

全自动酶联免疫检测仪与手工酶联免疫检测的比对评价

朱美芹, 王莉莉(江苏省南京鼓楼医院集团宿迁市人民医院检验科 223800)

【摘要】 目的 评价 Tecan Freedom Evolyzer-2200 全自动酶联免疫仪与手工操作后 BIO-RAD680 酶标仪检测临床标本结果的一致性。方法 用高浓度的乙型肝炎表面抗原(HBsAg)了解仪器的交叉污染情况,采用 1 IU/mL 的 HBsAg 质控血清检测其孔间重复性和板间重复性,随机抽取 50 份临床标本经该仪器和手工加样操作 BIO-RAD680 酶标仪测定乙型肝炎病毒 5 项指标,测定结果进行比对。结果 经试验该酶联免疫仪器的拖带污染在低水平,与手工操作比对 50 个项目指标检测结果总的符合率达 96.4%。结论 该仪器可以满足临床实验需要。

【关键词】 全自动酶联免疫仪; 拖带污染; 比对

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.01.009 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)01-0021-02

Comparative evaluation on detection of automatic enzyme instrument and manual enzyme detection ZHU Mei-qin, WANG Li-li (Department of Clinical Laboratory, Suqian Municipal People's Hospital, Nanjing Gulou Hospital Group, Jiangsu 223800, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the consistency of the detection results of clinical specimen by the Tecan Freedom Evolyzer-200 fully automatic enzyme instrument and the BIO-RAD680 with manual operation. **Methods** The high concentration of hepatitis B surface antigen (HBsAg) was adopted to understand the cross contamination situation of the instrument, 1 IU/mL HBsAg quality-control serum was adopted to detect the repeatability among holes and among plates. The random 50 clinical specimens were detected the 5 indexes of the liver function by this instrument and BIO-RAD680 enzyme-labelling instrument with manual sample-adding, the determination results were conducted the comparison. **Results** By testing, the towing pollution of this enzyme immunoassay instrument was in the low level, comparing the 5 indexes of hepatitis B in 50 clinical specimens measured by the manual operation, the total coincidence rate was 96.4%. **Conclusion** This instrument can meet the needs of the clinical trials.

【Key words】 fully automatic ELISA instrument; towing pollution; comparison

随着医学科技的不断发展,临床标本的检测均采用自动化、程序化,为适应检测大量标本的需要,本院 2013 年 3 月购进了瑞士 TECAN 公司的 FREEDOM EVOLYZER-2200 型全自动酶联免疫仪。该仪器加样系统采用的是非一次性的 Teflon 涂层钢针,容易造成拖带污染^[1-2],为了保证检测结果的准确性,经厂家校验稳定后,对钢针加样系统及洗板机进行拖带污染检测,同时应用 TECAN FREEDOM EVOLYZER-2200 全自动酶联免疫仪检测临床血清标本,并与手工方法操作比对,以便能够建立该检测仪与所用试剂构成的新系统的性能数据^[3]。具体报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本 1 IU/mL 的 HBsAg 质控血清购自北京金豪药业有限公司,批号 20120705;乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阴性混合血清及高浓度的 HBsAg 阳性混合血清各 24 份(分 3 组,每组 8 份)和随机抽取 50 份血清标本均来自宿迁市人民医院临床患者。

1.1.2 仪器 TECAN FREEDOM EVOLYZER-2200 型全自动酶联免疫仪,瑞士 TECAN 公司生产;美国 BIO-RAD680 酶标仪及 KHB ST-36W 洗板机。

1.1.3 试剂 乙型肝炎病毒 5 项检测试剂盒,北京万泰药业有限公司生产。

1.2 测定方法

1.2.1 交叉污染测定^[4] 将 HBsAg 阳、阴性混合血清各分为 3 组,每组均为 8 管,以 H 表示阳性标本(阳性混合血清测

定的吸光度在 3.0 以上),以 L 表示阴性标本,使每根加样针按 H1、H2、H3、L1、L2、L3 的顺序加样。实验结果以公式 $[(L1-L3)/H \times 100\%]$ 计算污染率^[5]。

1.2.2 两种方法比对检测^[6] 手工操作严格按试剂说明书进行;全自动酶联免疫仪操作程序严格按试剂盒说明书设置。全自动酶联免疫分析仪与手工操作的测定结果进行对比,50 份临床标本酶联免疫分析仪与手工操作同时进行。孔间重复性的检测和板间重复性的检测均采用 1 IU/mL 的 HBsAg 质控血清进行试验。孔间重复性的检测用连续 20 孔质控血清的 S/CO 值;板间重复性的检测观察连续 20 板的 S/CO 值,计算 CV 值。

1.2.3 拖带污染的判断标准^[7] 拖带假阳性(NP):板条按 A1~A12 顺序同一横排连续有 2 孔以上 OD 值大于临界值(经过复试只有一个为阳性的)。

2 结果

2.1 全自动酶联免疫仪各通道交叉污染情况 见表 1。

2.2 50 份临床标本手工操作与全自动酶联免疫仪检测结果比较 见表 2。

表 1 HBsAg8 个通道的交叉污染率(%)

针号	Tip1	Tip2	Tip3	Tip4	Tip5	Tip6	Tip7	Tip8
污染率	0.92	0.18	0.29	0.32	0.59	0.53	0.53	0.60

2.3 用 1 IU/mL 的 HBsAg 质控对孔间重复性和板间重复性的检测 见表 3。

表 2 50 份标本全自动酶联免疫仪与手工操作测定结果符合率

手工操作	酶联免疫仪										总符合率	
	HBsAg		抗-HBs		HBcAg		抗-HBc		抗-HBe			
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
+	9	0	34	1	3	0	5	4	10	3	61	8
-	1	40	0	15	0	47	0	41	0	37	1	180
符合率(%)	98		98		100		92		94		96.4	

表 3 全自动酶联免疫仪与手工损伤检测重复性评价

项目	标本数	S/CO 值($\bar{x} \pm s$)	酶联免疫仪(CV%)	手工(CV%)
孔间重复性	20	6.717 \pm 0.967	12.40	15.39
板间重复性	20	6.728 \pm 1.212	19.11	21.02

3 讨论

本次实验中的交叉污染实验根据陈亚军等报道^[5]的方法设计, HBsAg 阳性标本混合血清、HBsAg 阴性标本混合血清各 3 组, 每组 8 管, 使仪器的 8 根加样针均能连续 3 次加高浓度样品(HBsAg 阳性标本混合血清的吸光度平均值为 3.712)后, 连续 3 次加低浓度样品(HBsAg 阴性标本混合血清的吸光度平均值小于 0.020), 同时保证了每根加样针加在同一排, 洗板的顺序也同样由高浓度向低浓度。如此设计使实验不仅反映加样针所携带的标本和试剂交叉污染情况, 也能反映洗板机探针引起的污染误差。通过本实验该仪器的交叉污染率在 0.18%~0.92%, 比陈亚军等^[5]报道还要略高。将此酶联免疫仪与手工操作对照实验, 同时测定了 50 例临床标本的乙肝 5 项指标, 总的符合率为 96.4%, 其中, HBsAg 有一个标本酶联免疫仪测定为阳性而手工测定为阴性, 经双孔复测为阴性, 因其前一孔为阳性标本, 按拖带污染的判断标准此标本属于拖带假阳性。由于酶联免疫吸附测定(ELISA)灵敏度极高(HBsAg 仅为 1 ng/mL), 健康人群乙型肝炎感染人群达 10%, 作者对在本院就诊检查乙肝标志物患者作统计显示每日 HBsAg 阳性率在 12.0%~53.3%, 平均阳性率在 28.2%。如此高的 HBsAg 阳性率, 试剂原因如 HBsAg 加样量为 100 μ L, 一次性洗板, 以及加样系统采用的是非一次性的 Teflon 涂层钢针等都容易造成携带污染。因此, 要优化程序以进一步降低由于试剂原因及携带污染产生假阳性的因素, 比如加样后应增加冲洗探针的次数, 同时增加每次洗板的洗液量和次数, 精确探针的加样量, 调整加样针对酶标板的分配速度和深度等。抗-HBs 有一个标本手工操作测定为阳性而全自动酶联免疫仪器测定为阴性, 但测定值均与 CO 值(0.105)相近, 分别为 0.144 和 0.091, 在预期误差范围内。抗-HBe 有 4 个标本手工操作测定为阳性而本仪器测定为阴性, 后经双孔复测均可判断为阴性。原因分析, 在 ELISA 乙肝标志物检测中抗-HBe 检测与抗-HBc 的检测方法一样, 都是酶联免疫一步竞争法, 操作时差较长, 使先加样的标本阳性率增加^[8]。本次研究中, 抗-HBc 结果不相符的 3 个标本及抗-HBe 结果不相符的 4 个标本都在前 20 个标本中, 再次手工双孔复测均为阴性或弱阴性结果, 这说明本仪器自动加样时间短, 缩短了加样时差, 弥补手工加样时差对抗-HBe 和抗-HBc 一步竞争法结果的影响, 在这点上全自动酶联免疫仪优于手工操作。用 1 IU/mL 的 HBsAg 质控血清进行孔间、板间重复性试验, CV% 值均低于手工操作测定

值, 说明该全自动酶联免疫仪与手工相比重复性有一定程度的提高。

ELISA 测定不同于一般的临床化学或临床血液学检验, 其某一特定的测定批次中不同反应孔因标本和试剂分配时间或分配量的不一致, 会造成明显的检测误差^[9-10]。中国临床免疫检测仪器不断发展进步, 从以前的半自动酶标仪到现在的全自动酶联免疫仪^[11]。目前许多检验科免疫室都拥有这两种仪器, 在同时使用。但是由于检测系统的不同, 结果是否具有可比性关系到检验科免疫室的检测质量, 所以每年都应进行仪器之间的比对。本研究通过比对实验对 TECAN FREEDOM EVOLYZER-2200 全自动酶联免疫仪的性能进行评价, 实验结果表明该仪器可以满足临床工作需要。但手工操作方法与全自动酶联免疫分析系统操作方法存在一定的预期偏差^[12], 特别是处于 CO 值附近临床意义可疑的——称之为“灰区”的检测结果, 不易判定时, 需要考虑两种操作方法间的预期偏差, 使同一份标本在不同操作系统的检测结果保持一致, 保证检测结果的准确稳定。本实验室刚引进此仪器, 要求操作人员严格按照仪器和试剂盒说明书进行相关操作, 在使用过程中对本仪器将进行更多的性能检测, 加强仪器的保养与维护, 确保给临床提供更准确的检测报告。

参考文献

- [1] 朱安友, 王凤超, 杨萍, 等. 全自动酶免分析仪加样中拖带阳性的解决方法探讨[J]. 蚌埠医学院学报, 2010, 35(8): 817-818.
- [2] 刘如莹. 加样针污染致不同项目拖带情况分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(2): 480-481.
- [3] 赵飞雪. Microlab FAME 全自动酶免分析仪检测的影响因素及质量控制[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(13): 1677-1678.
- [4] 陶义训, 吴文俊. 现代医学检验仪器导论[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 111-115.
- [5] 陈亚军, 史桂兰, 冯岭, 等. TECAN RMP 150 型全自动酶免仪应用评价[J]. 临床和实验医学杂志, 2007, 6(10): 33-35.
- [6] 邹晓萍, 骆展鹏, 黎美君, 等. 大型酶免实验检测系统厂家校验后确认方法的建立及应用[J]. 中国卫生工程学, 2011, 10(2): 124-129.
- [7] 胡成义, 刘洋. 全自动酶免仪结果污染因素的分析[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(10): 940.
- [8] 曹向红, 王胜虎, 李懿, 等. 操作时差对竞争酶联免疫吸附试验法检测抗-HBc 结果的影响[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(4): 210-212.
- [9] 李彩霞, 史飞, 李佳英. 全自动酶标仪参数的设置对 HBe-Ab 和 HBcAb 测定的影响[J]. 中国医学检验杂志, 2009, 9(2): 98.
- [10] 曾俊, 张丹桂, 王革非, 等. 酶标仪参数及性能检测[J]. 汕头大学医学院学报, 2008, 21(3): 177-178.
- [11] 王新波, 魏哲. FAME 全自动酶免分析系统的应用[J]. 临床输血与检验, 2010, 2(2): 187-189.
- [12] 姚勇, 相恒泉, 石圆圆. 全自动酶免分析系统与手工操作方法的应用比较[J]. 临床血液学杂志, 2012, 25(8): 482-487.