

• 检验技术与方法 •

某国产全自动 ELISA 分析仪与 Tecan Fame ELISA 系统的性能比较*

包建玲, 唐婧, 孟存仁, 张朝霞[△]

(新疆医科大学第一附属医院医学检验中心, 新疆乌鲁木齐 830054)

摘要: 目的 比较国产艾德康酶联免疫吸附试验(ELISA)分析仪与瑞士 Tecan Fame ELISA 系统的性能, 确定艾德康 ELISA 分析仪在临床免疫检验中应用的可行性。方法 分别对艾德康 ELISA 分析仪与瑞士 Tecan Fame ELISA 系统的加样针、洗板机、酶标仪几个模块进行性能评价, 用称量法检测加样针加样误差和洗板机残留液量; 用蒸馏水、甲基橙比色系统、重铬酸钾和对硝基苯酚, 分别测定酶标仪零点飘移、通道差、灵敏度和准确度; 取 80 例标本进行丙型肝炎病毒抗体检测, 判断两系统检测结果的符合率。结果 艾德康加样系统 $10 \mu\text{L}$ 加样体系加样均值为 $10.164 \mu\text{L}$, 总变异系数(CV)为 3.91%。Tecan 加样系统 $10 \mu\text{L}$ 加样体系加样均值为 $10.223 \mu\text{L}$, 总 CV 值为 2.96%; 两系统酶标仪 8 个通道的零点飘移吸光度值均在 0.0236 ± 0.0038 内波动, 通道差为 ± 0.0029 , 孔间差为 ± 0.0014 , 结果满意; 两系统洗板机洗板残留量比较: 艾德康洗板系统残留量小于 $0.4 \mu\text{L}$, Fame 洗板系统残留量小于 $0.6 \mu\text{L}$; 两系统检测 80 例丙型肝炎患者标本的总符合率为 100%。结论 两系统性能稳定, 结果一致性好, 能够满足临床需要。

关键词: 酶联免疫吸附试验; 酶免疫分析系统; 性能评价

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.08.045

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2014)08-1041-03

The performance comparison between a domestic automatic enzyme immunoassay analyzer and Tecan Fame ELISA system*

Bao Jianling, Tang Jing, Meng Cunren, Zhang Zhaoxia[△]

(Medical Laboratory Center, the First Affiliated Hospital of Xinjiang

Medical University, Urumqi, Xinjiang 830054, China)

Abstract: Objective To compare the performance of Addcare automatic enzyme-link immunosorbent assay(ELISA) analyzer and Tecan Fame ELISA system, and to assess the feasibility of Addcare ELISA analyzer in clinical application. **Methods** The performance of pipetting needles, washers, microplate readers of two different systems were evaluated. Gravimetric method was used to detect pipetting needles errors and washer residues. Distilled water, methyl orange, dichromic acid and p-nitrophenol were used to test the microplate reader's zero point drifting, channel difference, sensitivity and accuracy. 80 specimens were used to test the antibody of hepatitis C virus, then the total coincidence rate of two systems was determined. **Results** The mean value of Addcare $10 \mu\text{L}$ pipetting system was $10.164 \mu\text{L}$, and total CV value was 3.91%. In Tecan system the mean value was $10.223 \mu\text{L}$ and the total value of CV was 2.96%. The absorbance values of zero drifting in two systems were both within 0.0236 ± 0.0038 , differences among channels were ± 0.0029 , differences among holes were ± 0.0014 . Washing system's residues of Addcare were within $0.4 \mu\text{L}$, and those of Fame system were within $0.6 \mu\text{L}$. The total coincidence rate of two systems to test hepatitis C virus antibody of 80 samples was 100%. **Conclusion** The performance of the two systems are stable, and the test results are consistent, which could meet the clinical needs.

Key words: enzyme-linked immunosorbent assay; automatic enzyme immunoassay instrument; performance evaluation

随着进口全自动酶联免疫吸附试验(ELISA)分析系统广泛应用, 国产 ELISA 系统也逐步成熟。尽管自动化的分析系统重复性较好, 精确度和特异性较高, 但是作为操作者必须了解各种仪器性能, 掌握其工作状态才能得出更准确的检测结果^[1]。瑞士 Tecan Fame ELISA 系统各模块性能优良, 已应用于国内多个医学实验室^[2-3]; 国产艾德康 Addcare 1100 全自动 ELISA 分析仪为近几年上市仪器, 因此, 有必要对其系统性能进行验证并与瑞士 Tecan Fame ELISA 系统进行比较^[4]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机抽取本院 80 例丙型肝炎患者的标本进

行病毒抗体检测。

1.2 仪器与试剂 Addcare ELISA 1100 全自动 ELISA 分析仪(烟台艾德康生物科技有限公司), 该仪器为全自动加样、洗板、孵育及酶标系统, 分为前仓、后仓和两仓之间的洗板模块共 3 个部分, 前、后仓各有 16 个孵育槽位, 前仓配备 8 针加样系统, 后仓配 4 针加样系统, 洗板模块具有 3 个洗板位。Tecan 加样系统(瑞士 Tecan 公司)作为前处理系统的为 8 针加样系统, Fame 后处理系统(瑞士 Hamilton 公司)为密闭孵育、洗板、读板系统。甲基橙购自天津市博迪化工有限公司, 对硝基苯酚购自天津市百世化工有限公司。丙型肝炎病毒抗体诊断试剂

* 基金项目: 卫生部医药卫生科技发展研究中心专项课题项目(28-1-13)。作者简介: 包建玲, 女, 检验医师, 主要从事免疫诊断学研究。

△ 通讯作者, E-mail: 285715300@qq.com。

后移,丙氨酸与胱氨酸峰重合分离不好,在 pH=1 溶液中加入 7.5 mL 1 mol/L 的氢氧化钠可使谱峰整体效果好转。

有研究表明^[6],疾病状态下人体内氨基酸水平变化对疾病的临床鉴别诊断以及治疗有重要价值,需要根据不同氨基酸谱给予患者不同的治疗。血浆氨基酸水平受多种因素的调节,如肝脏、胰岛素、生长激素等,其中最重要的影响因素是蛋白质的摄入量。因此,分析血浆氨基酸时惟一可控制的条件就是空腹取血^[7]。本研究通过使用 L-8900 氨基酸分析仪对 400 例健康人的血浆游离氨基酸进行测定,得到氨基酸生物参考区间。另外,所测的 19 种氨基酸中,有 10 种氨基酸水平在不同性别人群中比较差异有统计学意义($P < 0.05$),其中有 7 种都是人体必需氨基酸。除丝氨酸外,其他氨基酸水平都是男性高于女性,这可能是由于男性和女性的饮食偏嗜和生理状态不同。有研究发现,膳食中蛋白质的消化与吸收、肝脏作用、血液氨基酸水平的调节、骨骼肌的作用和氮平衡有着密切的关系^[8]。血浆游离氨基酸是氨基酸在各组织间转运的主要形式。肝脏通过维持血浆氨基酸的水平,调整不同摄入量和组织需要量之间的平衡。

本研究对氨基酸谱与肝功能相关性进行了探讨,苏氨酸能促进磷脂合成和脂肪酸氧化,具有抗脂肪肝效能,而 ALT 是评价肝功能的主要指标。肝细胞癌时,苏氨酸脱水酶活性明显降低,导致苏氨酸分解代谢减弱,但苏氨酸除了参与肿瘤细胞核酸、蛋白质合成,对肿瘤生长是否还具有其他特殊作用,尚不明确。肌肉是氨基酸代谢的场所,也是支链氨基酸代谢的主要场所。亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸均为支链氨基酸,属于必需氨基酸。在肌肉氨基酸代谢中,胰岛素起重要的调节作用。正常情况下,胰岛素在肝脏灭活,与血浆内缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸在肌肉内代谢与利用有着密切联系^[9-12],它能促进支链氨基酸进入肌肉组织,促进肌肉蛋白的合成,并减缓其分解。晚期肝硬化患者因肝功能损害,易形成高胰岛素血症,致使血中支链氨基酸减少,血糖亦降低。

综上所述,国产试剂配制方便,重复性、分离度好,准确度高,且试剂成本低,可随时制备和使用,可以替代原装试剂,在

此基础上得出血浆氨基酸生物参考区间对临床诊断及预后具重要意义。

参考文献

- [1] 高永清. 直接分析氨基酸的两种方法[J]. 分析仪器, 2003(3): 40-43.
- [2] 施纯辉. Biochrom30 专用自动氨基酸分析系统[J]. 现代仪器, 2003(3): 38-42.
- [3] 丁永胜, 卞世芬. 氨基酸的分析方法及其应用进展[J]. 色谱, 2004, 3 (22): 210-215.
- [4] 常碧影, 杨文军. 氨基酸分析与仪器性能评价[J]. 现代科学仪器, 2004, 6(1): 6-9.
- [5] 高翠红, 刘树业, 孟令海. 日立 L-8900 型氨基酸分析仪用缓冲液的研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2010, 32(4): 81-84.
- [6] 范志娟, 刘树业. 肝癌病人血浆氨基酸变化与肝功能的相关性分析[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(2): 231-233.
- [7] 孙宁. 原发性肝癌血浆氨基酸测定的临床意义[J]. 职业与健康, 2002, 18(9): 148-149.
- [8] Belalcazar LM, Ballantyne CM. Nutrition and metabolism-sphingolipids and branched chain amino acids: indicators and effectors of adipose tissue function and diabetes risk[J]. Curr Opin Lipidol, 2011, 22 (6): 503-504.
- [9] Mumtaz S, Ford AC. Losses to follow-up limit conclusions regarding the efficacy of branched-chain amino acids in patients with hepatic encephalopathy [J]. Am J Gastroenterol, 2011, 106 (9): 1718.
- [10] 蒋瑾, 蒋菊香, 徐颖, 等. 氨基酸代谢与肝性脑病[J]. 氨基酸和生物资源, 2002, 24(4): 53-58.
- [11] 姜秋芬, 刘惠敏. 肝硬化与肝癌患者血浆游离氨基酸水平分析[J]. 氨基酸和生物资源, 1998, 20(3): 34-36.
- [12] 王洁, 蔡东联. 肝硬化疾病与支链氨基酸应用研究进展[J]. 氨基酸和生物资源, 2010, 34(3): 63-67.

(收稿日期:2013-11-08)

(上接第 1042 页)

参考文献

- [1] 马文昭. 丙型肝炎病毒抗体的检测及临床意义[J]. 中国现代医生, 2008, 46(13): 159.
- [2] 杨玉峰, 刘东, 丁怡文. Tecan Freedom EVO Clinical 全自动样品处理系统使用体会[J]. 实用医技杂志, 2010, 17(10): 967-968.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 陈新瑞, 杨一芬, 唐亚梅. 辉煌之星全自动酶免疫分析连体机性能综合评价[J]. 临床检验杂志, 2004, 22(4): 316-317.

- [6] 杨昌国, 许叶, 张抗. 精密度评价和方法比较中 NCCLS 评价方案的应用[J]. 临床检验杂志, 1999, 17(1): 44-46.
- [7] 成军, 孙关忠, 郑怀竞, 等. 酶标仪性能评价与鉴定的基本方法及其初步应用[J]. 中华医学检验杂志, 1998, 21(1): 49.
- [8] 王雁, 徐楠楠, 李立峰. TECAN 全自动酶免分析仪应用体会[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(18): 4383-4383.
- [9] 闵志军, 张建伟, 张力超, 等. 全自动酶标分析系统常见故障及处理[J]. 中国输血杂志, 2006, 19(3): 225-225.
- [10] 黄燕婷, 黄惠. 全自动酶免疫分析仪前处理加样系统检测 HBcAb 方法的优化[J]. 黑龙江科技信息, 2009, 13(36): 380.

(收稿日期:2013-11-26)

盒(ELISA 法)为上海科华生物工程股份有限公司产品。

1.3 方法

1.3.1 加样系统加样精度检测 用电子天平称量加样针分别加样 $10 \mu\text{L}$ 和 $100 \mu\text{L}$ 蒸馏水的质量,每根加样针重复加样 20 次,计算其均值及变异系数(CV)。

1.3.2 洗板机洗版残留量测定 取 3 块空白酶标微孔板(96 孔板),先用电子天平称取质量;再分别用两系统仪器以蒸馏水洗涤 5 次后,分别称取质量,计算洗板后总的残留液量及平均每孔的残留液量。

1.3.3 酶标仪验证 零点飘移:将微孔板置于 8 个通道的相应位置,均加入 $200 \mu\text{L}$ 蒸馏水并调零,于 490 nm 、 530 nm 、 640 nm 波长每 30 min 测定一次,连续观察 4 h,其与零点差值的均值即为零点飘移。通道差和孔间差:取甲基橙溶液调吸光度在 $0.065 \sim 0.070$,用蒸馏水调零,于 450 nm 波长处进行测定,竖排吸光度差异是通道差,横排的吸光度差异是孔间差。灵敏度:精确配制 $6 \mu\text{g}/\text{mL}$ 重铬酸钾溶液,加 $200 \mu\text{L}$ 于小孔杯中,以 0.05 mol/L 硫酸溶液作空白,于 450 nm 波长(参比波长 650 nm)测定。其吸光度大于或等于 0.01 判定为结果满意。准确度:准确配制 1 mmol/L 对硝基苯酚水溶液,然后以 10 mmol/L 氢氧化钠溶液作 25 倍稀释,加入 $200 \mu\text{L}$ 于小孔杯中,以 1 mmol/L 氢氧化钠作空白,于 405 nm 波长(参比波长 650 nm)检测,其吸光度在 $0.395 \sim 0.408$ 则判定为结果满意^[5]。

表 1 洗板前后酶标板残液量(μL)

洗板机类型	残留量	洗板后 1	洗板后 2	洗板后 3	洗板后 4	洗板后 5	总均值
艾德康							
洗板机 1	总残留量	30.000	36.200	32.400	39.700	39.000	35.460
	平均残留量	0.313	0.377	0.338	0.414	0.406	0.369
洗板机 2	总残留量	25.600	14.400	56.400	39.000	32.100	33.500
	平均残留量	0.267	0.150	0.588	0.406	0.334	0.349
洗板机 3	总残留量	15.300	68.400	19.500	17.600	15.400	27.240
	平均残留量	0.159	0.713	0.203	0.183	0.160	0.284
Fame							
洗板机 1	总残留量	59.700	58.100	60.700	51.400	56.100	58.200
	平均残留量	0.622	0.605	0.632	0.535	0.584	0.596
洗板机 2	总残留量	52.700	49.500	57.700	42.900	67.400	54.040
	平均残留量	0.549	0.516	0.601	0.447	0.702	0.563

2.4 测定 80 例丙型肝炎患者标本的符合率比较 两系统均准确检出 43 份阳性标本,37 份阴性标本,符合率为 100%。

3 讨 论

在医学实验室中,仪器加样的准确性直接关系到结果的准确性^[6],因此,本实验通过采用电子天平称量加样针加样 $10 \mu\text{L}$ 和 $100 \mu\text{L}$ 蒸馏水来测定 2 个系统加样的准确性^[7],两系统加样差异均无统计学意义($P > 0.05$)。两系统加样的准确性均较高,两仪器的偏倚均在各自厂家允许范围内^[8],也在实验室检测的允许误差范围内。由于两系统均采用一次性加样针头加样,不存在携带污染问题,因此不用验证。

1.3.4 符合率比较 两系统同时检测上述 80 例标本,结果根据说明书提供的 S/CO 值对结果进行判定,对两系统的符合率进行计算。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析, CV 值的比较采用配对 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 加样系统精度检测结果 艾德康加样系统 $10 \mu\text{L}$ 加样体系的加样均值为 $10.164 \mu\text{L}$,总 CV 值为 3.91%;Tecan 加样系统 $10 \mu\text{L}$ 加样体系的加样均值为 $10.223 \mu\text{L}$,总 CV 值为 2.96%;两系统之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。艾德康加样系统 $100 \mu\text{L}$ 加样体系加样均值为 $100.22 \mu\text{L}$,总 CV 值为 0.72%;Tecan 加样系统 $100 \mu\text{L}$ 加样体系的加样均值为 $100.02 \mu\text{L}$,总 CV 值为 0.553%;两系统之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 酶标仪验证结果 两系统酶标仪 8 个通道的零点飘移吸光度值均在 0.023 ± 0.003 内波动;通道差为 ± 0.002 ,孔间差为 ± 0.001 ;灵敏度检测吸光度均大于或等于 0.01;准确度验证两系统吸光度为 $0.398 \sim 0.405$ 。符合临床应用的要求。

2.3 洗板系统验证结果 空白酶标微孔板用蒸馏水洗涤 5 次前、后的质量及每孔残液量见表 1。艾德康洗板模块平均每孔洗板残留量小于 $0.4 \mu\text{L}$,Fame 洗板系统残留量小于 $0.6 \mu\text{L}$,二者均能满足临床检测的要求。

在 ELISA 检测中洗板的好坏及洗板后残液量的多少直接影响了检测结果^[9]。两系统洗板机均采用吸针插入反应孔底部两点吸样方式,这样可以确保较少的洗板残液量^[10]。从称量结果可见,两系统洗板残留量均较低,对检测结果基本无影响。两系统酶标仪状态稳定,结果一致性好,内部固定误差小,能够满足临床需要。

综上所述,通过与进口 Tecan Fame ELISA 系统比较,可以认为国产艾德康 Addcare ELISA 1100 全自动 ELISA 分析仪加样准确、洗板残留液少、酶标系统性能稳定,可以适用于临床免疫检测。

(下转第 1047 页)