

• 经验交流 •

HCV-ELISA 加样负偏差对稀释液吸光值的影响及其意义

庞 栋¹, 黄 广², 邱昌文¹, 苏武锦¹

(1. 南宁中心血站, 广西南宁 530003; 2. 广西血液监测中心, 广西南宁 530000)

摘 要:目的 探讨酶联免疫法检测丙型肝炎抗体(HCV-ELISA)加样负偏差导致的稀释液吸光值(OD 值)变化。方法 应用稀释液加样后变色技术, 分别在 HCV-ELISA 标准加样量 10 μ L(对照组)基础上递减 1、2、3、4、5 μ L 比较进行加样, 分析不同加样偏差所致的稀释液 OD 值(620 nm)的变化及意义。结果 除 A 组与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)外, B、C、D、E 组对照组均存在统计学意义($P<0.01$)。结论 稀释液 OD 值随着加样负偏差增大而下降, 可利用其变化关系判定实验加样准确度, 避免因肉眼无法判定加样偏差而导致的血液检测结果不准确, 确保血液安全。

关键词:肝类抗体, 丙型; 酶联免疫吸附测定; 指示剂和试剂

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.034

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)22-2759-02

加样变色技术是一种在稀释液中添加变色指示剂, 使稀释液在加入血清或血浆后颜色由绿色变为蓝色的技术。此技术应用前 HCV-ELISA 等加样量较少的实验检测, 在加样后稀释液几乎是无色的, 使得手工加样时容易漏加或重复加样。随着加样变色技术和全自动加样系统的广泛应用, 解决了微量检测样本的漏加或重复加样现象。但由于全自动加样系统受加样准确度和样本中存在纤维蛋白等杂质的影响, 可能出现加样偏差, 甚至漏加现象^[1-2]。为此, 血站检验部门多采用加样后人工肉眼复核确认是否加样正确。此法在一定程度上可以发现一些加样偏差大或者没有加上样的检测孔, 但主观性强, 缺乏科学依据。为探讨 HCV-ELISA 加样负偏差和稀释液吸光值变化关系, 建立加样后酶标仪测定吸光值的模式, 判定加样准确度, 有效避免因加样偏差导致血液检测结果不准确。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 经国家计量部门校准合格, 加样范围在 0.5~10 μ L 和 10~100 μ L, 德国 Eppendorf 加样枪, TECAN 酶

标仪系统, XK95-1 型振荡器; 厦门英科新创抗-HCV 试剂盒。

1.2 方法

1.2.1 加样选择 抗-HCV 检测试剂盒在室温平衡 30 min, 每个检测孔加入草绿色样本稀释液 100 μ L, 分别向 A1-H1、A2-H2 共 16 孔检测微孔内加入 10 μ L 血清(对照组); 同法在标准加样量 10 μ L 基础上, 每组递减 1、2、3、4、5 μ L(A、B、C、D、E 组), 各 16 孔进行加样, 加样过程控制在 15 min 内完成。

1.2.2 吸光值测定 应用频率为 1 000 次/分振荡器上振荡 1~2 min, 选取波长 620 nm 单波长进行吸光值测定, 在加样后 15 min 内完成。

1.3 统计学处理 用 SPSS12.0 软件进行统计分析, 采用配对样本 t 检验。

2 结 果

2.1 在波长为 620 nm 条件下, 应用 TECAN 酶标仪测得对照组、A、B、C、D、E 组的加样后稀释液 OD 值如下表 1。

表 1 不同加样负偏差与稀释液吸光值测量结果

序号	对照组		A 组		B 组		C 组		D 组		E 组	
1	0.298	0.311	0.309	0.325	0.298	0.299	0.288	0.284	0.276	0.287	0.262	0.260
2	0.300	0.303	0.303	0.306	0.298	0.293	0.288	0.288	0.276	0.286	0.277	0.277
3	0.303	0.300	0.306	0.303	0.293	0.298	0.285	0.294	0.280	0.287	0.265	0.267
4	0.311	0.297	0.325	0.309	0.299	0.298	0.290	0.288	0.283	0.276	0.270	0.260
5	0.331	0.333	0.300	0.300	0.293	0.293	0.290	0.291	0.268	0.283	0.257	0.255
6	0.322	0.337	0.323	0.327	0.292	0.312	0.291	0.285	0.283	0.280	0.261	0.265
7	0.338	0.322	0.327	0.302	0.312	0.292	0.294	0.290	0.287	0.268	0.260	0.260
8	0.333	0.331	0.302	0.323	0.298	0.298	0.284	0.290	0.287	0.283	0.250	0.255

表 2 实验组与对照组加样后稀释液 OD 值比较情况

组别	OD 值均数	标准差	P
对照组	0.317	0.015	—
A 组	0.312	0.011	>0.05
B 组	0.298	0.006	<0.01
C 组	0.289	0.003	<0.01
D 组	0.281	0.006	<0.01
E 组	0.263	0.007	<0.01

—: 无数据。

2.2 实验组与对照组加样后稀释液 OD 值比较 随着加样负偏差增大吸光值变化呈下降趋势, 各实验组与对照组加样后稀

释液 OD 值平均数、标准差、 t 值和 P 值详见表 2。

3 讨 论

为提高输血安全, 近年来国家相继出台了一系列针对血站的法律法规, 血站实验室质量管理规范针对血站实验室提出了更高的要求^[3]。血站实验室检测进入自动化时代的同时也暴露出其薄弱环节, 随着加样设备使用年限的延长, 准确度、精密度下降, 使得加样量微小(主要指血液检测样本为 10、20 μ L 及以下的 ELISA 试验), 血浆或血清黏稠度增大, 形成液珠挂在加样尖上, 或吸有纤维蛋白凝块等情况导致的微量检测的加样偏差更是常见, 实验加样误差是影响实验结果准确性的原因之一^[2,4]。因此, 加样后审核加样质量显得尤为重要, 目前普遍

的做法是以肉眼观察加样后稀释液颜色从绿色变化到蓝色的程度,评估加样是否充足或有无漏加样现象,此法有一定效果,但过于粗糙并无统一判定标准和确认数据记录。本研究提示 HCV-ELISA 加样负偏差与稀释液吸光值的变化存在明显内在关系,即随着加样负偏差值增加,在波长为 620 nm 条件下测得加样后稀释液吸光值呈负相关的下降趋势,且在 A 组和 B 组之间开始出现指数级下降,除 A 组与实验组比较差异无统计学意义($P>0.05$)外,B、C、D、E 组与之比较差异均有统计学意义($P<0.01$),且在 B、C、D、E 实验组间不同加样偏差亦出现不同程度的差异。我们以此为依据,建立当加样后稀释液 OD 值在 $0.289<OD\leq 0.298$ 、 $0.281<OD\leq 0.289$ 、 $0.263<OD\leq 0.281$ 和 $OD\leq 0.263$ 范围时,运用其变化关系推算出应回补加样的量分别为 2、3、4 和 5 μL 的回补加样新模式,有效避免因加样偏差而肉眼无法判定导致血液检测结果不准确,确保了血液安全。

在公民维权意识日益增长的今天,血站建立检测加样后稀释液 OD 值测定模式,给血站血液检测加样准确度判定环节留下科学的检测数据和可追溯记录,为血站日益增加的输血后传染病风险应对提供自身维权的科学证据,具有重要意义。本研究

• 经验交流 •

究可能受到个别特殊血液检测样本的干扰,如严重脂肪血和颜色异常血清等因素影响,可能测定的稀释液吸光值不能正常反映加样偏差的变化关系,有待进一步改进。因此,当发现异常吸光值时,需要加强对血液检测样本的质量评估,以确保实验加样准确性判定。

参考文献

[1] 孟宪军,史志旭,谢长胜,等. RSP 200/8 全自动加样器校验结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(3):387-388.
[2] 贾廷儒,孟莉,赵一兵,等. 全自动样品处理机微量加样漏加分析[J]. 中国输血杂志,2005,18(1):51.
[3] 中华人民共和国卫生部. 血站实验室质量管理规范[S]. 北京:中华人民共和国卫生部办公厅,2006.
[4] 袁红,毛旂,黄文芳. ELISA 实验加样误差对实验结果的影响分析[C]. 全国临床免疫检验研讨会暨第六届全国临床免疫学术会议论文汇编,2009.

(收稿日期:2012-05-30)

非检测不合格的血液报废统计与分析

张 翔

(南宁中心血站,广西南宁 530003)

摘要:目的 对该站非检测原因所致的血液报废情况进行统计与回顾性分析,以期为制定相应措施提供基础。方法 对该站 2008~2011 年在采血及成分制备过程中报废的血液进行统计分析。**结果** 共有 9 732 袋血液由于非检测不合格而造成报废,其中主要是由于采血量不足、脂肪血、颜色异常、血凝块、采血袋破损等原因造成血液报废。**结论** 开拓无偿献血者招募新模式的同时,加强成分制备过程的监控,从人、机、料、法、环等方面完善质量管理体系,提高血液质量质量,使宝贵的血液资源得以充分利用。

关键词:供血者; 因素分析; 统计学
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.035 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2012)22-2760-02

近年来,随着临床用血的日趋增长,无偿献血形势正面临着严峻考验,供需矛盾日益突出。为了满足临床用血的供给,本站采取了为以街头自愿为主,机关、学校、农村、企事业单位等团体招募和患者亲友互助献血等多元化的无偿献血模式,不断加大献血者的招募。但同时还存在一部分非检测原因不合格而造成血液报废的情况,这在一定程度上减少了血液利用效率。笔者对本站 2008~2011 年非检测原因所致的血液报废情况进行了统计与回顾性分析,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 全部数据均来源于唐山现代血站计算机信息管理系统统计的本站 2008~2011 年血液制备时发现的、非检测不合格原因造成的报废血量。
1.2 方法 分别按血液品种和按年份统计各类血液成分的报废血量及其百分比,并进行回顾性分析。

2 结 果

2.1 不同血液品种非检测不合格血液报废情统计结果 2008~2011 年,共有 9 732 袋血液由于非检测不合格而造成报废,其中由于采血量不足、脂肪血、颜色异常、血凝块、采血袋破损及其他原因造成的报废血分别占非检测不合格报废血总量的 49.79%(4 846/9 732)、30.89%(3 006/9 732)、7.92%

(771/9 732)、6.38%(621/9 732)、4.31%(419/9 732)、0.71%(69/9 732),按血液品种统计以上各原因造成血液报废的情况见表 1。

表 1 按血液品种统计非检测不合格血液报废情况(袋)						
报废原因	全血	悬浮红细胞	洗涤红细胞	新鲜冰冻血浆	普通冰冻血浆	冷沉淀
采血量不足	1 361	0	0	2 479	1 006	0
脂肪血	28	0	0	2 297	681	0
颜色异常	11	346	0	323	91	0
血凝块	606	15	0	0	0	0
采血袋破损	17	98	19	132	103	50
其他原因	13	17	0	20	19	0
合计	2 036	476	19	5 251	1 900	50

2.2 不同年份非检测不合格血液报废情况统计结果 2008~2011 年每年分别采血 104 770、107 573、105 386、110 347 袋,每年由于非检测不合格原因造成的报废血量[袋(%)]分别为 2 649(2.54)、2 717(2.53)、2 298(2.18)、2 068(1.87),按年份