

• 论 著 •

乙肝表面抗原室内弱阳性质控物的制备及其应用评价

刘 云,高玲娟[△]

(南京市妇幼保健院检验科,江苏南京 210004)

摘 要:目的 制备长期使用且稳定性好的 HBsAg 室内弱阳性质控血清。方法 以小牛血清磷酸盐缓冲液按不同稀释倍数 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32 等比例梯度稀释 HBsAg 阳性血清;以 2 种厂家提供不同批号的检测试剂,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)双抗体夹心法对 HBsAg 阳性质控血清进行连续 6 个月检测,以此对 HBsAg 阳性质控血清稳定性进行评价。结果 以吸光度值/临界值(S/CO)1.0~3.0 为参考标准,确定该实验室 HBsAg 阳性质控血清的最佳稀释度为 1:8[其 S/CO 值为 2.42,变异系数(CV)为 4.72%];且该质控血清在不同试剂使用稳定性较好(其 S/CO 范围为 2.41~2.82,CV 范围为 4.24%~8.68%);HBsAg 阳性质控血清连续 6 个月检测结果 CV 范围为 8.71%~9.86%(CV<10%)。结论 自制 HBsAg 质控血清具有很好的稳定性和精密度,可作为临床常规 HBsAg 检测中的室内质控血清。

关键词:乙肝表面抗原; 质控血清; 制备

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.14.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)14-1994-02

Preparation and application on hepatitis B surface antisen feeble masculine serum

Liu Yun, Gao Lingjuan[△]

(Department of Clinical Laboratory, Nanjing Maternity and Child Health Care Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210004, China)

Abstract:Objective To prepare the long-term use and good stability of HBsAg feeble masculine serum, and the application of controlling quality for HBsAg. **Methods** The HBsAg positive serum was diluted using calf serum phosphate buffer by grads, multiple to 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32; HBsAg feeble masculine serum was detected by double antibody sandwich method of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using different reagent lot obtained from two companies for continuous six months. **Results** The serum, s diluting multiple which the S/CO, value between 1 to 3 was 1:8, and the S/CO was 2.42, the CV was 4.72%. The serum of quality control possessed a good stability in different detection reagents, the S/CO value range from 2.41 to 2.82, and the CV value was 4.24% to 8.68%. The CV value of HBsAg feeble masculine control serum with 6 months successive detection ranged from 8.71% to 9.86% (CV<10%). **Conclusion** The HBsAg feeble masculine serum possessed good stability and precision which is fit for masculine serum in HBsAg test.

Key words: hepatitis B surface antisen; serum showing feeble masculine; preparation

乙型肝炎是一种高发性传染病,它严重地威胁着人们的身体健康,因此及时、准确地诊断 HBV 感染与否,对乙肝的预防和治疗意义重大^[1]。为提高检验质量,卫生部临床检验中心及全国各地的临床检验中心相继开展了检测 HBsAg 室内质控。进行有效的质量控制,必须使用安全方便、性能可靠的室内质控物^[2]。但目前免疫学检验室内质控物多为商业购买,存在价格昂贵,使用周期短,严重影响质控的可操作性^[3-4]。为此,本实验室试制备了 HBsAg 室内弱阳性质控血清,并对其稳定性进行评价。

1 材料与方 法

1.1 标本的采集和处理 弱阳性质控血清来源采用康彻思坦生物提供的 2 U/mL 标准血清(批号:201109002)作为参考品,用 10%小牛血清磷酸盐缓冲液作为稀释剂,按 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32 等比例对其进行稀释,分别检测 HBsAg,以初步确定其作为低值质控品的最佳稀释度,用 0.01%的硫柳汞防腐,充分混合,无菌分装于微量离心管,于-20℃保存。

1.2 检测试剂 北京万泰生物药业有限公司试剂盒(国药准字 S10980090),上海科华生物工程股份有限公司试剂盒(国药准字 S10910113),检测方法为酶联免疫吸附试验(ELISA),严格按照试剂盒说明书试验流程操作。

1.3 检测仪器 Hamilton 全自动酶免分析仪(瑞士 Hamilton

Bonaduz AG)。

1.4 检测方法 分别检测 5 种不同浓度室内质控血清,连续检测 20 次,对其结果差异性进行比较。再将确定的弱阳性质控血清每天与常规标本一起检测,连续检测 21 d,测定吸光度值(OD)、计算吸光度值/临界值(S/CO)及变异系数(CV)值,评价质控结果。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件对检测结果进行统计分析。

2 结 果

2.1 本文表 1 可见,稀释对照血清 1:8~1:16,测定的 OD 值在 cut-off 值的 1~3 倍内,可作为制备弱阳性质控血清稀释倍数。而依据本实验室实际情况,选定 1:8 作为配制使用比例,其 CV 较小(4.72%),符合室内质控品要求。

2.2 本文表 2 研究结果显示,科华和万泰诊断试剂检测室内质控血清结果比较,其测定结果的 CV 范围为 4.24%~8.68%,说明自制质控物在不同检测试剂使用稳定性较好。

2.3 本表 3 可见,自制 HBsAg 质控血清经过为期半年的稳定性试验,选定 1:8 作为配制使用比例,其 CV<15%,且批间和不同试剂间检测结果差异无统计学意义(P<0.05),表明本批质控血清稳定,精密性均较好。ELISA 试验中使用弱阳性质

控物作图时,用 S/CO 值表示更科学,更精确。

表 1 制备弱阳性质控血清时不同稀释度的结果			
稀释倍数	OD 值($\bar{x}\pm s$)	S/CO 值	
		$\bar{x}\pm s$	CV(%)
1 : 2	0.97±0.03	9.22±0.27	4.44
1 : 4	0.48±0.02	4.53±0.22	6.68
1 : 8	0.25±0.03	2.42±0.21	4.72
1 : 16	0.13±0.02	1.27±0.15	8.50
1 : 32	0.02±0.01	0.21±0.04	23.00

表 2 弱阳性质控血清在不同试剂盒不同批号间的稳定性				
试剂	批号	OD 值($\bar{x}\pm s$)	S/CO 值	
			$\bar{x}\pm s$	CV(%)
科华	201303021	0.274±0.02	2.61±0.14	4.24
	201303031	0.269±0.02	2.56±0.26	8.68
	201303042	0.263±0.01	2.50±0.23	7.73
	201303051	0.282±0.02	2.69±0.19	8.25
万泰	B20130101	0.279±0.02	2.66±0.25	4.53
	B20130102	0.296±0.02	2.82±0.23	8.25
	B20130103	0.253±0.03	2.41±0.28	6.15

表 3 自制质控血清稳定性试验 OD 值和 S/CO 值($\bar{x}\pm s$)				
时间(月份)	次数	OD 值	S/CO 值	
			$\bar{x}\pm s$	CV(%)
3	21	0.32±0.01	3.03±0.18	8.71
4	21	0.32±0.02	3.01±0.24	9.24
5	21	0.32±0.02	3.05±0.21	9.49
6	21	0.33±0.03	3.12±0.24	9.76
7	21	0.31±0.01	2.99±0.26	9.70
8	21	0.32±0.02	3.02±0.25	9.86

3 讨 论

研究表明,通常的 ELISA 测定批间 CV 在 15%左右^[5],故可选择 S/CO 值减去精密度测定中得到的 3 倍批间 CV 与该 S/CO 值的乘积(意即 3 倍 SD)仍大于 1 的质控血清作判断实

实验室检测重复性的室内质控用,同时选择 S/CO 处于 1~3 左右的质控血清以判断每次测定时试剂盒测定下限的有效性^[6-7]。同时自制质控血清时,应注意制备足够的量以维持一定的时间,建议每年制备一次,-70 ℃贮存质控血清^[8]。因此实验室必须长期、稳定地使用一种质量好的试剂盒,有计划地使用同一批试剂盒和弱阳性质控品,以确保检测结果的稳定性和一致性^[9-10]。

本实验室自制的 HBsAg 室内质控血清对系统误差、过失误差、偶然误差等方面起到监控作用。以 HBsAg 弱阳性质控血清进行严格的室内质控,不但可以监测实验室测定的重复性,而且可以反映实验室测定的准确度。其延长了使用周期,并降低了质控成本,对保证 HBsAg 临床检测质量具有重要意义。

参考文献

[1] 王靖,高书钰,张娜. 探讨改变酶联免疫吸附试验条件对 HBsAg 室内质控的影响 [J]. 检验医学与临床,2010,7(8):729-730.

[2] 张艳. 做好室内质控 [J]. 中国实用医药,2011,10(2):243.

[3] 李金明. 临床酶免疫测定技术 [M]. 北京:人民军医出版社,2005:95.

[4] 白雪梅,闪全忠,刘欧,等. 不同方法检测抗梅毒抗体阳性标本的分析 [J]. 临床检验杂志,2007,25(1):96-97.

[5] 倪晓媚,徐成芬,曾永. ELISA 检测 HIV 抗体中临界值质控血清的制备 [J]. 浙江预防医学,2014,26(4):431-432.

[6] 樊冬碧,唐小兰. HBsAg 室内质控物的制备及其应用 [J]. 检验医学与临床,2011,8(9):1033-1034.

[7] 方裕森,叶靖,翁雪芬. 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] 郑怀竞,王彩育,师学江. 全国血站系统乙肝表面抗原检验室间质量评价 [J]. 中国输血杂志,1992,5(4):173-175.

[9] 耽秀凤. ELISA 检测 HBsAg、抗-HCV 的质量控制初探 [J]. 临床输血与检验,2001,3(3):66-68.

[10] 李金明,郑怀竞,王露楠. 乙型肝炎表面抗原定性测定室内质控物浓度的选择方法 [J]. 中华肝脏病杂志,2003,11(2):228-231.

(收稿日期:2015-02-28)

(上接第 1993 页)

压患者早期肾损伤的敏感检测指标[J]. 检验医学与临床,2012,9(14):1697-1698.

[2] Pennemans V, Rigo JM, Faes C, et al. Establishment of reference values for novel urinary biomarkers for renal damage in the healthy population: are age and gender an issue? [J]. Clin Chem Lab Med, 2013, 51(9): 1795-1802.

[3] 陈派强. 血清胱抑素 C 在糖尿病肾功能检测中的意义[J]. 当代医学, 2012, 18(10): 1009-1010.

[4] 江祥林, 宋焰桃. 血清胱抑素 C 在早期肾损伤中的价值[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(5): 583-584.

[5] Mussap M, Dalla-Vestra M, Fioretto P, et al. Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients[J]. Kidney Int, 2002, 61(14): 1453-1461.

[6] 鲜玉萍, 马韬. 尿 mALB/Cr 和尿 NAG/Cr 检测在系统性红斑狼疮患者早期肾损害监测中的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(6): 677-688.

[7] Togashi Y, Miyamoto Y. Urinary cystatin C as a biomarker for diabetic nephropathy and its immunohistochemical localization in

kidney in Zucker diabetic fatty (ZDF) rats [J]. Exp Toxicol Pathol, 2013, 65(5): 615-622.

[8] Sharifiaghdas F, Kashi AH, Eshratkha R. Evaluating percutaneous nephrolithotomy-induced kidney damage by measuring urinary concentrations of beta2-microglobulin[J]. J Urol, 2011, 8(2): 277-282.

[9] 何彪, 张健生, 吴钊坤, 等. 血清 β_2 -微球蛋白、尿微量白蛋白、血清胱抑素 C 在高血压病早期肾损害诊断的意义[J]. 中国医学创新, 2012, 9(1): 9-10.

[10] 廖忠, 钟俊杰, 叶杰, 等. 5 项肾功能指标对高血压早期肾损害的诊断价值评价[J]. 中国医药指南, 2012, 10(1): 21-23.

[11] 朱海燕, 巍宇鹏, 孔繁军, 等. HbA1C、尿 NAG 及 mAlb 与早期糖尿病肾病的关系[J]. 中国厂矿医学, 2007, 20(1): 12-13.

[12] Han WK, Wagener G, Zhu Y, et al. Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2009, 4(5): 873-882.

(收稿日期:2015-02-25)