

## • 质控与标规 •

# 质控“即刻法”在 HIV 抗体 ELISA 检测中的应用探讨

余有彬

(南京市六合区疾病预防控制中心,江苏南京 211500)

**摘要:**目的 应用“即刻法”质控是提高实验室在 HIV 抗体 ELISA 检测中的准确性,减少假阳性和假阴性反应的发生。方法 严格按照本中心计量认证质量体系文件作业指导书中的操作规程进行操作,每板设阴性对照 3 孔、阳性对照 2 孔,空白对照 1 孔,外部质控阳性对照血清 2 孔。结果  $SI_{\text{上限}}$  和  $SI_{\text{下限}}$  值都在小于  $n_{2s}$ , 表示处于控制范围,说明可以继续测定。结论 “即刻法”应用于 HIV 抗体 ELISA 定性检测中是适宜的。

**关键词:**即刻法; 质控; HIV; 酶联免疫吸附测定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.24.058

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)24-3388-02

HIV 抗体检测是用于艾滋病防治的一项重要保证措施。因此,提高实验室检测的准确性,减少假阳性和假阴性反应的发生,对监测、诊断、血液筛查艾滋病来说是很重要的。为了更准确、更严谨地出示检测报告,本实验室在做 HIV 抗体检测时应用了“即刻法”质量控制方法<sup>[1]</sup>,现将此方法的应用分析如下。

## 1 材料与方法

1.1 外部质控阳性对照血清 由南京市疾病预防控制中心 HIV 确认实验室提供。

1.2 仪器与试剂 Wellsscan MK3 型自动酶标仪和 Wellsscan MK3 型自动洗板机、电热恒温培养箱(HH-BII-420)、可调移液器(0~200 μL),以上仪器均经省计量研究院检定合格,并在检定周期一年内使用,本室严格按照质量体系文件作业指导书中的操作规程,并详细填写使用记录,对酶标仪检测数据进行不确定度分析,从而确保其具有良好的重复性和线性范围,对电热恒温培养箱温度控制在(37±1)℃,对可调移液器定期进行期间核查。HIV 诊断试剂盒:由省级 HIV 实验室指定使用经临床质量评估敏感性和特异性高的试剂,由珠海丽珠试

剂有限公司提供,所用试剂盒及内部对照质控血清均在有效期内。

1.3 方法 严格按照本中心计量认证质量手册中作业指导书的操作规程进行操作。将预包被板条固定于板架,加入待测样品 50 μL,加样量要准确,同时每板设阴性对照 3 孔、阳性对照 2 孔,空白对照 1 孔,外部质控阳性对照血清 2 孔;震荡 15 s,37 ℃ 孵育 60 min,置自动洗板机上洗涤 6 次,洗板时应保证洗板机管路通畅,洗液量均匀,不得随意改变洗板次数,拍板(以垫纸不湿为宜);加酶标记物 50 μL(空白不加),37 ℃ 孵育 30 min,再置自动洗板机上洗涤 6 次,拍板拍干;每孔加底物缓冲液 50 μL,震荡混匀,37 ℃ 孵育 30 min,每孔加终止液 50 μL,轻拍混匀,用酶标仪读值,双波长为 450 nm/630 nm 测各孔 A 值。索取试剂厂家及供应商资质、生物制品检定所批检合格复印件,以保证试剂质量,不同批号的试剂不得混用。

## 2 结 果

在常规条件下,外部质控阳性对照血清测定 6 次,获得一组 S/CO 值、均数  $\bar{x}$  和标准差  $s$ ,  $SI_{\text{上限}}$  和  $SI_{\text{下限}}$  结果都在小于  $n_{2s}$ ,表示处于控制范围,说明可以继续测定。见表 1。

表 1 2012 年 HIV 抗体检测即刻法室内质控表

次数	日期	OD(A)	CO	S/CO	$\bar{x}$	$s$	$SI_{\text{上限}}$	$SI_{\text{下限}}$	有无失效	$n_{2s}$	$n_{3s}$
1	2012-9-12	0.653	0.23	2.84	—	—	—	—	—	—	—
2	2012-9-12	0.717	0.23	3.12	—	—	—	—	—	—	—
3	2012-9-12	0.663	0.23	2.88	2.95	0.151	1.12	0.73	—	1.16	1.15
4	2012-9-12	0.687	0.23	2.99	2.96	0.126	1.27	0.95	—	1.49	1.46
5	2012-9-12	0.702	0.23	3.05	2.98	0.116	1.21	1.21	—	1.75	1.67
6	2012-9-12	0.689	0.23	3.00	2.98	0.105	1.33	1.33	—	1.94	1.82

—: 无数据。

## 3 讨 论

室内质控是实验室内部对所有影响检测质量的各个环节进行系统控制,目的是控制本实验室常规工作的精密度,提高常规工作前后的一致性。在 HIV 抗体 ELISA 检测中,当质控血清的  $SI_{\text{上限}}$  和  $SI_{\text{下限}}$  结果都在小于  $n_{2s}$ ,表明工作正常,结果可靠;若有一值处于  $n_{2s} \sim n_{3s}$  值之间时,系统处于告警状态,应予注意,及时分析原始数据,对具体检验过程进行回顾性分析,查找原因后给予纠正并重复测试;若有一值大于  $n_{3s}$  时,系统处于失控状态,本次实验结果不能被接受,可能是系统误差、随机误差或外部对照滴度下降造成,需重新测定该质控血清和患者样品。

引起室内质控失控的原因很多。如:换用新批号诊断试剂盒或标准血清、仪器设备未经检定、校准或测试、温育时间和温度不准确、新的检验人员、质控标准血清反复冻融等,此时要及

时查找原因,找出解除问题的方法,并消除原因,予以纠正,防止将来出现同样的问题,以确保试验过程的正确性和准确性。

“即刻法”应该是判断一组测定值中极大值或极小值是“在控极值”还是“异常极值”的方法,其实从“即刻法”的计算公式也可以看出  $SI_{\text{上限}}$  和  $SI_{\text{下限}}$  分别代表最大值和最小值,而不是代表末次测定值,在出现  $SI_{\text{上限}}$  或  $SI_{\text{下限}}$  值大于  $n_{2s}$  时,说明该组测定值中最大值或最小值告警,而不是末次测定值告警。

“即刻法”作为特殊情况的质量控制方法,是对同一批外部质控血清连续测定 3 次后,即可对 3 次检验结果进行质控评价,在质控数据较少时合理应用可以达到室内质控的目的<sup>[2]</sup>,所以把“即刻法”应用于 HIV 抗体 ELISA 定性检测中是适宜的。

## 参考文献

[1] 蒋岩, 汪宁, 李敬云, 等. 全国艾滋病检测技术规范 [S]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2009.

[2] 丁海明, 潘婉仪. ELISA 定性实验“即刻法”室内质控的评价与应用 [J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(3): 28-30.

(收稿日期: 2013-09-06)

## • 质控与标规 •

# 2001~2012 年陕西省临床微生物鉴定室间质评结果分析

谢小娟<sup>1</sup>, 魏力强<sup>1△</sup>, 闫福堂<sup>2</sup>, 张丽侠<sup>2</sup>

(1 陕西省人民医院省临床检验中心, 陕西西安 710068; 2. 陕西省人民医院检验科, 陕西西安 710068)

**摘要:** 目的 了解陕西省微生物检验存在的问题, 提出改进的措施。方法 对 2001~2012 年陕西省临床微生物鉴定室间质评的参评单位情况、合格率、单株微生物鉴定符合率和回报错误率较高的菌株进行统计分析。结果 参评单位逐年增多; 微生物鉴定合格率 2007 年以前不稳定, 近 5 年稳中有升。常见菌的鉴定符合率较高, 而少见菌、大肠埃希菌属回报错误率较高。结论 陕西省临床微生物鉴定整体水平在逐年提高, 但基层医院存在的问题还很多。

**关键词:** 微生物鉴定; 室间质评; 陕西

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.24.059

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2013)24-3389-02

室间质量评价是 WHO 推荐的一种评价实验室工作质量的方法, 其目的是了解实验室的技术水平, 使检验人员从质评过程中发现存在的问题, 制定相应的措施, 不断改进提高检验质量。陕西省临床微生物室间质量评价工作开展于 1988 年, 目前已成功组织了 40 多次。本文就 2001~2012 年的微生物鉴定室间质评做一总结分析。

## 1 材料与方法

**1.1 菌株来源** 2001~2008 年质评样本购自吉林省临床检验中心, 2009~2012 年购自温州康泰生物技术有限公司。所发质评样本均为冷冻干燥管, 含单一病菌。样本模拟临床感染血液、尿液、痰液等标本, 并告知基本的临床信息。2001~2012 年共发放 120 份质评菌株, 其中革兰阳性球菌 20 株, 革兰阴性球菌 7 株, 革兰阳性杆菌 6 株, 革兰阴性杆菌 83 株, 真菌 4 株。

**1.2 质评活动** 每年开展活动两次, 每次 5 份样本, 全年 10 份样本通过快递一次性发放给参评单位。参评单位在每年 4 月、9 月分别回报 2 次质评结果。临检中心在每年 6 月、11 月统计回报结果, 向参评实验室发放质评报告。

**1.3 样本处理方法** 拉开菌株瓶的易撕铝盖, 用浸过 75% 乙醇的脱脂棉消毒胶塞和菌株瓶。吸取液体培养基 0.5~1.0 mL, 滴入菌株瓶内, 轻轻震荡, 使冻干菌体溶解呈悬浮状。根据其提供的样本类型及临床诊断等信息, 按照《全国临床检验操作规程(3 版)》<sup>[1]</sup>, 与临床样本同步进行培养、分离、鉴定。

**1.4 评价方法** 采用能力比对检验(PT)评价方法, 所报细菌必须鉴定到种或型(特殊例外)方可得分, 即完全正确 PT 为 100%, 否则 PT 为 0%。参评单位每次成绩(PT)计算: 实验室回报正确样本数/实际样本数 × 100%。评价分为: 合格(PT ≥ 80%); 不合格(PT < 80%)。年度合格标准为全年 2 次平均成绩 PT ≥ 80%。2008 年以前, 考虑到陕西省微生物检验的实际情况和参评单位的积极性, 合格率标准为 PT ≥ 60%。本文为了便于比较, 合格率标准统一采用 PT ≥ 80%。

## 2 结 果

**2.1 参评实验室** 参评实验室数从 2001 年的 89 家增加到 2012 年的 166 家, 12 年间增长率为 86%。参评实验室以省、

市级三级医院的检验科为主, 近年来县级医院实验室参评逐渐增多; 参评相对较多的地区是西安、宝鸡、咸阳和汉中。

**2.2 合格率** 2001~2012 年陕西省临床微生物鉴定参评实验室数分别为: 89、89、91、93、101、110、105、126、141、152、148、166; 合格率分别为: 70%、60%、79%、65%、70%、64%、89%、83%、94%、95%、95%、95%。微生物鉴定合格率 2007 年以前不稳定, 近 5 年稳中有升。

**2.3 鉴定符合率** 所发放的 120 株菌中, 鉴定符合率大于或等于 85% 的菌株有 83 株, 其中有 43 株的符合率大于或等于 95%; 鉴定符合率小于 80% 的菌株有 22 株, 其中有 10 株的符合率小于 70%。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)、口腔链球菌、丙型副伤寒沙门菌、肠炎沙门菌、嗜麦芽窄食单胞菌、迟缓爱德华菌、星形奴卡菌等鉴定符合率较低。大肠埃希菌各型多次发放, 但符合率依然很低。近 2 年首次发放的真菌标本鉴定符合率很高。见表 1(见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”)。

**2.4 回报错误率** 鉴定符合率较低的大肠埃希菌、伤寒沙门菌、副伤寒沙门菌主要是分型鉴别错误, 这与缺乏诊断血清有关。迟缓爱德华菌、星形奴卡菌等少见疑难菌的鉴别错误主要集中在菌属鉴别错误, 这与重要的鉴别反应试验选择错误有关。见表 2(见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”)。

## 3 讨 论

近几年, 微生物检验得到了快速的发展, 出现了许多自动或全自动的微生物鉴定仪器和药敏分析系统, 使微生物检测变得简易、快捷。但这些自动化的检测设备大都集中在中心医院, 基层医院依旧从事着烦琐缓慢的手工操作<sup>[2]</sup>。考虑到陕西省大部分基层医院微生物检验水平较低, 日常工作中所见各菌属细菌较少, 本中心每年发放的 10 株样本中, 有 2 株为苛养菌、疑难或不常见菌, 其余 8 株均为临床常见菌。在下发菌株的同时上传最新版的 CLSI 标准供大家学习。目的是在考察实验室检测能力的同时, 通过发一些特殊菌株督促他们学习。希望他们在以后的日常工作中遇到此类菌株能够识别, 不会漏检或误检。

但基层医院微生物检验的现状还不容乐观, 存在的问题:

△ 通讯作者, E-mail: wlq8399@126.com。