

# Grubbs 法在酶联免疫吸附试验乙型肝炎两对半室内质控的应用探讨

伍启康, 陈斌鸿, 陈展泽, 郑雪莲, 戴伟良 (广东省佛山市第一人民医院检验科 528000)

**【摘要】** 目的 探讨 Grubbs 法结合  $\pm 3s$ 、 $\pm 2s$  和  $7_T$  规则在乙型肝炎两对半酶联免疫吸附试验 (ELISA) 定量检测中的临时室内质控的可行性。方法 查阅同一质控批号的 ELISA 乙型肝炎两对半定量检测的连续 20 批室内质控数据, 并对 Grubbs 法结合  $\pm 3s$ 、 $\pm 2s$  和  $7_T$  规则应用进行统计分析。结果 ELISA 乙型肝炎表面抗原 (HBsAg)、乙型肝炎表面抗体 (HbsAb)、乙型肝炎 E 抗原 (HbeAg) 定量测定中 20 次测定值均处于在控状态; 乙型肝炎 E 抗体 (HbeAb) 定量测定中 Grubbs 法显示 20 次测定值均处于在控状态, 但第 13 次测定结果违反了  $\pm 2s$  规则, 判定为警告状态, 保留数据, 且予以注意, 积极分析原因, 避免后续的检测继续警告甚至失控; 乙型肝炎核心抗体 (HbcAb) 测定 20 次测定值均处于在控状态。结论 Grubbs 法结合  $\pm 3s$ 、 $\pm 2s$  和  $7_T$  规则能作为 ELISA 乙型肝炎两对半定量检测的临时室内质控方法。

**【关键词】** Grubbs 法; 酶联免疫吸附试验; 室内质控

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.14.048 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)14-2088-02

**Study on application of Grubbs method in internal quality control for hepatitis B determination by ELISA** WU Qikang, CHEN Bin-hong, CHEN Zhan-ze, ZHENG Xue-lian, DAI Wei-liang (Department of Clinical Laboratory, Foshan Municipal First People's Hospital, Foshan, Guangdong 528000, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the feasibility of the Grubbs method combined with the  $\pm 3s$ ,  $\pm 2s$  and  $7_T$  rule applied to the temporary internal quality control method for hepatitis B determination by ELISA. **Methods** The continuous 20 batches of internal quality control data in the hepatitis B quantitative determination by ELISA at the same quality control batch number were consulted and the application of Grubbs method combined with the  $\pm 3s$ ,  $\pm 2s$  and  $7_T$  rule was statistically analyzed. **Results** The 20 times detection values in the HBsAg, HbsAb and HbeAg quantitative determination by ELISA were in the controlled state; the 20 times detection values displayed by the Grubbs method in the HbeAb quantitative determination were in the controlled state, but the thirteenth detection results violated the  $\pm 2s$  rule, which was judged as a warning condition, its data were retained and paid attention, the reasons were actively analyzed to avoid the subsequent determination being warning or out of control again; the 20 times detection values in the HbcAb quantitative determination by ELISA were in the controlled state. **Conclusion** The Grubbs method combined with the  $\pm 3s$ ,  $\pm 2s$  and  $7_T$  rule can be used as the temporary internal quality control method for hepatitis B determination by ELISA.

**【Key words】** Grubbs method; ELISA; internal quality control

室内质量控制 (IQC) 是临床实验室检测结果可靠性的前提, 做好 IQC 是临床实验室检测质量的保证。国内大部分市县级医院普遍应用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 来检测乙型肝炎两对半, ELISA 试剂盒的有效期短, 批号更换频繁, 短时间内难以积累最佳条件下 20 次质控物的检测结果<sup>[1]</sup>。Grubbs 法是一种离群值检验的统计方法, 该法只需测定 3 次, 即可对第 3 次结果进行质控分析, 适用于试剂有效期短, 批号更换频繁或不常开展的检验项目<sup>[2]</sup>。但 Grubbs 法也存在着自身的缺陷, 具体表现为“回顾性失控检出”现象和前 3 次测定结果对后续质控结果的影响较大, 不能直接用于本室日常的 IQC。因此, 作者探讨了 Grubbs 法结合  $\pm 2s$ 、 $\pm 3s$  和  $7_T$  规则作为 ELISA 乙型肝炎两对半定量检测临时 IQC 的可行性, 现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验试剂** ELISA 乙型肝炎两对半定量检测试剂盒 [丰华公司, 乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 试剂批号 201112003, 乙型肝炎表面抗体 (HbsAb) 试剂批号 201205001, 乙型肝炎 E 抗原 (HbeAg) 试剂批号 201209002, 乙型肝炎 E 抗体 (HbeAb) 试剂批号 201208002, 乙型肝炎核心抗体 (HbcAb) 试剂批号 201203002]。

### 1.1.2 质控血清

**1.1.3 实验仪器** 全自动酶免疫分析仪 (安图 Auto CLIA)。

## 1.2 方法

**1.2.1 乙型肝炎两对半定量检测** 采用 ELISA 法进行检测, 严格按照试剂盒操作步骤和全自动酶免仪的操作要求进行检测。

**1.2.2 Grubbs 法质控分析** 在获得 3 次质控测定值后, 按照大小顺序从小到大排列, 即  $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$  (其中  $x_1$  为最小值,  $x_n$  为最大值)。计算所有测定值的均值  $\bar{x}$ , 标准差  $s$  及变异

系数 CV。根据公式计算  $SI_{\text{上限}}$  和计算  $SI_{\text{下限}}$  ( $SI_{\text{上限}} = \frac{x_n - \bar{x}}{s}$ ,  $SI_{\text{下限}} = \frac{\bar{x} - x_1}{s}$ ), 然后将  $SI_{\text{上限}}$  与  $SI_{\text{下限}}$  跟 SI 界值表(表 1)中相应的界值做比较, 判断  $x_1$  和  $x_n$  是否在控。判断规则如下: 若  $SI_{\text{上限}}$  与  $SI_{\text{下限}}$  小于  $n_{2s}$ , 表示  $x_1$  和  $x_n$  处于在控范围内, 可以继续后续的检测; 若  $SI_{\text{上限}}$  或  $SI_{\text{下限}}$  大于  $n_{2s}$ , 而小于  $n_{3s}$ , 表示相应的测定值处于警告状态, 应当予以注意; 若  $SI_{\text{上限}}$  与  $SI_{\text{下限}}$  其中一个测定值大于  $n_{3s}$ , 表示相应的测定值失控, 应当分析失控原因并作出相应改正措施。其中 Grubbs 法规定大于  $n_{2s}$  和大于  $n_{3s}$  的测定值都应该舍去, 重新测定重新测定后再进行统计分析后检测。

**1.2.3 结合其他规则分析** 在应用 Grubbs 法对测定值进行室内质控分析的同时, 结合  $\pm 2s$ 、 $\pm 3s$  和  $7_T$  规则,  $\pm 2s$  为警告规则,  $\pm 3s$  和  $7_T$  为失控规则。当 Grubbs 法与以上 3 个规则相矛盾时, 应当从 Grubbs 法与  $\pm 2s$ 、 $\pm 3s$  和  $7_T$  规则的适用条件、质控方法的性能与缺陷以及测定值的统计学分析结果综合判定可疑测定值的质控状态, 确保室内质控的及时准确, 保障实验室检测结果的质量。

**2 结 果**

**2.1 Grubbs 法质控分析结果** 将获得的 20 次质控测定值按照 Grubbs 法的操作进行统计分析, HbsAg、HbsAb、HbeAg、HbeAb 所得结果均处于在控状态; HbcAb 的 20 次质控测定值按照 Grubbs 法的操作进行统计分析, 显示第 3 次测定值为 1.72, 可疑值为 1.72,  $SI_{\text{上限}}$  大于  $n_{2s}$  且小于  $n_{3s}$ , 即处于“警告”状态, 而其后的测定值均处于在控状态, 如图 1 所示, 按照 Grubbs 法规则应舍去可疑值 1.72, 重新测定再分析, 则 20 次测定结果均处于在控状态, 如图 2 所示, 但图 2 中出现比可疑值 1.72 大的测定值被判为在控的现象, 观察可见前两次测定值相距较近, 经分析应将前两次(1.12, 1.03)看作一次测定取平均值(1.08)作为测定值, 从第 4 次测定值开始进行质控, 则 20 次测定结果均处于在控状态。

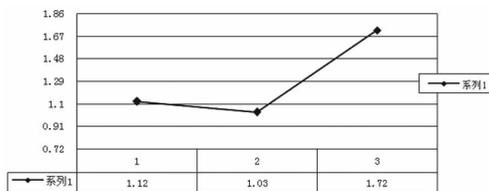


图 1 Grubbs 法应用于 ELISA 法 HbcAb 定量测定质控分析结果(剔除可疑值前)

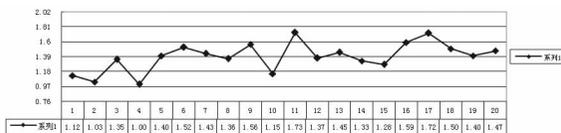


图 2 Grubbs 法应用于 ELISA 法 HbcAb 定量测定质控分析结果(剔除可疑值后)

**2.2  $\pm 2s$ 、 $\pm 3s$  和  $7_T$  规则质控分析结果**  $\pm 2s$ 、 $\pm 3s$  和  $7_T$  规则对质控数据进行分析, 除 HbeAb 定量测定中第 13 次测定结果违反了  $\pm 2s$  规则外, HbsAg、HbsAb、HbeAg、HbcAb 的各个测定值均处于在控状态。HbeAb 具体质控分析见图 3, 该

次测定数据判定为警告状态, 保留数据, 且予以注意, 积极分析原因, 避免后续的检测继续告警甚至失控。

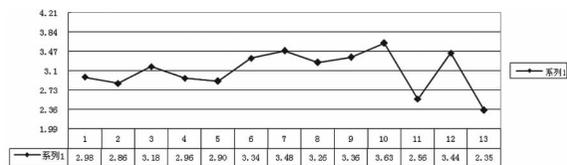


图 3  $\pm 2s$ 、 $\pm 3s$  和  $7_T$  规则应用于 ELISA 法 HbeAb 定量测定质控分析结果

**3 讨 论**

目前, 大部分临床实验室免疫学检验项目多采用 ELISA 的方法, 其中乙型肝炎两对半定量试剂盒的应用较为广泛, 但 ELISA 试剂盒收到酶试剂的限制, 有效期较短, 批号更换频繁, 应选择一种更合适的质控方法作为更换试剂盒批号时的临时质控方法, 以便于在更换试剂盒批号保证检验质量。

Grubbs 法是一种离群值检验的统计方法, 一组测定值中明显偏离测定值群体的过大值或过小值称为离群值, 它可能是测定结果随机波动的极值, 也可能是与群体测定值非属同质总体的异常值<sup>[3]</sup>。Grubbs 法用于正态分布的样本中判断异常值, 应用于室内质控即从所有质控品测定值中判断明显偏离测定均值的可疑测定值是否为异常值, 从而判断检测是否在控。由此可见, Grubbs 法并不是判断当次检验结果是否处于质控状态的方法, 而是判断当次及之前测定值中偏离均值最远的测定值是否失控的方法。正因这一特点, Grubbs 法存在着“回顾性失控检出”的缺陷, 具体表现为在测定次数较少时有些离群值可能不一定会显示失控, 但随着测定次数增加, 测定值逐渐趋于稳定, 这时以前的离群值将“暴露”出来显示为失控, 这些离群值称为“迟后异常值”<sup>[4]</sup>。这种情况多出现在最初几次测定、均值及标准差不断改变和 CV 偏大时, 观察结果可见本研究各项质控测定值 CV 大部分在 25% 以内, 结合  $\pm 2s$ 、 $\pm 3s$  规则即可避免“回顾性失控检出”现象。

值得注意的是, 本次质控过程中出现了 Grubbs 法对可疑值的错判现象(图 1)。HbcAb 定量测定中第 3 次测定值 1.72 按照 Grubbs 法判定应当删去, 应重新测定作统计分析数据, 表 1 中第 11 次测定值为 1.83, 第 18 次测定值为 1.82, 这两个测定值均比可疑值 1.72 大, 但都判定为在控状态, 这种结果可归因于前两次测定值(1.12 和 1.03)相距较近, 而跟第 3 次测定结果相距较远。当前 3 次测定值的 CV 值小于 5% 时, 第 4 个在控数据允许 CV 值范围超过 16% 就提示失控<sup>[5]</sup>, 作者认为当前两个测定值相距较近时, 对第 3 个测定值的允许 CV 值范围就越小, 则对第 3 个测定值的判定越容易出现假失控。文献<sup>[6]</sup>也表明若测定过程中前两次测定值相等时,  $SI_{\text{上限}}$  和  $SI_{\text{下限}}$  均为一常数, 此时 Grubbs 法已不能起到监控作用, 这种问题是由于样本量少, 造成的抽样误差引起的, 解决方法是增加样本量, 把两次相同的测定值看成是一个测定结果, 从第 4 次测定值开始进行质控。由后期制作的 L-J 图作回顾分析时也可见可疑值 1.72 并未失控, 此时应结合  $\pm 2s$ 、 $\pm 3s$  和  $7_T$  规则作出判断。作者认为应取前两次测定值的平均值作为一次测定的结果, 保留可疑值 1.72, 从第 4 次测定开始作质控分析, 则 20 次测定值均处于在控范围, 这一结果也符合 L-J 图回顾分析的结果。HbeAb 定量测定中 Grubbs 法显示(下转第 2092 页)

动治疗、药物治疗、病情监测、健康教育和心理治疗。我国糖尿病患者的治疗模式主要是以药物治疗为主,缺乏饮食控制、运动锻炼,加上没有医生长期细心的指导,存在着药物选择不当、用药时间不合宜、擅自停药、频繁换药等情况,用药的依从性低,严重影响治疗效果。以社区为范围,对糖尿病患者进行综合管理和治疗,是行之有效的模式<sup>[6]</sup>。社区化的社区治疗和强化管理,通过知识讲座、健康教育的方式对糖尿病防治知识的普及,有利于提高患者对糖尿病防治知识的了解,进而能够积极主动的控制饮食、加强锻炼,同时通过医生的随访,一对一的指导,进而使患者做到合理用药<sup>[7]</sup>。通过对患者进行自我血糖监测的指导,患者能积极主动的监测血糖,对自己的病情有直接、客观的认识。有利于患者积极地配合医生的治疗,进而积极参与饮食控制和运动锻炼。也能及时发现高血糖或低血糖,为积极的救治争取时间。王亚琨等<sup>[8]</sup>的研究发现,教育、指导糖尿病患者进行血糖监测,能帮助患者积极有效的控制血糖,提高糖尿病的治疗效果。本研究中也发现,通过社区治疗和强化管理,患者自我血糖监测、合理运动、合理饮食及遵医嘱行为的比例明显高出对照组( $P < 0.05$ ),患者的空腹血糖、餐后 2 h 血糖、糖化血红蛋白、血脂均比对照组下降的更加明显。这主要是由于:(1)通过宣传教育,使患者能更好地掌握有关糖尿病的知识,培养患者自我管理技能;通过自我监测血糖的培训和指导,患者能够积极地控制血糖,管理疾病;(2)低糖饮食提高了食物中蛋白质和脂肪的比例,降低糖类在食物中的占比,从而减慢了血糖的吸收,减少了患者血糖的波动,延缓血糖达到峰值的时间,降低血糖的峰值<sup>[9]</sup>。(3)个性化的指导,根据患者的病情制订了针对性的指导,有效控制了患者病情,提高了患者对于自身状况的了解,提高了患者对治疗的顺应性,从根本上解决患者的不良生活行为,血糖得到良好的控制。

本研究结果显示,通过社区治疗和强化管理,能够使患者和医生建立和谐的关系,有助于医生针对患者的不足和缺陷进行教育和指导,增强治疗效果;并且指导和培养患者进行自我监测血糖,使患者对自己的病情有直接、客观的认识,利于患者积极地配合治疗,参与控制饮食和运动锻炼,自我管理疾病的能力有所提高;患者的空腹血糖、餐后 2 h 血糖、糖化血红蛋白

等监测指标下降的更明显。以上提示以社区为单位,对糖尿病患者进行社区治疗和强化管理是可行的,也是有效的。

## 参考文献

- [1] Albu JB, Heilbronn LK, Kelley DE, et al. Metabolic changes following a 1-year diet and exercise intervention in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2010, 59(3): 627-633.
- [2] 中华医学会糖尿病分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2010 版)[M]. 北京大学医学出版社, 2010: 15.
- [3] 赵晓霜, 李春玉, 李彩福. 社区糖尿病患者健康素养和自我效能对健康状况影响的路径分析[J]. *中华护理杂志*, 2013, 48(1): 63-65.
- [4] 陈素文, 陆晓伟, 王红红, 等. 社区中青年 2 型糖尿病患者遵医行为与健康信念、社会支持的相关性分析[J]. *中华现代护理杂志*, 2011, 17(26): 3110-3112.
- [5] 王慧, 刘华平. 低血糖指数饮食对 2 型糖尿病中长期血糖和血脂控制的研究现状[J]. *中华护理杂志*, 2010, 45(9): 858-860.
- [6] 周军, 姜秋红, 张志茹. 授权教育与传统教育对 2 型糖尿病患者知识与管理能力的影响[J]. *中国实用护理杂志*, 2013, 19(14): 26-28.
- [7] 孙胜男, 赵维纲, 董颖越, 等. 糖尿病患者自我管理现状及影响因素分析[J]. *中华护理杂志*, 2011, 46(3): 229-233.
- [8] 王亚琨, 杨洁, 王芳, 等. 糖尿病患者自我监测的临床研究[J]. *护士进修杂志*, 2013, 28(3): 275-276.
- [9] Marauard J, Stahl A, Lerch C, et al. A prospective clinical pilot-trial comparing the effect of an optimized mixed diet versus a flexible low-glycemic index diet on nutrient intake and HbA(1c) levels in children with type 1 diabetes[J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2011, 24(78): 441-447.

(收稿日期: 2015-02-20 修回日期: 2015-03-10)

(上接第 2089 页)

20 次测定值均处于在控状态,但第 13 次测定结果 2.39 违反了  $\pm 2s$  规则,应当结合实际分析,可疑值未违反 Grubbs 法失控规则,此结果判定为“警告”,可保留数据但应予以注意,积极分析原因,避免后续的检测继续告警甚至失控。

Grubbs 法主要用于定量分析,只要质控测定值在在控条件下呈正态分布的情况下皆可应用<sup>[7]</sup>。文献[8]报道 Grubbs 法前 3 次测定值对后续测定值的质控影响较大,易出现假失控和假在控,沈菁等<sup>[3]</sup>认为可结合实验室的实际情况,制订合适的允许 CV 范围,可减少假失控和假在控的结果,作者认为是一种合理、可行之法。

本研究表明 Grubbs 法结合  $\pm 3s$ 、 $\pm 2s$  和  $7\tau$  规则能作为 ELISA 乙型肝炎两对半定量检测临时室内质控方法是可行的,当测定值累积到 20 次后,应绘制 L-J 质控图作为日常室内质控方法。

## 参考文献

- [1] 袁明月, 文鸿雁, 杨志, 等. 基于 Grubbs 准则的小波阈值改进研究[J]. *人民长江*, 2014, 14(10): 69-71.

- [2] 张璇, 程敏照, 肖凤平. 利用 Origin 对数据异常值的剔除方法进行比较[J]. *实验科学与技术*, 2012, 1(10): 74-76.
- [3] 沈菁, 徐如梅, 池春燕, 等. 即刻法用于酶联免疫吸附试验室内质控的探讨[J]. *海南医学*, 2009, 20(4): 11-13.
- [4] 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]. *现代医学检验杂志*, 2009, 24(3): 28-30.
- [5] 陈飞. 即刻法在手工 ELISA 室内质控方法中的探讨和改良[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(19): 2242-2243.
- [6] 段红蕾, 吴青梅, 李洁, 等. Grubbs 与 Levey-Jennings 质控图在唐氏筛查质量控制中的应用[J]. *检验医学*, 2009, 2(10): 155-156.
- [7] 秦晓光. 如何正确理解和使用“即刻性”质控法[J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(2): 190-192.
- [8] 周守勤, 孔斌, 张作青, 等. Grubbs 法在酶联免疫法室内质控中探讨[J]. *临床和实验医学杂志*, 2011, 22(10): 1791.

(收稿日期: 2015-02-25 修回日期: 2015-03-20)