

- 数的影响[J]. 西南军医, 2006, 8(6): 51-52.
- [5] 莫丽亚, 邓永超, 李先斌, 等. 血液混匀仪对血细胞分析结果的影响[J]. 实用预防医学, 2006, 13(1): 183-184.
- [6] 王莉萍, 王顺芹, 杨平安. 全血质控物混匀方法体会[J]. 医学理论与实践, 2003, 16(1): 71.

• 质控与标规 •

- [7] 许华斌, 李媛媛. 血细胞质控品开封后的稳定性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(5): 456-458.

(收稿日期: 2011-10-08)

“即刻法”质控在艾滋病初筛实验室室内质控中的应用

高振霞

(南京市六合区人民医院检验科 211500)

摘要: 目的 建立一种简单、易行、实用、科学的艾滋病初筛实验室质控方法, 以更好地对小批量低频次艾滋病抗体检测进行质控。方法 对外部质控血清检测 3 个点以上数据, 并用其结果绘制质控图。结果 通过小批量低频次检测外部质控血清, 绘制“即刻法”质控图, 可用于艾滋病抗体初筛的室内质控。结论 该质控图具有较高的检出分析误差能力, 能及时、快速监控实验操作的一致性及判断结果的有效性, 对检测频次较低的初筛实验室更有实用价值。

关键词: 获得性免疫缺陷综合征; 实验室技术和方法; 质量控制; 即刻法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.10.048

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2012)10-1247-01

艾滋病已成为危害人类生命的一大杀手^[1]。目前检测艾滋病抗体的主要方法是 ELISA 法, 但对于大部分初筛实验室由于样本量少, 采用同一批号试剂盒测定 20 个点绘制 L-J 质控图有一定难度, 因此, 作者采用“即刻法”对小批量标本的检测, 只要 3 个点以上就可进行质控^[2], 以保证艾滋病实验室的检测质量。开展实验室质控是保证实验室分析结果准确性的必要基础, 也是保证实验室间有可比性的关键^[3]。现将“即刻法”质控特点^[4]阐述如下。

1 材料与方法

1.1 仪器 Bio-rad imark 酶标仪及 Bio-rad 洗板机(美国伯乐公司)、电热恒温箱(上海电工医疗器械厂)等。

1.2 质控血清 外部质控血清由北京康彻思坦生物制剂有限公司提供(外部质控血清不可反复冻融, 一旦融化后应存放于 2~8 ℃冰箱内, 供 1 周内使用。一次需配备半年用量)。人类免疫缺陷病毒(HIV, 1+2)抗体酶联免疫诊断试剂盒由珠海丽珠有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 内部对照 由试剂盒提供阳、阴性对照, 每次检测设立空白孔 1 个, 阴性对照孔 3 个, 阳性对照孔 2 个。检测结果判断: 阴性对照孔 $OD < 0.08$, 阳性对照孔 $OD > 0.80$ 。若阴性对照孔小于 0.08 按 0.08 计, > 0.08 则按实际值计算。临界(Cut-off)值 = $NC + 0.15$ 。一般阴性对照孔都小于 0.08, 故 Cut-off 值应设为 $NC \times 0 + 0.23$ 。一旦实验不符合这些条件应检查问题的原因, 并重新检测。

1.3.2 外部对照 用北京康彻思坦生物制剂公司提供的质控血清以试剂盒 Cut-off 值 2~3 倍为宜, 每次设质控孔最多 4 个。对同一批外部质控血清连续测定 3 次后即可对第 3 次结果进行质控。

2 结果

2.1 方法回顾

2.1.1 将测得的 OD 值与 CO 值比较后得 S/CO 值, 然后从小到大排列: $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ (x_1 为最小值, x_n 为最大值)。

2.1.2 计算 S/CO 值的均值(\bar{x})和标准差(s)。

2.1.3 计算 SI 上、下限值, $SI_{\text{上限}} = (x_n - \bar{x})/s$, $SI_{\text{下限}} = (\bar{x} - x_1)/s$ 。将所得的 SI 上、下限值与 SI 值表(表 1)中的 n_{3s} 、 n_{2s}

进行比较。

表 1 SI 值表

<i>n</i>	n_{3s}	n_{2s}
3	1.16	1.15
4	1.49	1.46
5	1.75	1.67
6	1.94	1.82
7	2.10	1.94
8	2.22	2.03
9	2.32	2.11
10	2.41	2.18
11	2.48	2.23
12	2.55	2.29
13	2.61	2.33
14	2.66	2.37
15	2.71	2.41
16	2.75	2.44
17	2.79	2.47
18	2.82	2.50
19	2.85	2.53
20	2.88	2.56

2.2 当 SI 上、下限值均小于 n_{2s} 时表示处于控制范围内, 可以继续测定, 继续重复以上各项计算; 当有一值处于 $n_{2s} \sim n_{3s}$ 之间时说明该值处于“告警”状态; 当 SI 上、下限值有一值大于 n_{3s} 时说明该值已在 n_{3s} 之外, 属于“失控”。数值处于“告警”和“失控”状态应舍去, 需重新测定该质控血清和患者血清。舍去的只是失控的这次数值, 其他测定值仍可继续使用。

2.3 以同一批次珠海丽珠抗-HIV 试剂盒为例, 在第 3 次测定后按“即刻法”计算: $n=3$ 时将 3 次 S/CO 值从小到大排列为: 2.87、3.40、3.50。求出 $\bar{x} = 3.26$, $s = 0.34$ 。计算: $SI_{\text{上限}} = (3.50 - 3.26)/0.34 = 0.71$, $SI_{\text{下限}} = (3.26 - 2.87)/0.34 = 1.00$ 。查 SI 值表: $n=3$ 时 $n_{3s} = 1.16$, $n_{2s} = 1.15$, 均小于 n_{2s} , 表示该 3 次检测数据在可控范围内。同理, (下转第 1258 页)

正确。

3 讨 论

目前 HIV 初选实验室 HIV 的检测主要依赖 ELISA 法, 但实验中的各个环节对检测结果影响较大如试剂平衡、加样、温育、洗板过程、显色及终止、比色等^[1-3], 当然试剂选择是保证 HIV 检验质量的关键要素。不同 HIV 筛选实验室所选用试剂不同, 有必要对现有的筛查策略进行评估后调整^[4]。

本院实验室利用珠海丽珠 HIV-1 和 HIV-2 抗体诊断试剂作为 HIV 抗体检验的初筛试剂, 其特异性为 100.00%, 敏感性为 99.95%, 功效率为 99.95%; 复检试剂为北京金豪 HIV-1 和 HIV-2 抗体诊断试剂, 其特异性为 100.00%, 敏感性为 99.96%, 功效率为 99.96%, 与 2010 年 12 月中国 CDC 性病艾滋病预防控制中心发布的“2010 年全国 HIV 抗体诊断试剂临床质量评估报告”中珠海丽珠 HIV 抗体诊断试剂的特异性(100.00%)、敏感性(98.95%)、功效率(99.34%)和北京金豪 HIV 抗体诊断试剂的特异性(100.00%)、敏感性(98.25%)、功效率(98.90%)非常相近, 故本院 HIV 初筛实验室所选珠海丽珠 HIV-1 和 HIV-2 抗体诊断试剂和北京金豪 HIV-1 和 HIV-2 抗体诊断试剂符合《全国艾滋病检测技术规范(2009 年修订版)》规定的 HIV 抗体检验初选实验室试剂要求, 而且在本实验室条件下 ELISA 法检测 HIV 抗体的操作步骤和质控过程是合理的, 本实验室所参与的全国 HIV 室间质控均为 100 分、2009~2011 年参加中山市 CDC HIV 室间质控全部正确也支持这一结果。

根据《全国艾滋病检测技术规范(2009 年修订版)》中“对

(上接第 1247 页)

第 4 点数据 $SI_{上限} = 1.00$, $SI_{下限} = 1.03$, 比较 SI 值表, 该 4 点检测数据均在控制范围内(表 2)。

表 2 HIV 抗体“即刻法”室内质控检测数据表

次数	质控 OD 值	Cut-off 值	S/CO 值
1	0.782	0.23	3.40
2	0.805	0.23	3.50
3	0.659	0.23	2.87
4	0.686	0.23	2.98

3 讨 论

“即刻法”质控是建立在统计学方法基础上的室内质控方法, 又称为 Grubbs 异常值取舍法或即刻性质控统计方法^[5]。按要求更换不同厂家试剂盒后必须重新绘制质控图, 改用新批号试剂盒也应重新制作质控图, 甚至季节更替、温差变化的影响也需要重新制作质控图。对一些艾滋病低发区, 该方法克服了艾滋病初筛实验室由于检测数量频次少, 试剂盒有效期短, 无法用同批次试剂盒连续测定 20 个点的缺点, 只要测定 3 个点就可以进入质控^[6], 能快速进入质控状态, 同时能够了解各批次试剂盒之间的差异(批间误差), 比起单一的质控图法更具可行性, 为艾滋病初筛实验室提供了一种快速、实用的质控方法。

当检测的数据超过 20 点后不必再采用“即刻法”, 也就是说每一批次试剂的 1~20 次实验采用“即刻法”质控, 第 21 次实验开始采用 L-J 质控法。每次改用新批号试剂盒应重新制

初筛呈阳性反应的样品, 应使用原有试剂和另外一种不同原理(或厂家)的试剂, 或另外两种不同原理或不同厂家的试剂进行复检试验, 均呈阳性反应, 或一阴一阳, 需送艾滋病确证实验室进行确证试验”的要求, 初筛试剂应选用敏感性、特异性高的试剂, 以减少漏诊和降低费用。本研究结果显示, 在检测 HIV 抗体方面两种试剂的敏感性、特异性和功效率等比较, 差异无统计学意义, 一致性为 99.99% [$Kappa = 0.99 (> 0.75)$], 二者在检测 HIV 抗体方面一致程度好, 故珠海丽珠和北京金豪试剂均可作为初筛试剂, 由于珠海丽珠比北京金豪试剂检测的 HIV 阳性多 2 例, 故选择珠海丽珠 HIV 抗体诊断试剂作为初筛试剂比选北京金豪试剂更合适, 可以减少漏诊。

综上所述, 在本院 HIV 初选实验室条件下, HIV 抗体初筛和复检试剂的选择是合理的, HIV 检验质控过程是恰当的。

参考文献

- [1] 陈永红,任君慧,李依萍. 影响 ELISA 测定结果的因素[J]. 实用医技杂志,2005,12(5A):1132-1133.
- [2] 易金平. 酶联免疫吸附试验技术的影响因素分析[J]. 检验医学与临床,2010,7(22):2553-2554.
- [3] 梁其隆,陈龙菊,甘芳香. ELISA 法检测抗-HIV 结果影响因素的研究[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(10):1050-1051.
- [4] 尺伟,杜霞,向往,等. 采供血机构 HIV 筛查方法和策略的应用及评价[J]. 重庆医学,2007,36(21):2142-2143.

(收稿日期:2011-12-13)

作室内质控框架图。该方法同样适用于其他 ELISA 法如抗-HAV 抗体、HBsAg 等免疫指标的室内质控。不足之处是需要对每次测定的结果进行计算, 而且灵敏度稍差, 对于数值的位移及趋势, “即刻法”也不能较好地反映出来, 实验操作人员应予注意^[7]。

参考文献:

- [1] 姚春红. 1 516 例出入境人员 HIV 和梅毒检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(21):2546-2547.
- [2] 刘志军. 用 Excel2002 软件建立“即刻法”质控模板[J]. 中国输血杂志,2008,21(7):530-531.
- [3] Arce S, Nawar HF, Russell MW, et al. Differential binding of Escherichia coli enterotoxins LT-II a and LT-II b and of cholera toxin elicits differences in apoptosis, proliferation, and activation of lymphoid cells[J]. Infect Immun, 2005,73(5): 2718-2727.
- [4] Hajishengallis G, Tapping RI, Martin MH, et al. Toll-like receptor 2 mediates cellular activation by the B subunits of type II heat-labile enterotoxins[J]. Infect Immun, 2005,73(3):1343-1349.
- [5] 秦晓光. 适于免疫测定的“即刻法”质控方法——Grubbs 异常值取舍法[J]. 中华医学检验杂志,1992,15(1):37-41.
- [6] 段惠玲. 应用“双质控法”、加强“即刻法”室内质控[J]. 重庆医学, 2006,35(11):971-974.
- [7] 宋悦红. HIV 检测中建立 Levey-Jennings 质控图与“即刻法”质控的应用比较[J]. 现代预防医学,2008,35(9):1702-1712.

(收稿日期:2011-10-08)