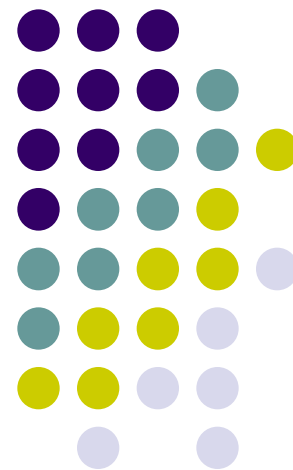
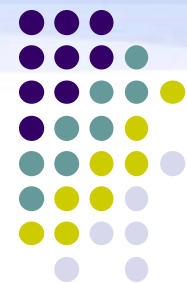


临床分子检测的分析前质量： 问题与思考

李金明 国家卫生计生委临床检验中心





?

- 检验申请单
- 标本采集方法
- 标本运送、贮存
- 标本质检





分子检测分析前质量的5W1H

(Why、What、When、Where、Who、How)



Why

诊断医学



● 诊断医学
的时代？

● 没有**精准检测**何来
精准医疗？

70%以上信息
来自实验室

预测

诊断

监测

预后

个体化医疗
(personalized
medicine)
精准医疗
(precision
medicine)
移动医疗
数字医疗

精准医学计划 (Precision Medicine Initiative)
新生儿测序计划 (BabySeq Project)

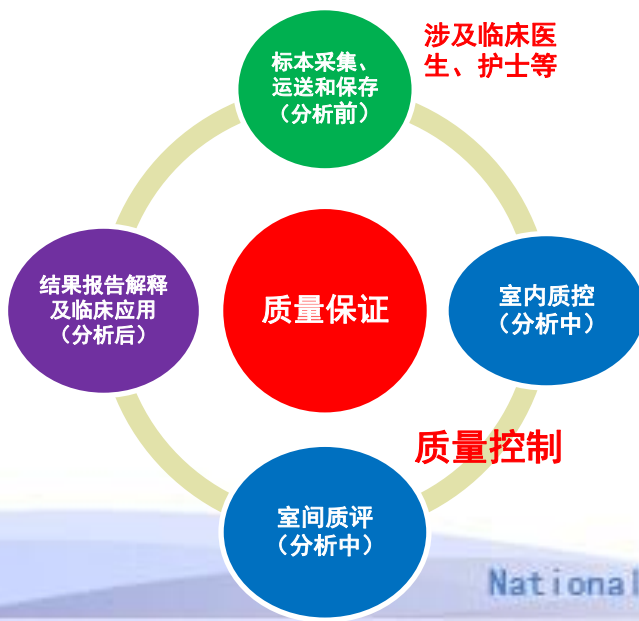
卫生部临床检验中心
National Center For Clinical Laboratories



What



- 对 “Who” 在 “When” 开出 “What” 申请单
- 容器：密闭的、一次性、无菌、无核酸酶及其他扩增抑制物
- 采集方法：人（训练有素）、防污染、处理
- 运送保存时间和温度：尽可能快？低温？
- 合格标本：容器完整、量够、时间符合要求、外观符合要求、处理符合要求





对“Who”在“When”开出 “What”申请单

以染色体非整倍体NIPT为例



NIPT: 外周血cffDNA特点



- 母体血浆中cffDNA含量占总游离DNA的**大约5~10%**，**长约150bp**，**怀孕4周**即能检出，其在血液中的半衰期只有16min，出现2小时后即不能测出。
- **cffDNA在母体循环中较稳定**，可能与来源于胎盘的微粒能够保护他们免受核酸酶降解相关。
- Cff DNA**随着妊娠孕龄增加而增多**，在**前三个月**每周增加21%，在孕中期上升速度较慢，在孕期的后八个星期又急剧上升。
- cff DNA在**-20℃下可稳定超过4年**，但**血浆样本在-20℃下长时间保存**，**cff DNA每月以- 0.66GE/ml速率降解**。

Who:正常孕妇 (产筛高风险 ≥ 35 岁? 孕周 < 12 周? 双胞胎? 恶性肿瘤? 夫妇染色体异常? ...)

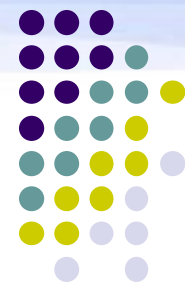
When: > 12 周(-26+6周?)

What: NIPT

血浆样本可在**-18℃~-25℃**短暂储存**1周**，在**-70℃**以下储存**2年**，**反复冻融**次数应不超过**2次**。



采集方法的重要性 (How)



以**HPV基因分型**检测宫颈标本采集为例



宫颈样本保存液使用说明书

【产品名称】

通用名称：宫颈样本保存液

商品名称：Collection Medium

【包装规格】

50支/盒；100支/盒

【型号】

DCM

【预期用途】

本品可用于保存和运输宫颈样本，并用于本公司生产的高危型人乳头瘤病毒（HPV）核酸测试剂盒（杂交捕获-化学发光法）对所收集样本进行高危型HPV检测。

【主要结构】

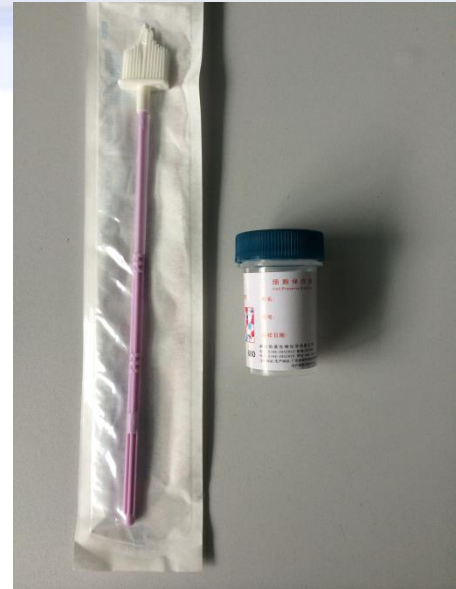
宫颈样本保存液由样本保存管和添加剂组成。保存管材质为聚丙烯，添加剂主要成份为Tris-HCl、NaCl、EDTA、NP-40 Alternative、脱氧胆酸钠、叠氮化钠。

【储存条件及有效期】

该保存液应于 15-30° C下贮存，有效期：三年。

【适用范围】

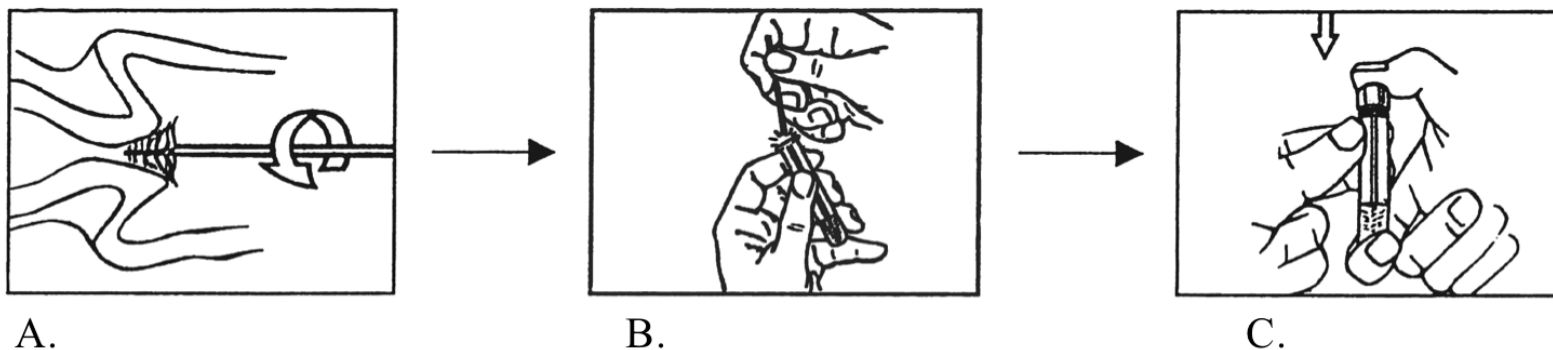
适用于使用宫颈刷从子宫颈内膜上收集的宫颈样本的保存和运输。





【使用方法】

本品用于使用宫颈刷所采集宫颈样本的保存和运输，采集的样本用于高危型人乳头瘤病毒（HPV）核酸测试剂盒（杂交捕获-化学发光法）对其进行高危型 HPV 检测，主要操作如下图所示：



- A. 将宫颈刷插入宫颈口 1-1.5 cm，直至最外侧刷毛触到外宫颈，逆时针方向旋转三周。
- B. 抽出宫颈刷，并插入宫颈样本保存管底部，沿宫颈刷刻度线折断刷柄。
- C. 紧扣宫颈样本保存管塞，安全保存样本。





合格的标本？

以**肿瘤基因突变**检测标本为例



[Click here for more articles from the symposium](#)

doi: 10.1111/joim.12047

肿瘤的高度异质性

Circulating tumour cells: insights into tumour heterogeneity

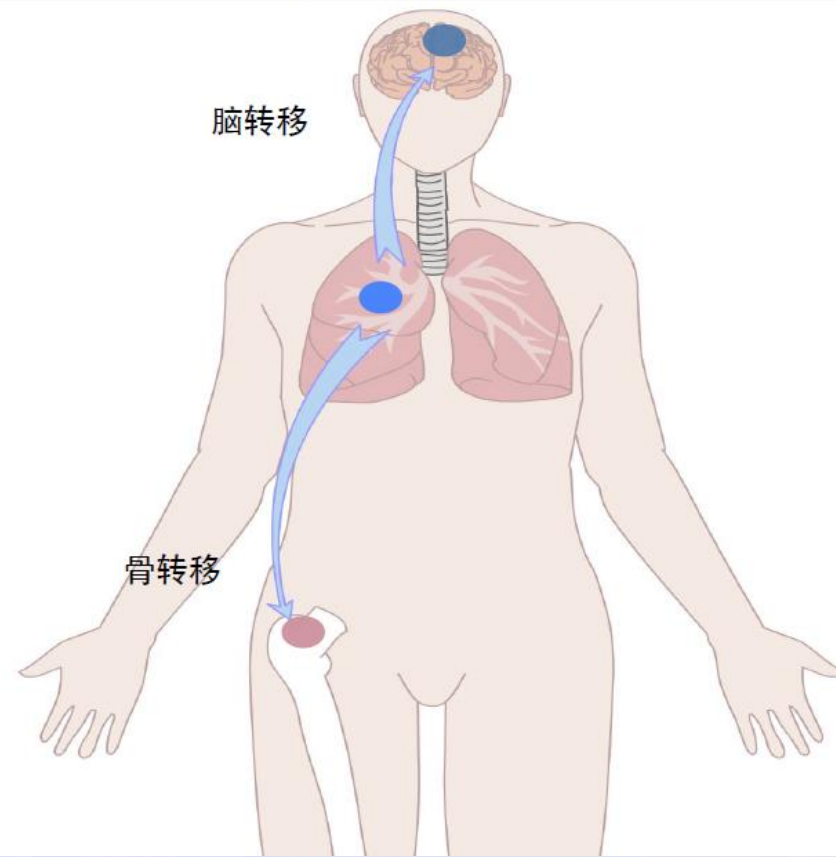
■ D. F. Hayes & C. Paoletti

From the Breast Oncology Program, University of Michigan Comprehensive Cancer Center, Ann Arbor, MI, USA

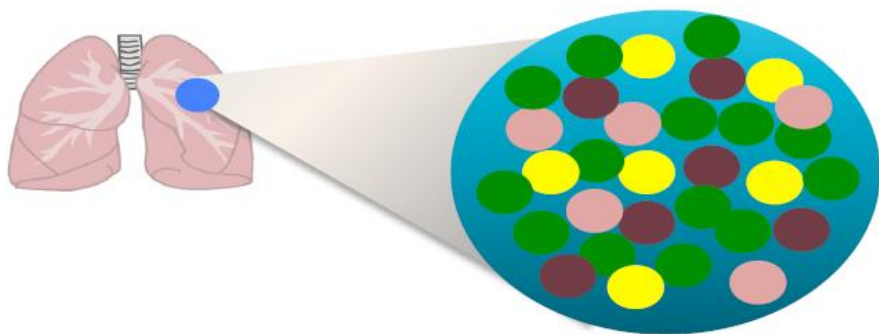
Abstract. Hayes DF, Paoletti C (University of Michigan Comprehensive Cancer Center, Ann Arbor, MI, USA). Circulating tumour cells: insights into tumour heterogeneity. (Review).

targeted (e.g. endocrine or anti-human epithelial growth receptor type 2 (HER2) agents) and nontargeted therapies (e.g. chemotherapy). Ideally, tumour heterogeneity would be monitored over

病患间异质性

转移灶与原发性灶异质性
多处转移灶间异质性

原发性灶内部异质性



实例：因为标本质检造成不同实验室检测结果不一样

2011-11-25

患者 [REDACTED]，6.3 送检，玻片号 406197，门诊送检，KRAS 检测，检测编号 K1189，检测结果为野生型。

临床医生要求重新检测，外院检测结果为 35G>T。

2011-11-25，利用已提起 DNA 重新检测 KRAS-qPCR，操作人 [REDACTED]，结果为野生型。

重新切取白片，病理学评估，肿瘤细胞 30%，去除正常组织后提取，检测 KRAS-qPCR，操作人 [REDACTED]，结果为 35G>T。

根据两次检测结果，重新发出报告，结果为 35G>T。

与临床医生进行进一步的解释沟通，考虑第一次检测没有富集肿瘤细胞，造成检测灵敏度下降。

总结检测经验，务必提取 DNA 前，进行标本的病理学评估，并富集肿瘤细胞。



实验室分析前“质量指标”？



- **标本差错率**（患者鉴别错误、标本张冠李戴、标签错误等）
- **项目申请录入错误**（多或漏，包括门诊和住院患者）
- **标本不合格率**（凝块、溶血、容器破损、标本量不够、污染等）
- **标本运送和保存不当**（运送中标本变质、运送温度不对、运送超出允许时间、保存不当等（可从自查、投诉等得到信息）



质量指标 (quality indicator) 的定义



- ISO 9001 and ISO 15189:2012 均提到了质量指标 (Quality indicators) : measure of **the degree** to which a set of inherent characteristics fulfils requirements (**一组内在特征满足要求的程度的度量。**)
- 通俗的定义: 质量指标 (Quality indicators, QIs) are **fundamental tools** for enabling users to quantify the quality of all operational processes by **comparing it against a defined criterion.** (**是使用者通过将其与一建立的标准进行比较而整个操作过程的质量进行定量评价的基本工具**)
- QIs data should be collected over time to identify, correct, and continuously monitor defects and improve performance and patient safety by identifying and implementing effective interventions.



质量目标 (quality objective)



- something sought, or aimed for, related to quality
(在质量方面所追求的目的)。 (ISO 15189:2012)

(可译为：所追求的或目的是与质量相关的事情)



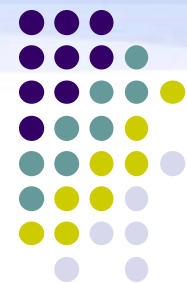


“质量指标”与“质量目标”有何关系？

- “质量”是没有尽头的“**旅行**”
- “质量指标”是质量之旅（**PDCA**）的“**主发动机**”
- “质量目标”是质量之旅的“**地平线**”，总在延伸

“质量指标”是“质量目标”制订和修改的“**基石**”





如何应用质量指标来改进质量？



实例：标本错误

- **投诉内容：**
- 消化科患者刘XX090201检测HBV DNA为 10^6 ，2月6日重抽血检测 $<10^3$ ，结果不符。
- 马上联系陈医生，患者无抗病毒治疗，郭主任认为一周内不可能降幅那么大，建议重检。
- **复核：**
- 三查三对未发现操作错误。
- 2月9日重抽标本检测，结果仍与090201标本结果相符。于是对两份标本进行血型检测，发现前一份C456号为“B”型，后一份为C533号为“AB”型，不是同一患者血液。
- **原因分析核实：**护士抽了一个新收患者血，因空管滚到新收患者待由空管处。



TAB-4

抱怨记录表

2009年2月

接到抱怨时间：2009年2月10日
抱怨者姓名：刘XX 年龄：66 性别：女 职业：不详
联系电话：81048723 联系地址：消化-区(护士长)

抱怨内容：
消化-区19床刘XX 2009.2.1检测HBV-DNA为 10^6 拷贝/ml。2月6日重抽血HBV-DNA为 $<10^3$ 拷贝/ml。建议认为结果不符合。

记录人：[签名] 2009年2月10日

抱怨处理：
科室2月6日联系主管医生陈医生联系。该病人无进行抗病毒治疗。并请教了所医生郭主任。认为一周内无法降幅那么大。建议重抽。我们对两次结果的标本条码进行了三查三对未发现操作错误。2月9日我们重抽两支标本。结果仍符合原来不一致结果。然后我们对两份标本又进行了血型检测发现前一份(条码为B型)后一份(条码为AB型)不是同一病人血液。已报给科主任后再上报护理部处理人：[签名] 2009年2月9日

抱怨者意见：(在病历科室原因护士长不宜签名)
刘记：护理部张护士长责全消化-区查因。2月10日内科冯和消化-区卢护士长详细汇报了错抽血原因(错抽了一个新收病人血。因HBV-DNA空管滚到新收病人待抽空管处)并作了诚挚的道歉。对我们的认真、负责的态度表示赞扬。并希望今后增加科室间的沟通。
抱怨者签名：[签名] 2009年2月10日
当事人：护士长 [签名] (8723)

实例：标本条码信息错误

- 医嘱：申请单分别开出血液和尿CMV PCR检测
- 两份标本标签均为血液

审批流程

主题 标本条码信息错误引起的不良事件 申请单编号 ZK05201202140005

流程名称 质控/ZK_不良事件报告(区) 创建时间 2012-02-14

申请人 部门 实验室

可阅读人员

简要说明 标本条码显示的标本类型错误，引起采样错误。影响检验报告时效，进而影响医疗质量。

审批内容

不良事件报告表

发生地点：儿科病房

报告部门：产前诊断与遗传病诊疗中心实验室

发生日期：2012年2月13日11时0分

事件描述：

45床， (条码：2510393270；3310393269)

46床， (条码：2610393271；2710393272)

医嘱显示：各自分别开出血液巨细胞病毒PCR检测、尿液巨细胞病毒PCR检测但两位患儿的两个标本条码均显示血液标本，而且送到实验室的也是各自的两份血液标本。

不良后果：尿液标本未送检，错过了实验批次，造成结果延后。如果未及时发现，做双份相同实验则形成不合理的消耗及收费，影响满意度。

已采取的措施：

- (1) 告知儿科病房重新送尿液标本。
- (2) 通知信息科查找条码生产出错的原因。

预防类似事件的建议：

- (1) 信息系统的完善。
- (2) 采集样本时，碰到不符合常规的情况要立即咨询开医嘱的医生。

审批记录 2012-2-14 17:02:08



投诉实例：标本不合格及仪器问题

- 肝病门诊方医生投诉患者谭XX 2009.6.29与2009.7.13两次HBV DNA结果差异太大。
- 郭医生投诉患者唐XX 2009.7.10结果与患者临床病情不符。

患者	时间	结果
谭XX	090629 (标本2872)	< 1000 (原始)
		< 1000 (复查)
	090713 (标本3011)	9.13×10^8 (原始)
		5.4×10^8 (复查)
唐XX	090612 (标本2639)	< 1000 (原始)
		6×10^6 (复查)
	090713 (标本3011)	1.6×10^6 (原始)
		5×10^5 (复查)

- 原因分析：
谭XX0629标本**严重脂血**。患者4月为小三阳，7为大三阳。怀疑4月、7月标本**是否来自同一人**。措施是以后脂血标本拒收。三查三对。

唐XX标本的原始检测有问题，将同一天其他患者标本重测，发现2632-2639共8份原为阴性的标本中出现6个阳性，联系工程师是**当天仪器 (PE5700) 阀门开关不正常**，导致部分结果无法检测荧光造成假阴性。

TAB-4 抱怨记录表 2009年7月

接到抱怨时间: 2009年7月18日

抱怨者姓名: 方[] 郭[] 年龄: [] 性别: [] 职业: 医生

联系电话: 8614 联系地址: 肝病门诊

抱怨内容:

肝病门诊方[]医生抱怨其病人谭[] 2009.6.29与2009.7.13两次HBV-DNA结果差异太大;

郭[]医生反映病人唐[] 2009.7.10 HBV-DNA结果与病人临床病情不符。

记录人: [] 2009年7月13日

抱怨处理:

接到抱怨我们立即查阅历史工作资料, 并找出该两病人的原始标本, 于本周三重新复查: 结果如下

谭[]	09.6.29标本2872	< 1000 (原始)	唐[]	2009.7.10	6×10^6 (原始)
		< 1000 (复查)		3097标本	5.0×10^5 (复查)
	09.7.13标本3097	9.13×10^8 (原始)		2009.7.15	新抽血: 6.63×10^5
		5.4×10^8 (复查)			

我们观察到谭[] 6.29标本2872为严重脂血, 经查阅相关资料, 发现脂血会影响核酸的检测; 此外, 该病人09年4月为小三阳, 而7月为大三阳, 我们怀疑可能与病人病情变化, 或者4月、7月两份标本不是来自同一病人有关, 并建议以后所有脂血标本能拒收重抽, 另外, 我们要加强操作规范, 严格执行

抱怨者意见: 三查三对制度, 尽量避免出现差错

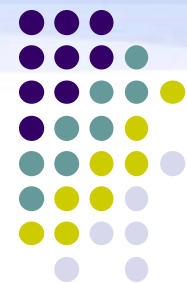
唐[] 2009.7.16

对操作规范进行进行了40分钟的教育和批评。

处理人签名: [] 年月日

抱怨者签名: [] 年月日





例如：标本不合格率和检验申请单错误率

- 某医院因为**标本不合格**（凝块、容器错误、标签错误、溶血等）而拒收标本率经统计分析为**0.5%**；因为**检验申请单错误**拒收标本率为**0.1%**。而当到这一年的9月份，突然“**标本不合格率**”上升到**2%**，“**检验申请单错误率**”上升至**1%**。怎么办？



标本不合格率和申请单错误率在9月明显增高



Plan

- **问题**：标本不合格率明显增高
- **原因分析**：8月新进医生和护士。
- **最主要原因**：新进人员未进行相关培训？
- **改进措施**：每年8月新进人员进行培训。

Do

- 按照新的人员培训SOP执行

Check

- 是否有同样的失控发生？
- 是否执行了新SOP？

Action

- 总结，并将新进人员培训写进相应SOP。
- 是否出现新的问题？





THANKS

