

3 讨 论

血糖作为反映糖代谢紊乱的重要指标,其结果准确性直接影响到患者的诊断与治疗,一般对离体血糖进行立即检测才能较准确地反映个体情况。有资料显示,全血标本在普通真空管中放置 1 h,葡萄糖浓度可大约降低 5%,而当天血糖浓度平均下降达到 18%^[1-3]。因此,对离体血液标本血糖必须进行有效地保护。

分离胶真空采血管是一种含有惰性的触变性聚合胶的采血管,分离胶的比重介于血清与血细胞之间,标本离心后可在血清与血细胞之间形成屏障隔离层,使细胞与血清完全隔离,保证血清化学成分不受细胞成分的影响^[4]。氟化钠是一种较理想的抗糖酵解剂,其主要作用是抑制参与糖酵解的酶的活性,通过阻断烯醇化酶作用而抑制糖酵解。

在日常工作中,保存标本时间一般为 7 d。为了解血糖在氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管中保存的稳定性,连续监测了氟化钠抗凝管与分离胶真空采血管即时及 24、48、72、96、120、144 h 的血糖浓度,结果显示两种采血管之间差异无统计学意义($P>0.05$);同时分别对两种采血管即时与 144 h 血糖浓度进行比较,结果显示二者差异无统计学意义($P>0.05$),用这两种采血管对血糖进行保存并没有随着时间的延长而出现明显变化^[5-7],对保持血糖浓度的稳定起到了良好的作用。曾有报道分离胶真空采血管中血糖在 96 h 无明显下降^[8],本次实验表明在 144 h 内,无论是氟化钠抗凝管还是分离胶真空采血管,其血糖浓度都无明显变化,表明这两种采血管能在日常标本保存期内保持血糖浓度的稳定。

氟化钠抗凝管一般采用与草酸钾或 EDTA-K₂ 联合使用,本次实验采用氟化钠与 EDTA-K₂ 抗凝管。采集标本后直接摇匀,就能达到抑制糖酵解的效果,但因其通过抑制烯醇化酶来阻断糖酵解,对部分酶类检测项目有抑制作用,如淀粉酶、氨基转移酶、磷酸酶等,对酶法测定胆固醇和脲酶法测尿素氮也有干扰,同时随着放置延长血清钾离子显著升高^[9]。分离胶真空采血管分离的标本分 3 层,从上至下依次为血清层、分离胶层和血细胞层,使血清与血细胞完全隔离,从而使血糖浓度稳定。分离胶采血管不仅可保持血糖浓度稳定,而且对临床化学

• 检验仪器与试剂评价 •

的其他检测项目和免疫学检测项目均无影响^[10-11],具有比氟化钠抗凝管更大的优势。

综上所述,氟化抗凝管与分离胶真空采血管利用不同原理均可保持保存标本的血糖浓度稳定性,且二者保存标本检测结果差异无统计学意义。但由于临床实际操作中经常并非单一检测血糖浓度,而是联合检测多个项目,这让分离胶真空采血管在日常工作中有了更大的应用空间。

参考文献

[1] 徐凤艳. 分离胶真空采血管在血糖检测中的临床应用体会[J]. 河北医学, 2004, 10(4): 382-383.
[2] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 359.
[3] 陈丽珠, 赵勤, 陈虹, 等. 分离胶真空采血管保存血清对血糖测定结果的影响[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(5): 388.
[4] 焦连亭, 耿洁. 真空采血器的技术特点及应用[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(6): 376-378.
[5] 闫存玲, 李志艳, 燕容, 等. 分离胶采血管制备血清对血糖、补体 C3 和 NSE 测定结果及稳定性的影响[J]. 检验医学, 2009, 24(4): 260-263.
[6] 宋文炜, 陈新军. 分离胶真空采集管与普通干燥管在血糖检测中的结果比较[J]. 中国中医药现代远程教育, 2010, 8(23): 194-195.
[7] 杨九华, 刘万利, 吕礼应. 分离胶真空采血管样本保存时间对血糖测定结果的影响[J]. 安徽医药, 2010, 14(5): 550-551.
[8] 徐凤艳. 分离胶真空采血管在血糖检测中的临床应用体会[J]. 河北医学, 2004, 10(4): 382-383.
[9] 周新, 涂植光. 临床生物化学和生物化学检验[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 175-205.
[10] 陈军, 陈雪梅, 王均华. 分离胶试管直接冻存生化标本可行性的探讨[J]. 中外医学研究, 2011, 9(28): 45-46.
[11] 张代明, 崔庆. 分离胶血清分离器临床效果观察[J]. 江西医学检验, 2000, 18(6): 81-83.

(收稿日期: 2011-12-02)

肺炎支原体 IgM 抗体 ELISA 检测试剂盒临床应用评价

唐 寅

(江苏省张家港市中医医院检验科 215600)

摘要:目的 比较不同酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒对肺炎支原体(MP)特异性抗体 IgM 的检出率。方法 以德国欧蒙公司(EURO)、美国 ZEUS 公司(ZEUS)、深圳亚辉龙(YHLO)公司生产的 3 种试剂盒对 82 例呼吸道感染患者血清 MP-IgM 抗体进行检测,通过 EP evaluator 软件进行定性(QMC)方法学比对分析。结果 EURO、ZEUS、YHLO 检测血清 MP-IgM 抗体的敏感性分别为 90.4%、98.1%和 94.2%,特异性分别为 100.0%、66.7%和 86.7%,符合率分别为 97.6%、86.6%和 91.5%。经 Kappa 一致性统计分析,ZEUS 与 EURO、YHLO 相比,Cohen's Kappa 系数分别为 0.63 和 0.74,差异均有统计学意义($P<0.001$ 或 $P<0.01$);YHLO 与 EURO 相比较,Cohen's Kappa 系数为 0.87,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 3 种试剂盒检测敏感性从高到低分别为 ZEUS、YHLO、EURO,特异性则为 EURO、YHLO、ZEUS。YHLO 与 EURO 具有较好的一致性。临床在开展 MP-IgM ELISA 检测时应进行预试验。

关键词:支原体,肺炎; 酶联免疫吸附测定; 免疫球蛋白 M; 试剂盒,诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.16.048 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2012)16-2016-02

支原体是能在无生命培养基上生长繁殖的最小原核细胞型微生物。肺炎支原体(MP)是引起儿童及成人支气管炎和原

发性非典型性肺炎的一种重要病原体。MP 感染可在所有年龄段发生,尤其常见于儿童急性上、下呼吸道感染疾病,并已成为因重症肺炎住院老年患者的重要病因^[1]。实验室检测对 MP 病毒或细菌等病原体引起的感染性疾病具有重要的鉴别诊断价值^[2]。目前,实验室诊断主要依靠血清学方法。为明确肺炎的确切致病因子以提高临床的治疗效果,特异、快速的临床诊断方法显得非常重要^[3]。

抗 MP IgM 抗体(MP-IgM)检测是实验室确诊 MP 感染的有效手段,而酶联免疫吸附试验(ELISA)适用于 MP 临床常规检查及初检筛选^[4]。本实验室选用德国欧蒙(EURO)、美国 ZEUS(ZEUS)、深圳亚辉龙(YHLO)等公司生产的 3 种 ELISA 法检测试剂盒对临床样本进行检测,比较其敏感性、特异性等指标,对实际应用价值作出判断,为临床实验室选择适用的检测试剂盒提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 DEM-3 洗板机和 BIOTEK 酶标仪。EURO 公司试剂,批号:E100709AL,有效期:2011-07;ZEUS 公司试剂,批号:10050943,有效期:2011-12;YHLO 公司试剂,批号:201005,有效期:2011-10。

1.2 方法 2010 年 12 月至 2011 月 3 月就诊的呼吸道感染症状患儿 82 例,男 42 例,女 40 例,年龄 6 个月至 12 岁。其中 52 例患者发热咳嗽, β -内酰胺类及磺胺类抗菌药物治疗无效,改用大环内酯类抗菌药物治疗有效,诊断符合《儿科学》中 MP 感染的诊断标准^[5]。另外 30 例其他类型呼吸道感染患儿为对照组。均采集静脉血并即时分离血清,采用上述 3 种试剂进行 MP-IgM 检测,严格说明书要求操作。

1.3 统计学处理 采用 EP Evaluator 软件定性方法学比对,并进行统计学分析,显著性检测水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 3 种 ELISA 试剂盒检测 82 例患者血清 MP-IgM 结果 52 例临床诊断为 MP 感染的患者中,EURO 阳性者 47 例,ZEUS 阳性者 51 例,YHLO 阳性者 49 例。30 例临床诊断为非 MP 感染患者中,EURO 未检出阳性,ZEUS 阳性者 10 例,YHLO 阳性者 4 例,结果见表 1。

表 1 3 种 ELISA 试剂盒检测血清 MP-IgM 结果(n)							
组别	n	EURO		ZEUS		YHLO	
		+	-	+	-	+	-
MP 感染	52	47	5	51	1	49	3
非 MP 感染	30	0	30	10	20	4	26

2.2 3 种 ELISA 试剂盒各诊断指标的对比 3 种方法的敏感性、特异性与符合率比较见表 2。

2.3 3 种 ELISA 试剂盒检测血清 MP-IgM 结果显著性检验及一致性 经显著性检验统计分析,ZEUS 分别与 EURO、YHLO 相比,差异有统计学意义($P<0.001$ 或 $P<0.01$)。YHLO 与 EURO 相比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。采用 Cohen's Kappa 系数检验 3 种试剂盒相互间结果的一致性。结果表明,ZEUS 与 EURO 相比,Cohen's Kappa=0.63,YHLO 与 EURO 相比,Cohen's Kappa=0.87,YHLO 与 ZEUS 相比,Cohen's Kappa=0.74。根据一致性强度的判定标准,Kappa 值为正数,且 Kappa 值越大,一致性越好。Kappa ≥ 0.75 表

示两者一致性较好,0.75 $>$ Kappa ≥ 0.4 表示两者一致性一般,Kappa <0.4 表示两者一致性较差^[6]。上述结果显示 YHLO 与 EURO 两组数据在统计学上较为相符,一致性较好。ZEUS 与 EURO 及 YHLO 一致性则一般。

表 2 3 种 ELISA 试剂盒检测 MP-IgM 性能比较(%)			
项目	EURO	ZEUS	YHLO
敏感性	90.4	98.1	94.2
特异性	100.0	66.7	86.7
阳性预测值	100.0	83.3	92.5
阴性预测值	85.7	95.2	89.7
符合率	93.9	85.4	91.5

3 讨论

MP 是呼吸道及其他器官感染的重要病因之一,以呼吸道感染最为多见,并且可引起全身多器官损害,多导致社区获得性感染。MP 虽属革兰阴性菌范畴,但因缺乏革兰阴性菌特有的细胞壁,治疗肺炎常用的青霉素类和其他 β -内酰胺类药物对其无效,仅对大环内酯类、四环素类抗菌药物较为敏感^[5]。大多数 MP 患者的临床症状与其他病原引起的非典型肺炎一致。因此,要确诊 MP 感染,提高临床治疗效果,特异、敏感、快速、准确的检测显得非常重要。

实验室检测对 MP 感染诊断的重要性已日趋显现,但各文献报道的阳性率、感染率等差异很大。被喻为诊断金标准的支原体培养阳性率过低,时间太长。PCR 虽在 MP 感染诊断中得到较好应用,但因对仪器设备要求较高,且操作繁琐,也不能满足临床快速诊断需求^[7]。

由于血清 MP-IgM 在感染后第 3 天即可升高,1~2 周左右达到峰值,临床上现多 MP-IgM 阳性作为急性期感染诊断指标^[8]。MP-IgM 检测血清学试验包括补体结合试验(CFF)、免疫荧光试验(IFA)、间接血凝试验(IHA)和 ELISA 等。近年多采用颗粒凝集法(PA)测定 MP 抗体,除 MP-IgM 以外,也可检出小部分的 MP-IgG 和 MP-IgA,PA 法阳性为滴度大于 1:80,确诊 MP 急性感染则应强调双份血清恢复期抗体滴度上升 4 倍或 MP-IgM 抗体滴度持续高于 1:160^[9]。

ELISA 检测 MP-IgM 敏感性高而且重复性好,报告速度快,检测费用便宜,检测结果可以肉眼判断,不需要仪器,整个过程一般在 2 h 内完成,适于批量检测,可作为 MP 肺炎临床诊断的常规检测方法。本文数据表明,EURO、ZEUS、YHLO 3 种 ELISA 检测试剂盒对 MP-IgM 检出阳性率分别为 90.4%、98.1%和 94.2%,特异性分别为 100.0%、66.7%和 86.7%。在非 MP 感染患者中 ZEUS 检出 10 例阳性,假阳性率为 33.3%。而 EURO 在拥有较高特异性的同时,其假阴性率达 10%。Csng等^[10]对 504 例健康人和 102 例呼吸道感染者用酶免疫法(EIA)检测 MP-IgM,分别使用了 4 种不同的试剂(以生产商首字母 L、S、B、N 代表),结果提示健康人群中 MP-IgM 阳性率分别为 14.9%(L),16.0%(S),2.8%(B),3.8%(N),而感染患者中 MP-IgM 阳性率分别 40.2%(L),42.2%(S),9.8%(B),16.7%(N)。显然,不同试剂盒检测阳性率差别很大。往往试剂盒在灵敏度和特异性上(下转插 I)

(上接第 2017 页)

有矛盾冲突,有较好的特异性,灵敏度就低,反之亦然。检测方法必须兼顾灵敏度和特异性,使之达到较好平衡。忽视了这一点,就有可能导致 MP 感染的误诊或漏诊,以致影响治疗及阳性率评估。

在临床实际应用中,部分 ELISA 试剂盒对成人 MP 感染的检出率过低,虽然 20%左右的成年患者反复感染后会导致 MP-IgM 阴性结果,但不至于均为阴性。对于这种现象,采用何种 ELISA 试剂盒检测 MP-IgM 来保证有效的灵敏度和稳定的特异性,有待于进一步观察。

临床应用试剂可靠性评价是以区分健康与疾病的能力为依据。各种 ELISA 试剂检测出现假阳性或假阴性在所难免,目前临床应用的 MP-IgM ELISA 试剂盒质量参差不齐。如何用快速简便的方法进行比对并得出较为科学合理的评价,是大家都应思考的问题。本实验室通过 EP Evaluator 进行定性方法学比对,使得评价试验结果更加快速、准确和直观。同时,必须认识到考量试剂的质量更要全面、综合分析。

参考文献

[1] 廖春盛,戴小波,刘建军. 呼吸道感染患者肺炎支原体检测的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(13):1474-1475,1477.
[2] Daxboeck F, Blacky A, Seidl R, et al. Diagnosis, treatment, and prognosis of Mycoplasma pneumoniae childhood encephalitis; sys-

tematic review of 58 cases[J]. J Child Neurol,2004,19(11):865-871.
[3] Miyahar Y, Takayanagi N, Kubota M, et al. Clinical study of 90 cases of Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi,2006,44(9):607-612.
[4] 董燕芬,马玲娣. 肺炎支原体检测及临床应用进展[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(3):269-270.
[5] 申昆玲. 儿科学[M]. 北京:高等教育出版社,2009:196.
[6] 夏帮世,吴金华. Kappa 一致性检验在检验医学研究中的应用[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(1):83-84.
[7] 朱传新,周玉平. 肺炎支原体四种检测方法的比较[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(7):798-799.
[8] Gaillat J, Flahault A, deBarbeyrac B, et al. Community epidemiology of Chlamydia and Mycoplasma pneumoniae in LRTI in France over 29 months[J]. Eur J epidemiol,2005,20(7):643-651.
[9] 黄海辉,张婴元,黄绍光,等. 上海地区社区获得性肺炎的病原学调查[J]. 中国抗感染化疗杂志,2003,3(6):321-324.
[10] Csángó PA, Pedersen JE, Hess RD. Comparison of four Mycoplasma pneumoniae IgM-, IgG- and IgA-specific enzyme immunoassays in blood donors and patients[J]. Clin Microbiol Infect,2004,10(12):1094-1098.

(收稿日期:2011-12-23)

(上接第 2048 页)

表 1 各组别血小板参数检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PLT($\times 10^9/L$)	PDW(fL)	MPV(fL)	PCT	P-LCR
对照组	68	206.0 \pm 47.6	16.0 \pm 1.32	11.8 \pm 1.11	0.216 \pm 0.046	31.0 \pm 8.3
发热期	46	72.5 \pm 23.4 $\triangle\triangle$	17.9 \pm 1.69	12.1 \pm 1.26	0.189 \pm 0.030	36.0 \pm 9.5 \triangle
低血压休克期	46	41.0 \pm 17.6 $\triangle\triangle$	19.1 \pm 1.81 $\triangle\triangle$	14.6 \pm 1.89 $\triangle\triangle$	0.088 \pm 0.024 $\triangle\triangle$	44.0 \pm 13.6 $\triangle\triangle$
少尿期	46	58.0 \pm 20.4 $\triangle\triangle$	18.6 \pm 1.79 \triangle	13.4 \pm 1.53 \triangle	0.176 \pm 0.036 $\triangle\triangle$	39.0 \pm 11.9 $\triangle\triangle$
多尿期	46	117.0 \pm 28.9 \triangle	17.8 \pm 1.41	12.5 \pm 1.16	0.189 \pm 0.038	34.0 \pm 9.1
恢复期	46	191.0 \pm 45.5	16.2 \pm 1.30	10.9 \pm 1.01	0.198 \pm 0.049	32.0 \pm 8.5

与健康对照组比较, $\triangle:P<0.05$, $\triangle\triangle:P<0.01$ 。

3 讨 论

为提高诊断水平,降低误诊率,应注重询问患者病史和进行全面的体格检查^[1],包括询问有无接触老鼠、量体温、查血象及常规尿液、肾功能等检查,防止漏检。

流行性出血热是病毒引起的疾病,血液细胞学检查发现异型淋巴细胞对 HFRS 诊断有重要意义。病史或体征提示 HFRS 患者,异型淋巴细胞的出现即为重要的诊断依据。

HFRS 侵犯巨核细胞引起血小板 α 质粒和致密颗粒减少或消失,开放性管道系统扩张或扭曲,使 cAMP 或钙流机制失调导致血小板功能障碍,HFRS 患者不仅血小板数量明显减少,而且 PDW、MPV、PCT 也明显异常,本文结果显示 PDW 与疾病呈正相关。血小板降低表明骨髓增生明显受抑制,血小板很低时($<25 \times 10^9/L$),PDW、MPV、PCT 值测不出,但患者无出血性症状或体征;血小板值略低和 PDW、MPV 升高时则有明显出血,显示血小板形态是反映血小板功能的主要指标。血小板形态异常、功能低下易导致出血,因此 PLT、PDW、

MPV、PCT 是 HFRS 患者临床诊断重要的参考指标。

本文结果显示,HFRS 患者血小板数量明显低于对照组,而 P-LCR 比对照组明显增加,可能是由于免疫复合物沉积于血小板表面,导致血小板聚集和破坏,外周血小板减少,从而刺激骨髓巨核细胞反应性增生,产生大血小板,并释放入血^[2]。PDW、MPV 增加,HFRS 患者外周血小板破坏或消耗增加,临床表现出血倾向。应密切关注患者血小板及其参数的变化,采取相应的治疗措施,防止患者出血加剧,预防严重后果的发生。

参考文献

[1] 杨秀云,辛桂杰,顾清,等. 老年肾综合征出血热 53 例误诊分析[J]. 中国老年学杂志,2006,26(12):1745-1746.
[2] 丛玉隆. 当代血液分析技术与临床[M]. 北京:人民卫生出版社,1997:28-30.

(收稿日期:2012-01-12)