

· 论 著 ·

## ELISA 法检测乙肝五项室内质控品的自主研发\*

刘玉军<sup>1</sup>, 吴田明<sup>1</sup>, 暴晓丽<sup>1</sup>, 高 慧<sup>1</sup>, 杨红梅<sup>1</sup>, 韩 慧<sup>1</sup>, 王永锋<sup>2△</sup>

(1. 神木县医院检验科, 陕西神木 719300; 2. 西安医学院附属医院检验科, 陕西西安 710077)

**摘要:**目的 自主研发酶联免疫吸附法(ELISA 法)检测乙型病毒性肝炎(简称“乙肝”)五项室内质控品。方法 将 ELISA 法检测乙肝五项阳性的血清进行最佳比例稀释, 自制室内质控品。结果 自制质控品与商品质控品同时以 ELISA 法检测, 对其各项检测结果进行比较, 二者比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 自制质控品以 ELISA 法连续检测, 其批间变异小于 15%, 稳定性符合要求。结论 自主研发的乙肝五项室内质控品制作简单, 稳定性良好, 控制效果满意, 具有推广价值。

**关键词:**酶联免疫吸附法; 室内质控品; 自主研发

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.15.038

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)15-2216-02

## Independent research and development of hepatitis B five internal quality control products by the detection of ELISA\*

Liu Yujun<sup>1</sup>, Wu Tianming<sup>1</sup>, Bao Xiaoli<sup>1</sup>, Gao Hui<sup>1</sup>, Yang Hongmei<sup>1</sup>, Han Hui<sup>1</sup>, Wang Yongfeng<sup>2△</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Shenmu County Hospital, Shenmu, Shaanxi 719300, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an, Shaanxi 710077, China)

**Abstract: Objective** To use ELISA detecting self-developed hepatitis B five internal quality control products. **Methods** Hepatitis B five positive sera by the detection of ELISA were diluted through optimal ratio, and were homemade indoor quality control materials. **Results** Self-control materials and commodities were simultaneously detected by ELISA, and the test results were compared, the two were no significant difference ( $P > 0.05$ ); Self-control materials continuously detected by ELISA, its batch variation were less than 15%, and stability was in line with the requirements. **Conclusion** Self-developed hepatitis B five indoor quality control materials are made simply, have good stability, are satisfied control effect, and have promotional value.

**Key words:** enzyme-linked immuno sorbent assay; interior quality control materials; independent research and development

中国是乙型病毒性肝炎(简称“乙肝”)的高发病国家, 据临床流行病学调查, 人群发病率较高, 人群表面抗原携带率约 15%<sup>[1]</sup>。目前, 大部分医疗机构对乙肝的诊断, 主要依赖于酶联免疫吸附法(ELISA 法)检测乙肝五项病毒标志物。ELISA 法是最常用的乙肝诊断和筛选技术, 至今使用已近 30 年<sup>[2]</sup>。因该方法具有操作方便、简单, 灵敏度较高、特异性较强的优点, 故而在临床上应用较为广泛。但该方法影响因素较多, 操作中的各环节对试验的检测结果皆有一定影响, 所以应加强分析全程质量管理工作。室内质控作为分析全程质量管理工作的关键环节, 对分析全程质量管理成败起较大影响作用。室内质控能否达到预想中的效果关键看质控品的质量, 目前普遍使用的质控品大多数是商业购买所得, 质量虽能保证, 但价格昂贵, 使用周期短, 这为制作完整质控图带来困难<sup>[3]</sup>。为了强化室内质控, 确保检测结果的准确性, 笔者特研制了制作简单、稳定性强、使用效果满意的室内质控品, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 阳性血清来源** 收集本科免疫室以 ELISA 法检测结果为乙肝表面抗原(HBsAg)、乙肝 e 抗原(HBeAg)、乙肝核心抗体(HBcAb)三项同时阳性(大三阳)标本若干份混合后平均分为三份, 各自标记, 作为制备 HBsAg、HBeAg、HBcAb 三项质控品的原始血清, 收集乙肝表面抗体(HBsAb)单项阳性的血清若干份混合后标记, 作为制备 HBsAb 质控品的原始血清, 收集有乙肝 e 抗体(HBeAb)阳性的血清若干份混合后标记, 作为制备 HBeAb 质控品的原始血清。将各项原始血清进行

60 °C 加热 1 h 灭活<sup>[4]</sup>后, 保存于一 20 °C 备用。

**1.2 仪器与试剂** 酶标分析仪(Rayto RT-6100)、洗板机(Rayto RT-3100); 乙肝五项诊断试剂(山东三维); 商品质控品(厦门新创); 灭菌 0.85% NaCl 溶液(自配)。

**1.3 制备方法** 将各项原始血清复融后, 对 HBsAg 项目, 以灭菌 0.85% NaCl 溶液按 1:500、1:750、1:1000、1:1250、1:1500 等比例进行稀释, 其余四项按 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 等比例进行稀释, 稀释后用 ELISA 法对各项各稀释度进行检测以确定最佳稀释度(最佳稀释度以其检测结果的 S/CO 值进行判断, HBsAg、HBsAb、HBeAg 三项以 S/CO 值 2~4 为最佳稀释度, HBeAb、HBcAb 两项以 S/CO 值 0.25~0.5 为最佳稀释度)。最佳稀释度确定后, 根据本室用量将各项分别配置够 1 年的用量, 用 0.1% 的硫柳汞防腐<sup>[5]</sup>, 充分混合后分装于小离心管内, 于一 20 °C 保存。

**1.4 检测方法** 将自制质控品、商品质控品和常规样本一起用 ELISA 法进行检测, 连续 6 个月, 对自制质控品和商品质控品的检测结果进行比较, 以观察其有效性。将自制质控品与常规样品一起检测, 连续 1 年, 对检测结果进行分析, 以观察其稳定性。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS15.0 软件分析数据, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两种质控品各项检测结果比较采用 *t* 检验分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 两种质控品比较** 自制乙肝五项质控品与商品乙肝五项

\* 基金项目: 神木县重点科技计划项目(神科字[2013]25 号-5)。

作者简介: 刘玉军, 男, 主管技师, 主要从事临床免疫学检验研究。

△ 通讯作者: E-mail: 2622362664@qq.com。

质控品同时以 ELISA 法检测 6 个月,其检测结果比较见表 1。

表 1 自制质控品与商品质控品的检测结果比较

项目	HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBeAb
自制(S/CO, $\bar{x} \pm s$ )	3.2 ± 0.40	3.1 ± 0.37	2.9 ± 0.41	0.4 ± 0.06	0.42 ± 0.06
自制 CV(%)	12.5	12.0	14.0	15.0	14.3
商品(S/CO, $\bar{x} \pm s$ )	3.3 ± 0.41	3.0 ± 0.36	3.0 ± 0.42	0.41 ± 0.06	0.42 ± 0.06
商品 CV(%)	12.4	12.0	14.0	14.6	14.6
t	0.931	0.873	0.784	0.751	1.000
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

2.2 自制质控品稳定性 连续检测 1 年,除 HBeAb CV 批间变异等于 15%,其余批间变异皆小于 15%。

### 3 讨论

ELISA 法是一种传统的免疫学检测方法,该方法所需仪器简单、试剂成本低,在各级医疗机构尤其是基层医疗机构有较强的实用性。该方法是目前检测乙肝病毒标志物的首选和常用方法。

ELISA 法为定性试验,应具有灵敏度高、特异性好的特点。但操作中的各环节对试验的检测结果影响较大,如标本采集与处理、加样、孵育、洗板、显色、终止、比色及结果的判读,如不注意可导致假阳性或假阴性结果<sup>[6]</sup>。因此必须加强分析全程质量管理尤其要加强室内质控,室内质控对提高检测质量起了一定的作用<sup>[7]</sup>,建立室内质控非常重要<sup>[8-9]</sup>。

在室内质控环节中,质控品的质量极为重要,直接关系到室内质控结果的好坏。目前大多数医疗机构所用室内质控品为商业购买所得,价格昂贵,使用周期短,严重影响质控的可操作性<sup>[10]</sup>。在一些偏僻的基层医疗机构,商品质控品甚至无法买到,致使室内质控无法开展,检验结果准确性不能保证。为此,自主研发简便、经济、重复性、稳定性好的乙肝五项医疗机构自用质控品,是一件非常必要的事情。

本研究本着节约医疗成本,提高检验质量之目的,自主研发乙肝 5 项室内质控品。由表 1 中可见,自制质控品的 5 个项目和商品质控品的 5 个项目在使用效果上差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。而且自制质控品使用周期长,制备简单,成本低廉,避免了商品质控品价格昂贵,使用周期短,批号频繁更替而经常需要重新累积质控数据造成检测成本偏高的缺点。

有报道,稳定性是质控品最重要的特性,如果质控品缺乏应有的稳定性,就失去了做质控品的意义<sup>[11]</sup>,自制质控品连续检测 1 年,5 个项目其批间变异(CV%)除 HBeAb 为 15.0%外,其余皆小于 15%。符合目前行业公认的批间变异(CV%)小于或等于 15%的要求。

综上所述,自主研发之乙肝五项室内质控品,无论是有效性,还是稳定性皆符合临床和相关行业标准要求,而且制作方法简单、操作方便、成本低廉、性能优越,具有一定的临床推广价值。

### 参考文献

- [1] 陈慧英,张锦峰,岑小鹏,等. ELISA 检测乙型肝炎 HBsAg 室内质控血清的试剂和使用[J]. 上海检验医学杂志,2000,15(4):203-206.
- [2] 陶义训. 免疫学和免疫学检验[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:143-145.
- [3] 王丽,朱立苇,徐宵勤,等. 4 项复合 ELISA 室内质控品制备方法的建立和评估[J]. 中国输血杂志,2011,24(6):488-489.
- [4] 方裕森,翁雪芬,叶靖,等. 乙肝表面抗原室内质控血清的研制[J]. 实用医技杂志,2008,15(7):819-820.
- [5] 樊冬碧,唐小兰. HBsAg 室内质控品的制备和应用[J]. 检验医学与临床杂志,2011,8(9):1033-1036.
- [6] 龙聪. 酶联免疫吸附法测乙肝两对半的注意事项[J]. 基层医学论坛,2008,12(7):245.
- [7] 方裕森,叶靖,翁雪芬,等. 灭活法研制乙肝表面抗原室内质控血清[J]. 河北医学,2009,15(4):402-404.
- [8] 范秀芹,林凌云,岳志鹏,等. ELISA 测定 HBsAg 室内质控问题探讨[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2002,89-92.
- [9] 李金明,王露楠,徐锡霞,等. 室内质量控制对乙肝表面抗原测定准确度的影响[J]. 中华检验医学杂志,2001,24(4):255.
- [10] 卞茂红,张循善,杨鹏,等. HBsAg、抗-HCV、抗-TP 混合室内质控物的制备和应用[J]. 安徽医科大学学报,2004,39(5):402-404.
- [11] 芮桥安. 血清免疫实验室弱阳性室内质控血清的制备及应用[J]. 昆明医学院学报,2012,20(1):296-297.

(收稿日期:2015-03-18)

(上接第 2215 页)

and cell-specific expression of GP73 in human liver disease[J]. Am J Gastroenterol,2004,99(6):1087-1095.

- [8] 许文芳,费迎明,周亚娣. 血清 GP73 在肝病患者中的表达水平[J]. 放射免疫学杂志,2012,32(2):190-193.
- [9] 江均昌,周林福. 高尔基体驻膜糖蛋白 73 的研究进展及其与肝癌等疾病的联系[J]. 浙江大学学报:医学版,2012,30(2):215-221.
- [10] Kim HJ, Lv D, Zhang Y, et al. Golgi phosphoprotein 2 in physiology and in diseases[J]. Cell Biosci,2012,20(1):31.

- [11] 黄玉波,李鑫,乔雍,等. N-糖基化修饰蛋白 gp73 与肝硬化患者 Child-Pugh 的关系[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2011,33(4):335-337.
- [12] 杨春玲,夏薇,宋海春,等. 甲胎蛋白联合  $\alpha$ -L-岩藻糖苷酶及高尔基体膜蛋白-73 检测对原发性肝癌的早期诊断价值[J]. 中国实用医刊,2012,39(3):16-17.

(收稿日期:2015-03-17)