

· 标准与讨论 ·

自身抗体检测质量控制专家共识

国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心(北京协和医院)实验诊断研究委员会 中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会 国家风湿病数据中心
通信作者:曾小峰,中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院风湿免疫科 国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心,北京 100730, Email: zengxfpumc@163.com

【摘要】 自身抗体是自身免疫病的重要生物标志物,在疾病的诊断、鉴别诊断、活动性评价和预后评估等发挥关键作用。规范自身抗体检测质量控制对于准确地报告相关检验结果具有重要意义。国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心(北京协和医院)实验诊断研究委员会、中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会、国家风湿病数据中心于 2023 年组织相关临床和实验室专家,依据国家标准、行业指南,结合国内实际情况及自身抗体检测质量控制经验制定了本共识,旨在规范我国相关实验室自身抗体检测质量控制工作。

【关键词】 自身抗体; 检测; 质量控制

基金项目: 中央高水平医院临床科研项目(2022-PUMCH-B-013, 2022-PUMCH-A-039, 2022-PUMCH-A-040)

Expert consensus on quality control for detecting autoantibodies

National Clinical Research Center for Dermatologic and Immunologic Diseases (Peking Union Medical College Hospital); Experimental Diagnosis Research Committee; Rheumatology and Immunology Physicians Committee of Chinese Medical Doctor Association, Autoantibodies Detection Committee; Chinese Rheumatism Data Center

Corresponding author: Zeng Xiaofeng, Department of Rheumatology and Clinical Immunology, Peking Union Medical College Hospital, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, National Clinical Research Center for Dermatologic and Immunologic Diseases, Beijing 100730, China, Email: zengxfpumc@163.com

【Abstract】 Autoantibodies are important biomarkers of autoimmune diseases and crucial for disease diagnosis, differential diagnosis, and the evaluation of disease activity and prognosis. Specifying the requirement of quality control for detecting autoantibodies is essential for accurately reporting relevant results. In 2023, National Clinical Research Center for Dermatologic and Immunologic Diseases (Peking Union Medical College Hospital), Experimental Diagnosis Research Committee, Rheumatology and Immunology Physicians Committee of Chinese Medical Doctor Association, Autoantibodies Detection Committee, Chinese Rheumatism Data Center invited relevant clinical and laboratory experts to develop the current consensus based on the national standards, the industry guidelines, the national situation, and the experience of quality control regarding autoantibody detection. This consensus aims to standardize the quality control of autoantibody detection in relevant laboratories in China.

【Key words】 Autoantibodies; Detection; Quality control

Fund program: National High Level Hospital Clinical Research Funding (2022-PUMCH-B-013, 2022-PUMCH-A-039, 2022-PUMCH-A-040)

DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20230619-00320

收稿日期 2023-06-19 本文编辑 胡朝晖

引用本文: 国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心(北京协和医院)实验诊断研究委员会, 中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会, 国家风湿病数据中心. 自身抗体检测质量控制专家共识[J]. 中华内科杂志, 2023, 62(12): 1418-1422. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20230619-00320.



中华医学杂志社
Chinese Medical Association Publishing House

版权所有 违者必究



自身抗体是自身免疫病的重要生物标志物,在疾病诊断、鉴别诊断、活动性评价及预后评估等发挥关键作用。近年,自身抗体更加广泛地应用于临床,为自身抗体检测带来了前所未有的挑战。其中,从定性分析迈向定量评价是现阶段自身抗体检测发展的趋势。检验方式的革新及检测水平的提高亟须规范化的自身抗体检测质量管理保驾护航。

自身抗体检测的质量管理应覆盖检验全程,即检验前、检验中和检验后。在已发布的各自身抗体检测临床应用专家共识中,对样品要求、性能验证、质量控制和参考区间等检验全程的多个要点进行了说明^[1-5]。为进一步推动自身抗体检测质量管理水平的提升,国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心(北京协和医院)实验诊断研究委员会,中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会,国家风湿病数据中心于 2023 年组织相关临床和实验室专家,依据国家标准、行业指南,结合国内实际情况及自身抗体检测质量控制的经验,起草了本共识草案,随后对其进行讨论汇总形成共识初稿,经召开专家讨论会逐条审议讨论,达成一致意见后形成本共识。

本共识着重讨论和关注自身抗体检测质量管理中的质量控制,包括室内质量控制、室间质量评价和实验室内比对,旨在规范我国相关实验室的自身抗体检测质量管理工作,为临床提供准确的自身抗体检测结果的同时,亦为自身抗体检测的标准化夯实基础。

一、准备工作

实验室应有专(兼)职人员负责自身抗体检测质量管理工作,设置管理架构并建立相关标准化操作规程,包括室内质量控制、室间质量评价和检验结果的可比性等。此外,实验室应确立本室的质量目标,如允许总误差(TEa)等。

每位实验室检测人员均应根据开展的项目学习自身抗体检测、质量控制的相关知识和技能,如学习自身抗体的形态学判别规则,了解、掌握相关的国家标准、行业指南和专家共识等^[1-12],考核合格方可上岗。

二、室内质量控制

室内质量控制又称内部质量控制(简称室内质控),是实验室内部监控检测过程以确认工作正常而开展的工作,是评价患者检验报告是否可以发出的重要程序。

(一)检测项目的类别

根据自身抗体检测系统的属性,如试剂说明书

中的定义,对本实验室所开展的自身抗体检测项目进行分类。一般划分为定性检测和定量检测。其中,定性检测可分为仅报告阳性或阴性的检测、报告相对浓度(如报告滴度结果等)的检测、报告量值(COI 值或 S/CO 比值等)的检测。后者可参考定量检测开展室内质控工作。

(二)质控品

1. 质控品的分类:自身抗体的质控品可分为三种,由生产商提供的配套质控品、第三方质控品和实验室自制质控品。宜选择与实际临床样品接近或一样的物质,如尽可能选择人血清基质的质控品^[6-7]。必要时可运行多种质控品。

2. 质控品水平:定性检测的自身抗体项目,质控品水平应至少包括弱阳性(浓度在 2~4 倍临界值)和阴性两个水平。

对自身抗体荧光核型的阳性质控品,建议选择临床常见且形态单一的经典核型,如抗核抗体选择核颗粒型等。实验室可以同时选择多种核型进行质控。

定量检测的自身抗体项目,质控品应至少包括正常和异常两个水平。在正常和异常水平的基础上,应兼顾临界水平和临床决定限水平^[6-7](指在诊断和治疗工作时,对疾病诊断或治疗起关键作用的某一被测成分的浓度,临床上必须采取措施的检测水平^[8])。

3. 质控品的复溶/复融与使用:各实验室应建立质控品的复溶/复融操作文件,或按生产商说明书进行相关操作。如无,可参考以下方法:

液体(冰冻)质控品:从 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 冰箱取出,置于 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜,完全融解后取出,恢复至室温,充分混匀(建议轻柔颠倒、水平混匀各 10 次)。冷藏 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 的质控品,使用前应恢复至室温并充分混匀。如有沉淀或絮状物等杂质,应排查其出现的原因。在不影响结果的前提下,充分离心,弃去杂质后再用于测定。

干粉质控品:从包装盒中取出,小心打开盖子,防止盖上粉末掉落;加入规定体积的纯化水或配套溶剂^[9]后,充分混匀。建议轻柔颠倒、水平混匀各 10 次,正置 20 min,按上述方法再次混匀,倒置 10 min。最后按要求分装、保存。在使用前参考前述液体质控品相关流程进行预处理。

4. 自制质控品:可参照已有的指南^[10]自制自身抗体质控品。实验室亦可采用以下简化流程制备质控品:留取样品→样品混合→离心→分装→均一



性评价→稳定性评价→记录相关信息→储存。

(1)根据预期的质控品水平留取样品,优先考虑单一个体来源的样品。每批制备的质控品应至少可以使用4个月。若不能获得足量的单一个体样品,可使用自身抗体阴性血清对高浓度样品进行稀释,或留取多个相似浓度样品。

(2)将留取的多支样品混合/稀释,充分混匀,如摇床上混匀1 h。

(3)对该混合物进行充分离心(如3 500 g, 10 min)。弃沉淀,取上清进行检测,符合预期质控品水平时对其进行分装。分装所用容器应适用于手工/仪器加样。分装后应在管上做好明确标记。

(4)均一性评价:可参考已有的指南^[10-11]进行评价。各实验室应确立本室可接受标准。建议定量检测项目的瓶间变异系数小于本室相关自身抗体项目日常质控运行的变异系数^[12],定性检测项目的定性结果及其他特征,如荧光核型,应与预期结果一致。

(5)稳定性评价:可参考已有的指南^[10-11]进行评价。各实验室应确立本室可接受标准。考虑到稳定性评价的复杂性,建议采用回顾性分析的方式评价质控品的稳定性。或记录已通过稳定性评价的自身抗体质控品制备方法,并在后续制备相同质控品时严格遵循该法。注意,应定期重复相关制备方法的稳定性评价。

(6)应记录原料、批号、分装量、制备者等相关信息。

(7)在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 下保存质控品。

(8)制备过程中应采取标准预防措施,涉及生物安全(如对乙型肝炎等传染病病毒的灭活)和伦理等要求,应参照各实验室相关管理文件。

(三)质控界限

在开展室内质控前,需设定质控品的中心线(均值)和控制限(通常以标准差倍数表示)。

自身抗体定量检测项目的中心线和控制限,优先取在20日内至少测20次(1次/d)的检测结果(去除离群值)计算均值和标准差。如无法满足检测20日的要求,应至少在10日内测20次(2次/d),或在5日内测20次(4次/d)。在使用质控品的过程中,可结合日常在控结果定期评估,调整中心线和控制限。

变更质控品批号时,新批号应与当前批号一起测定,以设定中心线和控制限。如新批号的中心线与在用批号接近,且检验方法在相当长的时间内较

稳定,可沿用在用批号的控制限。注意,定值质控品仍需实验室重复检测,以设定中心线和控制限,其标定值只能作为参考^[12]。

(四)分析批长度

自身抗体的室内质控工作应以每个分析批为基本单位进行。在每分析批内至少对质控品做一次检测。

自身抗体室内质控的分析批长度,优先考虑采用试剂/仪器生产商推荐的分析批长度。实际工作中,分析批长度受多因素影响,包括患者样品数量、工作流程、检测方法和操作人员素质等。因此,实验室需结合实际情况调整分析批长度,一般不应超过生产商推荐的分析批长度。

(五)质控品的位置

自身抗体质控品的位置,应优先考虑试剂/仪器生产厂家推荐的位置。实验室可结合实际自身抗体检测方法的类型和频繁提示的误差类型,调整每分析批内质控品的位置。非连续样品检测,质控品可放在分析批检验开始前或标本检验结束前。其他检测,如采用酶联免疫吸附法(96孔板)和间接免疫荧光法,质控品应随机放置以检出随机误差。

(六)质控数据记录

自身抗体室内质控数据应记录:检测项目名称,方法学名称,分析仪器名称及其唯一标识,试剂生产商,试剂批号及效期,质控品来源,质控品批号,质控结果、结论等。可使用利维-詹宁斯(Levey-Jennings)质控图、Z分数图和尤登(Youden)图等展示质控结果,从而对质控数据进行解释和分析。

(七)质控判定规则

1.定性检测项目:阴性、阳性质控品的检测结果应符合预期,如阳性质控品的检测结果必须为阳性。在此基础上,采用滴度报告结果的项目,阳性质控品检测结果应在预期质控水平的上、下一个滴度内,否则为失控^[7]。

2.定量检测项目:在定性判定正确的基础上,如阳性质控品检测结果为阳性时,再使用统计学质控规则: 1_{2s} 作为预警规则,至少涵盖一个随机误差规则和一个系统误差规则;如 1_{3s} 和 R_{4s} 可检出随机误差, 2_{2s} 和 4_{1s} 可检出系统误差。

(八)室内质控失控的处理

1.及时分析室内质控失控的原因。自身抗体室内质控失控的处理,应至少分析以下5个实验要



素:操作人员、实验仪器、试剂和耗材、检验方法和环境条件,未明确失控原因是否影响患者检测结果前,暂停发放临床报告。

2.明确失控原因后,应采取针对性的纠正措施。重测质控品在控后恢复检验,受失控原因影响的患者,检测结果应重新检验。

3.应根据失控原因等具体情况,回顾失控对已发出的临床报告的影响,必要时追回报告。

4.对频繁出现的导致失控的原因,应制定预防措施,并定期评价该预防措施的效果。

(九)室内质控的总结与改进

每月或规定时间内对室内质控数据进行整理、上报^[12]。在此基础上,定期(至少每年1次)对自身抗体室内质控工作进行总结,至少包括已开展室内质控的项目占比,各项目已运行的质控品水平,各项目精密度要求及运行中的实际精密度,分析误差的检出率等。此外,使用同一批号质控品的多家实验室,亦可对室内质控数据进行实验室间比对。基于以上室内质控的总结,对质控界限等各室内质控要素进行优化调整。

三、室间质量评价

1.制定室间质量评价计划:实验室应参加自身抗体检验相关室间质量评价或能力验证,包括国家卫生健康委员会、省市级临床检验中心等组织的评价活动。此外,亦可参加行业、协会等第三方组织的实验室间比对活动,如国家风湿病数据中心(CRDC)组织的室间比对。无室间质量评价计划的自身抗体检测项目,应有替代评估方案,如自行与使用相同检测系统的同级别、更高级别的其他实验室开展室间比对工作。

2.室间质量评价的实施:室间质量评价/能力验证和室间比对活动,应按照组织方的要求完成。实验室应按日常处理患者样品的方式处理室间质量评价/室间比对的样品。比对样品应由常规检验患者样品的人员,用检验患者样品的相同程序进行检验。

实验室间比对工作,每个项目每次至少检测5份样品(可选择有证标准物质、质控品和临床样品等);定性检测项目的比对样品应包括阳性和阴性,定量检测项目的比对样品应包括正常和异常水平;每年至少比对两次;实验室应制定比对结果符合的判定标准;每个项目每次比对的符合率 $\geq 80\%$ 认为该项目比对通过^[6-7]。

3.室间质量评价数据的处理:对室间质量评价

结果不合格或比对不通过的项目,应分析可能的原因,并采取纠正措施等。此外,每年应对室间质量评价的工作进行分析和总结。

四、实验室内比对

1.制定室内比对计划:为保证检验结果的可比性,实验室应在不同检验程序检测同一自身抗体项目时,如使用不同的检测系统、使用多套相同检测系统、使用同一检测系统的多个分析模块等,开展适宜的室内比对工作^[7, 13]。人员间比对至少每6个月进行1次,其他比对至少每年进行1次。

2.室内比对的实施:每次至少采用5份样品进行比对,其中定性检测项目至少选择两份阴性样品(至少含一份其他标志物阳性的样品)、三份阳性样品(至少含两份弱阳性样品)^[7]。与定性检测项目相似,定量检测项目的比对样品浓度应覆盖正常和异常水平,并在此基础上兼顾临床决定限水平^[13]。每个项目的每次比对 $\geq 80\%$ 的检测结果符合实验室的要求^[6, 13]。人员比对(如形态学判读比对)的样品要求和可接受标准等,宜参考定性检测项目的室内比对。

3.室内比对数据的处理:比对结果不合格,应分析原因,采取必要的纠正措施,并重复室内比对工作至符合实验室要求。如人员间比对结果不符合实验室要求时,应对工作人员进行再次培训与考核。

自身抗体检测质量管理覆盖检验前、检验中和检验后,实验室应根据国家标准、指南和专家共识等开展相关工作。在此基础上,实施规范化的自身抗体检测质量控制,不仅有助于了解、监测实验室在用检测体系的精密度和可比性等,亦对全面提高自身抗体检测质量具有更重要的意义。

共识组成员名单(按姓氏汉语拼音排序):白伊娜(中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院风湿免疫科);蔡霜萍(广西壮族自治区人民医院检验科);陈娟娟(南昌大学第二附属医院检验科);陈世峰(烟台毓璜顶医院检验科);邓垂文(中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院风湿免疫科);董柯(空军军医大学第二附属医院检验科);董晓微(宁夏回族自治区人民医院检验科);方伟(广东省人民医院检验科);冯雪(中国中医科学院广安门医院检验科);郭晓英(大庆油田总医院检验科);郝兵(浙江大学医学院附属第一医院 国家卫生健康委员会多器官联合移植研究重点实验室);韩珊珊(浙江大学医学院附属第一医院 三门湾分院检验科);何敏(广东省中医院检验科);胡朝军(中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院风湿免疫科)



科);胡树恒(济宁医学院附属医院检验科);胡尧(复旦大学附属华山医院检验科);黄珺(浙江大学医学院附属邵逸夫医院检验科);黄清水(南昌大学第一附属医院检验科);黄卓春(四川大学华西医院实验医学科);江涛(河南科技大学第一附属医院检验科);金卫东(浙江省人民医院检验科);孔晓丹(大连医科大学附属第二医院风湿免疫科);黎村艳(湖南省人民医院检验科);李俊(浙江省台州医院检验科);李梦涛(中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院风湿免疫科);李萍(中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院风湿免疫科);李晞(广西医科大学第一附属医院检验科);李欣(南方医科大学南方医院检验科);李志艳(北京大学第一医院检验科);林迎伟(大连医科大学附属第二医院检验科);刘冬舟(深圳市人民医院风湿免疫科);卢秋维(广西壮族自治区人民医院检验科);路瑞静(深圳市宝安区妇幼保健院检验科);罗静(山西医科大学第二医院风湿免疫科);孟菁菁(郑州大学第五附属医院检验科);彭磊文(四川大学华西二院检验科);彭清林(中日友好医院风湿免疫科);曲晓霞(山东大学齐鲁医院风湿免疫科);曲远青(西部战区军区总医院检验科);任冬梅(河南省焦作市人民医院检验科);邵春青(首都医科大学附属北京天坛医院检验科);宋淑然(河北医科大学第二医院检验科);苏真珍(四川大学华西医院实验医学科);王春燕(郑州大学第一附属医院肾内科);王芳(贵州医科大学第二附属医院检验科);王芳(兰州大学第二医院生殖医学科);王立水(山东大学齐鲁医院检验科);王泽筠(山东省立医院检验科);文波(深圳市人民医院检验科);吴世及(华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科);夏欢(海口市人民医院检验科);徐健(昆明医科大学第一附属医院风湿免疫科);薛静(浙江大学医学院附属第二医院风湿免疫科);杨滨(四川大学华西医院实验医学科);杨国香(内蒙古自治区人民医院检验科);袁小澎(深圳市人民医院检验科);张辉(深圳市第二人民医院检验科);张明娇(南方医科大学第三附属医院风湿免疫科);张松照(浙江大学医学院附属第二医院检验科);张欣(郑州大学第一附属医院风湿免疫科);赵静(内蒙古医科大学第一附属医院风湿免疫科);曾黎峰(江西省人民医院检验科);曾小峰(中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院风湿免疫科);周海舟(哈尔滨医科大学附属第一医院检验科);周仁芳(温州医科大学附属温岭医院检验科);朱红艳(云南省第一人民医院检验科)

执笔:胡朝军;邓垂文;周仁芳;何敏;杨滨;李晞

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

[1] 中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委

员会. 抗核抗体检测的临床应用专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(4): 275-280. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2018.04.008.

- [2] 中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会. 抗中性粒细胞胞浆抗体检测的临床应用专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(9): 644-650. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2018.09.005.
- [3] 国家风湿病数据中心, 中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会, 国家免疫疾病临床医学研究中心. 抗磷脂抗体检测的临床应用专家共识[J]. 中华内科杂志, 2019, 58(7): 496-500. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2019.07.003.
- [4] 中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会, 国家风湿病数据中心, 国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心. 类风湿关节炎相关自身抗体检测的临床应用专家共识[J]. 中华内科杂志, 2021, 60(6): 516-521. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-202101229-01059.
- [5] 中国医师协会风湿免疫科医师分会自身抗体检测专业委员会, 国家风湿病数据中心, 国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心. 自身免疫性肝病相关自身抗体检测的临床应用专家共识[J]. 中华内科杂志, 2021, 60(7): 619-625. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20210114-00037.
- [6] 国家市场监督管理总局.GB/T 22576.1-2018 医学实验室质量和能力的要求 第 1 部分: 通用要求[S]. [2018-12-28]. [2023-10-01]. <https://std.samr.gov.cn/gb/search/gbDetailed?id=7E2903B0D6D05A63E05397BE0A0AF660>.
- [7] 国家市场监督管理总局.GB/T 22576.5-2021 医学实验室质量和能力的要求 第 5 部分: 临床免疫学检验领域的要求[S]. [2021-05-21]. [2023-10-01]. <https://std.samr.gov.cn/gb/search/gbDetailed?id=C3386C490C9D8B79E05397BE0A0AC288>.
- [8] 费阳, 王薇, 钟堃, 等. 235 家临床实验室红细胞沉降率参考区间和医学决定水平的现况调查[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(1): 13-15. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.01.006.
- [9] 国家卫生健康委员会.WS/T 574-2018 临床实验室试剂用纯化水[S]. [2018-04-27]. [2023-10-01]. <http://www.nhc.gov.cn/fzs/s7852d/201805/dd543645822c4b60b6f29fe222ec2647.shtml>.
- [10] 中国合格评定国家认可委员会.CNAS GL005-2018 实验室内部研制质量控制样品的指南[S]. [2018-03-01]. [2023-10-01]. <https://www.cnas.org.cn/rkgf/sysrk/rkzn/2019/02/895589.shtml>.
- [11] 中国合格评定国家认可委员会.CNAS GL003-2018 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S]. [2018-03-01]. [2023-10-01]. <https://www.cnas.org.cn/rkgf/sysrk/rkzn/2018/03/889121.shtml>.
- [12] 国家卫生健康委员会.WS/T 641-2018 临床检验定量测定室内质量控制[S]. [2018-12-11]. [2023-10-01]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/s9492/201812/4ac61dd094bf47679e28dcfba429b30.shtml>.
- [13] 中国合格评定国家认可委员会.CNAS GL047-2021 医学实验室定量检验程序结果可比性验证指南[S]. [2021-04-25]. [2023-10-01]. <https://www.cnas.org.cn/rkgf/sysrk/rkzn/2021/05/905335.shtml>.

