

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.22.023

血站核酸实验室质量监测指标及无效结果分析

韩晓燕,李 敏[△],张麦利,杜 丹,冯 旭,许苗苗
陕西省渭南市市中心血站检验科,陕西渭南 714000

摘要:目的 对渭南市市中心血站核酸实验室质量监测指标及无效结果产生的原因进行分析,为核酸实验室的科学化管理及质量管理体系的有效运行提供理论依据。**方法** 回顾性分析渭南地区 2017—2019 年无偿献血人群核酸检测的检测例数、不合格率、混样反应性率、拆分反应性率、无效批次率、防污染监测结果、室间质评等质量监测指标,并对无效结果进行原因分析。**结果** 2017—2019 年检测例数逐年增加,不同年份间不合格率、混样反应性率、拆分反应性率、无效批次率等质量监测指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。CAP 故障是 2017、2018 年核酸检测结果无效的主要原因,丙型肝炎病毒 RNA 曲线未起和 CAP 故障是 2019 年核酸检测结果无效的两大主要原因,2019 年无效 pools 数最多,占总无效 pools 数的 62.12%($P<0.05$)。2017—2019 年 608 个防污染监测点位样本,出现 1 例乙型肝炎病毒 DNA 阳性,100 例室间质评标本检测总符合率为 99.00%。**结论** 该血站核酸实验室目前所使用的质量监测指标能有效反映核酸检测过程,有助于质量管理体系的有效运行和持续改进;但因设备故障导致的结果无效仍是目前核酸实验室面临的最大问题。

关键词:核酸检测; 质量监测指标; 无效结果; 质量管理体系
中图分类号:R446.11 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2020)22-3304-04

Analysis of quality monitoring indicators and invalid results of nucleic acid laboratory in blood station

HAN Xiaoyan, LI Min[△], ZHANG Maili, DU Dan, FENG Xu, XU Miaomiao

Department of Clinical Laboratory, Weinan Blood Station, Weinan, Shaanxi 714000, China

Abstract: **Objective** To analyze the quality monitoring indicators and the causes of invalid results of the nucleic acid laboratory in Weinan Blood Station, and provide a theoretical basis for the scientific management of the nucleic acid laboratory and the effective operation of the quality management system. **Methods** Retrospective analysis on quality monitoring indicators for nucleic acid test of blood donation in Weinan area from 2017 to 2019, including the number of test persons, unqualified rate, mixed test positive rate, split test positive rate, invalid batch rate, anti-pollution monitoring results, external quality assessment, etc, and analyze the causes of invalid results. **Results** From 2017 to 2019, the number of test subjects increased year by year, and there were no statistically significant differences in quality indicators such as unqualified rate, mixed test positive rate, split test positive rate, invalid batch rate ($P>0.05$). CAP failure is the main reason for invalid nucleic acid test results in 2017 and 2018 while HCV RNA failure and CAP failure are the two main reasons for invalid nucleic acid test results in 2019, invalid pools of 2019 were the largest, accounting for 62.12% of the total invalid pools ($P<0.05$). From 2017 to 2019, samples from 608 anti-pollution monitoring sites showed HBV DNA positive in 1 case, and the total compliance rate of 100 external quality assessment samples was 99.00%. **Conclusion** The quality monitoring indicators currently used in nucleic acid laboratory can effectively reflect the nucleic acid detection process and contribute to the effective operation and continuous improvement of the quality management system. However, invalid results due to equipment failures are still the biggest problems facing nucleic acid laboratories at present.

Key words: nucleic acid test; quality monitoring indicators; invalid result; quality management system

核酸检测作为血站实验室的一项常规检测方法,属于定性检测项目,具有灵敏度高、抗干扰能力弱等特点,若借鉴血清学检测以质控图规则反映实验结果有效性和过程稳定性的方法,有一定的难度^[1]。所以建立有效且适宜核酸检测过程的质量监测指标对实现核酸实验室的科学化管理、评价质量管理体系运行状态及保证检测结果的准确性具有重要意义。本文将渭南地区 2017—2019 年核酸检测的检测例数、不

合格率、混样反应性率、拆分反应性率、无效批次率、防污染监测结果、室内质评等质量监测指标及无效结果原因分析等回顾性结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 数据来源 数据来源于《唐山现代管理软件》及日常检测的记录和表格,选取 2017—2019 年渭南市中心血站无偿献血者丙氨酸氨基转移酶(ALT)合格且 2 次酶联免疫吸附试验(ELISA)检测阴性标本及采集时间超过 48 h 的待查标本,包括全血和血小板献血者,共计 118 771 例。

1.2 仪器与试剂 瑞士 Roche Cobas s201 全自动核酸检测系统,包括 Hamilton MICROLAB STAR 全自动混样仪,COBAS Amplipre 核酸提取仪及 COBAS Taqman 核酸扩增仪,全自动试管开盖机(倍健科技,KG-12L),生物安全柜(苏净安泰,BHC-1300)。核酸检测试剂:Roche TaqScreen MPX Test, Version 2.0 试剂。核酸检测室内质控采用北京康彻思坦生物技术有限公司的套装质控品,即 50 IU/mL 乙型肝炎病毒(HBV) DNA、200 IU/mL 丙型肝炎病毒(HCV) RNA、1 000 IU/mL 人类免疫缺陷病毒(HIV)-1O RNA 3 个阳性质控和 3 个阴性质控组成一套。所用试剂及质控品严格按照试剂说明书要求进行操作,HIV-1O RNA 反应性标本送渭南市疾病预防控制中心进行确认。

1.3 检测方法 ALT 合格且 2 次 ELISA 检测阴性的标本及采集时间超过 48 h 的待查标本按照 6 混 1 模式混样分项目进行核酸检测(6 混 1 模式每个标本的加样量为 167 μL),混检反应性的 pools 拆分做单检(每个标本单检加样量为 1 000 μL)。

1.4 质量控制 套装质控品参与每批次试验,随机位置,同该批标本一起按 6 混 1 模式检测(批次的定义:使用一套阴阳对照的混样检测即为一批,标本检测数量为 1~114)。

1.5 判读规则 阴阳对照、室内质控及其对应 pools 的 IC 均有效,才能判读该批次结果有效,若其中一项无效,则需重新实验。

1.6 各项质量监测指标计算公式 (1)检测不合格率=检测有反应性标本数/检测例数×1 000‰;(2)混样反应性率=混样有反应性 pools 数/混样 pools 总数×100%,其中,混样 pools 总数=混样有效 pools 数+混样无效 pools 数;(3)拆分反应性率=拆分结果为反应性 pools 数/混样有反应性 pools 数×100%;(4)无效批次率=无效批次数/批次总数×100%。(5)室内质评符合率=合格样本数/参与样本数×100%。

1.7 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验, $P<0.05$

为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2017—2019 年核酸检测例数及不合格率情况 2017—2019 年核酸检测例数逐年增加,总不合格率为 0.85‰,不合格率由高到低依次为 2017、2019、2018 年,不同年份间不合格率比较,差异无统计学意义($\chi^2=2.848,P>0.05$)。见表 1。

表 1 2017—2019 年核酸检测例数及不合格率比较			
时间	检测例数(<i>n</i>)	有反应性数(<i>n</i>)	不合格率(‰)
2017 年	34 237	35	1.02
2018 年	41 746	28	0.67
2019 年	42 788	38	0.89
合计	118 771	101	0.85

注:有反应性数包括 HBV DNA、HCV RNA 和 HIV RNA 有反应性数。

2.2 2017—2019 年核酸检测混样反应性率、拆分反应性率情况比较 不同年份间核酸检测混样反应性率比较,差异无统计学意义($\chi^2=4.135,P>0.05$);2017—2019 年总拆分反应性率为 57.39%,不同年份间拆分反应性率比较,差异无统计学意义($\chi^2=1.952,P>0.05$)。见表 2。

表 2 2017—2019 年核酸检测混样反应性率、拆分反应性率比较			
时间	混样 pools 总数 (<i>n</i>)	混样反应性 [<i>n</i> (%)]	拆分反应性 [<i>n</i> (%)]
2017 年	5 834	63(1.08)	35(55.56)
2018 年	7 055	54(0.77)	28(51.85)
2019 年	7 262	59(0.81)	38(64.41)
合计	20 151	176(0.87)	101(57.39)

2.3 2017—2019 年核酸检测无效批次率比较 2017—2019 年核酸检测无效批次率逐年增加,但不同年份间的无效批次率比较,差异无统计学意义($\chi^2=3.142,P>0.05$)。见表 3。

表 3 2017—2019 年核酸检测无效批次率比较			
时间(年)	检测批次总数(<i>n</i>)	无效批次数(<i>n</i>)	无效批次率(%)
2017 年	480	3	0.63
2018 年	496	5	1.01
2019 年	433	8	1.85
合计	1 409	16	1.14

2.4 2017—2019 年核酸检测无效 pools 情况 CAP 故障是 2017、2018 年核酸检测结果无效的主要原因,差异均有统计学意义($\chi^2=107.394,448.691,P<0.05$);HCV RNA 曲线未起和 CAP 故障是 2019 年核酸检测结果无效的两大主要原因($\chi^2=101.662,$

$P<0.05$);总体无效结果以 CAP 故障最高,差异有统计学意义($\chi^2=320.778, P<0.05$);2019 年无效 pools 数最多,差异有统计学意义($\chi^2=233.545, P<0.05$)。见表 4。

表 4 2017—2019 年核酸检测无效 pools 原因分析[n(%)]

无效类型	2017 年	2018 年	2019 年	合计
标本凝块	12(23.08)	6(6.12)	29(11.79)	47(11.87)
IC 曲线未起	3(5.77)	3(3.06)	26(10.57)	32(8.08)
NC 无效	0(0.00)	0(0.00)	39(15.85)	39(9.85)
HCV RNA 曲线未起	0(0.00)	0(0.00)	55(22.36)	55(13.89)
HIV-1O 组曲线未起	0(0.00)	0(0.00)	11(4.47)	11(2.78)
扩增曲线异常	1(1.92)	0(0.00)	15(6.10)	16(4.04)
CAP 故障	23(44.23)	71(72.45)	47(19.11)	141(35.61)
CTM 报警	0(0.00)	18(18.37)	24(9.76)	42(10.61)
供电中断	13(25.00)	0(0.00)	0(0.00)	13(3.28)
合计 [#]	52(13.13)	98(24.75)	246(62.12)	396(100.00)

注:无效分类的解释为标本凝块,报警信息为 Blood Clot;IC 曲线未起,标本混样 pools 和阴阳对照的 IC 曲线未起;HCV RNA 曲线未起,混合阳性对照和室内质控的 HCV RNA 曲线未起;NC 无效,阴性对照扩增出阳性曲线;HIV-1O 组曲线未起,HIV-1O 组阳性对照曲线未起;扩增曲线异常,包括 HCV RNA 曲线 spike,DSLME 报警,MATH Error 报警,SYS Error 报警等导致的结果无效;[#]为本年份所有的无效 pools 数在总无效 pools 数中的占比。

2.5 2017—2019 年核酸检测防污染监测情况

2017—2019 年核酸实验室防污染监测采用下落法和擦拭法共采集样本 608 例,其中检测结果为阴性 607 例,检测结果为 HBV DNA 阳性 1 例,阳性点位为下落法采集的全自动试管开盖机内部。见表 5。

表 5 2017—2019 年核酸检测防污染监测结果(n)

时间	监测 点位数	阴性 点位数	阳性 点位数	阳性点位
2017 年	192	192	0	—
2018 年	192	192	0	—
2019 年	224	223	1	全自动试管开盖机内部(下落法)
合计	608	607	1	—

注:下落法样本采集过程为当日试验结束后,关闭通风和空调系统,将已标识且含 2 mL 阴性质控的核酸管放置于相应的位点,打开管盖,盖口朝上放于核酸管旁边,放置过夜,次日早上收集样本涡旋震荡混匀;监测点位数为 2017 年 1 月至 2019 年 8 月,每月 16 个监测点,2019 年 9—12 月,每月 20 个监测点;—表示此项无内容。

2.6 2017—2019 年核酸检测室间质评参与情况
2017—2019 年核酸检测参与国家卫生健康委员会临检中心及陕西省血液中心室间质评共 100 例样本,总符合率为 99.0%。2017 年国家卫健委临检中心第 1 次室间质评 1717 号样本拆分结果出现了多项,导致该次成绩为 97.5 分,该次室间质评样本检测结果的符合率为 95.0%;2018 年和 2019 年全部成绩均为 100.0 分,检测结果符合率为 100.0%。见表 6。

表 6 2017—2019 年核酸检测室间质评合格率

时间	样本来源	次数	参与样本数(n)	合格样本数(n)	总成绩(分)	符合率(%)
2017 年	国家卫健委临检中心	第 1 次	10	9	97.5	95.00
		第 2 次	10	10	100.0	
2018 年	国家卫健委临检中心	第 1 次	10	10	100.0	100.00
		第 2 次	10	10	100.0	
	陕西省血液中心	第 1 次	10	10	100.0	
		第 2 次	10	10	100.0	
2019 年	国家卫健委临检中心	第 1 次	10	10	100.0	100.00
		第 2 次	10	10	100.0	
	陕西省血液中心	第 1 次	10	10	100.0	
		第 2 次	10	10	100.0	
合计		10 次	100	99	997.5	99.00

3 讨 论

本研究结果发现,2017—2019 年核酸检测例数逐年增加,但不同年份间核酸检测不合格率、混样反应性率、拆分反应性率和无效批次率等质量监测指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示 2017—2019 年核酸实验室质量管理体系从整体的角度分析运行状态较稳定。2017—2019 年核酸检测总不合格率为 0.85%,高于郑州地区的 0.56%^[2]、宝鸡地区的 0.

76%^[3]、洛阳地区的 0.73%^[4];低于衡阳地区的 2.78%^[5]、西安地区的 0.98%^[6],分析原因可能与不同检测系统及输血感染疾病的流行率等相关;总拆分反应性率为 57.39%,略低于同是罗氏检测系统的高守亮等^[7]研究的 65.85%、陈少彬等^[8]研究的 61.25%。有文献报道混样阳性拆分阴性的 141 份标本中有 4 份存在传染 HBV 的风险^[9],结合本研究中 57.39%的拆分反应性率,提示核酸检测仍面临低载

量病毒漏检的风险。

本研究中,对无效批次 pools、设备报警信息和检测结果中的异常情况的分类分析发现:(1)CAP 故障是 2017—2019 年核酸检测结果无效的主要原因,且随着检测年限的延长,因 SPU 不平整、K-Carrier 位置偏移、试剂单元温度过高等人为可控因素引起的 CAP 故障率逐年减少,但 CAP 硬件故障如冲洗管路漏气、试剂针堵针等却逐年增加。(2)2017 年因电力中断,UPS 储电量低,导致 13 个 pools 提取过程中断,2018、2019 年通过加强实验室管理,将断电应急演练、UPS 的断电充电维护等落到实处后再未发生。(3)阴性对照扩增出阳性曲线导致 NC 无效与操作人员的防污染意识及规范化操作密切相关^[10]。由于 2019 年的 NC 无效均发生于新增核酸检测人员的操作过程,提示核酸检测人员的岗前培训对保证实验过程的顺利有重要意义。(4)多种原因导致的扩增曲线异常,服务器判断结果无效,样本需重新检测,据笔者经验,若扩增曲线异常、IC 曲线未起在一定时期内频繁发生,应考虑实验室的通风质量,可通过更换通风口滤网、实验前用纯净水擦拭等措施减少检测过程的干扰和抑制。(5)2019 年无效 pools 数占总无效 pools 数的 62.12%,提示 2019 年核酸实验室质量管理体系在整体运行情况较 2017 年和 2018 年无明显差异的情况下仍面临较大的压力,分析原因主要由设备使用年限较长和人员流动情况引起,建议设备随着使用年限的增加缩短校准周期、核酸岗的检测人员保持相对固定。本实验室核酸检测设备的管理目前处于半年保养、故障后维修的状态,所以对于使用 5 年以上的设备进行预防性的维护保养、定期更换老化零件是下一步急需解决的问题。此外,核酸检测必不可少的开盖机、脱帽离心机等开盖设备的清洁、消毒及维护工作对于核酸实验室污染的控制特别重要。

室间质量评价作为一种质量控制工具可通过分析及比对已知样本在本实验室中的检测结果,凸显实验中存在的问题,进而帮助实验室提高检测能力^[11],核酸实验室 2017—2019 年参与国家卫健委临检中心及陕西省血液中心室间质评共 100 例样本,符合率为 99.0%,高于本实验室室间质评结果符合率>80%的质量目标,不合格样本为 2017 年国家卫健委临检中心第 1 次室间质评 1717 号样本,拆分时出现了多项,且重复 2 次的结果一致,通过对 2017 年前 4 个月不合格率(分别为 3/1 976、4/2 541、3/2 939、1/2 561)和防污染监测结果(全阴性)的对比分析,认为 1717 号样本拆分出现多项的原因可能为偶发的交叉污染或灰尘引起的非特异性扩增,其中样本本身也是考虑因素之一。

血站核酸实验室质量监测指标的建立不仅要遵

循科学性、系统优化、通用可比、实用性、目标导向等原则^[12],更应考虑其与自身实验室综合情况的适宜性。对核酸检测无效结果进行回顾性分析,发现仍需解决以下问题:(1)核酸检测人员岗前培训仍是本核酸实验室的薄弱环节。(2)核酸检测过程的辅助设备维护保养需进一步加强,降低使用年限较长的关键设备的故障率是实验室目前亟需解决的问题。(3)随着检测年限及标本量的增加,应注重实验室环境及设备的承受能力,针对两套核酸检测系统,应科学优化检测策略,合理安排标本检测量。

总之,科学的实验室管理方法、有效的质量管理体系运行状态是保证核酸检测结果准确、及时、有效的前提,更是临床用血安全的质量保证。对检测全过程的质量监测指标及无效结果进行分析并评估是核酸检测质量控制的重要组成部分。

参考文献

- [1] 李敏,韩晓燕,朱建民.渭南地区无偿献血人群核酸检测结果分析[J].临床输血与检验,2018,20(6):572-575.
- [2] 李俊英,葛文超,王艺芳,等.不同群体无偿献血者核酸检测的结果分析及应用[J].国际检验医学杂志,2016,37(24):3421-3422.
- [3] 王建康,周艳,李晶,等.宝鸡市 2010—2016 年无偿献血者核酸检测结果分析[J].中国输血杂志,2018,31(6):642-644.
- [4] 陈善华,朱丽莉,吕素梅,等.洛阳地区无偿献血人群中核酸检测及分析[J].临床血液学杂志(输血与检验),2019,32(2):301-303.
- [5] 王湘屏,郭建波,段荣,等.衡阳地区无偿献血者核酸检测结果分析[J].临床输血与检验,2018,20(6):563-565.
- [6] 段勇,郭燕,叶世辉.陕西省血液核酸集中化检测的实践和探讨[J].中国输血杂志,2017,30(8):957-959.
- [7] 高守亮,刘朋来.黄冈地区献血者核酸检测阳性率分析及血站核酸筛查的意义[C]//中国输血协会.中国输血协会第九届输血大会论文专辑.重庆:中国输血协会,2018:1.
- [8] 陈少彬,何子毅,陈庆恺.献血者核酸检测 HBV DNA 反应性 Ct 值分析[J].中国输血杂志,2018,31(11):1305-1308.
- [9] 周磊,刘颖,邓雪莲,等.核酸筛查中混检阳性拆分单检阴性血液标本的 HBV 残余风险分析[J].中国输血杂志,2018,31(9):985-988.
- [10] 余霖,陈庆恺,何子毅.核酸检测应注意的几个问题[J].临床输血与检验,2017,19(5):528-529.
- [11] 高智俊,蔡茵,唐晴钧,等.病毒核酸检测在无偿献血者中的应用及其质量控制方法的探讨[J].检验医学与临床,2018,15(18):2799-2802.
- [12] 王瑞,吴硕,高峰,等.血站实验室质量监控指标体系的建立及其应用[J].中国输血杂志,2011,24(8):713-715.