

DOI:10.16781/j.0258-879x.2018.10.1161

• 学术园地 •

开展品管圈活动提高单克隆浆细胞遗传学异常检出率

丁 静, 郭孟乔, 柳 敏, 龚胜蓝, 张春玲, 黄崇媚, 王健民, 杨建民, 唐古生*
海军军医大学(第二军医大学)长海医院血液科, 全军血液病研究所, 上海 200433

[摘要] **目的** 通过开展品管圈活动, 提高单克隆浆细胞遗传学异常检出率。**方法** 成立品管圈小组, 收集海军军医大学(第二军医大学)长海医院血液科 2014年6月至2014年12月所有疑诊多发性骨髓瘤并进行浆细胞相关免疫荧光原位杂交(FISH)检测的骨髓标本, 分析单克隆浆细胞遗传学异常检出率的状况, 并与文献对比发现异常检出率差异及可能原因, 制定改进措施、实践并回顾分析、判断改进效果。**结果** 现况调查发现初发标本内肿瘤负荷低、检测结果在临界值附近无法判断是本次活动改善重点。品管圈活动小组通过头脑风暴, 根据实验室现有条件, 提出了先用流式分选浓缩异常细胞, 提高肿瘤细胞密度、降低背景值, 再进行遗传学检测等关键手段。最终将我院单克隆浆细胞遗传学异常检出率从 61.3% (95/155) 提高至 92.1% (174/189)。**结论** 通过开展品管圈活动, 优化了疑诊多发性骨髓瘤患者骨髓 FISH 检测流程, 有效提高了浆细胞遗传学异常检出率。

[关键词] 品管圈; 多发性骨髓瘤; 细胞遗传学异常; 单克隆浆细胞; 荧光原位杂交

[中图分类号] R 733.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2018)10-1161-04

Improving detection rate of cytogenetic abnormalities of monoclonal plasma cells through quality control cycle activities

DING Jing, GUO Meng-qiao, LIU Min, GONG Sheng-lan, ZHANG Chun-ling, HUANG Chong-mei, WANG Jian-min, YANG Jian-min, TANG Gu-sheng*

Department of Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases of PLA, Changhai Hospital, Navy Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To improve the detection rate of cytogenetic abnormalities of monoclonal plasma cells through quality control cycle (QCC) activities. **Methods** A QCC team was established to collect the bone marrow samples of patients suspected with multiple myeloma, who undergoing plasma cell-associated fluorescence *in situ* hybridization (FISH) in Department of Hematology, Changhai Hospital of Navy Medical University (Second Military Medical University) from Jun. 2014 to Dec. 2014. The detection rate of cytogenetic abnormalities of monoclonal plasma cells was analyzed and compared with literatures to find out the difference and related causes, and then the improvement measures were formulated and practiced to evaluate the improvement effect. **Results** We found that low tumor load in the initial specimen and the detection result could not be judged due to that value is very close to the critical value were the two key points to be improved in the QCC activity. Based on the brainstorming and the existing laboratory conditions, the QCC team chose to sort abnormal cells by flow cytometry to increase tumor cell density and reduce background value before genetic testing. Finally, the detection rate of cytogenetic abnormalities of monoclonal plasma cells increased from 61.3% (95/155) to 92.1% (174/189) in our hospital. **Conclusion** The FISH detection process of bone marrow of patients suspected with multiple myeloma is optimized through QCC activities, and the detection rate of cytogenetic abnormalities of monoclonal plasma cells is effectively improved.

[Key words] quality control cycle; multiple myeloma; cytogenetic abnormalities; monoclonal plasma cells; fluorescence *in situ* hybridization

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(10): 1161-1164]

多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 及其恶化前病变来源于终末分化的 B 淋巴细胞, 是高度异质性的浆细胞疾病。荧光原位杂交

(fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 遗传学分析发现遗传学异常对 MM 的进展和预后判断有重要作用, 是建立危险分层和预后判断体系

[收稿日期] 2018-05-07 [接受日期] 2018-08-01

[作者简介] 丁 静, 检验技师. E-mail: laughing_410@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-311161295, E-mail: drake015@163.com

的重要手段。然而由于肿瘤初始负荷低、标本稀释等因素使得部分患者可检测瘤细胞比例偏低,约30%~40%的标本FISH检测结果低于或在临界值附近,这其中除部分标本确实无异常遗传学改变外,也有相当一部分标本是“假阴性”结果^[1-2]。如何进一步优化标本采集、运送、存储、前处理、检测及报告分析流程,预先“浓缩瘤细胞”、提高可检测瘤细胞比例,提高方法学灵敏性和特异性、减少漏诊,是临床和实验室迫切需要解决的问题。海军军医大学(第二军医大学)长海医院血液科和血液病实验室通过成立品管圈(Quality Control Cycle, QCC)小组并确立主题活动内容,在实验室现有条件基础上确定目标和实施方案,实践并摸索改进、形成新的实验流程并进行标准化,有效提高了浆细胞遗传学异常检出率,现将相关实施情况报告如下。

1 方法和结果

1.1 准备阶段 血液科医师和实验室成员共同学习QCC的特点、活动内容及要求,在此基础上建立QCC活动小组。QCC成员9人由科室骨干自发组成,组成人员包括血液科临床副主任医师、主治医师各1名,血液病实验室副主任医师1名、副主任技师1名、主管技师2名、技师3名。QCC活动小组负责本次活动指导、决策、实施、监督和效果确认。

1.2 实施阶段

1.2.1 主题选定 圈长组织将当前临床和实验室工作中拟解决的关键问题列举,全体QCC成员进行讨论,并根据医院政策、问题的重要性、问题的迫切性及QCC成员能力4个方面,采用“5、

3、1”评分^[3]得出本次活动的主题为“提高单克隆浆细胞遗传学异常检出率”。

1.2.2 制定活动计划 根据活动步骤制定详细的小组活动计划表,并制成甘特图,按步骤实施。

1.2.3 现状把握及主要因素分析 2014年12月,QCC成员通过到现场、看操作,全程了解当时实验室疑诊MM患者标本的采集、运送、接收、前处理、检测及报告分析;收集2014年6月至2014年12月所有怀疑MM并进行浆细胞相关FISH检测的骨髓标本。共调查了155例检测标本,其中阴性结果60例,占38.7%,各种可能漏检原因及其构成比见表1。通过柏拉图分析发现,肿瘤初始负荷低以及标本稀释使采集的患者标本中异常细胞比例偏低达不到FISH检测方法灵敏性,是临床浆细胞遗传学异常漏检的主要原因。进而组织QCC成员通过头脑风暴、运用鱼骨图,从人员、技术、仪器、患者4个方面进行分析,确定能够提高检出率的主要因素包括:制定采样、预处理的规范化和人员培训;改善环境设施和升级硬件设备以提高分辨率;匹配工作量增加,增加人员编制并及时进行大强度、高质量的培训;建立新技术、新方法以提高标本中瘤细胞比例(图1)。

表1 疑诊多发性骨髓瘤患者遗传异常检测阴性情况及其构成比分析

可能原因	阴性标本数及构成比 N=60, n (%)	形态学瘤细胞比例 (%)
肿瘤负荷低	30 (50.0)	0~10.0
临界值附近无法判断	18 (30.0)	10.0~20.0
其他及真阴性标本	11 (18.3)	20.0~95.3
标本放置时间过久	1 (1.7)	30.5

共收集155例检测标本,其中阴性结果60例,阴性率为38.7%

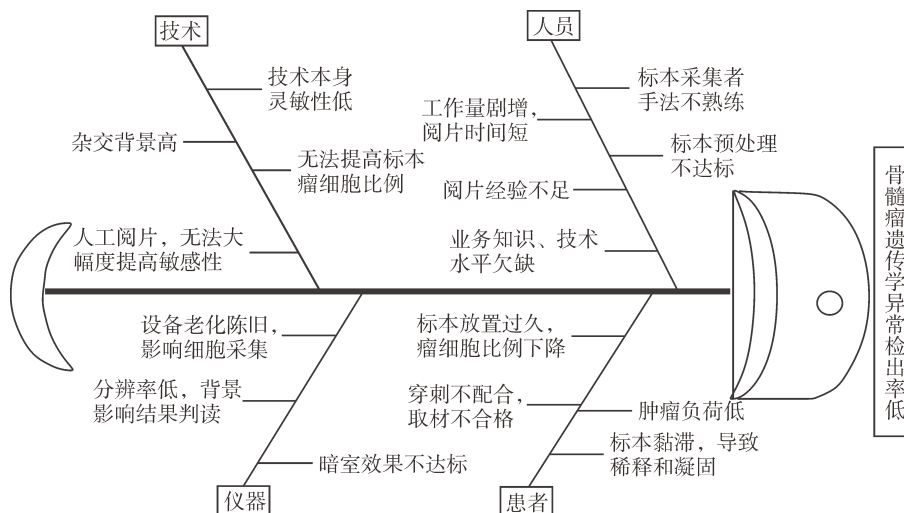


图1 多发性骨髓瘤遗传学异常检出率低原因分析鱼骨图

通过 QCC 成员对上述所列可能原因的充分讨论, 并进行无记名表决, 提出本次主题关键要因是: 常规 FISH 实验流程无法检测出瘤细胞负荷低的标本中浆细胞的遗传学异常。实践中发现肿瘤负荷低于 20% 的患者异常检出率低, 其关键原因是显微镜下可分析的异常浆细胞数目过少。如何将肿瘤负荷低于 20% 的异常浆细胞标本在 FISH 检测之前进行“浓缩”, 人为提高后续检测中异常浆细胞的密度, 是解决本次主题的主要因素。

1.2.4 目标设定及依据 根据公式计算目标值: 目标值 = 现状值 - (现状值 × 改善重点 × 圈能力)。其中, 改善重点通过柏拉图分析获得, 圈能力通过对流程改善涉及的部门及实施细节可行性评估, 由全体 QCC 成员投票获得。考虑到 MM 患者浆细胞遗传学改变本身有一定的阴性率, 不可能通过提高原始标本中瘤细胞比例使所有异常浆细胞 FISH 检测都为阳性。因此, 目标值设定为 $38.7\% - (38.7\% \times 80\% \times 94.5\%) = 9.4\%$, 较为合理。

1.2.5 对策拟定及实施 明确重点后, QCC 成员进一步从对策的自主性、可行性和效益性等方面查文献、头脑风暴, 并由全体 QCC 成员对其进行评分, 并按得分高低进行排序, 最后得出技术因素中提高瘤细胞比例是解决本次品管圈主题的最有效、最根本的解决方案, 其他排名前 3 可附带改善的方案, 也在过程中一并拟定对策并实施, 包括各个环节操作人员培训、人手调配、暗室改造等。

针对提高瘤细胞比例这个主要、根本的解决方案, QCC 活动小组根据实验室现有条件对采集标本中的瘤细胞分类别、并采用流式分选或磁珠分选两种方案进行“浓缩”, 观察对比各组的分选效果。具体方案、效果及优缺点如下: (1) 瘤细胞比例 > 20% 的标本, 不进行浓缩操作, 直接按常规处理 FISH 检测。(2) 瘤细胞比例 ≤ 20% 的标本尝试磁珠分选或流式分选后检测。磁珠分选 1 次后瘤细胞比例均在 50% 以下, 瘤细胞比例低于 5% 时 1 次磁珠分选浓缩甚至不能达到 15%; 而流式分选后瘤细胞比例均可达到 90% 以上, 瘤细胞比例大于 0.01% 时只要标本量足够均可获得足够标本进行 FISH 分析。(3) 磁珠分选操作时间长, 前后约需要 4~5 h, 且所需抗体量大, 需要专门的过滤柱、磁铁和支架, 瘤细胞损耗多, 瘤细胞比例过低时, 分选后纯度仍然达不到 FISH 检测最低要

求。流式分选效率高, 耗时相对较短 (2~3 h); 若瘤细胞比例较高 (5%~20%) 可直接对常规检测后残留标本进行分选用于 FISH 检测, 耗时更短且不需要额外增加大量抗体, 节省成本。

1.3 效果确认 经过实践摸索优化, 后续常规工作中, 对于瘤细胞比例低、不适合直接进行 FISH 检测的标本, 首先采用流式分选浓缩, 分选后瘤细胞比例均在 90% 以上, 远远超过了 FISH 方法学要求的最低检测密度。分选操作中, 可直接分选约 3 000~5 000 个瘤细胞至玻片上, 晾干后进行 FISH 检测, 也减少了标本直接进行 FISH 检测时标本前处理、滴片等操作, 简化了步骤。检测流程的更改如图 2 所示。旧流程对采集标本未经瘤细胞密度评估直接处理进行 FISH 检测, 漏检率高, 且部分疑诊但非骨髓瘤标本行相关检测无必要。新检测流程首先进行形态和流式检测, 明确疑诊骨髓瘤患者是否存在异常浆细胞, 同时确定异常细胞比例。对于浆细胞正常标本, 终止遗传学检测项目, 避免不必要浪费, 降低患者负担; 高密度标本确认后行 FISH 检测, 提高检出率及结果特异性; 对于低密度标本 (≤ 20%), 首先采用流式分选浓缩异常浆细胞, 再进行 FISH 检测, 提高 FISH 敏感性, 降低了漏检率。

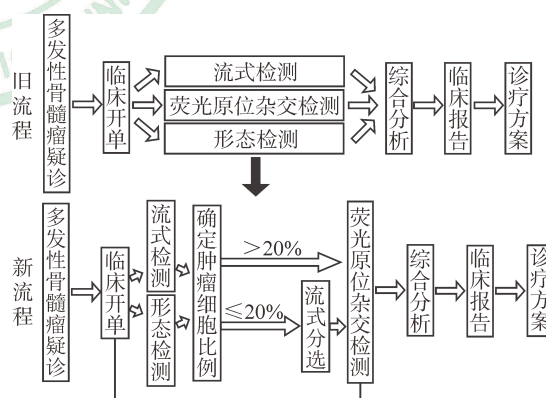


图 2 品管圈活动后多发性骨髓瘤遗传学异常检测流程更改模式图

为进一步评价上述改进措施实施的效果, 我们收集了 2015 年 1 月至 2015 年 6 月血液病实验室拟诊 MM 并采用新流程进行遗传学检测的标本, 对比前期 2014 年 6 月至 2014 年 12 月采用旧流程检测标本, 发现初发 MM 患者 FISH 检测遗传学异常检出率由 61.3% 提高至 92.1%, 而阴性率由 38.7% 下降至 7.9% (表 2), 达到了预计目标值。

表 2 新、旧流程 FISH 检测拟诊 MM 患者遗传学异常检出率差异对比

可能原因	旧流程标本 N=155	新流程标本 N=189
异常检出率 <i>n</i> (%)	95 (61.3)	174 (92.1)
累计阴性率 <i>n</i> (%)	60 (38.7)	15 (7.9)
肿瘤负荷低 <i>n</i>	30	0
临界值附近无法判断 <i>n</i>	18	0
其他及真阴性标本 <i>n</i>	11	15
标本放置时间过久 <i>n</i>	1	0

MM: 多发性骨髓瘤; FISH: 荧光原位杂交

2 讨论

QCC 活动近年在国内得到广泛开展,在发动群众智慧、逐个突破实际工作中的细节问题、优化工作流程、提升工作质量等多个方面发挥了重要的作用。临床医疗各个专业,尤其是护理人员在开展 QCC 活动中的积极性很高,也取得了很多有效的临床成果^[4-6]。

本次活动中,我们针对本院血液科临床医师对 MM 患者细胞遗传学正确检测结果的迫切需求,及时成立 QCC 小组,发动群众力量,结合实验室硬件和软件情况,全面分析了问题形成的要因。确定能够提高检出率的部分因素包括:制定采样、预处理的操作规范和人员培训;改善环境设施和升级硬件设备以提高分辨率;匹配工作量增加,增加人员编制并进行大强度、高质量的及时培训;建立新技术、新方法以提高标本中瘤细胞比例。通过对前 3 个方面的改进可以提高标本采集质量、确保报告分析水平,可部分减少稀释标本、临界值附近标本漏检率,但仍不能确实提高异常细胞密度较低标本的遗传学异常检出率。QCC 成员头脑风暴后一致认为,只有建立新技术、新方法有效提高原始标本中瘤细胞比例,才能彻底解决瘤细胞比例低于或接近于检测灵敏度低点所致漏检。我科实验室有带分选功能的流式细胞仪,常规可以对低至 0.01% 靶细胞进行分选浓聚,多用于科研。如果借鉴到临床则可以大大提高拟检测临床标本中的异常浆细胞比例。为进一步简化标本处理步骤、优化流程、避免工作量过度增加,我们又进一步摸索将异常浆细胞分选至 FISH 检测玻片上,晾干处理后直接进行 FISH 分析流程,减少了原始标本处理中的滴片等步骤。

我们也对比了目前临床常用的磁珠分选富集的方案,对于起始密度相对较高的标本,磁珠富集可以基本满足 FISH 检测要求,但其分选纯度仍不及流式分选。而对于异常细胞密度特别低 (<5%) 的标本,磁珠 1 次富集几乎达不到 FISH 分析要求,再次富集增加工作量和抗体损耗,异常细胞得率也低。因此结合我科实验室实际条件,磁珠分选没有优势,达不到流式分选的效果和临床 FISH 检测的要求。

通过本次 QCC 活动,实验室浆细胞异常检出率明显提高,假阴性率下降,达到了预计目标值。QCC 活动将原来直接初发标本检测 FISH 流程更改为借助其他 2 种方法首先确定初发标本中瘤细胞是否存在及瘤细胞的密度,再根据瘤细胞密度决定对标本直接进行 FISH 检测或是采用流式分选浓缩后再进行 FISH 检测。相关流程的改变,不增加医师负担(不改变医嘱开单模式)、不增加患者痛苦和负担(不增加采样次数、实验室承担分选费用)、减少了部分无效检测(部分拟诊 MM 患者形态和流式检测无异常浆细胞,则终止 FISH 检测),但提高了 FISH 阳性检出率、降低了漏检率,为患者进行危险分层和制定个体化治疗方案提供了准确的实验室证据。

[参考文献]

- [1] RAJAN A M, RAJKUMAR S V. Interpretation of cytogenetic results in multiple myeloma for clinical practice[J/OL]. *Blood Cancer J*, 2015, 5: e365. doi: 10.1038/bcj.2015.92.
- [2] RAJKUMAR V. Myeloma today: disease definitions and treatment advances[J/OL]. *Am J Hematol*, 2016, 91: 965. doi: 10.1002/ajh.24392.
- [3] 梁铭会,刘庭芳,董四平. 品管圈在医疗质量持续改进中的应用研究[J]. *中国医院管理*, 2012, 32: 37-39.
- [4] 杨茜,董航筠,程娟,蒋黎敏,傅启华,李怀远. 品管圈在改善急诊生化检验及时率中的应用[J]. *检验医学*, 2016, 31: 61-65.
- [5] 迟俊涛. 品管圈在护理工作中的应用现状及建议[J]. *中华现代护理杂志*, 2015, 21: 745-747.
- [6] 孙春燕. 应用品管圈活动对提升医院感染管理工作质量的探讨[J]. *中国消毒学杂志*, 2015, 32: 1207-1208, 1212.

[本文编辑] 孙 岩