

临床基因扩增实验室的质量控制

毛 源,王 晶,汪 钦(南京市金域医学检验所有限公司 210042)

【关键词】 基因扩增实验室; 聚合酶链式反应; 质量控制

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.23.074 文献标志码:C 文章编号:1672-9455(2012)23-3031-02

本中心临床聚合酶链式反应(PCR)实验室是通过了 ISO15189 的实验室,而且一直在临床检测工作中差错率也非常低,作者依据 ISO15189 质量管理体系和 PCR 实验室特殊的《医疗机构临床扩增实验室管理办法》的要求,结合自己的工作进行总结,探讨如何做好临床 PCR 实验室的质量控制。

1 分析前质量控制

1.1 患者准备 对于需要抽血检测病毒基因的患者应叮嘱患者空腹采血,防止患者高脂肪饮食导致的脂血对 PCR 反应的抑制作用;对于采集阴道或宫颈分泌物的患者需要避开生理月经期,防止红细胞中的血红蛋白对 PCR 反应的抑制^[1]。

1.2 标本采集 检测病毒或病原微生物的基因必须采集合适的标本种类。乙型肝炎病毒基因(HBV-DNA)、丙型肝炎病毒基因(HCV-RNA)等嗜肝性病毒检测应当采集血清标本,而沙眼衣原体基因、解脲支原体基因、淋球菌基因、人乳头状病毒基因等性传播疾病的病原微生物检测应当采集生殖器的分泌物或精液标本。因为肝素是耐热 DNA 聚合酶很强的抑制剂及血红蛋白中的铁干扰 DNA 的合成^[1]。所以在血标本采集时,需要选择正确的试管,不能用肝素抗凝管采集标本,同时还需要避免标本运输过程中溶血。由于本公司的客户分布于全省各地,公司通过发放《项目总汇》和《标本采集手册》来帮助客户按照统一的要求协助公司做好分析前的质量控制。

1.3 标本接受 实验室制定出《PCR 实验室标本拒收程序》,规定不同项目标本的拒收要求。

2 分析中的质量控制

2.1 技术人员 PCR 实验室的技术人员均接受过临床检验中心组织的 PCR 上岗证培训,但仍然需要定期加强培训,同时根据平时工作中发现的问题及时汇总、总结和培训。

2.2 仪器设备 PCR 实验室除了扩增仪之外,高速离心机、加热模块、加样枪、生物安全柜这些都属于主要检测设备。对于主要检测设备除了需要每年校准之外,还需要按照仪器的要求进行周维护、月维护、半年维护,以保证仪器处于稳定且性能最佳状态。

2.3 方法学验证 所有拟开展项目在用于临床检测之前均需要进行方法学验证。对于临床 PCR 实验室基因项目的方法学验证分为定性和定量两种。PCR 定性项目需要对准确度、阴阳符合性进行验证,定量项目需要验证准确度、日内日间精密度,分析灵敏度和临床报告范围。

2.4 试剂耗材 对所有试剂均进行试剂批号验证。对不同批号的试剂用临床标本进行试剂批号验证,对于相同批号不同到货日期的试剂,用质控品来进行试剂批号验证。对于定性项目的试剂,选择阴性和弱阳性的标本进行试剂批号验证;对于定量项目的试剂选择阴性及低值和高值的样本进行试剂批号验证。因为 PCR 方法项目的特殊性,对一些关键耗材如离心管、带滤芯的枪头也都需要进行批号验证。

2.5 环境监控 除了保证基因扩增实验室规定的空气流向外,对于项目操作及仪器要求的环境温湿度也需要严格关注,

空调有可以调节温度和抽湿的作用,在冬天的时候还需要加湿器增加空气的湿度。

2.6 质控品 有些项目可以购买到商业质控品,而有些项目无法购买到商业质控品,对于这些无法购买到商业质控品的项目,可以根据该项目的标本量情况选择自己配置或者直接拿已知阳性和阴性的样本来充当质控品。用新鲜混合血清制作 HBV-DNA 质控品就是不错的方法^[2]。

2.7 污染的监测 PCR 实验室的室内质控包含了两部分内容,一是监测是否有污染发生,二是该项目误差的识别。污染的监测是 PCR 实验室特有的、也是最重要的工作,它是 PCR 实验室结果准确的前提。可以通过实验过程中的空管、试剂空白(NTC)、阴性对照来进行监测。对于标本量较多、怀疑可能有污染的情况,可以增加阴性对照的数量并随机分散加入样本中间来监测污染。对于一些标本量及标本来源稳定的项目,还应当统计其阳性率,通过对其阳性率的监测来防止 PCR 项目特有的假阳性的发生^[3]。

2.8 误差的识别 误差的识别是通过室内质控品来完成的。误差的识别也可以说是质控规则的选择。质控规则原则上是根据不同实验室不同项目的具体情况而设置的。对于 PCR 定量项目的质控规则可以是利用核酸定量结果的对数值画出的 Levey-Jennings 质控图结合本实验室合适的质控规则(单规则或多规则)来判断是否失控,也可以用即刻法或改良即刻法为质控规则^[4],还可以考虑用隔天患者样本的差值进行室内质控^[5]。对于定性项目可以采用留样复查的方法来进行误差的监控。以及 Realtime 实时质控结合 Westgard 多规则方法^[6]。

2.9 准确度监测 实验室准确度的监测可以通过参加卫生部临床检验中心和省临床检验中心的室间质评来进行,还可以通过购买厂家提供的定值标准物质来实现。对于没有室间质评和买不到定值标准物质的项目可以置备一些盲样,自己检测的同时送 2~3 家当地开展此项目水平较好的三级甲等医院检测,根据结果来进行分析判断。

3 分析后的质量控制

3.1 报告单的发放 报告单的发放实行三级审核制度来完成,以确保结果录入错误、患者信息错误或不完整等低级差错的发生控制在极低的水平。

3.2 标本的保存 对于临床 PCR 实验室中的毒血清标本,为了预防结果的争议或患者及客户的异议,血清标本都冷冻保存半年备查。

3.3 客户咨询及抱怨的处理 设置了专门的岗位处理客户对检测项目、检测结果以及其他需要沟通和咨询的问题。因为不与临床进行良好的沟通,就不可避免的会发生检验科与临床、临床与患者的矛盾和纠纷^[7]。同时实验室之外的部门进行客户抱怨的调查和处理,以确保其公正客观,同时如果发生了客户的抱怨,根据其问题的性质要求处理和解决的时间不同,所有的问题必须有纠正及预防措施,以确保质量的持续改进。

准确的检测结果来源于实验室完善的质量控制,实验室完

善的质量控制应当包含分析前、分析中和分析后的各个关键环节。只有把握好每个环节才有可能获得准确的检测结果。因为临床 PCR 实验室的特殊性,所以除了关注到实验室质量控制的通用要求之外,还要重点关注临床 PCR 实验室的特殊要求这些特殊的要求和内容其实也分布各个细小的环节中,只要认真关注这些内容并选择适合自己实验室的方式来落实这些内容,临床 PCR 实验室的质量将得到很好的控制。

参考文献

[1] 李金明. 实时荧光 PCR 技术[M]. 北京:人民军医出版社,2007:70-72.
[2] 梁瑞莲,周远青,刘锦洪,等. 新鲜混合血清用于乙型肝炎病毒 DNA 检测室内质量控制的效果评价[J]. 检验医学与临床杂志,2008,5(23):1411-1412.
[3] 李金明,林尊慧,王露楠,等. 基于日常检测结果的核酸扩

增检测假阳性统计室内质量控制方法[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(3):275-277.
[4] 骆展鹏,邹晓萍,黎美君,等. “即刻法”室内质量控制方法的改进[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(11):1134-1135.
[5] 彭玉林,田露,万本愿,等. 用隔天患者标本差值进行血液分析室内质量控制的价值[J]. 实验与检验医学,2011,29(2):160-161.
[6] 何敏,徐建华,黄宪章,等. Realtime 实时质控结合 westgard 多规则理论[J]. 中国医疗设备,2012,27(1):64-67.
[7] 于德军,李玉梅,汪峻岭. “沟通”是尿液检验分析前、分析后质量控制的关键[J]. 中国实用医药杂志,2009,4(2):260.

(收稿日期:2012-05-04)

血站实验室酶联免疫吸附试验全自动检测的全面质量控制

王志宏¹,王宝儒²,高小文³(1. 陕西省汉中市中心血站检验科 723000;2. 陕西省汉中市精神病医院住院部 723003;3. 陕西省汉中市中心医院检验科 723000)

【关键词】 血液检测; 质量控制; 血液安全; 酶联免疫吸附试验
DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 23. 075 文献标志码:C 文章编号:1672-9455(2012)23-3032-02

血站实验室承担着按照国家规定,检测无偿献血的血液项目的检测工作,肩负着尽最大可能减少输血传播疾病的可能和异常抗原抗体对输血工作干扰的重担^[1]。根据卫生部《血站质量管理规范》和《血站实验室质量管理规范》的要求,结合本血站质量管理体系的具体规定,现就本血站实验室在艾滋病、丙型肝炎、乙型肝炎、梅毒全自动酶联免疫吸附试验(ELISA)血液检测全面质量控制当中提出一些看法和体会,供同行参考。

1 ELISA 的全面质量控制

1.1 检测前的准备 检测前的准备工作无疑与检测结果的预期呈正相关,它包括方法和试剂的选择、人员的要求、实验环境 and 设备的要求等方面^[2]。

1.1.1 人员配置和培训 在实验的整个过程中人为因素无疑是决定性因素。首先依据法律法规人员必须持证上岗,严禁无证人员参与检验,并依据人员的职称和工作能力,构建合理的人才队伍,分级管理,职责明确,下一级在上级的指导和监督下工作。同时操作人员不仅要具有娴熟的操作技术和准确的判断能力,还要有踏实认真的工作作风。本实验室在实际培训工作中除完成站科两级 1 年 75 学时的业务培训外,更加注重法律法规的学习培训,使大家在工作中注重细节,在工作中保持严谨的工作作风,在每个人的脑海中紧绷血液安全这根弦,另外团结协作的氛围贯穿在工作的始终。

1.1.2 设备 本实验室目前对 4 项传染病的检测使用帝肯(TECAN)的 EVO 前加样和奥斯邦(AUSBIO)的后处理酶免分析系统(FAME)。全自动处理系统减少了人为差错,保证了实验检测过程的可追溯性,提高了结果的准确性以及一致性。在新设备投入使用前要进行设备的确认,设备在出现故障修复后的再次使用前也要进行确认。本实验室设备确认主要包括两方面内容,一是设备的运行参数是否与说明书提供的参数一致;二是进行实验对照,把相同的一组样本按照完整的实

验流程分别用待确认设备、正常使用设备或手工方法进行实验,通过实验结果进行比对。

1.1.3 试剂的准备 目前血站 ELISA 试剂的来源都是国家药监局批准的试剂,其他试剂的使用也是有正规批准文号的厂家的试剂。在日常使用中除按要求保证室温平衡时间和使用前的外包装检查外,对试剂拆分后再次使用(包括微孔条)规定不得超出 1 个月(试剂说明书有要求的除外),另外对仪器盛装试剂的试剂槽每周更换 1 次,对原有剩余的试剂弃去,并彻底清洗试剂槽。确保不因试剂的变质、污染影响实验结果。

1.1.4 实验室环境 实验室环境除满足实验要求的面积、照明及相关规范的要求外,ELISA 对温度的要求比较高,除保证实验室温度外,还要保证一定的湿度,因为实验室的湿度是实验精密度的重要影响因素。本实验室通过中央空调、加热器、加湿器保证实验室的温度在 18~28℃,湿度在 20%~70%。

1.1.5 标本的准备和处理 以无菌真空管采集标本后按要求低温保存运输,并且无溶血、无乳糜、外观无破损。标本一般在采集后 24 h 内检测完成,最长不超过 5 d,否则应及时分离血清(血浆)和红细胞于 4~8℃ 保存,1 周内完成检测。

1.2 检测中的质量控制 检测过程其实就是样本分样和实验的过程。在分样阶段目视很关键,以确保分样的正确和避免漏分样现象的发生,保证内部质控品和外部质控品以及样本的加样量和加样位置的准确性^[3]。应定期对分样的量进行监测并保证分样器三通阀和针口螺丝紧固。微孔板在加样完成目视无异样后才能进入后处理环节,后处理设备在计划模拟后首先应检查试剂及洗液是否被仪器识别,进板后设备试验的微孔位置是否和期望一致。后处理过程应随时观察洗板和试剂的分样是否正常,一旦出现异常情况时应及时补救或手工完成。如果有外部的室间质控一般放在样本的后面随样本一起实验。

1.3 检测结果的处理 对于实验过程无异常的实验结果,首先需要对照品的结果进行分析,空白孔无显色,阴性和阳性