·论　著·

ELISA 方法筛查 TORCH 感染的质量控制方法探讨

迟绍琴[1]，陈奕微[1]，师宏词[1]，孙宇飞[1]，郑立新[2]
（1. 深圳市龙岗区计划生育服务中心，广东深圳 518172；2. 广东省计划生育科学研究所，广东广州 510000）

摘　要：目的　探讨实验室定性检测 TORCH 感染指标（风疹病毒 IgG、巨细胞病毒 IgG 和 IgM、弓形虫 IgG 和 IgM，简称五项）的室内质量控制方法。**方法**　采用统计学方法，正态分布数据，用 ELISA 方法检测的阳性率比值和标准差，设定 1_{+2s} 为失控规则，绘制半 Lerey-Jennings 质控图；非正态分布数据、小概率事件，则采用直接概率计算法，回顾分析 57 批次的检测数据。**结果**　风疹病毒 IgG 阳性率为 86.66%、巨细胞病毒 IgG/IgM 的阳性率为 98.87%和 0.13%、弓形虫 IgG/IgM 阳性率为 2.43%和 1.71%，五项指标在临界值范围的分别有 151、3、5、176、27 个标本数据。失控次数为巨细胞病毒 IgG 1 次，弓形虫 IgG/IgM 分别是 1 次和 4 次。**结论**　ELISA 定性检测 TORCH 感染指标的室内质控，可以采用日常检测阳性率或阴性率数据监控假阳性。临界值范围的标本应当进一步复检或确认实验。

关键词：酶联免疫吸附试验；定性检测；TORCH；室内质控
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2015.24.017　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2015)24-3550-02

Study on quality control of ELISA method for screening TORCH infection

Chi Shaoqin[1], *Chen Yiwei*[1], *Shi Hongci*[1], *Sun Yufei*[1], *Zheng Lixin*[2]
(1. *Department of Clinical Laboratory, Longgang District Family Planning Service Center, Shenzhen, Guangdong* 518172, *China*; 2. *Guangdong Provincial Research Institute of Family Planning Science, Guangzhou, Guangdong* 510000, *China*)

Abstract: Objective　Onto investigate the indoor quality control method for qualitatively detecting the laboratory indicators of TORCH infection (rubella virus IgG, cytomegalovirus IgG and IgM, toxoplasma IgG and IgM). **Methods**　The statistical method, normal distribution data, ratio and standard deviation of positive rate detected by the ELISA method were adopted, 1_{+2s} was set as the out of control rules, the semi Lerey-Jennings quality control chart was drawn; the direct probability calculation method was adopted for the non-normal distribution data and small probability event. The testing data of 57 batches were retrospectively analyzed. **Results**　The positive rate of rubella virus IgG was 86.66%, cytomegalovirus IgG/IgM positive rates were 98.87% and 0.13%, toxoplasma gondii IgG/IgM positive rates were 2.43% and 1.71%, the data of 151, 3, 5, 176, 27 samples had the critical value range of five indicators. The number of out of control was once for cytomegalovirus IgG, once and 4 times for Toxoplasma gondii IgG/IgM. **Conclusion**　The indoor quality control for the ELISA qualitative detection of TORCH infection can adopt the data of daily detection positive rate or negative rate for monitoring the false positive. The critical value range of specimens should be further conducted the recheck or confirmation experiment.

Key words: enzyme linked immunosorbent assay;　qualitative detection;　TORCH;　indoor quality control

经典的 TORCH 感染在围生医学中称为 TORCH 综合征，是一组以胎儿中枢神经系统受损为主，多器官受累的临床综合征，包括小头畸形、脑积水、脑内钙化、迟发性中枢神经系统障碍、耳聋、白内障、视网膜脉络膜炎、先天性心脏病、肝脾肿大、骨髓抑制、胎儿宫内发育迟缓等，是孕前优生健康检查的常规项目[1]。ELISA 方法定性免疫测定被广泛应用于孕前 TORCH 感染的筛查，然而，关于 TORCH 感染指标（风疹病毒 IgG、巨细胞病毒 IgG 和 IgM、弓形虫 IgG 和 IgM）的室内质控方面，除了做好测定前、后的质量控制外，测定中进口质控品的昂贵，国内还没有合适的质控品，导致此项目的室内质控处于比较尴尬的地步。因此，建立一个室内质控方法，对于甄别实验的假阳性、保证检测质量尤为重要。

1　资料与方法

1.1　一般资料　来源于本实验室 2013 年 4～12 月共 57 批次 ELISA 方法定性检测的 TORCH 感染指标：风疹病毒 IgG、巨细胞病毒 IgG 和 IgM、弓形虫 IgG 和 IgM 阳性或阴性数据。

1.2　方法　ELISA 定性检测 TORCH 试剂盒为德国维润赛润研发有限公司研发，密封的患者样品可在冰箱中 2～8 ℃保存 7 d，小于或等于－20 ℃可保存更久，避免样品反复冻融。已稀释的样品可在 2～8 ℃保存一星期。操作严格按说明书进行。临界值判定标准见表 1。

表 1　临界值判定标准

项目	批号	临界值范围	临界值上限	临界值下限
风疹病毒 IgG	SAC.DZ	10～20 IU/mL	0.613 * PC	0.363 * PC
巨细胞病毒 IgG	SHC.EQ	25～40 PEIU/mL	0.367 * PC	0.244 * PC
	SAD.CM		0.356 * PC	0.253 * PC
巨细胞病毒 IgM	SCD.CX	10～15 U/mL	0.895 * PC	0.701 * PC
	SKC.GG		1.036 * PC	0.824 * PC
弓形虫 IgG	SHC.ET	10～20 IU/mL	0.325 * PC	0.187 * PC
弓形虫 IgM	SMC.CC	450～540 U/mL	0.578 * PC	0.504 * PC

* PC：标准血清 OD 值。

质控规则依据相关文献介绍的方法[2-3]：(1)当阴性质控标本为阳性时，不管阳性率为何，均为失控，所有阳性标本须重新测定，并增加一倍阴性质控标本。(2)如果阴性质控标本为阴性，某次测定阳性比值超出 $\bar{x}+2s$，则为失控，为 $1+2s$ 规则。本次结果，阴性结果根据阳性质控标本的情况，决定是否可以发出，所有阳性标本结果不能发出，需查找出现阳性率增高的

作者简介：迟绍琴，女，主任检验技师，主要从事分子生物诊断学研究。

原因，并在增加一倍阴性质控标本的情况下重新检测。(3)当一个小概率事件发生时，则可能有误差存在，有必要对其发生的原因进行分析。如果出现这种概率，则可判为失控。此方法也同样用于标本间交叉污染的判断。

1.3　统计学处理　采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理，正态分布数据，建立半 Lerey-Jennings 质控图。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结　果

统计分析 ELISA 方法检测 TORCH 感染指标的 57 批次 4 684 份标本。风疹病毒 IgG 的阳性率为 86.66%，其阳性率经 Kolmogorov-Smimov 检验均值为 0.868 7±0.040 9，呈正态分布。巨细胞病毒 IgG 阴性率为 1.13%(阳性率为 98.87%)，巨细胞病毒 IgM 阳性率为 0.13%、弓形虫 IgG 的阳性率为 2.43%，弓形虫 IgM 阳性率 1.71%、差异均有统计学意义($P<0.05$)。五项处于临界值范围的分别有 151、3、5、176、27 个标本数据。

风疹病毒 IgG：以阳性率均值 0.868 7，标准差 0.040 9，绘制半 Lerey-Jennings 质控图。结果所有数据均小于 0.950 5 界限值，第 51 批次的结果为 0.95，但没有超出 $+2s$，全部在控。见图 1。

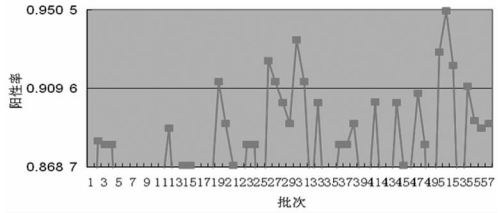

图 1　风疹病毒 IgG 阳性率质控图

直接概率计算法：巨细胞病毒 IgG 第 55 次，$P=0.004\ 5<0.05$，为 1 次失控，3 个阴性标本需要重做；巨细胞病毒 IgM 无失控；弓形虫 IgG 第 57 次，$P=0.026\ 6$，为 1 次失控，6 个阳性标本重做；弓形虫 IgM 第 28、29、31、36 次的 P 值为 0.005 58、0.005 58、0.001 21、0.022 3，4 次均为失控，相应批次的 24 个阳性标本重新检测。其余所有批次 $P>0.05$，为合格批次即在控。

3　讨　论

室内质量控制由实验室工作人员采取一定的方法步骤，连续评价实验室工作的可靠性程度，旨在监测和控制本室常规工作的精密度，提高本室常规工作中批内、批间标本检验的一致性，以确定测定结果是否可靠、可否发出报告的一项工作[4]。利用控制物进行质量控制的方法是最广泛应用的质量质控形式，然而，有一些局限性，如控制物昂贵，控制物可能显示出不同于患者标本的特征。由于通常在检测过程的分析阶段使用控制物，不能检出导致误差的分析前因素，它们可能存在于标本的收集、标记、运输和处理的各个环节中[5]。全国免费孕前优生健康检查项目 TORCH，女性项目为风疹病毒 IgG、巨细胞病毒 IgG 和 IgM、弓形虫 IgG 和 IgM，自 2010 年开展此项检测以来，临床实验室较多采用 ELISA 方法检测人血清中特异性 IgG 和 IgM 抗体，以判断受到感染的情况。但是，TORCH 感染指标的进口质控物价格高，国内还没有合适的质控品，加之环境、人员、试剂盒、仪器设备的差异，同为孕前妇女人群，各地报道的感染率亦不同[6-8]，陈建军等[6]报道的五项阳性率为 95.4%、92.8%、0.44%、2.26%、6.59%，胡萍等[7]报道弓形虫、巨细胞病毒感染率为 2.42%，徐小芳等[8]报道的 TORCH-IgM 为 0.94%。本研究的检测结果为：风疹病毒 IgG 的阳性率为 86.66%，巨细胞病毒 IgG 阳性率 98.87%，巨细胞病毒 IgM 阳性率为 0.13%、弓形虫 IgG 的阳性率为 2.43%，弓形虫 IgM 阳性率 1.71%。

1965 年，Hoffmann 和 Waid 描述了使用患者数据的均值(正态均值)对测定结果进行质量控制的方法。之后，国外学者在临床生化定量方面运用日常检测结果来进行室内质控[9-10]，李金明等[2]、陈曲波等[3]建立了定性免疫测定 HBsAg 基于日常测定结果的室内质控方法，在 ELISA 定性免疫检测方面给予了改进，但在 TORCH 监控中还未见报道。本研究使用标本数据进行质控将节省成本，直接控制标本的结果，而不是间接地推断分析过程的质量[5]，在没有合适质控物的情况下，是统计质控方法的补充，可以提高检验质量。孕前检测风疹病毒 IgG、巨细胞病毒 IgG，主要是关注结果阴性的妇女，提示孕前接种疫苗和避免孕期感染，所以，用半 Lerey-Jennings 质控图，采用 12S 规则，监控假阳性的发生。当小概率事件发生时(失控)，分析其原因是：第 28、29 次由于当天工作量加大，可能是洗版不彻底，第 31 次是没有新鲜配制洗液，导致弓形虫 IgM 失控。第 55 次巨细胞病毒 IgG 失控是洗板机管路不通畅。第 36 次和第 57 次弓形虫 IgG/IgM 失控，排除上述原因外是否与群体侍养宠物比例高有关，待查。失控后相关标本一定重新检测。因此，积极探讨室内质控方法，并且控制好所有实验条件，才能保证检测结果的准确，因为加样、洗板、温育等对 ELISA 方法均有影响。试剂盒的性能也需要进一步的验证，因为风疹病毒 IgG 和弓形虫 IgG 在临界值范围的标本较多。所以，鉴于目前的方法学，巨细胞病毒 IgM、弓形虫 IgM 阳性和弓形虫 IgG/IgM 两项均为阳性的标本，以及所有处于临界值范围的标本，应当查找原因、复检或进一步做确认实验。

参考文献

[1] 傅克勤. 孕前健康检查常规 TORCH 筛查的意义[J]. 安徽医学，2011，32(8)：1041-1043.

[2] 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.

[3] 陈曲波，李金明，李强，等. 基于日常检测结果的 HBsAg 定性检测假阳性或假阴性的室内质量控制方法[J]. 广东医学，2008，29(5)：789-790.

[4] 李金明. 感染性疾病免疫测定的室内质量控制[J]. 医学检验与临床，2007，18(1)：3-6.

[5] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 2 版. 北京：人民卫生出版社，2008.

[6] 陈建军，张洪涛，孙祥. 16316 例孕前优生健康检查 TORCH 检测结果分析[J]. 安徽医学，2012，33(9)：1117-1118.

[7] 胡萍，杨玉坤，彭永静，等. 广州市黄埔区 2153 对夫妇孕前检查结果分析[J]. 中国初级卫生保健，2012，26(5)：64-66.

[8] 徐小芳，李丹，隋杰，等. 上海市徐汇区 731 对夫妇孕前检查的调查研究[J]. 中国妇幼保健，2013，28(25)：4214-4216.

[9] Hayashi S, Ichihara K, KanakuraY, et al. A new quality control method based on a moving average of "latent reference values" selected from patients' daily test results [J]. Rinsho Bori, 2004, 52(2): 204-211.

[10] Kazmierczak SC. Laboratory quality control using patient data to assess analytical perform[J]. Clin Chen Lab Med, 2003, 41(3): 617-627.

(收稿日期：2015-06-12)