

出现抽搐为准。洗胃结束后,给予静脉滴注 20% 甘露醇 250 mL,地塞米松 20 mg,速尿 20 mg,同时加强护理。3 h 后患者神志完全清醒,第 3 天出院。

2 讨 论

本文抢救的主要措施是:(1)大剂量的安定;(2)大量温盐水反复彻底洗胃。安定可有效地控制窒息的发生,防止死亡。大量温盐水洗胃可彻底地将毒物清除,从而阻止毒物对中枢神经的继续侵害^[4]。

参考文献

[1] 梁斌,董强,谭承建,等.毒鼠强中毒的研究进展[J].动物

医学进展,2004,25(2):40-42.

[2] 朱传红,刘良,刘艳,等.毒鼠强中毒现状及研究进展[J].法医学杂志,2004,26(1):37-38.

[3] 聂贤璋.急性毒鼠强中毒 185 例治疗体会[J].广西医学,2000,22(4):844-845.

[4] 葛宪民,黄曙海.急性毒鼠强中毒的诊断与救援研究进展[J].广西医学,2002,24(12):1979-1984.

(收稿日期:2011-12-01)

Microlab FAME 全自动酶免分析仪检测的影响因素及质量控制

赵飞雪(湖南省长沙市血液中心检验科 410001)

【关键词】 全自动酶标分析系统; 酶联免疫吸附试验; 质量控制

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.087 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)13-1677-02

酶联免疫吸附试验(ELISA)是血站血液筛查传染病项目的常用检测方法。由于血站 ELISA 检测对设备要求通量大,一般均采用全自动检测设备进行检测。费米(FAME)全自动酶免分析仪是瑞士哈美顿公司生产的完全自动化的酶标处理系统,1997 年获得美国 FDA 许可,用于血站筛查实验室^[1]。其改变了传统的手工法试验,实现了操纵过程的自动化和标准化,减少了人力和时间,提高了工作效率。但由于 ELISA 试验水平受试剂盒品质、操作过程和反应条件的影响,可造成试验结果变异过大,造成假阳性或假阴性结果,带来不良后果。本文就 FAME 全自动酶免分析仪的性能特点、检测影响因素和质量控制进行初步讨论。

1 FAME 全自动酶免处理系统的性能特点

FAME 采用模块化设计,并行工作模式,双洗板模块。集自动加试剂,孵育,洗板,读板于一体,全程采用电脑控制。该仪器可同时处理不同 ELISA 试验项目,实现了多任务、多通道平行处理的检测模式。硬件上集成了液体水平检测技术、体积与重量传感、光学位置传感等技术,能够真正控制检测的全过程控制。软件方面,该仪器对酶联免疫的各个步骤都有微机编程,使处理过程在严格控制下进行,使得每项检测的条件几乎一致,保证了操作的稳定性。与常规方法比较,FAME 分析仪的其主要的性能特点是可提高检测的精密性、灵敏度和特异性,从而降低了由输血传播疾病的危险,增加了输血的安全系数。

FAME 分析系统得出的结果重复性好、精密度高、结果稳定可靠。以乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)0.5 U/mL 质控血清,抗-HCV 2 ncu/mL 质控血清及抗-HIV 2 ncu/mL 质控血清作为质控物,分别收集 3 项试验 FAME 程序和常规程序连续 20 次试验质控值,求每一质控血清值相对于 cut off 值的比率,比较 FAME 和常规手工操作的精密性。FAME 结果质控值的摆动范围变窄,SD 和 CV 值均小于常规结果质控值的 SD 和 CV 值(FAME 程序的 CV 分别是 20.12%、20.23% 和 13.08%,常规程序的 CV 分别是 47.24%、28.44% 和 24.96%),FAME 程序的应用改善了 ELISA 试验的精密性^[2]。

FAME 系统与常规操作相比可以减少非特异反应,并且

提高试剂的灵敏度。有研究用均为华美生物工程公司生产的 HBsAg、抗-HCV;厦门新创公司的抗-HIV(夹心法)试剂比较 FAME 和常规方法的,得到 FAME 的非特异性反应分别为 0.037、0.074 和 0.037,常规操作的非特异性反应为 0.33、0.37 和 0.59^[2]。同时,多中心的评价研究表明^[3-4],与常规方法比,FAME 分析系统还可显著地提高试剂的灵敏度,可以将 HBsAg 的灵敏度由 92% 提高到 93%,丙肝抗体的灵敏度由 93.7% 提高到 98.7%。

2 影响 FAME 全自动酶免分析仪检测的因素

ELISA 反应涉及的影响因素很多,反应条件要求高。FAME 全自动酶免分析仪采用全自动处理,分析参数的设计和检测过程中的每一个环节都会对结果产生影响。实验室应该根据实际条件和情况对分析参数进行优化设计,以最大限度地减少系统误差,控制随机误差。分析前中后各环节进行严格把关,遵循规范化操作。除了试剂的质量、洗版和显色等影响因素之外,还有一些影响因素容易被忽略。

标本的质量直接影响检测结果的准确性,ELISA 试验的理想标本是收缩良好的非溶血、非脂血且离心充分的血清样本。但在血站日常工作中,往往采用肝素抗凝血样,其抗凝效果好、配制和使用方便而被首选。但肝素抗凝血随血样保存时间和温度改变而有所变化,稳定性差。若肝素比例不够或标本保存时间较长时,样本经 FAME 孵育后会可能发生纤维蛋白析出现象,使得酶标板微孔中呈现凝胶状,影响检测结果,甚至导致 FAME 吐板。

加样编程中,加样高度的设计和优化对结果也会影响检测结果。仪器默认设置的加样高度可能不是最佳高度,只能作为参考。若加样高度太小,易在针尖悬挂小液滴,加样不准确。若加样体积太小,则可能发生漏加现象导致假阴性。若高度太大则会发生交叉污染。研究显示加样高度 8.1~9.1 mm 对检测结果影响较大,特别是抗-HCV 检测,可能出现假阴性结果。当加样高度大于 9.1 mm 时,CV≤15%。

根据 FAME 分析仪的说明书,加酶温育的时间是 60 min。但是在 22℃ 室温下,酶从进入 FAME 孵育巢后需要约 7 min 温度才能升到 37℃,酶的活性有一个从低到高的过程。因此

若完全按说明书操作,则可能导致在设定温度下的反应时间不够。研究表明^[5],若延长加酶温育时间至 64 min 阳性质控对照和弱阳性标本 OD 值的增加幅度超过 10%,中阳性标本 OD 值增加 8.5%,强阳性标本增加 5.5%。阴性对照标本的 OD 值变化无统计学意义。

洗涤液温度对保证 FAME 的洗板效果及检测结果的重复性有重要意义。研究发现,若洗液的温度下(小于 14℃)较低,则 FAME 的洗板效果会减弱,使得阴性样本的检测曲线变宽,脂血严重的样本可能会出现假阳性。因此,冬季有必要对洗液桶进行适当预温,使其达到 18℃后再用于检测^[6]。

3 质量控制

科学合理的质量控制是保证检验结果准确可比的基础,实验室应该根据《医疗机构临床实验室管理办法》、ISO 15189:2007《医学实验室-质量和能力的专用要求》和美国临床化学标准化委员会(CLSI)的相关文件指南以及实验室的实际情况进行合理的质量控制。

3.1 方法确认和性能验证 对于配套的检测系统,实验室在使用前应该对 FAME 进行性能验证。目前大多数实验室采用的都是非配套系统,因此需要建立 FAME 检测仪与所用试剂构成的新系统的性能数据,主要包括以下 2 个方面。

重复性研究(精密度研究):主要是指接近临界值浓度分析物的重复性实验,其目的是为确定检测方法的临界值浓度,并明确该临界值正负某一百分数浓度范围是否位于临界值 95%区间内。具体方案可参考:(1)制备足够 20 次重复检测的同一份样品,分别为处于临界浓度、高于临界浓度 20%和低于临界浓度 20%的样品。(2)重复检测样品 20 次,确定每一份样品结果为阳性和阴性的百分比。(3)评价临界浓度是否准确,评价+20 至-20%的浓度范围是否包含于、位于或者超出这种方法的 95%区间。

准确性研究(方法间比较)方法:另一种定性方法(如使用者目前正在使用的方法)、“金标准”方法、某种定量方法或临床诊断。评价用样本量要足够大、稳定,两种方法同时进行检测。样本数量取决于评价者的目的。作为最低要求,检测要持续到至少用比较方法获得 50 个阳性样品。并且至少用比较方法获得 50 例阴性样品以确定此种检测方法的特异性。

3.2 室内质量控制 ELISA 是一种定性实验方法,每块板应该有 2~3 份弱阳性质控,2~3 份阴性质控,并随机放置于血液标本中间。若阳性标本的室内质控是检测精密度的敏感窗口,也是提示试验是否有效的重要标志。卫生部 2006 年颁布的《血站实验室质量管理规范》中强调应加强对关键控制点的识别与监测。阳性和阴性质控物质通常可以从试剂盒厂家获得,但是低值弱阳性血清的通常需要另外购买或者实验室自己制备。购买或者自制的质控血清要求性能稳定,瓶间差小,较

长期内效价不变,其理化性质应与患者样本近似,才能有效地起到监测作用。

传统的 ELISA 室内质控采取定量检测的质控方法,计算质控血清的 S/CO 的均值 $\bar{X}$ 和标准差 SD ,绘制控制 L-J 质控图,运用 Westgard 质控规则进行监测。目前有研究认为定性检测质控图应该使用优登图。每一个定性检测程序应包括一个阴性和一个阳性指控物;对于产生分级或滴度结果的检测程序应分别包括阴性控制物和具有分级或滴度反应性的阳性质控物^[7]。

3.3 室间质量评价(EQA) EQA 是外部质量控制工具,可以帮助实验室提高检测质量。积极参加卫生部临检中心组织的 ELISA 检验的室间质评。按照部中心规定的时间申请 EQA,并按规定对质控标本进行检测,将检测结果反馈给中心。部临检中心经统计分析,将评价结果寄回各实验室。随着 EQA 技术的不断改进,通过互联网实验室不仅可以了解自己目前的检测水平,还可以知道本实验室与全国各实验室相比的优势和差距,及时发现问题并设法改进,不断提高检验质量。

3.4 全面质量控制 除此之外,实验室还应该对 FAME 检测仪的各个环节严格把关,正确采集、处理和保存标本和试剂,建立仪器的标准操作程序和常规的质量控制程序,对仪器检测的相关人员进行培训,熟悉仪器性能,了解常见问题的解决方法和仪器的日常维护保养。对仪器的检测进行全面质量控制。

参考文献

- [1] 杨勇毅.全自动酶免分析系统工作流程的优化[J].中国输血杂志,2007,20(2):133-135.
- [2] 李慧,惠永庆,刘世荣,等.酶联免疫吸附性试验全自动与手工操作方式比较[J].中国输血杂志,2000,13(2):97-98.
- [3] Young H, Moyes A, Seagar L, et al. Novel recombinant antigen enzyme immunoassay for serological diagnosis of syphilis[J]. J Clin Microbiol, 1998, 36: 913-917.
- [4] 邓晓琴.利用 ML FAME 进行室内质控和制作质控图[J].临床输血与检验,2007,9(1):72-73.
- [5] 帅敏,张玲,邓晓琴,等.延长实验温育时间对 FAME 全自动酶免分析结果的影响[J].临床输血与检验,2008,10(1):28-30.
- [6] 许斌,朱虎定.ELISA 检测 HBsAg 影响因素的探讨[J].临床检验杂志,2000,18(4):232.
- [7] 胡丽涛,王治国.临床检验定性检测的质量控制[J].检验医学,2011,26(8):564-566.

(收稿日期:2012-02-27)

生化试剂盒线性范围高值的简单评价方法

于 雷,张天麓,王蕴峰,王淑娟(中生北控生物科技股份有限公司,北京 102200)

【关键词】 生化试剂盒; 线性范围; 高值; 评价方法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.088 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)13-1678-02

临床检验工作中经常碰到需要对新试剂盒进行考察的问题,而线性范围是生化试剂的一个重要指标^[1]。确定线性范围的实验需要由低到高一系列浓度的样本,其中高浓度的样本一

般是通过临床搜集或者通过普通浓度的样本添加纯物质来获得,前者具有一定的难度,后者成本较高,而且获得起来也未必方便。因此需要建立一种方法,可以简单有效地对试剂盒的线