

涂片的检验力度,对存在质疑的血液标本应及时请示高级职称人员进行复查,以降低漏诊率,为疾病的诊断提供重要试验依据。

参考文献

[1] 中华检验医学杂志编辑委员会. 加强形态学临床检验专家座谈会纪要[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(2): 147-148.
[2] 孙芾, 王厚芳, 于俊峰, 等. 血细胞显微镜复检标准的制定及临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(2): 155-157.
[3] 卢兴国, 丛玉隆. 应重视和提升传统血液形态学检验诊断水平[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(6): 481-482.
[4] 孙世忠, 翁亚贤, 李光. Sysmex KX-21 血细胞分析仪复检规则的制定与评价[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(5): 436-437.
[5] 李顺义. 血细胞形态学漏诊分析与对策[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(2): 140-141.
[6] 江虹, 曾婷婷, 曾素根, 等. 全自动血细胞分析和血细胞分类复检

规则的制定及评价[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(9): 996-1000.
[7] 姜波, 吴红, 陈世锋, 等. 全自动血液分析仪异常报警信息的分析及临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(11): 1013-1016.
[8] 申志红, 杨宇溪. 三分群血细胞分析仪显微镜复检标准的制定及临床应用[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(10): 751-752.
[9] 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, 1997: 142.
[10] 王昌富, 邓明凤, 丛玉隆, 等. 应用国际血涂片复审准则对 XT1800i 血细胞分析仪的评估[J]. 华中医杂志, 2008, 32(1): 7-8.
[11] 卢兴国, 丛玉隆. 应重视和提升传统血液形态学检验诊断水平[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(6): 481-482.

(收稿日期: 2012-06-12)

• 检验科与实验室管理 •

关于梅毒检测程序的探讨

袁晓华, 胡惠萍

(湖北省黄石市第一医院, 湖北黄石 435000)

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 24. 065

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2012)24-3065-03

梅毒是医疗机构手术前(或输血前)检查和采供血机构献血前的必查项目。梅毒的诊断虽然必须依靠病史、症状及实验室检查进行综合分析,但是梅毒的实验室检查结果对诊断有决定性意义。目前,我国的梅毒实验室检查有病原学检查和血清学检查,病原学检查必须要有特殊的仪器,在镜检方面人员存在主观性,所以目前我国绝大部分医疗机构和采供血机构面对普通标本都没有采用病原学检查而用的是血清学检查,血清学检查分为非梅毒螺旋体抗原血清学试验和梅毒螺旋体抗原血清学试验。这两类试验为检查梅毒的主要方法,但是具体是哪一种方法为梅毒的筛查方法,筛查出阳性后又用何种方法确认,我国并没有对检测程序作出明确的规定,世界卫生组织推荐用 USR 等方法(即非梅毒螺旋体抗原血清学试验)进行过筛实验,出现阳性再用 TP-ELISA 方法进行确认。有专家指出梅毒检测的程序也是用 RPR 等进行初筛,出现阳性者再用 FTA-ABS 或 TPI 等方法来确认^[1]。但笔者不认同这个观点,本文将介绍笔者认为的梅毒检测程序及其原因,供大家探讨,并希望国家出台统一标准。

1 非梅毒螺旋体抗原血清学试验

1.1 非梅毒螺旋体抗原血清学试验分为(1)性病研究实验室玻片试验(VDRL):该方法的试剂需现配现用,故国内实验室很少采用。但 VDRL 是诊断神经性梅毒最特异的方法。(2)不加热血清反应素试验(USR):该方法的试剂无需现配现用,但现已基本淘汰。(3)快速血浆反应素环状卡片试验(RPR):该方法在纸片上进行,加入一定量特制的炭粉,可使抗原抗体出现凝集,用肉眼观察结果。(4)甲苯胺红不加热试验(TRUST):该方法在试剂中以红色甲苯胺红颗粒代替黑色炭

粉颗粒,结果易于观察,故为目前国内非梅毒螺旋体抗原血清学试验中最主要的方法。

1.2 非梅毒螺旋体抗原血清学试验的优缺点。优点:(1)阳性者往往是梅毒现症感染者,临床上即可开展治疗。(2)滴度随成功的治疗而逐渐下降,故可作为疗效观察的指标。(3)此方法价格低廉。缺点:(1)特异性,有资料说,在多种疾病,如急性病毒性感染、自身免疫性疾病、结缔组织病、肿瘤、静脉吸毒者、老年人以及怀孕妇女中可以出现假阳性。(2)敏感度,感染梅毒后抗类脂抗原的抗体出现时间最早为 3~4 周,而 IgM 型抗梅毒螺旋体抗体,感染 2 周后即可测出,故此方法对一期梅毒漏检率较高。另外,晚期梅毒反应素转阴率高,再加上这类试验对隐性梅毒也不太敏感,因此用此类试验进行梅毒筛查时,存在着漏检现象。

1.3 下面以英科新创的 TRUST 试验为例来分析非梅毒螺旋体抗原血清学试验的操作要点,英科新创 TRUST 试剂在 2009 年 3 月的《性病情况简报》中报道敏感度为 97.2%,特异性为 93.4%。操作步骤和注意事项以试剂盒说明书为准,不再重复,这里主要介绍(1)观察方法:肉眼观察和显微镜低倍镜观察,说明书上指明在光线充足处用肉眼判断,但笔者认为用显微镜的低倍镜观察好,原因如下:显微镜可以观察到前带现象,有 1%~2%的二期梅毒患者可出现前带现象,肉眼观察会发生假阴性反应,有经验的检验人员通过低倍显微镜立刻就可以判断出来是前带现象,笔者做过统计,所在医院近五年的梅毒阳性前带现象标本共 45 例,用肉眼判断为阴性,但显微镜下全部判断为阳性,稀释后检测得到很高的滴度结果。很多治疗后的梅毒和早早期梅毒的 TRUST 阳性程度非常弱,低倍显微

镜可提高阳性检出率,显微镜观察同时可排除视力因素,从而降低肉眼所致的假阴性率。(2)滴加试剂的量(仅限于英科新创的 TRUST 试剂):试剂盒说明书指明用试剂盒自带的塑料滴管垂直滴加一滴试剂,但一滴的量具体是多少没有作说明,对于标本量不大的基层医院,一盒试剂几天时间用不完,时间一长,塑料滴管的前端就会发毛甚至发裂,使滴加试剂的量增加。笔者认为,按 50 滴/毫升的试剂量比较适合,即每份标本加 20 μL 的试剂,所得到的结果最为显性。

2 梅毒螺旋体抗原血清学试验

2.1 梅毒螺旋体抗原血清学试验分为(1)荧光梅毒螺旋体抗体吸收试验(FTA-ABS):该方法是螺旋体试验中的敏感方法,特异性很高,是检测梅毒的“金标准”,但技术操作上存在困难,试验可靠性的关键是标准化的结果判断、高质量的荧光标记抗体以及适当的稀释度。该试验操作繁琐以及主观判读,需要有优质的荧光显微镜,故临床实验室开展得很少。(2)梅毒螺旋体血球凝集试验(TPHA):此试验因红细胞生物活性及保质期短,现已被 TPPA 取代。(3)梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA):以人工合成的惰性明胶颗粒代替 TPHA 中的红细胞作为载体,该方法比 FTA-ABS 易操作且稳定性好,它的敏感度除早期梅毒外与 FTA-ABS 相似,试剂稳定,批间差小,结果判读清晰明确,一般认为是梅毒的确认实验。该方法从理论上虽不能排除“沟状效应”,但笔者未发现也未见报道,当血清标本中的梅毒抗体滴度很高时,TPPA 试验底部的红色明胶环边缘可能会出锯齿状或不规则形。目前我国基本采用日本富士瑞必欧株式会社生产的 TPPA 试剂,试验前要注意 U 形板的选择,最好选用瑞必欧生产的原装 U 形板,试验结果比软质的薄膜 U 形板要典型和稳定的多,试验中应该封板避光静置 2 h,硬质 U 板可保存结果很长时间不变,薄膜 U 板在观察结果时只要见到空气,阳性率就会转阴。(4)梅毒螺旋体酶联免疫吸附试验(TP-ELISA):试验分为双抗原夹心法同时检测 IgG、IgM 抗体和捕获法检测 IgM 抗体两种。前者敏感度和特异性较高、价格较低,可实现操作的自动化、客观化,但试剂盒品牌众多,各家采用的抗原和工艺不同,使敏感度和特异度产生较大差异。后者在梅毒感染两周后即可检出,对早期梅毒、胎传梅毒、梅毒的复发和再感染有价值。因操作复杂故临床应用很少。(5)梅毒螺旋体化学发光免疫测定(TP-CLIA):该方法以化学发光底物取代发色底物,保持了发光免疫分析的高灵敏度(高于 ELISA 方法一倍)又延长了发光信号时间^[2],使报告范围更宽。有研究者报道,LIAISON 一步夹心化学发光免疫法梅毒实验(TP-CLIA)整体灵敏度为 95.80%,特异度为 99.10%,既可作为筛选实验,又可作为确认实验^[3]。有研究者报道以 TPPA 为标准,化学发光法敏感度、特异度分别为 100.00%和 99.90%,化学发光法与 TPPA 法一致性为 99.50%~100.00%,化学发光法检测 I 期梅毒更敏感^[4]。(6)梅毒螺旋体快速诊断试验(TP-RT):该方法简便、快速,不需特殊仪器,可用于急诊,但敏感度、特异度尚有待考查。(7)梅毒螺旋体蛋白印迹试验(TP-WB):该方法的敏感度和特异度均可达到甚至超过 FTA-ABS 的水平,但试剂价格高昂,无法普及。

2.2 TP-ELISA 的沟状效应 中国生物制品规程(2010 年版)已规定,各厂家从 2010 年 10 月 1 日起生产的用于献血员筛查

的梅毒试剂,必须采用“二步法”,目的是增加灵敏度和防止沟状效应,理论上“二步法”吸光度对抗原或抗体浓度的变化曲线成 S 形,“一步法”吸光度对抗原或抗体浓度的变化曲线成钟形,因此“二步法”可以有效地防止沟状效应的发生。笔者对医院患者的梅毒检测采用 TRUST 和 TP-ELISA 联合筛查法,对 TRUST 结果和 ELISA 结果不同步的再作 TPPA 确认。TRUST 试剂是英科新创公司生产的,TP-ELISA 试剂是珠海丽珠公司生产的(二步法)。共检测标本 2 392 例,最终确认为阳性的标本 112 例,TRUST 结果为阳性而 TP-ELISA 结果为阴性的标本 5 例,这 5 例标本经 TPPA 确认全部为阳性,没有发现 TP-ELISA 为阳性而 TPPA 为阴性的病例。经计算该批试剂盒检验的敏感度为 95.73%,特异度为 100%。接着笔者把这 5 例标本都用生理盐水(有研究者认为应该用正常血清稀释标本)做了倍比稀释再次检测 TP-ELISA。结果说明这 3 例标本 TP-ELISA 检测是因为“沟状效应”而产生了假阴性,更说明了“二步法”的 TP-ELISA 并没有解决“沟状效应”的问题。笔者还发现这 3 例“沟状效应”的标本还有一个共性就是 $\text{OD} > 0.1$ 又小于临界值。结果虽判为阴性但并不是绝大多数阴性标本那样 $\text{OD} < 0.1$ 。当前有很多学者认为 TP-ELISA 是目前筛查梅毒的理想方法。但一般来说,筛查实验允许有假阳性,但尽可能没有假阴性^[5],从这点来说,TP-ELISA 并不完全符合要求。TP-ELISA 的最低检出率要略高于凝集试验,对血清中极低浓度的抗体,TP-ELISA 可能先于 TPPA 检测到,有助于缩短窗口期^[6]。故 TP-ELISA 又很适合做筛查实验。至于 5 例假阴性中的另外 2 例,可能与微板中几种包被抗原水平的构成比、抗原纯度以及生产工艺等因素有关。

3 梅毒检测的程序

笔者认为梅毒检测的程序应分为两类,第一类为医疗机构,检测程序是有化学发光免疫测定(TP-CLIA)或全自动微粒子化学发光免疫实验(TP-CMIA)检测条件的医疗机构用化学发光来筛查梅毒,阳性标本再用 TRUST(或 RPR)来测定是否为现症患者,如果结果不同步的用 TPPA 确认。CMIA 法对提高感染性疾病抗原抗体准确率具有重要意义;另外,CLIA 法仪器操作漏检率低,是较为理想的手术前梅毒筛查方法;美国雅培公司化学发光法测定梅毒螺旋体的性能符合要求;CLIA 的敏感度与 TPPA 比较有一定的优势。没有化学发光检测条件的医疗机构应先用 TP-ELISA 来筛查,对于 0.1 小于样本 OD 值小于临界值的标本同时用 TRUST 来筛查,以避免 TP-ELISA 所发生“沟状效应”,结果不同步的用 TPPA 确认。第二类为采供血机构,应避免因漏检梅毒标本给他人造成感染。检测程序应同时用 TP-ELISA 和 TRUST(或 RPR)来筛查,结果不同步的用 TPPA 确认。通过这些检测方法尽可能的检测出梅毒,降低梅毒的传播概率。

参考文献

- [1] 周新. 临床检验诊断学考核指南[M]. 3 版. 湖北科学技术出版社, 2006:423-424.
- [2] 郑和平,黄进梅. 化学发光法检测梅毒螺旋体特异性抗体的方法学评价[J]. 中国艾滋病性病,2008,14(6):609-616.
- [3] Knight C, Mary S, Crum A. Evaluation of the LIAISON chemiluminescence immunoassay for diagnosis of syphilis[J]. Clinical and

Vaccine Immunology, 2007, 14(6): 710-713.

[4] Mo XH, Jin YL, Yang Y, et al. Evaluation of a new chemilumine
Scence immunoassays of diagnosis of syphilis[J]. European Jour-
nal of Medical Research, 2010, 15(1): 66-69.

[5] 王露楠, 邓巍, 李金明. 梅毒螺旋体感染不同血清学诊断方法的临
床评价[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(6): 352-353.

[6] 周琳, 胡雪玲, 张健倩. RPR、TPPA、TP-ELISA 3 种检测梅毒方法
的比较及评价[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(1): 86-87.

(收稿日期: 2012-06-12)

• 检验科与实验室管理 •

检验科安全现状分析

王洪涛¹, 侯小平¹, 韩会贤²

(1. 河北省张家口市第 251 医院检验科, 河北石家庄 075000; 2. 河北北方学院, 河北张家口 075000)

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 24. 066 文献标识码: B 文章编号: 1673-4130(2012)24-3067-02

检验科工作人员由于长期接触大量的有生物危险性的血液、体液等各种临床检验标本, 而这些血液标本是重要的潜在生物传染源^[1-2]。因此做好检验科工作人员的职业安全防护是保障检验科日常工作的重要环节。因此本文就京冀地区 10 家三级甲等医院、1 家 2 级甲等医院、1 家三级乙等医院的工作安全设施及安全人员设置情况与生物安全保护情况两个方面进行调查。对于已有相关法律法规规定的实验室生物安全管理

体系的建立及管理文件的编制是否建立健全不做调查。

1 调查对象及内容

以京冀地区 12 家医疗机构检验科为调查对象, 调查检验科工作安全设施及安全人员设置情况与生物安全保护情况两个大的方面进行调查, 对调查结果进行总结和分析。

2 调查结果

见表 1~2。

表 1 工作安全设施及安全人员设置情况

工作安全设施及安全人员设置情况	是		否	
	<i>n</i>	百分比(%)	<i>n</i>	百分比(%)
1. 防火[灭火器材是否完备]	12	100	0	0
3. 电源位置设置是否处于明显位置	10	83. 3	2	16. 7
5. 有无逃生设施及通道、标志。	10	83. 3	2	16. 7
6. 特殊工种安全[如乙炔的安全管理等]	7	58. 3	5	16. 7
7. 检验科工作人员是否定期进行安全教育。	10	83. 3	2	16. 7
8. 检验科是否设有安全检查人员。	10	83. 3	2	16. 7
9. 医院是否设有安全主管人员。	10	83. 3	2	16. 7
10. 检验科是否进行定期安全检查。	10	83. 3	2	16. 7
11. 防各类对人体有潜在危险的物理及化学物标示是否明显。	10	83. 3	2	16. 7

表 2 生物安全及安全人员设置情况

生物安全及安全人员设置情况	是		否	
	<i>n</i>	百分比(%)	<i>n</i>	百分比(%)
1. 自我防护设施是否完备	9	75. 0	3	25. 0
2. 一次性防护用具是否完备	8	66. 6	4	33. 4
3. 紧急用药品是否完备	9	75. 0	3	25. 0
4. 紧急消毒设施是否完备	9	75. 0	3	25. 0
5. 卫生保护措施是否进行定期检查。	10	83. 3	2	16. 7
6. 卫生保护是否由专人负责	9	75. 0	3	25. 0
7. 检验科工作人员是否进行生物安全教育	10	83. 3	2	16. 7
8. 检验科工作人员是否对进科实习人员进行生物安全培训教育	10	83. 3	2	16. 7
9. 是否重视手部卫生	10	83. 3	2	16. 7