

# 全自动酶免分析系统与手工操作方法的应用比较

姚勇<sup>1</sup> 相恒泉<sup>1</sup> 石圆圆<sup>1</sup>

**[摘要]** **目的:**比较全自动酶免分析仪操作法(以下称全自动法)和手工操作法检测 HBsAg 结果的差异。**方法:**用相同批号 HBsAg ELISA 试剂盒分别对 80 份标本用手工和全自动方法检测 HBsAg,比较 2 种方法测定结果的一致性;用 2 种方法分别对同一份阳性质控血清重复测定 20 孔,进行批内重复性检测并比较其差异性;用已知含量阳性质控血清,按原倍血清 1:2,1:4,1:8,1:16,1:32,1:64,1:128 稀释,检测手工操作法与全自动酶免分析仪操作法线性并比较其差异性;计算相关系数、直线回归方程和 2 种方法之间的预期偏差。**结果:**2 种方法阳性检出率一致性好;在测定结果和精密度差异有统计学意义( $P < 0.01$ );全自动酶免分析系统和手工操作方法具有良好的相关性,测定结果在本实验室具有可比性;2 种操作方法测定结果存在差异,有一定的预期偏差。**结论:**自动分析仪测定结果稳定性、精密度、准确性好。当全自动酶联免疫分析系统出现故障时,手工操作可以作为应急替代全自动酶联免疫分析系统进行检测;但要避免采用滴加试剂的方式。手工替代应急操作出现检测结果位于临界值附近,处于“灰区”不易判定时,需要考虑 2 种操作方法间的预期偏差,确保检测结果的准确稳定。

**[关键词]** 全自动酶联免疫分析仪;手工操作方法;方法对比;预期偏差

**[中图分类号]** R457.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2012)08-0482-03

## Comparison of automatic ELISA system with manual method

YAO Yong Xiang Hengquan SHI Yuan yuan

(Lianyungang Central Blood Station, Lianyungang, 222002 China)

Corresponding author: YAO Yong, E-mail: lygxzyy@163.com

**Abstract** **Objective:** To compare the differences of results between automatic ELISA system (hereinafter referred to as automatic method) and manual method (In add liquid process is divided into direct adding reagent and the trace pipette in two ways). **Method:** Using the same batch number HBsAg ELISA kit, HBsAg of 80 specimens were separately detected with manual and automatic method, and the consistency of the results of two methods was compared. One positive quality control serum was repeated measurements of 20 holes as repeatability tests by two methods, and their differences were compared. In accordance with the known concentration of positive quality control serum, the linear of automatic and manual methods were detected by 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 dilution, and their differences were compared. The correlation coefficient, linear regression equations and expected deviation between the two methods were calculated. **Result:** The positive detection rate of these two methods was good consistency and there was a significant difference in determination results and precision ( $P < 0.01$ ). Automatic ELISA system and manual method had good correlation. The determination results were comparable in this laboratory. There were some differences and a certain expected deviation between two methods in the determination results. **Conclusion:** The results of automatic method would have high stability, precision and accuracy. When the automatic ELISA system occurred failure, manual operation could be served as emergency and replacement of automatic method for testing, but it should be avoided using adding reagents way. When the test results were in critical value or in the “gray area” that hard to determine by manual operation, expectation bias must be considered between the two methods to ensure the result accuracy and stability.

**Key words** automatic ELISA system; manual operation; method comparison; expected deviation

近年来,全自动酶联免疫分析系统(FAME)因其操作过程自动化,标准化,避免人为误差,已被血站行业广泛应用于血液检测,提高了血液检测水平。但因 FAME 在实际运行过程中时常发生故障而出现“吐板”情况,此时必须采用手工方法进行应急操作。所以,手工操作还不可能完全被替代,作为实验室有必要对 2 种操作进行比对实验,确保检测结果的准确性。现以检测 HBsAg 为例,对全自动酶联免疫分析系统与手工操作(手工操作可分滴

加和采用微量加样器 2 种加液方式)进行比对实验,报告如下。

### 1 材料和方法

#### 1.1 标本来源

献血者随机标本 80 例,EDTA\_K<sub>2</sub> 抗凝 5 ml。康彻思坦生物提供 HBsAg 质控血清(批号 200905002)含量为 0.5 U/ml。

#### 1.2 仪器

STAR 加样系统, FAME24/20 全自动酶免疫分析仪, eppendorft 微量加样器, 恒温水浴箱, Columbus 洗板机, Anthos 340rt 酶标仪。

<sup>1</sup> 连云港市中心血站(江苏连云港, 222001)  
通信作者: 姚勇, E-mail: lygxzyy@163.com

1.3 试剂

乙型肝炎病毒表面抗原 HBsAg 诊断试剂盒(酶联免疫法),上海科华生物工程股份有限公司产品(批号 201002011)。

1.4 手工操作方式

全部实验操作过程严格按试剂盒说明书进行。手工完成加样、加试剂、孵育、洗板、判读结果等过程,分别由恒温水浴箱、自动洗板机、自动酶标扫描仪完成。

1.5 全自动方式

全部实验操作过程严格按试剂合说明书进行计算机编程。由 STAR 加样系统和 FAME 全自动酶免疫分析仪完成全部过程。

1.6 统计学处理

采用统计软件 SPSS 17.0 进行统计学分析。

2 结果

对 80 份随机标本用手工和全自动分析仪同时进行检测,结果见表 1。

| 表 1 全自动分析法和手工法 HBsAg 检测结果 例 |    |    |            |    |
|-----------------------------|----|----|------------|----|
| 方法                          | 标本 | 阳性 | 灰区(0.7-1)* | 阴性 |
|                             | 总数 | 例数 | Cutoff     | 例数 |
| 全自动法                        | 80 | 14 | 1          | 65 |
| 手工(滴加)法                     | 80 | 14 | 1          | 65 |
| 手工(微量加样器)法                  | 80 | 14 | 1          | 65 |

取 0.5 U/ml 质控血清混匀后分别加入到 20 个反应孔中,测定 20 孔 S/CO 值,统计各种方法的测定均值 X 和批内 CV(%),比较全自动法与手工法间检测结果均差异有统计学意义。对 3 组均数间两两比较各方法间检测结果均差异有统计学意义(均  $P < 0.01$ )。结果见表 2。

取 0.5 U/ml 质控血清取混匀,按照原倍血清 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128 进

表 2 精密度试验结果

| 方法         | 均值 X | 标准差 SD | 批内 CV/% |
|------------|------|--------|---------|
| 全自动法       | 3.77 | 0.22   | 6       |
| 手工(微量加样器)法 | 3.04 | 0.33   | 11      |
| 手工(滴加)法    | 2.47 | 0.40   | 16      |

行稀释,全自动分析法与手工方法各取酶标板,分别以双份加入到对应孔中,按照相应的操作规程进行,结果见表 3。

对比方法(X)测定范围的检验:对比方法的测定范围是否够宽,可用相关系数 r 做粗略估计,如  $r \geq 0.975$  (或  $r^2 \geq 0.95$ ),则认为的范围合适,可以直线回归计算斜率、截距<sup>[1]</sup>:①全自动法与手工法(滴加)试验  $r = 0.997$ ;②全自动法与手工法(微量加样器)试验  $r = 1.00$  均符合要求,因此 2 法相关性较好。

直线回归分析通过直线回归等计算得到结果为:①全自动法与手工法(滴加)试验相关系数  $r = 0.997$ ,截距  $a = -0.012$ ,斜率  $b = 0.702$ ,  $Y = -0.012 + 0.702X$ 。②全自动法与手工法(微量加样器)试验相关系数  $r = 1$ ,截距  $a = 0.052$ ,斜率  $b = 0.774$ ,  $Y = 0.052 + 0.774X$ 。

预期偏差(B) =  $a + (b - 1)X$ ,相对偏差(%) = 预期偏差(B)/X<sup>[1]</sup>。我们选择临界值 1.0 点和 0.5 IU/ml 质控血清 S/CO 值参考范围(1.5~4.0)的 2 个端点来计算预期偏差,其他浓度水平时的预期偏差可以根据回归直线方程计算得到。结果见表 4。

3 讨论

通过全自动分析法与手工法间的对比试验,可以看出:①全自动分析法与手工法经过对 80 例标本的定性试验比较,阳性检出率完全相符。②精密度试验全自动分析仪同一标本 20 次测定结果重

表 3 线性试验结果

| 含量   |           | 原倍   | 1:2  | 1:4  | 1:8  | 1:16 | 1:32 | 1:64 | 1:128 |
|------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| 全自动法 | S/CO 值    | 3.95 | 1.98 | 1.06 | 0.52 | 0.39 | 0.13 | 0.09 | 0.03  |
|      | 结果        | +    | +    | +    | —    | —    | —    | —    | —     |
| 手工法  | S/CO 值    | 2.70 | 1.53 | 0.69 | 0.37 | 0.18 | 0.05 | 0.05 | 0.05  |
|      | (滴加) 结果   | +    | +    | —    | —    | —    | —    | —    | —     |
| 手工法  | S/CO 值    | 3.10 | 1.62 | 0.83 | 0.46 | 0.35 | 0.16 | 0.11 | 0.09  |
|      | (微量加样器)结果 | +    | +    | —    | —    | —    | —    | —    | —     |

表 4 预期偏差结果

| 方法  | XC1 |       |        | XC2 |       |        | XC3 |       |        |
|-----|-----|-------|--------|-----|-------|--------|-----|-------|--------|
|     | 参考值 | 预期偏差  | 相对偏差/% | 参考值 | 预期偏差  | 相对偏差/% | 参考值 | 预期偏差  | 相对偏差/% |
| 滴加  | 1.0 | -0.31 | 31     | 1.5 | -0.46 | 31     | 4.0 | -1.20 | 31     |
| 加样器 | 1.0 | -0.17 | 17     | 1.5 | -0.29 | 19     | 4.0 | -0.85 | 21     |

习惯,权衡血小板输注的利弊,以获得理想的治疗效果。

### 参考文献

- [1] BLAJCHMAN M A. Substitutes and alternatives to platelet transfusions in thrombocytopenic patients [J]. J Thromb Haemost, 2003;1637—1641.
- [2] CHOUDHRY V P. Platelet therapy[J]. Indian J Pediatr, 2002;69:779—783.
- [3] TINMOUTH A T, FREEDMAN J. Prophylactic platelet transfusions: which dose is the best dose? A review of the literature [J]. Transfus Med Rev, 2003;17:181—193.
- [4] BURGSTALLER E A. Blood component collection by apheresis [J]. J Clin Apher, 2006;21:142—151.
- [5] 王芳,贺冠强. 基于循证医学的血小板输注指南[J]. 内科急危重症杂志, 2008;2(14):109—112.
- [6] 盛楚华,邱树彬,邱小华. 血液病患者血小板输注效果评价及影响因素分析[J]. 中国全科医学, 2006;9(16):1332—1334.
- [7] 滕本秀,段前碧,段慧玲,等. 输注机采血小板在血液病患者中的效果分析[J]. 重庆医学, 2006;35(11):973—974.
- [8] HEAL J M, BLUMBERG N. Optimizing platelet transfusion therapy [J]. Blood Rev, 2004;18:149—165.
- [9] SLICHTER S J. Platelet transfusion therapy [J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2007;21:697—729.
- [10] KAUFMAN R M. Platelets: testing, dosing and the storage lesion—recent advances [J]. Hematology, 2006;492—496.
- [11] STRAUSS R G. Pretransfusion trigger platelet counts and dose for prophylactic platelet transfusions [J]. Curr Opin Hematol, 2005;12:499—502.
- [12] 刘景汉,林武存. 临床输血指南 [M]. 北京:人民军医出版社, 1998:15—17.
- [13] 安全,陈方平,周淑娟,等. 186例血液病患者血小板输注临床分析[J]. 临床血液学杂志, 2007;3(20):169—170.
- [14] 徐丽娟,于海龙,刘斌杰,等. 血小板输注无效的临床表现[J]. 临床输血与检验, 2008;1(10):59—60.
- [15] 汪得清,张晓娟,关晓珍,等. 972例血液病患者输注机采血小板后回顾性分析[J]. 中国输血杂志, 2008;4(21):248—249.

(收稿日期:2011-12-16)

(上接第483页)

复性优于手工(微量加样器和滴加)方法,手工(滴加)法批内 CV 值为 16%,检测结果(S/CO 值)均值为 2.47,重复性和均值为 3 种方法中最低。分析与其加液方式有关,因为直接滴加试剂,滴加液体量不精确,以该试剂为例一滴试剂量小于所要求的 50  $\mu$ l 标准,同时每滴大小不易控制,造成试验重复性差。而采用微量加样器进行加液,在每次加液过程中对所加液体量的准确性和重复性均能够很好控制。全自动酶免分析系统严格控制加样、加试剂、孵育、洗板、判读等过程,同项实验的每一块微板的实验条件几乎一致,确保了操作的稳定性,避免了手工方法的人为误差,提高了检测的准确性和重复性。③研究表明,全自动酶免分析系统和手工操作方法具有良好的相关性,测定结果在本实验室是一致的具有可比性。3 种操作方法测定结果存在差异,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,而手工(滴加)操作方法较手工(微量加样器)操作方法相对偏差值高。

综上所述,应用全自动酶联免疫分析仪与手工法在测定结果阳性检出率完全相符。为此,我们认为当全自动酶联免疫分析系统出现故障时,手工操作可以作为应急替代全自动酶联免疫分析系统进行检测;但要避免采用滴加试剂的方式,要使用经过校准的微量加样器加试剂。全自动酶联免疫分析仪在测定结果的精密度要优于手工方法,因此,需要注意应急状态下室内质控的改变;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<sup>[2]</sup>,不易判定时,需要考虑两种操作方法的预期偏差,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。

### 参考文献

- [1] 张传宝,张克坚. 方法对比及偏差评估的方法——介绍 NCCL S 文件 EP92A [C]. 临床实验室质量管理文件汇编, 2002:169—185.
- [2] 周艳萍,倪诗强,黄勇. 酶联免疫吸附试验“灰区”结果探讨 [J]. 检验医学与临床, 2008;7(5):876—877.

(收稿日期:2011-12-12)