

# 分子遗传学检测实验室质量管理

费 阳, 王 薇, 王治国<sup>△</sup>

(北京医院卫生部临床检验中心, 北京 100730)

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.070

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2015)12-1789-03

分子遗传学检测可以探测出引起遗传性疾病(遗传学和遗传药理学),也包括在癌症和其他疾病中核酸的改变。这种检测可以用于疾病的诊断,带菌者筛查,症状前/易染病体质的检测,同时也可以用于直接治疗干涉(遗传药理学)。遗传学检测结果可能不仅对被检测的患者,而且对他/她的家人产生影响。在过去二十年里,医学遗传学领域发展十分迅速,这种发展不仅是在遗传学变异和人类相关疾病的理解上,而且还在遗传分析的科学技术上。因此,患者和医学专家们对临床遗传学检测的需要与日俱增。本文根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)文件 MM20-A<sup>[1]</sup>分子遗传学检测质量管理相关内容列出了分子遗传学检测实验室内质量控制和室内质量评价的相关内容,为分子基因实验室质量控制系统的实施和维持提供参考。

## 1 实验室内质量控制计划

在每个新试验实施前,必须有一个质量控制计划。此计划编写的程序应该描述试验全部的质量控制要素。质量控制计划的详细监管要求可能随地区不同而不同;因此,在建立室内质控计划时,每个实验室应该意识到并且遵守当地法规的要求。

### 1.1 质量控制计划要素

**1.1.1 质控品类型** 分子遗传学试验质控品或者质控材料类型可以依据他们的来源,序列和他们包含的变异,或者分析步骤或者他们控制的成分来设计。这些类型不是相互排斥的。依据来源:遗传学质控品和合成质控品;依据代表的序列/变异:阳性质控品、阴性质控品和无模板质控品;依据分析过程:提取质控品、扩增质控品、杂交质控品、内生质控品、外部 RNA 质控品、内部质控品和检查质控品。选择的质控品应该是同性质的从而使任何的质量控制结果的改变是由于试验系统,而不是质控品产生的。阳性质控品应该是一种与低于中等范围扩增一致的浓度。强阳性的使用是不必要的风险,因为它可能成为污染源。如果适当,应该周期性的执行接近检出限(LoD)的阳性质控品来确认 LoD。阴性提取质控品监测在提取、扩增或者检测步骤中污染的出现。阴性扩增质控品检测扩增或者检测步骤中的污染。内部质控在缺少表明阴性患者结果的扩增产物时使用。它们控制扩增过程的抑制剂。为了使根据疾病流行性和变异频率来表示目标人群的基因型成为可能,试验中包含的质控材料应该尽可能的广泛。对于一个已知突变的序列分析来说,进行对例如检测从前已经在实验室检测出的疾病变异患者的家庭成员的检测,应该使用患者样品作为检测的一个阳性质控品。

**1.1.2 质控品频率和位置** 实验室应该有控制程序来监视整个分析过程的每个试验系统的正确度和精密性。质控频率应该充足以便识别可能指示系统误差的转变或者趋势。通常,阳性和阴性质控品应该在每次检测患者样品时进行检测,同时要

检测无模板质控品。在分析的提取,扩增和检查阶段中都应该采用质控品。对于定量分析,应该使用包含分析测量范围的每日质控品来保证持续准确的定量。质控程序应该在设备维护、新操作者使用和使用新批号试剂之后运行。可以使用风险评估工具例如失效模式和效果分析(FMEA),详见 CLSI 文件 EP23<sup>[2]</sup>。

**1.1.3 质量控制结果的分析和记录** 质量控制计划应该描述怎样记录和分析质量控制结果(例如,图表识别计划,趋势,与同类实验室比较的质量控制结果,统计学应用例如在需要时使用标准差和变异系数,传统工具例如 Westgard 规则)。定量检测结果时,实验室要记录和分析特定数值结果。

**1.1.4 通过/失败标准** 在分析性能证实和持续的数据检查中应该建立根据质控结果决定可否接受一批运行标本的特定标准。通过/失败指南应该写入检测程序。

**1.1.5 预防性措施** 在需要调查或者预防性行动时,应该适当的描述采取措施的象征。例如,一个低于特定水平的低水平荧光信号可能表明应该及时替换靶探针以防失败发生。

**1.1.6 当质控材料不可以得到时可替代的质控程序** 理想情况下,实验室应该使用质控材料来监视整个分析过程,但这种材料不是总是实用或者可得到的。可替代质控程序取决于分析类型和所需要的质控材料。例如,对于多目标变异分析,一旦使用新批号试剂,应该包含每个变异的质控检测,特别是在由于批量大小限制不能够运行全部的阳性质控品的时候。常规测试的每个轮回应该包括尽量多的阳性质控品而且全部的阳性质控品应该在一个尽可能高的频率基础上执行。

**1.1.7 额外的控制程序** 额外的控制程序包括:监视环境条件;患者数据趋势;校准,维护和监视设备性能;保持单向工作流程。

## 1.2 分子遗传学检测质量控制面临挑战

**1.2.1 基于扩增的分析** 此类分析可能的挑战为等位基因丢失(与其他等位基因相比,扩增某个等位基因受限)和没有参考方法。可通过在引物设计中执行预防措施、大量等位基因分析确认、每个基因型或者不同方法系统的分析使用不同的引物、查阅文件和资料库(例如,dbSNP)寻找可能干扰引物结合的 SNPs 来进行质量控制。

**1.2.2 测序** 此类分析可能的挑战为分析方法质量不清楚(全面的 VS 特定位置的)和没有参考方法。可通过执行已知结果样品的分析、使用多重引物测序、通过其他测序方法确认、利用具有与患者标本相似的核酸物质的人造杂合 DNA 的序列同类池,例如,高鸟嘌呤-胞嘧啶物质,长链同聚物和将跟踪阅读用于 QC 样品聚合物池的长度和质量得分来进行质量控制。

**1.2.3 多重分析** 此类分析可能的挑战为理想情况下,很多待测的不同变异要在每个变异都是唯一检测位置时才能检出、

不同的位置可能对检测系统不同的组成部分敏感以及在多重平台中不均一分子执行的风险。可通过多位置监视、监视敏感位置(如果已知)、理想情况下,为多重控制板的每个反应运行质控品和使用不同序列的多重质控品来进行质量控制。

**1.2.4 定量分析** 例如 BCR-ABL1 基因重新管理和其他最小残余疾病的定量分析,此类分析技术上来说,更多的挑战在样品的表现(不同的反应物和产物比例,或者特定序列 PCR 选择)上。可通过使用多重指控材料来评估线性范围、使用已知值参考材料、使用对技术挑战不(那么)敏感的方法来进行质量控制。

**1.2.5 突变筛查** 此类分析的挑战与测序和多重分析相似,可通过与那些与测序和多重分析相似的方法进行质量控制。

**1.3 其他** 实验室应该了解如 PCR 扩增,全基因组扩增,或者准备质控材料的亚克隆之类的方法可能是一个实验室污染的潜在源头。这些实验室应该使用以下特定程序来监视、检查和防止交叉污染:(1)发生与准备用作患者检测过程质控材料的合成或扩增产物的工作流程应该分开。为了防止实验室污染,质控材料应该在与准备和储存患者样品和检测试剂的区域分开的地方加工和储存。(2)以充足的频率对恰当的质控材料进行常规检测以监视交叉污染。购买扩增材料作为质控材料,校准材料或者对照的实验室应该考虑这些实践。

## 2 保证患者检测质量

实验室应该有程序来评估和保证其检测程序和服务活动的质量,包括室内质评机制和其他的质量控制系统的必须组成成分。

**2.1 能力验证/室间质量评价** 能力验证(PT)/室间质量评价(EQA)是一个医学实验室评估活动的重要组成部分。参加这类计划或活动依据实验室项目的要求可能是自愿的或者是强制性的。他们允许对检测方法性能进行持续的监视和评估。CLSI 文件 GP27<sup>[3]</sup>详细的讨论了这些活动在实验室质量管理体系中的角色,但分子遗传学检测 PT/EQA 计划的使用信息在 CLSI 文件 MM01<sup>[4]</sup>,MM14<sup>[5]</sup>,和 MM19<sup>[6]</sup>中也有描述。参加 PT/EQA 或者一个其他的可替代系统同时也是 ISO15189<sup>[7]</sup>的要求。分子遗传学 PT/EQA 能够设计来检查整个检测过程,或者能限制于检测过程或者解释阶段。要从 PT/EQA 中得到更大的好处,可以检查检验全过程中的更多步骤(例如,检验前、检验中和检验后过程)。PT/EQA 样品应该与患者样品同样处理,应该使用与患者样品相同的分析设备和方法原理,同时还应该与患者样品检测相同的次数。解释和报告也是 PT/EQA 计划的一部分。全部执行患者标本检测的技术人员应该轮流检测 PT/EQA 样品。如果在呈递 PT/EQA 计划结果的截止日期之前参加计划的实验室之间有交流或者实验室 PT/EQA 样品被送往另一个实验室检测,那么 PT/EQA 计划就失去了意义。应该考虑 PT/EQA 样品和患者样品的不同。通常,PT/EQA 样品只考虑检验过程的检验中阶段。许多出现在检验前或者检验后的患者标本错误,例如,标本采集时标签错误,运输过程中标本受损和结果的错误解释。这些因素都不能通过特定的 PT/EQA 计划检测,虽然他们可能对患者结果造成不好的影响。PT 结果的检查是实验室负责人的重要任务。不应该简单的将 PT 结果当作以监管或者认可为目的“通过或者失败”。应该仔细地调查失败同时应该纠正任何识别出的错误。PT 测试的一次失败表示可能有(系统)分析问题有待改正。一次失败也可能增加同一时期检测的患者标本不正确的可能性,因此检查这些结果也是很重要的。应该按

照当地要求记录全部的 PT 实践中的工作情况。也应该记录在 PT 失败后采取的全部纠正措施。在外部审计员和委任人员或者政府代理现场调查时可能检查这些内容。PT/EQA 也为实验室提供继续学习和培训。

## 2.2 可替代的性能评估

**2.2.1 实验室间比对** 当没有可得到的分子遗传学检测(例如,稀有疾病)PT/EQA 计划时,实验室应该建立可替代的性能评估活动来评估性能质量。理想情况下,可替代的评估应该通过与另一个实验室交换样品或者通过使用外部分割物来显示检测准确性。在一些国家,规定需要每年执行两次 PT/EQA 计划。在建立可替代性能评估活动时,实验室应该保证活动的挑战反应出了执行检测中涉及到的技术,而且每个活动的样品数量应该足够保证检测结果的准确性和可靠性。如果实验室使用样品交换,那么应该有一个比较结果的有效基础,特别是定量结果。PT/EQA 调查的失败可以是多种原因造成的。可能是分析方法失败,这就应该识别并纠正。这种情况可能是执行 PT/EQA 的最重要的原因。也可能是其他的原因导致 PT/EQA 失败,例如样品识别错误、错误登记或者结果登记错误、或者 PT/EQA 检测材料错误比如不稳定。

**2.2.2 当样品交换不可能时** 当实验室执行只有它进行的检测,没有 PT/EQA 或者实验室间对比计划可用(例如,检测稀少疾病),被测量没有可得到的 PT/EQA 计划,或者是因为检测不稳定的被测量(例如,检测评估 RNA 或者酶)的时候,实验室应该建立和施行实验室内评估程序来鉴别问题和评估全部检验阶段的实验室性能。实验室可能考虑的选择如:盲选标本重复检测、已知值物质盲测、与不同测量方法获得结果的比较。可替代的评估应该与至少被要求参加正式 PT/EQA 计划的次数相同而且实验室应该严格地解释可替代 PT/EQA 方法产生的结果。

**2.3 性能评估结果管理** 性能评估是实验室质量管理计划的一个重要部分。应该记录参加性能评估程序而且应该仔细的检查结果,如果需要,应采取适当的措施来纠正性能评估中识别出的任何问题。例如,应该审查 PT/EQA 活动失败和从可替代性能评估得到的不一致结果。应该产生一个正式的表明进行的是什么样的调查,达到了什么样的结果,和采取什么样的纠正措施的报告。同时应该与检验人员分享这些报告。PT/EQA 计划或实验室间样品交换的评估记录通常应该包括接收标本的时间,标本送来时的任何注释,检测人员身份,检测执行目录,获得的结果,和送回 PT/EQA 计划或者参加样品交换的结果的拷贝。检测人员,实验室管理人,和外部审计人员应该可以检查全部的性能评估结果。实验室应该编写关于性能评估结果保存的文件。实验室应该遵守任何国家或地区关于性能评估结果保留时间的要求。

## 3 讨论

一个广泛的质量控制计划应该包含编写的控制程序,用于监视检验全过程,发觉当前误差和系统误差,同时监视随着时间推移的检测程序质量。在分子遗传学领域开展和制定实验室内质量控制和实验室间质量评估,有助于提高分子遗传学检测结果的准确性和可靠性,从而满足临床医生和患者的要求,改善患者医疗质量和患者预后。本文提出了分子遗传学检测实验室内质量控制的基本内容和存在的挑战,实验室间质量评估的方法、途径、管理及可替代的方法。可供研究先天和获得性疾病的分子遗传学测试的医学实验室参考。也可以给单体或者团体的实验室质量评估和分子遗传学测试的能力验证

提供参考。

## 参考文献

- [1] Clinical and laboratory Standards. MM20-A Quality Management for Molecular Genetic Testing[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2012.
- [2] Clinical and laboratory Standards. EP23-ATM Laboratory Quality Control Based on Risk Management [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2011.
- [3] Clinical and laboratory Standards. GP27-A2 Using Proficiency Testing to Improve the Clinical Laboratory[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2007.
- [4] Clinical and laboratory Standards. MM01-A3 Molecular Methods for Clinical Genetics and Oncology Testing[S]. Wayne, PA, USA:

CLSI, 2012.

- [5] Clinical and laboratory Standards. MM14-A Proficiency Testing (External Quality Assessment) for Molecular Methods [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005.
- [6] Clinical and laboratory Standards. MM19-A Establishing Molecular Testing in Clinical Laboratory Environments[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2011.
- [7] International Organization for Standardization. ISO 15189: Medical laboratories-Requirements for quality and competence [S]. 3rd ed. Geneva: ISO, 2012.

(收稿日期: 2015-02-22)

• 检验科与实验室管理 •

# 临床检验实习生带教的几点体会

张秋莹, 李玲, 谢明水

(湖北医药学院附属随州医院检验科, 湖北随州 441300)

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.071

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2015)12-1791-02

同样的带教, 不同实习生对带教效果的评价不尽相同, 同样的学生, 对不同教师的带教方法也不尽认同, 这就意味着实习生带教工作有很多需要完善和提高自己的地方。本院作为教学医院, 更是重视实习生的带教工作, 笔者资历尚浅, 希望把实习带教中的体会与大家交流探讨。

## 1 讲好实习第一课, 岗位培训很必要

学习医院的法律法规, 严格遵守各项规章制度, 自觉服从医院的领导和管理。在医患矛盾日益突出的形势下, 要学法、知法、懂法, 不断增强法律知识的学习, 严格遵守操作规程才能避免各种纠纷和医疗差错<sup>[1]</sup>。如何讲好实习生第一课, 实习最初阶段顺利与否直接影响着实习生的实习情绪和信心, 如何让实习生更快熟悉检验科的工作流程这都是第一课的任务。本文作者在检验科负责给每批实习生讲第一课, 主要介绍检验科的整体布局与设施, 各专业组项目及患者从到医院就诊挂号、开申请单, 缴费检验到取报告的全过程, 用图片, 文字, 幻灯片讲述的方式让实习生形象生动地了解检验科工作流程和以往实习生容易出错的环节。

## 2 各组设立指导书, 实习轮科合理化

笔者所在检验科的微生物室针对本专业的特点, 以岗位职责、仪器操作步骤、专业组物品存放位置、窗口接待事项、各检验项目及临床意义等为主要内容, 为实习生制定详细、具体的操作指导书, 按指导书上固定的流程和培训顺序循序渐进地对实习生进行岗前培训, 保证实习生先学会操作流程然后再实际操作, 而不是在操作摸索中慢慢学习, 并能避免不同带教教师的带教习惯造成实习生学习知识的遗漏, 也能让实习生在日常操作中有个指导蓝本, 方便记忆和随时复习, 在实习生中普遍反应良好, 每批来到微生物室的实习生经过系统的培训之后, 又有指导书具体参考, 基本上都能上手快, 出错少。避免同时多个实习生轮转一个专业组的情况, 尽量各专业组平均分布一到两个实习生, 时间相互交错, 让每个实习生换科时不是一个人进入陌生的环境, 而有先来转科的实习生能一起交流, 进步更快, 互相查漏补缺, 避免实习生轮转新的专业组可能引起的

不适应。一定实习期完成后必须进行小组出科考试, 进一步加强理论知识的熟悉和掌握<sup>[2]</sup>。

## 3 尊师守纪制度化, 业务学习要参加

严格遵守检验科的各项规章制度和劳动纪律, 认真学习各项操作规程, 在实习期间要严格按照制度办理请假手续, 科室定期给实习生组织业务学习, 讲授医学新进展和工作经验。笔者所在检验科每月的科室例会和业务学习要求实习生参加, 在带教过程中做到放手不放眼<sup>[3]</sup>。教学应强化院感知识培训, 比如戴手套、口罩、帽子, 必要时要穿防护服和隔离衣等, 教会他们发生职业暴露后的方法及处理<sup>[4]</sup>。特别是在微生物室学习期间, 了解医院感染的监测项目及标准, 提升医院感染防护意识, 为将来走向任何临床岗位建立良好的基础<sup>[5]</sup>。带教教师应详细介绍日常质控工作的流程, 从冰箱拿出质控品恢复到室温开始, 质控品随标本一起上机操作, 到质控规则的判断和如何处理失控的措施等, 让实习生认识到检验质量保证是一个连续过程, 任一环节都不可忽视<sup>[6]</sup>。

## 4 要想实习更深入, 临床科室应轮转

实习生将课本知识在检验科运用到实际工作中后, 应去临床科室进行消化, 了解检验科的报告反映到患者身上表现出来的症状和体征, 以及相应的治疗方向, 学习临床检验结果与疾病的关系, 能改善以往实习生对检验项目临床意义知之不详的现象<sup>[7]</sup>。

## 5 检验临床本一家, 良好沟通为大家

现代医疗模式要求检验实习生具备与患者和临床医护沟通的能力, 检验工作者要求不仅仅只会出示一张报告单, 同时面对患者对检验结果的疑问和做各种检测的注意事项做出合理、全面的解释, 另外在实习过程中通过电话沟通、讲座培训、检验通讯等提高实习生与临床医护人员的沟通能力<sup>[8]</sup>, 要让实习生了解与临床联系的重要性, 练好沟通基本功。

## 6 小结

因此, 实习生通过实习期间对书本理论知识的强化, 操作技术、质控水平, 生物安全防护知识和临床联系水平的提高才