

酶联免疫吸附试验检测乙型肝炎病毒表面抗原的全面质量控制前后对比分析

顾友祥(江苏省泰州市职业技术学院医学技术学院 225300)

【摘要】 目的 探讨建立全面质量控制体系对乙型肝炎表面抗原(HBsAg)酶联免疫吸附试验(ELISA)检测结果的影响。**方法** 对未开展全面质量控制的 2008 年 1~10 月份 2 120 例患者和全面开展质量控制后的 2009 年 1~10 月份 2 310 例患者的 HBsAg 阳性率进行对比分析。**结果** 2008 年前 10 个月阳性率为 8.11%,而 2009 年前 10 个月阳性率为 11.00%。两者比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 10.239, P < 0.001$)。**结论** 全面开展质量控制后,用 ELISA 法检测 HBsAg 其阳性率有了明显提高。

【关键词】 酶联免疫吸附试验; 质量控制; 乙型肝炎病毒

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.20.009

中图分类号:R446;R575.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2010)20-2194-02

Comparative analysis of HBsAg detection by ELISA before and after comprehensive quality control GU You-Xiang, Medical Technology Institute, Taizhou Vocational Technique School, Taizhou, Jiangsu 225300, China

【Abstract】 Objective To explore the effect of establishment of a comprehensive quality control system on HBsAg detection results by ELISA assay. **Methods** The HBsAg positive rates detected by ELISA in 2120 cases before carrying out the comprehensive quality control from January to October in 2008 and 2310 case after carrying out the comprehensive quality control from January to October in 2009 were comparatively analyzed. **Results** Compared with positive rate of 2007, the positive rate was 8.11% in the first 10 months of 2008 and 11.00% in 2009 with the statistical significance ($\chi^2 = 10.239, P < 0.001$). **Conclusion** After carrying out the comprehensive quality control, the HBsAg positive rate using ELISA assay has improved markedly.

【Key words】 ELISA; quality control; HBsAg

酶联免疫吸附试验(ELISA)是目前实验室最常用的免疫检验方法,但影响其结果准确性的因素较多^[1]。为了提高 ELISA 检测结果的准确性,本院检验科对 ELISA 检测的各种环节进行了质量控制研究,取得了较好的效果。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2008 年 1~10 月及 2009 年 1~10 月本院所有检验 HBsAg 的患者血清标本(包括门诊、住院和体检患者),共 4 430 例。

1.2 仪器与试剂 洗板机和酶标仪均为上海三科仪器厂生产。ELISA 法检测 HBsAg 试剂盒为上海荣盛生物有限公司生产。质控品由省临检中心发放。

1.3 方法 按试剂盒说明书操作规程检测待检标本 HBsAg,其中 2008 年 1~10 月未进行全面质量控制,2009 年 1~10 月建立全面质量控制体系。

1.4 ELISA 检测质量控制体系 (1)重视加强人员质量意识教育,定期开展质量控制讲座,成立质量管理组织,责任明确到人;(2)建立标准操作程序,所有 ELISA 项目均建立标准操作程序,内容具体全面,包括操作步骤、注意事项、质量控制措施等;(3)实行 5 核对(排标本时对联号、加样时对联号与联号、检验人出报告时对联号与报告单编号是否一致、审核人员审核时再次对联号与报告单编号是否一致)10 把关(标本、试剂、加样、温育、洗涤、结果判定、质控、复检、报告、记录)。

1.5 统计学方法 应用 SIGMASTAT3.1 统计软件分析数据,率的比较采用 χ^2 检验分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2008、2009 年建立质量控制体系前后检测 HBsAg 的比较见表 1。2008 年 1~10 月共检测 2 120 例,HBsAg 阳性 172 例(8.11%),2009 年 1~10 月共检测 2 310 例,HBsAg 阳性 254 例(11.00%),两者比较差异有统计学意义($\chi^2 = 10.239, P < 0.001$)。

表 1 建立质量控制体系前后检测 HBsAg 的比较

项目	未建立质量控制体系 (2008 年)	建立质量控制体系 (2009 年)
被检例数(n)	2 120	2 310
检出阳性例数(n)	172	254
阳性率(%)	8.11	11.00*

注:两组比较,* $P < 0.001$ 。

3 讨论

ELISA 法检测 HBsAg 是近年来广泛使用的方法,该方法具有灵敏度高、特异性强、操作方便、重复性好等优点,但影响检测结果准确性的因素较多^[2-3]。有文献报道,以 HBsAg 定性检测为例,用定值质控液进行从加样量、温育方式及时间、洗板方式及次数、显色时间、试剂盒批号等方面进行一系列试验,结果表明操作各个步骤的不一致均可导致结果的明显差异^[4]。在检测过程中若有 1/万浓度阳性血清的污染,则能引起被污染的标本测定结果为阳性。有文献报道采用一步法检测 HBsAg 受钩状效应影响较大,易造成漏检^[5]。这些研究都显示全程质量控制显得尤其重要。为此本院从 2009 年起对 HBsAg 检测进行了全程质量控制。

3.1 全程质控的实施 本院分析前质量控制主要包括对本、试剂盒的质量控制。(1)血清标本要自然检出,不完全分离血清可因纤维蛋白原的干扰而导致假阳性结果,不用抗凝血;(2)采集时应避免溶血,红细胞过氧化物酶易导致 ELISA 假阳性结果;(3)血清应及时检测,否则要置低温保存,一般应在 4℃ 5 d 内完成测试,保存时间过长可能生长细菌,细菌过氧化物酶可导致假阳性结果;(4)ELISA 检测灵敏度高,要避免标本间的污染,不能用一次性塑料试管盛血,因聚乙烯易吸附抗原或抗体蛋白,使检测结果在 4 h 后明显偏低,尤其是滴度较低时^[5];(5)选择试剂盒要参考同行使用情况和卫生部临床检验中心对试剂盒实际使用的综合评价情况,选择灵敏度高、特异性强的试剂盒;(6)试剂盒要置低温(2~8℃)保存,因其中的酶易失活;(7)更换试剂批号要注意观察质控血清吸光度的变化,以把握更换试剂批号对检测结果的影响。

3.2 分析中质量控制 (1)加样:要准确使用精确移液器,血清要加在反应孔底部;要防止污染,做到一人一吸头。(2)试剂使用:要做到“即取、即用、即收”;避免交叉使用;不使用过期试剂。(3)稀释液、酶液等的加注:试验中标本及所用每一种试剂均应尽量使用移液器加注,另外部分需稀释血清检测项目应先在反应孔内加稀释液再加标本,加样时用移液器吹吸 3 次混匀。(4)混匀:要用微量振荡器(至少 30 s),同时要防止液体溢出。(5)温育:应将反应板漂浮在水上或将水加至与试管架相平或稍高出试管架;箱盖也不宜常打开,否则,反应实际温度不够(尤其是冬季)易导致低浓度标本的假阴性结果。(6)洗涤:洗涤是保证 ELISA 检测获得准确结果的重要环节,手工法洗板效果有保证;用洗板机洗板时,最重要的是控制好反应孔液体残余量(<5 μL)和浸泡时间(>60 s),中途最好拍板 1 次,洗板时人不能离开,应随时观察针头注液情况,发现针头堵塞及时疏通;作者的先用洗板机清洗 4~5 次后,再用手工洗涤 2~3 次,中间拍板 1~2 次,不同试剂盒洗涤液不可交叉使用。(7)显色:显色液加注顺序不能颠倒,时间严格按说明书进行,终止反应后须在 15 min 内比色,否则随时间的延长,吸光度下降,导致假阴性结果的发生;显色液有颜色时必须丢弃。(8)判定结果:结果判定须使用酶标仪进行;要根据试剂盒说明

书,充分考虑到影响结果因素的存在,设定可疑范围阈值,同时阴性范围下限和阳性范围上限必须考虑到双波长下出现负吸光度值和超范围报告影响结果的可能性。(9)质控和对照:每次试验都要严格要求设定对照,做好室内质控;室内质控要设高、中、低值及阴性值质控物,以低值质控物最为重要。(10)加强结果的复检工作:对可疑、弱阳性结果要进行复检。

3.3 分析后质量控制 要建立健全原始记录,发报告前一定要认真核对患者姓名及结果,实行双签字发放,防范医疗纠纷。

本研究对 2009 年 1~10 月 HBsAg 2 310 例血清标本全程质控,阳性率为 11.00%。与 2008 年 1~10 月份未进行全面质控时的阳性率 8.11% 相比,差异有统计学意义。提示在实施全程质控后,HBsAg 阳性检出率有了明显提高,表明全程质量控制对 ELISA 检测中具有非常重要的作用。另外,参加全省、全国的质量控制,并与化学发光、放射免疫检测分析方法比对,对提高检测的准确性有着非常重要的意义。积极引进 ELISA 检测计算机处理系统,不断提高结果的准确性和工作效率^[6]。

参考文献

- [1] 程红革. 影响乙肝两对半检测质量的因素[J]. 齐齐哈尔医学院杂志, 2001, 22(9): 10-12.
- [2] 谢惠生, 石卫平. 一次性塑料试管不宜长时间盛放乙肝两对半标本[J]. 陕西医学检验, 2000, 15(13): 52-54.
- [3] 施根林, 何海明, 林国英. 临床 ELISA 试剂盒的选择与使用体会[J]. 中国医学检验杂志, 2001, 2(6): 427-428.
- [4] 施根林, 何海明, 林国英, 等. HBsAg ELISA 定性检测影响因素观察[J]. 现代医药卫生, 2001, 17(2): 153-154.
- [5] 施根林, 何海明, 林国英. 乙肝血清 5 项指标部分模式 HBsAg 复检探讨[J]. 中国误诊学杂志, 2002, 2(5): 734-735.
- [6] 雷长海, 吴淑梅, 张乐平, 等. 酶标仪检测处理系统的开放研究[J]. 医疗卫生装备, 2003, 10(7): 22-23.

(收稿日期: 2010-04-26)

(上接第 2193 页)

菌较重的患者,应以亚胺培南和美罗培南作为经验性治疗的首选药物。

近年来,由于免疫缺陷患者的增多,侵袭性诊疗措施的不断进展及广谱抗菌药物的广泛应用,非发酵糖的革兰阴性杆菌,尤其是铜绿假单胞菌、不动杆菌属、嗜麦芽芽孢单胞菌日益增多,其耐药性非常严重^[4]。资料显示本院分离的鲍曼不动杆菌对亚胺培南的耐药率明显高于张世勇和张国欢^[5]报道的 27.43%,且对其他药物的耐药率也很高,这可能与本院分离的菌株数较少有关,是否有其他原因,有待进一步研究。碳青霉稀类抗生素的抗菌作用强,随着亚胺培南、美罗培南在临床上的广泛应用,对碳青霉稀类抗生素耐药的非发酵糖革兰阴性杆菌日益增多,应引起医院微生物工作者和临床医生的重视。

参考文献

- [1] 朱德妹,汪复,郭燕,等. 2008 年上海地区细菌耐药性监测

[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(6): 401-411.

- [2] 项勤,朱国飞,李婷婷. 鲍曼不动杆菌的分布特点及耐药性分析[J]. 中国预防医学杂志, 2008, 9(3): 226-229.
- [3] Jacoby GA. Epidemiology of extended-spectrum β -lactamases[J]. Clin Infect Dis, 1998, 27(1): 81-83.
- [4] 简翠,孙自镛,张蓓,等. 2008 年武汉同济医院细菌性耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(6): 421-426.
- [5] 张世勇,张国欢. 鲍曼不动杆菌 256 株的临床分布及耐药性分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(2): 95-96.

(收稿日期: 2010-05-23)