

2.5 检验结果 根据菌落特征、革兰染色观察、生化反应、血清学鉴定等结果判定,本次食物中毒的致病菌为鼠伤寒沙门菌和蜡样芽孢杆菌混合污染。

3 讨论

这起事件发生在秋季高温天气,家宴操作属露天操作,卫生状况差,细菌容易滋生繁殖。根据现场调查结合患者临床症状体征及抗菌治疗效果,分析此次中毒为细菌性食物中毒。根据病例临床表现、实验室检测结果及流行病学特征,确定本次食物中毒是由于鼠伤寒沙门菌和蜡样芽孢杆菌混合污染食物而引起。

沙门菌是人及动物重要的肠道致病菌,人通过食用含大量沙门菌污染的肉类、蛋类等食物而发病^[3],由沙门菌引起的食物中毒全年均可发生,但主要发生在 5~11 月份。在中国,由沙门菌或鼠伤寒沙门菌所致食物中毒常有报道^[4-5]。蜡样芽孢杆菌在通常情况下并不致病,当其污染食品且菌量达到 10^6 CFU/g 时,可引起食物中毒^[6],对蜡样芽孢杆菌引起的食物中毒近年来有所报道^[7]。但由这 2 种致病菌混合感染所致的食物中毒尚未见报道。

本次食物中毒事件提示卫生工作人员要大力宣传《食品安全法》,加强对农村日常卫生监督管理和指导,做好家宴场所卫

• 个案与短篇 •

生清洁工作,做好餐具、饮具、厨具等用具的消毒工作;原料与成品分开、成品与半成品分开存放,防止交叉污染。对炊事人员进行培训,并要求持证上岗,同时进行全民健康教育,广泛宣传食物中毒的防治知识,减少食物中毒事件发生。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. GB/T 4789-2003 食品卫生检验方法微生物部分[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [2] 何晓青. 卫生防疫细菌检验[M]. 南昌:新华出版社,1989.
- [3] 王季午,马亦林,翁心华,等. 传染病学[M]. 4 版. 上海:上海科技出版社,2005:579-589.
- [4] 李卫东,刘晓娟,郑秀清,等. 1 起由沙门氏菌引起食物中毒的调查分析[J]. 医学动物防制杂志,2011,1(27):56-58.
- [5] 许华,廖周勇. 1 起由鼠伤寒沙门菌引起食物中毒的调查与实验室分析[J]. 现代预防医学杂志,2010,20(37):3944.
- [6] 北京市卫生防疫站. 卫生防疫微生物检验操作规程[M]. 北京:北京出版社,1991:232.
- [7] 陈秀丽,张得平,冷军. 1 起由蜡样芽孢杆菌引起食物中毒调查分析[J]. 公共卫生与预防医学杂志,2007,5(18):69.

(收稿日期:2011-05-11)

浅析全自动酶联免疫分析系统的发展趋势

张茂海

(湖北省大冶市人民医院检验科 435100)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.071

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2011)14-1655-02

酶联免疫吸附试验(ELISA)就是用一种抗原或抗体吸附到载体上,最后通过一定的方式使酶标记抗体或抗原与之结合或被阻止与之结合,然后通过显色来检测目标抗体或抗原是否存在的试验。由于 ELISA 成本低、操作较简便、灵敏度和特异性很高,因此已经成为现代检验医学基本的、常规的检测技术。其检测的操作方式也从手工到半自动又到全自动分析系统在不断改进。尽管以后出现了 PCR 和时间分辨荧光免疫技术,由于前者的检测原理和检测对象与 ELISA 有很大不同;而后者尽管灵敏度进一步得到提高,但除标记物之外,其检测程序几乎与 ELISA 相同,且成本相对较高,都难以替代 ELISA。本文对 ELISA 技术的历史现状及发展趋势作一简要分析。

1 ELISA 检测分析系统的发展历程及现状

最早的 ELISA 反应载体既有检测乙型肝炎血清标志物的多孔酶标,也有做人绒毛膜促性腺激素(HCG)试验的单一试管。发展到现在,反应载体最多见的是 48~96 孔的酶标反应板。操作从开始的完全手工、目测,到后来的半自动的洗板机、ELISA 检测仪。半自动分析系统以芬兰雷勃 MK 系列为代表,它们几乎装备到所有医疗卫生防疫机构及血站系统。但是随着现代医疗水平的提高,其检测速度、加样一致性、加样精度、反应时间的孔间差却无法上述各机构实验室日益发展的需要。因为二级以上医院每天要完成约 500~1 500 个或更多个肝炎、艾滋病、梅毒等病原体以及致畸原标志物的检测,这种半自动检测系统每天每个实验室完成 2 次试验已是十分的紧张,更不可能随机去完成 1 个标本或 1 个项目的实验。以后仪器的改进从样本的前处理到加样、洗板、检测一体机,都在努

力弥补上述不足、减少上述误差。这些仪器包括从瑞士哈美顿公司的 MCRO 系列和费米系列到意大利的爱丽斯以及日本的同类机型^[1]。各公司都不停地在中国推广他们的各种型号的全自动仪器,但收效远不及以雷勃 MK 系列为代表的半自动检测系统当时在中国掀起的浪潮。即使有些大的医疗机构购买了这类仪器,但其真正的使用状况也不容乐观。

2 全自动酶免分析系统发展缓慢的原因及应有的取向

全自动酶免分析系统发展到现在已经举步维艰。其主要原因是从半自动的 MK 系列到全自动的费米系列等仪器的设计都受到 48~96 孔酶标反应板制约。所以不管是半自动还是全自动检测系统,都没有从根本上解决单人份、单项目的随机化快速检测。而全自动检测仪器就更为显著,因为一旦仪器的板架位被饱和占据,在这一反应周期内就无法再进行相同的试验。随之而来的是 8 孔和 12 孔的加样头要求每次批应有 8 和 12 的倍数个样本,否则便造成浪费。另外就是难以实现多孔加样头的液面探测功能,对原始管的直接上机要求太高。尽管现在每根加样针具有独立液面检测功能的多针加样头已有生产,即便这样仍然无法完全消除各孔之间反应时间上的差别。装备这样的机器之后,一天也最适做 2 批,难以实现随机化。所以费米系列等全自动仪器也多在血站及少数的大医院并不良性的运转着。而这种高投入设备使用的好处就是:降低劳动强度,提高加样精度及进一步减少孔间差。

全自动酶免分析系统的发展应如何取向,许多文献对这个问题都有过提及^[2-4],但多是对检测仪器的现状以及如何更好地使用好这些设备进行讨论,很少从临床实际工作的角度提出

应该需要什么样的设备。前面讲过 ELISA 有过单一试管法。手工单一试管法来做两对半等检测项目是不可想象的,但如果用全自动仪器来完成完全是可行的。就像多孔酶标板是手工和半自动仪器高效工作的选择一样,单一试管法就是全自动酶免分析仪的选择。生产企业应同时吸收全自动化学发光和全自动生化分析仪的设计原理来设计一台全自动酶免分析仪。改酶标板为单一标记比色反应管、预包被、条码或色标识别不同的检测项目比色反应试管。如果用快速临时包被,其整个检测过程就同化学发光,只要改变检测光源系统,增大比色反应管贮存仓,采用生化分析仪的原始管上机。这样一台类似全自动生化、化学发光分析仪的全自动酶免分析仪在二级以上医院推广是不成问题的。

在检测病原体、肿瘤标志物、内分泌激素及其代谢产物方面,有许多免疫学方法^[4-7],从凝聚试验到免疫透射,从散射比浊法到胶体金层析法又到酶、放射、发光标记技术等方法在临床的各个方面运用着,检测灵敏度在不断地提高。后 3 种方法中,放射免疫标记技术需要面临的是操作繁琐、废物处理等问题,发光标记技术的成本难以降低;现行的酶标记技术难以单人份单项检测。为了提高病原体、肿瘤检测的特异性,多项标志物的检测是很有帮助的。只有全自动、单项目、随机化的酶

• 个案与短篇 •

联免疫分析仪才能满足敏感性高、成本低、快速、多方面地检测从而达到提高其检测诊断特异性的目的。

参考文献

[1] 刘国霞,曾宪垠. 酶联免疫吸附测定技术新进展[J]. 河南畜牧兽医,2001,22(7):13-14.
[2] 刘风华,刘锋,邓延倬,等. 现代免疫分析技术研究进展[J]. 分析科学学报,1995,11(1):70-80.
[3] 朱承谟. 标记免疫分析技术进展[J]. 标记免疫分析与临床,2003,9(3):176-179
[4] 李金明. 免疫测定技术的应用和发展趋势[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册,2000,29(5):93-94.
[5] 王长海,吕长坤. 梅毒螺旋体感染筛选方法的临床研究[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(6):609-610.
[6] 石小可,任君,毛雁飞,等. 电化发光仪测定血清与胸水癌胚抗原对良性胸腔积液的鉴别[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(11):1236-1237.
[7] 贾立永,郑磊,王前,等. 电化学免疫传感器及其在临床检验中的应用进展[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(11):1329-1330.

(收稿日期:2011-02-20)

EDTA-K₂ 抗凝剂导致血小板假性减少 1 例的分析

刘观斌,田新村

(山东省滨州市中心医院检验科 251700)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.072 文献标识码:C 文章编号:1673-4130(2011)14-1656-02

将 EDTA-K₂ 作为血细胞计数的抗凝剂,已在临床应用多年。最近笔者在工作中发现 1 例由 EDTA-K₂ 抗凝剂引起血小板假性减少的典型病例,现介绍如下。

1 病例资料

患者,男性,47 岁,无既往病史,2011 年 1 月 2 日因皮肤红色斑疹来院就诊。实验室检查:(1)无肝、脾、淋巴结肿大;(2)血常规:白细胞(WBC)5.12×10⁹/L、血红蛋白(Hb)150 g/L、血小板(PLT)33×10⁹/L。审核报告发现 PLT 减少,立即推片复检。经瑞氏染色后镜下发现成团血小板,EDTA-K₂ 的抗凝血涂片不应该出现聚集的血小板(见图 1)。

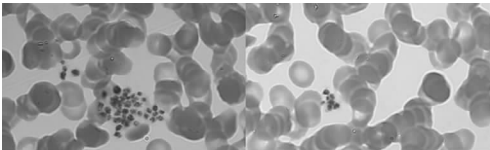


图 1 EDTA-K₂ 的抗凝血涂片出现凝集的血小板

液稀释)、肝素和 EDTA-K₂ 抗凝,并立即测定,结果见表 1。可见,采血后立即测定 PLT 可大大降低抗凝剂对血小板假性减少的影响,时间越长影响越大。鉴于以上情况,考虑此患者为 EDTA-K₂ 引起的假性血小板减少。

2 讨论

临床上引起 PLT 偏低的原因很多,该患者检查结果显示凝血系列正常,排除弥散性血管内凝血(DIC)引起消耗性 PLT 降低性疾病;肝脾未及、网织红细胞、乙型肝炎、梅毒、艾滋病;抗链-ASO、类风湿因子、C 反应蛋白(CRP)、抗核抗体(ANA)、红细胞沉降率(ESR)、狼疮细胞、甲状腺系列正常均排除上述原因引起 PLT 减少^[1-3]。

由于 EDTA 对血细胞和 PLT 影响很小,能抑制 PLT 在体外聚集,使 PLT 均匀呈单个颗粒悬浮于血液中,血细胞计数仪是根据 PLT 的体积大小、通过微孔时产生的脉冲数计数的,当 PLT 聚集成较大颗粒时,仪器只识别颗粒大小而不能去辨别颗粒性质,致使多个 PLT 被当成单个计数,或被误认为小红细胞而不纳入 PLT 计数范围,使 PLT 计数降低^[4-7]。该患者血涂片瑞氏染色后发现抗凝血 PLT 聚集现象是引起 PLT 计数减少的直接原因。PLT 聚集成团使得血细胞计数仪不能分辨成团的 PLT,造成假性 PLT 减少。

在此特别提醒临床实验室同行,一旦临床发现此类事件应作以下检查:(1)血涂片观察 PLT 分布及形态;(2)末梢血(稀释液稀释)进行测定;(3)更换抗凝剂进行血细胞计数。特别注意的是:使用任何一种抗凝剂都应尽快进行测定,以减少 PLT 聚集的可能。避免此类事件,使患者不必做进一步检查,减少

表 1 重新采血后 PLT 检测结果(×10 ⁹ /L)				
	立即测定 PLT	0.5 h 后 PLT	1 h 后 PLT	2 h 后 PLT
肝素	233	199	99	45
末梢血	195	—	—	—
EDTA-K ₂	215	59	46	25

—:无数据。

发现此情况后立即给患者重新采血,分别用末梢血(稀释