

异有统计学意义($P=0.001$)。Kappa 检验显示:2 种方法的一致性有统计学意义,但一致性一般($Kappa=0.686, P=0.000$)。以 IIF 法为标准,ELISA 法的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和符合率分别为 78.5%、96.6%、83.6%、95.3%及 93.3%;免疫斑点法的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和符合率分别为 61.5%、99.0%、99.0%、92.0%及 92.1%,见表 2。ELISA 法的灵敏度要高于免疫斑点法,免疫斑点法的阳性预测值要高于 ELISA 法。

表 1 两种方法检测 356 例样本 ANA 的检测结果(n)		
免疫斑点法	ELISA 法	
	阳性	阴性
阳性	38	5
阴性	23	290

表 2 两种方法检测 ANA 的效能评价(n)				
IIF	免疫斑点法		ELISA 法	
	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	40	25	51	14
阴性	3	288	10	281

3 讨 论

ANA 是一种动物细胞成分的自身抗体,无种属和器官特异性。ANA 于 20 年前已从系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)患者血清中被检出,以后陆续见于其他一些自身免疫性疾病,如类风湿性关节炎、硬皮病、干燥综合征、

• 检验技术与方法 •

未成熟粒细胞计数及 C-反应蛋白在感染性疾病中的临床价值

罗 蓓¹,殷红梅^{2△}

(上海市第一妇婴保健院检验科,上海 200040;2.上海市中医药大学附属龙华医院检验科,上海 200032)

摘 要:目的 比较未成熟粒细胞计数(IG)以及 C 反应蛋白(CRP)的变化,探讨这 2 种实验室诊断方法在感染性疾病中的应用价值。**方法** 采用 Sysmex XE-2100 血液分析仪测定 153 例感染性疾病患者 IG 计数,并采用免疫荧光分析仪比较同期患者 CRP 水平。**结果** 细菌感染组患者 IG 计数和 CRP 水平较非细菌感染组以及正常对照组均有明显的升高,其中,细菌感染组 IG 计数和 CRP 阳性率分别为 72.9%和 69.4%,非细菌感染组阳性率分别为 32.3%和 26.4%,差异有统计学意义($P<0.01$)。同时,细菌感染组患者 2 种指标同时阳性的比例显著高于非细菌感染组,分别为 64.7%和 13.2%。**结论** IG、CRP 联合检测对感染性疾病的发生和诊断有很高的临床检测价值。

关键词:感染; 未成熟粒细胞; C 反应蛋白质

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.047 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)21-2887-03

感染是最常见的致病因素,目前尚无快速、完善的病原学诊断技术来实现对细菌的快速分离和鉴定。一直以来,临床对感染性疾病的诊断、病情监测及预后评估主要以实验室的血培养或体液培养、白细胞计数(WBC)及其分类、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等指标作为主要依据^[1]。近年来,国内、外对于未成熟粒细胞计数(imature granulocytes, IG)以及 CRP 在感染性疾病中的应用价值研究增多。本文联合检测了 153 例感染性疾病患者的 IG 计数和 CRP 水平,探讨这 2 种实验室检测指标在感染性疾病中的临床应用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 1 月至 2012 年 1 月上海市中医药大

消化系统和造血系统等疾病。ANA 的敏感性高,但特异性不高,难以用来鉴别诊断各种风湿病亚类^[2-3]。有报道称 SLE 是一种典型的自身免疫性疾病,临床表现多样^[4]。早期的 SLE,患者体内 ANA 可能出现阴性结果,易导致误诊^[5]。但是 ANA 阳性已被美国风湿病学会列为 SLE 的诊断标准之一。在国内,目前检查 ANA 早已是检查自身免疫性疾病的主要项目之一。本研究表明,除 IIF 法外,在众多基层医院中开展的 ELISA 法和免疫斑点法检测 ANA,其中一种为阳性时,另一种方法也多为阳性,但 2 种方法检测的一致性程度一般。ELISA 法的灵敏度要高于免疫斑点法。免疫斑点法的阳性预测值要高于 ELISA 法。

参考文献

[1] 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,2006:655-658.
[2] 杜国有,顾向明,方玲. ANA、抗 ds-DNA 抗体及抗 ENA 抗体联合检测在自身免疫性疾病诊断及疗效判断中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(10):1064-1066.
[3] 叶萍,许桂芳,叶晓翔,等. 肽抗原 ELISA 检测系统性红斑狼疮患者 rRNP 抗体的临床意义[J]. 中华风湿病学杂志,2006,10(2):73-76.
[4] 孟博,张志斌. 抗核抗体在自身免疫性疾病的检测及应用[J]. 放射免疫学杂志,2006,19(1):78-79.
[5] 高志芬,陈晓玲. ANA 阴性的 SLE 的实验室检查[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(9):946-947.

(收稿日期:2013-05-05)

学附属龙华医院收治的患者 153 例,其中,脓毒症继发于肺炎 73 例,败血症继发于肺炎 48 例,急性支气管炎 18 例,肺结核有咯血 9 例,细菌性肺炎 5 例。根据临床表现、影像学、实验室病原学及其他检查,将其分为呼吸道细菌感染组(经痰培养、咽拭子培养确诊)85 例,其中,男 51 例,女 34 例;年龄 22~83 岁。非细菌感染组 68 例,其中,男 36 例,女 32 例;年龄 23~79 岁。将健康体检者(经影像学、心电图及实验室等检查,无肝、肾、心、肺等疾病,无呼吸道及其他感染性疾病)40 例作为正常对照组,其中,男 21 例,女 19 例;年龄 21~59 岁。

1.2 主要仪器与试剂 Sysmex 公司生产的 XE-2100 血液分析仪及配套试剂、质控品;韩国 i-CHROMA Reader 免疫荧光

△ 通讯作者,E-mail:1910633947@qq.com。

分析仪及配套试剂、质控品。

1.3 实验方法 取患者 2 mL 静脉血置于乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)-K 抗凝管摇匀, 利用 Sysmex XE-2100 血液分析仪进行细胞计数和 IG 计数。用韩国 i-CHROMA Reader 免疫荧光分析仪按操作说明书进行全血 CRP 定量分析。通过建立 IG 比值的受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC) 曲线曲线, 选择曲线上最靠左上方的点, 根据统计结果中各可能切点的灵敏度和特异度, 计算 Youden 指数, 并选择其最大的切点为临界点, 确定 IG 比值的阈值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料用 χ^2 检验, 组间比较采用 t 检验, 三组间比较用方差分析, 以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 IG 比值的 ROC 曲线及临界点的确定 对 153 例患者 IG 比值进行 ROC 曲线作图, 测得其 ROC 曲线下面积为 0.801。选择曲线上最靠左上方的点, 根据统计结果中各可能切点的灵敏度和特异度, 计算 Youden 指数, 并选择其最大的切点为临界点, 确定 IG 比值的阈值为 0.332。

2.2 各组 IG 比值和 CRP 值的比较 细菌感染组、非细菌感染组以及正常对照组的 IG 比值和 CRP 值表达情况见表 1。经方差分析对 3 组进行两两比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。细菌感染组和非细菌感染组两种指标均比正常对照组有明显的升高, 同时细菌感染组与非细菌感染组比较, 又进

一步显示高值。因此, 临床上以 $CRP > 10 \text{ mg/L}$ 作为鉴别诊断细菌感染的阈值。

表 1 各组 IG 比值和 CRP 值检测情况			
组别	<i>n</i>	IG 比值	CRP(mg/L)
细菌感染组	85	0.743±0.152	39.6±8.7
非细菌感染组	68	0.356±0.149	8.1±2.6
正常对照组	40	0.211±0.056	3.2±1.1

2.3 IG 比值和 CRP 值在细菌感染中的鉴别诊断 以 IG 比值大于 0.332 或 $CRP > 10.0 \text{ mg/L}$ 作为细菌感染的阳性指标。根据细菌感染和非细菌感染组患者检测得到的数值, 可知细菌感染组 IG 比值升高者有 62 例, 阳性率为 72.9%。非细菌感染组 IG 比值升高者有 22 例, 阳性率为 32.3%, 两组结果比较差异有统计学意义 ($P < 0.001$); 细菌感染组 $CRP > 10.0 \text{ mg/L}$ 的有 59 例, 阳性率为 69.4%, 非细菌感染组 $CRP > 10.0 \text{ mg/L}$ 的有 18 例, 阳性率为 26.4%, 两组结果亦有显著性差异 ($P < 0.001$)。说明 IG 比值和 CRP 值都能在细菌感染中起到鉴别诊断的作用。同时, 对两组中 IG 比值和 CRP 值同时升高的患者进行统计, 发现在非细菌感染组中, 两种指标同时阳性的比例明显减少, 且与单项检测 IG 比值相比 $P = 0.053$, 与单项检测 CRP 值相比 $P = 0.008$ 。这充分说明 IG 比值和 CRP 值联合检测可以显著降低假阳性率, 即提高对细菌感染的鉴别诊断率。

表 2 IG 比值和 CRP 值对感染性疾病的鉴别诊断[n(%)]

组别	IG 比值		CRP		IG 比值+CRP	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
细菌感染组	62(72.9)	23(27.1)	59(69.4)	26(30.6)	55(64.7)	30(35.3)
非细菌感染组	22(32.3)	46(67.7)	18(26.4)	50(73.6)	9(13.2)	59(86.8)

3 讨 论

感染性疾病是危重患者主要死亡原因之一, 当其感染严重中性粒细胞可能会发生核左移^[2]。外周血出现中性杆状核粒细胞增多或出现晚幼粒、中幼粒、早幼粒等未成熟细胞。IG 包括晚幼粒细胞、中幼粒细胞和早幼粒细胞, 其在外周血中出现是骨髓造血功能增强、髓血屏障的破坏或出现髓外造血的重要信息, 是临床对炎症、血液病、成人和婴幼儿感染性疾病和败血症等疾病进行诊断、治疗监测和提示预后的重要参数^[3]。

本文用全自动血液分析仪检测各组患者外周血中的 IG 值, 并通过 IG 报警、绝对计数和散点图表示其异常。运用 XE IG Master 技术, 用自动阈值鉴别线把 IG 从成熟粒细胞中自动区分出来, 从而达到对 IG 的定量检测。根据 IG 比值的 ROC 曲线, 曲线下面积为 0.801, 统计结果中各可能切点的灵敏度和特异度, 计算 Youden 指数, 并选择其最大的切点为临界点, 确定感染性 IG 比值的阈值为 0.332。进而比较细菌感染组、非细菌感染组以及正常对照组中 IG 比值异常率, 发现在细菌感染患者中, IG 比值的异常率高达 72.9%, 提示 IG 比值的高异常与细菌感染有重要的关系。其结果与文献^[4-5]报道一致。

CRP 是一种在机体受到微生物入侵或组织损伤等炎症性刺激时肝细胞合成的能与肺炎球菌 C 多糖体反应形成复合物的急性时相反应蛋白^[6]。在炎症开始数小时升高, 48 h 即可

达峰值, 随着病变消退, 组织、结构和功能的恢复降至正常水平, 不受放化疗、皮质激素治疗的影响^[7], 是鉴别细菌与病毒感染的可靠指标。同时可作为感染性患者停用抗菌药物的安全有效的标准, 可以明显缩短抗菌药物疗程^[8]。本文结果显示在细菌感染的患者中, CRP 异常率达到 69.4%, 且其水平升高与感染程度呈正相关。与 IG 比值有同样的检出结果。因此, 笔者认为当细菌感染时, 用 IG 比值和 CRP 水平可作为感染性疾病较好的临床鉴别诊断指标。这 2 项指标在感染性疾病中均存在相关性, 联合检测可以显著降低假阳性率, 提高对细菌感染的鉴别诊断率, 提示着 2 项实验室检测指标联合应用对疾病的发生和诊断有很高的临床检测价值。

参考文献

[1] 黄建迎, 黄媛. 细菌感染快速诊断中 CRP 值和 WBC 数与 NAP 积分的探讨[J]. 临床医学工程, 2010, 17(3): 47-48.
[2] 韩健, 梁华平. 全身炎症反应综合征评分系统的临床意义[J]. 中国危重病急救医学, 2007, 19(3): 186-188.
[3] 余文辉, 周小梅, 王晓忠, 等. 未成熟粒细胞计数在全身炎症反应综合征中的应用价值[J]. 中国危重病急救医学, 2009, 21(9): 558-559.
[4] 王小林, 王宇, 吴永华. XE-2100 全自动血液分析仪自动幼稚粒细胞计数与显微镜方法比较[J]. 现代检验医学杂志, 2006, 21(6): 62-63.

[5] Ansari IM, Kickler TS, Borowitz MJ. Immature granulocyte measurement using the Sysmex XE-2100, relationship to infection and sepsis[J]. Am J Clin Pathol, 2003, 120(5): 795-799.

[6] 周新, 阮小明. 临床检验诊断学考核指南[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2006: 122.

[7] 陈志云. C-反应蛋白与疾病的关系及意义[J]. 河北医学, 2007, 13(8): 990-992.

[8] 张飞萍, 黄云昆, 王胜虎, 等. C 反应蛋白检测在新生儿感染中的临床研究[J]. 中国妇幼保健, 2006, 21(16): 2244-2245.

(收稿日期: 2013-05-20)

• 检验技术与方法 •

外周血 HBsAb 的酶联免疫吸附测定与“HOOK 效应”

王 洁, 孟运运, 汪茂荣[△]

(中国人民解放军第八一医院全军肝病中心, 江苏南京 210002)

摘 要:目的 探讨酶联免疫吸附测定(ELISA)中,“HOOK 效应”对 HBsAb 测定的影响。方法 分别采用 ELISA 法和化学发光分析仪检测标本原液的光密度(OD)值,并将标本分别作 1:10、1:50 及 1:100 倍稀释,用 ELISA 法对稀释后标本进行检测。结果 HBsAb 检测时,一步法的“HOOK 效应”十分明显,而二步法无此现象。结论 二步法是减少“HOOK 效应”的有效方法。

关键词:酶联免疫吸附测定; 抗乙型肝炎病毒表面抗体; HOOK 效应
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.048 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)21-2899-02

在中国,抗乙型肝炎病毒表面抗体(anti-hepatitis B virus surface antibody, HBsAb)的检测在没有特殊临床要求的情况下,大多数医院仍采用手工检测法进行检测。正常人群中,通常只有在注射过乙肝疫苗时,选择通过全自动免疫生化仪进行准确定量。目前,大多数国家手工检测一般都采用敏感性为 0.1~1.0 μg/L 的酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA),该方法具有高度的特异性、敏感性,又加上单克隆抗体技术及自动化设备的发展,试剂稳定,且操作简便、快速、无放射性污染等优点^[1-2]。但在实际工作中,影响 ELISA 测定的干扰因素众多,高剂量钩状效应(HOOK 效应)导致的假低值、假阴性就是其中最常见的影响因素之一。实际上,笔者一直将更多的注意力放在乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)检测中出现的“HOOK 效应”及其解决方法上,事实证明,在实际工作时,HBsAg 检测中的“HOOK 效应”的确得到了很好的解决。但相较 HBsAg,对于 HBsAb 的检测结果,则没有过多地注意和分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采集普通门诊就诊患者,男,12 岁,乙肝疫苗注射后,检测 HBsAb 滴度。同时采用了手工 ELISA 检测和化学发光仪检测。

1.2 主要试剂 ELISA 试剂盒由北京万泰生物药业股份有限公司提供,批号为 R20120503;化学发光仪检测试剂由美国 ABBOTT 公司提供,批号为 12076LF00。

1.3 主要检测仪器 主要检测仪器为雅培 i1000SR 化学发光分析仪(美国 ABBOTT 公司)、CliniBio128Ce 型全自动定量绘图酶标仪(奥地利 ASYS 公司)。

1.4 检测方法 分别采用 ELISA 法和化学发光分析仪检测标本原液的光密度(optical density, OD)值,所有步骤均严格遵守操作规程。将标本用生理盐水作 1:10、1:50 及 1:100 倍稀释。并用 ELISA 法分别对稀释后标本进行检测。比较检测结果的差异。

2 结 果

采用雅培化学发光法检测原液,结果显示阳性,测得值为 2 249.45 mIU/mL,ELISA 法检测显示阴性。标本稀释后 ELISA 检测的各 OD 值见表 1。

表 1 ELISA 法稀释前、后结果比较

血清	ELISA 结果	OD 值
原液	—	0.134
1:10 稀释液	+	2.922
1:50 稀释液	+	2.335
1:100 稀释液	+	1.036

3 讨 论

HBsAb 采用手工检测和化学发光分析仪检测截然相反的结果模式,在常规工作中很少见。大部分人群在疫苗注射后常选择 ELISA 手工检测是否有抗体,只有少部分或有特殊需要的人群会选择化学发光法进行定量检测。ELISA 手工测定分一步二位点夹心法和二步二位点夹心法。由于一步法少了一次洗板及孵育过程,节省了时间,目前仍得到广泛应用。我实验室使用的试剂盒,除 HBsAg 采用的是二步法,HBsAb、乙型肝炎病毒 e 抗原(hepatitis B virus e antigen, HBeAg)、抗乙型肝炎病毒 e 抗体(anti-hepatitis B virus e antibody, HBeAb)和抗乙型肝炎病毒核心抗体(anti-hepatitis B virus core antibody, HBeAb)均采用的一步法。由于一步法检测 HBsAg 易受到高剂量“HOOK 效应”的干扰,使结果呈假低值或假阴性^[3]。所以,笔者考虑这种情况也可能发生在 HBsAb 的检测中,通过将标本稀释后,采用 ELISA 检测即可测得阳性。

固相 ELISA 测定中,当被测物浓度过高时,反应信号并不强,反而降低,即当被测物浓度超过其线性范围时,其剂量反应曲线并不呈平台状无限延伸,而呈向下弯落状,剂量反应曲线似一把钩子,故而将这种发生在固相 ELISA 测定中的特殊效

[△] 通讯作者, E-mail: maorongwang@gmail.com。