

• 论 著 •

# 区域化多实验室倍比稀释室间比对结果分析\*

王玉兰<sup>1</sup>, 宗春辉<sup>2</sup>, 王远忠<sup>3</sup>, 李刚<sup>4</sup>, 郭廷<sup>5</sup>, 付汝坤<sup>1</sup>

(1. 日照国际旅行卫生保健中心, 山东日照 276800; 2. 泰安国际旅行卫生保健中心, 山东泰安 271000; 3. 济南国际旅行卫生保健中心, 山东济南 250000; 4. 济宁国际旅行卫生保健中心, 山东济宁 272000; 5. 潍坊国际旅行卫生保健中心, 山东潍坊 261000)

**摘要:**目的 探讨倍比稀释室间比对活动对区域化多实验室检测结果一体化进行监控的有效性。方法 以人类免疫缺陷病毒抗体(anti-HIV)、丙型肝炎病毒抗体(anti-HCV)、梅毒特异性抗体(anti-TP)酶联免疫吸附试验(ELISA)为试验对象,将倍比稀释法应用于济南区域化多实验室免疫学室间比对活动之中,对获得的数据进行汇总、分析。结果 除个别实验室个别检测项目检测结果出现问题,参与比对的济南、济宁、日照、潍坊、泰安等 5 个实验室几乎所有检测项目总阳性率和基础试验结果比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),重复检测结果在基础试验梯度区间内或与基础试验梯度区间一致,比对取得满意结果。结论 传染病血清学倍比稀释室间比对活动可以发挥对区域化多实验室检测结果一体化进行有效监控的作用。

**关键词:**区域化多实验室; 倍比稀释; 比对活动

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)02-0168-04

## Analysis for doubling dilution comparison activities results of regional multi-laboratories\*

Wang Yulan<sup>1</sup>, Zong Chunhui<sup>2</sup>, Wang Yuanzhong<sup>3</sup>, Li Gang<sup>4</sup>, Guo Ting<sup>5</sup>, Fu Rukun<sup>1</sup>

(1. Rizhao International Travel Healthcare Center, Rizhao, Shandong 276800, China; 2. Taian International Travel Healthcare Center, Taian, Shandong 271000, China; 3. Jinan International Travel Healthcare Center, Jinan, Shandong 250000, China; 4. Jining International Travel Healthcare Center, Jining, Shandong 272000, China; 5. Weifang International Travel Healthcare Center, Weifang, Shandong 261000, China)

**Abstract: Objective** To discuss the effectiveness of monitoring the regional multi-laboratories integration of test results by doubling dilution comparison activities. **Methods** Enzyme linked immunosorbent assay detecting antibody of human immunodeficiency virus (anti-HIV), antibody of hepatitis c virus(anti-HCV), antibody of treponema pallidum(anti-TP) was objects in this study. Doubling dilution method was applied to comparison activities for infectious serology test item in Jinan regional multi-laboratories. **Results** Except for few test item showed problem, there were no significant differences on total positive rate between the results of the five laboratories and the basic test( $P>0.05$ ), the repeated test results were within or the same as the gradient interval of basic test. **Conclusion** Infectious serology doubling dilution comparison activities could play an important role in monitoring the test results integration of regional multi-laboratories.

**Key words:** regional multi-laboratories; doubling dilution; comparison activities

区域化多实验室具有各实验室间地点分散,地域距离较远的特点,但作为捆绑认证认可的有机整体,区域化多实验室之间的结果应具有有一致性,如何保证区域化多实验室检测结果一体化是区域化多实验室管理体系运行的意义和核心<sup>[1]</sup>。本文通过对济南区域化多实验室 2014 年组织开展的传染病血清学倍比稀释室间比对活动结果进行统计分析,探讨建立一种对区域化多实验室检测结果一体化进行有效监控的方法,进一步提升捆绑认证认可实验室的管理体系运行水平和检测技术能力,现报道如下。

### 1 材料与方 法

**1.1 试验项目** 传染病血清学检测项目包括人类免疫缺陷病毒抗体(anti-HIV)、丙型肝炎病毒抗体(anti-HCV)、梅毒特异性抗体(anti-TP)酶联免疫吸附试验(ELISA)。

**1.2 标本来源** 共计 3 个检测项目,每个检测项目对应 2 个测试盲样,编号分别为 1、2 号,均为康彻思坦公司生产的定值质控血清标准品,anti-HIV 的浓度分别为 4、8 NCU/mL; anti-HCV 的浓度分别为 2、4 NCU/mL; anti-TP 的浓度分别为 2、4

NCU/mL。

**1.3 基础试验** 依据济南区域化多实验室开展传染病血清学 ELISA 检测所用试剂情况,由专门的技术人员对每个盲样倍比稀释后,进行酶联免疫吸附试验(ELISA)检测,anti-HIV 用生物梅里埃(上海)试剂进行检测,anti-HCV 用上海科华、上海荣盛、英科新创 3 种试剂进行检测; anti-TP 用上海科华和英科新创 2 种试剂进行检测,试验重复 10 遍。

**1.4 检测方法** 将标本按照血清样品运输管理规定<sup>[2]</sup>,连同测试盲样一起快递冷藏运输至各个实验室。由各实验室按照《2014 年传染病血清学检测室间比对活动作业指导书》要求进行操作。各实验室收到测试盲样后对每一个测试盲样用 0.9% 的生理盐水进行 10 个梯度的倍比稀释(1:1 原倍、1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128、1:256 和 1:512)后进行常规 ELISA 检测,试验重复 3 遍。

**1.5 统计学处理** 梯度统计至全部试剂出现全部阴性结果的梯度为止,采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理与统计学分析。计量资料以  $n$  或率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。

\* 基金项目:山东出入境检验检疫局基金项目(SK201310)。 作者简介:王玉兰,女,主管检验师,主要从事实验室管理研究。

2 结 果

2.1 anti-HIV 比对结果分析

2.1.1 总阳性率比较 2 个测试盲样用生物梅里埃(上海)试剂进行倍比稀释后 ELISA 检测,基础试验显示总阳性率为

64.29%。济南、济宁、日照、泰安实验室的总阳性率均为 66.67%,与基础试验之间比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.04, P>0.05$ );潍坊实验室总阳性率为 71.43%,与基础试验之间比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.37, P>0.05$ )。见表 1。

表 1 anti-HIV 倍比稀释总阳性率比较

实验室	1:1		1:2		1:4		1:8		合计		
	阳性(n)	测试(n)	总阳性率(%)								
基础试验	20	20	18	20	7	20	0	10	45	70	64.29
济南	6	6	5	6	3	6	0	3	14	21	66.67
潍坊	6	6	6	6	3	6	0	3	15	21	71.43
济宁	6	6	5	6	3	6	0	3	14	21	66.67
日照	6	6	6	6	2	6	0	3	14	21	66.67
泰安	6	6	5	6	3	6	0	3	14	21	66.67

2.1.2 梯度区间比较 基础试验均出现全部阳性结果至全部阴性结果的梯度区间。在参加比对的 5 个实验室中,检测盲样编号 1 时,济南、济宁、泰安 3 个实验室,检测盲样编号 2 时,日照实验室 3 次重复检测结果与基础试验梯度区间一致,其他实验室 3 次重复检测结果在基础试验梯度区间内。见表 2。

率为 71.79%,与基础新创试验之间比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.43, P>0.05$ );日照和泰安实验室总阳性率为 69.23%,与基础新创试验之间比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.95, P>0.05$ )。见表 3。

2.2 anti-HCV 比对结果分析

2.2.1 总阳性率比较 2 个测试盲样用上海科华、上海荣盛与英科新创试剂进行倍比稀释后 ELISA 检测,基础试验显示 3 种试剂总阳性率分别为 46.92%、60.77%和 76.92%,总阳性率之间比较差异有统计学意义( $\chi^2=24.77, P<0.05$ ),两两比较显示上海科华与上海荣盛( $\chi^2=5.01, P<0.05$ )、上海科华与英科新创( $\chi^2=24.81, P<0.05$ )、上海荣盛与英科新创( $\chi^2=7.91, P<0.05$ )总阳性率之间比较差异均有统计学意义。用科华试剂进行检测的济南实验室总阳性率为 53.85%,与基础科华试验之间比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.58, P>0.05$ )。用荣盛试剂进行检测的潍坊实验室总阳性率为 64.10%,与基础荣盛试验之间比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.14, P>0.05$ )。用新创试剂进行检测的济宁实验室总阳性

表 2 anti-HIV 倍比稀释梯度区间比较

测试盲样编号	实验室	全部阳性结果	全部阴性结果
		最高稀释梯度	最低稀释梯度
1	基础试验	1:1	1:4
	济南	1:1	1:4
	潍坊	1:2	1:4
	济宁	1:1	1:4
	日照	1:2	1:4
	泰安	1:1	1:4
2	基础试验	1:2	1:8
	济南	1:4	1:8
	潍坊	1:4	1:8
	济宁	1:4	1:8
	日照	1:2	1:8
	泰安	1:4	1:8

表 3 anti-HCV 倍比稀释总阳性率比较

实验室	1:1		1:2		1:4		1:8		1:16		1:32		1:64		合计		
	阳性(n)	测试(n)	总阳性率(%)														
基础科华	20	20	20	20	15	20	6	20	0	20	0	20	0	10	61	130	46.92
基础荣盛	20	20	20	20	20	20	13	20	6	20	0	20	0	10	79	130	60.77
基础新创	20	20	20	20	20	20	20	20	15	20	5	20	0	10	100	130	76.92
济南科华	6	6	6	6	6	6	3	6	0	6	0	6	0	3	21	39	53.85
潍坊荣盛	6	6	6	6	6	6	5	6	2	6	0	6	0	3	25	39	64.10
济宁新创	6	6	6	6	6	6	6	6	3	6	1	6	0	3	28	39	71.79
日照新创	6	6	6	6	6	6	6	6	3	6	0	6	0	3	27	39	69.23
泰安新创	6	6	6	6	6	6	6	6	3	6	0	6	0	3	27	39	69.23

2.2.2 梯度区间比较 2 个测试盲样用上海科华、上海荣盛与英科新创试剂进行倍比稀释后进行 ELISA 检测,基础试验

均出现全部阳性结果至全部阴性结果的梯度区间,并且 3 种试剂对应梯度区间不同。在参加比对的 5 个实验室中,3 次重复

检测结果与基础试验梯度区间一致或在基础试验梯度区间内。见表 4。

2.3 anti-TP 比对结果分析

2.3.1 总阳性率比较 2 个测试盲样用上海科华和英科新创试剂进行倍比稀释后 ELISA 检测,基础试验显示 2 种试剂总阳性率分别为 75.45% 和 71.82%,总阳性率之间比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.37, P>0.05$ )。用科华试剂进行检测的济南实验室总阳性率为 96.97%,与基础科华试验之间比较差异有统计学意义( $\chi^2=7.46, P<0.05$ );潍坊实验室总阳性率为 81.82%,与基础科华试验之间比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.58, P>0.05$ )。用新创试剂进行检测的济宁实验室总阳性率为 72.73%,与基础新创试验之间比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.98, P>0.05$ );日照和泰安实验室总阳性率为 81.82%,与基础新创试验之间比较差异无统计学意义( $\chi^2=1.32, P>0.05$ )。见表 5。

2.3.2 梯度区间比较 2 个测试盲样用上海科华和英科新创试剂进行倍比稀释后 ELISA 检测,基础试验均出现全部阳性结果至全部阴性结果的梯度区间,并且 2 种试剂对应梯度区间相同。在参加比对的实验室中,用科华试剂进行检测的济南实验室 2 个测试盲样 3 次重复检测,检测结果不在基础科华试验梯度区间内;在参加比对的其余 4 个实验室中,有的实验室 3 次

重复检测结果与基础试验梯度区间一致,有的实验室 3 次重复检测结果在基础试验梯度区间内。见表 6。

表 4 anti-HCV 倍比稀释梯度区间比较

测试盲样编号	实验室	全部阳性结果		全部阴性结果	
		最高稀释梯度	最低稀释梯度	最高稀释梯度	最低稀释梯度
1	基础科华	1:2	1:8		
	基础荣盛	1:4	1:16		
	基础新创	1:8	1:32		
	济南科华	1:2	1:8		
	潍坊荣盛	1:4	1:16		
	济宁新创	1:8	1:16		
	日照新创	1:8	1:16		
	泰安新创	1:8	1:16		
	2	基础科华	1:4	1:16	
基础荣盛	1:8	1:32			
基础新创	1:16	1:64			
济南科华	1:8	1:16			
潍坊荣盛	1:8	1:32			
济宁新创	1:16	1:64			
日照新创	1:16	1:32			
泰安新创	1:16	1:32			

表 5 anti-TP 倍比稀释总阳性率比较

实验室	1:1		1:2		1:4		1:8		1:16		1:32		合计		总阳性率 (%)
	阳性 (n)	测试 (n)													
基础科华	20	20	20	20	20	20	16	20	7	20	0	10	83	110	75.45
基础新创	20	20	20	20	20	20	13	20	6	20	0	10	79	110	71.82
济南科华	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	2	3	32	33	96.97
潍坊荣盛	6	6	6	6	6	6	3	6	3	6	0	3	27	33	81.82
济宁新创	6	6	6	6	6	6	6	6	0	6	0	3	24	33	72.73
日照新创	6	6	6	6	6	6	6	6	3	6	0	6	27	33	81.82
泰安新创	6	6	6	6	6	6	6	6	3	6	0	6	27	33	81.82

表 6 anti-TP 倍比稀释梯度区间比较

测试盲样编号	实验室	全部阳性结果		全部阴性结果	
		最高稀释梯度	最低稀释梯度	最高稀释梯度	最低稀释梯度
1	基础科华	1:4	1:16		
	基础新创	1:4	1:16		
	济南科华	1:16	1:32		
	潍坊荣盛	1:8	1:16		
	济宁新创	1:8	1:16		
	日照新创	1:8	1:16		
	泰安新创	1:4	1:16		
	2	基础科华	1:8	1:32	
基础新创	1:8	1:32			
济南科华	1:16	1:64			
潍坊荣盛	1:16	1:32			
济宁新创	1:8	1:16			
日照新创	1:16	1:32			
泰安新创	1:16	1:32			

3 讨论

本研究在济南区域化多实验室间组织实施的传染病血清学 ELISA 检测室间比对活动,以传染病血清学抗体为研究对象,首次尝试倍比稀释方法在室间比对活动中的应用,共有 5 家实验室参加了此次室间比对活动。比对活动取得了理想效果,从总阳性率检出和梯度区间两个方面进行统计分析,能够及时发现实验室日常检测过程中存在的问题,对区域化多实验室检测结果一体化起到了有效监控的作用。

本次比对活动取得成功的原因主要有如下几点:(1)倍比稀释室间比对活动组织保障。为了保证此次室间比对活动的顺利组织实施,济南区域化多实验室专门成立了质管办,由质管办的技术人员负责此次室间比对活动的沟通协调、组织实施、样品制备、基础试验、样品分发、数据分析及汇总反馈等工作,质管办对此次倍比稀释室间比对活动的顺利完成提供了有力的组织保障。(2)倍比稀释室间比对活动样品保证。为了保证测试盲样多样性和来源的稳定性,在此次样品制备过程中选取市售不同浓度的定值质控血清标准品;为了(下转第 173 页)

既往支原体感染的治疗多选用大环内酯类及一些喹诺酮类药物,但近年来,随着非淋菌性阴道炎发病率的逐年增加及抗菌药物的不合理应用,Uu 和 Mh 的耐药菌株日益增多,并出现多重耐药现象,给临床治疗带来困难。有研究报道,Uu 和 Mh 对过去广泛使用的四环素类耐药率高达 80%~90%,但耐药菌株对新一代半合成四环素类如米诺环素仍敏感,但存在较大的时间和地区差异<sup>[6]</sup>。对氟喹诺酮类的耐药率一般都在 40%左右<sup>[7]</sup>。对大环内酯类耐药率各地区报道不一致。本研究结果显示,Uu、Mh 以及 Uu 与 Mh 混合感染对 12 种常用抗菌药物大多存在着不同程度的耐药,与国外文献报道基本一致<sup>[8-9]</sup>。Uu、Mh 以及 Uu 与 Mh 混合感染,对交沙霉素、多西环素、米诺环素均显示出较高的敏感度,而对喹诺酮类均出现了较高的耐药性。Uu 对多数抗菌药物敏感度明显高于 Mh,Uu 与 Mh 混合感染后耐药性升高并发生耐药谱变化。因此经验性地选择抗菌药物治疗非淋菌性阴道炎似乎欠妥,临床上应同时进行 Uu 和 Mh 的检测,并根据药敏结果来指导临床合理用药。本研究结果表明,多西环素、米诺环素和交沙霉素可以作为临床经验治疗支原体感染的首选药物;单纯的 Uu 感染还可以考虑选择使用克拉霉素、环脂红霉素等。喹诺酮类抗菌药物敏感度最低,均低于 50.0%,估计与近年来该类抗菌药物使用率过高有关;大环内酯类抗菌药物中,临床常用的红霉素产生了 85.5%的耐药率,而使用较少的交沙霉素仍具有很好的抗菌活性。

随着易患人群的增加和检测水平的提高,支原体感染率上升较快,支原体合并其他病原体感染的情况也屡见不鲜,不利于临床的彻底治愈。由于各种病原体对抗菌药物的敏感度不同,而临床上并不常规对多种病原体同时进行检测,常造成女性生殖道疾病的经久不愈、反复发作。鉴于此现状,作者建议临床上有必要对女性生殖道感染患者进行多种病原体检测,并在治疗中注意混合感染及耐药菌的出现等问题,定期发布本地

区支原体的流行和耐药情况报告,为支原体感染的临床诊断和治疗提供参考依据。

## 参考文献

- [1] 谢明水,晏文强,熊建华. 女性泌尿生殖道感染支原体的耐药性监测分析[J]. 中华医院感染学杂志,2008,18(3):443-444.
- [2] 刘厚能,詹能勇. 2004-2008 年泌尿生殖道支原体感染流行病学及耐药性变异分析[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(4):329-331.
- [3] Gupta V, Dhawan B, Khanna N, et al. Detection and biovar discrimination, *ureaplasma urealyticum* in Indian patients with genital tract infection[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2008, 60(1):95-97.
- [4] 蓝惠华,张国强. 阴道分泌物支原体检出率与清洁度的关系[J]. 职业与健康,2012,28(2):185-186.
- [5] 倪语星,尚红. 临床微生物学与检验[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2007.
- [6] 卞瑞玲,刘安保. 泌尿生殖道支原体感染临床耐药性分析[J]. 中国皮肤性病学杂志,2005,19(1):35-36.
- [7] 蔡川川,杨日东,陈绍谦,等. 广州地区女性泌尿生殖道感染者解脲脲原体体外耐药变化的研究[J]. 中国皮肤性病学杂志,2005,19(5):279-280.
- [8] Domingues D, Taavora TL, Duarte A, et al. Genital mycoplasmas in women attending a family planning clinic in Guine-Bissau and their susceptibility to antimicrobial agents[J]. *Acta Trop*, 2003, 86(1):19-24.
- [9] Waites KB, Crabb DM, Bing X, et al. In vitro susceptibilities to and bactericidal activities of garenoxacin (BMS-284756) and other antimicrobial agents against human mycoplasmas and ureaplasmas [J]. *Antimicrob Agents CH*, 2003, 47(1):161-165.

(收稿日期:2014-11-15)

(上接第 170 页)

确保测试盲样分装的稳定性与均一性,在样品的制备过程中指定一名经过技术培训可以胜任此项工作的技术人员进行样本的统一制备与分装。(3)倍比稀释室间比对活动结果分析。在此次倍比稀释室间比活动中,针对不同的检测项目,参加比对的实验室存在使用不同厂家的检测试剂进行检测的情况,基础试验显示 anti-HCV 三种厂家的总阳性率比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),出现全部阳性结果至全部阴性结果的梯度区间明显不同;anti-TP 两种厂家的总阳性率比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),出现全部阳性结果至全部阴性结果的梯度区间相同。因此倍比稀释室间比活动中应该依据不同检测试剂的基础试验结果对各室检测结果进行综合分析判断。(4)倍比稀释室间比多活动结果监控。目前传染病血清学 ELISA 检测项目在实验室内多采用全自动酶标仪进行检测,整个试验过程全由检测设备自动完成,工作人员对全自动仪器的依赖性增长,而自身的手工操作能力却在下降。此次倍比稀释室间比活动前期的样品倍比稀释过程是对工作人员手工操作能力进行监控,后期的常规 ELISA 检测是对工作人员规范操作实验室仪器设备能力进行监控,对保证区域化多实验室检测结果一体化起到了全面的监控作用。(5)倍比稀释室间比多活动监控整改。在此次倍比稀释室间比活动中对出现不满意结果

的实验室要求其针对出现的不满意情况实施原因分析<sup>[3-5]</sup>,如有的实验室测试盲样结果出现偏离,原因是倍比稀释手法操作存在问题,初始生理盐水加样量不足引起的检测结果偏高,实验室能够针对结果偏离的原因制定相应的整改措施实施有效整改,对区域化多实验室检测结果一体化起到了监控整改的作用。

## 参考文献

- [1] 王玉兰,王远忠,李刚,等. 区域化多实验室质量管理体系一体化运行探讨[J]. 口岸卫生控制,2014,19(1):1-3.
- [2] 中国疾病预防控制中心. WS293-2008 艾滋病和艾滋病病毒感染诊断标准 [S]. 北京:人民出版社,2008.
- [3] 赵素娟,穆效群,熊晓燕. 常见能力验证/实验室比对不满意结果原因分析[J]. 首都公共卫生,2011,5(4):188-189.
- [4] 张进京. 能力验证不满意结果原因分析方法研究[J]. 中国认证认可,2011,18(1):58-59.
- [5] 周崇,黎张雷. 常见能力验证不满意结果原因分析及对策[J]. 现代测量与实验室管理,2013,21(3):38-39.

(收稿日期:2014-12-10)