

HBsAg 室内质控物的制备及其应用

樊冬碧, 唐小兰(湖南省怀化市中心血站检验科 418000)

【摘要】 目的 以制备 HBsAg 酶联免疫吸附试验(ELISA)室内质控物,对其应用效果进行评价。方法 以复检 HBsAg 阳性的报废全血作为原料,制备 0.5、4、8 U/mL 室内质控血清,使用上海科华和意大利 DiaSorin 公司 HBsAg 诊断试剂盒对其进行检测,并比较其结果。结果 科华和 DiaSorin HBsAg 诊断试剂检测室内质控血清比较, t 值分别为 0.058、0.049,差异无统计学意义($P > 0.05$),使用两种不同的试剂连续检测不同浓度的质控物 20 次,检测的 CV 范围分别为 6.75%~11.65%、4.82%~10.30%;使用两种不同的试剂检测不同浓度的质控物 30 d,检测的 CV 范围分别为 7.37%~12.50%、4.84%~13.92%。结论 ELISA 法进行 HBsAg 检测的质控物制备简单,稳定性良好,质控图操作方便,适合临床实验室应用和推广。

【关键词】 乙型肝炎病毒表面抗原; 室内质量控制; 变异系数; 酶联免疫吸附试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.09.005 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)09-1033-02

Production and application of indoor quality control of HBsAg FAN Dong-bi, TANG Xiao-lan (Department of Clinical Laboratory, Blood Centre of Huaihua, Huaihua, Hunan 418000, China)

【Abstract】 **Objective** To produce an indoor quality control substance of HBsAg detected by the ELISA method, and evaluate its application performance. **Methods** The abandoned HBsAg positive serum was collected as the source for production, and diluted as 0.5, 4, 8 U/mL indoor quality control substance. Kehua and DiaSorin HBsAg kits were used to test the three different dilution indoor quality control substances. Then we compared the results. **Results** There was no difference between different diluted indoor quality control substances which were tested by Kehua and DiaSorin HBsAg kits ($t = 0.058$, $t = 0.049$, $P > 0.05$). After 20 consecutive tests, the CV(%) ranges of Kehua and DiaSorin HBsAg kits were 6.75—11.65 and 4.82—10.3 respectively, and after 30 days of consecutive test, the CV(%) ranges of Kehua and DiaSorin HBsAg kits were 7.37—12.50 and 4.84—13.92 respectively. **Conclusion**

Indoor quality control substance of HBsAg tested by ELISA is very stable and applicable in clinical laboratory.

【Key words】 HBsAg; internal quality; coefficient of variation; ELISA

目前,血站主要是采用酶联免疫吸附试验(ELISA)筛检献血员乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、梅毒抗体(抗-TP)、丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)等^[1]。该方法特异性好,灵敏度高,操作简便,但检测过程中影响质量的因素较多,除了试剂质量以外,还包括操作人员的素质、责任心和检测条件等。为提高检验质量,卫生部临床检验中心及全国各地的临床检验中心相继开展了检测 HBsAg 的室内质控。室内质控对提高检测质量起了一定的作用^[2]。室内质量控制是临床实验室获得可靠测定结果的关键,控制着实验的重复性、精密度,所以对其相应的实验项目进行室内质控就显得非常重要。但室内质控物多数是商业购买,价格昂贵,使用周期短,严重影响质控的可操作性^[3]。为此,本研究利用报废的血液,经一系列处理,制备成用于血液筛查的混合室内质控物,取得了较为满意的效果,并期望能得到有效推广,进一步提高 HBsAg 的检验质量。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 收集本站已经报废的 HBsAg 阳性全血,先对其血浆进行分离,然后置 56 °C 水浴箱中 10 h 进行病毒灭活,再以 3 000 r/min 离心 20 min,收集上层血浆,于 -20 °C 保存。

1.2 仪器与试剂 Fame 全自动酶标仪(瑞士哈密顿有限公司产品);上海科华生物有限公司 ELISA HBsAg 检测试剂盒,批号 201002011;意大利 DiaSorin 公司 ELISA HBsAg 检测试剂盒,批号 0370663A。

1.3 制备 HBsAg 室内质控物 分别取上述处理好的血浆,以卫生部临床检验中心供应的 2、4 U/mL 标准血清作为参考品,用 10% 小牛血清磷酸盐缓冲液作为稀释剂,按 1:1、1:2、1:4、1:6、1:8 等比例对其进行稀释,分别检测 HBsAg,以初步确定其作为低值质控品的最佳稀释度。计算半年阳性 HBsAg 室内质控物需要量,再将 HBsAg 高值血清用 10% 小牛血清稀释至所需低、中、高 3 种浓度(0.5、4、8 U/mL)^[4],用 0.1% 的硫柳汞防腐,充分混合,无菌分装于德国生产的 1.5 mL 的实验室微量离心管中,于 4、-20 °C 保存。

1.4 检测方法 使用两种不同品牌的 HBsAg 检测试剂分别检测 3 种不同浓度室内质控血清,连续检测 20 次,对其结果差异性进行比较。再用两种品牌试剂每天与常规标本一起检测 3 种不同浓度室内质控血清,连续检测 30 d,评价质控结果。以上所有的实验均由专人按照室内质控的步骤和方法完成。

1.5 统计学方法 采用 SPSS15.0 软件分析数据,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,HBsAg 检测结果采用 t 检验分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBsAg 质控物的定值 以卫生部临床检验中心供应的 2、4 U/mL 标准血清作为参考品,将报废的 HBsAg 阳性全血用 10% 小牛血清稀释成 0.5、2、4 U/mL 3 种不同浓度,无菌分装成每管 1 mL 保存。

2.2 不同品牌试剂 HBsAg 质控物检测结果 采用科华和 DiaSorin HBsAg 诊断试剂盒分别检测同一批 3 种不同浓度室内质控血清,并在同一酶标板上加样检测,检测结果见表 1。

2.3 HBsAg 质控物应用效果 用两种品牌试剂每天与常规标本一起检测 3 种不同浓度室内质控血清,连续检测 30 d,检测结果见表 2 及图 1。

表 1 两种品牌试剂不同温度下 HBsAg 质控物检测结果

项目	4 °C			-20 °C			t	P
	0.5 U/mL	2 U/mL	4 U/mL	0.5 U/mL	2 U/mL	4 U/mL		
科华	1.03±0.12	5.73±0.49	12.85±1.01	1.06±0.11	5.87±0.48	13.04±0.88	0.058	>0.05
CV1(%)	11.65	8.55	7.86	10.93	8.12	6.75		
DiaSorin	1.26±0.13	6.28±0.56	14.63±1.00	1.29±0.11	6.43±0.46	14.93±0.72	0.049	>0.05
CV2(%)	10.3	8.92	6.84	8.52	7.15	4.82		

注:CV1 为科华试剂的变异系数, CV2 为 DiaSorin 试剂的变异系数; t 为 4 °C 与 -20 °C 时 S/CO 比较情况。

表 2 不同温度下 HBsAg 质控物应用效果

项目	4 °C			-20 °C		
	0.5 U/mL	2 U/mL	4 U/mL	0.5 U/mL	2 U/mL	4 U/mL
科华	0.96±0.12	5.47±0.48	12.12±1.03	0.95±0.09	5.87±0.52	13.02±0.96
CV1(%)	12.50	8.78	8.50	9.47	8.86	7.37
DiaSorin	1.16±0.12	6.18±0.51	14.47±1.01	1.18±0.11	6.33±0.0.48	14.68±0.71
CV2(%)	13.92	8.25	6.98	9.32	7.58	4.84

注:CV1 为科华试剂的变异系数, CV2 为 DiaSorin 试剂的变异系数。

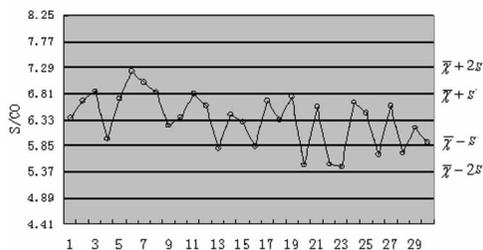


图 1 DiaSorin 试剂检测 2 U/mL HBsAg 质控图

3 讨 论

乙型肝炎是由 HBV 感染引起的一种我国高发的传染性疾病,对人民群众的身心健康造成严重的危害,HBsAg 存在于 HBV 的外壳部分,是乙型肝炎患者血清中首先出现的病毒标志物。目前,血站及临床上大都采用 ELISA 法检测 HBsAg。由于影响 ELISA 检验的因素太多,因此为保证检验质量与准确性,必须要建立和完善其相应检测项目的室内质控,以检测其精密度,控制其准确度,提高本室常规工作的批内、批间标本的一致性。每次检验常规标本时必须同时进行质控血清检验,借助质控血清检验结果与原预定的可接受限相比较,以确定检测结果是否可靠^[5-6]。

目前,各实验室普遍使用的室内质控物大多价格昂贵,使用周期短,给完整的质控图制作带来困难,因此,通过预实验将患者血清按一定比例混合,制成符合条件的室内质控物,可以使废弃血清成为质控物的丰富材料来源,还能有效地将报废血浆充分利用,尽量使这一宝贵资源的浪费控制在最低限度,变废为宝,也为血站节约开支。

本研究结果显示,科华和 DiaSorin HBsAg 诊断试剂检测 4、-20 °C 室内质控血清结果比较, t 值分别为 0.058、0.049,差异无统计学意义(P>0.05)。由此说明这种自制的质控血清

存放在不同的温度下均较稳定。由表 1、2 可以看出,使用两种不同的品牌试剂连续检测不同浓度的质控物 20 次,检测结果的 CV 范围分别为 6.75%~11.65%、4.82%~10.30%;使用两种不同的品牌试剂检测不同浓度的质控物 30 d,检测结果的 CV 范围分别为 7.37%~12.50%、4.84%~13.92%,以上自制质控物检测结果的 CV 均在 15% 以下,说明实验的精密性较好,自制质控物稳定性也较好。另外,图 1 显示,本研究质控图为 7.58%,小于临床允许误差,30 次质控值均在范围内,并符合 Westgard 质控规则的 1_{2s} 、 1_{3s} 、 2_{2s} 、 $(2-2s)$ 和 R_{4s} 等,因此该质控图可用来判断当天检测的结果是否在控制限之内,以控制整个检验过程。

在自动化仪器设备高速发展的今天,使用自制的质控血清,简化了整个操作过程,延长了使用周期,并降低了质控成本,大大提高了工作效率。但是自制质控血清由于质控物含量较低,效价不易保持,因此应定期进行质检,至于如何确定其有效期还有待今后进一步研究。总之,本研究自制的 HBsAg 质控血清对系统误差、过失误差、偶然误差等方面起到了监控作用,对保证 HBsAg 检测质量有重要意义,在血站及其他实验室具有一定的推广价值。

参考文献

[1] 庞栋. 血站实验室质控物的制备和应用[J]. 医学文选, 2001, 20(3): 351-352.
 [2] 方裕森, 叶靖, 翁雪芬, 等. 灭活法研制乙肝表面抗原室内质控血清[J]. 河北医学, 2009, 15(4): 402-404.
 [3] 卞茂红, 张循善, 杨鹏, 等. HBsAg、抗-HCV、抗-TP 混合室内质控物的制备和应用[J]. 安徽医科大学学报, 2004, 39(5): 402-404.
 [4] 李金明, 郑怀竞, 王露楠, 等. 乙型肝炎(下转第 1036 页)

2.2 不良反应 76 例中有 5 例患者未能坚持治疗,均因难以耐受机器气流,觉胸闷、憋气、腹胀而拒绝治疗;其中 2 例病情恶化,给予气管插管,人工通气。

3 讨论

BiPAP 为现在常用的无创正压通气呼吸的通气方式,是压力支持通气联合呼气末正压(PEEP)或是吸气相气道正压联合呼气相气道正压。应用 BiPAP 无创呼吸机治疗呼吸衰竭患者,利用吸气时有一个较高的吸气压力,可帮助患者克服气道阻力及其他内源性 PEEP,有利于改善 COPD 患者的呼吸肌疲劳,增加肺泡通气量,同时改善气体在肺内分布不均的状况,促使肺泡中氧向血液弥散,减少无效死腔气量,纠正机体缺氧^[3],呼气时 PEEP 可对抗内源性呼气末正压,防止肺泡萎缩,改善弥散功能,有效排出肺泡内 CO₂,防止 CO₂ 潴留。因正压给氧可防止和减少肺毛细血管液体渗出,加压气流又可使气道内痰泡沫破碎,以利通气,因此无创正压通气较鼻导管吸氧可更迅速有效地提高血氧含量,缓解组织缺氧,改善呼吸困难。

COPD 患者急性加重期因感染、营养不良、电解质紊乱等原因,呼吸肌做功及耗氧量强并加重呼吸肌疲劳;COPD 患者因肺结构的病理改变,导致肺组织弹性下降,同时 COPD 患者急性加重时气道内分泌物较多,且支气管出现痉挛,往往造成气道阻力增加,气道陷闭,动态肺过度扩张,呼气不完全而产生内源性呼气末正压(PEEPi),PEEPi 可显著增加呼吸肌做功。同时 COPD 并发 II 型呼吸衰竭患者年龄一般较大,有一定基础疾病,肺功能差,且呼吸中枢驱动能力及感受能力均低下,COPD 并发 II 型呼吸衰竭时改善通气量是重要环节。呼吸兴奋剂可以提高通气量,但同时增加呼吸做功,使耗氧量和 CO₂ 生成量增加,故动脉血气改善不足,还可加重呼吸肌负荷,诱发呼吸肌疲劳。其始动因素源于患者的自主呼吸,在患者自发呼吸较稳定的前提下,每次吸气均受到一定程度的压力支持,以增强吸气,达到适当通气量,减少呼吸频率,克服患者自主呼吸与机械通气相对抗的缺点,从而降低患者自发呼吸做功和耗氧量^[4],对患者疲乏呼吸肌的修复起到重要作用。COPD 患者由于长期低氧和高碳血症及酸中毒使呼吸功能受损导致肺泡处于低通气状态,无创呼吸机经口鼻面罩气道正压通气治疗具有应用迅速、操作简单、痛苦少等优点。BiPAP 呼吸机同步性能好、无创、具有自动漏气补偿功能、有较好的温化效果,在治疗过程中保留吞咽和咳嗽功能,患者较舒适。一般只引起局部压迫、胃胀气等轻度不良反应,可以避免气管插管或气管切开致相关性肺炎、气压伤等严重并发症,减少患者痛苦。在临床上通常选择硅胶面罩进行正压通气,但要注意治疗时要用单向活瓣,以克服重复呼吸,以利于 CO₂ 排出。并且要保持呼吸道的

通畅,有痰液要及时排出,加强雾化及温化,做好分泌物的引流,保证热量的供给。Clini 等^[5]把 90 例患者随机分成单纯吸氧治疗和吸氧加无创通气治疗组,实验为期 2 年。结果显示与对照组相比,无创通气治疗能有效阻止 PaCO₂ 的上升和生活质量的下降,改善呼吸困难,并且可缩短住院天数。与传统治疗相比能在短时间内迅速改善威胁患者生命的严重缺氧和二氧化碳潴留,使患者恢复意识,主动配合,争取时间,以便于其他治疗措施发挥作用。

本文对 76 例 COPD 急性加重并发 II 型呼吸衰竭患者应用 BiPAP 呼吸机辅助通气治疗,通过自身对照观察患者治疗 3 d 前及 3 d 后血气指标变化和病情改善情况。经无创呼吸机通气 3 d 后多数患者 PaO₂ 明显升高,PaCO₂ 明显降低,pH、心率、呼吸频率明显改善,呼吸困难缓解,发绀减轻,疗效明显。但有少部分患者因不能耐受面罩通气而不得不放弃无创呼吸机治疗而使病情加重,甚至需要插管上机治疗。这类患者通常有腹胀、咽干和局部压迫感,而其最强烈的主诉为憋气感。故治疗前应耐心辅导,消除其紧张情绪,使其配合治疗。应用 BiPAP 操作简便,患者易于接受。无创通气不需要建立人工气道,大大降低了呼吸机相关肺炎的发生,其疗效肯定,治疗效果明显优于鼻导管吸氧,可作为临床治疗 COPD 并发 II 型呼吸衰竭的一种常规治疗手段。

参考文献

- [1] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 肺病诊治指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2002, 25(8): 453-460.
- [2] 叶任高. 内科学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 134-138.
- [3] 中华医学会呼吸病学会临床呼吸生理及 ICU 组. 无创正压通气临床应用中的几点建议[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2002, 25(2): 129-130.
- [4] Broehard L, Pluskwa F, Lemaire F. Improved efficacy of spontaneous breathing with inspiratory pressure support [J]. Am Rev Respir Dis, 1987, 136: 411-415.
- [5] Clini E, Sturani C, Rossi A, et al. The Italian multicentre study on noninvasive ventilation in chronic obstructive pulmonary disease patients [J]. Eur Respir J, 2002, 20(3): 529-538.

(收稿日期: 2010-12-01)

(上接第 1034 页)

表面抗原定性测定室内质控物浓度的选择方法[J]. 中华肝脏病杂志, 2003, 11(4): 228-231.

[5] 郑怀竞, 王彩育, 师学江, 等. 全国血站系统乙肝表面抗原检验室间质量评价[J]. 中国输血杂志, 1992, 5(4): 173-

175.

[6] 耿秀凤. ELISA 检测 HBsAg、抗-HCV 的质量控制初探 [J]. 临床输血与检验, 2001, 3(3): 66-68.

(收稿日期: 2010-12-27)