

全自动加样系统对检测乙肝标志物 的影响

目前大多数医院利用手工进行检测乙型肝炎标志物,为了使实验室在最短的时间内完成最大的工作量,我们对 Xantus-Lisa 全自动加样系统与洗板机、酶标仪进行优化设计,寻找最佳的工作模式来提高乙肝检测的灵敏度和特异度。

一、材料和方法

1、仪器

Xantus-Lisa 全自动加样器 1 台(瑞士 Sias 公司), PHomo 酶标仪 1 台、iWO 洗板机 3 台(均为安图实验仪器公司),操作软件为中文版的安图加样软件和 Autosoft 分析管理软件。

2、试剂

乙型肝炎 5 项血清标志物(HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(绿科生物公司),质控血清由卫生部临床检验中心提供,批号 0810。

3、方法

标本通过加样器实行标本和酶的 5 板快速连续分配,经人工转运微板到水温箱,通过温育、洗板、比色、结果使用 PHomo 酶标仪进行读板判读,并通过 Autosoft 分析软件对结果进行自动化处理。

二、结果

1、Xantus-Lisa 工作设计 我们根据一般科室的工作量设计出一套 90~180 份标本的大容量的工作表,。为方便表述将乙型肝炎 5 项血清标志物(HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb)依次用 1、2、3、4、5 表示。通过编制这种大容量的工作表使标本量在 90~180 份之间均可使用,本工作方案不必根据标本量的多少再行编制不同的工作计划表。这样设计的工作表经模拟后表现出较完美的阶梯式的运行图。

2、Xantus-Lisa 配套的洗涤模式的选择和优化 选择临床标本 400 份(其中 200 份经手工法验证 HBsAg 阳性,S/CO1.01~88.6,及 HBsAg 浓度 0.5ng/ml 的临界值血清。固定孵育温度(37±2)°C,时间(25±5)min,显色时间 8~10min,主波长 450nm 和参比波长 620nm 比色。泵动力高注低吸,浸泡时间 20s,吸液高度 0.1mm,洗涤高度距微孔底部 3.0mm 等参数不变,分别采用不同洗涤模式进行洗涤,检测 HBsAg。结果显示,模式四(洗液总体积 320 μl,洗板次数 4 次,底部扫洗体积 300 μl,连续洗涤体积 300 μl)敏感度、特异度和准确性最高,见表 1。

表1 不同洗涤模式下的 HBsAg 检测结果

模式	洗液总体积 (μ l)	洗板次数 (次)	底部扫洗 (μ l)	连续洗涤 体积(μ l)	阳性率 (%)	敏感度 (%)	特异度 (%)	准确性 (%)	0.5 ng/ml S/CO均值
模式一	320	5	300	0	50	100	96	98	1.13
模式二	320	5	0	300	50	100	97	99	1.12
模式三	320	5	300	300	49	99	100	99	0.81
模式四	320	4	300	300	50	100	100	100	1.02
模式五	320	4	100	300	50	100	92	96	1.13
模式六	320	3	100	500	50	100	92	96	1.26

3、对优化模式的检验 取 HBsAg 不同浓度的质控血清采用模式四分别测定 20 次,通过计算其 S/CO、s 及变异系数(CV),并与手工法进行比较来验证方法的灵敏度和重复性,见表 2。采用优化后的洗涤模式后,检测不同浓度的 HBsAg 质控血清的 S/CO 均值均显著高于手工法($P < 0.05$),且 CV 值均低于手工法。

表2 优化后的仪器法检测不同浓度的 HBsAg 质控血清与手工法比较

浓度 (ng/ml)	测定 次数	仪器法			手工法			P 值
		S/CO	s	CV(%)	S/CO	s	CV(%)	
0.5	20	1.12	0.13	16.4	0.80	0.15	23.3	< 0.05
1.0	20	1.78	0.21	10.3	1.13	0.26	20.4	< 0.05
2.0	20	4.20	0.28	9.1	2.98	0.29	14.5	< 0.05
5.0	20	9.70	0.31	11.3	6.54	0.41	16.8	< 0.05

三、结论

在全自动加样系统及配套外围设备组合分析中,采用不同的工作模式的设计会带来不同的工作效率和质量,所以要在实践中不断摸索和优化,寻求一种最佳的模式使仪器发挥最大的效率,较手工操作缩短很大一部分时间,提高了工作效率。而优化后的模式经标准品的验证,与手工操作相比 S/CO 均有所提高,说明使用加样器及配套设行在灵敏度方面较手工法高,而在 CV 变异上又普遍低于手工法。