

ICS 11.020

CCS C 50

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 785—2021

人类白细胞抗原基因分型检测体系 技术标准

Technical standard for human leukocyte antigen (HLA) genotyping

2021 - 08 - 27 发布

2022 - 01 - 01 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布

前 言

本标准由国家卫生健康标准委员会临床检验标准专业委员会负责技术审查和技术咨询，由国家卫生健康委医管中心负责协调性和格式审查，由国家卫生健康委医政医管局负责业务管理、法规司负责统筹管理。

本标准起草单位：北京医院、北京市红十字血液中心、中华骨髓库管理中心、浙江省血液中心、辽宁省血液中心。

本标准主要起草人：蔡剑平、张志欣、肖尧、黑爱莲、周晓阳、王琳、戴大鹏、张立群、朱发明、李剑平。

引 言

人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 又称移植抗原, 与同种异体组织器官移植以及移植物的排斥反应相关。存在于细胞膜表面的HLA分子可以结合来自细胞内或细胞外的肽, 形成HLA-肽复合物, 抗原递呈细胞将该复合物递呈给T细胞引起一系列的免疫反应。

随着对HLA研究的深入, 20世纪中叶诞生的器官移植和造血干细胞移植技术已成为临床医学治疗和拯救患者生命的重要手段, 数以百万计的患者通过器官移植和造血干细胞移植获得了新生。近二十年来, 随着对免疫抑制剂、HLA配型、HLA抗体检测和监测等存活率影响因素的认识, 器官移植和造血干细胞移植存活率得到了显著的改善。HLA组织配型是影响器官移植和造血干细胞移植存活率及受者生存质量的重要因素之一。

HLA基因具有高度的多态性, 决定了所表达的HLA抗原分子的多态性。随着聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 技术在临床应用的日益广泛, 从20世纪80年代末开始HLA分型已从过去主要采用血清学和细胞学检测技术过渡到以基因分型检测技术为主。基因分型检测技术具有灵敏度高、准确度高、能检测出血清学和细胞学方法无法检出的基因型别等优点, 还具有不排斥原有血清学和细胞学所阐述信息的优点。HLA基因分型检测技术对实验室人员、实验室设置、检测的技术流程以及质量控制等提出了更高的要求。长期以来我国一直缺乏HLA基因分型检测技术体系的规范及要求, 在一定程度上影响了HLA基因分型整体检测水平的提高和临床器官移植、造血干细胞移植标准化的进程。

本标准拟建立适用于我国国情的HLA基因分型检测技术体系的规范及要求, 旨在提高我国HLA基因分型实验室的技术水平, 更有效地服务于与HLA相关的临床诊疗工作。

人类白细胞抗原基因分型检测体系技术标准

1 范围

本标准规定了HLA基因分型检测体系的技术要求。

本标准适用于所有开展人体标本HLA基因分型检测，提供与临床疾病的诊疗、预防、用药监测或者移植以及人体健康评估相关报告的检测实验室，也适用于开展捐献者HLA基因分型数据入库的检测实验室和对HLA检测进行质量控制的实验室。

2 规范性引用文件

本标准没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

IPD-IMGT/HLA 数据库 Immuno-Polymorphism Database (IPD)-international ImMunoGeneTics project (IMGT)/HLA database

人类主要组织相容性复合物的DNA序列数据库，包含经世界卫生组织HLA命名委员会命名的HLA等位基因序列。

3.2

基于直接测序的基因分型 sequence based typing, SBT

基于核酸直接测序技术的基因分型方法。

3.3

基于序列特异性引物的基因分型 sequence-specific primer, SSP

采用等位基因特异性引物进行核酸扩增的基因分型方法。

3.4

基于序列特异性寡核苷酸杂交的基因分型 sequence-specific oligonucleotide, SSO

采用特异性序列的寡核苷酸进行核酸杂交的基因分型方法。

3.5

基因型 genotype

某一基因或一组基因的具体等位基因组合。

3.6

基因座 locus

基因在染色体上的位置，同一座位上可能有不同类型的等位基因；或一段DNA序列在染色体上的位置。

3.7

擦拭检测 wipe test

是一种通过擦拭物体表面来监测实验室设备和台面是否被核酸污染的检测方法。

4 环境和设施要求

4.1 环境

- 4.1.1 实验室应有充足的空间，以便所有操作过程和检测分析能够正常运行，区域间应避免相互干扰。
- 4.1.2 实验室检测区域应分为“清洁区”和“污染区”，进行有效隔离并采取措施以防止核酸交叉污染。
- 4.1.3 应对实验室环境温度、湿度进行监控并记录。

4.2 设施

- 4.2.1 存放试剂和标本的冰箱或者冰柜应满足实验的需要。
- 4.2.2 照明和通风设备及紧急喷淋、洗眼器等应急设备应与实验检测要求相适应。
- 4.2.3 保存记录的设施应满足档案管理要求。使用中的记录和存档记录的保存位置清晰可辨且易于查找。
- 4.2.4 需要控制温度的仪器应根据实验要求调节到最佳温度，定期对其温度进行监控和记录。
- 4.2.5 关键仪器设备应配置不间断电源。
- 4.2.6 设备应由经过授权的人员操作，专人管理。
- 4.2.7 设备及其软件应有唯一性标识，并保存记录。
- 4.2.8 仪器设备应定期进行维护保养，并保存维护、维修记录。
- 4.2.9 应根据需求变化或硬件环境的变化对应用程序进行部分或全部的升级，并对升级后的软件进行性能评估。依据 IPD-IMGT/HLA 数据库的更新，至少每年一次对本地 HLA 数据库进行更新，并针对更新后的数据库进行性能评估。

4.3 生物、化学和物理危险性

4.3.1 生物危险性

所有人类标本（包括血样、组织等）均应被认作感染性的样本来处置，实验室应根据检测工作进行相应的生物安全等级备案。

4.3.2 化学危险性

分子生物学实验过程可能使用含有毒性的或致突变的化学物质（如氯仿、溴化乙啶和苯酚），每一种化学品的使用应遵循我国对化学品使用的相关规定。

4.3.3 物理危险性

分子生物学实验过程可能遇到具有潜在的物理危险性（如电泳仪、紫外线及离心设备），应遵循相应仪器的操作规则。

5 试剂耗材的采购和储存

5.1 通用要求

- 5.1.1 应制定并执行检测试剂、耗材的选择、购买、接收和储存的程序。
- 5.1.2 购买的检测试剂、耗材，验收合格后方可使用并保留验收记录。
- 5.1.3 应对影响检测质量的关键耗材、试剂供应商进行评价，保存评价记录和供应商名录。

5.2 试剂耗材评估

- 5.2.1 选购影响检测质量的关键耗材、试剂前应进行评估，产品质量应满足实验室检测要求。
- 5.2.2 更换试剂和耗材的生产商应进行评估，产品质量应满足实验室检测要求。
- 5.2.3 使用新批号试剂前，应对新、旧批号质量进行比对。可采用平行检测同一样本或质控品的方式，新批号质量应满足实验室检测要求。

5.2.4 影响检测质量的关键耗材、试剂应确认合格，经实验室主任或者授权人审批后才投入使用。

5.3 试剂的来源、制备及储存

5.3.1 应记录影响检测质量的关键耗材和试剂的来源，包括制造商、供应商、购买日期、购买人、试剂批号等，且易于查询。

5.3.2 所有检测试剂应使用等级匹配的化学试剂配制，保证检测试剂达到分子生物学等级水准。

5.3.3 应按照实验室标准操作规程进行试剂配制，并进行记录。

5.3.4 所有使用的试剂应清晰标记名称、浓度、试剂特性、无菌状态、试剂保存条件、配制人、配制日期或开启日期、试剂有效期，并清晰标示试剂毒性。

5.3.5 所有使用的商业试剂的储存标准应与制造商提供的说明书相一致。

5.3.6 商业或者自制的试剂、水、溶液、培养基、质控品、校准品及其他试剂，当超过使用效期、性质改变或质量下降时，不应使用。

5.3.7 使用商业试剂盒应遵循制造商的说明书。

5.3.8 应记录每次检测使用试剂的批号或者货号。

6 样本的采集和处理

6.1 患者或被检测者信息

6.1.1 患者或被检测者的送检单信息内容应包括姓名、性别、出生日期（年龄）、采样日期、样本类型、送检医师姓名、临床相关资料或实验室检查资料，可酌情调整内容。

6.1.2 样本容器上应标注唯一性标识。

6.1.3 患者或被检测者信息表、样本、验收记录应归档保存，便于分析和追溯。

6.1.4 实验室应确保患者或被检测者信息的安全性和保密性。

6.1.5 患者或被检测者的样本被用于科研项目或商业项目时，应经过伦理审查和知情同意；如患者或被检测者样本仅进行临床检测，则无需填写知情同意书。

6.2 样本采集

6.2.1 样本采集前应明确采集方法、采集部位和保存方式，准备好采集器械。采集样本类型可为外周血、口腔拭子、骨髓细胞、唾液、组织。

6.2.2 样本采集应按照实验室操作标准进行操作，并进行记录。

6.2.3 采集样本时应注意影响样本采集和质量的因素，外周血推荐使用 EDTA 等抗凝剂，不宜使用肝素抗凝。

6.2.4 采集的样本应具有唯一性标识，并与送检单一一对应，可追溯患者姓名、出生日期、医院编号或者实验室编号、样本采集日期和采集时间。

6.3 样本运输

6.3.1 样本可以常温或普通冰袋运输，防止反复冻融和污染。

6.3.2 样本应有运输清单信息，包括样本编号、采集时间、采集实验室、采集人、样本数量、患者信息、运输容器、运输方式和保存方式等。

6.4 样本接收和验收

6.4.1 接收样本时，应做好接收验收记录，包括样本来源、类型、运输方法、运输容器、实验室接收样本的日期、样本质量和数量、附带资料等。

6.4.2 当样本信息不足、样本处理或运输不当、量不能满足检测、抗凝方式不当，实验室可以拒收样本并做好相应记录，通知送检方重新送检。

6.4.3 验收通过的样本应按实验要求进行编号并存储样本信息。

6.4.4 采集后的样本可于 4℃ 暂存 2 周，超出 2 周宜在 -20℃ 以下冰箱保存。样本应避免反复冻融和相互污染，尽早提取核酸。

6.5 样本基因组 DNA 提取、检测和保存

6.5.1 样本基因组 DNA 提取

- 6.5.1.1 可从多种类型的样本中提取基因组 DNA，提取方法应已获得广泛认可，并经实验室验证。
- 6.5.1.2 提取 DNA 时应记录所有操作步骤及试剂来源，操作步骤及试剂来源的任何变动或实验过程中的任何异常现象也应记录，操作人应签字并注明实验日期。
- 6.5.1.3 应设有独立的 DNA 提取操作区。操作区照明和通风设备应满足实验要求，关键设备配置无中断或紧急电源，并利用物理或生化手段防止污染。区域内使用专用工作服、手套和一次性用品。
- 6.5.1.4 DNA 提取前应验证所有试剂质量以及 DNA 提取系统。应按照标准操作规程提取 DNA，操作手册置于便于取阅的地方。
- 6.5.1.5 应保留部分原始样本，不应全部用来提取 DNA，以便后续追溯和使用。
- 6.5.1.6 DNA 提取完成后应填写提取记录，包括样本编号、提取时间、提取操作人、提取方式、样本浓度和体积等。

6.5.2 DNA 浓度的测定

- 6.5.2.1 对于要求高纯度核酸的检测方法，应对获取的 DNA 进行浓度和纯度的检测，可使用分光光度计法和电泳法。
- 6.5.2.2 分光光度计对 DNA 浓度测定前应先校正，并设立合适的对照。DNA 样本被检测时，应保证其全部溶解且浓度均匀。核酸最大吸收波长在 260 nm，1.0 的光密度值相当于双链 DNA 含量为 50 μg/mL；蛋白质最大吸收波长在 280 nm 处，因此测定 A260/A280 比值，可判断样本中蛋白质和 RNA 污染的情况。比值在 1.8~2.0 之间，说明 DNA 纯度高；比值小于 1.6，说明样本中蛋白质残留较多；如果比值大于 2.0，可能样本有 RNA 污染，建议重新抽提或纯化。
- 6.5.2.3 电泳法常用来判断 DNA 的完整性和 RNA 污染情况。
- 6.5.2.4 DNA 浓度、纯度和完整性应符合实验室使用试剂的要求。若不符合后续检测的要求，应重新抽提。

6.5.3 基因组 DNA 的保存

基因组 DNA 可于 4℃ 暂存 2 周，超出 2 周宜在 -20℃ 以下冰箱保存。-20℃ 保存超过 1 年后再使用，应先进行 DNA 质量评估，满足实验要求方可使用。

7 HLA 基因分型检测方法

7.1 聚合酶链反应-序列特异性引物 (polymerase chain reaction-sequence specific primer, PCR-SSP) 方法

7.1.1 基本原理

根据 HLA 基因序列的多态性，设计一系列等位基因特异性引物，通过特定的 PCR 反应体系扩增各等位基因的特异性 DNA 片段，产生相对应的特异性扩增产物条带，然后通过琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物，根据是否得到 PCR 产物以及产物的片段大小进行 HLA 基因分型。PCR-SSP 的 3' 端引物和靶 DNA 特异性结合后，Taq 酶使配对引物的 3' 端延伸，而非配对的不延伸，所以只有当靶 DNA 和上下游引物全部互补时才能有效扩增。PCR-SSP 引物体系的特异性是通过上下游引物特异性之间的交叉来实现的。

7.1.2 检测设备及引物设计

- 7.1.2.1 必需的设备 (包括但不限于)：96 孔 PCR 板、专用贴膜；单通道移液器、多通道移液器；96 孔或 384 孔模块 PCR 仪；电泳系统及核酸片段分析系统。
- 7.1.2.2 基于 PCR-SSP 法的 HLA 基因分型技术，关键是准确设计特异性的引物。该引物序列应与所检测的 HLA 等位基因序列相对应，宜使用商业试剂盒。
- 7.1.2.3 PCR 引物和引物混合物宜分装保存。

7.1.3 结果分析及问题解决方法

7.1.3.1 总述

每个PCR-SSP反应，如果有内对照扩增，则该反应有效。如果一个反应既没有内对照又没有特异基因扩增条带，则该反应失败。如果一个反应没有内对照扩增，即使这个等位基因在该反应里被扩增了，也被视为检测失败。等位基因的类型通过阳性和阴性反应的格局来判别。单孔反应失败时，应重新进行PCR扩增反应。

7.1.3.2 常见问题的可能原因及解决方法

7.1.3.2.1 无等位基因和无内对照片段扩增

- a) 检测试剂或 PCR 仪的问题，可用确认的 DNA 样本对检测试剂和 PCR 仪进行验证；
- b) DNA 的质量不符合要求，当 DNA 浓度太低，可以适当增加 DNA 模板量，或增加 Taq 酶量或两者同时增加；
- c) Taq 酶可能失效，更换 Taq 酶。实验室应正确存储和使用 Taq 酶。

7.1.3.2.2 整体扩增条带显色强度弱

- a) PCR 仪的问题，用确认的 DNA 样本检测 PCR 仪；
- b) DNA 的质量不符合要求，参照 7.1.3.2.1 b)；
- c) Taq 酶质量低或过度稀释。应提高 Taq 酶浓度，确保 Taq 酶正确保存和使用。每个实验应选择合适的 Taq 酶浓度；
- d) PCR 相关试剂未正确保存、配制及使用，应确保每一步骤严格按照标准操作规程进行，必要时更换新的试剂。

7.1.3.2.3 单一位点出现多个等位基因扩增条带

- a) 样本 DNA 受到污染，这种污染会在多个反应孔中产生额外条带，可能出现两种样本的反应格局，应重新提取样本 DNA；
- b) PCR 产物污染，这种污染会在单个或少数检测位点产生额外条带，应使用新的试剂进行重新扩增；
- c) 可能是新的等位基因，应使用其他分子生物学方法进行确认。

7.1.3.2.4 多个或所有位点出现多个等位基因扩增条带

- a) 样本 DNA 受到污染，这种污染大多数会在多个或所有基因位点的反应孔中产生额外条带，可能出现两种样本的反应格局，应重新提取样本 DNA；
- b) PCR 仪加热系统错误，如果 PCR 程序被中断或重启（尤其是在早期阶段），可以看到多条条带，应对 PCR 仪进行检修和校准；
- c) 样本或 PCR 反应液受到污染，应重新采集样本或配制新的试剂进行扩增检测。

7.1.3.2.5 一个基因位点上无特异性扩增条带

- a) PCR 反应液配制错误，应确保所有的 PCR 反应组份在使用前经过验证；
- b) 如果 dNTP（脱氧核糖核苷三磷酸）与 $MgCl_2$ 的比例不合适，可影响一个或更多基因位点的扩增，表现出在一个特殊的位点没有等位基因，可调整 dNTP 与 $MgCl_2$ 比例进行再次测试；
- c) 如果某些等位基因有较高的 G/C 含量，可因 Taq 酶选择不当导致难以扩增。应更换合适的 Taq 酶。

7.1.3.2.6 有等位基因扩增条带但无内对照条带

- a) DNA 降解，使分子量大的扩增条带难以产生，如内对照无扩增条带，应重新提取样本 DNA；
- b) PCR 延伸时间不足，应增加 PCR 反应延伸时间；
- c) PCR 仪故障，应重新校准 PCR 仪；
- d) 内对照扩增引物浓度过低，应提高引物浓度。

7.1.3.2.7 有内对照扩增条带但无等位基因条带

- a) 镁离子浓度过高，应重新配制 PCR 扩增试剂；
- b) PCR 仪盖压力不够，应确保 PCR 仪盖和 PCR 管/板之间的压力匹配。

7.1.3.2.8 部分分型结果清晰，部分分型结果失败

- a) PCR 仪加热系统故障，应确保 PCR 仪加热模块的一致性；
- b) PCR 管/板和 PCR 仪加热模块不匹配，应确保 PCR 管/板的底部直接接触 PCR 仪加热模块；
- c) PCR 仪盖压力不均匀，应确保 PCR 仪盖和 PCR 管/板之间的压力匹配；
- d) 凝胶电泳时核酸染料没有混合均匀或浓度不足，应重新配制凝胶或核酸染料溶液。

7.1.4 检测方法的局限性

基于已知序列信息的分型方法可能检测不到新的等位基因，或者无法与已知等位基因相区别，为避免漏检新的等位基因，当使用 PCR-SSP 方法时，可采用多种引物，以提高检测到新等位基因的可能性。

7.2 聚合酶链反应-序列特异性寡核苷酸杂交 (polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide, PCR-SSO) 方法

7.2.1 基本原理

PCR-SSO 方法首先是对 HLA 的多态性区域进行扩增，然后根据碱基配对原则使用特异性探针进行杂交，根据杂交信号判断结果。基于 PCR-SSO 技术的 HLA 分型方法主要包括正相 SSO 方法和反相 SSO 方法两种。PCR-SSO 技术具有灵敏度高、特异性强、加样量少的特点。

2000 年后基于流式荧光检测仪 Luminex 平台的 PCR-SSO 基因分型检测系统开发成功，它利用传统 PCR-SSO 的原理，首先对样本的 HLA 多态性区域进行扩增，扩增产物经解链后与包被在微珠上的特异性探针杂交结合，通过 Luminex 流式荧光检测仪检测，确定 HLA 分型结果。该系统是整合了荧光编码微珠、激光检测、应用流体力学、高速数字信号和计算机运算法等多项技术的高通量检测平台。7.2 主要针对 Luminex 平台的 PCR-SSO HLA 基因分型检测技术进行说明和要求。

7.2.2 必需的设备与耗材 (包括但不限于)

96 孔 PCR 板、96 孔杂交板、96 孔读取板、专用贴膜、单通道移液器、多道移液器、96 孔 PCR 仪、Luminex 分析仪，平板离心机，电泳系统及成像系统。

7.2.3 PCR 引物和杂交探针的设计

7.2.3.1 PCR 扩增引物一般至少针对 HLA I 类基因 (HLA-A, HLA-B, HLA-C) 的 2 号外显子和 3 号外显子进行扩增，至少针对 HLA II 类基因 (HLA-DRB1, HLA-DQB1) 的 2 号外显子进行扩增。

7.2.3.2 基于 PCR-SSO 法的 HLA 基因分型技术的关键是准确地设计特异性杂交探针，该探针序列应与所检测的 HLA 等位基因序列相匹配。

7.2.3.3 PCR 引物应于 -20℃ 保存，包被探针的微珠应避免反复冻融、剧烈震荡，按厂家说明书要求条件保存。

7.2.4 结果分析及问题解决方法

7.2.4.1 综述

对于每个 PCR-SSO 反应，如果内对照杂交信号达到阈值，可认为反应有效；如内对照和特异等位基因杂交信号均未达到阈值，可认为反应失败；如内对照杂交信号未达到阈值，即使特异等位基因杂交信号达到阈值，也认为反应失败。

7.2.4.2 常见问题可能原因及解决方法

7.2.4.2.1 扩增反应失败 (电泳显示无扩增条带)

- a) 检测试剂或 PCR 仪的问题，用确认的 DNA 样本对检测试剂和 PCR 仪进行验证；
- b) DNA 的质量不符合要求，DNA 浓度太低，可以适当增加 DNA 模板量，或增加 Taq 酶量或两者同时增加，如果凝胶成像显示 DNA 条带正常，可能是 DNA 纯度差的原因，需要重新提取 DNA。

7.2.4.2.2 微珠读取数量未达到阈值

- a) Luminex 仪器进样针堵塞，应对仪器进行检修；
- b) 微珠混合不均匀，应确保每一步骤严格按照标准操作规程进行；

c) 微珠的保存条件不正确, 应按厂家说明书要求进行保存。

7.2.4.2.3 杂交荧光信号出现假阴性或未达到阈值

- a) PCR 反应扩增失败或扩增反应弱, 应参照 7.2.4.2.1 的解释;
- b) 杂交试剂和 Luminex 仪器的问题, 用确认的 DNA 样本对检测试剂和 Luminex 仪器进行验证;
- c) 杂交试剂的保存、配制以及杂交后洗涤条件不当, 应确保每一步骤严格按照标准操作规程进行。

7.2.4.2.4 杂交荧光信号出现假阳性

- a) DNA 纯度和浓度没有达到要求, 应参照 7.2.4.2.1 b) 的解释;
- b) PCR 扩增反应中 Taq 酶过量, 应确保每一步骤严格按照标准操作规程进行;
- c) 杂交试剂和 Luminex 仪器的问题, 用确认的 DNA 样本对检测试剂和 Luminex 仪器进行验证;
- d) 杂交过程中未充分混匀、孵育时间过长、荧光染料过量、洗板后孔内上清残留过多, 应确保每一步骤严格按照标准操作规程进行。

7.2.5 检测方法的局限性

基于已知序列信息的分型方法可能检测不到新的等位基因, 或者无法与已知等位基因相区别, 为避免漏检新的等位基因, 当使用 PCR-SSO 方法时, 可以加大探针的种类和数量, 以提高检测到潜在的新的等位基因的可能性。

7.3 基于直接测序法 (sequence-based typing, SBT)

7.3.1 基本原理

基于 SBT 的 HLA 基因分型检测是对 DNA 序列进行直接测序, 通过与国际 HLA 数据库比对分析, 获得 HLA 等位基因型别的分析方法。任何 DNA 直接序列测定的方法均可用于 HLA 基因分型检测, 该方法是最可靠的 HLA 基因分型方法, 可准确确定新的 HLA 等位基因。

7.3.2 必需的设备 (包括但不限于)

PCR 仪、DNA 测序仪、HLA 基因分型软件、计算机系统。

7.3.3 PCR 扩增引物及测序引物的设计

7.3.3.1 PCR 扩增引物一般针对 HLA I 类基因和 HLA II 类基因的各外显子进行扩增, 宜使用商业试剂盒。

7.3.3.2 测序引物一般根据扩增产物的区域决定, 可使用商业试剂盒。

7.3.3.3 引物和测序试剂应分装保存。

7.3.4 结果分析及问题的解决方法

7.3.4.1 总述

以 Sanger 双脱氧链终止法为代表的第一代测序方法应用较为广泛, 本条内容主要针对采用第一代测序技术的 HLA 基因分型检测方法进行说明和要求。

7.3.4.2 常见问题可能原因及解决方法

7.3.4.2.1 无序列峰图信号

- a) 测序模板未能有效扩增, 应对扩增产物进行电泳分析, 确定是否有足量特异性扩增产物, 如扩增产物存在问题, 应重新扩增;
- b) 测序引物选择存在问题, 应核对加入引物的种类及加入量是否正确;
- c) 测序试剂配制、保存存在问题, 每一步骤应严格按照标准操作规程进行。

7.3.4.2.2 测序背景信号高

- a) 测序模板加入量没有达到要求, 应重新调整测序模板加入量;

- b) 测序模板纯度（扩增条带特异性差或 PCR 抑制剂过多）没有达到要求，应重新纯化和扩增测序模板。

7.3.4.2.3 杂峰信号过多

- a) 测序模板或测序 PCR 反应液污染，应重新进行扩增检测；
- b) 测序模板加入量偏少，测序信号值偏低，应调整测序模板加入量；
- c) 测序引物特异性或延伸效率较差，应重新设计或合成测序引物；
- d) 存在碱基插入或缺失区段，应进行等位基因特异性扩增测序或克隆测序鉴定；
- e) GC 含量过高，测序扩增反应效率过低，应调整测序 PCR 程序或调整测序反应体系。

7.3.5 检测方法的局限性

由于HLA具有高度多态性，在分型时测序区域有时会出现序列组合形式上完全相同的情况，这种情况既可能是由于两个或多个等位基因在所检测区域序列一致（两者差异在所检测区域之外），又可能是由于该测序区域存在相同的等位基因组合，此时应扩大检测区域或采用等位基因选择性扩增的方法进行分型。

8 质量控制

8.1 原则和目的

检测结果的准确性和可靠性依赖于实验室质量控制，质量控制包括对试剂、人员技能和设备仪器性能的质量控制。试剂包括检测用的任何化学或生物制品，对试剂的正确标记、保存、配制和使用都非常重要，试剂使用不当可能会影响检测结果的可靠性甚至对检测人员的健康和安全构成威胁。对人员的培训、仪器的校准、维护维修也是质量控制的组成部分。实验室开展的检测项目应至少参加一项能力验证/室间质量评价（Proficiency Testing/External Quality Assessment, PT/EQA）项目，如果没有PT/EQA组织机构能够提供对该项目的室间质量评价，实验室应与其它实验室建立平行检测比较，至少每6个月一次。

8.2 人员检测能力考核评估

8.2.1 实验室主任、技术主管及检测人员应参与实验室检测项目相关的继续教育。

8.2.2 实验室主任和技术主管应建立检测人员技能评估的计划和程序文件，至少每年对相关人员的技能进行一次评估并记录。

8.2.3 实验室主任和技术主管应对检测人员的检测能力进行考核并记录。第一年至少考核两次，一年后每年至少考核一次，每当检测方法或者仪器发生变更时考核一次，离岗6个月及以上人员再上岗前应增加考核一次。

8.2.4 实验室主任和技术主管应每年至少一次向检测人员发放相应的特定质控物作为盲样，以验证检测人员对相应质控物的检测能力。实验室应保留每位检测人员的验证结果至少两年。

8.2.5 检测能力考核评估记录应包括以下内容：

- a) 常规检测项目操作的规范性，包括样本的准备、处理和检测；
- b) 实验记录的完整性、真实性；
- c) 实验结果的准确性；
- d) 仪器保养和操作的正确性；
- e) 质控记录、PT/EQA 结果、仪器维护记录的完整性；
- f) 通过已检测样本、室内盲样、室间质评样本评估其检测能力；
- g) 综合评估其解决问题的能力。

8.3 试剂质量控制

8.3.1 试剂标记

检测试剂应按5.3中的要求进行标记。

8.3.2 供货商评价

- 8.3.2.1 建立实验室认可的供货商评价系统，供货商资格满足实验检测要求。
- 8.3.2.2 建立合同审计制度。
- 8.3.2.3 建立供货商所提供试剂的质量证明和质控报告记录档案。

8.3.3 试剂管理

- 8.3.3.1 建立实验室常用试剂清单，包括但不限于以下内容：试剂名称/化学式、毒性、制造商和货号、制备要求、储存要求。
- 8.3.3.2 建立实验室试剂使用记录/质控记录，包括但不限于以下内容：试剂名称、批号、接收日期、使用期限、配制日期或开启日期、配制人或开启人签名。
- 8.3.3.3 所有过失效期的试剂应废弃。
- 8.3.3.4 商业试剂盒不同批号间的试剂不应混用，除非制造商经实验证明其对检测结果无影响。
- 8.3.3.5 建立实验室试剂库存清单，以保证检测期间试剂的供应，试剂库存清单应包括但不限于以下内容：上一批订购量、订货周期、最小库存量。

8.3.4 试剂性能记录

- 8.3.4.1 每种试剂在用于检测前，都应满足其最低标准要求。
- 8.3.4.2 每批新试剂用于检测前，应检测其性能指标，应与现用试剂具有同等质量、达到同样性能标准。
- 8.3.4.3 当试剂性能指标超出可接受误差范围时，应重复实验并上报实验室技术主管。

8.3.5 试剂质控的程序

应制定试剂质控程序，详细说明质控过程，质控记录应存档。该记录内容应包括试剂性能的可接受范围与与历史数据的比对。对于HLA基因分型，试剂质控主要针对引物和探针的特异性。

8.3.6 试剂不能使用的原则

新批号试剂检测结果与预期结果不符，不同批号试剂平行检测中新批号试剂结果偏离较大，试剂造成质控品的检测结果错误，试剂中发现有污染。

8.3.7 引物的质量控制（SSP 方法）

- 8.3.7.1 使用 DNA 阳性质控品检测 SSP 引物阳性反应的特异性。若 SSP 板第一孔是 DRB1*01 特异的引物，则加入包含 DRB1*01 的 DNA 质控品；SSP 板的每一孔都应加入相对应的阳性 DNA 质控品。质控品可为已知分型的纯合或杂合细胞株，也可使用已分型的患者或 PT/EQA 样本；阳性板的每个反应孔都应出现正确的特异性条带，对于多基因型 SSP 特异性引物，应用多个相对应的 DNA 阳性质控品进行评价。
- 8.3.7.2 阴性 DNA 质控品用于评估引物的阴性特异性。用两个以上阴性 DNA 质控品对 SSP 板做检测，阴性反应孔应只有内参条带出现；阴性质控品应选择与引物特异性非常接近的 DNA 质控品，特别应针对容易出现假阳性的 SSP 引物。
- 8.3.7.3 为整体评估 SSP 全套引物的特异性，应对 DNA 质控品做全套引物的完整分型，观察、确认非特异性条带和/或交叉反应出现。
- 8.3.7.4 应保证所用试剂质量满足检测要求。

8.3.8 探针的质量控制

8.3.8.1 SSO 探针标记的质量控制

- 8.3.8.1.1 每条探针标记后，需用 DNA 质控品进行检测，保证其敏感性和特异性。
- 8.3.8.1.2 检测结果应记录在“探针质控工作表”中。
- 8.3.8.1.3 推荐每次进行 SSO 分型时，同时包含 DNA 质控品。

8.3.8.2 反向 SSO 质量控制

- 8.3.8.2.1 实验室开发的反向 SSO，新批号的试剂应通过有效 DNA 质控品的确认，以保证每条探针的特异性。

8.3.8.2.2 商业试剂盒用于患者样本检测前，应先用 DNA 质控品进行评价。试剂使用过程中，应定期用 DNA 质控品监测探针的特异性。

8.4 设备的维护和校准

8.4.1 应监控 PCR 仪、孵育箱、冰箱和水浴箱的温度，用于监控的温度计使用前应进行校准。

8.4.2 PCR 仪反应孔的温度精确性和一致性应进行监控，实验室应规定孔间实际温度偏差和预期温度偏差的可接受范围。

8.4.3 移液器应至少每年校准一次，移液器的使用和清洁应参照制造商的说明书。

8.4.4 测序仪等大型设备应制定日常维护的操作程序、日常维护检查时间表，并记录维护检查结果，保存在维护手册中。

8.4.5 应制定设备维护检查结果的可接受范围，当结果超出可接受范围时采取纠正措施，包括但不限于以下：记录故障发现过程、记录仪器维修过程、将详细故障告知相关人员、启用备用程序和备用仪器。

8.4.6 设备故障维修后应通过实验来验证满足检测性能后，方可重新投入使用，并追溯评估故障前最后一次实验结果的准确性。

8.5 PT/EQA 项目

8.5.1 实验室应参加由授权机构组织的 PT/EQA 项目。

8.5.2 在 PT/EQA 结果回报最后期限前，实验室不应以任何形式与其他实验室交流 PT/EQA 样本的检测结果。如实验室主任管辖范围内多个分支实验室同时参与 PT/EQA 项目，应避免各实验室检测结果的交流。

8.5.3 实验室不应将本实验室的 PT/EQA 样本送至其他实验室进行检测，也不应将检测结果传至其他实验室。

8.5.4 以对待常规临床样本的方式对待 PT/EQA 样本，所有检测人员应参与 PT/EQA 样本的检测。

8.5.5 实验室应对 PT/EQA 样本的接收、保存、准备、处理、操作和检测过程中的每一步骤及结果报告进行记录并归档。与 PT/EQA 有关的各项记录的复印件至少在实验室保存两年，其中包括 PT/EQA 样本检测结果回报表的复印件、所有与 PT/EQA 组织单位就样本检测的交流记录、实验室主任或技术主管对每次的 PT/EQA 样本检测或相关整改措施的审核报告的复印件。

8.5.6 实验室 PT/EQA 不合格时，应调查和分析引起错误的原因，实施相应的整改措施并同时记录归档。实验室应紧急采取整改措施，确认同类错误未发生在临床样本检测报告中。

8.6 DNA 污染的控制

8.6.1 原则和目的

聚合酶链反应(PCR)可以将DNA片段扩增到百万倍甚至更多，但由于扩增产物可以在后续PCR循环里再次被扩增，因而使用PCR技术的一个风险就是扩增产物的实验室污染。PCR实验室的质量保证体系的一个重要部分就是监控DNA污染。DNA污染可来自基因组DNA和扩增产物，均可导致假阳性的结果，从而造成实验报告错误。因此，HLA基因分型实验室应建立严格的标准，进行DNA污染的常规监测。

8.6.2 实验室布局和工作流程

实验室试剂配制、样本制备、扩增及产物检测应分别在3~4个相对独立的区域内进行，可根据方法适当调整区域数量。应符合《医疗机构临床基因扩增检验实验室管理办法》的要求。

每个实验室应建立单向工作流程，使用单向工作流程可减少污染的发生。

8.6.3 实验服和手套

根据实验室情况，宜在试剂配制区、样本准备区、扩增和检测区分别配备专用实验服，出入各区时更换。为减少洁净区污染，每次进入试剂配制区时应配戴或更换新手套。

8.6.4 移液器

试剂配制区、样本准备区、扩增和检测区应分别配备专用移液器。应使用带滤芯吸头以防移液器管腔被气溶胶污染。所有移液器应定期清洗。

8.6.5 试剂

所有用于核酸扩增的试剂应配制后分装，并与样本或扩增产物分开存放，以减少取样次数，降低污染风险。应记录试剂批号，一旦发生污染，可以追溯污染源。

8.6.6 加样

在开盖前宜将反应管快速离心，小心开盖以防气溶胶形成。应在反应管中先加入非样本反应组分（如 dNTPs、引物、缓冲液、酶），再加入样本，每加完一个样本要盖好盖后再加下一个样本。

8.7 对照反应

8.7.1 每次检测应同时设置阳性对照和阴性对照。

8.7.2 阳性对照是包含已知的 DNA 模板，其目的为证明扩增反应体系可正常工作。

8.7.3 阴性对照即为反应物空白对照，该对照包含正常反应除模板 DNA 外的所有试剂，其目的是检测有无模板 DNA 的污染。

8.8 扩增产物的灭活方法

8.8.1 常用的 PCR 扩增产物的灭活方法

8.8.1.1 酶灭活法：在扩增时用 dUTP 代替 dTTP 参与 PCR 反应，生成 dU 化的扩增产物，这种产物由于存在“非自然”状态下的碱基而与靶 DNA 相区别。细菌的尿嘧啶糖苷酶（UNG）加入反应混合物，上次扩增的 dU 化的 PCR 产物就会被 UNG 降解，不会作为下一次扩增的模板。

8.8.1.2 局部灭活方案：可使用含氯漂白剂（例如次氯酸钠）清洁工作台面等，以清除残留的 PCR 产物或者其他污染源，用紫外灯照射工作台面也是控制污染的有效措施。

8.8.2 扩增产物灭活方法的实施

确定扩增产物灭活方法后应建立相应的验证方法。酶灭活法应用稀释的 PCR 产物人为“污染”反应液，然后分析灭活效果，以评价灭活方法的有效性。如果实验室需要更换另一种灭活方法，应在更换前对新方法进行评价，并证实新方法的有效性。

8.9 擦拭检测监控实验室污染

开展 HLA 基因分型的实验室应通过常规擦拭检测（wipe test）、阴性对照、开管对照等途径来监测 DNA 污染或 PCR 扩增产物污染。擦拭检测用于检查实验室设备和台面是否被 DNA 或 PCR 扩增产物污染，对检测结果阳性的区域需采取适当的整改措施。

8.9.1 擦拭检测实施措施

8.9.1.1 用实验室最常见扩增产物的扩增试剂常规监测扩增前区域的污染情况。

8.9.1.2 监测潜在的污染，使用的方法应达到常规检测方法的灵敏度，且使用合适的引物。每次扩增至少包括一个阴性对照和一个阳性对照。

8.9.1.3 每次擦拭检测宜包括污染监测反应和阳性对照反应。

8.9.1.4 如果检测到 PCR 抑制的存在，应采取清洁措施排除 PCR 抑制物的干扰，并重复检测，确认抑制物被有效清除。

8.9.1.5 如果检测到污染的存在，应采取清洁措施清除污染源，并重复检测，确认污染源被有效清除。

8.9.2 污染监测体系的建立

8.9.2.1 针对 I 类和 II 类基因扩增区域内的非多态区设计特异性引物，此引物能检测到所有的 PCR 产物和基因组 DNA 污染。

8.9.2.2 建立并确认 PCR 方法的擦拭检测步骤。

8.9.2.3 掺入 DNA 或稀释的 PCR 产物（作为掺入样本对照），应确认擦拭检测引物对所用分型方法产生的 PCR 产物是有效的，反应液不含有干扰或抑制 Taq 聚合酶活性的外来杂质。

8.9.2.4 根据琼脂糖凝胶电泳有无 PCR 产物，记录“+”或“-”。

9 检测报告

9.1 总述

实验室应提供及时、准确、清晰、可靠和客观的检测报告，检测报告应包括客户的要求、检测方法等内容。在为内部客户或有书面协议的客户检测时可用简化的报告方式。检测报告可用纸版或电子版形式发布。实验室应确保检测报告的保密性。

9.2 检测报告的内容和格式

检测报告应包含但不局限于以下内容：患者姓名、性别、出生日期、标本采集日期、标本号或病例号、样本实验室编码和唯一标识、检测方法的简单描述、检测结果及解释、报告日期、报告单编号、实验室负责人或其他授权人员的签名、实验室的名称、地址和电话，检测报告应标有页码和总页数。报告内容可根据需求进行调整。

9.2.1 检测报告的格式

9.2.1.1 检测报告的格式应适用于各种检测类型，减少产生误解或误用的可能性。应注意检测报告的排版，使检测数据的表达方式易于理解。检测报告的表头应标准化。

9.2.1.2 报告格式的设计应考虑所有可能出现的检测结果，保证与相关指南或规定的要求相一致。检测报告的格式应包括但不局限于以下因素：关键信息应突出显示或重复描述、表达方式清晰（如提供范围、阈值）、用于风险评估计算的信息、免责声明或对检测局限性的说明（如分析有效性、临床有效性、非亲子关系等）。

9.2.2 检测报告的解释

9.2.2.1 检测报告中应给出检测结果的解释说明。

9.2.2.2 宜采用 IPD-IMGT/HLA 数据库解释数据。

9.2.2.3 检测结果的解释应清晰、易于理解，便于非 HLA 专业的医生阅读。

9.2.2.4 对检测报告中未予解释而客户要求解释的部分，应由临床咨询医师或其他实验室授权人员做出口头或书面的解释。

9.3 检测报告的发放

9.3.1 检测报告应经过实验室主任或技术主管或其他授权人的审核和认可后发放。

9.3.2 实验室提供的检测报告可以是纸版或电子版形式，但只能将检测报告发放给检测申请者或其指定人员。

9.3.3 当用传真的形式发放报告时应确保传真件与原始纸版报告内容一致。传真封面的收件人应为申请者或其指定人员。实验室应采用封面提示注明传真内容包含保密信息，受法律保护。

9.3.4 通过电话发放报告不能保证信息的隐私保护，应限制或禁止使用电话方式传递信息。

9.4 检测报告的修改

对已发放的检测报告进行实质性修改，应仅采用追加文件或资料更换的形式，并包括如下说明：“对某某检测报告的补充，报告单编号等”，或其他等效的文字形式。如要发布全新的检测报告，应标注唯一性标识，并注明所替代的原件。

9.5 检测报告的保存

9.5.1 每个实验室应规定其检测报告的保存时间、文件目录和文件类型。

9.5.2 所有患者的检测报告，应易于通过患者唯一性标识（如实验室检索号码或病例号）检索。

9.5.3 所有检测报告均应妥善保管，并保证资料的保密性和完整性。

9.5.4 实验室应保留检测报告至少 5 年，与家系有关的遗传检测的重要记录通常至少应保存一代（20 年）。

10 记录管理

10.1 总述

实验室应建立收集、索引、存取、保存、维护和清理检测记录的程序。检测记录可有电子版和纸版等方式，其索引清晰，易于查询，应存放在可防止损坏、变质、丢失的设施中。所有记录应安全保护并采取保密措施，应规定记录的保存期限。记录应在授权后才允许公布。

10.2 电子记录的管理

10.2.1 实验室应有计算机系统，包含适用的软件和硬件，用于记录所有样本的检测信息。检测信息包括检测申请、检测样本的唯一标识、样本来源、接收日期和时间、检测数据、结果、检测方法、检测操作人员等。

10.2.2 实验室的电子记录应备份，但不能储存在同一计算机或光盘上，实验室应有访问保护措施，防止未经授权的侵入或修改。

10.2.3 实验室计算机系统只能限于授权人使用，以保证数据的完整性、安全性和可靠性。

10.2.4 实验室应有电子记录备份的操作程序，在意外事件发生后可启动电子数据恢复。

10.2.5 记录中出现错误时，不可直接删除，应在相应的位置写出正确值，以避免原始数据的丢失或改动，对记录的所有改动应备注改动人的签名或签名缩写及日期。

10.2.6 实验室电子记录应保存5年以上。

10.3 纸版记录的管理

10.3.1 实验室应按规定时限保存纸版记录。

10.3.2 纸版记录内容可包含检测操作步骤、检测样本来源、唯一标识、检测人员、检测结果、检测时间和实验室主管签字等。

10.3.3 记录中出现错误时不可擦涂，应在相应的位置写出正确值，以避免原始数据的丢失或改动，对记录的所有改动应备注改动人的签名或签名缩写及日期。

10.3.4 纸版记录应保存5年以上。

11 问题和纠正措施

11.1 实验室应建立管理体系和程序文件，明确相应的责任，处理并记录来自客户和其他方面的投诉及问题，所有投诉均应进行调查并采取纠正措施。实验室管理体系或技术操作中的问题，可以通过内部或外部的审核、管理评审、客户的反馈等途径进行解决。

11.2 当检测体系未能满足实验室规定的性能指标时，应记录所有采取的纠正措施：

- a) 仪器或方法处于操作参数或性能指标以外；
- b) 检测结果在实验室检测体系可报告结果范围之外；
- c) 实验室确定的检测程序的参考值（正常值）对检测对象人群不适用；
- d) 质控品和对照品的结果不符合实验室的可接受标准；
- e) 试剂、样本的保存不符合规定。

11.3 纠正措施应便于获得和执行，以确保检测结果和报告的准确可信。

11.4 应记录、调查、纠正患者在患者样本或PT/EQA检测中发现的任何问题，以防再次发生。

11.5 应记录、调查、纠正任何由实验室空间、人员安全条件不适所致的意外事件，以防再次发生。

11.6 纠正措施应从调查问题的根本原因开始，原因分析是纠正措施的关键，应仔细分析问题发生的所有潜在原因，包括但不限于：客户要求、样品类型、样品规格、检测方法和程序、人员的技能和培训、耗材、设备及其校准等。

11.7 实验室应对纠正措施的结果进行监控，确认检测体系能够恢复到正常工作状态，以确定所采取的纠正措施有效。

11.8 对实验室检测体系出现的任何问题，纠正措施被确认有效前，不应临床样本进行检测或发放报告，以避免错误的发生。

11.9 所有发现的问题、原因、解决方法、纠正措施和纠正后的结果均应记录并存档。

11.10 当检测结果出现偏离或对实验室的管理制度和程序产生怀疑时，实验室应尽快对相应程序进行审核。审核常在纠正措施实施后进行，以确定纠正措施的有效性。

11.11 检测体系出现错误的潜在原因和所需改进之处均应记录，无论是技术方面还是管理体系方面，均应制定预防措施以减少类似错误的发生。

附录 A
(规范性)
擦拭检测污染的监测体系

A.1 擦拭检测的主要试剂和材料

- a) 引物;
- b) 擦拭检测 PCR 反应液;
- c) 琼脂糖凝胶;
- d) 阳性对照: 基因组 DNA 或稀释的 PCR 产物。如使用 PCR 产物, 将预先扩增的 PCR 产物梯度稀释 (1:1000 到 1:1,000,000), 检测灵敏度须至少达到 1:10,000。选择强阳性条带的最高稀释度作为擦拭检测的阳性对照品;
- e) 其他: 滤纸或者棉签、镊子、纯水、异丙醇。

A.2 擦拭检测步骤**A.2.1 检测点的确定**

DNA提取纯化区、PCR试剂配制区、洁净区实验台、洁净区地面及常用设备, 均应进行擦拭检测。

A.2.2 擦拭步骤

- a) 镊子用异丙醇去污, 并用超纯水清洗, 或者使用一次性无菌棉签;
- b) 用镊子将直径为 1.5 cm 的滤纸片在纯水中浸湿, 擦拭 10 cm² 的区域;
- c) 将滤纸或棉签放入 1.5 mL 离心管中, 加 120 μL 超纯水, 漩涡振荡;
- d) 56℃ 孵育 1 h, 7000 r/min 离心 30 s, 4℃ 保存至使用。

A.2.3 擦拭检测 PCR 步骤

- a) 将擦拭检测 PCR 反应液加入 PCR 管中, 同样将擦拭检测 PCR 反应液加入到在工作区开盖至少一天的 PCR 管中 (作为空气中气溶胶污染的检测, 即开管阴性对照);
- b) 扩增反应包括阳性对照、阴性对照 (无 DNA)、擦拭区待检样本、擦拭区掺入样本的阳性对照、开管阴性对照;
- c) 用实验室标准扩增程序扩增擦拭样本和对照;
- d) PCR 产物用琼脂糖凝胶电泳进行检测并记录结果;
- e) 填写实验室污染检测结果记录表, 见表 1。

表 1 实验室污染检测结果记录表

擦拭区域	擦拭区待检样本的 PCR 结果	擦拭区掺入样本的 PCR 结果
DNA 纯化区		
PCR 试剂配制区		
试剂准备区		
洁净区地面		
PCR 仪		
通风橱/凝胶准备区		
扩增后区实验台		
根据需要增加其他擦拭区		
本次检测的阳性对照是否合格:		
本次检测的开管阴性对照是否合格:		
本次检测是否认为擦拭区无污染:		

A.3 污染区处理

应首先用1 mol/L HCl或者10%漂白剂清洗污染区，然后用洁净水彻底清洗干净。在继续进行常规检测前，应重复进行擦拭检测且结果为阴性（除了扩增后区域），污染区处理后的检测结果应记录在案（见表2）。

表2 污染区处理后的检测结果记录表

污染区	清理日期	重检结果

A.4 结果判断

- a) 在阳性对照管中应有 PCR 产物出现，阴性对照管中应无 PCR 产物出现；
- b) 每个擦拭检测区域设置的“掺入样本对照”均应出现 PCR 产物，若该管无 PCR 产物则提示 PCR 反应可能被样本中的某些物质所抑制，对应的“非掺入样本管”的结果无效；
- c) 若“非掺入样本管”中有 PCR 产物出现，说明存在基因组 DNA 或 PCR 产物的污染，应立即启动去污染措施，并重复进行擦拭检测以确认污染去除成功；
- d) 每次检测均应包括阳性对照，阳性对照可以是基因组 DNA 或稀释的 PCR 产物，用以检测引物是否有效；
- e) 每次检测均应包括阴性对照和/或开管阴性对照。阴性对照内不含已知来源的 DNA，用以检测试剂污染和/或气溶胶污染（开管阴性对照）。

参 考 文 献

- [1] CLSI. Molecular Methods for Clinical Genetics and Oncology Testing; Approved Guideline. Third Edition. Wayne, PA: Clinical and laboratory standards institute, 2012
- [2] Richards, C., Bale, S., Bellissimo, D. et al. ACMG recommendations for standards for interpretation and reporting of sequence variations: Revisions 2007. Genet Med, 2008, 10: 294 - 300
- [3] ASHI. Standards for Accredited Laboratories, Approved by CMS. American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 2019
- [4] 《检测和校准实验室能力的通用要求》ISO/IEC 17025: 2017
- [5] 《医学实验室质量和能力认可准则》ISO 15189: 2012, IDT
- [6] 《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）
- [7] 《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》（中华人民共和国国务院令〔2019〕第717号）