

结合临床回访调查及性接触史综合判定符合梅毒判定标准的患者为确诊梅毒感染者。特异度 = 真阴性 / (假阳性 + 真阴性), 灵敏度 = 真阳性 / (真阳性 + 假阴性)。

2 结 果

2.1 3 种方法的检测阳性率比较 TP-ELISA 法进行筛检, 阳性患者 359 例, 对 359 例疑似梅毒感染者的标本进行 TPPA、GIGA、RPR 检测, GIGA 阳性率最高, 为 95.0% (343/359), TPPA 法阳性率为 93.3% (335/359), RPR 法阳性率最低, 为 70.2% (252/359)。

2.2 3 种方法的特异度和灵敏度 359 例 TP-ELISA 阳性患者中, 确诊 338 例为梅毒感染者。TPPA 法真阳性 333 例, 假阴性 2 例, 真阴性 19 例, 假阴性 5 例; GIGA 法真阳性 335 例, 假阳性 8 例, 真阴性 13 例, 假阴性 3 例; RPR 法真阳性 251 例, 假阳性 1 例, 真阴性 20 例, 假阴性 87 例。TPPA 法、GIGA 法、RPR 法的灵敏度分别为 98.5% (333/338)、99.1% (335/338)、74.3% (251/338), TPPA 法、GIGA 法、RPR 法的特异度分别为 90.5% (19/21)、61.9% (13/21)、95.2% (20/21)。

3 讨 论

随着人们生活方式的改变和人口流动性增加, 梅毒发病率呈逐年增高的趋势^[2], 选择合适有效的检测方法对梅毒的诊断和治疗具有重要的意义。本研究结果显示 TPPA 法灵敏度 (98.5%) 和特异度 (90.5%) 均较高, GIGA 法灵敏度 (99.1%) 较高但特异度 (61.9%) 较低, RPR 法的灵敏度 (74.3%) 较低但特异度 (95.2%) 较高, 综合比较 TPPA 法更适合梅毒的筛查和确诊。TPPA 法是将梅毒的精致菌体成分包被在人工载体明胶粒子上, 而这种致敏粒子与样品中的梅毒螺旋体进行反应后会发生凝集, 由此可检测血清中的梅毒螺旋体^[3], TPPA 法被美国疾病预防控制中心定为确诊方法, 是当前国内外公认的梅毒血清学确证实验^[4-5]。但本文中 TPPA 法出现了 5 例假阴性和 2 例假阳性结果, 分析假阴性患者可能是新近感染 (窗口期) 的患者, 这是因为梅毒螺旋体感染人体后, 首先产生 IgM 抗体而后产生 IgG 抗体, IgM 在感染 2~4 周方可检出, IgG 出现较晚, 且一旦出现会一直存在, 窗口期患者体内还未产生抗体, 故 TPPA 法检测为阴性, 与文献^[6]报道一致, 如何提高窗口期的梅毒检出率有待进一步探讨。TPPA 假阳性可能是患者服用了免疫球蛋白制剂, 也有文献显示由于患者本身和试剂的原因, 梅毒血清学试验有一定的假阳性, 在对高龄老人的检测中尤为突出^[7]。GIGA 法采用胶体金免疫技术和层

• 经验交流 •

析原理, 是当前快速的体外诊断技术, 其包被的单克隆梅毒螺旋体抗原, 能够选择性地结合与之相对应的抗体, 具有快速简便准确的特点, 但在本文中有假阳性和假阴性出现, 原因尚不明确。RPR 法是检测梅毒非特异性反应素, 该反应素在软下疳后才会出现, 其阳性滴度水平与梅毒感染情况呈正相关, 经梅毒的有效治疗后反应素逐步下降到最后消失, RPR 不适合梅毒的单独筛查, 必须与梅毒特异性抗体联合检测才能更为准确地判断病情及疗效^[8]。考虑到 RPR 法是非特异性反应素试验, 麻风等患者也可出现阳性。鉴于多种因素影响, 临床对梅毒血清学结果的解释, 必须结合患者病史、临床表现及梅毒治疗情况等进行综合分析^[9]。

综上所述, GIGA 试验快速、简便, 敏感性好, 适合对急诊患者的快速检测, 但阳性结果需经过 TPPA 确证, 普通患者可直接用 TPPA 法筛检, TPPA 阳性患者联合 RPR 滴度检测, 以更好了解感染情况及监测预后, TPPA 阳性 RPR 为阴性的患者排除服用免疫球蛋白制剂等因素的干扰, 需定期复查 RPR, 做到早发现早治疗。

参考文献

- [1] 袁余, 李冬冬, 王婷婷, 等. 3 种梅毒血清学检测方法的应用评价[J]. 预防医学情报杂志, 2011, 32(15): 1718-1719.
- [2] 唐满玲, 顾敏, 将最明, 等. 几种梅毒血清学检测方法的评价及临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(9): 1105-1106.
- [3] 姜清明. ELISA 与 TPPA 检测梅毒螺旋体的临床对比研究[J]. 临床合理用药杂志, 2011, 4(3): 48-49.
- [4] 夏映凤. 临床常见梅毒血清学检测方法的合理选择[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(24): 3042-3044.
- [5] 徐新蓉, 张剑波. 梅毒实验室诊断检测策略的探讨[J]. 国际检验医学杂志 2013, 34(7): 883-884.
- [6] 陈述文, 梁连辉, 蔡常辉. 四种方法检测早期梅毒螺旋体感染的的临床应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 32(21): 2633-2634.
- [7] 武建国. 老年人抗梅毒螺旋体抗体测定的假阳性率偏高[J]. 临床检验杂志 2006, 24(4): 241-243.
- [8] 王华, 李代渝, 雷丽明, 等. 梅毒螺旋体血清学检测方法比较[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(6): 660-661.
- [9] 罗米. 两种方法联合检测梅毒螺旋体抗体的临床应用[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(21): 2694-2695.

(收稿日期: 2015-07-08)

同型半胱氨酸试剂携带污染对腺苷脱氨酶检测的干扰及对策

牛新海, 高小焱, 殷菁华, 束 炜, 张 欢

(江苏省镇江市丹徒区人民医院检验科, 江苏镇江 212028)

摘 要:目的 探讨同型半胱氨酸试剂携带污染对腺苷脱氨酶检测的干扰及对策。方法 用全自动生化分析仪单独测定 10 份相同混合血清的腺苷脱氨酶水平; 先测定同型半胱氨酸项目后再测定腺苷脱氨酶水平, 第 2 天、第 3 天继续测定相同混合血清的腺苷脱氨酶水平。结果 测定同型半胱氨酸后再测定腺苷脱氨酶与单独测定腺苷脱氨酶比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论 生化分析仪检测顺序必须避免先测定同型半胱氨酸后再测定腺苷脱氨酶; 在添加腺苷脱氨酶的 R2 试剂之前, 不论什么项目, 都用清水清洗试剂针 2 次, 以消除试剂针携带造成的交叉污染。

关键词: 同型半胱氨酸; 腺苷脱氨酶; 污染; 全自动生化分析仪

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.17.069

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2015)17-2600-02

全自动生化分析仪中同型半胱氨酸与腺苷脱氨酶组合测

定时, 如果分析顺序先同型半胱氨酸后腺苷脱氨酶, 由于同型

半胱氨酸试剂 2 中含有腺苷脱胺酶,会污染全自动生化分析仪的试剂探针。试剂探针清洗不彻底时,污染的腺苷脱胺酶试剂会使腺苷脱胺酶试剂在使用后余下的试剂处于缓慢的酶促反应过程,缓慢降解腺苷脱胺酶试剂,进而影响腺苷脱胺酶试剂稳定,影响腺苷脱胺酶的检验测定结果。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 贝克曼 AU680 全自动生化分析仪。同型半胱氨酸检测试剂为上海长征公司产品;腺苷脱胺酶试剂为宁波美康公司产品。同型半胱氨酸检测试剂为酶循环法双试剂;腺苷脱胺酶检测使用的是酶比色法双试剂。同型半胱氨酸检测试剂成分包括试剂 1:Tris 缓冲液,试剂 2:Tris 缓冲液,腺苷同型半胱氨酸水解酶、腺苷同型半胱氨酸转甲基酶、腺苷脱胺酶。腺苷脱胺酶检验需要检验的成分是腺苷脱胺酶,与同型半胱氨酸试剂成分相同,理论上存在试剂交叉污染的可能。

1.2 方法 携带污染试验证明同型半胱氨酸会对腺苷脱胺酶检测结果产生影响。命名水平 R1 新试剂为 A,R2 新试剂为 B,并做质控(水平结果为 27.6 和 27,靶值 27.7)样本,试剂正常使用。(1)证明同型半胱氨酸对腺苷脱胺酶水平检测的影响将在第 2 天和第 3 天产生明显影响。试验前期准备:足量 A1、B1 试剂,已知浓度的大量混合血清 S[已分装重复检测,同型半胱氨酸检测结果为 $(15.50 \pm 0.19) \mu\text{mol/L}$,水平结果为 $(15.60 \pm 0.21) \mu\text{mol/L}$ (检测 6 次所得均值)]。试验操作方案 1:检测同型半胱氨酸+水平次数至 10 次,记录结果数据,将试剂 A1、B1 留存试剂仓中,于第 2 天、第 3 天用相同的分装混合血清测定腺苷脱胺酶。(2)证明采取纠偏措施有效试验。操作方案 2:在进行相同的对照检验前,设置仪器相关参数,①在添加水平的 R2 试剂之前,不论什么项目,都用清水清洗试剂针 2 次,以消除试剂针携带造成的交叉污染;②将水平试剂位置和检测顺序与同型半胱氨酸隔离开来(试剂位相隔 9 个位置,检测项目间隔 4 个项目,替换上新的 A2、B2 试剂)。

2 结果

对照组第 1 天测定腺苷脱胺酶均值为 $(15.61 \pm 0.23) \text{U/L}$,先测同型半胱氨酸后测腺苷脱胺酶,测定腺苷脱胺酶的水平为 $(17.8 \pm 0.31) \text{U/L}$,以上述试剂进行 10 次测定腺苷脱胺酶;第 2 天测定腺苷脱胺酶水平为 $(106.9 \pm 2.8) \text{U/L}$ 。第 3 天测定,测定出其中的腺苷脱胺酶测定水平为 $(1033.0 \pm 3.7) \text{U/L}$ 。将单独测定腺苷脱胺酶的对照结果与按照以上组合顺序测定的结果做配对 t 检验,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

采取纠偏措施后,更换新试剂,对照组第 1 天测定腺苷脱胺酶水平为 $(15.6 \pm 0.22) \text{U/L}$;先测同型半胱氨酸后测腺苷脱胺酶的分析顺序测定腺苷脱胺酶水平均为 $(15.6 \pm 0.21) \text{U/L}$,以上述同型半胱氨酸试剂作为样品进行 20 次测定,第 2 天测定腺苷脱胺酶水平为 $(15.6 \pm 0.23) \text{U/L}$ 。第 3 天测定:测定出其中的腺苷脱胺酶测定水平均值为 $(15.5 \pm 0.23) \text{U/L}$ 。将单独测定腺苷脱胺酶的对照结果与按照以上组合顺序测定的结果做配对 t 检验,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

先同型半胱氨酸后腺苷脱胺酶的分析顺序测定腺苷脱胺酶。试剂针清洗不干净易造成试剂间的交叉污染,证明同型半胱氨酸和水平同时检测时会对水平试剂产生污染,且影响随着时间增大。生化分析仪检测顺序必须避免先测定同型半胱氨酸后再测定腺苷脱胺酶;在添加水平的 R2 试剂之前,不论什么项目,都用清水清洗试剂针 2 次,以消除试剂针携带造成的

交叉污染。据试剂配方显示,同型半胱氨酸试剂中含有大量的腺苷脱胺酶成分。腺苷脱胺酶需要检验的成分是腺苷脱胺酶,理论上同型半胱氨酸与腺苷脱胺酶存在试剂交叉污染的可能。

同型半胱氨酸试剂污染腺苷脱胺酶试剂 2,相当于在腺苷脱胺酶试剂中加入了腺苷脱胺酶,以致产生酶促反应过程,缓慢降解腺苷脱胺酶试剂,进而影响腺苷脱胺酶试剂稳定,导致水平的检验测定结果明显偏高的错误。错开设置同型半胱氨酸、腺苷脱胺酶检验顺序,只能相对避免试剂污染,由于每天工作量的关系,如果试剂针清洗不彻底,仍有同型半胱氨酸中腺苷脱胺酶分子污染水平试剂的可能。如果仪器分析顺序先测同型半胱氨酸后测腺苷脱胺酶,那么试剂针清洗不干净易造成试剂间的交叉污染。正如上面的实验显示,同型半胱氨酸试剂会使腺苷脱胺酶的检测结果显示升高,污染后腺苷脱胺酶试剂在第 2 天测定正常样本腺苷脱胺酶水平会出现错误结果高达 106.9U/L ,第 3 天进行测定正常血清腺苷脱胺酶水平会出现错误结果高达 1033U/L 。

AU680 全自动生化分析仪的工作方式是先测试一个标本的所有试验项目,再测试下一个标本。一个标本在所有项目未完成之前,样品针只吸注同一个标本,而试剂针在不同试剂之间吸注;另外试剂针比样品针吸注量大几十倍,冲洗后残留污染也就更多,所以样品针不容易污染,而试剂针最容易受到污染。

设置同型半胱氨酸与腺苷脱胺酶检验顺序时,中间间隔 5~6 个其他项目,在添加水平的试剂之前,不论什么项目,都用清水清洗试剂针 2 次。通过比对检验,发现该特殊清洗可有效避免同型半胱氨酸与水平试剂之间的直接接触。

仪器维护:按照 AU680 操作 SOP 要求,按时、定期进行仪器维护保养坚持日保养、周保养、月保养;定期对仪器进行校准;全自动生化分析仪标本和试剂用量较少,有少量残存即会影响测试结果,每天应用无水乙醇擦洗加样针及搅拌棒,保证比色杯清洗后不留残液,避免比色杯的交叉污染^[1]。

通过同型半胱氨酸试剂携带污染对腺苷脱胺酶检测实验,科室组织品管圈进行相关学习讨论,分别提出双缩脲试剂对血清铜测定的携带污染^[2],葡萄糖试剂携带污染影响尿酸检测^[3],以及其他临床检验中发现的一些试剂交叉污染现象。

全自动生化分析仪的自净率都是有限的^[4],检测试剂排序不当就会出现不可逆转的结果误差^[5],容易给临床造成无效数据,影响临床诊疗。通过实验验证,遇可能发生试剂交叉污染的项目时,重点要设置项目检验顺序和试剂针的清洗。

参考文献

- [1] 郭旭.初探全自动生化分析仪交叉污染的原因及解决对策[J].医疗装备,2011,24(5):83.
- [2] 汪宇婴,冯春颜.双缩脲试剂对血清铜测定的携带污染探讨[J].中国误诊学杂志,2009,9(9):2084-2085.
- [3] 张艳超.试剂交叉污染对尿酸测定结果的影响[J].河南大学学报:医学版,2009,28(4):300-301.
- [4] 郭杰,蔡忠,张连祥,等.全自动生化分析仪的精密度和交叉污染率评价[J].检验医学,2004,19(2):140-142.
- [5] 韩来新,张团结,刘玉霞,等.总胆固醇试剂对总胆汁酸测定有携带污染[J].现代检验医学杂志,2004,19(1):51-51