

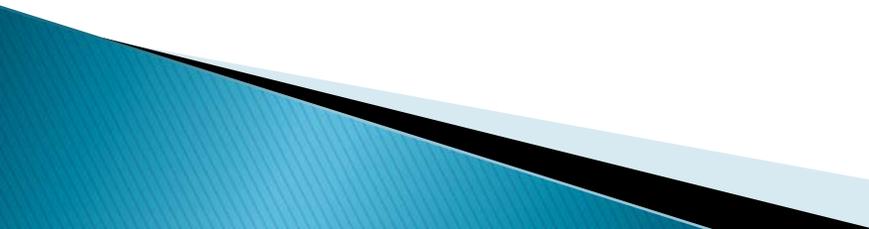
2017年临床免疫学质量要求解读及2016 年免疫现场督查发现问题及对策

上海市临床检验中心临床免疫室
朱宇清
2017.4

- ▶ **上海市医疗机构临床实验室质量管理基本内容和要求—临床免疫学**
- ▶ **2016年免疫现场督查发现问题及对策**

上海市医疗机构临床实验室质量管理基本内容和要求

附录C（规范性附录）临床免疫专业的专项要求

- ▶ 本标准规定了上海地区临床实验室质量管理的基本要求和内容。
 - ▶ 本标准可被上海地区医学实验室用于建立质量管理体系和评估自己的能力使用，也可被实验室客户、监管机构用于确认或承认医学实验室的质量和有能力。
 - ▶ 国际、国家或地区法规或要求也可能适用于本准则中的特定内容。
- 

规范性引用文件

- ▶ 《医疗机构临床实验室管理办法》（卫医发〔2006〕73号文）
- ▶ 全国临床检验操作规程（最新版）
- ▶ GB/T 19001—2000（ISO9001：2000）质量管理体系要求
- ▶ ISO/IEC 指南99 国际计量学词汇—基本和通用概念及相关术语
- ▶ ISO/IEC 17025：2005 《检测和校准实验室能力的通用要求》
- ▶ ISO 15189：2012 《医学实验室质量和能力认可准则》

规范性引用文件

- ▶ WS/T227-2002 临床检验操作规程编写要求
- ▶ GB/T 20468-2006 临床实验室定量测定室内质量控制指南
- ▶ GB/T 20470-2006 临床实验室室间质量评价要求
- ▶ WS/T 402-2012 临床实验室检测项目参考区间的制定
- ▶ WS/T 407-2012 医疗机构内定量检验结果的可比性验证指南
- ▶ WS/T 420-2013 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证

实验室管理要求

1. 范围
2. 引用文件
3. 定义
4. 质量管理体系
5. 人员
6. 环境与设施
7. 设备、材料与信息系统
8. 实验室信息系统
9. 分析前质量控制
10. 分析程序质量控制
11. 分析后质量控制
12. 质量评估与持续性改进

规范性引用文件（免疫）

- ▶ CLSI EP12-A2:2008 User Protocols for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline
- ▶ CNAS-CL39: 2012 《医学实验室质量和能力认可准则在临床免疫学定性检验领域的应用说明》
- ▶ WS / T 223 -2002 《乙型肝炎表面抗原酶免疫检验方法》
- ▶ 国家计量检定规程JJG646-2006 《移液器检定规程》
- ▶ 国家计量检定规程JJG861-2007 《酶标分析仪检定规程》

规范性引用文件

- ▶ **CNAS-CL39** 医学实验室质量和能力认可准则在临床免疫学检验领域的应用说明
- ▶ **CNAS-CL38** 医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明

范围

本文件规定了上海市临床检验中心对医学实验室临床免疫检验质量管理的基本要求。

范围（生化）

本要求适用于上海市医疗机构所有出具临床检验报告的临床实验室临床化学检验。适用时，临床实验室临床免疫学定量检验应符合本要求。

▶ C.5.2 实验室技术员

临床免疫学实验室特殊岗位（如HIV初筛、产前筛查、新生儿疾病筛查等）工作人员应取得相应上岗证。

注：实验室技术人员的资质应符合法规要求

▶ C.6.3 实验室生物安全管理

开展免疫检验的实验场地应与检验工作相适应，应在二级生物安全实验室内开展传染病检验项目，有相应的个人防护用品。

▶ C.7.2 设备、材料管理

c.7.2.1 实验室特殊项目（如乙型肝炎表面抗原、丙型肝炎抗体、艾滋病病毒抗体、梅毒等项目）的检测试剂应符合国家的有关规定。

C.7.2.2 制定仪器设备校准程序。酶标仪、全自动酶免分析系统、全自动化学发光免疫分析仪、全自动时间分辨免疫分析系统等分析仪器以及加样器、温箱（包括水浴箱）、温度计等辅助仪器设备。

▶ C.7.2 设备、材料管理

C.7.2.3 酶标仪的校准应按照制造商推荐的校准程序和性能指标完成校准程序，制造商未推荐校准程序的可以参照国家计量检定规程JJG 861—2007的要求。

C.7.2.4 微量移液器的校准应覆盖常用的测量量程，容量允许误差和测量重复性要求应参照国家标准JJG 646—2006的要求。

▶ C.10.4 建立质量控制程序

C.10.4.1 室内质量控制

C.10.4.1.1 依据数值判定结果的定性项目如ELISA、发光技术等项目每检测日每块反应板都应做室内质控。弱阳性室内质控品的测定值应 \geq 临界值（CO），国产试剂检测结果的CV值应 $\leq 25\%$ ，进口试剂全自动仪器检测结果的CV值应 $\leq 10\%$ 。

C.10.4.1.2 定量检测项目每次检测应使用2个浓度质控品至少做1次室内质控，选择适宜质控规则并按照统计学质量控制的方法建立检测项目的控制限（不得使用质控品说明书的范围作为控制限）。

C.10.4.1.3 金标试纸、斑点渗滤等以阴阳性判断结果的定性试验，除检测装置的内对照外，每检测日或分析批，应使用弱阳性和阴性质控物进行质控。阴、阳性质控品的检测结果分别为阴性和阳性即表明在控，相反则为失控。

C.10.4.1.4 根据滴度或稀释度判定阴阳性结果的试验，如凝集试验，每检测日或分析批，应使用弱阳性和阴性质控物进行质控。阳性质控结果在均值上下一个滴度或稀释度以及阴性质控结果为阴性即为在控，否则为失控。

C.10.4.1.5 仪器定标和室内质控结果应有原始记录或电脑备份。

▶ C.10.4.2 实验室间比对

C.10.4.2.1 室间质量评价

各检测项目应参加能力验证/室间质评。

定性项目结果的可接受范围为：呈反应(阳性)或不反应(阴性)的结果与预期结果相符；滴度或稀释度的结果在预期值上下一个滴度或稀释度以及阴性质控结果为阴性即为在控，否则为失控。

▶ C.10.4.2.2 无室间质评项目的替代程序

对于无能力验证/室间质评活动的检验项目，实验室应通过与其他实验室（如其它使用相同检测方法的配套系统的同级别或高级别医院的实验室）比对的方式判断检验结果的可接受性。并满足如下要求：

- a) 规定比对实验室的选择原则；
- b) 样品数量：至少5份，包括正常和异常水平；
- c) 频率：至少每年2次；
- d) 判定标准：应有 $\geq 80\%$ 结果的偏差 $< 1/2TEa$ 。

▶ C.10.5 检验结果的可比性

C.10.5.1 相同的定性检验项目在不同的仪器或系统上进行检测时，每年至少做一次比对实验。每个项目应选择至少5份新鲜病人血清（包含高、中、低浓度和阴性），检测结果应80%符合，应保存比对实验的原始记录。

C.10.5.2 相同的定量检测项目在不同的检测系统上检测，每半年至少做一批样品比对实验（至少20个样品，其浓度均匀分布在试剂盒或检验程序的测量区间，样品类型应与所用试剂盒或检验程序要求的匹配），比对结果应至少达到CLIA'88质量要求的允许偏倚的1/2。

▶ C.11. 分析后质量控制

C.11.1 结果报告制度

C.11.1.1 ELISA检测HBsAg、HBeAg、抗HCV、HAV-IgM、抗HEV-IgM检测项目临界状态的标本均应复检，复检范围的确定按下列公式计算： $\text{临界值 (CO)} \times 0.7 \leq \text{样品测定值} \leq \text{临界值 (CO)} \times 3$ ，不得小于此范围。检测HBsAg、HBeAg、抗HCV、HAV-IgM、抗HEV-IgM阳性对照及阴性对照的A(OD)值应符合制造商规定的要求。

C.11.1.2 应制定化学发光、电化学发光、时间分辨荧光方法检测HBsAg、HBeAg、抗HCV检测项目的临界状态标本的复检措施，至少应遵从制造商推荐的要求，并记录复检结果，归档保存，便于查对。

C.11.1.3 特殊检验项目结果报告

特殊检验项目的结果报告应符合相关法规要求，如：当HIV抗体筛查试验。

- ▶ C.11.1.4 使用酶标仪检测的检验项目（包括所有的体检项目）都必须有原始记录，记录应保持完整、清晰，按月或按季度归档，便于查阅。原始记录上应包括检测日期、试剂品牌、批号、样品编号（至少应标明样品的顺序）、检测结果等，还应注明空白孔、阴阳性对照孔、室内质控品位置以及结果判断方式。

C.11.1.5 全自动分析仪器检验的项目应参照制造商规定的校准/定标频率进行检验项目的定期校准/定标，并进行详细记录，应有校准/定标以及样本检测结果的打印记录或电脑备份记录。

制定仪器设备校准程序

- ▶按国家法规要求对强检设备进行检定
- ▶进行外部校准的设备，如果符合检测目的和要求，可按制造商校准程序进行

至少对分析设备的加样系统、检测系统和温控系统进行校准。内容还应包括：校准方、校准周期等

保留校准原始记录，保留校准方出具的校准报告

（校准报告应有校准方的公章及是实验室负责人的签字确认）

设备故障修复后

▶首先分析故障原因，如果设备故障影响了分析性能，通过以下合适的方式进行相关的检测、验证：

(a) 可校准的项目实施校准或校准验证；

(b) 质控品检测结果在允许范围内；

(c) 与其他仪器的检测结果比较，要求：样品数 ≥ 5 ，浓度应覆盖测量范围，包括医学决定水平，至少4份样品测量结果的偏差 $< 1/2TEa$ ；

(d) 使用留样再测结果进行判断，判断标准：依据检测项目样品稳定性要求选取长期限样品，样品数 ≥ 5 ，覆盖测量范围，考虑医学决定水平，至少4份样品测量结果的偏差 $< 1/3TEa$ 。

开展新项目应进行方法性能验证

- ▶ 定量内容至少应包括正确度、精密度、线性范围和生物参考区间。
- ▶ 适用时，性能指标应不低于国家标准、行业标准、或地方法规的要求。

不精密度要求

- ▶ 以能力验证/室间质评评价界限作为允许总误差（TEa），重复性精密度 $< 1/4TEa$ ；中间（室内）精密度 $< 1/3TEa$ ；

定性检验项目方法学验证

- ▶ 精密度（检出限）：处于检测下限浓度的样本（在临界值浓度+20%浓度样品）测定20次，记录阳、阴性结果数，至少18次为阳性。
- ▶ 符合率：采用国家标准血清盘或临床诊断明确的阴阳性样品各20份或与其他分析方法比对

检验方法和程序的分析性能验证内容应参考试剂盒说明书上明确标示的性能参数进行验证

方法学比较实验

实验方法	对比方法		合计
	阳性	阴性	
阳性	a	b	a+b
阴性	c	d	c+d
合计	a+c	b+d	n

方法学比较实验

- ▶ 阳性符合率= $a / (a+c) \times 100\%$
- ▶ 阴性符合率= $d / (b+d) \times 100\%$
- ▶ 总符合率= $(a+d) / n \times 100\%$

参考区间

- ▶ 如果建立参考区间，样品数量应 ≥ 120 例，若分组，每组的样品数量应 ≥ 120 例。
- ▶ 验证参考区间时，样品数量应 ≥ 20 例。

室内质控存在问题

- ▶ 开展的项目无室内质控，未采取其它相关的质控措施
- ▶ 临检中心集中代购质控品
- ▶ 厂商试剂盒自带质控品
- ▶ 第三方质控品
- ▶ 实验室自制

室内质控存在问题

- ▶ 关于失控分析报告
- ▶ 失控原因分析不到位
- ▶ 有些未见失控分析报告

关于开展室内质控的要求

- ▶ 金标试纸、斑点渗滤等定性试验，除检测装置的内对照外，每检测日或分析批，应使用弱阳性和阴性质控物进行质控，阴、阳性质控品的检测结果分别为阴性和阳性即表明在控，相反则为失控；
- ▶ 根据滴度或稀释度判定阴阳性结果的试验，如凝集试验，每检测日或分析批，应使用弱阳性和阴性质控物进行质控，阳性质控结果在均值上下一个滴度或稀释度以及阴性质控结果为阴性即为在控，否则为失控。

空间质评存在问题

- ▶ 没有可供参加的室内质评计划的部分检测项目（如SCC等），未进行比对或用其他方法验证其结果的可靠性
- ▶ 室内质评反馈结果没有打印具体项目的回报表
- ▶ 室内质评不符合的项目无分析报告
- ▶ 失控分析报告无实质性的纠正措施

室内室间不符合项如何分析整改

- ▶ 书写错误：
- ▶ 从仪器输出的结果到报告形式之间，由于抄写、誊写或打印出错引起的错误；
- ▶ 在实验室中室间样本编号搞错；
- ▶ 在室间结果递交表中，错误输入了仪器和方法；
- ▶ 单位报告错误；
- ▶ 小数点位数点错；

室内空间不符合项如何分析整改

- ▶ 方法学问题：
 - ▶ 不合适的标准操作规程；
 - ▶ 与厂商或试剂准备或校准品相关的问题（例如稳定性的问题等）；
 - ▶ 试剂或校准品批号间变化；
 - ▶ 错误的校准品定值；
 - ▶ 对被测量，方法缺乏足够的特异性；
 - ▶ 对测量浓度，方法缺乏足够的敏感度；
 - ▶ 前一个样品引起的交叉污染；

室内空间不符合项如何分析整改

- ▶ 设备问题：
 - 设备的管道或孔径被凝块堵塞；
 - 设备的吸液针未对准；
 - 设备数据处理功能错误；
 - 设备设置错误；
 - 自动加液器没有被校到可接受的精密度和正确度范围；
 - 移液器未校准到可接受的精密度和正确度范围；
 - 设备部件故障，例如，光源、液体流速控制、探测器；
 - 设备状况错误，例如，环境、温度、（水质）；
 - 设备的维护保养没有按要求执行；

室内空间不符合项如何分析整改

- ▶ 由于操作人员引起的技术问题：
 - ▶ 未正确操作设备或者操作与标准操作规程不一致；
 - ▶ 不正确的试剂或校准品贮存、准备或处理；
 - ▶ 因延迟检测引起室内样品的蒸发或退变；
 - ▶ 未能遵循建议的仪器功能检查或维修；
 - ▶ 移液或稀释错误；
 - ▶ 校准错误；
 - ▶ 检测结果的理解错误；

室内室间不符合项如何分析整改

- ▶ 室间样本的问题
- ▶ 样品不正确的贮存、准备或处理；
- ▶ 室间样品与患者样品的差异，例如，基质、添加剂、稳定剂；
- ▶ 在运输或实验室贮存过程中样品的退化；
- ▶ 低值样品或者临界反应；
- ▶ 样品含有的干扰因素（可能存在方法特异性问题）；
- ▶ 样品瓶间的不均一问题

现场督查发现的其他问题

- ▶ 项目的参考区间在操作规程文件和检测报告单上的表述不一致；
- ▶ 部分检测项目的定标频率不符合制造商规定的要求；
- ▶ 无仪器的校准操作规程；
- ▶ 无仪器打印结果的检验项目；

现场督查发现的其他问题

- ▶ 仪器校准报告无原始数据；
- ▶ 环境温度设置范围为15~32℃，记录形式为“√”，实际梅毒Trust具体操作环境温度为23~29℃；
- ▶ 两台POCT CRP 检测仪器的校准报告，数据完全相同，缺原始数据；

如何做好项目的校准和记录

- ▶ 制定项目校准（定标）文件，包括校准品来源、性质、贮存条件、有效期、校准操作、校准确认等；
- ▶ 对开展的每个项目根据厂家的声明、常规使用情况、特殊情况（质控、维修）等，确定校准的频次；
- ▶ 保留每次校准记录，包括校准品名、批号、输出的数据、校准结果等

如何做好比对 做到结果相对一致

- ▶ 定性检验项目在不同的仪器或系统上进行检测时，每年至少做一次比对实验。每个项目应选择至少5份新鲜病人血清（包含高、中、低浓度和阴性），检测结果应80%符合，应保存比对实验的原始记录

如何做好比对 做到结果相对一致

- ▶ 相同的定量检测项目在不同的检测系统上检测
 1. 用患者样品进行比对（同方法）。以一种检测系统为对照，另一种为被评系统，至少检测40例样品
- ✓ 相关回归分析：
 - ✓ 评价： $r^2 \geq 0.95$ ， $b = 1.0 \pm 0.5$ ，**偏倚**%应在1/2CLIA的允许误差范围内
- ✓ 配对t检验：
 - 评价： $t < t_{0.05, f}$ ，则两种检测结果在置信度为95%的情况下，无统计学差异

如何做好比对 做到结果相对一致

2. 用患者样品进行比对（不同方法）。以一种检测系统为对照，另一种为被评系统，至少检测40例样品。
评价： $r^2 \geq 0.95$ ，参考区间内、外样品，2个系统检测结果应一致

检验仪器校准程序

- ▶ 根据参照国家标准、制造商建议、仪器工作情况制定各类检验设备的校准计划，至少包括：
 - ▶ 1.校准有效期：如半年或一年校准一次，或特殊情况下，如出现故障维修后等进行校准；
 - ▶ 2.校准方：如由计量、检定单位、制造商或其授权单位、本实验室等；
 - ▶ 3.校准方法：如校准方提供相关资料等；
 - ▶ 4.验收标准等
- ▶ **校准**必须有完整的校准记录（包括校准的原始数据和校准报告

仪器校准SOP的编写

▶ 如酶标仪：

(1) 酶标仪的稳定性（漂移）

选用492nm波长，用1.0A的中性滤光片测定，过10分钟后重复测定，两次测定值之差不应超过 $\pm 0.005A$

(2) 吸光度测定的准确性

选用405、492、620nm波长，分别用0.5、1.0A的中性滤光片，用专用测试板代替酶标板连续测定3次，计算准确度

(3) 吸光度测定的重复性

分别选用405、492、620nm波长，在酶标板第一排加注空白溶液。第二排加入浓度为200ug/ml的重铬酸钾溶液，重复测5次。取二排对应的测定值计算重复性

仪器校准SOP的编写

(4) 酶标仪的线性

选用540nm波长，将0.5、1.0A的中性滤光片分别放入专用测试板样本位置中，以空气为参比，各重复测定3次；然后将以上两片中性滤光片叠加后置于专用测试板的同一孔位中，重复测3次。计算线性误差

(5) 测定速度的检定

选用492nm波长，放入96孔酶标板 进行测定，用秒表计测仪器打印出全部数据的时间

无仪器打印结果的检验项目

- ▶ 无仪器打印结果的检验项目应有原始记录，记录信息至少应包括检测日期、方法、试剂品牌、批号、有效期、检验结果、检验者

HBsAg等项目的复检范围设置

- ▶ ELISA检测HBsAg、HBeAg、抗HCV、HAV-IgM、抗HEV-IgM检测项目临界状态的标本均应复检，复检范围的确定按下列公式计算： $\text{cutoff值} \times 0.7 \leq \text{样品测定值} \leq \text{cutoff值} \times 3$ ，不得小于此范围。检测HBsAg、HBeAg、抗HCV、HAV-IgM、抗HEV-IgM阳性对照及阴性对照的A(OD)值应符合制造商规定的要求

HBsAg等项目的复检范围设置

- ▶ 应制定化学发光、电化学发光、时间分辨荧光方法检测HBsAg、HBeAg、抗HCV检测项目的临界状态标本的复检措施，至少应遵从制造商推荐的要求，并记录复检结果，归档保存，便于查对

免疫分析技术的影响因素

CHCH+M:

- ◆ Cross-reaction (交叉反应)
- ◆ Hook effect (钩状效应)
- ◆ Carry-over (携带污染)
- ◆ HAMA (异嗜性抗体)
- ◆ Matrix effect (基质效应)
(RF、溶血、脂血、黄疸、药物)

多项免疫复合物室内质控品说明书——内分泌激素、肿瘤室内质控品使用说明

- 1、2017年内分泌激素室内质控样品分别为中值和高值两个水平，可用项目有：17-羟-孕酮、AFP、 β 2-微球蛋白、CA15-3、CA19-9、CA125、卡马西平、CEA、可的松、硫酸脱氢表雄酮、地高辛、铁蛋白、叶酸、游离T3、游离T4、FSH、生长激素、HCG、IgE、胰岛素、雌二醇、LH、PTH、苯妥英、孕酮、催乳素、游离PSA、总PSA、性激素结合球蛋白、睾酮、茶碱、甲状腺球蛋白、促甲状腺激素、总T3、总T4、丙戊酸、维生素B12等（具体可检测项目详见《朗道靶值表》）。

多项免疫复合物室内质控品说明书——内分泌激素、肿瘤室内质控品使用说明

2、可提供回报数据的项目包括：游离T3、总T3、游离T4、总T4、TSH、皮质醇、胰岛素、HCG、甲状腺球蛋白、生长激素（GH）、甲状旁腺激素、促肾上腺皮质激素（ACTH）、醛固酮、叶酸、B12、雌二醇、LH、孕酮、催乳素、睾酮、FSH、C肽、阿米卡星、卡马西平、地高辛、乙琥胺、庆大霉素、免疫球蛋白E、扑热息痛、苯巴比妥、苯妥英、扑米酮、水杨酸、T吸收率、茶碱、妥布霉素、丙戊酸、万古霉素、AFP、CEA、CA15-3、CA19-9、CA125、PSA、游离PSA、铁蛋白、 β 2-微球蛋白。注：NSE、CA-724、CA-211本质控品不涵盖。

多项免疫复合物室内质控品说明书——内分泌激素、肿瘤室内质控品使用说明

3、质控品状态及使用方法：冻干品。将未开封的质控品从2-8℃的冰箱中取出，平衡至室温15-25℃后使用5ml蒸馏水溶解，平衡30分钟，轻轻颠倒数次，使内容物完全混匀，不要振摇，避免产生气泡。

多项免疫复合物室内质控品说明书——内分泌激素、肿瘤室内质控品使用说明

▶ 4、贮存条件：

- (1) 未开瓶的质控品，贮存于2-8℃，其稳定性可保持到保质期。
- (2) 一般项目复溶后2-8℃可保存一周，-20℃可保存1个月。
- (3) 其中特殊项目：复溶后，25-OH维生素D 2-8℃可保存5天；C肽2-8℃可保存1天；甲状旁腺激素和甲状腺球蛋白2-8℃可保存4小时或者-20℃可保存2周；ACTH 2-8℃可保存4小时。
- (4) 其中ACTH、C肽和醛固酮不可冻存。
- (5) 每次使用后剩余的质控品不宜倒回原来的容器中，以防污染；复溶后质控品易受到细菌污染而导致稳定性下降；如发现质控品被细菌污染，应重新复溶新的质控品使用。

特殊肿瘤标志物室内质控品使用说明书

- ▶ 项目：CA72-4、CYFRA 21-1、SCCA、CA50、CA242、HE4、PGI、PGII
- ▶ 质控品在2-8℃条件下储存，有效期至2017年12月31日
- ▶ 质控品开瓶后在2-8℃条件下保存，可使用14天。贮存在-20℃以下可稳定1个月。不可反复冻融。有微生物污染，可能改变其内容物的分析成分

上海免疫-临检中心



谢谢!