校准的记录（本次校准日期和下次应校准的日期、校准证书或数据）；维修维护的历史记录；仪器使用说明书、注册证等的复印件；合格证书；配备的小配件如保险丝、灯泡等）





谢谢！

