

• 质控与标规 •

17-羟孕酮测定的室内质量控制方法研究

王 旌, 朱文斌[△], 曾颖琳, 赵 红, 周进福, 陈 瑶, 苏跃青
(福建省妇幼保健院新生儿疾病筛查中心, 福建福州 350001)

摘 要:目的 寻找一种适用于时间分辨荧光免疫试验测定 17-羟孕酮(17-OHP)的室内质量控制方法。方法 采用即刻法、L-J 质控法和改进即刻法,统计 20 个质控数据,制作质控图。结果 采用即刻法考核,前 3 次结果对后续质控结果影响较大,随后的结果会出现假在控。用改进即刻法考核可以有效地减少假失控和假在控结果的出现,较为适用于新生儿疾病筛查中时间分辨荧光免疫测定 17-OHP 的室内质量控制。结论 时间分辨荧光免疫测定中手工操作步骤较多,操作细节都对实验结果有很大影响,需要规范实验操作严格执行。

关键词:17-羟孕酮; 时间分辨荧光免疫试验; 即刻法; 室内质量控制

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)21-2943-02

Research of the internal quality controlling method for 17-OHP determination

Wang Jing, Zhu Wenbin[△], Zeng Yinglin, Zhao Hong, Zhou Jinfu, Chen Yao, Su Yueqing

(Neonatal Screening Center, Maternity and Child Health Hospital of Fujian, Fuzhou, Fujian 350001, China)

Abstract: **Objective** To find an internal quality controlling method for 17-OHP determination by time-resolved fluoroimmunoassay. **Methods** 20 quality control data were collected. The data were analyzed by using L-J method, instant method and improved instant method. Results were used for the construction of quality control charts. **Result** The first three quality control data had a great impact on the following judgments of internal quality controlling when instant method was used. The subsequent results might be false acceptance. Improved instant method could effectively reduce the situations of false run-away and false acceptance, which was suitable for the internal quality control of 17-OHP determination by time-resolved fluoroimmunoassay in newborn screening. **Conclusion** There are many steps of manual operations in 17-OHP determination of time-resolved fluoroimmunoassay. The details of these operations have great impacts on the experimental results. Thus, the operations of 17-OHP test should be specified and executed strictly according to requirement.

Key words: 17-OHP; time-resolved fluoroimmunoassay; instant method; internal quality control

先天性肾上腺皮质增生症(CAH)是一种常染色体隐性遗传病。新生儿 CAH 筛查是以干血片 17-羟孕酮(17-OHP)为检测指标,本文采用时间分辨荧光技术,测量所采用的仪器为半自动时间分辨荧光免疫分析仪,其中各步骤多为手工操作,检测结果易与实际发生较大偏差。因此,实验室必须选择切实可行的质控方法,建立室内质量控制(IQC)。在临床检验实验室中,多采用常规的 L-J 质控方法进行室内质量控制,对于检测频次低的检验项目,初始阶段则推荐采用即刻法(Grubbs 法)^[1]。近年来的研究表明,“即刻法”存在较多的假失控或假在控结果。因此,用最佳条件下的变异(OCV)建立假设常规条件下的变异(RCV)的“改进即刻法”,来减少假失控或假在控现象。笔者为尝试找出更为适合新生儿筛查 17-OHP 实验的质控方法,对上述质控方法进行比对测试,分析总结如下。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 新生儿 17-OHP 检测试剂盒(美国珀金埃尔默有限公司,批号:622356),质控干血滤纸片(杭州宝荣科技有限公司,批号:20120201),所用仪器包括 Wallac 1420 VICTOR2D 荧光免疫分析仪、Wallac1296-0010 型洗板机、Finnpipette 微量加样器。

1.2 方法 用时间分辨荧光技术进行检测,严格按照试剂盒

说明书操作。按要求设置室内质控品。

1.2.1 “即刻法”是指对所得结果进行质控,累计满 20 个数据后,转入制作常规的质控图^[2]。

1.2.2 “改进即刻法”是指在最佳条件下检测质控干血滤纸片 20 次,求出 OCV 的均值($\bar{x}$)和标准差(s_1),再依据 $RCV/OCV \leq 2$ 的规则来假设出 $RCV^{[3]}$ 。然后在常规检验条件下进行检测,第 1 和第 2 次检测出的数值和 OCV 比较,如果在 OCV 的 $\bar{x} \pm 2s_1$ 范围内继续试验,否则查找原因,重新检测。从第 3 次开始使用“即刻法”对所得结果进行监控,“即刻法”获得的每一个标准差(s)值与 OCV 的 s_1 值比较,当小于 $4s_1$ 时,可以接受,继续试验,如果大于 $4s_1$ 时,表示需重新测定。累计满 20 个数据后,转入制作常规的质控图。

1.2.3 将检测的后 10 次结果绘制 L-J 质控图。

2 结 果

新生儿 17-OHP 检测质控干血滤纸片 OCV 的 $\bar{x} = 22.9$ nmol/L, $s_1 = 1.68$ nmol/L。共测定 30 次质控干血滤纸片,使用“即刻法”考核前 20 次检测结果见表 1,可以发现其变异系数一直较大,从“即刻法”考核来看,20 次检测的 $s_{I_{上限}}$ 和 $s_{I_{下限}}$ 值均小于 $2s_1$ 和 $3s_1$ 值,显示质控值在控。后 10 次检测结果为 $\bar{x} = 25.1$ nmol/L, $s = 4.85$ nmol/L, $CV\% = 19.32$,其 L-J 质控

图见图 1,显示后 10 次检测值均在控。用“改进即刻法”来考核同样的 20 次检测结果,其中第 3 次检测结果大于 OCV 的 $4s_1$ 值被舍去,第 17 次的检测结果大于 sI 相应的 $2s_1$ 值,同样舍去,再重新测定 2 次补足。其整体的变异系数控制在 15% 左右,较表 1 有比较明显的降低。后 10 次检测结果 $\bar{x}=23.7$ nmol/L, $s=3.72$ nmol/L, 变异系数(CV)=15.69%。其 L-J 质控图见图 2,显示后 10 次检测值中有 1 次失控。

表 1 即刻法考核的室内质控结果

次数	测定值*	$\bar{x}$ *	s *	$sI_{\text{上限}}$ *	$sI_{\text{下限}}$ *	$2s_1$ *	$3s_1$ *	CV (%)	有无失控
1	24.5	—	—	—	—	—	—	—	—
2	20.7	—	—	—	—	—	—	—	—
3	33.8	26.3	6.74	1.11	0.83	1.15	1.16	25.63	无
4	21.9	25.2	5.93	1.45	0.76	1.46	1.49	23.53	无
5	18.9	24.0	5.86	1.66	0.87	1.67	1.75	24.41	无
6	25.5	24.2	5.28	1.81	1.00	1.82	1.94	21.82	无
7	17.6	23.3	5.43	1.93	1.05	1.94	2.10	23.30	无
8	25.3	23.5	5.08	2.02	1.16	2.03	2.22	21.62	无
9	26.6	23.9	4.86	2.04	1.30	2.11	2.32	20.33	无
10	19.9	23.5	4.75	2.16	1.24	2.18	2.41	20.21	无
11	25.7	23.7	4.56	2.21	1.34	2.23	2.48	19.24	无
12	25.3	23.8	4.37	2.28	1.42	2.29	2.55	18.36	无
13	25.7	24.0	4.22	2.32	1.52	2.33	2.61	17.58	无
14	18.0	23.5	4.35	2.36	1.36	2.37	2.66	18.51	无
15	27.9	23.8	4.34	2.30	1.43	2.41	2.71	18.23	无
16	25.3	23.9	4.21	2.35	1.50	2.44	2.75	17.61	无
17	28.9	24.2	4.25	2.26	1.55	2.47	2.79	17.56	无
18	35.7	24.8	4.94	2.20	1.46	2.50	2.82	19.92	无
19	24.4	24.8	4.80	2.27	1.50	2.53	2.85	19.35	无
20	30.6	25.1	4.85	2.19	1.55	2.56	2.88	19.32	无

*:单位为 nmol/L;—:无数据。

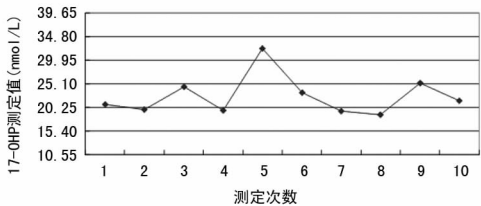


图 1 用即刻法考核的 L-J 质控图

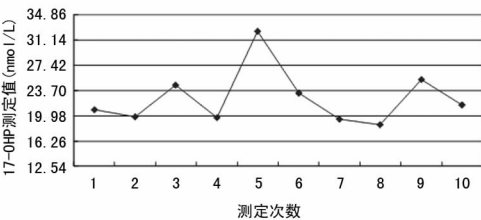


图 2 用改良的即刻法考核的 L-J 质控图

3 讨 论

由于本实验室刚开展新生儿 17-OHP 筛查,样本量较少且检测频次低,所以难以采用常规的 L-J 质控图法进行质控,只能借鉴 ELISA 的“即刻法”进行质量控制,20 次以后再采用质控图法进行质控^[4]。但在实际应用中,“即刻法”仍存在着一定的局限性,例如前 3 次结果对后续质控结果影响较大,经常出现原来在控的结果在 20 次后回溯回去又失控的现象,主要原因是前 3 次检测结果 CV 值较大,从而严重影响了对后续质控结果的质控判断;而在失控判断上,当出现失控时,有时删除的不一定是当次的结果,而是这一组中离散度最大的一个质控值,而这个质控值在当初已被作为在控结果处理了;连续趋势性的判断上,不能显示连续趋势性的上升和下降的失控倾向^[5]。为了避免以上情况的出现,引入“改进即刻法”。在 ELISA 的室内质控中有大量的改进即刻法的运用,但基本上都是以国家或地区性室内质量控制允许的 CV 值为增加的质控指标。但是新生儿筛查 17-OHP 所用的方法为时间分辨荧光法有别于 ELISA 法,且省内仅有本中心开展该项检测,也没有查到该项检测国家和地区性允许 CV 值的报道。故本中心在工作中尝试性地采用 OCV 来假设建立 RCV,然后再根据 $RCV/COV \leq 2$ 的原则,以 OCV 的 $\bar{x}$ 代替 RCV 的 $\bar{x}$,OCV 的 $2s_1$ 或 $1.5s_1$ 代替 RCV 的 s ,得到“假设”的 RCV 用于室内质控,特别是对前 3 次的质控数据予以监控。这样可以发现“即刻法”无法发现的失控数据^[6]。

通过以上两种质控方法的比较,说明在进行 17-OHP 实验检测时,“改进即刻法”是较为可靠的考核方法,可以有效地避免“即刻法”考核中出现的假在控情况;也为今后的工作中通过大样本的积累,建立福建省相关检测的地区性室内质量控制允许的 CV 值打下基础;同时在进行 17-OHP 检测实验过程中需要重视操作中的细节,制定完善、切实可行的操作规程;还需要做好预防性质量控制,检验全过程质量控制,从而保证检验结果的准确,真正实现检验质量的提高。

参考文献

[1] 高振霞.“即刻法”质控在艾滋病初筛实验室室内质控中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(10):1247.
[2] 徐真,季晓庆. TORCH 检测的室内质量控制[J]. 检验医学与临床,2011,8(9):1102-1104.
[3] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2008.
[4] 何宗忠,裴宇容,王强,等. Excel 软件在“即刻法”与 Levey-Jennings 图质控法有效结合判定抗-HIV 室内质控的探讨[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(17):2346-2347.
[5] 王现梅,张雪花,田爱华. ELISA 实验“即刻法”室内质控的局限性[J]. 内蒙古医学杂志,2010,42(3):51-53.
[6] 骆展鹏,邹晓萍,黎美君,等.“即刻法”室内质量控制方法学的改进[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(11):1234-1235.

(收稿日期:2014-04-11)