

- 业教育,2021,1(8):183-184.
- [5] HE X, SHENG J, YU W, et al. LncRNA MIR155HG promotes temozolomide resistance by activating the Wnt/ β -Catenin pathway via binding to PTBP1 in glioma[J]. Cell Mol Neurobiol, 2021, 41(6):1271-1284.
- [6] 唐敏, 张玉高. 系统性红斑狼疮患者血清 LncRNA MIR155HG 的表达及临床意义[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(2):213-216.
- [7] 中华医学会, 中华医学杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 2 型糖尿病基层诊疗指南(实践版·2019)[J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(9):810-818.
- [8] 孟焕新. 牙周病学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2012:41-42.
- [9] KWON T, LAMSTER I B, LEVIN L. Current concepts in the management of periodontitis[J]. Int Dent J, 2021, 71(6):462-476.
- [10] GAO H, XU J, HE L, et al. Calprotectin levels in gingival crevicular fluid and serum of patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus before and after initial periodontal therapy[J]. J Periodontal Res, 2021, 56(1):121-130.
- [11] 封艳, 马莉, 刘成军, 等. 2 型糖尿病合并慢性牙周炎患者血清与龈沟液中抵抗素水平的研究[J]. 中华老年口腔医学杂志, 2021, 19(2):93-96.
- [12] XU J, YIN Y, LIN Y, et al. Long non-coding RNAs: Emerging roles in periodontitis [J]. J Periodontal Res, 2021, 56(5):848-862.
- [13] LIN Y, JIN L, WM T, et al. Identification and integrated analysis of differentially expressed long non-coding RNAs associated with periodontitis in humans[J]. J Periodontal Res, 2021, 56(4):679-689.
- [14] 梁伊乐, 胡新俊, 岳峰, 等. 肺结核病人外周血长链非编码 RNA MIR155 宿主基因的表达研究[J]. 安徽医药, 2021, 25(7):1359-1362.
- [15] HUAN Z, MEI Z, NA H, et al. lncRNA MIR155HG alleviates depression-like behaviors in mice by regulating the miR-155/BDNF axis[J]. Neurochem Res, 2021, 46(4):935-944.
- [16] BONILLA-MURO M G, HERNÁNDEZ D O, GONZALEZ-BARRIOS J A, et al. EsxA mainly contributes to the miR-155 overexpression in human monocyte-derived macrophages and potentially affect the immune mechanism of macrophages through miRNA dysregulation[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2021, 54(2):185-192.
- [17] WU P, FENG J, WANG W. Expression of miR-155 and miR-146a in the saliva of patients with periodontitis and its clinical value[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(6):6670-6677.
- [18] RADOVIC N, NIKOLIC J N, PETROVIC N, et al. microRNA-146a and microRNA-155 as novel crevicular fluid biomarkers for periodontitis in non-diabetic and type 2 diabetic patients[J]. J Clin Periodontol, 2018, 45(6):663-671.
- [19] 赵华, 李夏宁, 曾宪莉, 等. 慢性牙周炎患者牙周膜细胞群的 miR-155 表达[J]. 口腔疾病防治, 2018, 26(6):370-373.

(收稿日期:2022-01-28 修回日期:2022-05-28)

• 短篇论著 •

血浆组织因子微粒、脱- γ -羧基凝血酶原、神经元特异性烯醇化酶在胃癌患者血液高凝状态中的临床价值

李莹莹¹, 朱晓东¹, 冯兴勇¹, 余洁², 邹佳华^{1△}

湖北省黄冈市中心医院:1. 肿瘤内科;2. 胃肠外科, 湖北黄冈 438000

摘要:目的 探讨血浆组织因子微粒(TF-MPs)、脱- γ -羧基凝血酶原(DCP)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)在胃癌患者血液高凝状态中的临床价值。方法 选取2018年1月至2021年1月该院就诊的86例Ⅲ~Ⅳ期不可手术治疗的晚期胃癌患者作为研究对象,根据传统凝血功能检测结果分为高凝组38例和非高凝组48例,在入院后第1天检测两组患者的血浆TF-MPs及血清DCP、NSE水平,并进行对比;采用多元线性回归分析胃癌患者血液高凝状态的独立危险因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线评价3项指标的诊断效能。结果 高凝组的TF-MPs、DCP、NSE水平均高于非高凝组,差异有统计学意义($P < 0.05$);多元线性回归分析结果显示,TF-MPs、DCP、NSE升高是胃癌患者血液高凝状态的独立危险因素($P < 0.05$);TF-MPs、DCP、NSE诊断胃癌患者血液高凝状态的灵敏度分别为89.50%、94.70%、86.80%,特异度分别为85.40%、95.80%、97.90%;ROC曲线分析结果显示,TF-MPs、DCP、NSE诊断胃癌患者血液高凝状态的AUC分别为0.906(95%CI为0.840~0.972)、0.986(95%CI为0.968~0.991)、0.990(95%CI为0.985~0.997)。结论 处于血液高凝状态的胃癌患者血浆TF-MPs及血清DCP、NSE水平会升高,上述指标对于诊断胃癌患者血液高凝状态具有较高的准确性。

关键词:组织因子微粒; 脱- γ -羧基凝血酶原; 神经元特异性烯醇化酶; 胃癌; 血液高凝状态

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.21.025

中图法分类号:R735.2

文章编号:1673-4130(2022)21-2677-04

文献标志码:A

肿瘤患者血液的高凝状态可能是由肿瘤细胞损伤血管内皮,产生局部炎症反应,以及肿瘤细胞释放

组织因子和癌前促凝物质引起的^[1]。近年来的研究发现,血液高凝状态对机体的损伤不仅体现为可导致血栓形成,还可通过刺激血管内皮、促进血管生成、增加血小板活性、调节免疫和改变血流动力学等促进肿瘤细胞的生长和扩散。因此,通过检测相关指标的变化,及时发现凝血功能异常,并及时治疗,从而预防肿瘤患者动静脉血栓形成,延长患者生存时间,改善其生活质量^[2]。组织因子作为外源性凝血通路的启动子,存在于细胞颗粒表面,形成组织因子微粒(TF-MPs),其表面的磷脂酰丝氨酸和组织因子具有较强的促凝活性^[3]。维生素 K 缺乏或抗体-II 诱导产生的凝血酶原是一种缺乏凝血活性的异常凝血酶原,又称为脱- γ -羧基凝血酶原(DCP)^[4]。此外,血清神经元特异性烯醇化酶(NSE)水平可能与肿瘤患者相关凝血指标的变化存在一定的关联^[5]。有研究发现,NSE 水平的升高是血液高凝状态发生的风险因素^[6]。本研究主要探讨了 TF-MPs、DCP、NSE 与胃癌患者血液高凝状态的关系,同时分析了上述 3 项指标对胃癌患者血液高凝状态的诊断价值,旨在为临床防治胃癌患者血液高凝状态提供一定的参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月至 2021 年 1 月本院就诊的Ⅲ~Ⅳ期不可手术治疗的晚期胃癌患者作为研究对象。纳入标准:(1)通过病理检查确诊为胃癌;(2)近 30 d 内未使用过抗凝、化疗药物或血液制品;(3)近 30 d 内未接受过局部放疗;(4)一般资料完整。排除标准:(1)合并严重肝、肾损伤;(2)合并对凝血功能产生影响的自身免疫性疾病;(3)合并对凝血功能产生影响的遗传或获得性血液系统疾病;(4)不配合研究;(5)因各种原因退出研究。按纳入与排除标准选取符合条件的患者 86 例,其中男 47 例,女 39 例;年龄 50~82 岁,平均(63.12±10.22)岁。参照传统凝血功能检测结果分为高凝组 38 例和非高凝组 48 例。满足下列 2 项者可诊断为高凝状态^[7]:(1)凝血酶原时间缩短>3 s;(2)活化部分凝血活酶时间缩短>3 s;(3)纤维蛋白原>4 g/dL;(4)D 二聚体>300 μ g/L;(5)血小板计数>30×10⁹/L。高凝组中男 19 例,女 19 例;年龄 52~80 岁,平均(64.03±10.17)岁。非高凝组中男 28 例,女 20 例;年龄 53~82 岁,平均(63.06±10.02)岁,两组性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。所有研究对象均自愿参与本研究,本研究经本院医学伦理委员会批准。

1.2 检测方法

1.2.1 TF-MPs 检测 入院后第 1 天,取两组空腹

静脉血 5 mL 置于离心管中,并以 160×g 离心 20 min,获得富血小板血浆,吸取 2/3 上层血浆再以 1 000×g 离心 20 min,取上清液获得乏血小板血浆。将异硫氰酸荧光素(FITC)标记的抗膜联蛋白 V(Annexin V)抗体(艾美捷科技有限公司)和藻红蛋白(PE)标记的抗 CD142 抗体(上海瑞齐生物技术有限公司)添加到 50 μ L 乏血小板血浆中,在室温下孵育 30 min,然后加入 1 mL 磷酸盐缓冲液,采用流式细胞仪(贝克曼库尔特公司)检测。样品上机前用 0.1~1.0 μ m 的标准进行前角设门,门中收集的微粒通过 FITC 和 PE 荧光强度进行分析。TF-MPs 定义为直径 0.1~1.0 μ m 且 CD142+/Annexin V+的微粒。

1.2.2 DCP、NSE 检测 入院后第 1 天,采集两组患者的血液标本,4 $^{\circ}$ C 低温条件下离心,取上清液,-80 $^{\circ}$ C 储存,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 DCP、NSE 水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS26.0 统计软件进行数据处理及统计分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析;采用多元线性回归分析胃癌患者血液高凝状态的独立危险因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线评价诊断效能,曲线下面积(AUC)<0.5 视为无诊断价值,AUC 为 0.5~<0.7 视为诊断准确性较低,AUC 为 0.7~0.9 视为诊断准确性较高,AUC 为>0.9 视为诊断准确性高。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 TF-MPs、DCP、NSE 水平比较 高凝组的 TF-MPs、DCP、NSE 水平均高于非高凝组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组 TF-MPs、DCP、NSE 水平比较($\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	TF-MPs(%)	DCP(mau/mL)	NSE(pg/mL)
高凝组	38	1.66±0.12	92.86±10.22	2.48±0.13
非高凝组	48	1.27±0.32	72.65±5.32	1.82±0.22
<i>t</i>		7.120	11.835	16.358
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 胃癌患者血液高凝状态的危险因素分析 以血液高凝状态(定义“高凝组”=1,“非高凝组”=2)作为因变量,TF-MPs、DCP、NSE 水平作为自变量进行多元线性回归分析,结果显示,TF-MPs、DCP、NSE 水平升高为胃癌患者血液高凝状态的独立危险因素($P<0.05$)。见表 2。

2.3 TF-MPs、DCP、NSE 诊断胃癌患者血液高凝状态的 ROC 曲线分析 TF-MPs、DCP、NSE 诊断胃癌患者血液高凝状态的效能见表 3 和图 1。

表 2 胃癌患者血液高凝状态的危险因素分析

变量	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>Wald</i> χ ²	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
TF-MPs	0.409	0.201	4.141	0.034	1.505	1.025~2.869
DCP	1.021	0.515	3.930	<0.001	2.776	1.482~4.537
NSE	0.385	0.165	5.444	<0.001	1.470	1.108~3.025

表 3 TF-MPs、DCP、NSE 诊断胃癌患者血液高凝状态的效能

指标	cut-off	灵敏度(%)	特异度(%)	准确度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	AUC(95%CI)
TF-MPs	1.556%	89.50	85.40	87.20	89.50	85.40	0.906(0.840~0.972)
DCP	82.458 mau/L	94.70	95.80	95.30	94.70	95.80	0.986(0.968~0.991)
NSE	2.319 pg/mL	86.80	97.90	93.00	86.80	97.90	0.990(0.985~0.997)

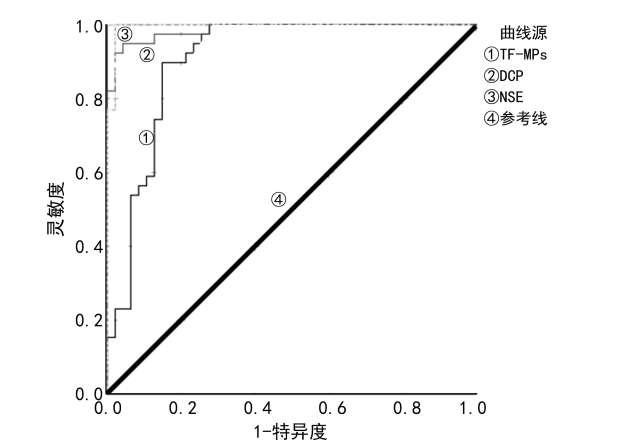


图 1 TF-MPs、DCP、NSE 诊断胃癌患者血液高凝状态的 ROC 曲线

3 讨 论

血液高凝状态也叫血栓前状态,表现为止血与抗血栓平衡状态失调,凝血功能增强,易形成血栓。血液高凝状态存在于诸多疾病的发展过程中,可遗传或后天获得。根据血液高凝状态的病理机制,可分为原发性和继发性血液高凝状态,后者在临床上非常常见^[7]。据统计,15%左右的肿瘤患者在疾病发展过程中存在显性的静脉血栓栓塞。尸检发现肿瘤患者血栓形成的发生率更高,已成为恶性肿瘤患者死亡的第二大原因^[8]。因此,及时诊断和纠正血液高凝状态对提高恶性肿瘤患者的生存率具有十分重要的临床意义。

组织因子以微粒为载体形成 TF-MPs,与丝氨酸蛋白酶因子Ⅶ/Ⅶa 结合形成双分子复合物,在凝血因子Ⅶ的作用下激活凝血因子Ⅶ转化为凝血因子Ⅶa,将凝血酶原转化为凝血酶,在血栓形成中起着非常重要的作用^[9]。NSE 是糖酵解酶烯醇化酶的细胞特异性同工酶,分布于神经元和神经内分泌细胞。在胃肠道和胰腺神经内分泌肿瘤患者的血清中升高,对上述疾病的诊断和预后评估有重要的临床意义^[10]。然而,目前很少有关于 NSE 与胃癌血液高凝状态的研究。与正常凝血酶原相比,DCP 的 γ-羧基谷氨酸结构中谷氨酸残基不能完全羧基化为 γ-羧基谷氨酸,使其失去

正常的凝血功能^[11]。

本研究结果显示,高凝组的 TF-MPs、DCP、NSE 水平均高于非高凝组($P<0.05$),提示 TF-MPs、DCP、NSE 水平对胃癌患者的血液高凝状态有一定的影响,进一步回归分析结果发现,TF-MPs、DCP、NSE 水平升高为胃癌患者血液高凝状态的独立危险因素($P<0.05$),提示上述指标可作为预测胃癌患者血液高凝状态的指标。TF-MPs 是组织因子和微粒的组合,在结合后,其开始产生凝血级联反应,这在外源性凝血途径中非常重要。在健康人体内,游离组织因子水平很低,促凝活性很弱;当组织因子和微粒结合时,提供了一个带负电荷的磷脂酰丝氨酸的反应平台,组织因子的促凝活性大幅度提升,体内促凝-抗凝平衡被打破,出现血液高凝状态^[12]。在肿瘤合并静脉血栓栓塞的研究中,发现体内存在高水平的 TF-MPs^[13]。在正常状态下,凝血酶原由肝细胞微粒体的内质网产生,其前体的近 N 端功能区域有 10 个谷氨酸残基,在 γ-谷氨酰羧化酶的作用下转化为 γ-羧化谷氨酸,即形成具有凝血功能的凝血酶原,这一过程需维生素 K 的参与。当维生素 K 缺乏或谷氨酰羧化酶的功能减弱时,这种未羧化的谷氨酸残基可大量产生并释放入血^[14]。临床检测到的 DCP 正是这种凝血酶原前体,不具有凝血功能。DCP 产生越多,患者的凝血功能越差^[15]。此外,有研究发现,NSE 与活化部分凝血活酶时间、D-二聚体水平呈正相关^[16]。ROC 曲线分析结果显示,TF-MPs、DCP、NSE 诊断胃癌患者血液高凝状态的 AUC 均大于 0.9,说明上述指标对于诊断胃癌患者血液高凝状态具有较高的准确性。

综上所述,处于血液高凝状态的胃癌患者 TF-MPs、DCP、NSE 水平会升高,且上述指标对于诊断胃癌患者血液高凝状态具有较高的准确性。

参考文献

[1] 孙小峰,吴平平,朱华云. 晚期肿瘤导致血液高凝状态的机制及防治[J]. 实用老年医学,2018,32(4):312-316.

[2] 李晶晶,钟春生. 血小板与肿瘤相关性研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2017,25(23):3896-3900. (下转第 2688 页)

CLSI EP23-A 在新型冠状病毒核酸检测实验室风险管理中的应用*

王 秋,黄 韵,姜 航,林 雨,温 婧,余 辉,林 武,晏天翔,李 杰,纪 睿,夏 勇[△],纪 玲[▲]
北京大学深圳医院检验科,广东深圳 518036

摘 要:**目的** 将美国临床和实验室标准化协会(CLSI) EP23-A 应用于新型冠状病毒核酸检测实验室风险管理,以降低新型冠状病毒核酸检测过程中的潜在风险,提供更加准确、及时的检测结果。**方法** 从人员、仪器、试剂、方法、环境等实验室关键要素中识别潜在风险,参考 CLSI EP23-A 风险矩阵,根据风险严重程度、风险发生频率进行危害程度分级,然后针对评估出来的高风险因素采用鱼骨图寻找要因,采取预防措施,降低风险。**结果** 在新型冠状病毒核酸检测过程中评估出不可接受的高风险因素包括实验室污染导致结果假阳性及突发事件处置不当。通过加强人员培训、考核与监督,细化突发事件处置流程,定期实施应急演练等措施进一步控制,可降低新型冠状病毒核酸检测过程中的潜在风险。**结论** 通过对新型冠状病毒核酸检测实验室进行风险评估与管理,有利于降低检测过程中存在的风险,持续提高新型冠状病毒核酸检测的质量。

关键词:CLSI EP23-A; 新型冠状病毒; 核酸检测; 实验室风险; 风险评估

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2022. 21. 026 **中图法分类号:**R197. 3

文章编号:1673-4130(2022)21-2680-05 **文献标志码:**B

新型冠状病毒肺炎全球大流行已进入第三个年头,伴随新变异株的出现,疫情仍在全球范围内持续^[1]。新型冠状病毒核酸筛查是准确和快速地识别感染个体,防止新型冠状病毒传播,落实“早预防、早发现、早报告、早隔离”的重要措施^[2]。规范、高效地开展新型冠状病毒核酸检测是做好疫情防控的前提,全面强化新型冠状病毒核酸检测质量管理有助于检测机构科学、高效地完成工作^[3]。但目前疫情反复,多数核酸检测实验室为临时改扩建,检测人员也变动较大,因此,进一步加强实验室全流程、各环节的风险评估,采取持续改进措施,健全实验室安全及质量管理体系,以提高管理效果显得尤为迫切^[4]。风险是指影响检验结果的潜在危害,风险管理是风险识别、风险分析、风险评估和风险处理的全过程。风险识别是发现、承认和描述风险的过程,是风险管理的首要环节^[5],可通过查阅国内外颁布的指南、认可文件、文献等,结合实验室具体情况进行分析。《基于风险管理的实验室质量控制》[美国临床和实验室标准化协会(CLSI)EP23-A]^[6]强调医学实验室应建立和维持一套质量控制计划来管理风险,保证检验结果质量。目前,鲜有基于 CLSI EP23-A 在新型冠状病毒核酸检测实验室风险评估中应用的研究,本文参考 CLSI EP23-A 中的风险管理流程及方法,就疫情防控中新型冠状病毒核酸检测实验室的安全及质量问题进行探讨^[6]。

1 材料与方法

1.1 材料 北京大学深圳医院新型冠状病毒核酸检

测实验室人员(人)、仪器(机)、试剂(料)、方法(法)、环境(环)等关键要素。

1.2 方法

1.2.1 风险评估 根据 CLSI EP23-A 指南,参考国内卫生行政部门发布的新型冠状病毒肺炎防控相关规范和指导文件等,结合实验室具体情况进行分析,具体流程见图 1。

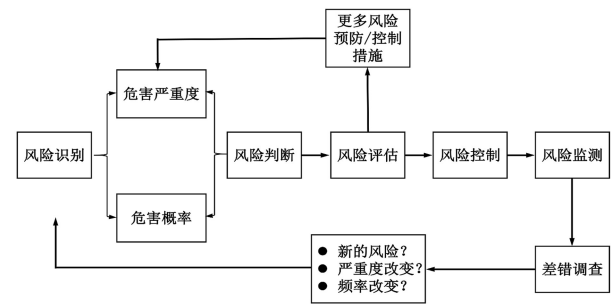


图 1 风险管理流程

本次风险评估由实验室质量负责人、技术负责人、实验室工作人员组成的质量安全及风险评估小组,采用风险矩阵法进行风险识别与评估。风险发生的可能性分级:常发(每周一次)、可能(每月一次)、偶然(每年一次)、极小(每隔几年一次)、不可能(整个检测期间未发生)。严重度分级:可忽略(造成实验室工作不便)、微小(工作量增加或需要重新检测等)、严重(大批量检验报告超时等)、重大(实验室污染等造成人力资源社会成本浪费等)、特别重大(假阴性、假阳

* 基金项目:广东省重点领域研发项目(2020B1111160001);深圳“三名工程”项目(NO. SZSM201812088);广东省深圳市科技计划项目基础研究(面上项目)(JCYJ2019080909520358)。

[△] 通信作者, E-mail: sunmoonrain78@163. com。 [▲] 共同通信作者, E-mail: 1120303921@qq. com。

性等造成重大社会事件)^[7],综合风险发生可能性和严重度分级见表 1。

1.2.2 风险分析 采取经验总结及头脑风暴方式进行风险分析^[8],并针对不可接受风险的高风险因素绘制鱼骨图,从人、机、料、法、环 5 方面分别分析需采取措施降低残余风险。

1.2.3 风险控制和效果评估 在原有控制措施下,对风险等级程度为不可接受的实验活动采取控制措施。采取控制措施后进行再次评估,监测风险是否降低,以评价风险控制的效果,从根本上降低剩余风险。

2 结 果

2.1 检测过程的风险评估 采用风险矩阵法对 5 要素进行评估,发现两项不可接受的高风险因素,即实验室污染导致结果假阳性、突发事件处置不当,见表 2。

2.2 两种不可接受风险的要因分析 绘制鱼骨图,以投票方式选出要因,发现实验室污染导致检测结果

假阳性的要因包括对假阳性结果未有效识别;清洁人员操作不当。缺乏考核监督制度;阳性质控物或扩增产物处理不当;突发事件处置不当的要因包括人员缺乏警惕性,未经应急演练,人员经验不足;阳性复检及上报机制不清晰。见图 2~3。

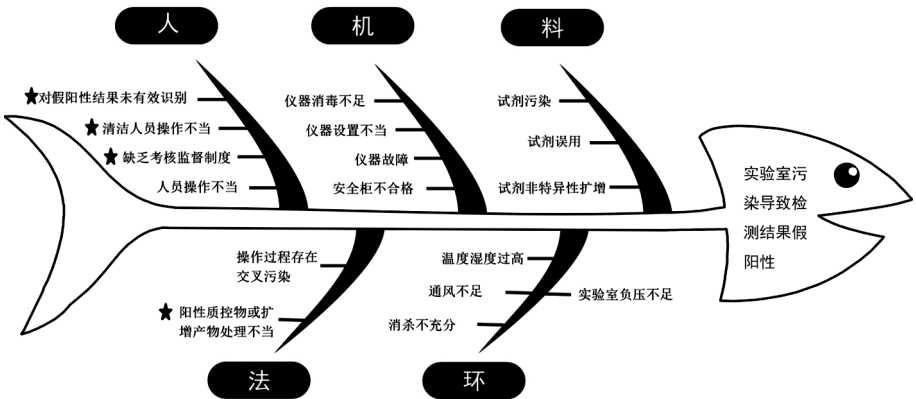
2.3 风险管理和效果评估 针对两项高风险的 7 个要因进行了管理,采取相应措施。再次对这两个风险因素进行了监控,评估剩余风险为可接受。见表 3。

表 1 风险矩阵表

发生可能性	严重度分级				
	可忽略	微小	严重	重大	特别重大
常发	不可接受	不可接受	不可接受	不可接受	不可接受
可能	可接受	不可接受	不可接受	不可接受	不可接受
偶然	可接受	可接受	可接受	不可接受	不可接受
极小	可接受	可接受	可接受	不可接受	不可接受
不可能	可接受	可接受	可接受	可接受	可接受

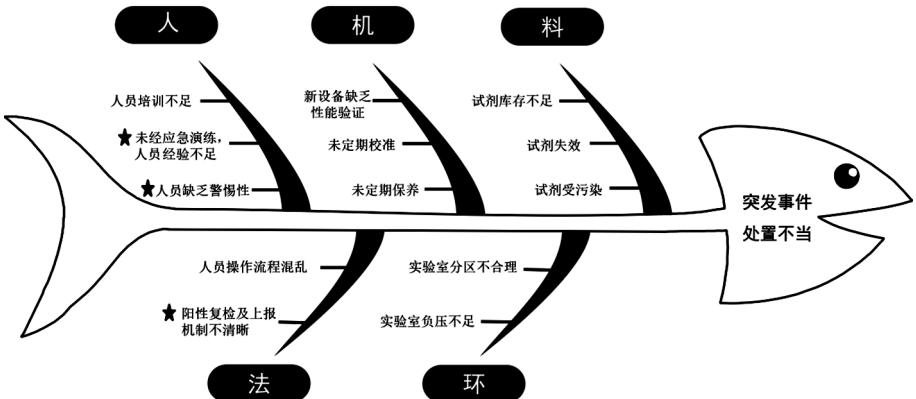
表 2 新型冠状病毒核酸检测过程风险评估

实验活动及项目	存在风险	风险控制措施	发生的可能性	严重度分级	风险等级程度
人员	防护不到位	(1)加强培训、监督和考核;(2)仔细检查防护品有无破损	极小	严重	可接受
	操作不规范	(1)加强标准操作规程(SOP)学习与实操培训、监督和考核;(2)人员比对和评估	偶然	严重	可接受
	标本条码无法识别	(1)及时与临床科室沟通,开展相关培训;(2)避免 75%乙醇消毒喷洒到条码或更换含氯消毒液消毒	极小	严重	可接受
	突发事件处置不当	强化操作规程的学习	偶然	重大	不可接受
仪器	仪器设备故障	(1)增加备用机;(2)培训常见故障处理	极小	严重	可接受
	仪器使用不当	设备管理员定期督导、培训	极小	严重	可接受
	仪器设备未定期维护、验证	(1)定期进行校准和维护、保养;(2)仪器移动、重要配件维修更换后进行性能验证	不可能	重大	可接受
试剂	试剂失效	(1)避免试剂过期;(2)试剂冰箱温度监测	不可能	重大	可接受
	试剂库存不足	试剂库存盘点,出入库管理	极小	严重	可接受
	试剂批间差异大	试剂不同批号验证和管理	极小	严重	可接受
检测过程	室内质控失控未处理	定期回顾、分析、总结,加强督导	极小	严重	可接受
	检测试剂与检测系统不匹配	(1)按照仪器说明书指定的试剂;(2)检测系统和检测试剂均进行性能验证	不可能	微小	可接受
	室内质评不合格	(1)收到室内质评标本当即检测,如不能,按要求条件保存;(2)保持实验室稳定,质控达标	不可能	严重	可接受
	送样超时或丢失	(1)信息化管理,时间节点清晰,及时反馈;(2)标本交接双签名	极小	微小	可接受
实验室环境	结果报告超时	(1)优化试验流程;(2)分级管理,紧急标本做好标识,优先处理	可能	可忽略	可接受
	实验室污染导致假阳性	(1)阳性质控品、扩增产物不高压;(2)阳性质控物、扩增产物管盖密闭后套密封袋,放污物间;(3)实验室加强通风、紫外线、含氯消毒液消毒	极小	重大	不可接受
	实验室交叉污染	(1)实验室严格分区,洁污分明;(2)试剂准备区、标本制备区、扩增区 3 个区域在物理空间上相互独立;(3)使用自动感应门	极小	严重	可接受
	温度、湿度超标	(1)增加空调、抽湿机;(2)监测环境温度、湿度	偶然	微小	可接受
	实验室停电、断电	配备 UPS,增加断电提醒装备	偶然	微小	可接受



注:★为分析的真因。

图 2 实验室污染导致假阳性风险要因分析



注:★为分析的真因。

图 3 突发事件处置不当风险要因分析

表 3 不可接受风险项控制及再评估

不可接受风险	要因分析	风险控制措施	发生的可能性	严重程度分级	效果评估
实验室污染导致检测结果假阳性	清洁人员操作不当	(1)加强与后勤人员管理部门沟通;(2)不跨区域工作,专人专岗;(3)实验室对清洁人员培训、监督、定期考核	不可能	重大	可接受
	缺乏考核监督制度	(1)增加监控和突击检查;(2)固定理论和实操考核频次;(3)设立奖惩措施	不可能	重大	可接受
	阳性质控物或扩增产物处理不当	(1)严格按照 SOP 操作:阳性质控品加样时关闭生物安全柜,丢弃时确保盖紧管盖,置于密封袋,丢至锐器盒移出实验室;(2)确保清洁人员不挤压垃圾袋;(3)扩增管由实验人员放入密封袋,有效封口后放入锐器盒,锐器盒用医疗垃圾袋装好,扎带封口后移出实验室;(4)增加环境物表监测频率	不可能	重大	可接受
	对假阳性结果未有效识别	(1)异常扩增曲线专题培训与考核;(2)双试剂复核可疑的阳性结果;(3)设定去除反转录步骤的特殊扩增程序,识别 DNA 质控品污染导致的假阳性	不可能	重大	可接受
突发事件处置不当	人员缺乏警惕性	(1)每周召开质量安全会,提高全员警惕性;(2)定期开展实战化模拟演练;(3)合理配备人员,确保人员不疲劳待岗	不可能	重大	可接受
	未经应急演练,人员经验不足	(1)加强培训、监督和考核;(2)增加检查结果双审制度;(3)一岗双人(轮转新员工+经验丰富老员工)	不可能	重大	可接受
	阳性复检及上报机制不清晰	(1)细化复检、上报流程,制作可视化流程图;(2)明确各个职级权限及具体内容;(3)增加演练,强化流程管理			

3 讨 论

临床实验室风险管理需对检测全过程的各个环

节进行分析、评价、控制和效果监测,以实现持续改进,保证患者及实验室安全^[9]。本研究参考 CLSI

EP23-A 指南,成立了新型冠状病毒核酸检测实验室质量安全及风险评估小组,经过风险识别,运用风险矩阵法对风险因素进行发生频率和严重程度的分级分析,评估出两个不可接受的风险因素:实验室污染导致检测结果假阳性、突发事件处置不当。并通过加强人员培训、考核与监督,细化突发事件处置流程,定期实施应急演练等措施进一步控制,明显降低了检测过程中的潜在风险。

基因扩增实验室质量管理体系的建立及控制过程中,防污染工作是一个不容忽视的问题。姚娜等^[10]对聚合酶链反应(PCR)实验室的污染原因进行了探讨,认为主要存在 3 个污染源:标本间交叉污染、质控品对标本的污染、设备对标本的污染。本次风险评估通过头脑风暴和鱼骨图分析,发现实验室污染导致结果假阳性的真因包括:(1)清洁人员操作不当;(2)缺乏考核监督制度;(3)阳性质控物或扩增产物处理不当;(4)对假阳性结果未有效识别。由于实验室人员都经过了严格、系统的理论和实操培训,对实验室污染防治意识较强,而清洁人员定位是处理废物,对实验室缺乏全面和专业的认知,即使是其上级后勤培训人员也对生物安全缺乏一定的理解,而实验室技术人员往往忽略了对清洁人员的系统培训,监督与考核频次不够。在持续改进的流程优化中发现,清洁人员打包医疗废弃物时存在挤压行为,导致阳性质控品或者扩增产物泄露,污染实验室缓冲区、外走廊和门把手等区域,从而引起实验室内部交叉污染,这也是目前大多数实验室较容易忽略的风险因素。薛秀荣等^[11]进一步提出,防污染的关键是人员需严格执行 SOP。经过此次风险评估,笔者深刻认识到培训规范操作的重要性,监督考核机制需加强并落到实处,任何与实验环节相关的人员都必须纳入管理,清洁人员一定要纳入培训考核人员中,并定期督查,设置奖惩措施。关于阳性质控品或产物污染问题,WU 等^[12]通过定期对实验室物体表面、空气采样,实验中设立 3 个阴性质控品,发现可以及时杜绝污染。李夫等^[13]也提出,环境的阳性结果需准确评估,确定“真污染”,排除“假阳性”。XIA 等^[14]针对实验室全流程风险评估,认为实验室需提升识别风险的能力。由于新型冠状病毒核酸检测阳性结果上报的特殊性,人员应进行“异常反应曲线”专题培训和考核,提高阳性结果真假辨识能力。当出现阳性或可疑阳性结果时,需要使用第二种不同试剂进行验证,双试剂结果同时为阳性或者可疑阳性,报告“阳性”或“可疑阳性,建议重新采样复检”,否则,报告为阴性。此外,还可通过扩增程序的设置,如去掉反转录程序,鉴别结果是否为 DNA 质控品污染,避免结果假阳性。

新型冠状病毒肺炎疫情发生以来,新型冠状病毒核酸检测实验室搭建迅速,人员应急培训上阵,这其中就存在一些支援或者轮转人员培训不到位的情况,

特别是对于突发事件的处置,比如人员对阳性结果判读缺乏经验和警惕性,对异常结果复检及上报流程不熟悉,其中存在的风险不容小觑。通过此次风险评估,笔者总结了应对措施,让存在的风险在可接受范围内。首先,应提高管理效能,制订科学可行的应急预案、建立生物安全培训体系,每周召开质量安全会议,提高工作人员警惕性,增强特殊时期组织协调能力^[15-16]。其次,实验室内部应建立完整的质量管理体系,设立质控、设备、试剂、生物安全、信息管理员,分别对日常工作进行监督,性能验证、定期校准、设备保养、批号验证、环境温度及湿度监控等,保证试验结果可靠。最后,通过细化、异常结果复检及上报流程,制作可视化流程图,定期专题学习和考核。郑健等^[17]的研究也认为,内部培训应分层次、分类别对不同岗位的人员培训,实验室所有人员(管理者、技术人员、辅助人员、清洁人员)都必须定期接受生物安全知识培训,特别是要加强应急演练,一旦出现突发事件,能快速、准确地做出反应。通过此次风险评估管理,实验室加强了培训层次和深度,对新员工进行分阶段(1 周、2 周、1 个月、3 个月)培训考核;检测岗需进行操作、生物安全考核;报告岗需进行结果判读、质控失控处理、异常曲线识别、生物安全考核;辅助岗进行标本签收、生物安全考核;清洁岗纳入实验室管理,换位思考,重点培训和考核。同时建立质量监督与异常结果处理小组,对异常结果进行二次审核,对突发事件进行现场跟进。此外,实验室还应定期举行突发事件演练,确保人人熟练处理流程,加强心理素质锻炼,确保第一时间做出正确决定。

经过对以上的风险点进行管理和控制后,再次进行效果评估,两项风险因素为可接受。但仍存在不足:(1)本次风险评估是单个实验室内部头脑风暴识别出的风险点,风险来源并不能完全覆盖其他实验室存在的所有风险;(2)本次风险评估运用风险矩阵法,对发生可能性和严重程度分级存在一定程度主观性,缺乏量化的评估手段,同时风险评估矩阵未充分考虑风险事件的监测能力;(3)本次风险评估聚焦实验室内部,未涉及分析前采样、运输过程。

综上所述,实验室应加强风险管理,根据不同岗位人员的分级考核管理制度,组织系统性、专业性及针对性的生物安全和检测体系的有效培训,及时考核;制订详细的突发事件应急预案并进行培训演练。应加强实验室防污染管理,落实生物安全各项管理措施,提升新型冠状病毒核酸检测全流程的质量,为新型冠状病毒肺炎疫情常态化防控筑牢坚实基础。

参考文献

- [1] 穆雪纯,李丽,王凌航,等.新型冠状病毒流行变异株的分型及研究进展[J].国际病毒学杂志,2021,28(4):336-340.

[2] WANG H, LI G, ZHAO J, et al. An overview of nucleic acid testing for the Novel Coronavirus SARS-CoV-2[J]. Front Med, 2020, 7: 571709.

[3] 中华人民共和国国务院. 国务院应对新型冠状病毒感染肺炎疫情联防联控机制关于做好新冠肺炎常态化防控工作的指导意见: 国发明电〔2020〕14 号[EB/OL]. (2020-06-03) [2021-07-03]. [https://baijiahao. baidu. com/s? id=1668465941942988850&wfr=spider&for=pc](https://baijiahao.baidu.com/s?id=1668465941942988850&wfr=spider&for=pc).

[4] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情防控联防联控机制医疗救治组. 医疗机构新型冠状病毒核酸检测工作手册(试行第二版)[EB/OL]. (2021-01-06) [2021-07-03]. [http://zk. cn-healthcare. com/doc-show-52219. html](http://zk.cn-healthcare.com/doc-show-52219.html).

[5] 续薇, 黄晶, 许建成, 等. 检验过程中潜在风险的识别与管理[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(6): 472-474.

[6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Laboratory quality control based on risk management: EP23-A[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2011.

[7] NJOROGÉ S W, NICHOLS J H. Risk management in the clinical laboratory[J]. Ann Lab Med, 2014, 34(4): 274-278.

[8] 康凤凤, 王薇, 王治国. 风险管理与临床实验室质量改进[J]. 实验与检验医学, 2013, 31(1): 1-3.

[9] WU W, ZHANG Y, WANG P, et al. Psychological stress of medical staffs during outbreak of COVID-19 and adjustment strategy[J]. J Med Virol, 2020, 92(10): 1962-1970.

[10] 姚娜, 潘彤, 赵倩, 等. PCR 实验室污染原因分析与排除方法[J]. 继续医学教育, 2019, 33(2): 142-143.

[11] 薛秀荣, 来祝檠, 韩惠云. 浅谈核酸检测实验室防污染措施[J]. 中国卫生产业, 2018, 15(26): 144-145.

[12] WU Y P, WU J Y, ZHANG Z H, et al. DNA decontamination methods for internal quality management in clinical PCR laboratories[J]. J Clin Lab Anal, 2018, 32(3): e22290.

[13] 李夫, 张代涛, 贾蕾, 等. 环境样本新型冠状病毒核酸检测阳性结果评估及处置建议[J]. 国际病毒学杂志, 2021, 28(3): 177-181.

[14] XIA Y, WANG X, YAN C, et al. Risk assessment of the total testing process based on quality indicators with the Sigma metrics[J]. Clin Chem Lab Med, 2020, 58(8): 1223-1231.

[15] GIORGI G, LECCA L I, ALESSIO F, et al. COVID-19-related mental health effects in the workplace: a narrative review[J]. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17(21): 7857.

[16] 肖玉玲, 陆小军, 康梅, 等. 2019 新型冠状病毒疫情下医院检验科的生物安全实施方案探讨[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(5): 511-514.

[17] 郑健, 穆红, 周春雷, 等. 新型冠状病毒肺炎疫情下检验科生物安全管理的实践与探索: 以天津市第一中心医院为例[J]. 生物医学工程与临床, 2021, 25(2): 232-236.

(收稿日期: 2022-02-13 修回日期: 2022-06-22)

管理 • 教学

基于 BOPPPS 教学模式医学检验技术专业课程教学设计的思考^{*}

冯 柳¹, 陈 倩², 阳 莎¹, 高雪平¹, 刘 璐¹, 陈 鸣¹, 唱 凯^{1△}
陆军军医大学第一附属医院: 1. 检验科; 2. 教学管理中心, 重庆 400038

摘 要: 医学检验技术是一门以临床应用为目的不断更新发展的多学科交叉渗透的学科。伴随信息技术高速发展, 为顺应未来高等教育课堂教学改革的趋势, 医学检验技术的教学设计也需探索更为高效易行的策略和方法。BOPPPS 教学模式是一种以教学目标为导向, 以学生为中心的教学模式, 能够使学生进行参与式学习, 并及时根据学生反馈, 调整课堂教学活动进度以达到更佳的教学效果。该文探讨了高等院校基于 BOPPPS 教学模式结合信息化手段的医学检验技术专业课程教学设计, 为之后医学检验技术专业课程达到更佳的教学效果提供了新思路。

关键词: 医学检验技术; BOPPPS 教学模式; 教学设计
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2022. 21. 027 **中图法分类号:** G423
文章编号: 1673-4130(2022)21-2684-05 **文献标志码:** B

2018 年教育部发布《普通高等学校本科专业类教学质量国家标准》(以下简称《标准》), 指出本科医学检验技术专业毕业生应具有“良好的人生观、价值观、终身学习能力、批判性思维能力、创新能力和一定科研发展潜能; 能够胜任医疗卫生机构实验室的工作, 能够满足医学检验相关行业的基本人才需求, 能够适应我国医药卫生事业和社会现代化发展需要”。医学检验技术的专业课程交叉渗透了理化工程、生命科学及临床医学等多种学科, 具有知识点较为分散和抽象的特点。网络及大数据高速发展叠加新型冠状病毒

^{*} 基金项目: 重庆市技术创新与应用示范专项社会民生类重点研发项目(cstc2018jscx-mszdX0025)。
[△] 通信作者, E-mail: changkai0203@163. com。