



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102207509 A

(43) 申请公布日 2011. 10. 05

(21) 申请号 201110067518. 3

(22) 申请日 2011. 03. 21

(71) 申请人 中华人民共和国北京出入境检验检疫局

地址 100026 北京市朝阳区甜水园街 6 号

(72) 发明人 朱红 刘建礼 张绍福

(74) 专利代理机构 北京正理专利代理有限公司
11257

代理人 张文祎

(51) Int. Cl.

G01N 33/96(2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 3 页

(54) 发明名称

一种评价质控血清稳定性的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种评价质控血清稳定性的方法,该方法包括以下步骤:(1)检测强阳性质控血清的 OD 值,当检测 OD 值 > 2.0 时,进行稀释,得到检测 OD 值 < 2.0 的质控血清样品;(2)对于检测 OD 值 < 2.0 的质控血清用 ELISA 试剂进行检测;(3)检测完成后计算出其反应 OD 值;(4)以反应 OD 值作为测量值,利用 t 检验分析不同条件下质控血清测量值与原始值是否具有统计学差距,以统计学 $P < 0.05$ 差异显著性作为质控血清是否稳定的评判标准。本发明所述方法以反应 OD 值作为质控血清质量稳定性的评价测量值,该测量值能直接真实地反应血清中检测物的量的变化,在此基础上,采用统计学 t 检验分析样品中待检物在各种条件下的变化差异。统计学分析的基础更科学合理。

1. 一种评价质控血清稳定性的方法,其特征在于,该方法包括以下步骤:

(1) 检测强阳性质控血清的 OD 值,当检测 OD 值 > 2.0 时,进行稀释,得到检测 OD 值 < 2.0 的质控血清样品;

(2) 对于检测 OD 值 < 2.0 的质控血清用 ELISA 试剂进行检测;

(3) 检测完成后计算出其反应 OD 值:所述反应 OD 值 = 质控血清检测 OD 值 - 阴性对照 OD 值;

(4) 以反应 OD 值作为测量值,利用 t 检验分析不同条件下质控血清测量值与原始值是否具有统计学差距,以统计学 $P < 0.05$ 差异显著性作为质控血清是否稳定的评判标准, $P > 0.05$ 为该条件下稳定, $P < 0.05$ 为该条件下不稳定。

2. 根据权利要求 1 所述的评价质控血清稳定性的方法,其特征在于,步骤(4)中,所述不同条件为不同温度、不同时间或不同试验条件。

一种评价质控血清稳定性的方法

技术领域

[0001] 本发明属于医学检验领域,具体涉及一种评价质控血清稳定性的方法。

背景技术

[0002] 酶联免疫检测(ELISA)是当前生物医学领域使用最广泛的免疫学检测技术之一。临床实际检测中,ELISA容易受温度、洗板等诸多因素影响,为了提高每次实验的准确性和可重复性,一般通过质控血清对检测质量进行监控。质控血清为与样品相近的已知样品,在每次试验中同时进行质控血清的检测,通过观察质控血清检测值的变化来监测试验过程是否可靠。因此,质控血清自身的质量,尤其是稳定性是保证质控成败的关键。

[0003] 稳定性评价是质控血清制备和生产中的关键技术环节,一般需要对其在各种温度、不同时间、不同使用方法下的稳定性进行评价。而评价的方法一般为观察其检测 S/CO 值的变化,通过与对照组的统计对比,分析其变化是否在可接受的范围内。

[0004] 但是,上述评价方法存在明显的理论和操作缺陷。这是因为,大多数 ELISA 试剂盒(如 HIV ELISA 试剂盒、肝炎 ELISA 试剂盒等等)均为定性检测设计, S/CO 值只是为了方便各种试剂对检测样本的阴阳性界定而给出的一个定性参考指标。其中 S 代表样品检测的吸光度值, CO 表示试剂盒设定的临界值(cutoff 值), S/CO>1,则信号值大于临界值,判定为阳性, S/CO<1,表示信号值小于临界值,判定为阴性。也就是说, S/CO 给出的信号值本身不具有定量意义。而质控血清的稳定性评价中,需要关注和评价的恰恰是其检测值是否发生了量的变化。因此,从理论上讲,用 S/CO 来评价质控血清的稳定性是不合理的。同时,在实践中我们也发现, S/CO 值与血清中待检物的浓度是不具有线性关系。尤其对于强阳性和弱阳性质控血清, S/CO 值对其指示性极低。对强阳性质控进行上百倍以上稀释,其检测 S/CO 信号却基本无任何变化。对弱阳性质控同样如此。这就说明, S/CO 值这个检测指标完全不能代表待检样品中实际待检物的浓度,以此不能作为指示质控血清的定量检测指标。

[0005] 利用合理统计学处理得出的结论无疑是最科学可靠的,人们常用 t 检验来评价质控血清的稳定性,但是由于采用的指标 S/CO 值是一个非定量测量值,统计学 t 检验的前提基础不存在,因此得出的结论是不科学的。也有人用变异系数(CV%)作为稳定性的评价指标,但 CV 值的变化范围仍需人为规定,主观性强。

发明内容

[0006] 本发明所要解决的技术问题是提供一种评价质控血清稳定性的方法。该方法以反应 OD 值作为质控血清质量稳定性的评价测量值,该测量值能直接真实地反应血清中检测物的量的变化,在此基础上,采用统计学 t 检验分析样品中待检物在各种条件下的变化差异。统计学分析的基础更科学合理。

[0007] 为解决上述技术问题,本发明所采用的技术方案是:

通过大量检测实验数据和数学模型分析,发明者得出了以下结论:(1)强阳性质控血清的检测信号值一般远远超出了现有常规 ELISA 定性检测方法和仪器的上限。需要进行千

倍以上的稀释才能进入检测信号有效区间。(2)当取反应 OD 值(样本检测 OD 值 - 阴性对照 OD 值)作为反应信号代替 S/CO 值时,在一定范围内,反应 OD 值与血清待检物质的浓度具有良好的线性回归关系。其回归曲线是一条截距近似为 0 的直线。可以统一表示为“ $Y=aX$ ”其中 Y 代表反应 OD 值, X 代表待检物浓度。

[0008] 基于以上发现,本发明提出以下质控血清稳定性的量化评价方法:

所述评价质控血清稳定性的方法,包括以下步骤:

(1) 检测强阳性质控血清的 OD 值,当检测 OD 值 > 2.0 时,进行稀释,得到检测 OD 值 < 2.0 的质控血清样品;

(2) 对于检测 OD 值 < 2.0 的质控血清用 ELISA 试剂进行检测;

(3) 检测完成后计算出其反应 OD 值:所述反应 OD 值 = 质控血清检测 OD 值 - 阴性对照 OD 值;

(4) 以反应 OD 值作为测量值,利用 t 检验分析不同条件下质控血清测量值与原始值是否具有统计学差距,以统计学 $P < 0.05$ 差异显著性作为质控血清是否稳定的评判标准, $P > 0.05$ 为该条件下稳定, $P < 0.05$ 为该条件下不稳定。

[0009] 在步骤(4)中,所述不同条件为不同温度、不同时间或不同试验条件。

[0010] 本发明的有益效果:本发明提出的质控血清稳定性评价方法实现了真正意义上的量化统计学评价。取反应 OD 值作为质控血清质量稳定性的评价测量值,测量值与血清浓度具有线性相关,测量值能直接真实地反应血清中检测物的量的变化,在此基础上,采用统计学 t 检验分析样品中待检物在各种条件下的变化差异。统计学分析的基础更科学合理。

[0011] 具体实施例方式

实施例 1

一 实验材料:

1 主要试剂:HIV ELISA 试剂:生物梅里埃公司 Vironostika 批号:A57BA);

2 仪器:SEAC Alisei 全自动酶联免疫检测系统

3 质控血清:

采用常规方法配制临界值质控血清,选定强阳性血清和稀释阴性血清,按照一定稀释倍数在无菌条件下进行稀释,搅拌过夜,充分混匀。分装于 1.5ml 冻存管中置于 -80°C 冰箱中保存。

[0012] 二 质控血清的稳定性评价(-20°C 稳定性):

将制备分装的临界值质控血清冻存于 -20°C 冰箱 3、6、9、12、18 个月后进行 ELISA 检测,测定反应 OD 值(反应 OD 值 = 样本 OD 值 - 阴性 OD 值)。采用 SPSS 分析软件的单样本 t 检验分析各时间点与样品参考值是否有差异。

[0013] 表 1 质控血清 -20°C 稳定性检测结果

反应OD值	0个月	3个月	6个月	9个月	12个月	18个月
1	0.402	0.376	0.395	0.425	0.416	0.374
2		0.408	0.386	0.411	0.400	0.405
3		0.441	0.396	0.399	0.389	0.378
4		0.385	0.385	0.458	0.398	0.401
5		0.445	0.426	0.399	0.411	0.369
平均值		0.411	0.398	0.418	0.403	0.385
标准差		0.031	0.017	0.025	0.011	0.016

经统计学处理,质控血清 -20°C 放置最长至 18 个月,检测均值与样本初始值无显著性变化(单样本 t 检验, $P>0.05$)。证明质控血清在 -20°C 放置至 18 个月是稳定的。

[0014] 显然,本发明的上述实施例仅仅是为清楚地说明本发明所作的举例,而并非是对本发明的实施方式的限定。对于所属领域的普通技术人员来说,在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动。这里无法对所有的实施方式予以穷举。凡是属于本发明的技术方案所引伸出的显而易见的变化或变动仍处于本发明的保护范围之列。