

Levey-Jennings 氏质控图法在囊尾蚴病 IgG 抗体检测试剂盒质量控制中的应用

储言红 陈家旭* 郭俭 姚俊敏 艾琳 蔡玉春

【摘要】 目的 以 Levey-Jennings (L-J) 氏质控图法评价囊尾蚴病 IgG 抗体检测试剂盒的稳定性。**方法** 以试剂盒内提供的阳性对照血清作为内部对照阳性质控血清,经临床确诊的囊尾蚴病患者血清作为外部对照阳性质控血清,对囊尾蚴病 IgG 抗体检测试剂盒进行质控检测,每天一次,连续 20 次,制作 L-J 氏质量控制图进行分析评价。**结果** 内部、外部对照阳性质控血清经过 20 次检测得到的吸光度值(A 值)分别在 1.203 ~ 1.672 和 1.536 ~ 1.987 之内,均在 $\bar{x} \pm 2s$, 即 1.410 ± 0.310 和 1.775 ± 0.278 警告限内。**结论** 市售囊尾蚴病 IgG 抗体检测试剂盒质量稳定,可以用于囊尾蚴病的免疫学检测。

【关键词】 囊尾蚴病;ELISA;质量控制;试剂盒;L-J 氏质控图

The application of Levey-Jennings picture in the quality control of cysticercosis IgG detecting kit CHU Yan-hong, CHEN Jia-xu*, GUO Jian, YAO Jun-min, AI Lin, CAI Yu-chun. National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, Ministry of Health, WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China

* Corresponding author; CHEN Jia-xu, Email: chenjiayu1962@163.com

Supported by Major National Science and Technology Projects (2008ZX10004-011, 2012ZX10004220) and the National Key Technology Research and Development Program (2008BAI56B03)

【Abstract】 Objective To evaluate the reproducibility of IgG detecting kit against cysticercosis by Levey-Jennings (L-J) quality control picture. **Methods** The positive control serum supplied by the kit was used as internal positive quality control, and the external positive control serum was patients' serum who had been confirmed by clinical diagnosis. The quality control tests were carried out every day for consecutive 20 days. Then the Levey-Jennings (L-J) picture was drawn to evaluate variance of the results. **Results** The average optical density values were among 1.203 ~ 1.672 and 1.536 ~ 1.987 with the warning limit of $\bar{x} \pm 2s$ (1.410 ± 0.310 and 1.775 ± 0.278) after 20 times testing by the application of internal and external positive control serum. **Conclusion** The commercial cysticercosis IgG detecting kit exhibits good reproducibility characteristics and can be applied in the immunological testing of cysticercosis.

【Key words】 Cysticercosis; ELISA; Quality control; Detecting kit; Levey-Jennings (L-J) picture

酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 自 20 世纪 70 年代建立以来,由于其敏感、特异、稳定、操作可自动化等优点倍受青睐,已广泛应用于免疫学检验的各个领域^[1-5]。但在实验中,多种因素会影响 ELISA 检测结果的准确性,因此,应对整个实验过程进行质量控制,避免检测中出现的过失误差和系统误差,以提高检测结果

的客观性、正确性和准确性^[2,6-10]。目前,实验室的质量控制主要采用 Levey-Jennings (L-J) 氏质控图法。L-J 氏质控图法主要用于对不同种类试剂盒的稳定性和可靠性进行评价^[11-18]。囊尾蚴病 IgG 抗体检测试剂盒虽已商业化多年,也在实验室、临床和现场进行过患者或感染者的筛查工作,但至今未见有对其质量控制试验的报告^[19]。本研究拟采用 L-J 氏质控图法对囊尾蚴病 IgG 抗体检测试剂盒的稳定性和可靠性进行评价。

1 材料和方法

1.1 囊尾蚴病 IgG 抗体检测试剂盒

为深圳市康百得生物科技有限公司产品,批号 20111105。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4122.2012.03.006

基金项目:国家科技重大专项(2008ZX10004-011, 2012ZX20004220); 国家科技支撑计划(2008BAI56B03)

作者单位:200025 上海,中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所,卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室,世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心

* 通信作者:陈家旭, Email: chenjiayu1962@163.com

1.2 内、外部对照阳性质控血清

内部对照阳性质控血清为试剂盒内提供的阳性对照血清。外部对照阳性质控血清为本所寄生虫病患者血清库中确诊的囊尾蚴病患者血清 1 例。

1.3 ELISA 法

按照试剂盒说明书操作。将待检血清用样本稀释液按 1:100 稀释,加入已稀释血清样本 100 μl 后,将反应板置 37 °C 恒温培养箱避光孵育 30 min。每孔加入洗涤液洗涤 3 次,每次均需停留 1 min 后再甩净,拍干。除空白对照孔外,每孔加酶结合物 1 滴。37 °C 避光反应 30 min,甩去孔内液体,如上洗涤,拍干。加底物液和显色剂各 1 滴,混匀,37 °C 显色 10 min。加入终止液 1 滴。每次反应均设置空白、阴性、临界和阳性对照。用酶标仪于 450 nm (630 nm 作参比波长)读取吸光度(A)值。

1.4 L-J 氏质控图的制作

照上述操作方法每天检测 1 次,连续检测 20 次。每次记录所测得的 A 值,计算出均值(\bar{x})和标准差(s),然后以检测次数为横坐标,以 A 值为纵坐标,分别以 $\bar{x} \pm s$ 、 $\bar{x} \pm 2s$ 、 $\bar{x} \pm 3s$ 等 6 条平行横线为界线,利用 Microsoft Excel 自动合成 L-J 氏质控图。

1.5 L-J 氏质控图的判断

L-J 氏质控图以 $\bar{x} \pm 2s$ 为警告限,以 $\bar{x} \pm 3s$ 为失控限^[9,11-12,20-21]。如果外部对照阳性质控血清测得的 A 值超过 $\bar{x} \pm 2s$,提示出现问题需要继续检测,以便进一步观察。如果超过 $\bar{x} \pm 3s$,表示此次检测过程出现误差,检测结果不能接受,不要简单地再次重复检测,需要找出出现误差的原因——人、仪器设备和试剂情况,纠正错误后再继续进行检测^[22]。若质控品 A 值 3~5 次连续出现于同一侧的 2s 范围内称为“位移”,提示检测条件发生了较大变化。如果 5~7 次连续偏向横轴的一侧范围,提示检测参数发生了缓慢的改变。如果 2 次连续超出一侧的 2s 范围、4 次连续超出一侧的 1s 范围、10 次连续出于一侧的 1s 范围内,则应该暂停检测,查找原因^[4,10-11,20,22]。

2 结果

采用深圳市康百得生物科技有限公司生产的囊尾蚴病 IgG 抗体检测试剂盒,内部对照阳性质控血清检测结果见表 1,所对应的 L-J 氏质控图见图 1;外部对照阳性质控血清检测结果见表 2,所对应

的 L-J 氏质控图见图 2。

表 1 内部对照阳性质控血清检测结果

Table 1 The detecting results of internal positive control serum

检测次数 Testing number	A 值 A value	检测次数 Testing number	A 值 A value
1	1.230	11	1.521
2	1.254	12	1.247
3	1.231	13	1.618
4	1.672	14	1.287
5	1.374	15	1.507
6	1.375	16	1.576
7	1.323	17	1.330
8	1.650	18	1.203
9	1.497	19	1.369
10	1.342	20	1.594
\bar{x}	1.410	s	0.155
$\bar{x} + 1s$	1.565	$\bar{x} - 1s$	1.255
$\bar{x} + 2s$	1.720	$\bar{x} - 2s$	1.100
$\bar{x} + 3s$	1.875	$\bar{x} - 3s$	0.945

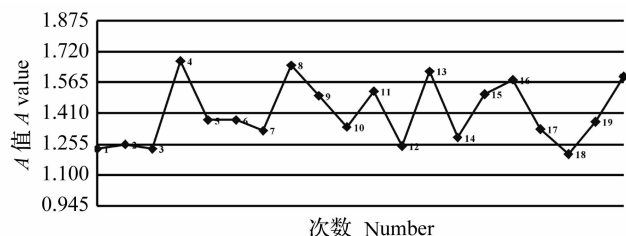


图 1 内部对照阳性血清 L-J 氏质控图

Fig.1 Levey-Jennings (L-J) picture of internal positive control serum

表 2 外部对照阳性质控血清检测结果

Table 2 The detecting results of external positive control serum

检测次数 Testing number	A 值 A value	检测次数 Testing number	A 值 A value
1	1.955	11	1.586
2	1.722	12	1.536
3	1.935	13	1.854
4	1.721	14	1.677
5	1.715	15	1.987
6	1.745	16	1.581
7	1.813	17	1.636
8	1.622	18	1.842
9	1.834	19	1.897
10	1.938	20	1.898
\bar{x}	1.775	s	0.139
$\bar{x} + 1s$	1.914	$\bar{x} - 1s$	1.636
$\bar{x} + 2s$	2.053	$\bar{x} - 2s$	1.497
$\bar{x} + 3s$	2.192	$\bar{x} - 3s$	1.358

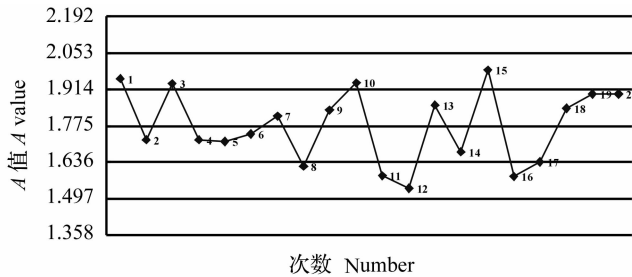


图 2 外部对照阳性血清 L-J 氏质控图

Fig. 2 Levey-Jennings (L-J) picture of external positive control serum

图 1 可以看出:内部对照阳性质控血清检测的 A 均值是 1.410, 警告限 $\bar{x} \pm 2s$ 分别是 1.410 ± 0.310 , 失控限 $\bar{x} \pm 3s$ 分别是 1.410 ± 0.465 。20 次检测的 A 值在 1.203 ~ 1.672 范围内, 没有超过警告限, 均在可控范围之内。

图 2 可以看出:外部对照阳性质控血清检测的 A 均值是 1.775, 警告限 $\bar{x} \pm 2s$ 分别是 1.775 ± 0.278 , 失控限 $\bar{x} \pm 3s$ 分别是 1.775 ± 0.417 。20 次检测的 A 值在 1.536 ~ 1.987 范围内, 没有超过警告限, 均在可控范围之内。

3 讨论

室内质控的目的是判断实验室每天检测结果是否可靠, 报告是否可以接受, 是实验室管理最基本措施之一^[14]。在实际操作中, 有很多因素影响到 ELISA 检测结果的准确性, 一般常见的有试剂盒本身的质量问题、使用不同厂家的试剂盒、使用同一厂家不同批号的试剂盒、实验室人员技术水平和经验, 以及人员的固定性、是否严格按照试剂盒要求和注意事项操作、实验室环境条件如温度和湿度等、实验室仪器设备的质量控制如电热恒温培养箱和冰箱温度、离心机、冻干机、移液器和酶标仪的稳定性等、质控血清和样本血清的保存温度和条件等等^[3-4, 6, 8, 13, 20, 22-25]。因此, 制订完备的试剂盒 SOP, 建立起一支高素质、相对稳定的检测队伍, 在实验过程中每天记录好实验室温度和湿度, 严格按照实验操作手册使用实验室仪器设备, 对使用的仪器设备定期进行检定或校准, 发生异常情况应随时进行校准, 以便把由于仪器设备引起的故障降到最低。严格按照说明书运输、保存和使用试剂盒和样本血清, 进行检测的质控血清和样本血清需存放在 4 °C 冰箱内, 并且在 7 d 内使用完毕, 如需长期保存, 应存放在 -20 °C 或以下, 避免多次冻融^[2, 6-7, 9, 26]。

为了减少过失误差, 提高实验室检测结果的精密性和准确性, 实验室应制备内部、外部对照阳性

质控血清, 并对质控血清进行 20 次及以上检测, 记录每次所测得的 A 值, 计算出 20 次 A 值的均值和标准差, 制作 L-J 氏质控图, 设置警告限和失控限, 以后每次随样本血清检测的同时测定上述质控血清, 并将所测得 A 值填入质控图的相应当次栏, 通过分析质控图上质控血清的检测结果, 来判断此次样本血清的检测结果能否被接受。质控血清在实验室质控工作中起了非常重要的作用^[9, 11-12, 20, 25]。同一种试剂盒, 即使是同一厂家不同批号的试剂盒所测得的 A 值都会有一定的误差, 检测结果都会不一样, 因此每次选用新的试剂盒或者使用同一厂家不同批号的试剂盒时, 都要用质控血清进行检测, 并对检测结果进行分析, 设置新的质控范围, 以便对整个实验工作进行质量控制^[13-14]。

本研究针对深圳康百得生物科技有限公司生产的批号为 20111105 的囊虫病 IgG 抗体检测试剂盒, 采用 L-J 氏质控图法进行实验室检测的质量控制。操作严格按照试剂盒操作说明书进行, 并严格控制实验室条件, 固定实验操作人员, 保持实验环境条件和人员的相对稳定性, 避免实验室条件和人为因素对试剂盒准确性和稳定性的影响。室内质控结果显示, 内部对照阳性质控血清检测的 A 均值是 1.410, 警告限 $\bar{x} \pm 2s$ 分别是 1.410 ± 0.310 , 失控限 $\bar{x} \pm 3s$ 分别是 1.410 ± 0.465 , 20 次检测的 A 值在 1.203 ~ 1.672 范围内, 结果没有超过警告限, 均在可控范围之内。外部对照阳性质控血清检测的 A 均值是 1.775, 警告限 $\bar{x} \pm 2s$ 分别是 1.775 ± 0.278 , 失控限 $\bar{x} \pm 3s$ 分别是 1.775 ± 0.417 , 20 次检测 A 值在 1.536 ~ 1.987 范围内, 检测结果没有超过警告限, 均在可控范围之内。表明, 所有实验检测数据可以接受, 证明整个实验室操作是规范的, 所选用的试剂盒具有较好的稳定性和精密性, 可以用于囊虫病的免疫学检测。亦表明, 自制的外部质控血清与试剂盒配备的内部质控血清有相同的质控效果。

参 考 文 献

[1] 安萍, 蔡惠芸, 张艳, 等. 酶联免疫吸附试验操作中关键环节及质控方法研究[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2010, 4(10):1889-1892.

[2] 殷俊. ELISA 检测法的质量控制[J]. 职业与健康, 2007, 23(21):1938-1939.

[3] 王伟. ELISA 检测乙肝标志物的影响因素浅析[J]. 黑龙江医药, 2010, 23(5):819-820.

[4] 李剑华. 酶联免疫吸附试验中的相关因素与结果分析[J]. 中国健康月刊:学术版, 2011, 30(4):216-217.

[5] 王坤平, 顿国栋, 马铁军, 等. 日本血吸虫病免疫诊断研究的现

状和进展[J]. 寄生虫病与感染性疾病, 2008, 6(2): 105-108.

[6] 李育芬, 申峰. HIV 抗体检测质量管理[J]. 中国公共卫生管理, 2010, 26(1): 108-110.

[7] 徐京昕. ELISA 实验的质量控制[J]. 现代检验医学杂志, 2005, 20(4): 73-74.

[8] 宗永学, 梅桂杰. 酶联免疫吸附试验的影响因素分析及控制方法[J]. 中国疗养医学, 2007, 16(8): 480-481.

[9] 郭大文, 孟东娅. ELISA 法的室内质量控制[J]. 沈阳部队医药, 2008, 21(2): 143-144.

[10] 刘艳玲, 赵伟, 刘晓志. 浅析 ELISA 法质量控制要点[J]. 河北化工, 2010, 33(12): 53-54.

[11] 张帅清. HIV 抗体初筛检测 Levey-Jennings 氏质量控制图分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(11): 2080-2081.

[12] 刘保庭, 雷桂华. 以 S/CO 值对 ELISA 法检测 HBsAg 进行室内质控[J]. 现代检验医学杂志, 2004, 19(4): 57.

[13] 李天君, 赵锋, 田庆华. “双质控法”用于 ELISA 试验室内质控的探讨[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(6): 443-444.

[14] 项国谦, 赵洪灿, 王敏敏, 等. 艾滋病病毒抗体室内质控血清制备及应用评价[J]. 放射免疫学杂志, 2010, 23(3): 347-349.

[15] 宋悦红. HIV 检测中建立 Levey-Jennings 质控图与“即刻法”质控的应用比较[J]. 现代预防医学, 2008, 35(9): 1702-1703, 1712.

[16] Simmons JH. Development, application, and quality control of serology assays used for diagnostic monitoring of laboratory nonhuman primates[J]. ILAR J, 2008, 49(2): 157-169.

[17] Coskun A. Modified Levey-Jennings charts for calculated laboratory tests[J]. Clin Chem Lab Med, 2006, 44(4): 387-390.

[18] 刘保庭, 雷桂华. 应用 Levey-Jennings 质控图结合 Westgard 多规则进行临床化学室内质控[J]. 现代检验医学杂志, 2004, 19(6): 43-44.

[19] 袁忠英, 周长海, 王聚君, 等. 全国人体重要寄生虫病现状调查中囊虫病试剂盒批间差异的比较[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2005, 18(2): 107.

[20] 袁红, 黄文方, 杨明清. 酶联免疫吸附试验室内质控的几个问题[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(1): 28-30.

[21] 罗士来, 庄晓青, 魏江梅. 采用 Excel 绘制多水平质控的控制图[J]. 现代检测医学杂志, 2006, 21(2): 78.

[22] 韩文, 刘伟. ELISA 室内质控中失控情况的原因分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(6): 1420, 1432.

[23] 袁红, 钟亚玲, 喻华, 等. 实验室信息系统 Levey-Jennings 室内质量控制的设计及临床应用[J]. 检验医学与临床, 2006, 3(9): 422-423, 425.

[24] 袁红, 黄文方, 杨明清. ELISA 实验 Levey-Jennings 室内质量控制分析处理方法[J]. 淮海医药, 2009, 27(1): 28-30.

[25] 王凯, 马学冬, 王莉. 酶联免疫吸附法检测艾滋病抗体室内质控血清的制备和应用[J]. 中国误诊学杂志, 2004, 4(2): 234-235.

[26] 郑春芬. 酶联免疫法的质量控制[J]. 实用医技杂志, 2007, 14(10): 1397-1298.

(收稿日期: 2012-01-10)

(本文编辑: 卢延鑫, 陈勤)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对数字用法的规定

本刊执行 GB/T 15835-1995《出版物上数字用法的规定》。公历世纪、年代、年、月、日、时刻和计数、计量等均用阿拉伯数字。如: 20 世纪 80 年代、1994 年 10 月 1 日。年份一般不用缩写, 如: 1990 年不能简作“九〇年”或“90 年”。从小数点起, 向左和向右每三位数字一组, 组间空 1/4 个汉字空, 如: 2 748 456, 3. 141 592 65。部队番号、文件编号、证件号码和其他序号用阿拉伯数字但每三位数间不留空。百分数的范围和偏差, 前一个数字的百分符号不能省略, 如 6% ~ 90% 不能写成 6 ~ 90%, (50.5 ± 0.6)% 不能写成 50.5 ± 0.6%, 带有尺寸单位的数值相乘, 按下列方式书写: 3 cm × 4 cm × 5 cm, 不能写成 3 × 4 × 5 cm³。统计表中同一指标下的数值, 小数点后的有效位数要一致。

本刊编辑部