

肌红蛋白,邻联甲苯胺法则均为阳性。

**2.3 干扰试验** 含维生素 C 的血红蛋白液邻甲邻联甲苯胺法检测为阴性,而胶体金法为阳性。结果是单克隆抗体法所做的结果始终不变,而邻联甲苯胺法测得的结果为阴性。这说明单克隆抗体法不受其他化学药品、铁剂、过氧化物酶等的干扰,而联苯胺则受之影响较大,易形成假阴性结果。

### 3 讨论

粪便隐血试验是检测急、慢性消化道出血及消化道恶性肿瘤的重要方法之一<sup>[2]</sup>,现常作为消化道恶性肿瘤早期诊断的一个筛选指标。在消化道溃疡时阳性率为 40%~70%,消化道癌症时阳性率可达 95%,粪便隐血试验是作为消化道恶性肿瘤有重要意义,此外在流行性出血热的粪便中,其隐血试验阳性率占 84%,也是该病的重要凭证,所以粪便隐血试验作为常规检验是非常重要的,从而能使其得到早期的诊断与治疗。常用的检测方法主要包括化学法和单克隆抗体法。正常情况下,消化道生理性出血一般为 0.6 mL/24 h,达到 2 mL/24 h 时,被确认为病理性出血。用化学法隐血试验一般难以检出生理性出血,而免疫学方法由于灵敏度更高、特异性强,有时可出现假阳性,故应引起广大临床工作者的注意。对于消化道溃疡性出血的患者,其粪便隐血试验呈间断性阳性;而对于消化道肿瘤患者,其粪便隐血试验呈持续性阳性。据此,作者可以鉴别良、恶性出血。另外,肠结核、溃疡性结肠炎、结肠息肉、钩虫病、肾出血综合征等患者的粪便隐血试验可呈阳性。摄入引起胃肠出血的药物,如阿司匹林、皮质类固醇、非类固醇抗炎药,可造成化学法隐血试验假阳性。而摄入大量维生素 C,则可造成隐血试验假阴性。

粪便隐血试验对消化道出血性疾病有非常重要的诊断与鉴别诊断的价值,要求粪便隐血试验必须具有高度的灵敏度及特异性。邻联甲苯胺法基于联苯胺使血红蛋白中的血红素促使 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解,释放出新生态氧,将受体邻甲联苯胺氧化成邻甲偶氮苯而显蓝色,蓝色深浅反映出血量的多少,方法简便易行、成本较低。本研究显示用邻联甲苯胺法测粪便隐血试验,灵敏度差,容易受食物、药物等因素的影响,如食入肉类、蔬菜、铁剂等容易导致假阳性,抗干扰性能差,当患者服用大量维生素 C 或其他有还原作用的药物后又容易导致假阴性<sup>[3]</sup>;加之联苯胺试剂为一种强致癌物,对人体危害极大,逐渐被单克隆抗体法代替。邻甲邻联甲苯胺法灵敏度和特异性虽不及单克隆抗体法,但可根据蓝色深浅对出血量作出半定量,有实用价值而不能被单克隆抗体法完全取代。单克隆抗体法是特异性

地针对人 Hb 抗原表位,所以排除了饮食与药物因素等的干扰,被世界卫生组织胃肠镜检查协会推荐为粪便隐血试验的一种较为确认的方法<sup>[4]</sup>,且灵敏度和特异度都高<sup>[5-6]</sup>,只要粪便标本中 Hb 含量为 0.2 mg/L 时就可以检测出来,因此能够真实地反映到消化道出血与否,对人体亦无害,简便、快速,是目前早期诊断消化道出血性疾病的一个首选的好方法。单克隆抗体法主要适用于下消化道(小肠、大肠)出血的检查。上消化道出血的粪便颜色为柏油样外观,单克隆抗体法检测的结果为阴性,而邻联甲苯胺法检测的结果为阳性,因此,化学法检查上消化道出血(胃、十二指肠等)可靠。

综上所述,邻联甲苯胺法检测粪便隐血简单、方便,而且有半定量的特点,但容易受饮食以及一些还原性的药物等的影响而致较高的假阳性及假阴性。单克隆抗体法检测粪便隐血具有快速、准确、灵敏度和特异性高的特点,不受饮食的影响,但对于上消化道大量有时也无能为力。因此,本文认为,对于粪便隐血检测,最好用单克隆抗体法和邻联甲苯胺法同时进行,以便做出较准确的判断。

### 参考文献

- [1] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:310-311.
- [2] 毛秀英,吴欣娟,于荔梅. 部分临床护士发生针刺伤情况的调查[J]. 中华护理杂志,2003,38(6):422-425.
- [3] 左祥,刘和平,张彦华. 检测大便隐血中的钩状效应及对策[J]. 检验医学与临床,2007,4(6):551-552.
- [4] Young GP, St John DJ, Winawer SJ, et al. Choice of fecal occult blood tests for colorectal cancer screening: recommendations based on performance characteristics in population studies: a WHO (World Health Organization) and OMED (World Organization for Digestive Endoscopy) report[J]. Am J Gastroenterol, 2002, 97(10): 2499-2507.
- [5] 王培之,徐克沂,皮围华. 胶体金免疫结合试验在检验医学中的应用[J]. 中华检验医学杂志,2000,23(5):308-309.
- [6] 韦常丽. 粪便潜血单克隆抗体法临床应用的探讨[J]. 广西中医学院学报,2003,6(4):56-57.

(收稿日期:2011-05-22)

## ELISA 检测 HIV 抗体室内质控血清的制备

韦雪芳(广西壮族自治区横县疾病预防控制中心 HIV 初筛实验室 530300)

**【摘要】** 目的 实验室自制外部质控血清,绘制质控图,满足《全国艾滋病检测技术规范》要求和考评要求。方法 利用试剂盒内的阳性对照血清,用健康人的血清按一定量混合稀释成低值弱阳性,通过比较不同滴度的 CO 值,筛选出合适混合比例,分装冷冻保存使用。结果 试剂盒内的阳性对照血清与健康人的血清 1:10 左右混合比例比较适合。结论 自制质控血清性能稳定,经济、方便,便于推广使用。

**【关键词】** 室内质控; 外部质控; 自制质控血清; 质控图

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.20.055 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)20-2527-02

人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体检测是艾滋病防治的一项重要保证措施。按照《全国艾滋病检测技术规范》的要求,在使用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测 HIV 抗体(抗-HIV)时,除使用试剂盒内部对照质控品外,还必须使用室内质控品。但

室内质控品价格高且不易购得,而用阳性血清灭活作为定值血清又存在潜在危险。为探讨获得廉价、安全、有效的质控血清,作者利用抗-HIV 试剂盒提供的阳性对照血清自制室内质控血清,经与国家参比实验室和自治区确证中心实验室提供的质控

血清比较,结果差异无统计学意义,现将结果报道如下。

### 1 材料与与方法

**1.1 标本收集** 用无菌管收集外观无溶血、脂血、黄疸,无污染,清晰透明,经检测为乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、丙型肝炎病毒(HCV)和 HIV 阴性的健康人血清;并收集同一厂家同一批号的 ELISA 检测试剂盒中抗-HIV 阳性对照血清。

**1.2 参考血清** 中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心参比实验室质控血清,批号:QC080620,效期 20090619;广西壮族自治区疾病预防控制中心 HIV 确证中心实验室质控血清,批号:QC5034096,效期 20090502。

**1.3 仪器与试剂** 北京万泰 HIV1/2ELISA 检测试剂盒,批号:120080406,效期 20090410;郑州博赛 2010 酶标仪,博赛洗板机;水浴箱。

### 1.4 方法

**1.4.1 质控血清制备** 将试剂盒中的阳性对照血清用健康人的血清稀释成低值弱阳性(以试剂盒临界值的 2~3 倍为宜),分别按每周用量每管 1.0 mL 分装,批号 QCHIV09A,置-20℃以下保存备用。每周取一管置 4℃下保存,每次检测前平衡至室温。

**1.4.2 实验方法** 采用北京万泰试剂,严格按说明书操作,每次用国家参比室及自治区确证中心实验室提供的质控血清与自制血清作对比,连续检测 20 次。

### 2 结果

**2.1 记录不同质控血清检测的 20 个 S/CO 值,计算  $\bar{x}$ 、s、CV%。**结果见表 1。

表 1 不同质控血清检测的 S/CO 值及其  $\bar{x}$ 、s、CV% 值

组别	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	$\bar{x}$	s	CV%
参比室	11.3	13.2	12.7	13.4	12.0	12.9	12.0	13.5	12.1	13.8	11.4	11.0	12.9	10.1	12.3	11.4	12.7	13.4	12.3	13.2	12.38	0.974	7.87
自治区 确证室	6.680	6.369	6.562	7.471	8.010	6.593	7.215	7.856	7526	6.355	7.796	6.958	7.982	7.831	6.83	6.854	7.073	7.472	6.772	6.572	7.137	0.560	7.85
自制	2.959	2.585	2.573	2.302	2.841	2.720	2.638	2.412	2.621	2.119	2.226	2.413	2.721	2.366	2.342	2.737	2.729	2.295	2.300	2.451	2.518	0.226	8.98

**2.2 绘制质控图** 用 Levey-Jennings 质控法,绘制质控图。S/CO 值为纵坐标,次数为横坐标,建立以均数为中心线,以超出  $\bar{x} \pm 2s$  为警告线,超出  $\bar{x} \pm 3s$  为失控线的质控框架图。见图 1。

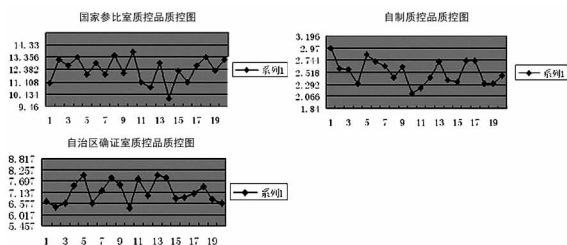


图 1 3 种质控品检测的 Levey-Jennings 质控图

此后进入实验的质控状态,在每次实验中,严格按照试剂盒说明,设立空白、阴阳对照孔,将制备的质控血清与实验标本一同测定得到 S/CO 值。实验结束后,把质控血清的 S/CO 值标在质控图的相应位置上。根据控制限判断该次实验是否在控。

**2.3 北京万泰试剂检测,3 种不同的质控血清,其 S/CO 值的变异系数经统计学处理,差异无统计学意义(P>0.05)。**表明自制质控血清可以满足要求。

### 3 讨论

艾滋病是一种危害较大的传染病,我国目前已进入 HIV 感染的快速增长期,且艾滋病已由高危人群向普通人群扩散。广西是全国 HIV 感染数居第二的省份,为遏制艾滋病疫情,广西专门制订了防治艾滋病攻坚工程。艾滋病检测实验室网络建设日趋完善,基本覆盖了医疗、疾控、妇幼、监狱、血站、妇幼等系统。而对网络实验室做好质控尤为重要。按照《全国艾滋病检测技术规范》的要求,在使用 ELISA 法检测抗-HIV 时除了使用试剂盒内部对照质控品外,还必须使用室内质控品,包括强阳性、弱阳性和阴性质控血清,也可以只设置一个弱阳性质控,以对实验进行动态质控,确保检测结果的准确性,提高检测质量。另一方面由于 ELISA 法灵敏度高,在加样、温育、洗涤、显色读数等步骤中出现任何误差,都可使临界值结果发生

较大变化,而同批样本可发生同样的变化,特别是 OD 值靠近 Cut off 值或一些处于灰区的样本有可能被错定为假阳性或假阴性<sup>[1-2]</sup>。为此,建立外部质控(外部对照)以监测本次试验的稳定性、重复性、准确性及提示样品处于临界状态时的检验操作情况十分必要<sup>[3-4]</sup>。室内质控的目的是在于控制本室检测的精密度及准确度,使本实验室测定结果趋于稳定,防止漏检,以确保检测的准确性。然而在商品试剂盒内仅配有阳性、阴性对照样品(内部对照)。而抗 HIV 阳性血清不易得到,作者利用试剂盒中所带阳性对照血清用健康人的血清稀释成低值弱性质控血清。从以上实验测试结果分析,用该方法制备的抗 HIV 室内质控血清与国家参比室和自治区确证实验室的质控血清相比,其 S/CO 值的变异系数经统计学处理,差异无统计学意义(P>0.05); $\bar{x} \pm s$  的可信限为 70%, $\bar{x} \pm 2s$  的可信限为 100%。表明自制质控血清可以满足要求。

在实际工作中,经证实自制质控血清在-20℃存放 6 个月、4℃存放 4 周稳定性良好。由于检测试剂的质量存在着一定的差异,以及试剂的批间、批内差别,相同的质控品对不同厂家和不同批号的试剂的质控存在较大的差异,所以在更换不同厂家试剂或使用新批号试剂时,必须重新制作质控品并重新绘制质控图。

### 参考文献

[1] 文进,张斌,吉天鹏,等. ELISA 法抗-HIV 灰区标本的再检测分析[J]. 临床输血与检验,2005,7(2):121.  
 [2] 曹文武. 抗-HIV 室内质控及其影响因素[J]. 预防医学情报杂志,2002,18(1):84.  
 [3] 邓文青,吴湘云,代建平,等. 220 份 HIV 抗体检测确证为阴性或不确定标本的结果分析[J]. 中国艾滋病性病,2011,17(1):24.  
 [4] 李裕惠. ELISA 检测抗-HIV 室内质控血清的制备和应用[J]. 微生物学免疫学进展,2002,30(1):44-46.