

• 检验技术与方法 •

酶联免疫吸附法检测梅毒抗体试验灰区结果分析

董旭才,刘昕阳,张 婧,王 蔓,李 鸾,张惠中[△]
(陕西省西安市唐都医院检验科,陕西西安 710038)

摘 要:**目的** 分析梅毒酶联免疫吸附法(TP-ELISA)在更换为两步法后的灰区结果。探讨适宜的梅毒检测操作规程以减少误诊。**方法** 随机选取 50 288 例血清标本进行 TP-ELISA 法筛查;对处于灰区的样本,再进行快速血浆反应素试验(RPR)和梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)进行验证。按疾病及年龄段分组,统计各组抗梅毒抗体灰区率。**结果** 50 288 例血清样本,经过 TP-ELISA 法初筛灰区结果为 61 例。不同年龄段造成的灰区率 61 岁以上年龄段最高。**结论** TP-ELISA 检测仍存在一定的假阳性,设定合理的灰区范围,对灰区内的样本进行确认试验具有重要的临床意义。

关键词:梅毒; 酶联免疫吸附测定; 梅毒血清诊断
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 05. 039 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2014)05-0598-02

Syphilis antibody enzyme-linked immunosorbent method grey area test results analysis
Dong Xucai, Liu Xinyang, Zhang Jing, Wang Man, Li luan, Zhang Huizhong[△]
(Department of Clinical Labortory, Shaanxi xi tang hospital, xi'an, Shaanxi710038, China)

Abstract:**Objective** ELISA syphilis enzyme analysis(TP-ELISA) results for the gray zone two step after the replacement. To explore the suitability of syphilis detection procedures, reduce misdiagnosis. **Methods** Randomly choose 50 288 cases of serum screening for syphilis enzyme linked immunosorbent assay; in grey area of the sample, then rapid plasma reagin test(RPR) and Treponema pallidum particle agglutination test(TPPA) for validation. According to disease and age groups, statistics of anti TP antibody gray area ratio. **Results** 50 288 serum samples, after TP-ELISA method to screen grey area in the early results of 61 cases. The highest age of grey area rate in different ages was more than 61 years old. **Conclusion** TP-ELISA detection still exist certain false positive, set reasonable grey area, the gray zone within the sample confirmation test has important clinical significance.

Key words:syphilis; enzyme-linked immunosorbent assay; syphilis serodiagnosis

目前检测梅毒螺旋体感染的血清学方法主要是酶联免疫吸附试验(ELISA),对梅毒抗体都有很好的检测能力^[1]。然而试验的灰区结果容易造成假阳性又是引起误诊和医疗纠纷的主要因素,本研究就是通过大量的统计结果及病情分析,对灰区的标本进行进一步的检测,防止出现假阳性。“灰区”指在定性 ELISA 测定中处于临界值(cut-off 值)附近临床意义可疑的一部分结果^[2]。选定灰区范围为以 cut off 值上下 20%为灰区。现将本资料里灰区结果进行分析如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 50 288 例患者血清取自唐都医院 2011 年 4 月至 2012 年 4 月患者,选取其中 61 例灰区的结果,其中男性 36 例,女性 25 例;患者年龄 18~80 岁,平均(51.4±14.6)岁。

1.2 仪器与试剂 伯乐 680 全自动酶免分析仪。试剂选用北京万泰生物技术有限公司生产的梅毒螺旋体抗体酶联免疫诊断试剂盒。快速血浆反应素试验(RPR)试剂盒由上海科华生物技术有限公司提供,梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)试剂盒为日本富士株式会社产品,均在有效期内使用。

1.3 方法 所有患者都进行梅毒酶联免疫吸附法(TP-ELISA)初筛,根据说明书判定为灰区结果的都再进行 RPR 和 TPPA 验证试验。最终结果以 TPPA 结果判定梅毒血清学阴性或阳性。

2 结 果

50 288 例血清样本,经过 TP-ELISA 法初筛灰区结果为 61 例。61 例不同的疾病及年龄段的灰区率见表 1、2。其中被 TPPA 确认为阳性的标本有 2 例,占 4.9%(2/61)。这两例均出现玫瑰斑疹,为 2 期梅毒。2 例灰区结果 RPR 及 TP-ELISA 稀释结果见表 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附

件”)。其余 59 例 TPPA 均为阴性。

表 1 61 例不同的疾病灰区率[n(%)]

疾病	男	女	总计
肿瘤	7(19.4)	6(24)	13(21.3)
肝硬化	6(16.7)	3(12)	9(14.8)
自身免疫疾病	4(11.1)	4(16)	8(13.1)
艾滋病	3(8.3)	1(4)	4(6.6)
妊娠	0(0.0)	2(8)	2(3.3)
其他	16(44.5)	9(36)	25(40.9)

表 2 61 例不同的年龄段灰区率[n(%)]

年龄段	男	女	总计
18~<30 岁	5(13.9)	4(16)	9(14.8)
30~<40 岁	5(13.9)	3(12)	8(13.1)
40~<50 岁	4(11.1)	3(12)	7(11.5)
50~<60 岁	5(13.9)	3(12)	8(13.1)
60 岁以上	17(47.2)	12(48)	29(47.5)

3 讨 论

随着卫生部要求梅毒螺旋体特异性抗体从一步法改为两步法,两步法主要是从减少异常标本的假阳性方面考虑的,即使如此,但是 TP-ELISA 两步法投入临床使用时间还比较短暂,检测仍存在一定的假阴性及假阳性^[3-6]。

分析表 3(见《国际检验医学杂志》网站主(下转第 600 页))

病死率居第 3 位的循环系统疾病;有些患者临床症状不典型,容易漏诊及误诊,故 APE 的早期快速诊断,良好的疗效观察是其治疗成功的关键。

脑钠肽(BNP)主要由左、右心室肌细胞分泌的一种 32 个氨基酸组成的肽类激素, NT-ProBNP 是由 76 个氨基酸组成的无活性的氨基酸 N 末端 BNP 原片段。NT-proBNP 是一种对容量敏感的神经激素,反映心室内压力及室壁张力变化,其升高程度与右室扩张、右室功能障碍和压力负荷相关^[1-2], APE 时血栓阻塞肺动脉血流, 体液因子释放, 血管因缺氧而引起肺收缩,使右心室壁张力增加,导致 NT-proBNP 释放增加^[3]。本研究显示,溶栓治疗后血管再通患者 NT-proBNP 浓度显著下降,可表明溶栓治疗后血栓溶解,血管再通,肺动脉阻力下降,心室内压力及室壁张力下降,心室肌细胞分泌 NT-proBNP 减少,右心室功能得到改善。动态检测 NT-proBNP 浓度,结合超声多普勒,CT 肺动脉成像,显示 NT-proBNP 可作为评价溶栓再灌注疗效的可行性指标。

D-二聚体是血浆交联纤维蛋白降解产物,是纤维蛋白降解产物中最小片段,升高显示血栓存在, Lowe^[4]指出 D-二聚体是观察纤溶效果最有价值的指标,较早的文献^[5]报道 Liatest 定量检测 D-二聚体作为肺栓塞诊断指标,其敏感度为 100%。

本研究表明,NT-proBNP 及 D-二聚体检测,可用于急性肺栓塞的初步筛选,尤其是排除肺栓塞具有良好的敏感度;二者升高时,对于鉴别心源性或不明原因呼吸困难具有重要意义,同时提示临床医生关注肺栓塞发生的可能性,避免漏诊、误诊。另外,动态检测 APE 患者 NT-proBNP 和 D-二聚体的变化规律,可对 APE 患者的疗效判定提供帮助。

本研究未选取手术后并发肺栓塞患者,因为在围手术期的患者,体内纤溶系统被激活,D-二聚体本身就增高,故在围手

术期以 D-二聚体判断肺栓塞几乎无意义。肺动脉造影是肺动脉栓塞检查的金标准,但耗时长,操作复杂,对环境、设备要求高且为创伤性检查,故目前主要用于介入治疗过程中。

综上所述,检测 NT-proBNP 及 D-二聚体对于肺栓塞的早期诊断,鉴别诊断,疗效观察具有重要的临床意义。

参考文献

[1] Kaczyńska A, Kostrubiec M, Ciurzyński M, et al. B-type natriuretic peptide in acute pulmonary embolism[J]. Clin Chim Acta, 2008, 398(1/2):1-4.

[2] Frémont B, Pacouret G, Jacobi D, et al. Prognostic value of echocardiographic right/left ventricular end-diastolic diameter ratio in patients with acute pulmonary embolism: results from a monocenter registry of 1,416 patients[J]. Chest, 2008, 133(2):358-362.

[3] Torbicki A, Perrier A, Konstantinides S, Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism: the Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC)[J]. Eur Heart J, 2008, 29(18):2276-2315.

[4] Lowe GD. How to search for the role and prevalence of defective fibrinolytic states as triggers of myocardial infarction? The haemostasis epidemiologist's view. Lowe GD[J]. Ital Heart J, 2001, 2(9):656-657.

[5] Oger E, Leroyer C, Bressollette L, Evaluation of a new, rapid, and quantitative D-Dimer test in patients with suspected pulmonary embolism[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1998, 158(1):65-70.

(收稿日期:2013-12-08)

(上接第 598 页)

页“论文附件”)其原因是“钩状效应”引起的。“钩状效应”系指在 ELISA 中,测定显色随着待测标本中抗原或抗体浓度的增加而升高至一定程度后,测定吸光度即随抗原或抗体浓度的增加而开始下降直至不显色,而出现假阴性结果的问题^[7]。虽然两步法很好解决了“钩状效应”的问题,但是偶尔还是会出現。

疾病因素如肿瘤、肝硬化艾滋病等可使患者体内含有嗜异性抗体、自身抗体、类风湿因子、甲胎蛋白等。这些特殊成分在反应过程中有一定吸附作用,产生显色,造成灰区结果^[8]。年龄因素在实验工作中发现很多老年人梅毒 ELISA 灰区结果,无临床症状,患者主诉无发病史和疾病接触史。梅毒 ELISA 试剂盒由于抗原不纯和使用人血清白蛋白,增加了意外假阳性抗原位点的可能。老年人容易出现免疫功能异常,容易产生一些针对联接用的白蛋白抗体或者是一些异常蛋白质干扰了梅毒抗体的 ELISA 反应。

实际工作中,对处于“灰区”的这些结果,若不能有效处理,可能会影响患者的日常生活,甚至引起医疗纠纷。因此应建立自己的“灰区”的解决措施。笔者认为先用 TP-ELISA 法进行初筛,再用 TPPA 试剂进行确认试验,同时做 RPR 试验,因“钩状效应”引起的吸光度值若处于设定的“灰区”以下,还是有漏诊的情况出现的。综上所述,ELISA 试验虽然对梅毒的诊断有很大的价值,但也存在着假阳性的情况。遇到可疑标本时,应结合临床综合分析,详细询问患者有无性病史、流产史、抗梅毒治疗史,认真查体,注意患者是否有梅毒体征,是否为老年人等。或重新抽取标本,采用其他检测方法等加以确认,仍

为阳性时方可确诊,减少人为影响因素,避免假阳性结果造成误诊,引起医疗纠纷^[9]。

参考文献

[1] 彭明喜. 酶联免疫吸附试验检测梅毒抗体假阳性的原因分析[J]. 现代实用医学杂志, 2006, 18(2):127-128.

[2] 李金明. 血液感染性疾病标志物筛选中应重视的若干问题[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(6):569-571.

[3] 严辉. 酶联免疫吸附法检测梅毒的临床价值[J]. 南华大学学报:医学版, 2007, 35(6):876-877, 896.

[4] 陈树辉, 黎绍仕. 酶联免疫吸附法检测梅毒抗体准确性分析[J]. 中国实用医药, 2008, 3(12):96-97.

[5] 周武杰, 王守芳. 酶联免疫吸附法检测梅毒抗体假阳性产生的原因分析[J]. 中外医疗, 2008, 27(36):164.

[6] 王凤玲, 冯秀河, 毕丽凤, 等. 酶联免疫吸附法检测梅毒抗体假阳性产生的原因探讨[J]. 实用医技杂志, 2007, 14(11):1417-1418.

[7] Ebel A, Vanneste L, Cardinaels M, et al. Validation of the INNO-LIA syphilis kit as a confirmatory assay for Treponema pallidum antibodies[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(1):215-219.

[8] 包军. 毕志刚. 抗心磷脂抗体在梅毒诊断中的意义[J]. 江苏医药, 2006, 9(32):816-817.

[9] 程功, 方桂艳, 薛立光. 浅谈梅毒的各种方法检测以及 TRUST 和 TP-ELISA 血清学检测方法的比较[J]. 中国医药指南, 2012, 10(26):388-389.

(收稿日期:2013-11-27)