

PCR实验室作业指导书

文件编号：

第 2 版

编制：

审核：

批准：

生效日期： 2012 年 月 日

目 录

序号	主 题 内 容	代 号	页 号
1	PCR实验室的设置及管理		
2	PCR实验室工作制度		
3	实验室内务管理及清洁制度		
4	PCR实验室人员的配置及管理		
5	实验人员的培训程序		
6	PCR实验室清洁 程序		
7	样品编号的标准操作程序		
8	PCR基因扩增实验室的要求		
9	PCR废弃物的处理程序		
10	试剂准备区工作制度、标准操作、程序文件		
11	标本制备区工作制度、标准操作、程序文件		
12	扩增区工作制度、标准操作、程序文件		
13	产物分析区工作制度、标准操作、程序文件		
14	PCR标本的保存操作程序		
15	PCR标本的采集、运送、接收程序		
16	PCR生物安全防护措施		
17	PCR实验室化学试剂配		
18	PCR实验室记录管理制度		
19	PCR应急处理程序		
20	PCR试剂的质检标准操作程序		
21	PCR消耗品进购质检贮存程序		
22	PCR室内质量控制操作程序		
23	PCR室间质量控制操作程序		
24	PCR温度校准标准操作程序		

修 订 页

序号	文件编号	页码	需更改的内容	更改内容	批准人	批准日期
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						

PCR实验室的设置及管理

1. 目的：建立实验室的合理设置和科学管理，防止实验污染，保证检测结果的可靠性。
2. 适用范围：本程序适用于分子诊断室的设置、工作流程和日常管理等。
3. 负责人：
4. 细则：
 - 4.1 分子诊断室为检验科下设的专业实验室，从事基因扩增检测及相关实验工作。
 - 4.2 本实验室采用普通 RT-PCR扩增和实时荧光定量 PCR两种技术作为临床基因诊断的主要手段，实验室分为四个区：试剂准备区（第一区）、标本处理区（第二区）、扩增区（第三区）及产物分析区（第四区）。每一工作区配备专用的设备、仪器、辅助设施、耗材、清洁用品、办公用品、专用工作服，并有明显的区分标识。各区标签颜色：红色（第一区）、白色或绿色（第二区）、蓝色（第三区）；专用工作服：粉红色（第一区）、白色（第二区）、蓝色（第三区）。标本的接收则在检验科标本接收处进行。
 - 4.3 各工作区专用的仪器设备、办公用品、工作服、实验耗材和清洁用具等，不可混用。
 - 4.4 各工作区配置、功能和内务管理见各相关 SOP文件。
 - 4.5 严格遵守从“试剂准备区 标本处理区 扩增区 产物分析区”的单一流向制度，不得逆向进入前一个工作区。
 - 4.6 非本实验室工作人员，未经许可不得入内；进修、实习或其他科室人员因需要，进入实验区域（试剂准备区、标本处理区、扩增区、产物分析区）需首先熟悉本程序的各项规定并严格遵守执行，在本实验室人员监督指导下进行。
 - 4.7 实验完毕后做好清洁消毒工作。
5. 本文涉及以下图表：
 1. 实验室设计平面图

PCR实验室工作制度

1. 目的：保持良好的工作环境，以确保检测结果的可靠性，防止交叉污染，防止差错、事故及纠纷的发生。
2. 适用范围：所有本实验室人员。
3. 负责人：
4. 细则：
 - 4.1 本实验室用于基因扩增检测及相关实验工作，不得进行其它实验操作。
 - 4.2 各区的用品不得混用。
 - 4.3 在各区的实验操作过程中，操作者必须戴手套和帽子，严格按照操作规程。
 - 4.4 试剂准备区只能进行试剂的贮存及配制等相关操作（见相关 SOP文件）。
 - 4.5 标本处理区只能进行临床标本的保存，核酸提取、保存及其加入至扩增反应管和测定 RNA时 cDNA的合成（见相关 SOP文件）。
 - 4.6 扩增区只能进行 DNA或 cDNA的扩增、实时荧光 PCR扩增产物的分析（见相关 SOP文件）。
 - 4.7 产物分析区只能进行 RT-PCR扩增产物的分析（见相关 SOP文件）。
 - 4.8 进行实验时严格执行本实验室的各项操作规程，及时做好各种操作记录，力求准确、可靠。实验完毕，做好清洁、整理及分析统计等工作。
 - 4.9 室内仪器由专人负责，未经许可，不得随意使用或挪用；爱护使用仪器，定期进行保养与维修。
 - 4.10 爱护医院财产，注意安全；离开实验室前应关好门窗，检查水、电等。

PCR实验室内务管理及清洁制度

1. 目的： 保证实验室日常内务管理及清洁工作顺利进行。
2. 适用范围： 实验室相关人员及相关清洁工人。
3. 负责人：
4. 细则：
 - 4.1 内务管理制度
 - a. 非本室工作人员未经允许不得进入实验室。
 - b. 各区的用品不得混用。
 - c. 实验人员要有强烈的时间观念，按时上下班，不迟到、早退。
 - d. 进入实验室的工作人员必须遵守实验室的单一流向的规定，禁止逆向走动。
 - e. 所有仪器（如 PCR扩增仪）须有专人负责，并有使用维护记录；实验人员必须熟悉仪器性能后方允许操作，并严格遵守操作规程。
 - f. 所有试剂进购、配制、质检、使用均要有记录，未经允许不得随意带出本实验室。
 - g. 各区的各种清洁消毒均应有记录，工作衣消毒时注意各区应分开进行处理。
 - h. 注意保持实验室卫生整洁，严禁在室内抽烟、吃零食，非实验操作人员应尽量少入。
 - i. 每天了解仪器运转情况及试剂使用情况，负责仪器的整洁，安全；下班前检查门、窗、水、电，节假日指定人员负责检查实验室的仪器、设备，确保安全。
 - 4.2 内务清洁制度
 - a. 实验室地面保持平整、干净，通道要利于通行，没有无用的物品阻碍。
 - b. 合理规划实验室内物品，做到摆放整齐、有序，无用的或使用效率低的物品放置到储存处，常用的物品要容易寻找到。
 - c. 抽屉、柜子、文件类物品要作好标记，以方便识别。
 - d. 实验结束后用 75%酒精对台面进行清洁，并经紫外灯进行消毒。
 - e. 每天实验结束后，紫外灯消毒 60 分钟后，依次关闭各区紫外灯并记录照射时间
 - f. 搞卫生时，依次清洁四个区的实验台面和地面，各区清洁消毒工具均专用，不可混用，注意按照单一方向流程的原则来进行清洁。
 - g. 处理好各区废弃物，高压消毒后集中处理。
 - h. 每周将工作服交消毒洗涤，不同实验区的工作服分开洗

PCR实验室人员的配置及管理

1. 目的：保证实验室有足够数量的合格的具备开展该类实验能力的实验人员。

2. 适用范围：适用于实验室人员配置、管理、培训及考核。

3. 负责人：

4. 细则：

4.1 人员要求

a. 鉴于 PCR 技术要求的特殊性、复杂性，本实验室工人员应为有经验的医学检验专业人员。

b. 实验室工作人员应参加上级举办的 PCR 技术培训，并取得合格证。

c. 对于新进入本室的人员，如尚未取得 PCR 技术培训合格证，应在实验室有培训合格证的上级技术人员的指导下进行实验工作，实验报告由有资格人员出具，并应在最短的时间内取得上岗培训合格证。

d. 实验室工作人员上岗前必须学习并掌握 PCR 实验室管理文件。

4.2 人员配置

a. 实验室应根据工作需要配备足够的工作人员，目前实验室有主管技师 2 人、技师 ? 人，? 人都已获得培训合格证，视工作量的增加和业务发展需要，会适当增加工作人员。

b. 由实验室负责人负责全面管理、技术指导、解决与临床沟通及技术疑难问题；其他各级技术人员履行相应的工作职责。

4.3 人员管理

实验室建立所有工作人员的技术档案，包括：学历、任职资格、发表论文、研究成果、培训等相关材料复印件。

技术档案分文本档案和电子档案，文本档案每年更新 1 次，电子档案随时更新。

5. 本文涉及以下图表：

实验室主要负责人简历表

PCR实验室工作人员一览表

人员档案卡

实验室人员的培训程序

1. 目的： 保证实验室有足够的技术力量和科室适应长远发展的需要。
2. 适用范围： 核酸扩增荧光检测实验室实验人员及预备培训的人员。
3. 负责人：
4. 细则：
 - 4.1 实验室负责人或负责人指定人员参加每年省 CDC的室间质评总结会。
 - 4.2 实验室工作人员每 1~2 年至少参加 1 次 PCR技术的省级或国家级继续教育项目，参加相关学术交流会议。
 - 4.3 安排未取得上岗培训合格证的工作人员在合适的时间内参加技术培训。
 - 4.4 科室不定期组织实验室内部实验人员学习、更新核酸扩增方面的相关知识，提升自身的理论学习水平。特别是在标本接收区采血、接收标本的人员，需定期对其进行有关核酸扩增技术，标本采集、保存、运输等知识的培训。
 - 4.5 本实验室工作人员每年进行考核一次，考核内容：
 - a) 日常工作质量
 - b) 室内质控测评
 - c) 室间质控测评
 - d) 在抱怨处理中的表现
 - 4.6 本实验室工作人员均建立业绩档案，实行能进能出制度，不断吸收高质量人员，加强培训和提高，对于不适合本室工作的人员要及时调离。
5. 本文涉及以下表格
 - 培训申请表
 - 年度培训计划表
 - 培训记录表
 - 员工培训履历表

PCR实验室清洁程序

1. 目的： 保证实验室环境的整洁，防止污染。
2. 适用范围： 适于实验室工作环境、实验台面、工作服、移液器等清洁消毒工作。
3. 负责人： 操作人：
4. 细则：
 - 4.1 实验室地面必须平整、干净，通道要利于通行，没有无用的物品阻碍。
 - 4.2 合理规划实验室内物品，做到摆放整齐、有序，无用的或使用效率低的物品放置到储存处，常用的物品要容易寻找到。
 - 4.3 抽屉、柜子、文件类物品要作好标记，以方便识别。
 - 4.4 实验结束后用 75%酒精对台面进行清洁，并用紫外灯进行消毒。
 - 4.5 每天对使用过的移液器用 75%酒精进行擦拭。
 - 4.6 实验过程中如发生标本或试剂外溅，应立即用 75%酒精滴上，滤纸盖上半小时，然后用酒精擦洗，并用移动紫外灯消毒。
 - 4.7 每天实验前开启各区的通风系统，各区实验结束后，分别打开传递窗紫外灯、天花板紫外灯消毒实验室，每次开启 30 ~ 60 分钟。
 - 4.8 待紫外灯消毒时间足够后，依次关闭各区紫外灯并记录。
 - 4.9 依次清洁四个区的实验台面和地面，各区清洁消毒工具均专用，不可混用，注意按照单一方向流程的原则来进行清洁。
 - 4.10 处理好各区废弃物，交医院集中处理。
 - 4.11 每周将工作服交院洗衣房洗涤消毒，不同实验区的工作服隔开洗涤。

5. 本文涉及以下表格

实验室清洁消毒记录表

垃圾处理记录表

PCR样品编号的标准操作程序

1. 目的： 保证标本编号的唯一性，也是准确发放报告的基础。

2. 适用范围： 使用核酸扩增荧光检测实验室所开展的 几？ 种检测项目：流感病毒、手足口病毒、霍乱弧菌等。

3. 负责人： 操作人：

4. 细则：

4.1 按检测类型分类标记

根据检测项目的不同，每种检测项目对应标记一种唯一的代号。如流感病毒标记为？，手足口病毒标记为？。

4.2 按标本接收顺序编号

在同种检测类型的标本中，按标本检测顺序编号。如第一个检测流感病毒的标本编为？ 001，第二个检测流感病毒的标本编为？ 002，第三个检测结核的验单编为？ 003 等。

4.3 编号步骤

- a. 对接受的标本，根据编号的基本原则编号，每个样本对应一个唯一的编号（如？）。
- b. 在样品送检单和对应的样品管上作好相同的标记。
- c. 做好标本的接收记录， 每个样本的记录都应包括以下信息： 接收时间、 送检单位、 患者姓名、 性别、 年龄、 标本类别、 标本状态、 送标本者、 接收人、 标本编号等。
- d. 处理好样品、点样后，将反应管放入扩增仪上开始扩增。
- e. 扩增得到结果后，先在登记表上填入结果，作好记录，再一一把实验结果填入相应报告单。
- f. 发放检验报告单。

5. 本文涉及以下图表：

PCR标本接收记录表

PCR结果登记表表

PCR基因扩增实验室的要求

1. 目的：规定在各区内所进行的工作及其操作。

2. 适用范围：所有在本区内进行的工作。

3. 负责人： 操作人：

4. 程序：

实验室分四区：试剂贮存、准备区；标本制备区；扩增区；产物分析区。进入各区严格按照单一方向进行，即试剂贮存、准备区——标本制备区——扩增区——产物分析区。各区及其设备、物品必须有明确的标记，严禁混用。

进入PCR实验室的工作人员（含卫生员），都必须遵守实验室的规则，尤其严格遵守进入PCR实验室的唯一流向。不可进入PCR扩增后区打扫卫生，再返回扩增前区工作。防止非本室工作人员串岗，进入本室。尤其不得为找人，而逆向误入PCR实验室。

总则

- (1) PCR实验室工作人员应具备医学检验、微生物检验基本知识，并受过PCR实验的基础知识和技能培训。
- (2) PCR实验室分试剂准备，样本准备，PCR扩增和产物分析四个室，各室的实验物品（含加样器，试管架，吸头，记录纸，笔等），不得混用，须贴上标签予以区别。
- (3) 实验室技术人员必须严格按照PCR实验室操作程序进行，包括实验室擦洗。台面消毒，离心管，吸头的无菌灭活准备，仪器使用和废弃物处理等。
- (4) 进入实验室的工作人员必须更换各室不同的工作服（含帽和鞋），勤换洗工作服，以及遵守实验室的唯一流向的规定，严禁反向流动。
- (5) 进入PCR实验室后区的物品不许带进PCR实验室前区。每天实验开始前，必须清洁地面和消毒实验室前区。实验结束应紫外线消毒实验台面。每天下班前处理好废物，应关好水、电、煤气和门窗。
- (6) 定期校准和维修PCR仪、酶标仪及离心机、水浴箱等仪器设备。
- (7) 实验室内不得饮食、吸烟。

4.1 标本接收区

- a. 实验人员进入该区须穿本区白色工作服，接收标本须戴一次性手套。
- b. 记录实验室干、湿度，登记冰箱温度。使用带有本区标识的记录本、纸和笔，每项记录，书写工整详细。
- c. 对送检的标本实行双签制度，并仔细检查是否符合检测要求，对有不符合要求的标

本及时通知相关科室重新采样，并作记录，每份标本需给出唯一性编号。

- d. 本区所有废弃物分类装入垃圾袋，封口，在垃圾筐上套好新的垃圾袋，将垃圾带出实验室。
- e. 每次实验结束后，清洁实验台及地面打开紫外灯消毒 30 分钟。记录紫外灯使用情况。

4.2 试剂贮存、准备区

- a. 使用带有本区标识的记录本、纸和笔，每项记录，书写工整详细。
- b. 准备好的试剂送入下一区，还原实验台面，将本区所有废弃物分类装入垃圾袋，封口，在垃圾筐上套好新的垃圾袋，将本区垃圾带出实验室。
- c. 白色工作服留在本区。
- d. 本区维持相对正压状态（开启缓冲区的排气扇）。实验结束后，清洁实验台及地面打开紫外灯消毒 30 分钟。

4.3 标本制备区

- a. 实验人员进入该区须在缓冲区更换专用蓝色工作服及拖鞋。实验中须使用一次性帽子，戴手套，手套在实验过程中疑有污染应立即更换。
- b. 将传入本区的试剂放入冰箱冷冻室试剂存放专区暂存。记录实验室干、湿度，登记冰箱温度。
- c. 将检测完的标本密封保存在毒种间 -70 冰箱中，然后记录标本的保存情况。
- d. 使用带有本区标识的记录本、纸和笔，每项记录，书写工整详细。
- e. 按试剂盒说明书对标本进行处理，将处理好的标本在生物安全柜内加样，记录标本的处理过程。
- f. 将加样后的试剂传送下一区，还原实验台面，关闭所有仪器，记录仪器使用时间和运行状态。
- g. 使用过的离心管、吸头实验结束后须高压消毒后方丢入垃圾袋，所有样品应按有生物传染性危险品对待。
- h. 将本区所有废弃物分类装入垃圾袋，封口，在垃圾筐上套好新的垃圾袋，将垃圾带出本区。
- i. 将蓝色工作服留在本区。
- j. 本区应避免不必要的走动，同时维持相对正压状态，实验结束后，清洁安全柜、实验台及地面，打开紫外灯消毒 30 分钟。

4.4 扩增区

- a. 实验人员进入该区须在缓冲区更换专用蓝色工作服及拖鞋。
- b. 记录实验室干、湿度，登记冰箱温度。
- c. 使用带有本区标识的记录本、纸和笔，每项记录，书写工整详细。

- d. 将传入本区加样后的试剂上机扩增。
- e. RT-PCR 扩增完成后，将样品通过传递窗传入下一区；实时荧光 PCR扩增完成后，记录检测结果，及时发放报告单；记录仪器使用时间和运行状态。
- f. 将本区所有废弃物分类装入垃圾袋，封口，在垃圾筐上套好新的垃圾袋，然后将垃圾带出实验室。
- g. 将粉色工作服留在本室再离开实验室。

4.5 产物分析区

- a. 将传入本区加样后的试剂上机扩增
- b. 扩增完成后，记录检测结果，及时发放报告单，记录仪器使用时间和运行状态。
- c. 将本区所有废弃物分类装入垃圾袋，封口，在垃圾筐上套好新的垃圾袋，然后将垃圾带出实验室。
- d. 工作服留在本室再离开实验室
- e. 严禁本区物品带至其他区，实验结束后清洁该区打开紫外灯照射，最好整夜消毒，记录紫外灯使用情况。

5. 本文涉及以下表格

PCR实验室环境温湿度记录表

冰箱温度登记表

实验室清洁消毒记录表

垃圾处理记录表

紫外消毒车消毒记录表

PCR废弃物的处理程序

1. 目的： 保证实验室、实验人员和外部环境的安全。
2. 适用范围： 核酸扩增检测实验室常用化学试剂（ NaOH EDTA 乙醇、生理盐水等） 、 实验室废弃物的处理；
3. 负责人： 操作人：
4. 细则：
 - 4.1 科室职责应对本室工作人员讲明本程序在预防交叉、 实验室污染及切断传播途径中的重要性，并要求严格执行。
 - 4.2 实验室所有垃圾，装入专用污物袋内，各区备有：生活垃圾袋（黑色）及生物污染垃圾袋（黄色）。使用过的一次性消耗品（如试管、吸头、离心管、等）在实验结束后立即高压消毒，再放入黄色垃圾袋内，使用过的手套、鞋套等直接放入黄色垃圾袋内再集中处理。
 - 4.3 夹取标本的工具，如钳、镊、吸管等，用后均应消毒清洁，进行微生物检验时，应重新灭菌，金属工具可烧灼灭菌或消毒液浸泡；玻璃制品高压蒸汽灭菌。
 - 4.6 盛标本的容器，若为一次性使用的纸质容器及其外面包被的废纸， 用高压蒸汽灭菌后集中处理；对可再次使用的玻璃、塑料或搪瓷容器，煮沸 15 分钟或加入 10%次氯酸钠溶液浸泡 2~4 小时，消毒液每日更换，消毒后用洗涤剂及流水刷洗，沥干，用压力蒸汽灭菌后备用。
 - 4.7 废弃标本及其容器装入黄色垃圾袋内，高压蒸汽灭菌后，交污物处理中心集中处理。
 - 4.8 日常生活垃圾如纸屑等按一般垃圾处理。
5. 本文涉及以下表格
PCR 废弃标本处理交接表

试剂准备区工作制度 标准操作、程序文件

1. 目的： 规范试剂准备区的配置、功能、内务管理等。

2. 适用范围： PCR实验室。

3. 负责人： 操作人：

4. 细则：

4.1 配置：

普通冰箱？一台，超净工作台一台，台式离心机一台，混匀器一台，加样器一套， 可移动紫外灯？一台，
空调一台，生物垃圾桶和生活垃圾桶各一个，办公用品若干。

4.2 功能：

储存溶液的准备，反应体系的准备，分装，成品试剂和化学试剂的贮存， 75%乙醇，？病毒培养液等简单
试剂的配制。

4.3 内务管理：

f. 着装和标识：本区工作服以 白色？、专用设备以 绿色？ 为标识。

g. 实验人员进入该区须穿本区专用 白色 工作服。实验中须戴一次性手套、鞋套或本区专用拖鞋。

h. 记录温湿度计读数和冰箱的温度计读数。 （本区每天在工作前利用本区的温控设备使温度控制在
15- 25 之间）

i. 根据当天的标本取出当天实验须配制和使用的试剂，其余试剂要立即收好放回冰箱内。试剂的配制
须在超净工作台内完成。

j. 每次实验均应清点库存试剂，每周检查有无过期或将近到期的试剂，或作报废处理或优先使用，避
免浪费，然后记录试剂的详细保存情况。

k. 实验中使用的离心管、吸头等均为一次性用品，使用时应在消毒有效期内。

l. 试剂准备工作完成后，将使用过的离心管、吸头置于盛有 84 消毒液的废液缸中，还原实验台面。

m. 将准备好的试剂放入传递窗中。其他区的用品不得带入本区。每次实验记录，书写工整详细，应使
用本室专用的、带本室标识的记录本、纸和笔。

n. 走出试剂准备室，在缓冲区脱下工作服，将手套及鞋套置于专用污物桶中。

o. 工作完毕打开紫外灯消毒 30 分钟。

5. 本文涉及以下表格

试剂保存使用登记表

耗材使用登记表

实验记录本

反应体系配置说明书

标本制备区工作制度 标准操作、程序文件

1. 目的： 规范样本处理区的配置、功能、内务管理等。

2. 适用范围： PCR实验室。

3. 负责人： 操作人：

4. 细则：

4.1 配置：

冰箱一台，生物安全柜一台，台式高速冷冻离心机一台，混匀器一台，加样器一套， 可移动紫外灯？ 一
台，电热恒温水浴箱？ 一台，空调一台，其它耗品、办公用品若干。

4.2 功能：

本区负责各种标本、质控样品的核酸提取纯化，储藏，样本贮存。

4.3 内务管理：

- a. 着装和标识：本区工作服、专用设备均以 蓝色？ 为标识。
- b. 验人员进入该区须穿本区专用 蓝色 工作服。 实验中须戴一次性手套 （手套需常更换）、鞋套或本区专用拖鞋。
- c. 从传递窗中取出试剂放入冰箱试剂存放专区暂存。
- d. 记录温湿度计读数和冰箱的温度计读数。 （本区每天在工作前利用本区的温控设备使温度控制在 15- 25 之间）
- e. 核对标本的编号、类型和标本数量。
- f. 按试剂盒要求进行标本的裂解和提取处理， 在生物安全柜上进行加样， 加样后低 12000rpm 离心数秒。
- g. 使用本室专用的经过无菌处理的加样器和带滤芯的吸头。
- h. 使用过的离心管、吸头须置于盛有 5%施康消毒液的废液缸中。
- i. 使用带有本室标识的记录本、纸和笔。其他区的用品不得带入本室。
- j. 患者标本应按有生物传染性危险品对待。
- k. 标本处理完成后，关闭所有仪器，记录运行状态。
- l. 走出标本处理区，在缓冲区脱下专用工作服，将手套、鞋套置于专用污物桶中。
- m. 实验完毕打开紫外灯消毒 60 分钟。

4.4 核酸提取操作规程

本实验室使用江苏硕世的核酸提取试剂

取 200 μ l 样品于 1.5ml 离心管中

加入 400 μ l Lysis Buffer, 振荡混匀，室温孵育 10 分钟

加入 450 μ l Binding Buffer (已加无水乙醇) , 振荡混匀

将 600 μ l 混合液移至一新吸附柱中, 4 12000rpm , 离心 1 分钟; 弃废液, 将吸附柱放入同一收集管中

将剩余混合液移至吸附柱中, 4 12000rpm , 离心 1 分钟; 弃废液, 将吸附柱放入新收集管中

加入 400 μ l WB1 , 4 12000rpm , 离心 30 秒; 弃废液, 将吸附柱放入同一收集管中

加入 600 μ l WB2 (已加无水乙醇) , 4 12000rpm , 离心 30 秒; 弃废液, 将吸附柱放入同一收集管中

4 12000rpm , 空柱离心 3 分钟

将吸附柱放入新离心管中, 在吸附柱膜中央小心加入 50 μ l Elution Buffer, 室温静置 2-5 分钟

4 12000rpm , 离心 1 分钟

-20 保存备用

5. 本文涉及以下表格

试剂保存使用登记表

核酸提取说明书

扩增区工作制度 标准操作、程序文件

1. 目的：规范基因扩增、分析区的配置、功能、内务管理等。

2. 适用范围：PCR实验室。

3. 负责人： 操作人：

4. 细则：

4.1 配置：

美国伯乐 PTC-200 型核酸扩增仪一台， ABI7300 荧光定量检测仪一台，电脑一台、可移动紫外灯一台、空调一台、其它耗品、办公用品若干。

4.2 功能：

进行扩增反应并对产物进行分析。

4.3 内务管理：

- a. 着装和标识：本区工作服、专用设备均以红色为标识。
- b. 实验人员进入该区须穿本区专用红色工作服。实验中须戴一次性手套（手套需常更换）、鞋套或本区专用拖鞋。
- c. 从传递窗中取出已加样并离心好的反应管上机扩增。
- d. 按荧光扩增仪的标准操作文件对各种标本进行检测。扩增结束后对检验结果进行分析。
- e. 记录温湿度计读数。（本区每天在工作前利用本区的温控设备使温度控制在 15-25 之间）
- f. 作好扩增仪的维护、实验数据的记录、质控记录。
- g. 关闭扩增仪，记录运行状态。
- h. 实验结束后将已经扩增的反应管放入塑料套袋中密闭后带出，脱下手套、鞋套置于专用污物桶中，由卫生员清除。
- i. 实验完毕打开紫外灯消毒 60 分钟

4.4 核酸扩增操作规程

本实验室使用美国伯乐 PTC-200 型核酸扩增仪和 ABI7300 荧光定量检测仪，在此对其操作规范？进行描述

a. 伯乐 PTC-200型核酸扩增仪操作

开机，打开电源开关，仪器进行自检（约一分钟结束）；

运行，显示主菜单，运行一个程序：

从主菜单中选择 RUN, 按《 Proceed 》，显示 <MAIN>菜单（和自己创建的文件夹）？用 Select 键选择要运行的程序，按《 Proceed 》；

设置样品管子类型及反应体积

在“ Vessel Type ”项中选择，要使用的（管子、微型板和玻片），按《 Proceed 》；在“ Volume ”项中输入样品体积（微升）按《 Proceed 》；

在“ Use heated lid ”中选择程序运行过程中是否热盖，按《 Proceed 》；程序开始运行。

b. ABI 7300 型荧光定量检测仪操作

打开计算机，打开扩增仪电源开关；双击桌面上“ 7300 System Software ”图标，进入 ABI 7300 程序界面（图 1）；

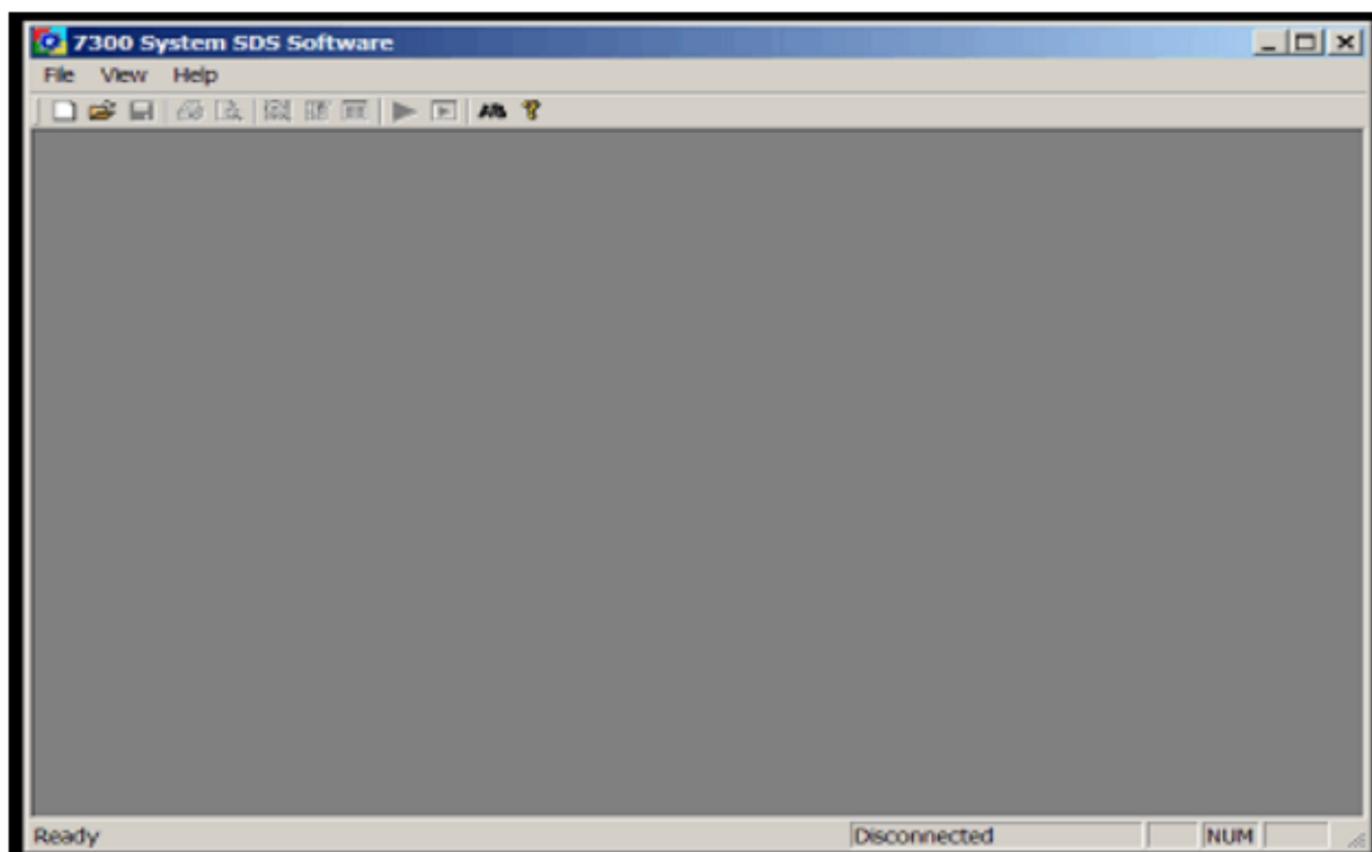


图 1

点击  “ New document ” 进入新建实验界面（图 2）；

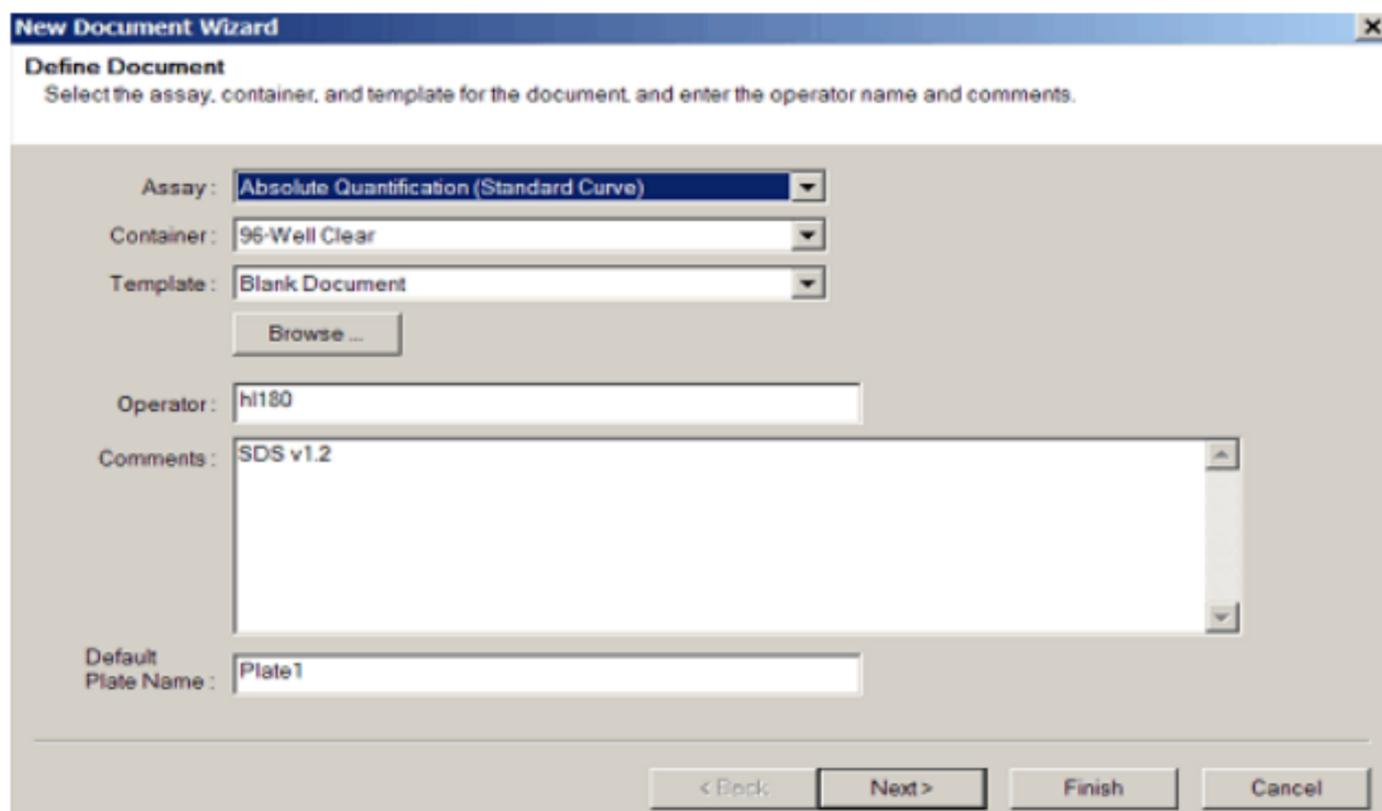


图 2

点击  进入模版选择界面（图 3）；

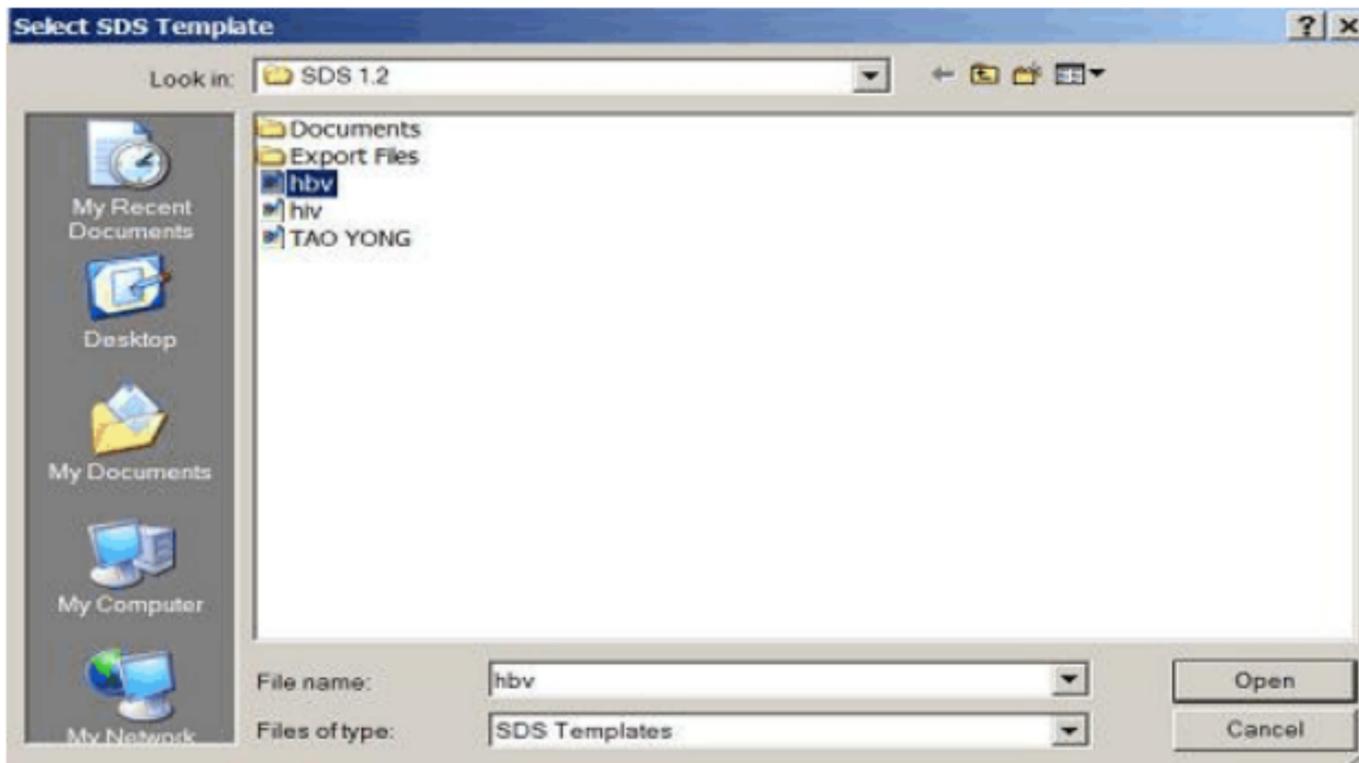


图 3

选择 hbv 后点击 **Open** 按钮，回到前一个界面； 点击 **Finish** 按钮，进入样本设置界面（图 4）；

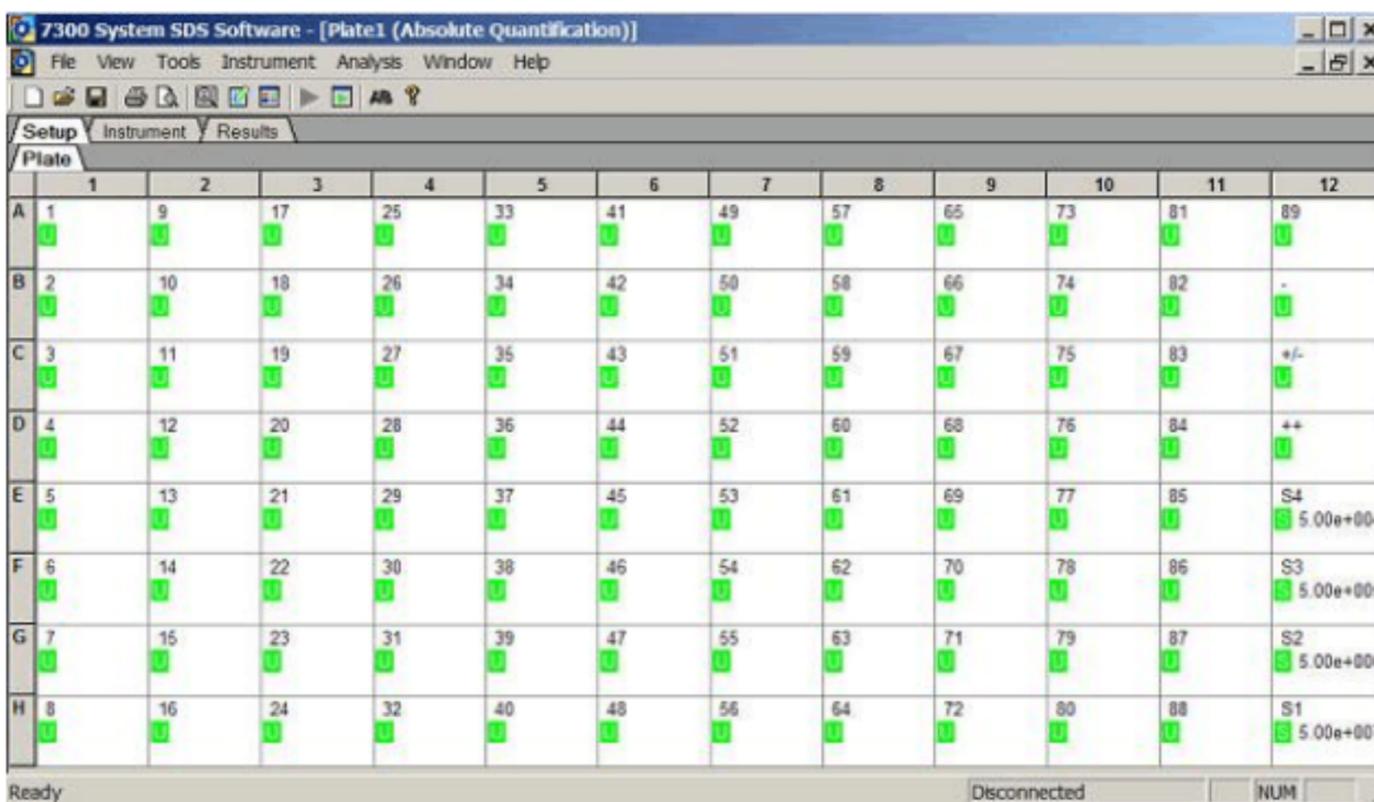
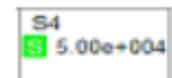


图 4

在这个界面里，默认所有的孔位都有样品。



该图标表示：第 35 号标本，



该图标

表示：标准品 4，浓度 5×10^4 拷贝 / 毫升。根据当天标本的实际情况把没有放置标本的孔位去除：首先拖动

鼠标将没有放置标本的孔位选中（按住 **Ctrl** 键的同时用鼠标选择相应孔位），点击  “Hide/Show Well Inspector”，进入选择界面（图 5）。

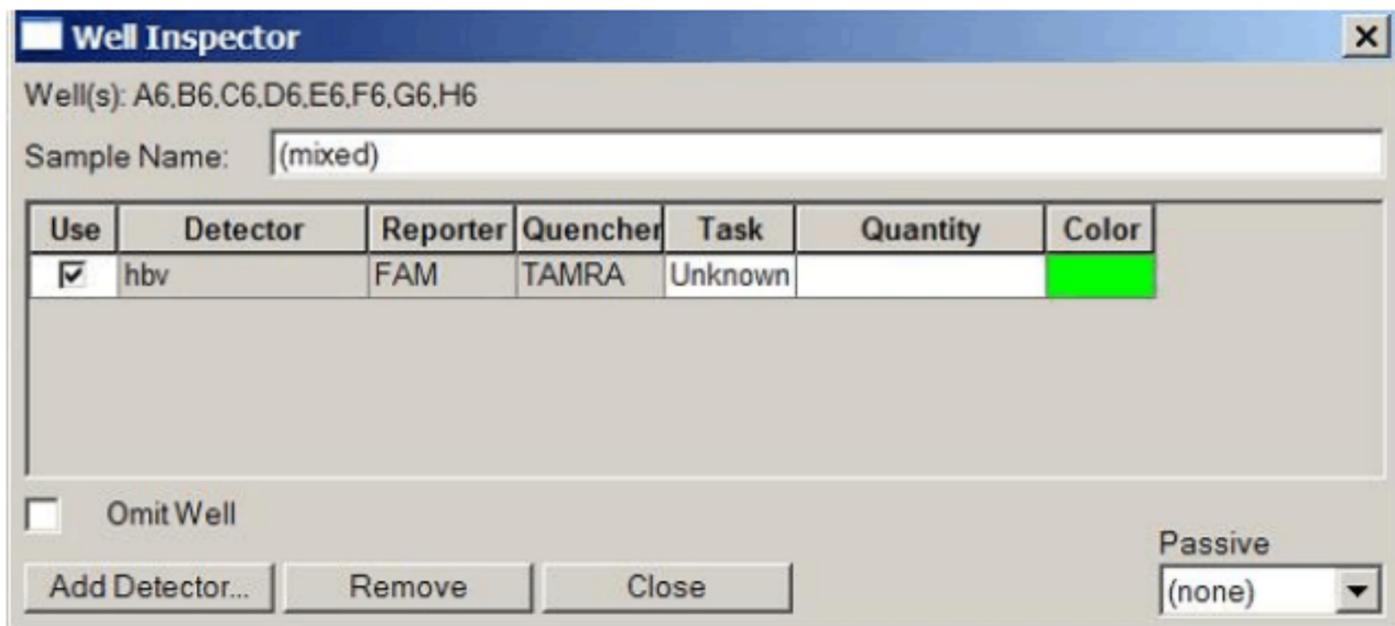


图 5

将

Use	Detector
<input checked="" type="checkbox"/>	hbv

 选择框中的 “” 去掉，变成

Use	Detector
<input type="checkbox"/>	hbv

，点击 **Close** 回到图 4，同时被

选中孔中的 U 会被去掉。在图 5 中请确认中

Passive
(none)

 显示的为 “(none)”。

输入标准品的方法：请先选择要设置为标准品的孔位点击 进入如下界面，将 “Task” 下选项设置为 “Standard”，在 “Quantity” 下输入相应标准品的拷贝数，如 “50000” (图 6)

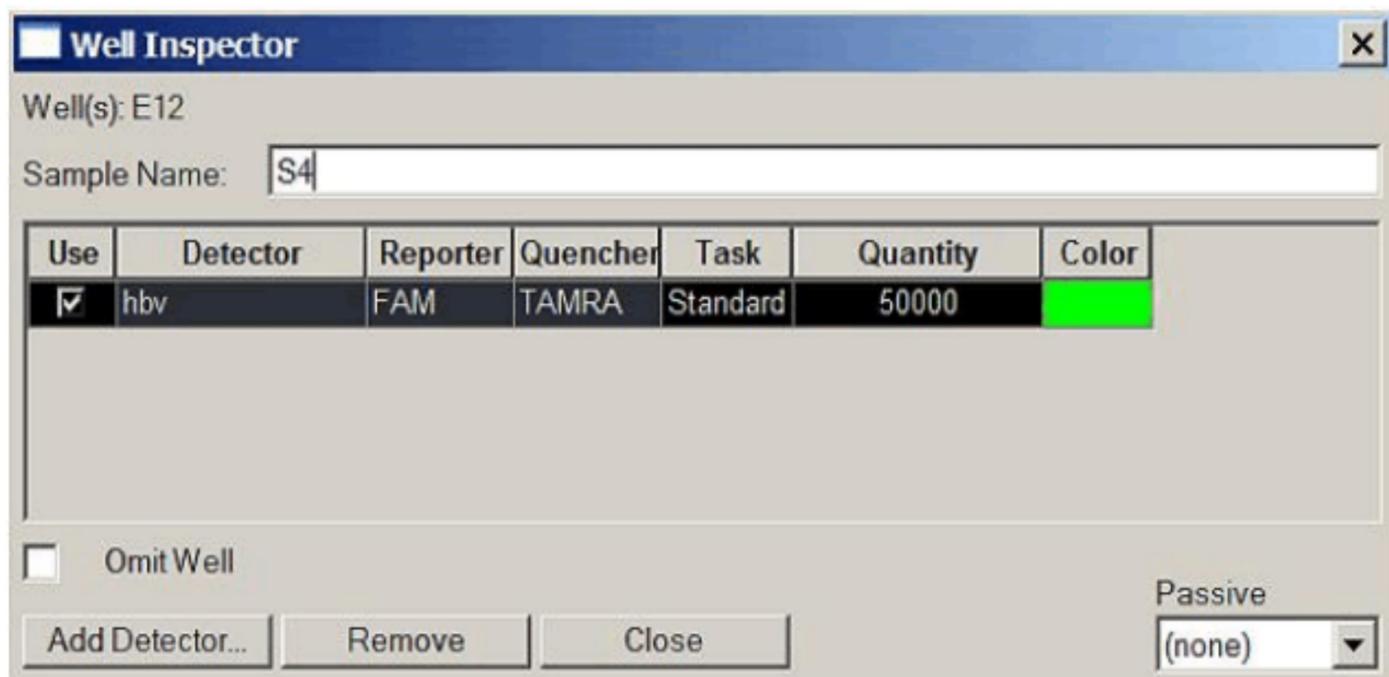


图 6

设置好标本及标准品后，点击 **Setup** **Instrument** **Results** 中的 **Instrument** 进入反应条件设置界面 (图 7)。

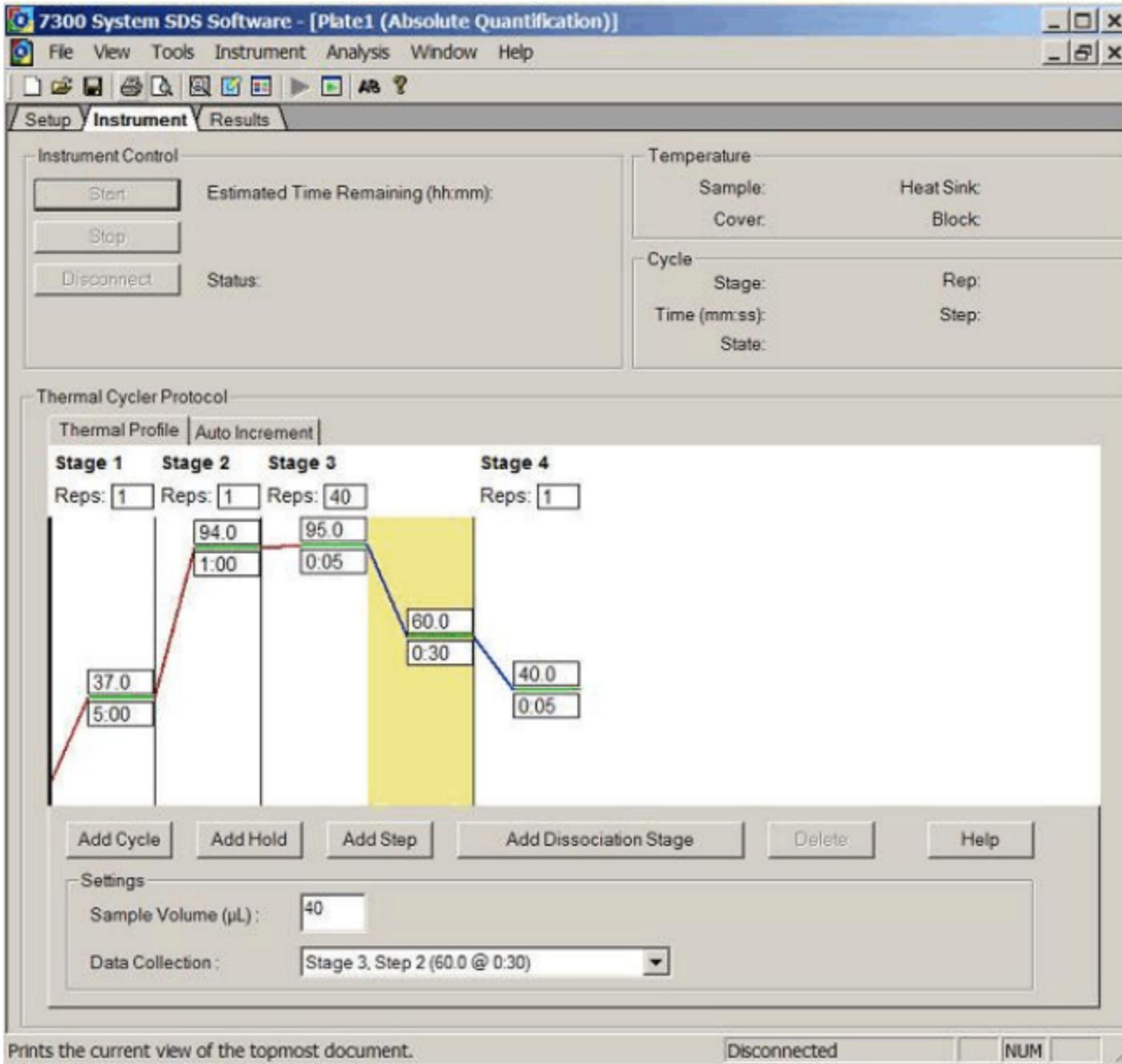


图 7

一切设定好后，点击  “ Save Document ”，在跳出的如下界面中输入文件名（一般用项目名 +年月日表示），如 “ HBV20060526”（图 8）。然后点击  回到图 7。

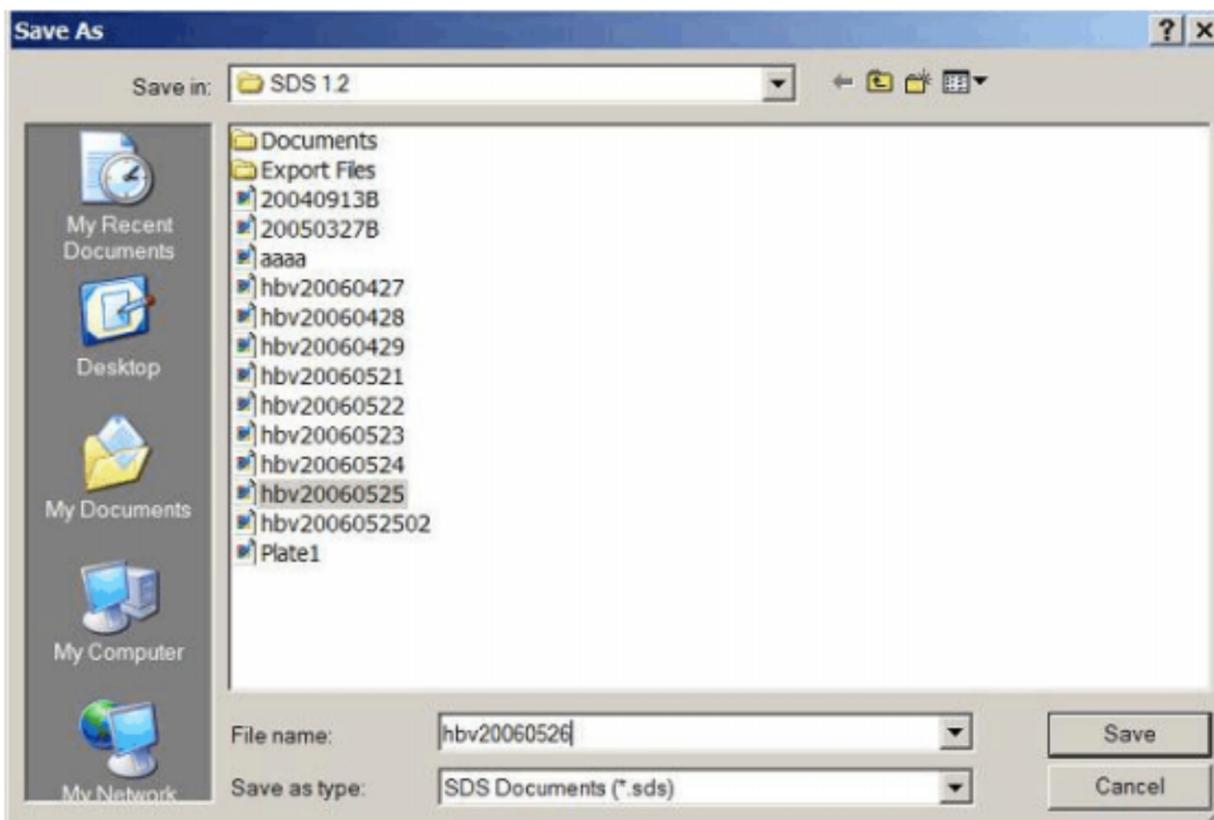
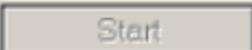
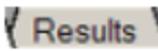
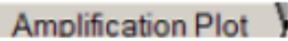


图 8

点击  进入实验阶段（图中“Start”因为没有联机呈灰色），此时机器会调用实验所需的程序，稍后会出现实验所需时间及实验中的温度变化情况。一般等这些数字显示出来就可以放心离开了。

实验过程中可以点击图 7 中  进入实时荧光 PCR 界面。点击

 中的  可以进入实时荧光 PCR 扩增曲线的实时显示界面。

实验结束后分析实验结果并保存数据，退出软件的主菜单；关掉电脑，关闭 ABI-7300 仪器正面的电源开关。

c. ABI 7300 型荧光定量检测仪实验结果分析

A. 实验结果无效的判断标准：出现下述四种情况中的任何一种或多种，当次实验结果不可发，查找原因，重做实验。

阴性对照出现扩增。

阳性对照无扩增。

大批甚至所有的标本都扩增了。

室内质控检测结果出现失控情况，实验失控的具体标准详见室内质控标准操作程序。

B. 实验结果有效的判断标准：达到下列要求后，当次实验有效，可以发放结果。

阴性对照没有扩增，阳性对照扩增。

荧光扩增仪阳性标准品梯度曲线平滑均匀，斜率、截距和相关系数三个参数的数值均在范围内。

室内质控检测结果处于在控状态。

5. 本文涉及以下表格

室间质评记录表

PCR室内质控记录表

室内质控图

产物分析区工作制度 标准操作、程序文件

1、目的：保证扩增结果分析的标准化、规范化。

2、适用范围：适用于本室使用的六一仪器的 DYY—6C 型琼脂糖凝胶电泳仪和美国伯乐 BIO-RAD Gel Doc XR 凝胶成像仪。

3、负责人： 操作人：

4、细则：

4.1 配置：

凝胶电泳仪一台，凝胶成像仪一台，电脑一台、可移动紫外灯一台、高压消毒锅一台、空调一台、其它耗品、办公用品若干。

4.2 功能：

进行扩增反应产物进行分析。

4.3 内务管理：

- a. 着装和标识：本区工作服、专用设备均以蓝色为标识。
- b. 实验人员进入该区须穿本区专用蓝色工作服。实验中须戴一次性手套（手套需常更换）、鞋套或本区专用拖鞋。
- c. 从传递窗中取出已扩增好的反应管取样电泳并分析结果。
- d. 记录温湿度计读数（本区每天在工作前利用本区的温控设备使温度控制在 15-25 之间）；作好仪器的维护、实验数据的记录。
- e. 关闭仪器，记录运行状态。
- f. 实验结束后将已经扩增的反应管放入塑料套袋中密闭后带出，脱下手套、鞋套置于专用污物桶中，由卫生员（经培训）清除。
- g. 实验完毕打开紫外灯消毒 60 分钟

4.4 凝胶电泳仪及凝胶成像仪操作规程

a. 凝胶电泳仪操作

确认电源符合要求后，开启电泳仪的“电源开关”；
仪器蜂鸣 4 声后显示上一次工作的设定值；因是重复同一参数使用时，即可直接选择 Start 后启动；
按【启/停】键后，仪器鸣响 4 声，输出启动，“输出指示灯”闪亮，开始工作（当输出稳定后，稳压/稳流状态改变时，仪器会自动鸣响 2 声以示提醒用户）；
定时到后仪器自动显示已用时间并反复鸣响，关机取出凝胶；

B. 凝胶成像仪操作、

将取出的凝胶置于适当的载物平台上
关闭暗箱门

调整滤光片

打开相应光源

接下来打开 Quantity One 软件，选择 File 中选 GelDoc XR 菜单，进入图像采集界面

按下 Live/Focus ，成像仪进入实时成像

- 11 选择照明模式，一般荧光样品选择 UV,普通透射或反射样品选择 White 模式
- 12 仪器面板上有三个上下键按钮： IRIS（光圈），ZOOM（缩放），FOCUS（聚焦），可在软件上直接调节或在仪器面板上手工调节
- 13 单击 Auto Expose, 系统将自动选择曝光时间成像（系统默认 0.15%的像素饱和的成像时间为最佳时间，在 Options 对话框中可以修改该项设置）, 如不满意，单击 Manual Expose ,并输入曝光时间（秒）
- 14 图像曝光满意后，按下“ Freeze ”按钮
- 15 按下“ Analyze ”按钮，将弹出一个新窗口显示图像，以供分析
- 16 第 5 步结束后，也可以按下“ Save ”键，保存图像

5. 实验结果分析

5.1 实验结果无效的判断标准：出现下述四种情况中的任何一种或多种，当次实验结果不可发，查找原因，重做实验。

阴性对照出现扩增。

阳性对照无扩增。

大批甚至所有的标本都扩增了。

室内质控检测结果出现失控情况，实验失控的具体标准详见室内质控标准操作程序。

5.2 实验结果有效的判断标准：达到下列要求后，当次实验有效，可以发放结果。

阴性对照没有扩增，阳性对照扩增。

室内质控检测结果处于在控状态。

6. 本文涉及以下表格

标本的保存操作程序

1. 目的： 标本正确保存，以便必要时复查。

2. 适用范围： 分子诊断室的所有检测标本。

3. 负责人： 操作人：

4. 程序：

4.1 处理前的标本保存

标本可 4 下短期（ 24h 内）保存，长期保存则需取出棉签，保存于 -70 下。

4.2 报告发出后的标本保存：

a) 提取的核酸标本当天检测可置 4 保存，如当天不检测应置 -70 保存；报告发出后第二周丢弃。

b) 原始样本在报告发出后放入低温冰箱 -70 长期保存，以备复查或送检。

c) 标本放置低温冰箱保存时须有记录，按编号顺序存放，并由专人负责管理。

4.3 特殊标本的处理：

对暂不检测的项目和规定时间外收到的零散样本， 要随时登记和交班， 以免漏检， 遗失和延误检验。

标本一律置于 -70 下长期保存，使用时再按需取出检测。

5. 本文涉及以下图表：

PCR扩增接收标本记录表

拒收标本记录本

标本 超低温保存记录表

PCR标本的采集、运送、接收程序

1. 目的：规范待检标本的正确采集、送检和处理。

2. 适用范围：分子诊断室的所有检测标本。

3. 负责人： 操作人：

4. 程序：

4.1 标本的采集

4.1.1 标本由接受过基因扩增检测有关标本采集、保存、运输知识培训的人员采集并送至实验室。

4.1.2 标本采集要求

- a. 咽拭子：让患者用清水漱口，然后让患者张口发“啊”音，必要时使用压舌板；取出培养管中的拭子轻柔、迅速地擦拭两腭弓、咽及扁桃体；将拭子插入试管中，塞紧瓶塞；
 - b. 肛拭子：用棉花拭子在生理盐水中浸湿，插入肛门 2-3cm 处，自肛门周围皱襞处拭取，或在肛门口内轻轻旋转涂擦，然后插入盛有生理盐水的试管内；
 - c. 粪便：采集的粪便务求新鲜，不可混入尿液；一般检查留取少量（ 5g 左右）粪便即可。盛粪便的容器要求干燥而清洁，不可有消毒剂和防腐剂，最好用一次性便盒。做细菌培养时，应采集于灭菌的粪便培养管内送检（采集标本时，应选择带脓血和粘液部分。如无脓血和粘液，可就粪便表面不同部分及粪端采取。如怀疑霍乱患者的粪便标本的采集。 ）；
 - d. 疱疹液：用消毒针将疱疹挑破，然后用棉签蘸取疱疹液，迅速将棉签放入内装有 3 ~ 5ml 保存液（维持液或生理盐水，推荐使用维持液）的采样管中，在靠近顶端处折断棉签杆，旋紧管盖并密封；
- 以上操作均需使用无菌器材，并将拭子放入灭菌试管；注明标本留取时间，及时送检。
- e. 脑脊液：脑脊液标本的采集量为 1.0 ~ 2.0ml ，采集后，即装入无菌带垫圈的血清管中；

4.2 标本的运送

标本采集后，密闭、标（贴）姓名，应尽可能快的送至检测实验室，如运送时间需 2 小时以上，必须用冰盒送至实验室。

标本中如加入了适当的稳定剂，如用于 RNA测定加入 4mol/L 异硫氰酸胍盐（GITC）的血清（浆）标本和用于 DNA测定的 EDTA抗凝血等，则可在室温下运送或邮寄。

4.5 接收

4.5.1 严格对各类样本的查对和双签制度，对病房各样本及时进行验收，查对，不符合要求的样本一律退回，并有书面记录。

4.5.2 分类验证

a. 一般内容

进入实验室的样本在进行编号、离心前，工作人员应再次认真查对姓名，编号等。对不符合要求者应作记录，并及时通知送检单位，正确及时地补采样，以免延检测结果报告。对书写不清楚的申请单，要及时与

送检单位联系（可电话），明确受检者姓名，性别，年龄，地址和发病时间等；并作相应记录。

b. 实验室人员对本标本进行查验，出现下表中不合要求的情况时，应拒收标本，登记并告知相关科室。

类别	拒收原因
1	未正确使用采样液保存的标本
2	采样液不足（< 3mL）或过量（>5ml）
3	标本容器破裂，标本被污染
4	标本的病人姓名、年龄、性别等与送检单不相符
5	RNA检测，采样时间超过 2 小时
6	其他可能严重影响检验结果的原因

c. 拒收程序

a) 对拒收的不合格标本应在拒收标本记录本上登记。

b) 填写不合格标本处置单，并随同申请单送返送检科室。

c) 必要时电话告之相关科室医生或护士。

5. 本文涉及以下图表：

PCR扩增接收标本记录表

PCR扩增拒收标本记录表

PCR生物安全防护措施

1. 目的： 预防工作人员在实验过程中被感染或污染。
2. 适用范围： 适用于本室所有工作人员。
3. 负责人： 操作人：
4. 细则：
 - 4.1 实验人员在实施生物防护措施时， 应严格遵守各项相应的规章制度， 建立起强烈的生物防护意识。
 - 4.2 每天更换废液缸的 2%戊二醛溶液， 并保证 2%戊二醛溶液用量为废液缸内总液量的五分之一左右。
配置消毒液时，正确量取足量的消毒剂（用量杯，保证浓度） ，水的用量也要正确，缸体密封性良好。
 - 4.3 实验台面日常清洁时使用 75%的酒精擦拭。
 - 4.4 每区每次实验后紫外灯照射 30 ~ 60 分钟，如有需要可延长照射时间。
 - 4.5 所有标本均应视作传染源，因此在标本的采集、运输过程中，标本容器应完好无泄漏。
 - 4.6 处理标本时应穿工作服、戴手套，以免沾上皮肤。如手或其它部位的皮肤沾上血液或体液标本以及试剂，应立即冲洗干净。有下列情况之一者，需另外消毒：手接触有传染性的微生物，水龙头、水池肥皂可能被污染，工作服可能被大量细菌污染。消毒剂可用“ 84 ” 消毒液。
 - 4.7 在实验过程中，病人标本（血液、体液）或试剂不慎溅入眼内应立即用清水洗。
 - 4.8 实验过程中在使用针具等锐器时，尽量小心防止受伤。若被锐器刺破时，应立即脱下手套，尽量挤压伤处，使血流出，然后用碘酒、酒精消毒，必要时进行预防补救措施。
 - 4.9 在实验过程中病人标本（血液、体液）外漏时，应立即用 2%戊二醛滴上，滤纸或纱布盖上半小时，然后用酒精擦洗，并用紫外灯消毒。
 - 4.10 实验完毕离开时，应脱下所有该实验区个人防护装备。
 - 4.11 实验完毕后应对实验室进行紫外消毒。
 - 4.12 遇有意外事故应立即报告科室负责人，当事人应立即注射相关疫苗或进行预防性治疗，并进行医学观察，严重者应报告上级领导 ？。

5. 本文涉及以下表格

紫外消毒车消毒记录表

实验室清洁消毒记录表

PCR实验室化学试剂配制程序

1. 目的：保证实验中用到的各种溶液符合实验要求。

2. 适用范围：核酸扩增荧光检测实验室常用溶液：4%NaOH溶液、75%酒精、消毒剂（三氯异氰尿酸或二氯异氰尿酸钠）、2%戊二醛溶液等。?电泳液

3. 负责人： 操作人：

4. 程序：

4.4 化学试剂的配制：

4.4.1 用具：干燥洁净的 250ml 量桶一只，1000ml 量桶一只，1000ml 烧杯一只，三角烧瓶两只，天平一架，100ml 塑料试剂瓶、2000ml 广口瓶各一只。

4.4.2 配制步骤：

4.4.2.1 配制 4%NaOH溶液：

- a) 用天平称取 4 克分析纯的 NaOH固体，置于一只三角烧瓶中。
- b) 用 250ml 量桶准确取 100ml 水，缓缓注入盛放 NaOH固体的三角烧瓶中。
- c) 摇荡三角烧瓶使 NaOH固体充分溶解。
- d) 然后缓缓倾倒入 100ml 塑料试剂瓶中密封保存备用。

4.4.2.2 配制消毒剂：

- a) 一般桌面、器具和地面的消毒只要使有效氯达到 500mg/L，即可达到消毒作用。
- b) 消毒剂为粉状（20 克/袋），如配制一升的消毒剂溶液，则取 500g，倒入烧杯中，缓缓加入 1000ml 水充分溶解，备用。
- c) 如需加大消毒力度，则有效氯浓度加大。

4.4.2.3 配制 75%酒精溶液：

- a) 一般常规消毒的 75%酒精由医院药剂科提供。
- b) RNA提取的 75%酒精的配制，试剂盒提供 DEPC水，酒精用分析纯的无水酒精，根据当天的标本数量进行配制。

4.4.2.4 配制 2%戊二醛溶液：

- a) 准确量取戊二醛原液 20ml 倒入 1000ml 烧杯中。
- b) 量取 980ml 水，缓缓倒入 1000ml 烧杯中，混匀，加至 2000ml 广口瓶中备用。

注意事项：每份配制好的溶液保质期为 14 天

PCR实验室记录管理制度

- 1、目的： 确保检验资料的记录、保存状态在控
- 2、适用范围： 实验过程中产生的数据、文本资料的记录
- 3、负责人： 操作人：

4、工作程序：

4.1 书面记录文件的管理：

4.1.1 本实验室的书面记录包括：

001 ABCD人民医院检验科基因检测实验室平面图	-----	编号 ABCD/001
002 实验室主要负责人简历表	-----	编号 ABCD/002
003 PCR实验室工作人员一览表	-----	编号 ABCD/003
004 PCR扩增接收标本记录表	-----	编号 ABCD/004
005 拒收标本记录本	-----	编号 ABCD/005
006 标本超低温保存记录表	-----	编号 ABCD/006
007 PCR试剂购买记录表	-----	编号 ABCD/007
008 试剂验收记录表	-----	编号 ABCD/008
009 PCR室特殊耗材验收记录表	-----	编号 ABCD/009
010 普通耗材验收记录表	-----	编号 ABCD/010
011 室间质评记录表	-----	编号 ABCD/011
012 PCR室内质控记录表	-----	编号 ABCD/012
013 室内质控图	-----	编号 ABCD/013
014 PCR 实验室环境温湿度记录表	-----	编号 ABCD/014
015 冰箱温度质控图	-----	编号 ABCD/015
016 仪器使用记录表	-----	编号 ABCD/016
017 仪器设备维护和校准记录表	-----	编号 ABCD/017
018 紫外消毒车消毒记录表	-----	编号 ABCD/018
019 应急处理登记表	-----	编号 ABCD/019
020 PCR 废弃标本处理交接表	-----	编号 ABCD/020
021 垃圾处理记录表	-----	编号 ABCD/021
022 实验室清洁消毒记录表	-----	编号 ABCD/022
023 PCR 检验报告单	-----	编号 ABCD/023
024 耗材进购记录表	-----	编号 ABCD/024
025 试剂耗材供应商一览表	-----	编号 ABCD/025

4.1.2 填写书面记录，需使用黑色墨水或圆珠笔，字迹清晰，如有涂改，在涂改处应有涂改人签名，不得在记录表上进行无关书写，保持记录表清洁、完整。实验记录表严格专用，不同实验区不得混用。

4.1.3 每个记录本要纳入档案管理，写完后及时放入档案柜，每月分类装订成册，并依照要求进行编号，如2003年5月的实验结果记录本、试剂消耗记录本、室内质控图分别编为 200305SYJG 200305SJXH 200305SLZK，分别放于档案柜的不同位置以便查询。标本原始检测申请单最后保存于仓库 2年，其它实验记录保存于各自实验操作区内，保存 5年。

4.1.4 定期对保存的记录进行分析总结，形成总结报告，以便改进工作。

4.1.5 在没有实验室职责同意的情况下，不得随意将记录借出。在记录借出时需有实验室职责、经手人、借阅人的签名方可。

4.2 电脑上记录文件的管理

4.2.1 记录文件必须保存在非系统分区中，如 D盘，保存路径要清晰、便捷、易查找。

4.2.2 文件夹目录结构要求层次分明，一整年的实验结果均保存在一个年度文件夹里，如“2003年”文件夹；每个年度文件夹包含 12个月文件夹，如“Jan01”、“Feb02”，每天的实验结果就保存在当月文件夹里。

4.2.3 实验文件保存时以当天日期命名，若某天进行了多次实验，命名时在后面以 a、b、c等字母标识，如2003年5月8日做的两次实验，分别保存为 20030508a和20030508b。

4.2.4 为了防止储存实验结果的电脑发生系统崩溃、硬件故障等问题导致实验结果丢失、无法查询等情况，每个月的实验结果记录文件都要用移动存储设备（如软盘、USB硬盘等）拷贝到另一部PC机上做备份；一年的数据要用刻录机刻制一张CD光盘备份储存，贴上标签，如“2003年实验结果备份”，放入档案柜妥善存放。

PCR应急处理程序

1. 目的：在实际工作中，仪器设备发生故障、试剂盒发生质量问题时，为保证检验结果的准确性、及时，应正确采取应急措施，最大程度上避免或减轻不利影响。
2. 适用范围：适用于满足核酸扩增检测实验室检测需要并可能对检验结果造成误差的仪器设备和试剂盒。
3. 负责人：
4. 细则：
 - 4.1 核酸扩增检测实验室工作人员在职责范围内均有责任熟悉各种仪器和相关设备的性能、要求、维护和保养、常见故障的排除、尤其要严格按照操作规程操作。
 - 4.2 工作人员在职责范围内均有责任有意识地注意以求及时发现并报告仪器设备和试剂盒的异常情况。
 - 4.3 作为应急处理，潜在着一定的可能影响检测质量的不确定因素。室负责人负责在第一时间检查核实应急措施的有效性。
 - 4.4 仪器设备故障
 - d. 科室负责人接到异常情况报警后，立即现场确认异常情况的性质：观察有误、误操作、偶发现象或确属不能立即排除的故障。
 - e. 用红牌故障标志标示故障仪器，以防被错误使用。
 - f. 有满足要求的替用设备的，启用替用设备（准用仪器）。借用其他部门仪器设备时，及时联系借用并核实该设备的使用状态。替用、借用或备用设备的使用在满足质量要求的同时，必须同时满足实验室管理措施（特别是防污染）的要求。
 - g. 不能解决的问题，应及时与供应方会同解决。根据双方合同约定，及时通知供应方。供应方技术支持人员将在规定的时间内随身携带备用设备到达现场。
 - h. 仪器维修后，必须经验收合格并供需双方签字，调试实验通过后才能重新启用。取下红色故障标示（暂停使用），换上蓝色正常标示（正常使用）。
 - i. 科室主任须检查并随时跟踪所采取措施的有效性。
 - j. 对未能及时排除故障时，必须及时上报办公室，在主任批准下，应积极联系附近的其他已得到认证的基因扩增检验实验室检验，以满足检测需求。
 - 4.5 试剂盒质量发生问题，经核实后，及时通知供货商迅速更换另一批次试剂，使用前需先作质量检测，合格后方可使用。
 - 4.6 仪器设备故障或试剂质量问题不能得到解决，预期将会影响到检测报告的及时发出，可将标本送至其它已得到认证的基因扩增检验实验室检查；如已影响到报告的及时发出，应在联系相关科室。
 - 4.7 影响到检测报告发出的情况，应在应急处理记录表作记录。
5. 本文涉及以下表格：

应急处理记录表

试剂的质检标准操作程序

1. 目的： 保证每批用于临床实验的试剂的质量良好，符合要求。
2. 适用范围： 各种用于临床实验的核酸扩增检测试剂。
3. 负责人： 操作人：
4. 程序：
 - 4.1 收到试剂后，目测试剂是否处在正常状态（反应体系和引物等应是冻存状态）。
 - 4.2 核对试剂品种和数量并检查包装：外包装（厂名厂址、 、批准文号、批号和有效期等） ；内包装（试剂瓶完整性、试剂配备品种完整性、使用说明书有否等）。
 - 4.3 及时将试剂按要求保存。将上述检测核对情况在记录本上登记。
 - 4.4 最迟在前批次试剂存量尚可维持常规实验一周时，按如下要求对新批号试剂进行效验实验。
 - 4.5 效验实验：
 - 4.5.1 要求设置：空白对照、阴性对照、阳性对照、室内质控各一，阳性标准品梯度（ 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^8 ）。
 - 4.5.2 出现如下情况中任何一种的，判断为试剂不合格，不能用于临床检测：
 - a) 空白对照出现扩增。如扩增曲线 CT值大于 25，需重复实验确证试剂污染。
 - b) 阳性对照和阳性标准品均未检出，或阳性对照未检出而阳性标准品检出率大幅下降，表示试剂失效或检测灵敏度大幅下降。
 - 4.5.3 阳性对照未检出，阳性标准品检测正常，提示样品提取液可能存在问题。重复新旧提取液阳性对照实验，确定提取液失效问题。更换提取液后该批试剂方可使用。
 - 4.5.4 空白对照无扩增，阴性对照有扩增，排除其他污染可能性后，提取液存在污染可能。单独用提取液点样上机，出现扩增，需更换提取液后方可使用该批试剂。
 - 4.5.5 阳性对照检出，阳性标准品未检出或扩增曲线明显系统性 CT值偏大 5 个循环以上。提示阳性标准品存在问题。更换阳性标准品后该批试剂方可投入使用。
 - 4.5.6 空白对照、 阴性对照无扩增， 阳性对照正常检出， 阳性标准品导出的标准曲线之斜率 （ - 2.9 ~ - 3.9 ）截距（ 26 ~ 34）、相关性（ < - 0.99 ）均在使用范围内，表明该批试剂良好，可以投入临床使用。
 - 4.6 将实验结果归入记录。
5. 本文涉及以下图表
 PCR试剂购买记录表

 试剂验收记录表

PCR消耗品进购、质检、贮存程序

1、目的： 保证实验消耗品的质量、合理配用及存放

2、范围： 1.5ml 离心管、 0.5ml 离心管、带滤芯的吸头等

3. 负责人： 操作人：

4、程序：

4.1 实验室按需提出所购耗材的品名、规格、数量，交主任审核，报办公室订货及购买。

4.2 消耗品进购后经质检合格方可入仓，填写消耗品进购、质检记录表。

4.3 无菌处理前的消耗品贮存于试剂贮存、准备区，定期领取消毒并作用量记录，消毒过的消耗品送标本制备区备用。

4.4 消耗品在使用过程中发现质量问题（如畸形、离心管密闭性不好等） ，立即通知科主任？，办理退、换货手续。

5、质检

5.1 0.5ml、 1.5ml 离心管

5.1.1 目测：检查离心管有无畸形、破损、不能闭盖的情况。

5.1.2 实验检测：

（1）目测合格后，随机抽取 50 个离心管用于实验检测。

（2）离心管置于干式恒温器中 20 分钟后取出，如发现有爆开情况发生，即认为该批离心管不符合本实验室实验要求，作退货处理。

（3）再将这 50 个离心管加半量生理盐水后， 10000rpm 离心 20 分钟，如发现有管盖爆开或漏液情况发生，即认为该批离心管不符合本实验室实验要求作退货处理。

（4）用 6 个离心管做平行对照实验，是否与预期结果一致。

（5）经上述检测合格后，即启用该批耗材。

5.2 检测带滤芯的吸头

5.2.1 目测：检查吸头有无畸形、破损，是否带有滤芯。

5.2.2 实验检测：

（1）目测合格后，随机抽取 50 个吸头用于实验检测。用适配加样器配合吸取适量液体，检查有无吸孔堵塞、漏气现象发生，在排除移液器因素后，如有异常发现，即认为该批吸头不符合本实验室实验要求，作退货处理。

（2）用 10 个滤芯吸头做平行对照实验，是否与预期结果一致。

（3）经上述检测未发现不合格情况后，即启用该批耗材。

6. 本文涉及以下图表

耗材进购记录表

PCR室特殊耗材验收记录表

普通耗材验收记录表

PCR室内质量控制标准操作程序

1. 目的：随时了解并控制实验室检测的精密度变化。

2. 适用范围：核酸扩增荧光定量检测实验室。

3. 负责人： 操作人：

4. 程序：

4.1 血清质量控制品制备及操作

4.1.1 质控品制备：

收集本室检测的临床样本，HBV DNA定量为 10^6 copies/ml 的样本混匀，并分装于 0.5ml 的离心管中，每支 110 μ l，编号后（如 Qb0201-n），-20 保存。

4.1.2 操作：

每次检测过程中将此分装的室内质控品与样本同时检测，记录此标本的检测结果；计算前 10 次检测结果的平均值作为本批质控品的靶值。

4.1.3 如果使用商品化的质控品，按 4.1.2 要求执行。

4.2 室内质控图的使用方法

4.2.1 描点

a) 图中 \bar{X} 线为靶线， $\bar{X} \pm 2s$ 为警告线， $\bar{X} \pm 3s$ 为失控线。

对于同一批号的质控血清不论使用几个月，其空图均不变化。只要将图纸上方“起止日期”项填入每个月的实际起止日期即可。

b) 每天将该批号质控血清按有关规定程序复融随同病人的标本同时检测。将日期、检测结果和操作者如实记录在图下方的相应位置，并按前面的方法画出图上的对应点，用直线将该点与前一天的点连接。

c) 月底计算当月全部质控血清检测结果的 \bar{X} 、s 和 CV，并进行图形分析和小结，将质量控制图存入质控资料档案。

4.2.2 图形分析

a) 如果在 $\bar{X} \pm 3s$ 线以外，则为失控，应立即报告有关负责人，迅速查找原因。必要时复测标本，然后方可发出报告，并将失控情况、查找过程及处理结果等详细记录。

b) 如果在 $\bar{X} \pm 2s$ 线以外，或出现连续 6 点以上在一侧等规律变化，均应即使向有关负责人反映，并积极查找原因。但当天的检验结果一般可以发出。

4.2.3 通过观察图形的规律性变化进行误差分析，消除误差来源

a) 曲线漂移：提示有系统误差，准确度发生了一次性的向上或向下改变。这种变化往往是由于一个新的情况引起的。如更换不同批号试剂，启用新批号的质控血清、操作人员的变换等。在找原因时，应

重点注意“漂移”前后发生了那些变动的因素。

b) 趋势性变化： 向下或向上的趋势性变化表明检测的准确度发生了渐渐地变化。 这种变化往往是由于一个逐渐改变的因素造成的。如质控血清的降解，试剂效价的降低等。

c) 连续多点分布在靶值一侧：目前，一般认为质控血清的检测结果连续 6 天以上出现在靶值同一侧， 则应迅速查找原因， 争取尽快使之回复围绕在靶值随机分布的状态。 因为按照统计学原理， 由纯随机误差造成的这种情况的可能性很小。 连续 6 天以上出现在靶值同一侧可能性小于 1.5 %。因此凡出现连续 6 天以上出现在靶值同一侧者均有可能存在非随机误差因素。如结果与靶值偏离并不太大，不会给临床使用带来太大影响时，一般检验报告可以照常填发。

d) 其他规律变化：（周期性等）

4.2.4 通过图形的资料对比进行误差分析，消除误差来源

a) 每个月的月底将该月的全部质控血清检测结果的 \bar{X} 和 s 与该批测定的 \bar{X} 和 s 进行比较。如果 \bar{X} 发生了变化，说明准确度发生了变化提示有非随机误差存在。 如果当月 s 不同则表明检测的精密度发生了变化。

b) 将使用同一批号质控血清的 CT值的 \bar{X} 和 s 按月份列出。如果 \bar{X} 逐月上升， 应考虑保存不当造成的试剂效价降低或质控血清本身出现降解。 如果各月份 \bar{X} 基本一致而 s 逐月加大， 则主要提示常规工作的精密度下降，应重点从操作、管理上找原因。

c) 在数年中，把每个月的 CV和失控规律列成表，可用作检测质量的历史性回顾及趋势分析。

5. 本文涉及以下图表：

PCR室内质控记录表

室内质控图

温度校准标准操作程序

1、目的： 保证实验时温度的准确

2、范围： 基因扩增实验室所有温控的仪器

3. 负责人： 操作人：

4、程序

4.1 温度计校准程序：

4.1.1 由设备科人员送质检局对温度计进行校准。每年进行 1 次。

4.1.2 经校准过的温度计可作为微量恒温器温度校温的参照。

4.2 水浴箱温度校准程序：

4.2.1 将水浴箱调至所设置的温度，等水温稳定以后，进行测量。

4.2.2 取出一只已经技术监督局校准后的温度计进行测量。

4.2.3 记下读数，重复在不同温度下测量。

4.2.4 经测量的温度和水浴箱显示温度进行比较，计算出误差。

4.2.5 将水浴箱调至校准后的温度。

4.2.6 每次试验前都必须进行此项工作。

4.3 冰箱温度的校准：（4℃ 冰箱和-20℃ 冰箱）

4.3.1 每次实验前都需对冰箱温度进行记录，绘置冰箱温度的质控图。

4.3.2 取一只已经技术监督局校准后的温度计对冰箱温度进行实际测量，并记下读数。

4.3.3 反复多次测量，如超出规定范围，将冰箱调至所需温度。

4.4 扩增仪温度的校准

4.4.1 将扩增仪打开并设至一温度。

4.4.2 在扩增仪的温控孔入放一个反应管，待温度长至所设温度时，用一只已经技术监督局校准过和温度计插入反应管中进行测量温度并记录。

4.4.3 在不同温度点进行重复测量，取均值，并与扩增仪的显示温度进行比较。

4.4.4 由于仪器较精密，温度相差太大则需请厂家前来校准并调试。

4.4.5 经调试后贴上绿色标签，标明时间仪器的性能状态。

5. 本文涉及以下图表

PCR实验室环境温湿度记录表

冰箱温度质控图

美国伯乐 PTC-200 型 PCR扩增仪的标准程序

1. 目的：使 PE5700 型核酸扩增荧光检测仪能够正确和正常的使用，保证扩增及结果分析的标准化、规范化。

2. 适用范围：PE 5700 型核酸扩增荧光检测仪。

3. 负责人：操作人：

4. 性能参数：见说明书。

5. 操作程序：

5.1 启动 DNA引擎。

5.2 启动程序：从主菜单中选择“Enter”，按 Proceed 键。

5.3 程序命名：按 Select 键前后翻找字母和符号，找到后按 Proceed 键选定该字符，同时光标右移一格。

数字和破折号可以通过按小键盘上相应的键来插入。名字输入完毕，按一次 Proceed 键确认最后一个字符，再次按 Proceed 键确认整个名字。

5.4 选择控温方法：选择一种控温方法，按 Proceed 键。

5.5 设定温度步骤：从输入菜单中选择“Temp”，按 Proceed 键。用键盘输入 -5.0 到 105.0 之间的数字作为目标温度数，按 Proceed 键。输入该步骤的维持时间，按 Proceed 键。选择“ Yes”，按 Proceed 键。从输入菜单中选择“Go To”，按 Proceed 键。输入循环返回的步骤序号，按 Proceed 键。输入程序返回该步骤的次数，按 Proceed 键。选择“ Yes”，按 Proceed 键。

5.6 输入结束步骤：从输入菜单中选择“End”，按 Proceed 键。选择“ Yes”，按 Proceed 键。选择存储程序的目标文件夹，按 Proceed 键。

5.7 选择运行已存储的操作程序：从主菜单中选择“Run”，按 Proceed 键。选择含有目标程序的文件夹，按 Proceed 键。用 Select 键翻找列出的操作程序，选择目标程序，按 Proceed 键。

5.8 选择一种模块来运行操作程序：按 Block 键选择不同的模块。

5.9 设定 Calculated-control 的操作程序：若用聚丙烯管或聚丙烯微量反应板作容器，选择“TUBES”，按 Proceed 键。对于只装载管子的模块，根据所载管子类型选择“Thin”或“Thick”，按 Proceed 键。

5.10 根据屏幕提示用小键盘输入样本反应容积（微升数），按 Proceed 键。

5.11 当屏幕提示是否应用热盖，据需要选择“ Yes”或“ No”，按 Proceed 键。此时操作程序开始运行。

6. PCR 仪的常规维护

6.1 样品槽的清洁

样品槽每月进行一次清洁，如出现样品槽污染情况则随时清洁。

操作方法：

从样品槽移去样品架。

在样品槽中加入少量浓度 75%乙醇，用尼龙棉签或塑料杆擦洗反应孔。

用干棉签吸干乙醇。

6.2 热盖的清洁

热盖每月进行一次清洁，如有需要随时进行。

用经过浓度 75%乙醇湿润的镜头纸或脱脂棉球清洁加热盖，待干。

ABI 7300 型核酸扩增荧光仪操作维护程序

1. 目的：使 ABI 7300 型核酸扩增荧光检测仪能够正确和正常的使用，保证扩增及结果分析的标准化、规范化。

2. 适用范围：ABI 7300 型核酸扩增荧光检测仪。

3. 负责人： 操作人：

4. 性能参数：见说明书。

5. 操作程序：

7. 相关记录

仪器使用登记表

仪器设备维护和校准记录表

仪器设备检定周期表

仪器设备维修申请表

仪器报废（停用）单

仪器设备使用授权表

仪器设备档案卡

仪器设备领（借）用登记表

仪 器 设 备 总 表

DYY-6C电泳仪标准操作规程

1 目的：建立电泳仪使用标准操作规程，规范其操作

2 适用范围：适用于 DYY-6C电泳仪的使用操作

3 . 负责人： 操作人：

4 操作程序

4.1 接好电源线并确认与有接地保护的电源插座相连。

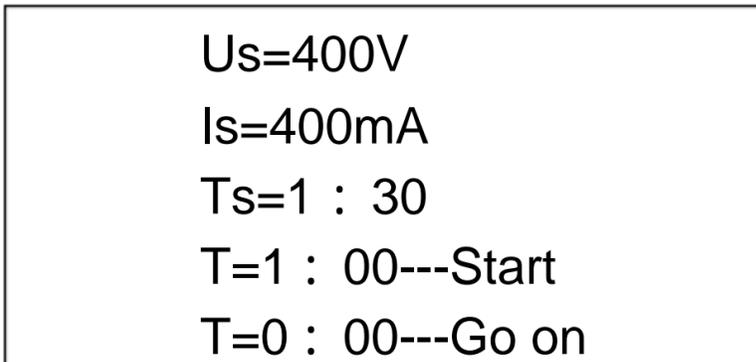
4.2 按颜色接好电泳槽与电泳仪的连接导线，并装入电泳样品。

4.3 确认电源符合要求后，开启一起的“电源开关”。

4.4 此时“液晶显示屏”显示：



同时仪器蜂鸣 4 声，然后显示上一次工作的设定值：



对于每次重复同一参数使用时，即可直接选择 Start 后启动输出。

4.5 如要改变其数值可按上【】下【】按键，每按一次改变一个数字量；如希望快速改变可按住按键不放松，则数值会连续快速改变，当到达所需数值时松开即可。

4.6 如希望查看并设定电压、电流和定时时间，可以按【选择】键，此时 指示相应位置。同样，其数值由上下调节按键控制。

4.7 设定时间的范围为：1 分 ~ 99 小时 59 分。

4.8 按【启 / 停】键后，仪器鸣响 4 声，输出启动，“输出指示灯”闪亮，当输出稳定后，稳压 / 稳流状态改变时，仪器会自动鸣响 2 声以示提醒用户。

仪器正常输出后，设定值 U_s 、 I_s 、 T_s 自动变为实际值 U 、 I 、 T 。

4.9 如果没有达到预想的稳定之，可采取两方面措施解决：

- (1) 检查电泳样品的配置是否正常；
- (2) 调节相应电压电流的设定值。

4.10 在仪器正常输出时，按【选择】键，相应显示：

U_s I_s → T_s T → →



4.11 选择设置 U_s 、 I_s 、 T_s 后，在 8 秒内不按任何按键，则自动返回显示实际值 U 、 I 、 T 。

4.12 在仪器正常输出时若要停机，可按【启 / 停】键，输出立刻关闭显示“ stop ”同时仪器反复鸣响，此时应按一下【选择】键，仪器停止鸣响。如果希望继续工作则应选择“ Go on ”，定时时间继续累加。而如果选择“ Start ”，则计时重新从“ 0 : 00 ”开始。

4.13 定时到后仪器自动显示已用时间并反复鸣响以提示用户。考虑到电泳的实际情况，仪器输出始终不关，等待用户手动停机，如果用户希望继续工作，可以按一下【选择】键，仪器停止蜂鸣。当达到仪器的最大定时时间仪器将自动关输出，显示“ stop ”，以保证使用安全。

4.14 工作中出现以下的现实信息的含义：

- (1) stop → 停机
- (2) No_Load → 开路 (空载) 停机
- (3) Over_Load → 过载停机
- (4) Over_U → 电压超限
- (4) Over_I → 电流超限

当出现开路、过载等显示时，应检查相应输出回路是否存在故障。在 6 秒内恢复正常则仪器可继续工作，否则停机。

5. 注意事项

5.1 本机使用一段时间后应检查电极连线与电泳槽是否接触良好，以避免因连接故障造成仪器不能正常工作。

5.2 仪器使用中，请勿将电泳槽放在电泳仪上进行实验工作，严禁溅入电解质溶液。如溶液已进入电泳仪，切勿接通电源，以免造成事故。同时应由专业人员修理才可使用。

5.3 本机输出电压较高，开机后人体不宜和电泳槽溶液或样品接触，最好关机后再看样品，以免触电。

5.4 本机接两个以上电泳槽时，电流显示值为各槽电流之和。而各槽上的电压是相同的。此时应采用稳压工作方式为宜。

5.5 本仪器输出功率较大，因此采用了只能通风散热电路，当输出电流达到一定数值时仪器后面板的风扇自动启动，因此，在仪器工作时不要用物体遮挡后面板。

5.6 使用过程中如发现异常现象，要立即断电并进行检修。对不明原因可与厂家技术科联系。

5.7 在使用过程中出现停电后来电情况，本仪器将回到初始设定状态。

5.8 当仪器定时达到最大时间 100 小时，仪器自动关闭输出，并显示“ END’。

6. 仪器的日常保养：

- (1) 仪器使用环境应清洁，经常擦去仪器表面尘土和污物。
- (2) 不要将电泳仪放在潮湿的环境中保存。
- (3) 长时间不用应关闭电源。长期不用应拔下电源插头并盖上防护罩。

恒温水浴箱器操作维护规程

1. 目的：正确使用、维护和校准干式恒温器。

2. 适用范围：干式恒温器。

3. 负责人： 操作人：

4. 技术参数：见说明书。

5. 程序：

- a. 电热恒温水浴箱应平放在固定平台上，清洁水浴锅表面，电源电压必须与本箱要求的电压相符，电源插座要采用三孔安全插座，使用前必须按装地线。
- b. 先将清水注入箱内，水位必须高于隔板，切勿无水或水位低于隔板加热，以防损坏加热管。
- c. 接通电源，打开开关，将控温设定调至所需要的温度刻度，显示屏上将显示所需温度和水浴箱当前温度。水浴箱开始加热，当温度升到所需工作温度时， 加热中断，成保温状态 。
- d. 干式恒温器内外应保持清洁，外壳忌用腐蚀性溶液擦拭。
- e. 仪器长期不用时，需将箱中水倒出。
- f. 可用一已矫正好的温度计进行温度监测以确保温度准确（要求温度计精度为 0.1 ，温度计感温包必须完全浸入水内）

6. 仪器维护

(1) 本仪器应定期用干净软布沾少量无水酒精清洗模块上的锥孔 ，以保证试管与锥孔壁接触充分 ，导热良好，避免污染。

(2) 本仪器表面如有污染 ，可用软布沾清洁膏清洗。

(3) 该仪器在日常使用中请注意符合“ 5. ”的要求。

(4) 严格按照仪器的开关机程序关机。

6. 期间核查

(1) 水浴箱的定标不需要特别的周期间隔。

(2) 每年必须校正温度一次。

7 相关记录：

仪器使用登记表

仪器设备维护和校准记录表

仪器设备检定周期表

仪器设备维修申请表

仪器报废（停用）单

仪器设备使用授权表

仪器设备档案卡

仪器设备领（借）用登记表

仪 器 设 备 总 表

涡旋振荡器 操作维护程序

1. 目的： 保证涡旋振荡器的正常使用。
2. 适用范围： 适用于本室使用的涡旋振荡器。
3. 负责人： 操作人：
4. 程序：
 - 4.1 将振荡器放置于安全柜或超净台台面上
 - 4.2 接通电源，打开电源开关，指示灯亮，将调速旋钮调至合适速度即可（顺时针为速度调大）
 - 4.3 手持样品放于振荡器垫片上，将样品剧烈振荡混匀（样品少可用点触振荡模式，样品少时可用持续振荡模式）
 - 4.4 使用结束后将振荡器开关关闭，并用 75%酒精将振荡器表面擦拭干净

普通离心机操作维护程序

1. 目的： 保证离心机的正常使用。

2. 适用范围： 适用于本室使用的普通离心机。

3. 负责人： 操作人：

4. 性能参数：见说明书。

5. 程序：

5.1 离心机应放置在水平坚固的地板或平台上，并力求使仪器处于水平位置以免离心时造成仪器振荡。

5.2 打开电源开关，将预先平衡好的样品对称放置于转头的样品架上，关闭机盖。

5.3 旋动定时旋钮设定离心时间，缓慢旋转转速调节旋钮使仪器转速达到预定要求。

5.4 离心完毕后，将转速调节旋钮调回零位，关闭电源开关。

5.5 待离心机完全停止转动时打开机盖，取出离心样品，再次关闭机盖结束离心。

5.6 离心室的清洁：为了避免样本等残留物的污染，应经常对离心机外壳和离心室进行清洁处理。对离心室清洁，应先打开离心机盖，拔掉电源线，用专用设备将离心机转子旋下，再用中性去污剂（70%的异丙醇 / 水混合物或乙醇去污染）清洁离心室；离心室内的橡胶密封圈经去污剂处理后，用水冲洗，再用甘油润滑。

5.7 转子的清洁：转子会被样本残留物污染，也可能被某些化学试剂腐蚀，因此应对转子每月进行清洁维护。每月用中性的清洁剂清洁转子一次，并在仪器维护记录本上作好记录，以延长转子的寿命。

6. 仪器维护

(1) 为确保安全和离心效果，仪器必须放置在坚固水平的台面上，塑料盖门上不得放置任何物品，样品必须对称放置，并在开机前确保已拧紧螺母。

(2) 应经常检查转头及试验用的离心管是否有裂纹，老化等现象，如有须及时更换。

(3) 试验完毕后，需将仪器擦拭干净，以防腐蚀。

(4) 如样品比重超过 1.2g/cm^3 ，最高转速 n 按下式计算： $n = n_{\text{max}} * \sqrt{1.2 / \text{样品比重}}$ 。

(5) 当电机碳刷长度小于 6mm时，必须及时更换。

(6) 在离心机未停稳时不得开盖。

(7) 仪器必须有可靠接地。

(8) 实验结束后，请关闭后面的电源开关，拔掉电源插头时，请不要忘了打开后面的电源开关。

(9) 该仪器在日常使用中请注意符合“5.6,5.7”要求。

(10) 严格按照仪器的开关机程序关机。

7. 期间核查

本仪器不需要特别的周期间隔。

8. 相关记录

仪器使用登记表

仪器设备维护和校准记录表

仪器设备检定周期表

仪器设备维修申请表

仪器报废（停用）单

仪器设备使用授权表

仪器设备档案卡

仪器设备领（借）用登记表

仪器设备总表

高速离心机操作维护程序

1. 目的： 保证离心机的正常使用。
2. 适用范围： 适用于本室使用的普通高速离心机。
3. 负责人： 操作人：
4. 性能参数：见说明书。
5. 程序：

8. 相关记录

仪器使用登记表

仪器设备维护和校准记录表

仪器设备检定周期表

仪器设备维修申请表

仪器报废（停用）单

仪器设备使用授权表

仪器设备档案卡

仪器设备领（借）用登记表

仪器设备总表

低温高速离心机操作维护程序

1. 目的： 保证高速冷冻离心机的正常使用。
2. 适用范围： 适用于本室使用的高速冷冻离心机。
3. 负责人： 操作人：
4. 性能参数：见说明书。
5. 程序：
 - 5.1 离心机应放置在水平坚固的地板或平台上，并力求使仪器处于水平位置以免离心时造成仪器振荡。
 - 5.2 打开电源开关，将预先平衡好的样品对称放置于转头的样品架上，关闭机盖。
 - 5.3 旋动定时旋钮设定离心时间，缓慢旋转转速调节旋钮使仪器转速达到预定要求。
 - 5.4 待离心机完全停止转动时打开机盖，取出离心样品，再次关闭机盖并关闭电源开关结束离心。
 - 5.5 离心室的清洁：为了避免样本等残留物的污染，应经常对离心机外壳和离心室进行清洁处理。对离心室清洁，应先打开离心机盖，拔掉电源线，用专用设备将离心机转子旋下，再用中性去污剂（70%的异丙醇/水混合物或乙醇去污染）清洁离心室；离心室内的橡胶密封圈经去污剂处理后，用水冲洗，再用甘油润滑。
 - 5.6 转子的清洁：转子会被样本残留物污染，也可能被某些化学试剂腐蚀，因此应对转子每月进行清洁维护。每月用中性的清洁剂清洁转子一次，并在仪器维护记录本上作好记录，以延长转子的寿命。
6. 仪器维护
 - (1) 为确保安全和离心效果，仪器必须放置在坚固水平的台面上，塑料盖门上不得放置任何物品，样品必须对称放置，并在开机前确保已拧紧螺母。
 - (2) 应经常检查转头及试验用的离心管是否有裂纹，老化等现象，如有须及时更换。
 - (3) 试验完毕后，需将仪器擦拭干净，以防腐蚀。
 - (4) 如样品比重超过 1.2g/cm^3 ，最高转速 n 按下式计算： $n = n_{\text{max}} * \sqrt{1.2 / \text{样品比重}}$ 。
 - (5) 当电机碳刷长度小于 6mm时，必须及时更换。
 - (6) 在离心机未停稳时不得开盖。
 - (7) 仪器必须有可靠接地。
 - (8) 实验结束后，请关闭后面的电源开关，拔掉电源插头时，请不要忘了打开后面的电源开关。
 - (9) 该仪器在日常使用中请注意符合“5.6,5.7”要求。
 - (10) 严格按照仪器的开关机程序关机。
7. 期间核查
 - (1) 本仪器不需要特别的周期间隔。
 - (2) 校准物均为与 ICSH 之标准相符合的校准物，测定值偏差均不超过其规定值。
8. 相关记录

仪器使用登记表

仪器设备维护和校准记录表

仪器设备检定周期表

仪器设备维修申请表

仪器报废（停用）单

仪器设备使用授权表

仪器设备档案卡

仪器设备领（借）用登记表

仪器设备总表

冰箱操作维护规程

1. 目的：对冰箱进行适当的维护，以确保冰箱的正常使用。
2. 适用范围：本实验室使用的各种品牌、型号的冰箱。
3. 负责人： 操作人：
4. 程序：
 - 4.1 开、关机：冰箱按说明书要求放好后，插上电源线，冷藏室温度开关置于 4℃，冷冻室温度开关置于 -20℃，2 小时后用温度计确认。系统进入正常运行状态后即可使用。
 - 4.2 外冰箱应放置于水平地面并留有一定的散热空间。外接电源电压必须匹配，并要求有良好的接地线。
 - 4.3 冰箱内禁止存放与本实验室无关的物品。
 - 4.4 放入冰箱内的所有试剂、样品、质控品等必须密封保存。
 - 4.5 保持冰箱出水口通畅；非自动除霜冰箱应在每月底除霜；月底清洁冰箱，清洁时切断电源，用软布蘸水擦拭冰箱内外，必要时可用中性洗涤剂。
 - 4.6 每日观察冰箱内温度并记录于冰箱的质控图上。
 - 4.7 若温度超出规定范围，调节温控使其回到正常范围，并进行记录。
 - 4.8 若温控调节无效，报请设备科维修，修理后须验收合格并签字后方可正常使用。
5. 期间核查
冰箱不需要特别的周期间隔。
6. 相关记录
仪器使用登记表
仪器设备维护和校准记录表
仪器设备检定周期表
仪器设备维修申请表
仪器报废（停用）单
仪器设备使用授权表
仪器设备档案卡
仪器设备领（借）用登记表
仪 器 设 备 总 表

超低温冰箱操作维护规程

1. 目的： 确保低温冰箱的正常使用。
2. 适用范围： 本 SOP适用于 XXX 公司的 XXX 型超低温冰箱。
3. 负责人： 操作人：
4. 程序：
 - 4.1 接通电源，将冰箱的开关置 ON位置，此时温度显示屏显示冰箱的实际温度，且数字不停地闪烁。
 - 4.2 温度设定：以调节冰箱温度为 -70 为例说明，按 SET键，温度指示显示 -85 ，且“ 8 ”闪烁，按“ ”键直至“ 8 “变为“ 7 ”；按“ ”键，此时温度指示为“ -75 ”，“ 5 ”闪烁，按“ ”键直至“ 5 “变为“ 0 ”，按 SET键，此时温度指示“ -70 ”，且不闪烁。
 - 4.3 设定温度时应注意，一般应以 10 递减方式进行，即每次设定的温度低于冰箱实际温度 10 ，待冰箱达到设定温度时再进行调节，直至达到所需温度。
 - 4.3 如超低温度遇较长时间停电，其温度显示会不断闪烁，且报警指示灯（ ALARM）也闪烁，此时应按上述方法调节。
 - 4.4 由冰箱管理人或其委托人每工作日记录冰箱温度，冰箱温度记录表贴于冰箱门，每月更换 1 次，存档。
 - 4.5 超低温冰箱由专人保管，试剂和物品应按指定位置存放。
 - 4.6 超低温冰箱全室共用，若室外人员需存放试剂或标本，须经管理人同意。

5. 相关记录

冰箱温度记录表

生物安全柜操作维护规程

1. 目的：规范生物安全柜的操作与维护工作，确保仪器正常运行，以保障工作人员的安全。
2. 适用范围：本 SOP 适用于本实验室使用的生物安全柜。
3. 负责人： 操作人：
4. 性能参数：见说明书。
5. 程序：
 - 5.1 新安装或长期未使用的生物安全柜，使用前必须用超净真空吸尘器或不产生纤维的物品认真进行清洁工作。
 - 5.2 操作前应将本次操作所需的全部物品移入安全柜，避免双臂频繁穿过气幕破坏气流；并且在移入前用 70% 酒精擦拭表面消毒，以去除污染。
 - 5.3 使用前应提前 15~30 分钟开启紫外灯。然后关闭紫外灯打开照明灯以及风机 5~10 分钟，待柜内空气净化并气流稳定后再进行实验操作。将双臂缓缓伸入安全柜内，至少静止 1 分钟，使柜内气流稳定后再进行操作。
 - 5.4 安全柜内不放与本次实验无关的物品。柜内物品摆放应做到清洁区、半污染区与污染区基本分开，操作过程中物品取用方便，且三区之间无交叉。物品应尽量避免靠近气道口，以免挡住进风口干扰气流正常流动。
 - 5.5 操作时应按照从清洁区到污染区进行，以避免交叉污染。为防可能溅出的液滴，可在台面上铺一用消毒剂浸泡过的毛巾或纱布，但不能覆盖住安全柜格栅。
 - 5.6 柜内操作期间，严禁使用酒精灯等明火，以避免产生的热量产生气流，干扰柜内气流稳定；且明火可能损坏过滤器。
 - 5.7 工作时尽量减少背后人员走动以及快速开关房门，以防止安全柜内气流不稳定。
 - 5.8 在实验操作时，不可打开玻璃视窗，应保证操作者脸部在工作窗口之外。在柜内操作时动作应轻柔、舒缓，防止影响柜内气流。
 - 5.9 安全柜应定期进行检测与保养，以保证其正常工作。工作中一旦发现安全柜工作异常，应立即停止工作，采取相应处理措施，并通知相关人员。
 - 5.10 工作完全后，关闭玻璃窗和照明灯，保持风机继续运转 10~15 分钟，然后打开紫外灯，照射 30 分钟。
 - 5.11 安全柜应定期进行清洁消毒，柜内台面污染物可在工作完成且紫外灯消毒后用 2% 的 84 消毒液擦拭。柜体外表面则应每天用 1% 的 84 消毒液擦拭。
 - 5.12 柜内使用的物品应在消毒后再取出，以防止将病原微生物带出而污染环境。
6. 仪器维护
 - 6.1 日常维护可用 70% 的乙醇，或其他中性洗涤剂将生物安全柜的内、外部进行彻底的擦拭。清洗时先断电，防止消毒剂引起电器导电。
 - 6.2 不锈钢上顽固的污渍清除时，可以用 MEK(甲基-乙基-酮)。但是，必须在清除污渍后立即用清水和中性清洁剂进行清洗。不锈钢的定期清洗，可以保持和维护生物安全柜的优质表面。
 - 6.3 检查日光灯和紫外线灯管，确定他们的正常工作。日光灯和紫外线灯管在长时间使用后，可以用酒精擦洗

灯管表面的污渍，注意先断电，以防触电。每年请具备资格的认证技术人员对安全柜进行性能认证，依据紫外灯使用寿命效果，进行紫外灯的更换，以保持最佳的消毒灭菌效果。

6.4 定期检查生物安全柜的外壳是否有缝隙，发现缝隙可以用密封胶密封好。

6.5 根据环境洁净程度，定期将预过滤器中的滤料拆下清洗，一般间隔时间为 3~6 个月。

6.6 定期（一般每半年 1 次）计测工作区风速，如发现不符合技术参数要求，则可调大风机供电电压。当风机电压调到最大时，工作区风速仍达不到 0.3m/s，则必须更换高效空气过滤器（由厂家或院仪器维修人员进行）。

6.7 有相应的维护记录，长期不使用的生物安全柜拨下电源插头。

7. 期间核查

8. 相关记录

仪器使用登记表

仪器设备维护和校准记录表

仪器设备检定周期表

仪器设备维修申请表

仪器报废（停用）单

仪器设备使用授权表

仪器设备档案卡

仪器设备领（借）用登记表

仪器设备总表

超净工作台操作维护规程

1. 目的：正确使用超净工作台。
2. 适用范围：本 SOP 适用于本实验室使用的超净工作台。
3. 负责人： 操作人：
4. 程序：
 - 4.1 超净工作区内严禁存放不必要的物品，以保持洁净气流流型不变。
 - 4.2 每月用风速计测量一次工作区平均风速，如发现不符合技术标准，应调节调压器，改变风机输入电压，使工作台处于最佳状况。
 - 4.3 上班前，清洁工人必须对工作台周围环境进行清洁工作，对空气进行净化处理。
 - 4.4 操作人员进入超净工作区前，必须在缓冲间穿衣、裤，戴帽子、手套等，并尽量避免作明显扰乱气流流型的动作。
 - 4.5 使用工作台时，应提前 30min 打开紫外线灭菌灯处理净化工作区工作台表面积累的微生物，30min 后关闭灭菌灯，启动送风机。
 - 4.6 工作完毕后，用 1%84 消毒液擦拭净化工作台面，关闭送风机，打开紫外灯灭菌 30min，最后关闭电源。
7. 期间核查
8. 相关记录
 - 仪器使用登记表
 - 仪器设备维护和校准记录表
 - 仪器设备检定周期表
 - 仪器设备维修申请表
 - 仪器报废（停用）单
 - 仪器设备使用授权表
 - 仪器设备档案卡
 - 仪器设备领（借）用登记表
 - 仪 器 设 备 总 表

移液器操作维护规程

1. 目的： 确保移液的精确性，正确使用移液器。

2. 适用范围： 本实验室使用的微量可调式移液器。

3. 负责人： 操作人：

4. 程序：

4.1 移液器的使用

4.1.1 转动旋钮设定移液量，设定的移液量不可超出该移液器规定的范围。

4.1.2 装上配套的 Tip。

4.1.3 前进移液法

a) 将按钮压至第一停点位置；

b) 将移液管管嘴浸入液面下 2~3mm深处，然后慢慢松开按钮吸入液体。待移入管嘴吸满液体后，将管嘴撤出液面，擦掉管嘴外侧的所有液滴。

c) 轻轻压下操作按钮至第一停点位置，放出液体。约 1 秒钟后，继续将操作按钮向下压至第二停点位置。待管嘴液体放干净后，将管嘴贴在容器瓶壁上防止形成液滴滴入瓶中，撤出管嘴。

d) 松开按钮使之回到起点位置。需要时，可更换管嘴继续移液操作。

4.1.4 倒退移液法：适用于高粘度液体及 / 或易起泡沫液体的移液。

a) 将操作按钮向下压至第二停点位置。

b) 将移液管管嘴浸入试剂瓶液面下 2~3mm深处，然后慢慢松开按钮吸入液体。待移入管嘴吸满液体后，将管嘴撤出液面，擦掉管嘴外侧的所有液滴。

c) 轻轻压下操作按钮至第一停点位置，放出液体。

d) 遗留在管嘴时的液体或者随管嘴一起扔掉，或者放回原来的容器中。

4.1.5 重复操作法：重复操作移液法可以快速、简便地重复转移同体积的同种液体。

a) 将操作按钮向下压至第二停点位置。

b) 将移液管管嘴浸入液面下 2~3mm深处，然后慢慢松开按钮吸入液体。待移入管嘴吸满液体后，将管嘴贴在容器瓶壁上防止形成液滴滴入瓶中。

c) 轻轻压下操作按钮至第一停点位置，放出液体。待放完所需体积液体后，把按钮停在第一停点位置，不包括在移液量之内的少量液体仍留在管嘴内，管嘴外的液滴则需包括在移液量之内。

d) 将管嘴浸入试剂液面下不远处，然后慢慢松开按钮使管嘴重新吸入液体。

e) 重复步序 c) 和 d) 继续移液操作，就可重复转移相同体积液体。

4.2 移液器的维护

每天对使用过的移液器用 75%酒精进行擦拭。每周 1 次对移液器咀进行 75%酒精浸泡 15 分钟左右，若

使用过程中发生污染应随时浸泡处理。

4.3 移液器的校准

为确保移液器加样的精确性和准确性，正确使用移液器，需定期（一年）对移液器进行校准

4.3.1 校准环境和用具要求

室温：20~25℃，测定中波动范围不大于±0.5℃。

电子天平：放置于无尘和震动影响的台面上，房间尽可能有空调。称量时，为保证天平内的湿度（相对湿度60~90%），天平内应放置一装有10mL蒸馏水的小烧杯。

小烧杯：5~10mL体积。

测定液体：温度为20~25℃的去气双蒸水。

选定校准体积：

- a) 拟校准体积；
- b) 移液器标定体积的中间体积。
- c) 最小可调体积（不小于拟定体积的10%）。

如为固定体积移液器，则只有一种校准体积。

4.3.2 校准步骤

- a) 将移液器调至拟校准体积，选择合适的吸头；
- b) 调节好天平；
- c) 来回吸吹蒸馏水3次，以使吸头湿润，用纱布拭干吸头；
- d) 垂直握住移液器，将吸头浸入液面2~3mm，缓慢（1~3秒）一致地吸取蒸馏水
- e) 将吸头离开液面，靠在管壁，去掉吸头外部的液体；
- f) 将移液器以30°角放入称量烧杯中，缓慢一致地将移液器压至第一档，等待1~3秒，再压至第二档，使吸头里的液体完全排出；
- g) 记录称量值；
- h) 擦干吸头外面；
- i) 按上步骤称量10次；
- j) 取10次测量值的均值作为最后移液器吸取的蒸馏水重量，按表1所列蒸馏水Z因子计算体积；
- k) 按校准结果调节移液器。

4.3.3 比较校准法

利用经计量局校准并颁发校准报告之同型号移液器，在移液器量程范围的高低两个档各选择一个校准点，利用电子天平称量结果与已校准移液器称量结果进行比较，完成校准。

备注：连续可调移液器校准由本市标准计量局统一校准。

(表1 蒸馏水 Z 因子 hPa(mbar))

温度()	800	853	907	960	1013	1067
20	1.0026	1.0027	10.0027	1.0028	1.0029	1.0029

20.5	1.0027	1.0028	1.0028	1.0029	1.0030	1.0030
21	1.0028	1.0029	1.0030	1.0030	1.0031	1.0031
21.5	1.0030	1.0030	1.0031	1.0031	1.0032	1.0032
22	1.0031	1.0031	1.0032	1.0032	1.0033	1.0033
22.5	1.0032	1.0032	1.0033	1.0033	1.0034	1.0035
23	1.0033	1.0033	1.0034	1.0035	1.0035	1.0036
23 . 5	1.0034	1.0035	1.0035	1.0036	1.0036	1.0037
24	1.0035	1.0036	1.0036	1.0037	1.0038	1.0038
24.5	1.0037	1.0037	1.0038	1.0038	1.0041	1.0039
25	1.0038	1.0038	1.0039	1.0039	1.0040	1.0041

5. 相关记录

仪器使用登记表

仪器设备维护和校准记录表

仪器设备检定周期表

仪器设备维修申请表

仪器报废（停用）单

仪器设备使用授权表

仪器设备档案卡

仪器设备领（借）用登记表

仪 器 设 备 总 表



医课汇
公众号
专业医疗器械资讯平台
WECHAT OF
HLONGMED



hlongmed.com
医疗器械咨询服务
MEDICAL DEVICE
CONSULTING
SERVICES



医课培训平台
医疗器械任职培训
WEB TRAINING
CENTER



医械宝
医疗器械知识平台
KNOWLEDG
ECENTEROF
MEDICAL DEVICE



MDCPP.COM
医械云专业平台
KNOWLEDG
ECENTEROF MEDICAL
DEVICE