

# 即刻法在手工 ELISA 室内质控方法中的探讨和改良

陈 飞

(江苏省南京脑科医院检验科 210029)

**摘要:**目的 对手工酶联免疫吸附试验(ELISA)法室内质控中“即刻法”的应用进行分析和讨论。方法 以人类免疫缺陷病毒检测为例,通过对前 3 天的值重复检测求均值和变异系数控制的方法对即刻法进行改良。结果 提高了前 3 个值的准确度和减少异常值的出现,使改良后的即刻法更有效。结论 即刻法来源于格拉布斯(Grubbs)检验法,方法本身存在一定缺陷。由于从第 3 个值才开始质控,前 3 个数值的准确度就显得相当重要,否则会对后面的数据产生影响。通过改良方法,使改良后的即刻法质控更符合临床实验室的应用。

**关键词:**酶联免疫吸附测定; 即刻法; 室内质控

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.19.035

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2011)19-2242-02

在一些临床实验室开展的手工 ELISA 法中,由于试剂批号更换频繁或开展频次较少,多采用即刻法进行室内质控。现以 HIV 检测为例,通过数据分析和前三天值的控制,对“即刻法”室内质控进行改良。

## 1 资料与方法

**1.1 仪器与试剂** (1)仪器:Metertech  $\Sigma$ 960 型酶标仪;(2)试剂盒:珠海丽珠试剂有限公司生产的人类免疫缺陷病毒抗体诊断试剂盒[(酶联免疫法)吸附试验(ELISA)],试剂批号:2011010112,效期:20120103;(3)室内质控:江苏省临检中心提供抗 HIV-1 标准物质,质控品批号:201009002,效期:2012 年 9 月,浓度:1 NCU/mL。

**1.2 方法** 用 ELISA 法进行检测,严格按试剂盒说明书操作。按照试剂要求设置阴、阳性对照和室内质控品,选择单波长 450 nm 进行检测,以试剂空白进行调零。临界值(cut-off) = 阴性对照平均吸光度(A)值 + 0.15(注:阴性对照平均 A 值小于 0.8 按 0.8 计算,大于 0.8 按实际值计算)。

**1.2.1 使用“即刻法”对所得结果 S/CO 值进行质控**,计算 SI 上限和下限,再查阅 SI 界值表判断质控结果有无失控。若结果处于“告警”或“失控”状态应舍弃,并重新测定质控血清和样本;若结果处于控制范围内,继续检测<sup>[1]</sup>。

**1.2.2 结果控制采用剔除最大偏离值法**,同时增加两条质控规则<sup>[2]</sup>。(1)前 3 次的质控,每次质控做 3 个(在样本中随机分布),3 次得到 9 个数值求其平均值,以变异系数(CV) = 20% (地区性室内质控 CV 范围建议)为标准求出标准差,剔除超过 2 个标准差的出控值。这样 3 次中剩下的值取其平均值作为质控点再进行“即刻法”质控。(2)每天新添质控值后形成新的集合重新计算 CV 值,控制 CV ≤ 30% (根据国家标准, IQC 允许 CV ≤ 30%<sup>[3]</sup>),否则重新检测当天质控。

## 2 结果

**2.1** 2011 年 5~7 月,本组实验检测数据见表 1。

**2.2** 前 3 次的质控,每次质控做 3 个(在样本中随机分布),3 次得到 9 个数值求其平均值,以 CV = 20% 为标准,求出标准差。此处 CV = 20% 的选取,一方面综合实际情况(地区性室内质控 CV 范围建议),根据国家标准酶法反应板,板内 CV ≤ 15%, IQC 的允许 CV ≤ 30%,本组选取了中间值;另外可以控制后面数据允许的 CV,使之不要过大。剔除超过 2 个标准差的出控值,这样 3 次中剩下的值取其平均值作为质控点再进行即刻法质控。在一定程度上保证了前 3 个值不出现异常值的可能性。同时本组再增加了一条检验规则,以 CV ≤ 30% (根据国家标准, IQC 的允许 CV ≤ 30%) 作为控制,就减少了因为当次质控值变异过大,加入集合中引起整体数值的偏差,从而导

致迟后异常值出现的可能。出现当次异常值没有影响,因为当次异常值不计入质控,不影响整体结果。根据此方法,剔除第 1 个值,剩下数据分别求其平均值。

表 1 即刻法质控数值

实验序号	质控血清 OD 值	cut-off 值	S/CO 值	质控状态
1	1.665	0.23	7.24	
	0.751	0.23	3.27	
	0.832	0.23	3.62	
2	0.880	0.23	3.83	
	1.007	0.23	4.38	
	0.721	0.23	3.13	
3	1.22	0.23	5.30	OK
	0.931	0.23	4.05	
	1.145	0.23	4.98	
4	0.910	0.23	3.96	OK
5	0.814	0.23	3.54	OK
6	1.032	0.23	4.49	告警/OK
7	0.989	0.23	4.30	告警/OK
8	1.088	0.23	4.73	告警/OK
9	0.575	0.23	2.50	告警/OK
10	1.275	0.23	5.54	OK/OK
11	1.039	0.23	4.52	OK/OK
12	0.951	0.23	4.13	告警/OK
13	1.137	0.23	4.94	告警/OK
14	1.205	0.23	5.24	告警/OK
15	0.602	0.23	2.62	OK/OK
16	0.584	0.23	2.54	OK/OK
17	1.543	0.23	6.71	OK/OK
18	1.137	0.23	4.94	OK/OK
19	1.271	0.23	5.53	OK/OK
20	1.712	0.23	7.44	OK/OK

x = 4.70; s = 1.40; CV = 29.76; 从第 6 个数据开始有两种质控状态,后一种是方法改良后的状态。

**2.3** 前 3 个质控值的 CV 与第 4 个质控值 CV 关系 见表 2。

表 2 前 3 个质控值的 CV 与第 4 个质控值 CV 关系

前 3 个质控值的 CV (%)	第 4 个在控数据允许 CV (%)
<5	<16
5~9	<16~30
10~14	<31~41
15~19	<42~51

续表 2 前 3 个质控值的 CV 与第 4 个质控值 CV 关系

前 3 个质控值的 CV(%)	第 4 个在控数据允许 CV(%)
20~25	<52~61
>25	<61~100

### 3 讨论

**3.1 “即刻法”**来源于格拉布斯(Grubbs)检验法,该方法在统计学中常用于正态样本异常值的判断和处理<sup>[4]</sup>。异常值(或异常观测值)是指样本中的个别值,其数值明显偏离它(或它们)所属样本的其余观测值。Grubbs 检验的样本数据不可少于 6 个,否则可能会增加异常值的误判。通过事先给定的概率来判断是否存在异常值,剔除其中的“异常值”。即刻法按下述公式计算 SI 上限和下限:SI 上限=(Xmax-X)/S;SI 下限=(X-Xmin)/S。当 SI 上限和 SI 下限均小于 N2S 时,表示处于 OK 状态,可以继续往下测定;当 SI 上限或 SI 下限处于 N2S 和 N3S 之间时,即处于“告警”状态;当 SI 上限或 SI 下限大于 N3S 时,即为“失控”,处于“告警”状态和“失控”状态时需要剔除异常值,然后再进行检测。

**3.2 作为一种即时质控的方法**,优点在于从第 3 次开始就可以进行质控,但缺点也很突出,其主要缺点如下。

**3.2.1 结果的判定** 查阅以前发表的文献,“即刻法”对异常值的判断常用两种方法(剔除末次测定值法和剔除最大偏离值法<sup>[5]</sup>)。本组更倾向于后者剔除最大偏离值法。因为“即刻法”是从当天以前(含当天)的所有测定值中找出最大值和最小值。每增加一个新的数值,就会形成了一个集合,在这个新集合中同一个数可能表现出不同的特性,以往的正常值在新集合中也可能表现为异常值。这样就产生了两种可能即时异常值和迟后异常值<sup>[6]</sup>。

**3.2.2 前 3 个质控数据对结果的影响(即刻法)**从第 3 次检验就可以对结果进行控制,在统计学中样本量太少时容易出现抽样误差,这种误差的产生又直接关系后面的检测结果,因而不可避免地对后面的结果判断产生影响。按照国家标准,酶免法的反应板内 CV≤15%,而常规 IQC 的 CV 可以达到 30%左右。前 3 个质控值的 CV 值与第 4 个在控数据允许 CV 值存在

一定的相关性。前 3 个质控值的 CV 值越小,第 4 个在控数据允许 CV 值也越小;反之前 3 个质控值的 CV 值越大,第 4 个在控数据允许 CV 值也越大。当前 3 个质控值的 CV 值小于 5% 时,第 4 个在控数据允许 CV 值范围超过 16% 就提示出控;而当前 3 个质控值的 CV 值大 15% 时,第 4 个在控数据允许 CV 值范围已经达到 40% 以上,远远超过常规 IQC 允许的 CV 值,从而失去了质控的意义<sup>[7]</sup>。

**3.3 “即刻法”**作为一种即时检验的质控方法,第 3 个值即可以进行质量控制,这样前 3 个值的准确度就显得相当重要。而 Grubbs 检验要求的样本数据不可少于 6 个,只有 3 个值就增加了偏差的可能性。而且迟后异常值的现象也提示了“即刻法”的缺陷,出现了迟后异常值,而该值在当时表现为再控,现在表现为失控,当天结果已正常发出。这样“即刻法”质控就出现了明显的漏洞。通过本组改良的方法,提高了前 3 个值的准确度,减少了前 3 个值出现最大离群值的可能性,同时增加了 CV 控制,减少了迟后异常值的出现,使得“即刻法”质控更符合临床实验室的应用。

### 参考文献

- [1] 王治国. 临床检验质量技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2004:205.
- [2] 丁海明,潘婉仪. ELISA 定性试验“即刻法”室内质控的评价与应用[J]. 现代检验医学杂志,2009,24(3):29-30.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 中国生物制品规程(二部)[M]. 北京:化学工业出版社,2000:574.
- [4] 骆展鹏,邹晓萍.“即刻法”室内质量控制方法学的改进[J]. 国际检验医学杂志,2011,31(11):1234-1235.
- [5] 宋宏先,张吉才,郭建华.“即刻法”室内质控存在的问题探讨[J]. 检验医学,2004,19(3):269-270.
- [6] 李承彬,张国清.“即刻法”质控运用错误分析[J]. 检验医学与临床,2007,4(2):250-251.
- [7] 万腊根,张世锷,王峥,等. 两种方法设置室内质控限值时室内质控的结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(6):692-695.

(收稿日期:2011-07-16)

• 质控与标规 •

## 无偿献血者献血前 ABO 血型实验的质量控制

王 林,张国平

(河南省焦作市中心血站 454000)

**摘要:目的** 探讨献血者献血前 ABO 血型实验的质量控制措施,以进一步减少初定 ABO 血型错误现象的发生。**方法** 无偿献血者献血前,在街头流动采血车上用纸板法进行 ABO 正定型;献血后在检验科使用微板法进行 ABO 血型正定型和反定型,必要时,使用其他血型鉴定技术。**结果** 2007~2009 年,献血前检测 ABO 血型 70 513 例中,经检验科鉴定共发现 86 例血型错误,占 0.12%,环境因素、亚型或弱抗原、人为因素是出现血型错误的主要原因;通过采取质量控制措施,2010 年 1~12 月,在初定 ABO 血型 26 536 例中,出现错误 5 例,占 0.02%。**结论** 应加强献血前血型实验的质量控制工作,提高初定血型工作质量;检验科应同时进行 ABO 血型正定型和反定型,确保血型结果准确无误。

**关键词:** 供血者; ABO 血型; 质量控制

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.19.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)19-2243-02

确保献血者血型鉴定结果准确无误,是保证临床输血安全有效的重要前提<sup>[1]</sup>。随着无偿献血广泛深入的开展,流动采血车街头采血成为各地血站保障血液供应的主要方式<sup>[2]</sup>。由于受室外工作环境、温度、检测方法等因素的影响,献血前初定 ABO 血型错误时有发生。现对该站流动采血车上出现的初定

血型错误进行回顾性分析,并采取相应纠正预防措施,对献血前鉴定 ABO 血型实验进行质量控制,取得了满意效果,报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2007 年 1 月 1 日至 2009 年 12 月 31 日,无偿