

染色体分析的质量管理研究

陈园园, 陈希, 杨静, 牟琴, 包黎明, 邹琳[△]
(重庆医科大学附属儿童医院临床分子医学中心 400014)

中图分类号: R394.2

文献标识码: B

文章编号: 1671-8348(2015)01-0130-03

实验室质量管理是临床实验室全面质量管理(total quality management, TQM)体系中的重要环节,包括实验室质量保证(quality assurance, QA)和质量控制(quality control, QC),其目的是为了保证每个临床样本检测结果的准确性和可重复性^[1],力求最大限度减少检验错误。

染色体分析在遗传病和肿瘤的诊断中起着重要作用,细胞遗传学实验室需遵循在样本流入到报告流出的整个路径进行全程质量控制的要求。但染色体分析的实验步骤较多、易受多种因素影响。虽然染色体分析在国内使用较早,但目前尚无统一的专门针对细胞遗传学检查质量管理办法及标准,尤其是近几年来有关细胞遗传学的质量管理文献报道较少^[2-3]。现根据本中心自身经验,结合并借鉴其他医学检验的质量管理方法,研究染色体分析的质量控制和质量保证^[4-6]。

1 开展染色体分析 QC/QA 的准则与内容

1.1 人员 目前国内尚无临床遗传专业人员培训及资质认证、考评体系,临床遗传学的卫生行政管理体系和法律、法规尚未建立或有待完善^[7]。因此本中心根据多年来从事细胞遗传学染色体检查经验,借鉴国内外实验室人员资格要求,总结出符合本中心从业人员资质、培训及考核授权制度。

1.1.1 人员资质与档案管理 从事染色体分析人员必须获得临床检验卫生技术专业资质,并要求大学专科以上学历,经染色体检查专业技术培训考核合格后上岗。

1.1.2 人员培训

1.1.2.1 入室培训 对相关法律、法规的培训,包括临床实验室基本管理条例和生物安全知识等学习。

1.1.2.2 上岗前培训 对仪器使用、生物安全、防止事故发生及控制事故恶化等技能进行培训。

1.1.2.3 专业培训 从事染色体分析人员需按中心制定的培训计划进行培训,主要包括 4 个阶段:(1)前期制片阶段(3 个月),此阶段要求:了解基本原理及标准操作程序(standard operation procedure, SOP);熟练掌握样本接收、登记、费用收取、编号及标签、病例文件夹的准备;掌握前期制备的各个流程;常用试剂的配制;判断影响每一环节的因素。(2)学习读片阶段(3 个月),要求:培训人员在已获染色体分析资质人员的指导下能独立进行正常外周血染色体图像的分析。(3)加强读片阶段(6 个月),要求:能独立进行临床外周血样本的染色体显微镜下分析,同时能进行染色体的显微摄影,成像系统分析及核型描述。(4)报告完成阶段(6 个月),要求:能独立完成所有染色体的分析、根据人类细胞遗传学命名的国际体制(international system for human cytogenetic nomenclature, ISCN)进行核型的描述、结果的解释、报告的发放。大部分从事染色体分析人员需培训 2 年左右才能进行最终报告的发放。

1.1.2.4 继续教育培训 鼓励从事染色体分析人员继续参加

新项目新技术培训与国内外学术会议、进修、在职学历学位等教育培训。

1.1.3 人员考核及授权 从事染色体分析人员除了需参加实验室及医院统一的基本理论、技能考核外,还需按照每一阶段的培训计划进行专业的理论考核和阶段性技能考核,经考核合格后由中心上报医务处进行授权后方可独立上岗,从事不同岗位人员都有各自详细的岗位职责。

1.1.4 人员评估 对已经获得从事染色体分析授权的人员会在每年定期对其进行评估,评估合格后方可继续担任相关岗位的工作。每年会分 3 次挑选 15 例样本让其进行分析,并按照 ISCN 进行染色体核型描述。结合核型描述的正确率、人员医德医风、行为规范等方面进行综合评估。

1.2 设施与环境 根据《医学实验室质量和能力认可准则》要求,中心设立有:(1)细胞培养室;(2)标本制备室;(3)显微镜分析室,同时做到干湿分区及生物安全分区,以保证有足够的操作空间,避免交叉污染。

1.3 仪器设备 所有仪器设备按照《仪器管理》条例进行,建立申购、性能校准、维护、报废流程;主要仪器设备档案,标准操作流程;并做好设备的保养及使用维护记录。目前本中心用于染色体检查的主要仪器设备有:美国 AI 染色体核型分析系统;Olympus 光学显微镜;Olympus 相差显微镜;生物安全柜;CO₂ 培养箱;离心机;恒温恒湿染色体制备仪。

1.4 试剂 染色体检查所采用的主要试剂与基本作用如表 1。

表 1 染色体检查的主要试剂与基本作用

主要试剂	基本作用
细胞培养液	细胞培养
细胞分裂刺激剂	刺激细胞增生
秋水仙素	使细胞停留在分裂中期
低渗液(0.075 mol/L 氯化钾)	使细胞膨胀、染色体分散,裂解红细胞

根据国家有关规定,所使用的试剂均有生产许可证、医疗器械注册证、产品合格证等资质;同时建有严格的试剂管理制度,包括有:(1)试剂质检标准程序(试剂名称、规格、批号、有效期、外观包装及效能验证等),对于试剂的效能验证,包括有新换厂家时同类新旧试剂的比对以及同一厂家同类试剂不同批次的对比实验;(2)试剂出入库及使用记录;(3)不合格试剂的处理等。

1.5 检验方法与标准操作程序 参考国内外做法^[8-10],结合开展实验前验证情况,制定有详细的 SOP 文件。

2 染色体分析质量保证流程与操作

每一个进行染色体检查的实验室必须建立自己的 QA 体

系和操作程序,在分析前、中、后等各个环节做好质量保证。

2.1 分析前阶段 始于检测项目的申请,确保被检样本的质量和申请检测项目的准确性。

2.1.1 检验项目确认 检验项目选择是否正确,是检验信息临床价值的前提。根据临床需求及充分沟通后,目前本中心开展的染色体检查项目包括遗传学和肿瘤学 2 个类别,每个项目的临床意义、样本要求、收费和出报告时间等方面的制定充分听取临床医生的意见;启动检查项目后对临床医生进行宣传、培训并到临床科室进行走访沟通;参与全院疑难病例讨论及质控会,确保检查项目满足并符合临床要求。

2.1.2 样本采集、运送及验收 制定有详细的采集须知及运送要求,发放到各临床科室、采集场所及配送中心;利用数据库系统进行样本接收登记,每个样本有专一的申请编号和样本编号;对于不合格样本,有样本拒收和不合格样本登记制度,及时通知医生及患者重新抽取样本。

2.2 分析中阶段 根据 SOP 操作流程,制定室内质控评判标准^[1],每一步有严格的达标要求,定期检查,保存相关记录,具体操作流程如下文。

2.2.1 细胞培养 培养液容器外观无污染迹象,清亮透明,橙红色(pH 值 7.2~7.4),若呈现粉红色表示 pH>7.4,可能会导致细胞培养失败。所有试剂应在有效期内使用,使用前已做试剂效能验证试验。细胞培养室环境条件要求严格,无污染 CO₂。培养箱条件设置:(1)温度控制在(37.0±0.5)℃;(2)5% CO₂ 浓度;(3)保持培养箱内空气干净,每 2 周进行 1 次清洁消毒,用氯浓度为 1 000 mg/L 溶液清洁箱内表面,再用 75% 乙醇擦拭,紫外灭菌,控制污染;(4)每周更换培养箱内用水,保持箱内湿度在 95% 左右,避免培养液蒸发。严格按 SOP 操作流程进行操作,防止污染、每个样本贴有唯一编号的标签。

2.2.2 收集 固定液需当日配制,填写化学危险品用量,同时做好相关仪器使用维护记录。水浴箱温度维持在(37.0±0.5)℃。收获的样本呈白色细胞沉淀状。

2.2.3 滴片 制片前,把预处理的玻片用超净水冲洗并浸没,放入 4℃ 冰箱降温;滴片箱的温度设置在 20℃,湿度 40%,好的滴片应该是细胞分散均匀、分裂相多,染色体长度符合要求。

2.2.4 染色 染液需用现配,染色后的标本用显微镜观察染色体条带以选择最佳胰蛋白酶处理时间,染色后玻片呈均匀紫红色,表面无沉渣。

2.2.5 分析 每例样本由 2 人共同分析,遗传学染色体检查分析 5 个分裂相,另外计数 15 个分裂相;肿瘤学染色体检查分析 20 个分裂相,同时对于只出现 1 个分裂相异常的情况需加大计数。为了能更好地分析每一例样本,本中心制备有专门的读片分析单,每例样本有独立的分析记录,以方便分析人员审核检查。其内容包括送检样本的数据(患者姓名、实验编号、标本类型)、技师姓名、分析日期、每个中期分裂相相关数据(位置、条数、性染色体、异常)、显微摄影等。最后,参照 ISCN 描述染色体核型。

2.3 分析后阶段

2.3.1 检验报告 这一阶段要求检验报告正确、完整、有效、及时。每份报告均需由 2 人共同审核,对于疑难病例,由国内外有关专家审核后出报告,从而确保检查结果的可靠性或减少笔误的可能性。遗传学染色体检查 2 周内出报告;肿瘤学染色体检查 1 周内出报告。

2.3.2 咨询服务 染色体检查项目的咨询及结果解释,专门定有资历较高的实验人员负责。

2.3.3 检验样本及报告的保存和处理 检验后样本处理:检

验后样本留存,主要是为了复查。留验时间的长短视工作需要及样本的稳定性而定。染色体检查样本保存于 4℃ 冰箱,有完整的标本保存及废弃物处理记录。对于滴片后所剩细胞悬液,通常保留至报告发放后,异常病例细胞悬液则转入 1.5 mL 离心管,-80℃ 冰箱长期保存。检查资料保存有纸质材料和电子版 2 种。纸质材料:每个病例有原始纸质存档(包括申请单、读片分析单、报告)。电子版:定期将图像从分析系统中导出并保存于专门的硬盘,并在数据库中保存相关信息,严格执行国家有关保护患者隐私的规定。

2.4 检查报告不能正确、及时、有效发出的原因分析及处理

2.4.1 制片失败 实验室无法提供有效诊断结果通常是 2 个基本原因导致:(1)细胞培养失败;(2)在后续的制片处理过程中无法获得有效的有丝分裂中期像。细胞培养失败可能的原因:(1)样品不含任何活细胞;(2)样本不合格(样本类型错误、抗凝管用错、样本量不足等);(3)培养细胞污染;(4)设备故障;(5)试剂失效;(6)人为错误(操作人员准备培养液不当,可能忘加某种试剂,或利用设备不当等)。培养后失败可能原因有以下 4 条,(1)收获失败:操作步骤出错如未加秋水仙素,导致有丝分裂细胞不足;在低渗液之前添加固定液,使细胞不能膨胀及染色体不能分散;忘记离心,可能使细胞未能沉积于管底导致被吸掉;任何试剂添加错误,或处理时间不对,都可能导致收获不成功,从而使中期分裂相丢失。(2)玻片制作失败:细胞悬液稀释浓度不适、滴片不均匀、玻片干燥效果不好。(3)条带/染色不佳:烘烤、硝化蛋白质和染色的处理时间是获得好条带的关键。(4)意外或人为错误:即使严格按照 SOP 进行操作,也可能发生将玻片的正面擦掉的人为错误。

2.4.2 标签错误 标签错误可能发生在任何一个可能出现标签的步骤,为了避免人为错误,标签链接数据库进行唯一编号,尽量减少中间环节,多人交叉检查。

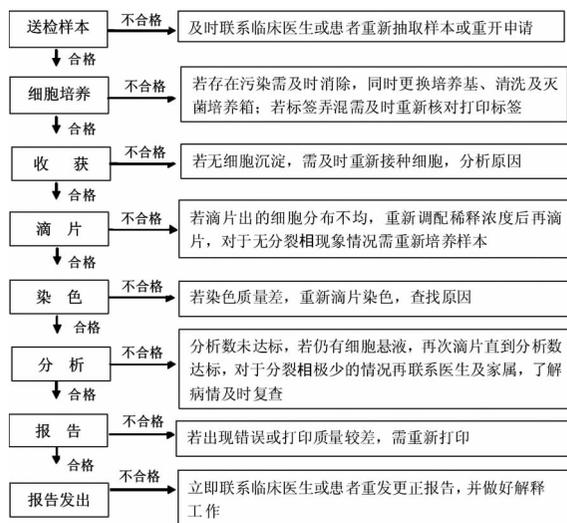


图 1 染色体分析的流程与差错情况处理

2.4.3 分析结果错误 可能有 3 个原因导致误诊:(1)标签错误;(2)染色体异常的不正确解释;(3)未发现的染色体异常。尽管本中心实行了很多环节的交叉检查进行监督,但还是有可能存在漏诊,需尽量控制在可接受范围内。同时本中心开展有部分基因检测项目和荧光原位杂交(FISH)检查对染色体分析结果进行验证。在全程质量控制过程中,每个病例都需要有原始的记录,对每一种失败的情况及原因进行分析,定期统计,查看趋势,同时做出相应的整改措施及效果追踪。染色体分析的差错情况可按照图 1 的流程来进行。

3 染色体室内质量控制管理

每月对质量控制指标进行分析统计,包括样本不合格率、报告时间达标率、失败率、复查率、异常检出率等,定期向医院管理部门上报相关数据。每月定期进行室内质控会议,对上次问题解决情况进行效果追踪、本月质控情况评估、讨论存在问题、原因分析和改进措施。对于在质量管理各个环节中出现的医疗不良事件(包括未遂先兆、缺陷、隐患)以及来自临床医生及患者的抱怨投诉事件,做好相关记录并及时上报科室及医院相关部门及时整改。

4 染色体室间质量评价

室间质量评价(简称室间质评)是不同实验室之间的比对来评估实验室能力的活动,确保实验室检测结果的质量。国内目前尚未开展全国范围内染色体分析的室间质评活动,本中心在 2008~2010 年通过与国内其他单位的实验室进行染色体检查结果比对来保证检测结果的质量,并从 2011 年起参加美国病理学家协会主持的实验室能力验证活动,并取得优异的成绩。同时对每次下发的评估结果进行总结分析。

综上所述,要保证检测结果的准确性和可重复性,及与临床的相符程度,染色体检查 QA/QC 需从分析前、中、后的各个环节做起,以质量为中心、根据《医学实验室质量和能力认可准则》要求进行全面的质量管理。

参考文献:

- [1] 王治国,李小鹏,武平原. 临床检验定量测定室内质控系统的建立[J]. 检验医学,2004,19(1):6-9.
- [2] 丁显平. 医学细胞遗传学检验的质量控制[J]. 中国优生与遗传杂志,2001,9(1):53-54.
- [3] 施俊,金波. 全面质量管理体系在细胞遗传学检验中的应用[J]. 检验医学与临床,2007,4(12):1231-1232.

• 卫生管理 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.01.049

- [4] 申子瑜. 我国临床实验室质量管理的基本要求[J]. 中华检验医学杂志,2003,26(11):700-701.
- [5] Watson MS, Gersen S. Quality control and quality assurance[J]. Princip Clin Cytoge,2005:93-112.
- [6] Hastings R. Quality control in FISH as part of a laboratory's quality management system[J]. Methods Mol Biol,2010,659:249-259.
- [7] 张思仲. 大力发展我国的临床遗传学,为建设和谐社会做出新贡献[J]. 中华医学遗传学杂志 2007,24(2):121-123.
- [8] Cooley LD, Mascarello JT, Hirsch B, et al. Section E6. 5 of the ACMG technical standards and guidelines; chromosome studies for solid tumor abnormalities [J]. Genet Med,2009,11(12):890-897.
- [9] Shaffer LG, American College of Medical Genetics Professional Practice and Guidelines Committee On behalf of the American College of Medical Genetics (ACMG) Professional Practice and Guidelines Committee. American College of Medical Genetics guideline on the cytogenetic evaluation of the individual with developmental delay or mental retardation[J]. Genet Med,2005,7(9):650-654.
- [10] 龙志高,潘乾,等. 全国染色体病诊断与产前诊断培训班[Z]. 湖南:中南大学湘雅医院产前诊断中心,2008.
- [11] 马强,刘青松,蔡燕,等. 外周血淋巴细胞培养及染色体制备的几点体会[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(14):1641-1642.

(收稿日期:2014-08-12 修回日期:2014-10-21)

临床血液学与体液学实验室申请医学实验室认可的方法研究

王 贞,马晓露,曹盛吉,刘 艳,李士军,袁 宏[△]
(大连医科大学附属第一医院检验科,辽宁大连 116011)

中图分类号:R446

文献标识码:B

文章编号:1671-8348(2015)01-0132-02

自 2003 年《医学实验室-质量和管理要求》(ISO15189:2003)发布以来,经中国合格评定国家认可委员会(CNAS)于 2008 年修订为最新版《医学实验室质量和能力认可准则》(ISO15189:2007)(以下简称《认可准则》)^[1]。国内已有 100 多家医学实验室、医学检测中心等通过了医学实验室认可,全面提升了管理质量和水平^[2]。本实验室于 2013 年年初通过评审,现就临床血液学与体液学检验领域认可的经验与体会报道如下。

1 标准操作规程和记录表格的编写

《认可准则》的核心是质量体系文件的编写、实施及定期评审,只有编写出符合认可准则要求并且具有可实施性的文件,检验人员才能够按照文件规定去做,而不是凭借已有经验来完成日常检验工作。

质量手册和程序文件是纲领性文件,标准操作规程(SOP)

则应更加详细和具体^[3]。本实验室根据实际需要,把 SOP 分为管理 SOP、仪器 SOP、项目 SOP。管理 SOP 主要描述如何对检验质量进行管理,与程序文件一脉相承。由于专业性质不同,各专业组对检验过程的管理不尽相同。临床检验专业细胞分析、尿液检验都需要显微镜镜检,所以应该制定和验证复检规则,并把具体制定、验证过程及结果写入 SOP^[4-5]。保留建立或验证显微镜复检标准的方法和数据,要求验证结果假阴性率小于或等于 5%。再比如实验室内部比对 SOP,一般临床检验室都有多台血细胞分析仪、凝血分析仪、尿干化学及尿沉渣分析仪,应详细描述比对的项目、频率、具体方法、参比仪器以及判断结果是否合格的标准;若比对不合格,应采取哪些措施等。仪器和项目 SOP 相对简单,可以套用相似的模式。仪器 SOP 主要包括仪器简介、工作原理、运行环境、开关机程序、