

• 临床探讨 •

HBsAg ELISA 的质量控制指标规范化*

杨丽华, 焦芳艳, 张裕, 彭萍, 余启华[△]

(湖南省临床检验中心/湖南省第二人民医院临检中心, 长沙 410007)

摘要:目的 研究乙型肝炎表面抗原(HBsAg)酶联免疫吸附试验(ELISA)检测基本质量指标(精密性、准确性、最低检测限)的规范化要求。方法 综合美国临床和实验室标准协会(CLSI)EP12-A 评价方案、《中华人民共和国药典(三部)》对临床诊断试剂的批批检验要求,以及中国合格评定国家认可委员会(CNAS)CL-39 的认可指标和程序通则,对最低检测限、精密性及准确度的规范化进行研究与评价。结果 国内主流 HBsAg ELISA 检测试剂对 HBsAg 水平为 0.20 IU/mL 的标本能持续检测阳性结果;能检出大多数 HBsAg 水平为 0.10 IU/mL 的标本,但差异无统计学意义($P>0.05$)。全省室内质评(EQA)活动反馈的室内质控图室内变异度(CV)小于 15%,但 EQA 活动中相同检测试剂数据及层级水平分析表明 CV 为 15%~20%。EQA 标本和临床标本的特异度和敏感度均大于 95%。结论 建议该省 HBsAg ELISA 检测的质量控制指标最低检测限为 0.10 IU/mL,要求批间 CV 小于或等于 20%,特异度和敏感度不低于 95%。

关键词:免疫定性检测; 精密性; 准确性; 最低检测下限

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.22.035 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)22-3373-03

临床免疫定性检验包括众多常规检验项目,临床价值大,应用广泛。但因其检测性能差异较大,且国内外权威机构发行、用于评价免疫定性检测方法或试剂的通用指南缺乏对检测系统分析质量指标(如精密性、准确性、分析敏感度、最低检出下限、转化血清盘能力、分析特异度和干扰因素等)的标准和规定,因此临床实验室较难完整评价定性免疫检测系统的性能,使该项目检验结果的准确性和可比性难以提高。本研究以临床应用最广泛的免疫定性项目——乙型肝炎表面抗原(HBsAg)为研究对象,对本省开展 HbsAg 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测的实验室检测系统进行检测数据分组统计与分析,确定本省 HBsAg ELISA 检测系统基本质量控制目标,规范全省临床实验室 HBsAg ELISA 检测质量评价标准,提高 HBsAg 检测水平和检测质量,推进 HBsAg 结果互认。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012—2016 年本省 HBsAg 项目室内质评(EQA)的数据、HBsAg 项目室内质控数据。EQA 标本由北京康恒思坦生物技术有限公司提供,每支 0.5 mL。靶值溯源至国家卫生和计划生育委员会临床检验中心(NCCL)标准物质,编号为 GBWE090038-090042。临床标本为临床实验室 ELISA 初筛为阳性或阴性的标本各 50 例,最后用 COBAS TaqMan 核酸检测系统确认,且有 5 例阳性标本为临界值水平。

1.2 仪器与试剂 采用 COBAS TaqMan 核酸检测系统。主要 HBsAg ELISA 检测试剂为本省 EQA 系统数据统计的 6 种国内主流试剂及 1 种进口试剂,编码为 E1、E2、E3、E4、E5、E6、E7。E7 为进口 ELISA 检测试剂,其他均为国产 ELISA 检测试剂。

1.3 方法

1.3.1 最低检出限 (1)按美国临床和实验室标准协会(CLSI)EP12-A 评价方案,采用乙型肝炎标志物全阴性血清,

将 HBsAg 2 IU/mL 定值血清稀释为 2.00、1.00、0.50、0.20、0.10、0.05 IU/mL 的层级水平。采用 4 种不同的试剂检测,将每种试剂能持续检出阳性结果的最低水平作为最低检出限。(2)2012—2016 年共设计 HBsAg EQA 低值标本 14 个批次,低水平设计值随每年统计合格率逐渐下降,低值水平梯度为 0.5、0.3、0.2 及 0.1 IU/mL;检出限水平设计按《中华人民共和国药典(三部)》批批检验要求为 0.1 IU/mL^[1]。

1.3.2 精密性 (1)本省室内质控图回报的变异度(CV)数据统计。收集整理 2015—2016 年有效质控图(有效质控图应含质控物厂家、水平及批号;检测试剂厂家及批号;框架图制订符合《全国临床检验操作规程(第四版)》中质控图均值及质控限设定规范,无明显质控图数据统计及应用错误,无明显的数据造假),统计不同检测系统的精密性数据。(2)本省 EQA 活动的精密性数据统计。利用 CLInet EQA 软件统计,剔除 7 个检测系统检测结果超过 3 倍标准差的数据,重新计算余下数据的 CV。

1.3.3 准确性 (1)EQA 标本的阳性符合率和阴性符合率。EQA 软件统计 2012—2016 年共检测的 7 250 例标本、5 种 ELISA 试剂,按试剂不同分组统计阴、阳性符合率并计算其置信区间(CI)。(2)采用当前国内主流 4 种 ELISA 试剂,对 50 例阳性标本和 50 例阴性标本进行检测,其结果用于评估特异度、敏感度及 CI。所用的 100 例标本均用 COBAS TaqMan 核酸检测系统确认其阳性和阴性。

1.4 统计学处理 采用北京科临易检公司开发的 CLInet EQA 软件进行 EQA 活动的统计分析。采用 SPSS17.0 统计学软件对各种评价指标进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 检测限结果 采用 4 种不同试剂对不同水平的稀释标本

* 基金项目:湖南省卫生和计划生育委员会课题资助项目(2014-104)。

[△] 通信作者, E-mail:1034823358@qq.com。

进行检测。E4 试剂在 0.2 IU/mL 水平能持续检出阳性,在 0.1 IU/mL 水平的阳性检出率高于 95%,2 种水平的阳性检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。其他 3 种试剂均在 0.1 IU/mL 水平即能持续检出阳性。见表 1。2012—2016 年,4 种不同低值水平的实验室合格率分别为:0.1 IU/mL 的合格率为(68.89±15.84)%,0.2 IU/mL 的合格率为(92.60±6.74)%,0.3 IU/mL 的合格率为(93.30±7.87)%,0.5 IU/mL 的合格率为(91.61±10.68)%,差异有统计学意义($F=11.319, P<0.05$)。不同标本水平及格率经单因素方差分析两两比较,

0.2、0.3、0.5 IU/mL 水平标本合格率明显高于 0.1 IU/mL,差异有统计学意义($P<0.05$);其他水平间两两比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 精密度的结果 2015—2016 年共收到本省医疗机构参评实验室反馈的 HBsAg 室内质控图 929 例,其中有效质控图 546 例,全省各实验室使用的室内质控物水平主要为 0.5、1.0、2.0 IU/mL。其 3 种不同水平的检测 CV 经统计学处理与临床免疫学检验精密度要求($CV<15\%$)比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 1 4 种试剂检测不同层级水平的 S/CO 结果

标本水平 (IU/mL)	E1		E2		E4		E5	
	平均 S/CO 值	CV(%)						
0.05	0.64±0.12	18.8	0.47±0.09	19.1	0.45±0.08	17.8	0.73±0.12	16.4
0.10	1.09±0.20	18.4	1.02±0.19	18.8	0.97±0.14	14.5	1.10±0.21	18.7
0.20	1.51±0.29	19.4	1.47±0.28	19.0	1.69±0.32	18.7	1.89±0.36	19.2
0.50	3.80±0.77	20.3	3.80±0.72	19.0	3.07±0.61	19.9	4.99±0.91	18.2
1.00	6.35±1.06	16.8	5.92±1.09	18.4	6.24±1.07	17.2	9.42±1.21	12.9
2.00	5.88±1.03	17.5	5.99±1.19	19.8	7.59±1.41	18.6	7.89±1.22	15.5

表 2 全省有效室内质控图 CV 值

标本水平 (IU/mL)	E1		E2		E4		E5	
	平均 S/CO 值	CV(%)						
0.5	3.30±0.51	15.35	3.80±0.62	16.39	3.07±0.54	17.58	4.99±0.65	12.98
1.0	6.35±0.66	10.39	5.92±0.59	9.96	6.24±0.76	12.18	9.42±0.93	9.88
2.0	5.88±0.65	11.05	5.99±0.61	10.18	6.59±0.64	9.72	7.89±0.83	10.52

E1~E7 的 HBsAg ELISA 试剂 CV 分别为(38.49±7.1)%、(35.95±3.84)%、(11.72±3.57)%、(52.5±7.16)%、(56.16±6.45)%、(39.44±7.77)%、(47.71±18.49)%,经单因素方差分析,差异有统计学意义($F=10.545, P<0.05$)。E1~E6 的 CV 两两比较差异无统计学意义($P>0.05$)。E7 与其他 6 种试剂的 CV 比较差异有统计学意义($P<0.05$)。7 种不同试剂与临床免疫学检验精密度要求($CV<15\%$)比较,单样本 t 检验, E1~E6 差异有统计学意义($P<0.05$)。E7 差异无统计学意义($P=0.163$)。

2.3 准确度的结果 2012—2016 年,根据 HBsAg ELISA 试剂检测的本省 EQA 标本检测结果统计分析,其阳性符合率均大于 95%;阴性符合率大于 99%。见表 3。

表 3 EQA 标本阴、阳性符合率(%)

试剂 编码	n	阳性		阴性		总符合率
		符合率	95%CI	符合率	95%CI	
E1	2 925	95.4	92.9~98.6	99.7	96.7~99.9	97.4
E2	1 175	95.7	91.5~98.8	99.5	95.2~99.1	97.5
E3	1 090	95.3	87.1~97.5	99.5	96.0~99.8	96.8
E4	610	95.7	93.2~98.9	100.0	97.6~100.0	97.8
E5	1 450	95.6	91.9~97.3	99.7	96.3~99.9	96.8

采用 4 种不同临床实验室的 ELISA 试剂检测 50 例阴性标本和 50 例阳性标本,结果显示其特异度和敏感度均大于 98%。见表 4。

表 4 临床标本不同检测试剂检测的准确度(%)

试剂编码	特异度	95%CI	敏感度	95%CI
E1	99.7	99.6~99.8	100.0	99.2~100.0
E2	98.8	97.6~99.5	99.5	98.3~99.9
E4	99.4	98.4~99.8	99.9	99.5~100.0
E5	99.8	99.7~99.9	100.0	99.2~100.0

3 讨 论

临床实验室检测项目质量规范的设定是分析质量指标应用中最为重要的环节。2015 年,意大利米兰的“斯德哥尔摩会议”中达成的质量规范设定方法强调,分析中的部分质量规范多基于法规和室内质量评价。当前,国家卫生计生委公布了近 30 条临床检验项目卫生行业标准,有关 ELISA 的相关质量标准仍未予阐述。国际标准化组织关于临床免疫定性应用所涉及的仅为通则与程序性描述,未具体明确关于分析质量可靠性指标规范。本研究综合 CNAS CL-39 的认可指标和程序通则、CLSI EP12-A 评价方案及《中华人民共和国药典(三部)》批批检验要求,结合本省 EQA 活动的情况,初步设定本省范围内

国内主流 HBsAg ELISA 的可靠性质量规范。

本研究结果显示,国内 4 种主流 HBsAg ELISA 检测试剂的最低检测限均为 0.1 IU/mL 左右。HBsAg ELISA 检测试剂的低水平标本检出率虽有差别,但对水平为 0.1 IU/mL 标本的阳性检出率大于 65%,符合 CLSI EP12-A 评价方案临界值评价要求,也符合国内学者关于 ELISA 检测试剂专项调查中的最低检测限描述^[2],说明当前国产主流 HBsAg ELISA 试剂的临界值范围为 0.1 IU/mL 左右,这与我国批间检验标准规定中的最低检出量基本一致^[1]。因此,建议本省实验室选择的 HBsAg ELISA 试剂最低检测限不低于 0.1 IU/mL。需要注意的是,最低检测限高于 0.1 IU/mL 的试剂应用于临床,处于该临界值范围感染者的漏检可能性极大,对于该类标本要进行中和或是核酸试验进行确认,以确保临床实验室诊断的准确性。

《中华人民共和国药典(三部)》中对精密度的要求是 CV 小于或等于 15%。有学者曾对国产 HBsAg ELISA 检测试剂进行专项调查,结果表明不同试剂批间、同一批试剂室间的精密度均能达到标准要求^[2]。本省 EQA 活动统计的室内质控图中,相同水平、不同检测试剂的 CV 基本能达到要求,但 EQA 标本的室内 CV 与之相差甚远,层级水平的 CV 为 15%~20%。理论上,不同试剂的批间和不同试剂的室内精密性均应与标准相符,但 EQA 活动室内质控图为回顾性数据,可能存在部分实验室工作人员不愿意分析失控原因而修改数据的情况。综上所述,本研究认为,国内主流 HBsAg ELISA 批间 CV 小于或等于 20%。根据实验室质量管理改进要求,实验室可

根据具体情况逐步降低其 CV,确保实验室检测结果的精密密度要求。

无论是 EQA 标本还是临床标本,本省临床实验室使用的国内主流 HBsAg ELISA 检测试剂,其总特异度和总敏感度均大于 95%,但对低值水平的检测符合率提示其分析敏感度有待提高。本研究建议本省临床实验室 HBsAg ELISA 检测试剂的特异度和敏感度均应大于 95%。

关于 ELISA 定性免疫检验质量规范的设定,因其方法学的局限性而一直未明确,不同生产厂家、不同生产原料、不同生产工艺及不同生产批号都有可能造成千差万别的检测结果。根据检验项目质量规范设定要求^[3],本研究的 HBsAg ELISA 检测质量规范在设定质量规范策略要求中属于“由室内质量评价组织者制订的质量规范”,可在全省推广使用并实施,以此可推进医疗机构实验室 HBsAg 检测结果的互认工作。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(三部)[M]. 北京:中国医药科技出版,2010:333-334.
- [2] 李克坚,周诚,蓝海云,等. 2013 年我国乙型肝炎病毒表面抗原诊断试剂盒专项抽验调查[J]. 中国生物制品杂志, 2016,29(1):45-50.
- [3] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2014:121-152.

(收稿日期:2017-04-29 修回日期:2017-07-18)

• 临床探讨 •

儿童急性鼻窦炎并发眶内感染的临床诊疗*

孙艳丽¹,唐新业^{2△},杨 阳²

(1. 重庆医科大学附属第一医院健康体检部 400016;2. 重庆医科大学附属儿童医院耳鼻咽喉科 400014)

摘要:目的 研究儿童急性鼻窦炎并发眶内感染的临床特点和诊疗方法。方法 对 2015 年 6 月至 2016 年 12 月于重庆医科大学附属儿童医院耳鼻咽喉科住院的 32 例急性鼻窦炎并发眶内感染患儿的临床资料进行回顾性分析。所有患儿均给予抗菌药物抗感染治疗,对鼻布局部应用麻黄碱及雾化等对症治疗,保守治疗无效的患儿予以手术治疗。同时完善鼻窦、眼眶计算机断层扫描(CT)及三维重建检查,以了解鼻窦和眼眶病变情况。鼻腔分泌物行细菌培养及药敏试验。排除由眼部疾病、鼻内镜术后并发眶内感染及原因不明的眶内感染患儿。**结果** 眼睑局部发红 16 例,眼痛 11 例,其为眼部的常见早期症状和体征,眼部表现一旦出现即进展迅速,常在数小时内累及整个眼睑。32 例患儿中有 24 例为眶周蜂窝组织炎,8 例为眶内骨膜下脓肿。鼻窦 CT 及三维重建检查提示最易受累的鼻窦是筛窦和上颌窦。鼻腔分泌物培养阳性者 11 例(39.4%),主要的致病菌依次为金黄色葡萄球菌(7 例)、肺炎双球菌(3 例)和流感嗜血杆菌(1 例)。眶周蜂窝组织炎患儿全身应用敏感抗菌药物抗感染治疗均治愈。保守治疗无效的眶壁骨膜下脓肿患儿(4 例)予以手术治疗。其中,1 例患儿为筛窦炎并发的眶外上壁骨膜下脓肿,予以经眼睑进路脓肿切口引流;3 例患儿经鼻腔进路行鼻内镜下眶壁部分切除术开放引流。**结论** 鼻源性眶内并发症起病急,进展快,眶周蜂窝组织炎为其最常见类型,最常见的致病菌为金黄色葡萄球菌;眶周蜂窝组织炎保守治疗效果确切,保守治疗无效的眶壁骨膜下脓肿可选择手术治疗。

关键词:急性鼻窦炎; 眶周蜂窝组织炎; 眶壁骨膜下脓肿; 金黄色葡萄球菌

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.22.036 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)22-3375-02

急性鼻窦炎是儿童常见病、多发病。鼻窦与眼眶相邻,且鼻腔、鼻窦与眼眶间存在无静脉瓣的丰富静脉网,因此,鼻窦的

炎性反应可通过各种途径扩展到眼眶,从而引起眶内并发症。虽然抗菌药物已得到普遍使用,鼻窦炎诊疗水平普遍提高,严

* 基金项目:重庆市科学技术委员会资助项目(cstc2015jcyjA10103)。

△ 通信作者,E-mail:ent2002@163.com。