

• 短篇论著 •

血站核酸检测实验室质量监测指标分析*

刘春兰, 姜敏娜, 宋 雷

江西省九江市中心血站检验科, 江西九江 332000

摘要:目的 通过对核酸检测质量监测指标进行分析,为血液核酸检测质量改进提供数据支持,从而不断提升血液核酸检测能力。方法 对该血站 2018 年 1 月至 2019 年 12 月核酸检测质量监测指标进行回顾性分析。结果 核酸检测共计 95 428 人份标本,不合格率为 0.10%(95/95 428);拆分反应率为 57.06%(93/163);无效批次率为 2.03%(22/1 086);无效结果率为 2.26%(2 272/100 446);阳性对照无效引起结果无效占比最大(37.02%);仪器故障率为 12.05%(88/730);试剂使用率为 131.08%(125 084/95 428)。结论 核酸检测质量监测指标能发现检测过程中潜在的风险因素,便于及时采取纠正、预防措施,实现实验室质量体系的持续改进。

关键词:核酸检测; 质量监测; 质量体系**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2021.15.024**中图法分类号:**R446.61**文章编号:**1673-4130(2021)15-1902-04**文献标志码:**A

核酸检测(NAT)是指对病原体核酸进行提取、扩增和检测的一系列技术的总称,其基本步骤包括核酸纯化、扩增和产物检测^[1]。NAT 已成为血液筛查的常规检测方法之一^[2-4],与血清学检测相比,具有灵敏度高,对标本质量、人员操作和设备状态要求高,容易产生污染等特点^[5-9]。《血站技术操作规程(2019 版)》中 4.11 条款要求,实验室要选择能够实时反映试验性能变化或系统变化的参数进行试验监控^[10]。因此,为了更好地监控血液 NAT 过程,评估和确认过程的稳定性及可靠性,本单位目前采用几种指标对 NAT 日常运行情况进行监控,均于每月初对上个月的试验进行情况进行回顾性分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对本单位 NAT 实验室 2018 年 1 月至 2019 年 12 月 NAT 基本情况进行回顾性分析,数据来源于《启奥血站管理信息系统》和实验室日常记录。

1.2 仪器与试剂 主要试剂:乙型肝炎表面抗原(HBsAg)试剂(厦门新创、上海科华);丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)试剂(厦门新创、北京万泰);人类免疫缺陷病毒(HIV)抗原/抗体(1+2 型)试剂(厦门新创、珠海丽珠);梅毒螺旋体抗体(抗-TP)试剂(厦门新创、北京万泰);乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、HIV(1+2 型)NAT 试剂盒(PCR-荧光法,罗氏公司)。配套耗材由试剂厂家提供,均在有效期内使用,且严格按照试剂盒说明书进行操作。主要仪器:STAR 全自动加样仪(瑞士 HAMILTON);FAME 全自动酶免分析仪(瑞士 HAMILTON);Co-

bas s201 全自动 NAT 系统(罗氏公司,A/B 两套)。所有仪器使用前均进行了校准和维护。

1.3 方法 采用两种不同厂家试剂以 ELISA 对 HBsAg、抗-HCV、HIV 抗原/抗体、抗-TP 进行检测,采用速率法对丙氨酸氨基转移酶(ALT)进行检测。上述检测项目均呈非反应性的血液标本采用 HBV/HCV/HIV 三联 NAT 试剂进行 1 遍 6 混样 NAT, NAT 呈反应性混样标本则进行单人份拆分检测,各项质量监测指标均按照《血站血液检测实验室质量监测指标:T/CSBT 004-2009》^[11]进行计算:NAT 不合格率 = $\frac{\text{NAT 检测不合格标本数}}{\text{NAT 检测标本数}} \times 100\%$; NAT 无效

批次率 = $\frac{\text{NAT 无效批次数}}{\text{NAT 批次总数}} \times 100\%$; NAT 拆分反应

率 = $\frac{\text{NAT 拆分结果为反应性混样孔数}}{\text{NAT 拆分混样孔数}} \times 100\%$; NAT 无效结果率 = $\frac{\text{NAT 无效结果标本数}}{\text{NAT 检测标本数}} \times 100\%$; 设备故障率 = $\frac{\text{设备故障天数}}{\text{天数}} \times 100\%$; 试剂使用率 = $\frac{\text{试剂使用人份数}}{\text{试剂检测人份数}} \times 100\%$ 。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件进行数据处理和分析,计数资料以例数或率表示,组间比较行 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 总体质量监测指标

2.1.1 检测人份数 NAT 共计检测 95 428 人份,其

* 基金项目:江西省九江市指导性科技计划项目([2020]31-41)。

本文引用格式:刘春兰,姜敏娜,宋雷.血站核酸检测实验室质量监测指标分析[J].国际检验医学杂志,2021,42(15):1902-1905.

中 2018 年检测量为 47 090 人份,2019 年检测量为 48 338 人份。见图 1。

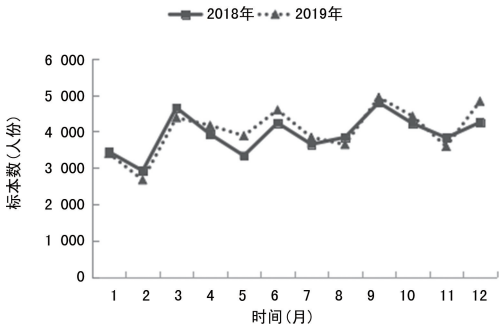


图 1 NAT 的标本数

2.1.2 不合格率 NAT 不合格率为 0.10%(95/95 428, 其中 1 例为 HIV, 其余均为 HBV)。2018 年 NAT 不合格率为 0.13%(59/47 090), 12 月不合格率最高, 为 0.26%(11/4 248); 2019 年 NAT 不合格率为 0.07%(36/48 338), 7 月不合格率最高, 为 0.16%(6/3 841)。NAT 不合格率与 HBsAg 不合格率随时间的变化趋势基本一致。见图 2。

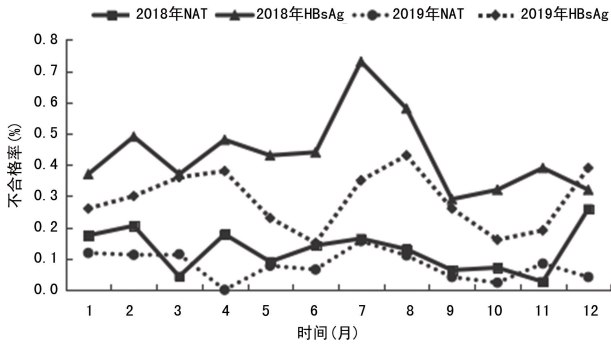


图 2 NAT 和 HBsAg 不合格率

2.2 检测中质量监测指标

2.2.1 拆分反应率 NAT 拆分反应率为 57.06%(93/163), 其中 2018 年拆分反应率为 64.77%(57/88), 4 月和 10 月拆分反应率较高, 分别为 87.50%(7/8)和 100.00%(3/3); 2019 年拆分反应率为 48.00%(36/75), 1 月拆分反应率最高, 为 80.00%(4/5), 4 月拆分反应率最低, 为 0(0/3)。见图 3。2019 年未拆出混样孔为 39 个, 其中 25 个混样孔 CT 值大于 38。

2.2.2 无效批次率 NAT 无效批次率为 2.03%(22/1 086), 其中 2018 年无效批次率为 2.23%(12/538), 11 月最高, 为 8.51%(4/47); 2019 年无效批次率为 1.82%(10/548), 9 月最高, 为 5.56%(3/54)。

2.2.3 无效结果率 NAT 无效结果率为 2.26%(2 272/100 446)。其中 2018 年无效结果率为 2.52%(1 222/48 436), 11 月最高, 为 11.61%(486/4 187); 2019 年无效结果率为 2.02%(1 050/52 010), 9 月最

高, 为 6.38%(342/5 362)。无效结果类型混样孔数统计中, 阳性对照无效引起结果无效占比最大, 其次为设备故障和扩增曲线异常。扩增曲线异常引起结果无效 97 个, 其中 95 个发生在 A 套设备, 2 个发生在 B 套设备。见图 4、表 1。

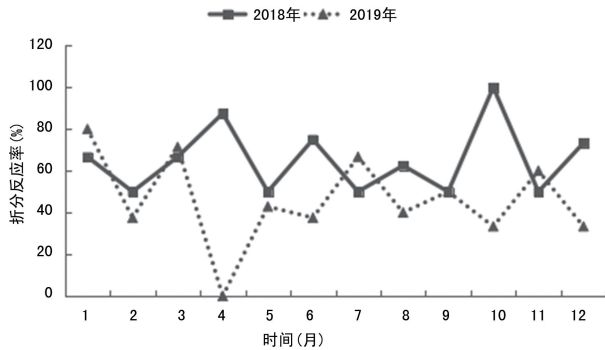


图 3 NAT 拆分反应率

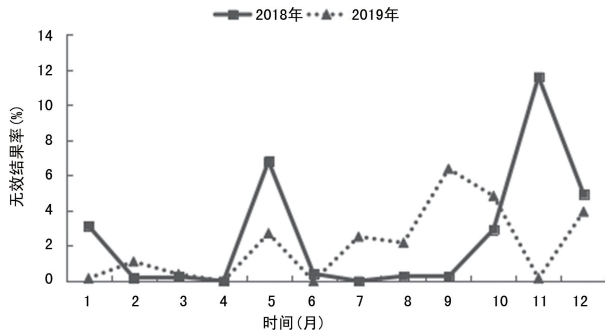


图 4 NAT 无效结果率

表 1 NAT 无效结果类型混样孔数统计[%(n/n), n=416]

无效类型	2018 年占比	2019 年占比	合计
设备故障	31.18(87/279)	32.85(45/137)	31.73(132/416)
内标因素	0.72(2/279)	0.73(1/137)	0.72(3/416)
扩增曲线异常	22.58(63/279)	24.82(34/137)	23.32(97/416)
质控无效	0.00(0/279)	5.11(7/137)	1.68(7/416)
阳性对照无效	41.22(115/279)	28.47(39/137)	37.02(154/416)
人为差错	4.30(12/279)	0.00(0/137)	2.88(12/416)
其他因素	0.00(0/279)	8.03(11/137)	2.64(11/416)

2.3 支持过程的质量监测指标

2.3.1 设备故障率 NAT 设备故障率为 12.05%(88/730), 其中 9 月、10 月和 12 月较高, 分别为 46.67%(28/60)、22.58%(14/62)和 12.90%(8/62); A 套设备(2012 年 10 月投入使用)故障率明显高于 B 套设备(2017 年 8 月投入使用), 差异有统计学意义($\chi^2=10.980, P<0.05$); 上半年设备故障率为 7.18%(26/362), 下半年设备故障率为 16.85%(62/368), 下半年设备故障率明显高于上半年, 差异有统计学意义($\chi^2=13.772, P<0.05$)。2018 年设备故障率为 12.60%(46/365), A 套设备故障率为

6.85% (25/365), B 套设备故障率为 5.75% (21/365);2019 年设备故障率为 11.51% (42/365),A 套设备故障率为 9.59% (35/365),B 套设备故障率为 1.92% (7/365)。B 套设备 2018 年故障率明显高于 2019 年,差异有统计学意义($\chi^2=6.744, P<0.05$)。

2.3.2 试剂使用率 NAT 试剂使用率为 131.08% (125 084/95 428),其中 2018 年试剂使用率为 130.24% (61 330/47 090),5 月、8 月和 11 月较高,分别为 137.25% (4 580/3 337)、141.60% (5 436/3 839) 和 140.60% (5 382/3 828);2019 年试剂使用率为 131.89% (63 754/48 338),1 月和 8 月较高,分别为 138.93% (4 721/3 398) 和 137.22% (4 996/3 641)。见图 5。

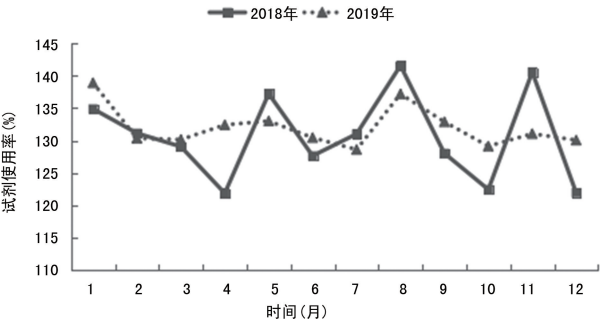


图 5 NAT 试剂使用率

3 讨 论

2018 年和 2019 年 NAT 月检测量变化趋势基本一致。9 月、10 月和 12 月检测量较大(图 1),设备故障率也较高(其中 9 月最高,为 46.67%),可能因为在工作量加大的情况下,设备运行风险会相应增加^[2],这提示实验室要增加设备维护频次。两年间 2 月 NAT 检测量均较小,但拆分反应率均不高(图 3),与张妍等^[12]报道结果一致。可能是因为标本量少或节假日(中国春节假期一般在 2 月)时,操作人员的责任心下降,实验室的清洁消毒不到位。因此,实验室一定要加强节假日期间的监督管理。

本实验室 NAT 除检出 1 例 HIV 窗口期标本外,其余均为 HBV,NAT 不合格率可结合 HBsAg 检出率同步分析。NAT 不合格率与 HBsAg 不合格率各月份的变化趋势基本一致(图 2)。NAT 不合格率反映实验室检测的稳定性,在一定时期内应处于相对稳定的状态^[13]。本研究显示,2018 年 12 月 NAT 不合格率异常升高,达到了 0.26%,而 HBsAg 检出率并未升高,提示 NAT 过程存在异常。分析发现,本实验室从 2018 年 12 月起外部阳性质控品随机放入标本间参与混样操作,质控品在放样和处理过程中易造成标本污染。实验室采取了以下措施使 NAT 不合格率恢复正常:(1)质控品作为弱阳性标本,最后开盖放到样本架上,避免长时间处于开盖状态,造成气溶胶污

染;(2)质控品放置时避免经过开盖的标本;(3)触摸完质控品的手套立即丢弃,并更换新手套;(4)质控品加样完成后,尽快盖上盖子。2019 年 4 月和 12 月 NAT 不合格率和拆分反应率均较低,而 HBsAg 不合格率均较高,提示 NAT 灵敏度可能下降,实验室需加强检测过程中各关键点的控制。2019 年 7 月 NAT 不合格率(0.16%)和 HBsAg 不合格率(0.35%)均较高,拆分反应率也较高(66.67%),判断应为输血感染风险较大的献血者增加所导致^[14]。

2019 年本实验室 NAT 拆分反应率为 48.00%,低于使用相同检测系统的徐州地区(63.30%)^[15]和渭南地区(61.11%)^[16]。据报道,某实验室所用检测系统的拆分反应率应为 60%左右^[12]。分析未拆出混样孔 CT 值发现,共有 39 个混样孔未拆出,其中 25 个混样孔 CT 值>38,提示假阳性增加。可能原因如下:(1)清洁消毒不到位;(2)实验室新增两名检测人员,基础理论较薄弱,操作规范性较差;(3)实验室通风效果不佳,本实验室是 2012 年改造的,自然通风条件较差,增加了污染风险;(4)实验室周围房屋拆建,环境清洁度下降;(5)外部阳性质控品采用混样模式检测,易造成标本污染;(6)标本采用直拔式开盖机开盖,易造成标本间交叉污染。针对以上情况,实验室采取了以下措施:(1)增加清洁消毒频次,并延长实验室通风时间;(2)加强操作人员培训,提高操作技能和工作责任心;(3)请厂家工程师到现场指导,进一步规范操作;(4)停止使用开盖机,采用手动开盖。通过以上措施,2020 年 1 月和 2 月拆分反应率分别上升至 50.00%和 70.00%。为了保证 NAT 的质量,首先,实验室建设时要保证良好的自然通风效果;其次,实验室若采用开盖机对标本进行开盖,尽量选择螺旋式开盖的开盖机,避免标本间交叉污染;另外,NAT 对操作人员的综合素质要求较高,尽量选择理论知识较扎实,工作责任心较强,进行了 NAT 操作培训的工作人员。

本实验室 NAT 无效批次率为 2.03%,低于上海地区(2.71%)^[17]和自贡地区(3.67%)^[18],无效结果为 2.26%,低于郑州地区(2.62%)^[19],主要由阳性对照无效、设备故障和扩增曲线异常引起,与蔡华英等^[18]报道结果一致。分析发现,A 套设备(2012 年 10 月投入使用)故障率明显高于 B 套设备(2017 年 8 月投入使用),差异有统计学意义($\chi^2=10.980, P<0.05$),可能随着设备老化,故障率升高。B 套设备 2018 年故障率明显高于 2019 年,差异有统计学意义($\chi^2=6.744, P<0.05$),提示与新设备运行不稳定有关。下半年设备故障率明显高于上半年,差异有统计学意义($\chi^2=13.772, P<0.05$),可能因为中国南方

地区下半年天气湿冷,设备易发生故障。查看扩增曲线异常引起结果无效的 97 个混样孔发现,其中 95 个发生在 A 套设备,2 个发生在 B 套设备。可能随着设备使用年限增加,设备内部管路清洁度下降和各检测部件老化,设备稳定性下降。因此,实验室使用年限较长的设备要增加维护保养频次,并请厂家设备工程师做好设备年度保养^[20],减少工作负荷^[21],必要时更换核酸提取仪的所有管路系统。

本实验室 NAT 设备故障率较高(12.05%),主要原因是本实验室有两套 NAT 设备,其中一套设备故障后,实验室会启用另一套设备进行检测,未及时催促维修工程师到现场对设备进行维修,导致设备不能投入使用的时间较长。

2018 年 5 月和 11 月试剂使用率较高,分析发现主要与结果无效引起试剂浪费有关。2018 年 8 月和 2019 年 1、8 月试剂使用率也较高,主要与检测标本量不“满架”造成试剂浪费有关。因此,为了减少试剂损耗,要加强试验过程中各个环节的质量控制,减少因人为操作不到位而导致的试剂报废。此外,在保证 NAT 质量的前提下,尽量“满架”检测。

综上所述,NAT 质量监测指标能发现检测过程中潜在的风险因素,便于及时采取纠正、预防措施,实现实验室质量体系的持续改进。

参考文献

[1] 林诗雅,王湜,李仲平,等. 2015 年广州地区无偿献血者核酸和 ELISA 检测结果分析[J]. 临床输血与检验,2017,19(2):137-141.

[2] 方建华,王艺芳,葛文超,等. 核酸检测实验室质量监控指标的探讨[J]. 中国输血杂志,2019,32(4):399-402.

[3] LI L,LI K Y,YAN K,et al. The history and challenges of blood donor screening in China[J]. Transfu Med Rev, 2017,31(2):89-93.

[4] ROTH W K. History and future of nucleic acid amplification technology blood donor testing[J]. Transfus Med Hemother,2019,46(2):67-75.

[5] 孙四力. 无偿献血者血液病原体 ELISA 与核酸检测结果分析[J]. 首都食品与医药,2020,27(5):132-133.

[6] 周晓泉,钟江,刘玉娇. 采供血机构核酸检测实验室质量控制体系及监控指标的建立[J]. 中国卫生标准管理, 2016,7(11):195-197.

[7] CANDOTTI D,LIN C K,BELKHIRI D,et al. Occult hepatitis B infection in blood donors from South East A-

sia;molecular characterisation and potential mechanisms of occurrence[J]. Gut,2012,61(12):1744-1753.

[8] GALEL S A,SIMON T L,WILLIAMSON P C,et al. Sensitivity and specificity of a new automated system for the detection of hepatitis B virus,hepatitis C virus,and human immunodeficiency virus nucleic acid in blood and plasma donations[J]. Transfusion,2018,58(3):649-659.

[9] GREENWALD M A,KERBY S,FRANCIS K,et al. Detection of human immunodeficiency virus,hepatitis C virus,and hepatitis B virus in postmortem blood specimens using infectious disease assays licensed for cadaveric donor screening [J]. Transpl Infect Dis, 2018, 20(1): e12825.

[10] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 血站技术操作规程(2019 版):国卫医函[2019]98 号附件[S]. 北京:中华人民共和国国家卫生健康委办公厅,2019:36-37.

[11] 中国输血协会. 血站血液检测实验室质量监测指标:T/CSBT 004-2019[S]. 北京:中国输血协会,2019:4-11.

[12] 张妍,唐建华,李英莲,等. 核酸检测实验室常用质量监控指标的探讨[J]. 中国输血杂志,2014,27(6):620-622.

[13] 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.

[14] 汪德海,王瑞,葛红卫. 血站核酸检测实验室质量监控指标应用[J]. 中国输血杂志,2012,25(6):524-527.

[15] 李艳,赵艳梅,时昌军,等. 徐州地区无偿献血者 NAT 检测情况及 HBsAg+ /HBV DNA+ 献血者流行病学分析[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2018,31(6):946-948.

[16] 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.

[17] 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.

[18] 蔡华英,赖世平,王翠辉,等. 对血液标本进行核酸检测时导致检测结果无效的原因及解决对策[J]. 当代医药论丛,2019,17(5):11-13.

[19] 贾彦巍. 3 844 份无偿献血者血液核酸检测无效结果原因及对策分析[J]. 首都食品与医药,2019,26(4):63.

[20] 秦隽丽,潘登,戴田,等. 血站核酸实验室质量监控及分析[J]. 中国卫生检验杂志,2017,27(5):754-755.

[21] 谢小琴,尹丹,魏兰,等. 持续改进在核酸实验室质量管理中的实施及效果评价[J]. 中国输血杂志,2018,31(10): 1196-1199.

(收稿日期:2020-12-22 修回日期:2021-05-20)