

员方可登陆该系统,不同权限的登录号赋予不同的应用功能。文件的电子化管理不仅使文件管理变得简易而且不易疏漏,同时实现了无纸化办公,节约成本、节能环保,又方便员工学习查阅。但是,在文件电子化管理的尝试过程中,发现部分文件目前并不适用于电子化管理,比如作业指导书,由于作业指导书是用于指导员工每一步的实验操作,若为电子化,不利于员工操作时查阅。因此,本实验室还未将作业指导书纳入电子化管理,但这也是我们努力的方向,希望不久的将来通过增加便携式的电子化阅读工具来实现。

3 小 结

本实验室管理的文件有 3 类:内部文件、外部文件、外发文件。相对而言,内部文件的控制流程要繁琐一些,包括编写、修改、审核、批准、发布、归档、储存、备份、作废与销毁等环节。繁琐的文件控制流程都为了一个目的,就是确保相关人员获取最新的、唯一的现行文件。而文件控制的效果取决于清晰的文件控制流程、各关键环节负责人的执行力以及文档管理负责人监督检查的力度。因此,实验室应设立文档管理负责人负责文件控制流程各个环节的执行与监督,以保障文件控制的效果。当然,文件控制的效果也离不开全体员工的配合,员工应能识别文件的状态,切勿使用非受控的或作废的内部文件。

文件控制是一项繁琐的工作,传统的纸质文件管理不仅繁琐,而且存在一定的不足和缺陷,而文件电子化的管理让文件控制变得保密、节约、环保、简易且不易疏漏。因此,本实验室在纸质化文件的规范化管理基础上,结合信息化和自动化,探索电子文件的应用,提高了文件控制效率,给管理和使用带来了便利、快捷和准确。

参考文献

[1] CLSI. Quality Management System: A Model for Laboratory Services. Approved Guideline-Fourth Edition; GP26-A4[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2011.

• 检验科与实验室管理 •

[2] CLSI. Quality Management System: Laboratory Documents: Development and Control. Approved Guideline-Fifth Edition; GP2-A5[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2006.

[3] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床实验室管理办法: 卫医发[2006]73 号[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.

[4] 中华人民共和国卫生部. 三级综合医院评审标准(2011 版): 卫医管发[2011]33 号[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2011.

[5] 中国合格评定国家认可委员会. 2012 医学实验室质量和能力认可准则(ISO15189:2012): CNAS-CL02[S]. 北京: 中国计量出版社, 2013.

[6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T19023-2003 管理体系文件指南[S]. 北京: 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2003.

[7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T19000-2000 质量管理体系基础和术语[S]. 北京: 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2000.

[8] 王青, 苏明, 郭小龙, 等. 浅谈医学实验室质量管理体系文件控制与改进[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(22): 1719-1721.

(收稿日期: 2016-03-02 修回日期: 2016-06-12)

PCR 实验室的污染及控制措施

郭利华

(成都艾迪康医学检测实验室有限公司 610037)

摘 要:目的 分析 PCR 实验室污染途径。方法 针对 PCR 实验室不同的污染途径采取不同的控制措施。结果 通过一系列控制措施,达到了有效预防和控制污染的发生。结论 PCR 实验由于具有高灵敏度,容易产生污染,必须针对不同污染途径采取不同控制措施,以避免污染产生的风险。

关键词:聚合酶链反应; 实验室污染; 控制措施

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.16.067 文献标识码: B 文章编号:1673-4130(2016)16-2354-02

聚合酶链反应(PCR)技术是 20 世纪 80 年代慢慢发展起来的一种体外基因扩增技术。该项技术在人体外可在很短的一定时间内将极微量的靶核酸扩增上百万倍,得到大量特定目的基因片段。随着科学技术的发展,PCR 技术具有特异、快速、敏感、产率高、易自动化、高通量、简便等突出优点,已成为临床实验室常用的操作技术之一^[1-2]。PCR 技术在医学领域重点应用于临床医学和预防医学中^[3],大多数病原体都可通过 PCR 检测为人类疾病的防治提供新的检测手段,但在实际 PCR 实验过程中极易发生污染,引起结果的假阳性。为保证

结果的可靠性和准确性,结合有关资料和工作经验分析 PCR 实验室污染产生的途径及控制措施。

1 PCR 实验室常见污染途径

由于 PCR 技术敏感性特高,所以要求更高,影响因素也非常多,从样品开始采集到结果报告发出,任何一处细小的失误都会造成检测结果的偏差,极其微量的污染都容易导致样品出现假阳性结果。产生污染的主要途径包括 4 个方面:(1)是 PCR 试剂污染。主要是由于在 PCR 试剂配制过程中,由于加样器、容器、水及其他溶液被 PCR 核酸模板污染。(2)是标本

间交叉污染。①收集标本的容器被污染。②标本放置时,由于密封不严溢于容器外。③容器外黏有标本造成相互间交叉污染。④标本核酸模板在提取过程中,由于吸样器污染导致标本间污染。⑤有些微生物标本尤其是病毒可随气溶胶而扩散导致污染。(3)是 PCR 扩增产物污染。这是 PCR 中最常见的污染问题,因为 PCR 产物拷贝量大,远远高于 PCR 检测数个拷贝的极限,所以极微量的 PCR 产物污染就可形成假阳性。(4)是实验室中克隆质粒的污染。在分子生物学实验室及某些用克隆质粒做阳性对照的实验室,这个问题也比较常见。克隆质粒在单位容积内浓度高,另外在纯化过程中需要较多的用具及试剂,而且在活细胞内的质粒,由于活细胞的生长繁殖的简便性及其具有很强的生命力,其污染可能性也很大^[4]。由于一旦发生基因实验室污染,该实验就必须停止,花费大量物力、人力直到寻找污染源为止,而且实验报告结果必须作废,需重新操作实验,结果才可靠。

2 PCR 污染的控制措施

2.1 工作区域的严格划分

2.1.1 各个实验区域设置合理,根据《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》要求,合理分隔实验室。将样品的处理、配制 PCR 反应液、PCR 循环扩增及 PCR 产物的鉴定等步骤分区或分室进行,特别注意标本处理及 PCR 产物的鉴定应与其他步骤严格分开。最好能划分:标本处理区,PCR 反应液制备区,PCR 循环扩增区,PCR 产物鉴定区。其实验用品及吸样枪应专用。实验前应将实验室用紫外线消毒以破坏残留的 DNA 或 RNA^[5]。

2.1.2 各个实验区域要对不同设备、物品颜色有明显的标记,如各区域使用专门的工作服、工作鞋、垃圾桶、拖把、抹布、笔等,避免不同工作区域内的设备、物品混用。

2.2 使用一次性用具 吸头、离心管、无粉尘手套、口罩等均为一次性使用。

2.3 规范的系统设置 设置规范的空调通风系统,尽可能采用全送全排空调系统。在进入各个操作区域需要严格单一流向进行,即试剂准备和贮存区→样品制备区→PCR 扩增区→扩增产物分析区,不得逆行。

2.4 污染监测 需要设立阳性对照、阴性对照,进行重复试验,选择不相同区域的引物进行 PCR 扩增等,做好污染监测,以便采取措施防止和消除污染。

2.5 规范操作

2.5.1 PCR 实验室人员必须进行上岗培训,取得外部和内部上岗证后,方可从事基因扩增检验工作。

2.5.2 在操作中勤换手套,且不能与管盖内面接触。吸头、离心管装上滤嘴才能用。

2.5.3 要正确操作相关仪器设备,认真按照制订的合理、科学的操作规程操作相关仪器设备,避免产生气溶胶污染。

2.5.4 取样、加液(标本、反应液等)时应先高速离心将管盖上液体沉于管底,动作轻快、以避免飞溅和产生气溶胶污染环境。取样应就近操作,避免较远距离移样。

2.5.5 若在各区域操作发生试剂、样品的外溅,此时工作人员先隔离其他未被污染的相关物品,戴上手套和生物防护装置,用吸水纸吸干液体,对污染处用 2 000 mg/L 的次氯酸钠消毒液覆盖 30 min,再用 75%乙醇擦拭 2 遍,等试验结束后用紫外线照射 39 min^[6]。

2.5.6 若发生实验室工作人员工作服、鞋、帽被污染时,必须立即脱掉并包裹好进行消毒处理,换上另外消毒好的工作服、鞋、帽等后方可继续工作。如果污染重则停止当天的下一步工作或另换其他具有资质的人员进行工作。

2.5.7 清洁工作及时、准确,每次实验前后用 500 mg/L 的含氯消毒液擦拭地面及工作台面,75%乙醇擦拭仪器设备,再用紫外线照射整个实验区域及设备,时间不低于 30 min。实验室内的样品溶液和扩增产物产生的气溶胶是重要的污染源,故 PCR 实验室要经常通风换气 and 消毒。当试验结束后产生的废弃反应管、枪头等废弃物应置于 2 000 mg/L 的含氯消毒液中浸泡 12 h 以上。废弃物需要经高压灭菌后按医疗废物进行消毒处理,避免污染实验环境。

2.6 科学合理的管理 根据实际情况,制订科学、合理的关于 PCR 相关制度文件、程序文件、标准操作规程及记录表格等文件,文件相关内容一定要有科学性、前瞻性、严谨性,并且操作性强,以便工作人员现场查阅和培训学习。

目前 PCR 技术广泛应用,已经得到长足发展,成为临床一些疾病诊断和预防控制领域的有力工具。为避免在 PCR 实验室内出现污染、假阴性及假阳性结果等现象,确保检验结果准确性,实验人员应该不断提升检测能力,具备应对污染的能力,控制污染蔓延,将损失降到最小。

参考文献

- [1] Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR[J]. Nucleic Acids Res, 1994,29(9):51-52.
- [2] 朱永芳. 实时荧光聚合酶链式反应检测技术[M]. 北京:中国计量出版社,2013.
- [3] 林万明. PCR 技术操作和应用[M]. 北京:人民军医出版社,2012.
- [4] Munoz N, Bosh FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. N Engl J Med, 2003,348(6):518-527.
- [5] 黄雅,冯玉昆. HPV 亚型检测与宫颈癌筛查[J]. 医学综述,2007,13(19):1453-1454.
- [6] Herrero R, Castellsague X, Pawlita M, et al. Human papillomaviruses and oral cancer: the international agency for research on cancer multicenter study[J]. J Natl Cancer Inst, 2003,95(1):1772-1783.

(收稿日期:2016-02-14 修回日期:2016-06-03)