

[文章编号]1004—8685 (2001) 05—0625—02

中毒患者血清中秋水仙碱的快速检验

关颖

(开原市卫生防疫站, 辽宁 112300)

[中图分类号] R155. 5+1 [文献标识码] B

黄花菜是人们餐桌上的一道香味浓郁的菜肴, 龙其是夏季的新鲜黄花菜更为可口, 但如果加工处理不当, 黄花菜中的秋水仙碱就会引起食物中毒, 人吃后出现头痛、恶心、呕吐、腹泻等症状。为了快速准确的找出中毒因子, 在无剩余食物、无吐泻物的情况下, 采集患者静脉血分离血清后作为检材, 用薄层层析法可以检出秋水仙碱。目前, 在国内外文献中尚未见报道。由于人血清中成份复杂, 用现有的化学分析法^[1]效果均不理想。薄层层析法本身具有分离复杂组分, 抗干扰的独特功能, 利用紫外灯照射可初步确定是否含有秋水仙碱, 再喷显色剂可进一步确证。方法快速、准确可靠, 适用于基层实验室及中毒现场检验。

1 材料

1.1 器材: 硅胶 GF₂₅₄薄层及(10cm×10cm) 青岛海洋化工厂生产; 层析缸(12cm×5cm×10cm); 紫外分析仪或紫外灯(波长254nm); 乳钵。

1.2 试剂: 无水乙醇; 1mol/L NaOH。

1.3 阳性对照: 取市售鲜黄花菜用乳钵捣碎, 加少许无水乙醇, 吸取上清液力备用。

1.4 阴性对照: 抽取正常人静脉血、分离血清备用。

1.5 展开剂: 甲醇+ 浓氨水(20+ 1)。

1.6 显色剂: 对二甲氨基苯甲醛(1.0g 对二甲氨基苯甲醛+ 100ml 无水乙醇+ 10ml 浓盐酸)

2 方法:

2.1 样品前处理:

2.1.1 抽取患者静脉血 2~ 3ml, 置于 37℃ 温箱中 10min 后用离心机分离出血清备用。

2.1.2 呕吐物用 NaOH(1mol/L) 调 pH12 后过滤, 滤液浓缩备用。

2.1.3 固体样品可用乳钵捣碎后用无水乙醇浸提。

2.2 样品测定:

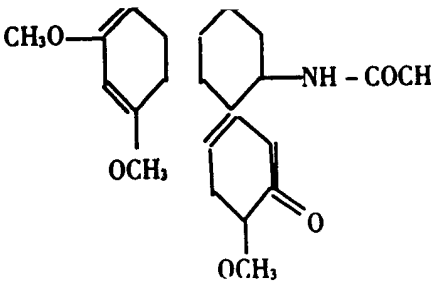
2.2.1 点样: 用毛细管吸取中毒患者血清 5μl 点于 GF₀₂₅₄薄层板上; 同时点正常人血清作阴性对照; 鲜黄花菜浸出液为阳性对照, 患者血清+ 鲜黄花菜浸出液各 2μl; 阴性血清+ 鲜黄花菜浸出液各 2μl。

2.2.2 展开: 将点样后的薄层板放入示先装有展开剂的层析缸中, 密闭封口, 纵向展开至前沿上升为 90mm 处, 取出薄层板, 自然挥干。

2.2.3 显色: 先将薄层板置于 254nm 紫外灯下观察, 如有与阳性对照 Rf 值一致的黄光淬灭斑点, 量出 Rf 值。然后取出再喷对二甲氨基苯甲醛显色剂、在白色背景下秋水仙碱斑点显淡黄色。根据 Rf 值定性。

3 结果与讨论

3.1 秋水仙碱为 3, 17β—二羟基雌甾—1, 3, 5(10)—三烯—17β—戊酯脂、分子式为 C₂₂H₃₀O₆N, 分子量为 399. 44, 结构式为



其纯品为淡黄色结晶性粉末, 无臭, 遇光变深, 在乙醇、氯仿或水中溶解, 在乙醚中极微溶。熔点为 148~ 153℃。

3.2 依据秋水仙碱的理化特性, 作者在样品处理过程中曾分别用乙醇、三氯甲烷、1mol/L NaOH、和直接取液体样品上清等四种方法进行提取, 其结果见表 1

表 1 四种方法处理样品的测定结果				
检 材	无水乙醇浸提	三氯甲烷浸提	NaOH 调 pH 过滤	直接点样
患者血清	出现斑点	无斑点	斑点明显	斑点明显
呕吐物	出现斑点	无斑点	斑点明显	出现斑点
鲜黄花菜	斑点明显	斑点不明显	斑点明显	液体少、不易取

从表 1 不难看出以上四种方法处理不同样品, 三氯甲烷浸提效果不好, 患者血清用 NaOH 调 pH 后与直接点样效果均好; 呕吐物加 NaOH 后斑点明显, 说明秋水仙碱在碱性水溶液中溶解性最好, 固体样品用无水乙醇或碱性水溶液浸提均可。

3.3 以血清为检材 采用薄层层析法测定秋水仙碱是作者首

创, 在国内外文献中目前未见报道。这种方法直接, 快速、抗干扰能力强, 在任何检材都没有采集到的情况下患者血清可以做唯一证据, 这为食物中毒检测工作又提供了一条新的线索。

3.4 作者按文献^[2]中展开剂 1[氯仿+ 丙酮+ 二乙胺(5+ 4

+ 1)]、展开剂 2[甲醇+ 浓氨水(100+ 1.5)]展开后,发现检材中的斑点与阳性对照斑点 Rf 值均保持一致。说明该方法是准确可靠的。在此基础上作者又调整了展开剂的比例为甲醇+ 浓氨水(20+ 1),结果斑点圆形 Rf 值为 0.61,效果更为理想。

3.5 按文献^[1]中硫酸法、硝酸法、三氯化铁法、乙醇胺法均做了实验,结果都不够理想。

3.6 秋水仙碱在 254nm 紫外光下可显出荧光淬水斑点,其 Rf 值为 0.61,与喷显色剂后的 Rf 值一至。两种显色方法一次完成,确保方法的准确性。

3.7 患者血清+ 阳性对照经不同展开剂展开后均出现一个斑点,说明检材中所出现的斑点即为秋水仙碱;正常人血清未出现斑点,说明正常人血清中不含秋水仙碱;阴性血清+ 阳性对照出现一个斑点,说明人血清对秋水仙碱无干扰。

3.8 点样量多时有托尾现象,适当减少点样量可避免托尾现象。

4 结论

本文以食用鲜黄花菜中毒患者的静脉血为检材,利用薄层层析法检测血清中的秋水仙碱,样品不需特殊处理,快速、简便,试剂器材简单易得,结果准确可靠,适用于基层实验室及中毒现场的检测。

参 考 文 献

1 王涨富,毒物快速系列分析手册、合肥、安徽科学技术出版社,1986,645.

2 翟永信,陆冰真,等.薄层层析法在食品分析中的应用,北京大学出版社,1991,176~ 186.

(收稿日期:2001- 04- 28)

【产品评价】

[文章编号]0991-8685 (2001) 05-0626-02

国内外 HBsAg ELISA 试剂对比研究

郝丽红,董志杰,吴 ,葛红敏

(洛阳华美生物技术有限公司,河南 430007)

[中图分类号] R446. 61 [文献标识码]B

目前,临床领域用于免疫检测的方法主要有凝聚试验放射免疫测定(RIA)、酶联免疫测定(EIA)、免疫层析测定以及化学发光免疫测定(CLIA)和时间分辨荧光免疫测定(TRFLA)等手段。凝聚试验由于灵敏度低而逐渐淘汰,放免存在核辐射危害、污染环境、操作复杂等缺点受限,化学发光和时间分辨荧光由于试剂价位高,免设层析不能使结果数据化等因素而使推广受限,酶联免疫测定的是近几年被广泛应用的 HBsAg 检测方法。自从“批批检”以来,国内试剂与国外试剂的差距逐渐被缩小,但在试剂真实灵敏度方面以血液制品等非血清、血将的检测上存在一定差距。我们公司于 1999 年就开始着手解决并已取得明显改善。

1 材料

华美 1:批号 990922(立可读)
华美 2:批号 990707(快速)
试剂 A:国内某公司生产(立可读)
试剂 B:国内某公司生产(立可读)
SABC 灵敏度、ASBC panel (9702、9801、9901)、临床标本,均用 Abbott 试剂进行确证。

2 方法

均按各试剂的说明书操作,检测 SABC 灵敏度、SABC panel 和临床标本。

3 结果

3.1 灵敏度比较

指 标 组 别	5%FCS	0.2ng	Δ OD 0.2NG- 5%FCS	0.5ng	Δ OD 0.5NG- 5%FCS	Ing	Δ OD Ing- 5%FCS	20 [#]
华美 1	0.10	0.13	0.12	0.18	0.17	0.23	0.22	0.58
华美 2	0.02	0.14	0.12	0.24	0.23	0.30	0.28	1.00
A 试剂	0.02	0.06	0.04	0.10	0.08	0.15	0.13	0.18
B 试剂	0.02	0.12	0.10	0.19	0.17	0.28	0.26	0.41

注:灵敏度为 SABC HBsAg 9901 批号(由 5%FCS+ PBS 稀释阳性血浆而得),20[#] 为 SABC HBsAg 9801 特异性备浆中弱阳性标本。