

现场技术审核对 PCR 实验室质量管理的影响分析

郭 华^a, 孙晶晶^b, 王晋平^c

(陕西省人民医院 a. 检验科; b. 临床检验中心; c. 耳鼻喉科, 西安 710068)

摘要: **目的** 总结临床 PCR 实验室参加室间质量评价活动的 PT 结果, 探讨现场审核与否对室间质评结果的影响, 进而分析实验室现场审核对其质量管理的影响。 **方法** 统计分析 2008~2019 年陕西省临床检验中心 PCR(HBV-DNA, HCV-RNA) 参评实验室室间质评活动结果。 **结果** ① 2008~2019 年累计参评 HBV-DNA 的实验室次数为 617 次, 其中通过现场审核的实验室累计数 450 次, 合格单位累计数 437 次, 平均能力比对 96.4%, 合格率 97.1%; 未通过现场审核的实验室累计数 167 次, 合格单位累计数 149 次, 平均能力比对 88.3%, 合格率 89.2%; ② 2008~2019 年累计参评 HCV-RNA 的实验室数为 526 次, 其中通过现场审核的实验室累计数 425 次, 合格单位累计数 414 次, 平均能力比对 96.6%, 合格率 97.4%; 未通过现场审核的实验室累计数 101 次, 合格单位累计数 96 次, 平均能力比对 92.9%, 合格率 95.0%; ③ HBV-DNA 2008~2019 年累计合格率经 χ^2 检验, 二者比较差异有统计学意义 ($\chi^2=15.888, P < 0.001$)。 **结论** 通过现场审核的 PCR 实验室能严格进行规范操作, 有助于做好室间质评工作, 有效提高临床检测的水平和质量。

关键词: 聚合酶链式反应; 质量管理; 室间质评

中图分类号: R446 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2020) 05-164-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2020.05.042

Analysis of the Influence of Field Technical Audit on PCR Laboratory Quality Management

GUO Hua^a, SUN Jing-jing^b, WANG Jin-ping^c

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Clinical Laboratory Centers; c. Department of Otolaryngology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: Objective To analyze the PT results of clinical PCR laboratory participating in the inter room quality evaluation activities, explore the influence of the on-site audit of PCR laboratory on the results of the inter room quality evaluation, and then to analyze the influence of the on-site audit of the laboratory on its quality management. **Methods** Statistical analysis of the results of EIA activities in the evaluation laboratories of HBV-DNA and HCV-RNA in Shaanxi Clinical Laboratory Center from 2008 to 2019 were carried out. **Results** ① In 2008~2019, the total number of laboratories participating in the evaluation of HBV-DNA was 617, including 450 laboratories passing the on-site audit, 437 qualified units, with an average of PT 96.4%, and a qualified rate of 97.1%. 167 laboratories failing to pass the on-site audit, 149 qualified units, with an average of PT 88.3%, and a qualified rate of 89.2%. ② In 2008~2019, there were 526 laboratories participating in the evaluation of HCV-RNA, including 425 laboratories passing the on-site audit, 414 qualified laboratories, with an average of PT 96.6% and a qualified rate of 97.4%. 101 laboratories failing to pass the on-site audit, with an average of PT 92.9% and a qualified rate of 95.0%. ③ The cumulative eligibility rate of HBV-DNA in 2008~2019 was 15.888 and $P < 0.001$ by χ^2 test. There was statistical significance between them. **Conclusion** The PCR laboratory that has passed the on-site audit can strictly carry out the standardized operation, which is helpful to do a good job in the work of inter laboratory quality assessment and effectively improve the level and quality of clinical testing.

Keywords: PCR; quality management; EQA

聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 是一种用于放大扩增特定的 DNA 片段的分子生物学技术, PCR 实验室又叫基因扩增实验室。自 Mullis 1983 年发明这种扩增技术以来, 派生出多种使用目的的核酸扩增检验技术^[1-2]。目前基因检测精准医疗在临床治疗上也得到广泛应用, 现已有肿

瘤、心脑血管疾病、精神疾病、新生儿及产前诊断等通过基因测序、分子影像等进行精准检测、精准解读和精准干预。由于 DNA 检测技术要求严格, 方法敏感容易受到诸多因素的干扰, 而产生假阴性或假阳性结果。卫生部 (现国家卫生健康委员会) 在 2002 年及 2010 年分别出台了《临床基因扩增实

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目 (2018JM7145)。

作者简介: 郭华 (1977-), 女, 主管技师, 主要从事临床检验工作, E-mail: guohua1123@163.com。

通讯作者: 孙晶晶 (1984-), 女, 主管技师, 主要从事临床检验室间质评工作, E-mail: dnafail@163.com。

实验室管理暂行办法》卫医发[2002]10号文和《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号文件,以下简称《管理办法》。目的是为规范医疗机构临床基因扩增检验实验室管理,保障临床基因扩增检验质量和实验室生物安全,保证临床诊断和治疗的科学性、合理性。本文通过调查2008~2019年陕西省临床检验中心乙肝病毒脱氧核糖核酸(乙肝病毒基因,HBV-DNA)检测和丙型肝炎病毒核糖核酸(丙肝病毒基因,HCV-RNA)检测,参评实验室室间质评活动网络上报结果,分析并讨论《管理办法》中现场技术审核对PCR实验室医疗质量管理的影响,进而得出临床基因扩增实验室技术审核有其存在的必要性和重要性,其有助于对实验室质量管理的监管及实验室检测质量的保证。

1 材料与方法

1.1 调查对象 2008~2019年参加陕西省临床检验中心核酸检测病毒学(PCR)室间质量评价(external quality assessment, EQA)的所有参评实验室。2008~2019年累计参评的实验室有92家,连续12年的累计参评实验室次数为HBV-DNA 617次, HCV-RNA 526次。

1.2 调查方法 按照省临检中心各年度室间质评计划,在规定时间内向各参评实验室发放(冷链运输)同批号室间质评物(达安基因提供),参评实验室在规定时间内进行检测并登录“检验医学信息网”(http://www.clinet.com.cn/),在线填报检测结果,数据要求真实可靠。室间质评采用能力比对检验(proficiency testing, PT)进行评价。本文中平均

表1 2008~2019年现场审核与未审核参评实验室累计结果统计及 χ^2 检验

项目名称	组别	合格(次)	不合格(次)	总计(次)	平均PT(%)	合格率(%)	χ^2	P
HBV-DNA	现场审核	437	13	450	96.4	97.1	15.888	<0.001
	未审核	149	18	167	88.3	89.2		
HCV-RNA	现场审核	414	11	425	96.6	97.4	0.847	0.357
	未审核	96	5	101	92.9	95.0		

3 讨论

PCR技术由于快速灵敏、准确度高的特点在疾病诊断等分子生物学领域得到了广泛应用,对确诊和评估治疗效果具有十分重要的意义^[3-4]。但在上世纪90年代中期,国家缺乏有效的管理政策,使用的试剂及设备审批制度不完善,实验环境不符合要求;无上岗培训证,实验操作不规范,报告结果混乱,假阳性结果成灾^[5-7]。因此卫生部(现国家卫健委)在2002年出台了《临床基因扩增检验实验室管理暂行办法》(卫医发[2002]10号)文;又在2010年12月10日发布了《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

PT(%):所有参评实验室PT成绩总和/参评实验室数 $\times 100\%$ 。PT合格率(%):PT成绩合格实验室数/总实验室数 $\times 100\%$ 。

1.3 评价标准

1.3.1 室间质评PT得分:以检测结果在可接受范围内(靶值 ± 0.5),则认为该项目质评结果为可接受,PT得分为100%;否则,PT得分为0。

1.3.2 质评成绩计算:对每一次室间质评,每个项目组单一项目的PT成绩计算公式为:(该项目的可接受结果数/该项目总的测定样本数) $\times 100\%$;对评价的每个项目组,PT成绩计算公式为:(该项目组全部项目可接受结果总数/该项目组全部项目总的测定样本数) $\times 100\%$;参评单位全年PT总得分分为两次PT成绩的平均值。

1.3.3 合格标准:以PT成绩 $\geq 80\%$ 为合格,统计出合格单位数。本文中平均PT和合格率为2008~2019年参评实验室质评结果的累计计算结果。

1.4 统计学分析 采用Excel 2007表格,统计参评实验室累计平均PT和合格率;利用SPSS19.0统计软件对所得合格率进行 χ^2 检验。

2 结果

2008~2019年累计参评的室间质评结果,不论是HBV-DNA还是HCV-RNA,通过现场技术审核的参评实验室平均PT和合格率均比未进行现场技术审核参评实验室要高,同时,结果显示HBV-DNA和HCV-RNA两者的现场技术审核对于PCR实验室质量管理的监管和提升都具有一定的必要性。尤其是HBV-DNA二者比较差异有统计学意义($\chi^2=15.888, P < 0.001$)。见表1。

号)文,该文件对[2002]10号进行了修订。以上《管理办法》中明确要求:省级临床检验中心或省级卫生行政部门指定机构应当制订医疗机构临床基因扩增检验实验室技术审核办法,组建各相关专业专家库,按照《医疗经济型基因扩增机构临床基因扩增检验工作导则》对医疗机构进行技术审核(技术验收);医疗机构通过省级临床检验中心或省级卫生行政部门指定机构组织的技术审核的,凭技术审核报告至省级卫生行政部门进行相应诊疗科目下的检验项目登记备案,方可开展工作。现场技术审核从:①实验室设置和设备;②设施和环境;③人员;④设备管理;⑤检测方法;⑥标本管理;⑦记录;

⑧报告; ⑨质量控制; ⑩抱怨等 10 项 38 条内容, 由评审专家现场进行全面的现场审核并给出审核结果, 指出存在问题, 提出整改要求。由此可见, 通过审核的实验室从布局、设备、环境、人员、文件记录以及管理等方面都有严格的考核和监管, 实验室检测质量更有保障, 检测结果更有利于服务临床。

而执行新的管理办法或只进行报备的实验室则可能存在: 实验室区域划分和设置不合理; 实验室设施设备和环境不符合要求, 管理不到位; 人员技术要求不严格, 培训不到位, 操作不规范, 质量意识薄弱, 质量管理不到位等问题。总之, 若不进行现场技术审核, 首先, 导致行政管理的质量监管职能弱化; 其次, 实验室质量保证意识淡化, 自觉性差; 最终, 技术审核的 10 项 38 条内容的落实和监管可能不到位, 容易被忽略, 这是造成实验室间质量评价结果不佳的主要因素^[8]。此外, 由于 PCR 实验室的样本来源多种多样, 尤其是感染性病原体类样本的检测, 这就面临着临床实验室的生物安全挑战和检验技术人员的感染风险。而 PCR 实验室审核中的实验室分区管理、生物安全管理、标本采集和实验室检测、标本包装运输和个人防护等重要内容能有效保护实验室工作人员, 避免病原微生物的扩散, 可以预防实验操作过程中可能的交叉污染, 保证检验结果的准确性, 进一步提升临床检验的技术水平和能力。所以 PCR 实验室必须建立严格的实验室管理制度、标准化操作程序 (SOP) 和系列质量管理文件等, 确保实验室日常运行符合国家卫生部的要求, 确保检测结果准确、确保实验室生物安全和长期稳定运行, 同时应切实做好室内质控和室间质量评价^[9]。

2020 年新冠疫情暴发后, 国家提出了一系列的核酸检测实验室管理及操作的相关要求和指南, 涉及实验室生物安全管理、标本采集和实验室检测、标本包装运输和个人防护等重要内容, 其中对实验室的生物安全管理、个人防护、实验室分区、实验室空气流向、核酸提取、废弃物处理等均提出了更高的要求^[10]。这进一步说明专家对 PCR 实验室的现场技术审核不可或缺, 国家或省级卫生行政部门对 PCR 实验室的质量和生物安全监管的重要性日益加强^[11]。

陕西省临床检验中心目前开展 PCR 室间质量评价工作已有 12 年之久, 每年开展 2 次。参评实验室数逐年增加, 参加实验室对质量控制与质量管理重要性的意识也逐渐增强。此次调查结果显示: HBV-DNA, HCV-RNA 项目中通过现场审核的累计实验室的平均 PT 和合格率均较未审核累计实验室的平均 PT 和合格率高, 且 HBV-DNA 累计实验室

数据经 χ^2 检验, 二者比较差异具有统计学意义。虽然 2008~2019 年参评实验室的累计平均 PT 以及合格率均较好, 但是未现场审核参评实验室的累计平均 PT 以及合格率均较现场审核后的参评实验室要低。从以上结果我们可以看出现场技术审核相较于不审核对于保证实验室检测质量, 更好地服务于临床的优越性。

综上, 我们认为临床基因扩增实验室技术审核有其存在的必要性和重要性, 它为卫生行政部门对临床基因扩增实验室检测质量的监管提供了重要的渠道和依据。我省 2015 年实行备案制后, 取消了现场技术审核这一重要技术监管环节, 建议有关部门恢复现场技术审核, 以加强对临床基因扩增实验室检测质量的监管职能, 保证临床基因扩增实验室检测质量。

参考文献:

- [1] MATSUDA K. PCR-based detection methods for single-nucleotide polymorphism or mutation: real-time PCR and its substantial contribution toward technological refinement [J]. *Adv Clin Chem*, 2017, 80:45-72.
- [2] MALDONADO-BERNAL C, RAMOS-GARIBAY A, RIOS-SARABIA N, et al. Nested polymerase chain reaction and cutaneous tuberculosis [J]. *Am J Dermatopathol*, 2019, 41(6):428-435.
- [3] ROMSOS E L, VALLONE P M. Rapid PCR of STR markers: Applications to human identification [J]. *Forensic Sci Int Genet*, 2015, 18:90-99.
- [4] YUAN Xiaoyuan, MENG Kai, ZHANG Yuxia, et al. Establishment and application of rapid diagnosis for reverse transcription-quantitative PCR of Newly emerging goose-origin nephrotic astrovirus in China [J]. *mSphere*, 2018, 3(6):e00380-18.
- [5] 张健, 胡冬梅, 李军燕, 等. 从医学实验室认可的不符合项探析当前医学实验室的质量管理现状 [J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(6): 421-423.
ZHANG Jian, HU Dongmei, LI Junyan, et al. Analysis of nonconformities in medical laboratory accreditation and status quo of clinical laboratory quality management [J]. *Chin J Lab Med*, 2015, 38(6): 421-423.
- [6] 张璐, 王琳琳, 翟运开, 等. 精准医学实验室标准化建设和质量管理 [J]. *中国卫生资源*, 2020, 23(1): 14-18, 48.
ZHANG Lu, WANG Linlin, ZHAI Yunkai, et al. Standardization and quality management of precision medicine laboratory [J]. *Chin Heal Res*, 2020, 23(1): 14-18, 48.
- [7] 王海银, 张晓溪, 房良, 等. 我国卫生技术评估流程规范研究 [J]. *中国卫生质量管理*, 2016, 23(6): 60-63.
WANG Haiyin, ZHANG Xiaoxi, FANG Liang, et al. Health technology assessment process and normative research in China [J]. *Chinese Health Quality Management*, 2016, 23(6): 60-63.
- [8] 屈颖, 唐素芳. 实验室外部审核不符合项的分析与改进 [J]. *天津药学*, 2017, 29(4):76-78.

- QU Ying, TANG Sufang. Analysis and improvement of non conformance items in laboratory external audit [J]. Tianjin Pharm, 2017, 29(4):76-78.
- [9] 中国合格评审国家认可委员会. 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 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2012. China National Accreditation Service for Conformity Assessment. CNAS-CL36: Guidance on the application of accreditation criteria for the medical laboratory quality and competence in the field of molecular diagnostics[S]. Beijing: China Standar Press, 2012.
- [10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒实验室生物安全指南(第二版)[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2020,27(3): 4-5.
- National Health Commission of the People's Republic of China. Laboratory Biosafety Guidelines of Novel Coronavirus(Second Edition) [J]. Chinese Practical Journal of Rural Doctor, 2020, 27(3): 4-5.
- [11] 上海市临床检验中心. 上海市临床检验中心组织开展新型冠状病毒核酸检测测量审核活动 [J]. 检验医学, 2020, 35(3): 223. Shanghai Center Clinical Laboratory. Novel coronavirus nucleic acid detection and measurement audit activity was carried out in Shanghai center for clinical laboratory[J]. Lab Med, 2020, 35(3): 223.
- 收稿日期: 2020-07-01
修回日期: 2020-08-01

(上接第133页)

- ZHANG Shuqiong, WANG Fan. Evaluation of measurement range of olympus AU5400 for detection of serum anti *Streptolysin O* [J]. Laboratory Medicine and Clinical, 2014, 11 (7): 929,931
- [4] 高明, 杨晓英, 毛晓莉. 抗 β_2 糖蛋白 I 抗体、糖膜蛋白 GP I b 及抗链球菌溶血素 O 检测在类风湿关节炎急性阶段的诊断价值 [J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(5):575-578. GAO Ming, YANG Xiaoying, MAO Xiaoli. Diagnostic value of anti- β_2 glycoprotein I antibody, membrane glycoprotein GP I b and anti-streptolysin O in acute stage of rheumatoid arthritis [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2019, 40 (5) : 575-578.
- [5] 孙立芳, 赵静. 浅谈免疫比浊法技术优势 [J]. 中国民康医学, 2012, 24 (23) : 2870-2872. SUN Lifang, ZHAO Jing. Shallowly discusses immunity turbidimetric method technology superiority[J]. Medical Journal of Chinese People's Health, 2012, 24 (23): 2870-2872.
- [6] 冯景, 周有利. 免疫透射比浊法测定抗链球菌溶血素 O 和类风湿因子 [J]. 陕西医学检验, 2001, 16 (2) : 19-20. FENG Jing, ZHAO Youli. The method of determining anti streptolysin-O and rheumatoid factor with immunity transmission turbidity[J]. Shaanxi Medical Laboratory, 2001, 16 (2): 19-20
- [7] 彭凤, 应春妹, 徐晓萍, 等. 免疫透射比浊法与免疫散射比浊法检测特定蛋白的比较研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26 (1) : 45-47. PENG Feng, YING Chunmei, XU Xiaoping, et al. Study on analysing serum specific proteins by immunoturbidimetric assays and immunonephelometric assays[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2011, 26 (1) : 45-47.
- [8] 汤卫菊. 抗链球菌溶血素“O”试验定量与定性结果比较 [J]. 检验医学与临床, 2009, 6 (16) : 1376-1377. TANG Weiju. Comparison of quantitative and qualitative results of anti-streptococcal hemolysin “O” test [J]. Laboratory Medicine and Clinical, 2009, 6 (16): 1376-1377.
- [9] 张会品, 张建春, 郭兰芳. 风湿热患者血清 ASO 滴度与 HDL 水平的相关性分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33 (5) : 145-148. ZHANG Huipin, ZHANG Jianchun, GUO Lanfang. Clinical evaluation of high density lipoprotein in rheumatic fever[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2015, 33 (5) : 145-148.
- [10] 肖群峰, 王飙, 赵和平, 等. 抗链球菌溶血素 O 和类风湿因子定量测定 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31 (9) : 1039-1040. XIAO Qunfeng, WANG Biao, ZHAO Heping, et al. Quantitative determination of anti streptolysin O and rheumatoid factor [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2010, 31 (9): 1039-1040.
- [11] 韩静, 胡梅, 杨桂花, 等. BN II 特种蛋白仪测定 IgG, IgA 和 IgM 性能评价 [J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(10): 1292-1294. HAN Jing, HU Mei, YANG Guihua, et al. Performance evaluation of the determination of IgG, IgA and IgM by BN II special protein analyzer [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2013, 34 (10): 1292-1294.
- [12] 杨娟娟. 美国贝克曼库尔特 IMMAGE 800 特种蛋白仪性能评价 [J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(10): 1402-1404. YANG Juanjuan. Performance evaluation of IMMAGE 800 special protein analyzer in Beckman Coulter [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2016, 37 (10): 1402-1404.
- [13] 赵超芬. 用三种免疫检验法检测乙型肝炎标志物在诊断乙型肝炎中的价值 [J]. 当代医学论丛, 2020, 18 (7) : 183-184. ZHAO Chaofen. The value of detecting hepatitis B markers by three immunoassays in the diagnosis of hepatitis B [J]. Journal of Contemporary Medicine, 2020, 18 (7): 183-184.
- [14] 赖玉玲, 黄丽芳, 雷兴. 时间分辨荧光免疫法检测梅毒螺旋体抗体的临床应用研究 [J]. 中国医药科学, 2019, 9 (7) : 111-115. LAI Yuling, HUANG Lifen, LEI Xing. Research on clinical application of time-resolved fluorescence immunoassay for detection of treponema pallidum antibody[J]. China Medicine and Pharmacy, 2019, 9 (7): 111-115.
- 收稿日期: 2020-04-27 修回日期: 2020-07-31