

• 质控与标规 •

5 种定性试验质控物的研制与应用

刘和录, 许瑞娜, 余素燕, 杨鸿雅, 於艳霞

(广州医学院附属深圳沙井医院检验科, 广东深圳 518104)

摘要:目的 研制细菌性阴道炎(BV)、潜血(OB)、轮状病毒抗原(RV-Ag)、人绒毛膜促性腺激素(HCG)检测的室内质控物并建立质控程序。方法 根据各定性试验的检验原理,选用合适的生物材料,不断优化配制方法,制备 5 种室内质控物后建立相应项目的室内质控程序。结果 4 种(BV、OB、RV-Ag、HCG)临界值质控物中被测物浓度处于临界值水平,可验证试剂灵敏度;OB 阴性质控物不含被测物,可验证试剂特异性;5 种定性试验质控物稳定性较好,室温、4℃、-20℃条件下至少可稳定 30 d、3 个月和 12 个月。结论 成功制备了 BV、OB、RV-Ag、HCG 定性试验的室内质控物,填补了国内上述项目商品化室内质控物的空白,具备较好的实用价值。

关键词:阴道炎,细菌性; 潜血; 轮状病毒; 质控物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)05-0589-02

医疗质量是医院的生命线和患者生命的保障,检验质量是医疗质量的重要组成部分,许多专家学者致力于检验质量管理相关研究,以期提高检验质量^[1-4]。卫生部于 2006 年颁布的《医疗机构临床实验室管理办法》第二十五条规定:“医疗机构临床实验室应当对开展的临床检验项目进行室内质量控制,绘制质量控制图”^[5]。目前,多数定量检测及部分定性检测(如乙型肝炎病毒血清标志物)已有商品化质控物,但很多体液及排泄物定性检测项目没有商品化质控物,如不自行研制就难以开展室内质控。为此,笔者研制了细菌性阴道炎(bacterial vaginosis, BV)、潜血(occult blood, OB)、轮状病毒抗原(rotavirus antigen, RV-Ag)、人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)定性检测室内质控物,并建立了室内质控程序,在保证项目检测结果可靠性方面效果满意,现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 SYSMEX 1800I 血细胞分析仪、BECKMAN ACCESS 化学发光免疫分析仪及配套试剂,北京白洋牌大容量离心机。唾液酸酶法 BV 检测试剂盒购自北京明悟德公司,实测灵敏度为 5.0 U。胶体金法 OB 检测试剂盒购自美国万华普曼公司,实测灵敏度为 0.5 mg/L。胶体金法 RV-Ag 检测试剂盒购自北京万泰公司。胶体金法 HCG 检测试剂盒购自深圳康乃格公司,实测灵敏度为 12.5 U/L。唾液酸酶、复合酶稳定剂、蛋白稳定剂、小牛血清清蛋白、叠氮钠均购自美国 SIGMA 公司。一次性 0.5 mL 塑料离心管购自江苏康健医疗用品有限公司。人血红蛋白液、RV-Ag 阳性粪便标本、高浓度 HCG 尿液标本来源于临床标本;OB 阴性质控物材料为经乙二胺四乙酸抗凝的猪、牛、鸡、鸭等 7 种动物血。

1.2 方 法

1.2.1 质控物容器封闭 向一次性 0.5 mL 塑料离心管加入 1% 小牛血清清蛋白溶液 0.5 mL,4℃ 放置 24 h 后弃去管内液体,置生物安全柜内自然晾干后备用。

1.2.2 质控物配制 (1)BV 临界值质控物的配制:将唾液酸酶原液用生理盐水稀释至 40 U/mL,加复合酶稳定剂和叠氮钠至终浓度分别为 2.0、1.0 g/L,分装至塑料离心管,每管 250 μL,含唾液酸酶 10.0 U。(2)OB 临界值质控物的配制:取健康体检者血常规标本,根据血红蛋白检测结果,用蒸馏水溶血后稀释至 1 mg/L,加蛋白稳定剂和叠氮钠至终浓度分别为 5.0、1.0 g/L,分装塑料离心管,每管 250 μL。(3)OB 阴性质控物的配制:将收集到的动物血分别用生理盐水洗涤 3 遍去除血浆,测定动物红细胞悬液血红蛋白浓度,根据所测结果用无

菌蒸馏水将每种动物红细胞溶血后稀释至 0.7 g/L,然后等量混合,加蛋白稳定剂和叠氮钠至终浓度分别为 5.0、1.0 g/L,分装至塑料离心管,每管 250 μL。混合血红蛋白液中含单种动物血红蛋白浓度约为 100 mg/L。(4)RV-Ag 临界值质控物的配制:向收集的 RV 阳性粪便标本中加适量生理盐水,充分混匀,移至 20 mL 离心管,3 000 r/min 离心 5 min,取上清液置 56℃ 灭活 30 min,倍比稀释法以 RV 检测出极弱阳性为判断标准确定稀释度,将上清液用生理盐水稀释后加蛋白稳定剂和叠氮钠至终浓度分别为 5.0、1.0 g/L,分装至塑料离心管,每管 250 μL。(5)HCG 临界值质控物的配制:化学发光法检测收集的高浓度 HCG 尿标本,用生理盐水稀释至 HCG 浓度为 25 U/L,加蛋白稳定剂和叠氮钠至终浓度分别为 5.0、1.0 g/L,分装至塑料离心管,每管 250 μL。

1.2.3 质控物保存 将配制的各种室内质控物分成 4 份,第 1、2 份均为 30 管,第 3 份 90 管,第 4 份 300 管,分别于 37℃、室温、4℃、-20℃ 条件下保存备用。

1.2.4 室内质控方法 (1)质控频次与浓度水平:每天 1 次,每次进行临界值和阴性质控品测试,除 OB 外,其他 3 种阴性质控品为无菌生理盐水。(2)质控结果转换规则:检测结果为阴性、极弱阳性、阳性、强阳性时,在检验信息系统中分别输入“0”、“1”、“2”、“3”。(3)质控控制限设立:临界值质控上、下失控线分别设为 1.5、0.5;阴性质控上、下失控线分别设为 0.5、-0.5。(4)失控判断规则:超过上、下失控线者均判为失控。

1.2.5 质控物效能检测 以所制备质控物作为样本,严格按各项目标准操作规程文件进行检测和结果判断,并将实际结果与预期结果进行比较以判断质控物效能。

1.2.6 质控物稳定性检测 按质控物保存温度从高到低的顺序,每天按质控程序进行检测,如质控结果始终在控,继续使用该温度保存条件下的质控物,直至用完为止;一旦出现失控,经分析确认质控物变质失效后,启用下一温度保存条件下的质控物,以此类推,持续观察 1 年。

1.2.7 质控物应用 每天用自制质控物按室内质控程序进行质控,持续 1 年,观察在控和失控情况。

2 结 果

2.1 质控物效能检测 用相应试剂检测 4 种临界值质控物,结果均为极弱阳性,与预期结果一致,可监测相应试剂的灵敏度;阴性质控物结果均为阴性,与预期结果一致,可监测相应试剂的特异性。

2.2 质控物稳定性检测 4 种临界值质控物和 OB 阴性质控

物稳定性检测结果表 1。

表 1 4 种临界值质控物和 OB 阴性质控物稳定性检测结果(d)

保存条件	BV 临界	OB 临界	RV 临界	HCG 临界	OB 阴性
37 ℃	>30	>27	>22	>23	>30
室温	>52	>38	>31	>43	>60
4 ℃	>146	>105	>122	>137	>180
-20 ℃	>365	>365	>365	>365	>365

2.3 质控物应用 使用自制质控物 1 年,OB 阴性质控物未出现失控现象;4 种临界值质控物因试剂灵敏度下降引起的失控次数分别为 BV 2 次、OB 3 次、RV 5 次、HCG 11 次。

3 讨 论

酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂盒在配有阴、阳性对照的情况下仍必须以室内质控作为外部对照,而 BV、OB、RV、HCG 定性检测试剂盒未配备阴、阳性对照,更应开展室内质控,否则无法监测试剂在流通、保存、使用过程中是否出现变质^[6]。笔者研制的 5 种室内质控物既是法规的要求,更是实际工作的迫切需求。

保证检测试剂的灵敏度和特异度可避免假阴性和假阳性结果。定性试验的阳性质控物一般采用弱阳性标本,阴性质控物一般采用不含被测物质的生物材料或阴性标本,以监测试剂灵敏度和特异度^[7]。笔者研制的 4 种临界值室内质控物和阴性质控物符合该原则。

评价质控物质量的关键指标是稳定性^[8-9]。BV、OB、RV、HCG 临界值室内质控物中被测物含量很低且均为蛋白质,容易在保存过程中降解和被塑料离心管管壁吸附^[10]。因此,预先将一次性塑料离心管进行封闭处理尤为必要。本研究证明:封闭管壁,添加酶稳定剂、蛋白质稳定剂、防腐剂,低温保存等措施具有明显效果,4 种质控物的有效期均达到了 1 年以上。

• 质控与标规 •

从应用 1 年的情况可见,阴性质控物未出现失控,说明 4 种检测试剂的特异性较好,可以考虑修改质控程序,取消该 4 项检验的阴性质控,以降低成本。4 种临界值质控均出现了因试剂原因造成的失控,说明试剂在流通、保存、使用过程中有可能因灵敏度下降造成检测结果不可靠。因此,开展 BV、OB 等 4 种定性试验的临界值质控可有效保障检验结果的可靠性,具有一定的现实意义。

参考文献

[1] 霍虹,王清涛,王露楠,等.沙眼衣原体聚合酶链反应测定质控物的构建及其应用研究[J].中华检验医学杂志,2008,31(5):574-579.

[2] 董莉,张保平,王永祥,等.化学发光仪质控物的研制及临床应用[J].国际检验医学杂志,2008,29(10):951-953.

[3] 刘和录,许业栋,罗宁政,等.检验室内质控网络信息系统的开发与应用[J].国际检验医学杂志,2008,29(11):1035-1037.

[4] 侯振江.加强标本质控 预防医疗纠纷[J].国际检验医学杂志,2009,30(10):1030-1031.

[5] 中华人民共和国卫生部.医疗机构临床实验室管理办法[R].北京:中华人民共和国卫生部,2006.

[6] 李建军,魏侠.乙肝病毒五项血清标志物定值质控血清的制备及临床应用[J].现代检验医学杂志,2009,24(2):155-157.

[7] 李金明,王露楠,邓巍,等.建立定性免疫测定中假阳性监测的室内质控方法[J].中华检验医学杂志,2006,29(2):173-176.

[8] 黎卓华,李郑,王希平,等.自制类风湿因子质控品的应用及其质量的监控作用评价[J].国际检验医学杂志,2007,28(9):860-861.

[9] 许华斌,李媛媛.血细胞质控品开封后的稳定性研究[J].国际检验医学杂志,2009,30(5):456-458.

[10] 陆兵,谢英华,汤国营,等.重组人表皮生长因子的稳定性[J].生物技术通讯,2001,12(3):194-197.

(收稿日期:2011-12-13)

某型号生化分析仪 β₂-微球蛋白测定精密度评价

蒋红君¹,蒋杰¹,王凡¹,梅丽春²

(1.云南省第一人民医院检验科,云南昆明 650032;2.云南省昭通市第一人民医院检验科 657000)

摘要:目的 评价采用日本生研试剂在雅培 ci16200 全自动生化分析仪检测 β₂-微球蛋白(β₂MG)的精密度。方法 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)文件 EP5-A2,以 RANDOX 高、低水平质控血清作为试验样品,进行精密度评价。结果 以变异系数(CV)表示不精密度,低值质控血清批内、批间、日间及总 CV 分别为 1.57%、1.75%、0.38%、2.39%;高值质控血清分别为 0.18%、0.73%、0.21%、1.07%。高、低水平质控血清批内、批间、日间 CV 均小于基于生物学变异确定允许总误差的 1/4 (2.25%),总 CV 均小于允许总误差(3%),低于试剂厂商声明的总变异(7.0%);批内与总精密度比较差异无统计学意义(P>0.05)。结论 使用日本生研试剂在雅培 ci16200 生化分析仪检测 β₂MG 精密度良好,能满足临床实验室检测要求。

关键词:β₂-微球蛋白; 精密度; 质量控制

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)05-0590-02

根据医学实验室认可国际标准《医学实验室质量和能力认可准则(ISO15189)》^[1]和《医疗机构临床实验室管理办法》^[2]的要求,检测系统用于常规工作前,应对其分析性能进行验证确认或分析评价,证实其能否满足要求。精密度是检测系统主要分析性能之一,更是进行其他性能评价的基础^[3]。美国临床和标准化协会(CLSI)文件 EP5-A2 是临床化学设备和检测系统精密度评价的常用标准^[4]。临床实验室在将新仪器或新试剂投入临床使用前需对检测系统进行性能评价,首先即精密度

性能评价。笔者依据 EP5-A2 文件要求,对雅培 ci16200 全自动生化分析仪检测 β₂-微球蛋白(β₂MG)的精密度进行了评价,现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 美国雅培 ci16200 全自动生化分析仪,方法为免疫增强速率比浊法;日本生研 β₂MG 检测试剂(批号:359121)及配套校准品(批号:330041)、质控品(批号:299021,包含高、低浓度质控品)。以 RANDOX 低值(批号:795EC)、高