

• 质控与标规 •

自身抗体临界值质控血清的制备及评价

陈良琼, 吉飞跃, 崔益祥

(江苏省海安县人民医院检验科, 江苏海安 226600)

摘要:目的 探讨自身抗体临界值质控血清的制备并对其进行评价。方法 将献血员血清置于 56 ℃ 30 min 灭活, 离心去除沉淀后, 按 1 : 2, 1 : 4, 1 : 6 稀释比例检测试剂盒中多批号的阳性对照质控物。结果 抗 RNP/Sm 抗体(+++): 1 : 2 稀释后, 显色程度均为+++; 1 : 4, 1 : 6 稀释后, 显色程度均为++。抗 SS-A 抗体(++~+++): 1 : 2 稀释后, 显色程度均为++; 1 : 4, 1 : 6 稀释后, 显色程度为+~++。抗 RO-52 抗体(++~+++): 1 : 2 稀释后, 显色为+~++; 1 : 4, 1 : 6 稀释后, 显色程度为+。抗核小体抗体: 1 : 1, 1 : 2 稀释后可出现阳性; 1 : 4, 1 : 6 稀释后, 显色均为阴性。结论 自身抗体质控血清制备方便, 质量可靠, 可满足临床检测室内质控需要。

关键词: 自身抗体; 质量控制; 临界值

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.10.041

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)10-1326-02

Preparation and evaluation of quality control serum of autoantibodies threshold

Chen Liangqiong, Ji Feiyue, Cui Yixiang

(Department of Clinical Laboratory, Hai'an People's Hospital of Jiangsu, Hai'an, Jiangsu 226600, China)

Abstract: **Objective** To investigate and evaluate the preparation of quality control serum of autoantibodies threshold. **Methods** Donors' serum blood were placed in 56 ℃ for 30 min to inactivate, followed by centrifuged to remove the precipitates, and then multi-batch quality control material in detection kit were detected in dilution ratios of 1 : 2, 1 : 4, 1 : 6. **Results** Anti-RNP/Sm antibody(+++): after 1 : 2 dilution, the coloration degree was +++; after 1 : 4, 1 : 6 dilution, the coloration degree was ++. Anti-SS-A antibody(++ to +++): after 1 : 2 dilution, the coloration degree was ++; after 1 : 4, 1 : 6 dilution, the coloration degree was + to ++. Anti-RO-52 antibody(++ to +++): after 1 : 2 dilution, the coloration degree was + to ++; after 1 : 4, 1 : 6 dilution, the coloration degree was +. Anti-nucleosome antibodies: positive were found in dilution of 1 : 1, 1 : 2; after 1 : 4, 1 : 6 dilution, the coloration was negative. **Conclusion** Preparation of quality control serum of autoantibodies is convenient, reliable, and can meet the needs of clinical detection of internal quality control.

Key words: autoantibodies; quality control; threshold

自身抗体是自身免疫性疾病(autoimmune disease, AID)最重要的特征, 对 AID 的诊断和鉴别诊断、病情评估、病程转归与预后判断等都具有重要的临床应用价值。目前临床上开展的自身抗体检测主要有间接免疫荧光法、酶联免疫吸附法、免疫印迹法、免疫斑点法等, 其中多数检测方法仍以手工操作为主, 操作过程难以标准化, 以肉眼观察判断检测结果。自身抗体检测的质量控制是保证实验结果准确性的重要环节, 同时, 也是衡量实验室检测水平的一个重要指标。因此, 为了有效监控自身抗体检测的重复性和稳定性, 以及试剂盒批间或批内差异, 按照自身抗体检测规范的要求, 在使用内部阴、阳性对照物的同时, 须设置外部对照质控物以加强质量控制。本实验室采用献血者阴性血清稀释自身抗体试剂盒的自身阳性对照质控血清, 制备自身抗体临界值质控物, 并对其进行评价, 取得了较好的效果, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 血清标本来源 收集无溶血、脂浊、黄疸及细菌污染, 且自身抗体阴性的单一献血员血清, 置于 56 ℃ 30 min 灭活, 3 000 r/min 离心 15 min, 去除沉淀物, 作为基质备用。

1.2 制备质控血清 采用抗核抗体谱(IgG)欧蒙印迹法检测试剂盒(型号: DL 1590-1601-8 G)进行检测, 每盒试剂中含 20 μL 阳性对照物, 试剂说明书提示阳性对照中相应抗体的阳性显色程度为: 抗 RNP/Sm 抗体(+++), 抗 SS-A 抗体(++~+++), 抗 RO-52 抗体(++~+++), 若出现其他抗体条带, 则该抗体条带均非阳性对照带。收集多批号阳性对照

物, 并充分混匀, 用上述血清按 1 : 2, 1 : 4, 1 : 6 的比例进行稀释, 按试剂盒说明书操作, 每个稀释度测定 3 次, 综合判断得出结果。以 1 : 4 稀释度作为标准, 制备临界值质控物, 按 12 个月使用量配制, 无菌分装多个 20 μL~0.5 mL 的一次性离心管中, -20 ℃ 冷冻保存备用。

1.3 质控血清的使用 检测前取出冰冻质控物 1 支, 自然融化, 平衡至室温, 充分混匀, 与临床标本及阴、阳性对照一同严格按试剂盒说明书进行操作, 使用后废弃。

1.4 室内质控方法 (1)记录质控结果: 由于自身抗体检测标本量的原因, 本实验室每周只做 1 次检测, 质控规则参照尿液干化学检测, 以向上或向下一个浓度梯度为在控, 阳性检为阴性、阴性检出阳性均为失控。(2)每次检测时, 取质控物与标本一同检测, 判断质控结果, 以抗 RO-52 抗体不出现阴性结果判断本次实验有效, 可发出报告。否则, 则认为本次实验存在误差, 及时分析误差原因, 尤其应警惕临界值标本。

2 结 果

抗 RNP/Sm 抗体(+++): 1 : 2 稀释后, 显色程度均为+++; 1 : 4, 1 : 6 稀释后, 显色程度均为++。抗 SS-A 抗体(++~+++): 1 : 2 稀释后, 显色程度均为++; 1 : 4, 1 : 6 稀释后, 显色程度为+~++。抗 RO-52 抗体(++~+++): 1 : 2 稀释后, 显色为+~++; 1 : 4, 1 : 6 稀释后, 显色程度为+。抗核小体抗体: 1 : 1, 1 : 2 稀释后可出现阳性; 1 : 4, 1 : 6 稀释后, 显色均为阴性, 见图 1。

随机抽取 3 支质控物融化进行质控物均(下转第 1328 页)

$\pm 2s$ 作为可接受范围,整个过程做好书面记录,作为质量控制过程中的一部分。

2.7 建立本实验室的参考范围 国内第 3 版《全国临床检验操作规程》中的不少生化检验项目参考范围已经不适合于特殊环境下的生化报告,必须循证相关证据,如国内参考范围、权威杂志发表的科学研究成果、当地检验部门(特别是三级医院)的生化项目参考范围,以及附近其他维和部队的参考范围。

3 讨 论

中国驻黎巴嫩维和医疗二级医院的检验工作环境相当严峻。黎巴嫩位于亚洲西南部地中海东岸,与以色列、叙利亚邻界。当地气候为 2 季,即每年 4~9 月为旱季,几乎无雨,日夜温差有时大于 20 ℃,10 月至次年 3 月为雨季,雨量充沛,湿度大,气候变化频繁。中国驻黎巴嫩维和二级医院位于黎巴嫩南部,保障对象是联合国驻黎巴嫩临时部队中来自西班牙、印度、马来西亚、印度尼西亚、法国、尼泊尔、意大利、加纳、坦桑尼亚、爱尔兰、中国等 29 个国家的 1.2 万维和人员,包括联合国的维和人员、军事观察员、国际雇员、当地雇员、驻地群众及黎巴嫩当地政府军。由于气候特点、检验室条件(活动板房搭建)及保障检验对象的复杂性,对生化检验结果的可靠性要求高,质量控制措施显得尤为重要。

笔者结合多年的质量控制数据分析和解决经验,汇总分析,形成一套有效的生化质量控制方法,经过一个任务期的严格实践验证,已经成为中国驻黎巴嫩二级医院检验室标准操作规程文件。因此,决定报告单的有效性贯穿了检测标本相关的各个方面,如,医师间的互动、仪器的状态和维护、环境的优化、检测的程序化等,在特定的环境下,尽可能地发挥主观能动性,

(上接第 1326 页)

匀性测定,结果显示 3 支质控样本均为阳性,显色程度变化不超过“+”。随机抽取 3 支质控物,于 37 ℃融化 4 h 进行破坏性试验,每支重复测定 1 次,结果显示,3 支质控样本均为阳性,显色程度变化不超过+。由于试剂盒的有效期一般为 18 个月,考虑试剂采购等因素,连续 12 个月进行质控物稳定性观察,质控物在-20 ℃冷冻保存状态下可保存 1 年。

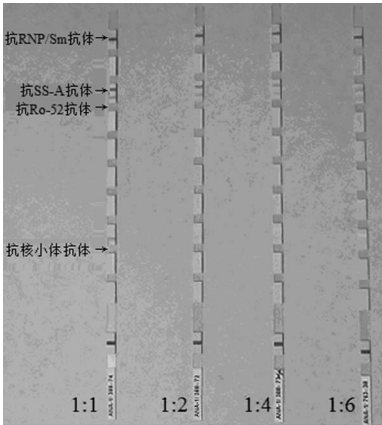


图 1 抗体不同稀释度的显色图

3 讨 论

欧蒙印迹法是一种定性的体外分析方法,由于检测过程易受多种因素影响,有系统误差(包括试剂质量、移液器、稀释度与人工读数的准确性、摇床及环境温度等因素)和随机误差(工作人员操作、视觉误差等因素),因此,在检测时需设内部及外部对照质控物进行有效监控。内部对照血清,即试剂盒提供的阳性和阴性对照血清,是质量控制的基础,每一次检测都必须使用内部对照质控物,且只能在同批号的试剂盒中使用,但它并不是严格意义上的质控品。为了有效监控检测的重复性和稳定性,以及试剂盒批间或批内差异,须设置外部对照质控物

圆满完成任务,必须遵循循证检验医学的理念。

本研究是针对特殊维和环境,利用循证医学理论,经过多年实践和研究,形成了一套生化检验质量控制的程序文件。科学性、有效性、实用性是循证检验医学在实施过程中的评价标准^[1]。“最佳证据”是整个循证检验医学的核心,而“最佳证据”并不只是指科学事实,而是指通过科学的方法被证实了的、可靠的、有效的结果。根据循证医学的原则,若没有可靠的、有价值的证据,宁可选择那些有统计偏倚的结果作为当前最好的证据^[2-5]。控制生化检验质量的操作办法在执行准军事条件下的维和任务中保证生化检验结果的准确性显得尤为重要,其具有特殊的临床诊治价值。

参考文献

[1] 廖晓阳,金成勇. 如何在诊断性试验研究中正确应用有关测量指标[J]. 华西医学,2000,15(2):146-147.
[2] Nishibori M. What is the systematic review[J]. Rinsho Byori, 2003,51(7):678-681.
[3] Watine J. Are laboratory investigations recommended in current medical practice guidelines supported by available evidence[J]. Clin Chem Lab Med,2002,40(3):252-255.
[4] 瞿良,王惠萱,朱玉琨. 循证检验医学与临床检验医学[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(5):478-479.
[5] 瞿良,吕宇杰,王惠萱. 临床检验科应重视检验医学实习生全面能力的培养[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(9):856-857.

(收稿日期:2013-12-23)

以加强质量控制,自身抗体检测亦不例外。近年来,国内开展了自身抗体的室间质评工作,取得了不少成绩和经验^[1-2]。经查询相关资料,文献中多用外部标准品来验证试剂的敏感性、特异性等指标,未提及如何进行室内质量控制。标准品大多数是针对具体类型的单一抗体,如抗双链 DNA 抗体、抗 JO-1 抗体等^[3-4],笔者认为不宜将标准品作为多项目参数同时检测的质控品。经文献证实,多种免疫定性试验,如特定蛋白、乙型肝炎病毒表面抗原、抗人类免疫缺陷病毒抗体、抗丙型肝炎病毒抗体等自制临界值质控品经验,取得了很好的效果^[5-7]。免疫印迹法尚未见相关的自制质控品报道。由于每个试剂盒的阳性对照物的浓度可能不同,因此,通过稀释多个试剂盒中阳性对照来制备质控物。经验判断,该方法基本符合人们对室内质控物的要求,也符合临床对自身抗体检测质控的要求。

参考文献

[1] 王露楠,邓巍,李金明. 抗核抗体谱检测的室间质量评价[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(8):692-695.
[2] 谢瑶,吴琨,彭清林,等. 2010 年全国自身抗体检测质量控制总结[J]. 中华风湿病学杂志,2011,15(12):811-815.
[3] 王国强. 自身免疫性疾病抗体检测芯片诊断产品开发研究[D]. 济南:山东省医学科学院,2008.
[4] 李金明. 抗核抗体的检测程序与结果报告及解释[J]. 中华检验医学杂志,2009,32(12):1325-1328.
[5] 陈文虎. 多项目复合免疫测定质控品的制备及使用[J]. 上海医学检验杂志,2002,17(3):170-171.
[6] 柏居林,何宏周. 自制人类免疫缺陷病毒抗体等质控血清及室内质控方法建立研究[J]. 检验医学与临床,2010,7(3):230-232.
[7] 杨忠羽. ELISA 法检测抗-HCV 临界值质控血清的试剂和使用[J]. 临床输血与检验,2001,3(2):50-51.

(收稿日期:2014-03-03)