

1 资料与方法

- 1.1 一般资料** 选择 2010 年 1~2 月本院收治的 130 例有完整病史资料的住院患者,其中男 84 例,女 46 例;年龄 7~91 岁,平均(47.6±19.2)岁。
- 1.2 仪器与试剂** 日本希森美康 CA-7000 全自动血凝仪。免疫比浊法采用日本积水医疗株式会社 D-二聚体检测试剂盒,校正物、质控物均由日本积水医疗株式会社提供;胶乳凝集法系上海太阳生物技术有限公司 D-二聚体检测试剂盒。
- 1.3 方法**
- 1.3.1 标本采集** 采集静脉血 2 mL,以 3.8 %枸橼酸钠按 1 : 9 的比例抗凝,3 000 r/min 离心 15 min,取得乏血小板血浆,即时完成检测。
- 1.3.2 检测方法** 严格按照仪器和试剂说明书的要求对患者标本同时用胶乳凝集法和免疫比浊法进行检测。
- 1.3.3 判断标准** 免疫比浊法系定量结果,根据厂家的参考范围,将大于或等于 1.0 μg/mL 的结果判为阳性,小于 1.0 μg/mL 的结果判为阴性。胶乳凝集法测定以出现肉眼可见明显凝集者判为阳性,反之判为阴性;所有结果由有经验的检验人员判读。
- 1.4 统计学方法** 采用配对四格表 χ^2 检验。

2 结果

胶乳凝集法阳性率为 64.62%(84/130),免疫比浊法阳性率为 83.85%(109/130)。经统计分析表明两种方法检测结果差异有统计学意义($\chi^2=21.33, P<0.05$)。见表 1。

表 1 胶乳凝集法和免疫比浊法检测结果

胶乳凝集法	免疫比浊法		合计
	+	-	
+	83	1	84
-	26	20	46
合计	109	21	130

注: + 表示阳性, - 表示阴性。

3 讨论

本次研究中胶乳凝集法阳性率为 64.62%;免疫浊度法阳

性率为 83.85%,由此可认为免疫比浊法的阳性率高于胶乳凝集法,两法差异较为明显,胶乳凝集法准确性欠佳。

胶乳凝集法检测 D-二聚体具有操作简单、快速的特点,适用于急诊快速检测。其检测原理为普通乳胶颗粒吸附 D-二聚体特异性抗体,与血浆中 D-二聚体结合形成肉眼可见的凝集块即判定为阳性结果(0.5 μg/mL)。单个样本检测速度快,但胶乳凝集法是定性试剂盒,检测结果主要靠肉眼观察,在不同操作者之间存在较大的主观差异,而且反复操作有时会造成试剂污染,使结果不准确,不适用于大批量的检测。而免疫比浊法的检测原理是每个乳胶微粒直径(0.1±0.02)μm 吸附 2 个 D-二聚体特异性抗体,此颗粒的直径小于检测光束波长(540 nm),因而当光束穿过乳胶颗粒悬液时仅有微量的光波被吸收。溶液中的待测抗原(D-二聚体)与胶乳颗粒吸附抗体结合成聚合体,此聚合体的直径远大于入射光波长,因而入射光被吸收的量大大增加,增加的吸光度可反映待测抗原在受检样品的含量。因此,免疫比浊法通过仪器检测,具有操作简单、快速、稳定、抗生物干扰能力强等优点^[2-3],能定量检测 D-二聚体的含量,便于临床观察用药,适用于大批量的标本检验。但是其检测仪器和试剂都较昂贵,一般医院很难开展。

免疫比浊法兼有胶乳试剂快速、简便和 ELISA 试剂灵敏度高、准确性好等优点,因此免疫比浊法比胶乳凝集法更适用于 D-二聚体的检测。

参考文献

- [1] 张春荣. D-二聚体的检测及其临床应用[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(12): 1440-1442.
- [2] 王榕生. 肺栓塞患者血浆 D-二聚体检测结果分析[J]. 中国实用医药, 2009, 4(4): 100-101.
- [3] 万腊根, 许慧, 聂益军, 等. 散射免疫比浊法与乳胶凝集法测定 D-二聚体的结果分析[J]. 江西医学检验, 2004, 22(1): 33-34.

(收稿日期: 2010-07-08)

结核蛋白芯片在结核病辅助诊断中的应用

尤 鸿, 项 杰, 吴颖涛(武汉市医疗救治中心 430000)

【摘要】 目的 了解结核蛋白芯片检测在结核病早期快速诊断中的应用价值。**方法** 收集 2008~2010 年门诊和住院确诊的结核患者 156 例(痰菌阳性 42 例), 非结核患者 40 例。通过结核芯片系统检测 3 种抗体, 任意一种抗体阳性, 结果判定为阳性。**结果** 单一抗体阳性率为 33.33%, 两种抗体阳性率为 12.82%, 3 种抗体阳性率为 21.79%, 所有抗体总阳性率为 67.95%, 特异性约为 90.00%; 痰涂片抗酸染色阳性率为 26.92%, 特异性为 97.50%。**结论** 结核蛋白芯片检测法具有简便、快速、敏感性高、特异性强的优点, 能早期、快速诊断结核病, 是临床辅助诊断结核病的一种有效方法。

【关键词】 蛋白质阵列分析; 结核分枝杆菌; 结核; 早期诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.02.056 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2011)02-0220-02

结核病是一种常见的传染病, 目前对结核病的实验室诊断仍以抗酸菌涂片染色(AFS)、结核分枝杆菌培养、菌型鉴定和药敏试验为主, 而痰结核分枝杆菌涂片阴性的肺结核更高, 达 65%~75%^[1]。这些方法存在灵敏度低、特异性差、耗时长等缺点, 远不能满足临床要求。分子生物学的发展使结核病的实验室诊断有了较大的提高^[2]。结核蛋白芯片 PC 系统的基本原理是以微孔滤膜为载体, 利用微阵列技术将纯化的结核菌脂阿拉

伯甘露糖(LAM)、蛋白 rTPA16(16×10³)和 rTPA38(38×10³)3 种抗原固相于同一膜片上, 并利用微孔滤膜的渗滤、浓缩、凝集作用, 使抗原抗体反应在固相膜上快速进行, 再以免疫金作为标记物直接在膜上显色。显色后的芯片放入芯片阅读仪, 在专门软件的支持下对不同抗原点阵的灰度值进行分析, 以达到检测结核分枝杆菌的目的。本文就结核蛋白芯片检测在结核病早期、快速诊断中的应用价值进行探讨, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 以本院 2008~2010 年门诊和住院确诊的 156 例(痰菌阳性 42 例)结核患者作为结核组,男 98 例,女 58 例,年龄 17~81 岁;其中肺结核 119 例,胸膜结核 16 例,淋巴结核 21 例。肺部其他疾病患者 40 例作为非结核组。

1.2 仪器与试剂 南京大渊生物技术工程有限公司提供的 PBT-X4 型生物芯片识别系统及相应试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 抗酸菌涂片染色镜检(下称抗酸染色法) 操作方法参见《全国临床检验操作规程》第 3 版^[3]。

1.3.2 结核蛋白芯片法 采集患者静脉血分离血清,用结核芯片系统和蛋白芯片阅读仪按说明书进行操作,结果根据仪器生产厂家设置的参数自动判断并打印,结核杆菌 3 种特异性抗体,即 LAM、rTPA16 和 rTPA38 抗体任一结果阳性即判定为阳性。

2 结 果

2.1 196 例标本结核蛋白芯片法和抗酸染色法检测结果 见表 1。

表 1 196 例标本结核蛋白芯片法和抗酸染色法检测结果[n(%)]

组别	n	抗酸染色法	结核蛋白芯片法
结核组	156	42(26.92)*	106(67.95)*#
非结核组	40	1(2.50)	4(10.00)#

注:与非结核组比较,**P*<0.05;与抗酸染色法比较,#*P*<0.05。

结果显示,结核菌抗酸染色检出结核分枝杆菌的灵敏度为 26.92%,特异性为 97.50%;结核蛋白芯片检出结核分枝杆菌的灵敏度为 67.95%,特异性为 90.00%。

2.2 结核组 3 种结核菌抗原的抗体阳性检出情况 见表 2。

表 2 结核组 3 种结核菌抗原的抗体阳性检出情况

LAM	rTPA16	rTPA38	n	所占比例(%)
+	+	+	34	21.79
+	-	-	30	19.23
-	+	-	7	4.49
-	-	+	15	9.62
+	+	-	7	4.49
-	+	+	8	5.13
+	-	+	5	3.21
-	-	-	50	32.05

注:十表示阳性,一表示阴性。

3 种结核菌抗原的抗体均阳性的比例最高,占 21.79%,其中 LAM 抗体的阳性率最高[48.72%(76/156)],其次为 rT-PA38 抗体[39.74%(62/156)],rTPA16 抗体阳性率最低[33.97%(53/156)]。

3 讨 论

本研究结果显示,结核蛋白芯片检测结核分枝杆菌的阳性率为 67.95%,特异性(90.00%)较高,与国内朱中元等^[4]报道基本一致。其中 50 例标本 3 种抗体检测均为阴性,可能原因是某些个体机体产生抗原抗体复合物,导致血清中游离抗体滴度低于仪器设定的临界值,因此显示为阴性;40 例非结核病例中有 4 例检测为阳性,其可能原因是个体受到隐性感染或环境中结核分枝杆菌污染的影响,或者是继往感染结核菌并经有效治疗后其抗体依然存在所致。

抗酸染色具有简便、快速、特异性高的优点,但其灵敏度较低,约为 25%~30%。从表 1 中看到结核蛋白芯片法阳性检出率为 56.12%(110/196),显著高于抗酸染色法[21.94%(43/196)]。说明结核蛋白芯片法对于不排痰患者或痰菌阴性、不明原因胸腔积液、不能区别的结核病的诊断有重要意义。从表 2 来看,3 种抗原的抗体联合检测对于结核菌感染的血清学诊断有很高的灵敏度和特异性^[5]。

综上所述,结核蛋白芯片法检测结核分枝杆菌特异性抗体作为临床辅助诊断结核病具有快速、简便、灵敏度高、特异性强、结果判定由芯片阅读仪完成、避免人为主观误差等优点,可作为临床早期、快速诊断结核病的辅助方法;缺点是价格相对较昂贵。

参考文献

[1] 庄玉辉. 加强结核病实验室诊断新技术的临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2001, 24(2): 69-70.
[2] 张秀珍, 胡云建, 陈东科. 结核病实验诊断进展[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(8): 865-866.
[3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验结果作规程[J]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 176-177.
[4] 朱中元, 王海波, 刘爱国, 等. 抗结核分枝杆菌多种抗原检测蛋白芯片研究[J]. 中国热带医学, 2004, 4(6): 907-910.
[5] 张小刚, 庄玉辉, 何秀云, 等. 重组结核分枝杆菌 38 kDa 和 16 kDa 蛋白用于结核病血清学诊断的价值[J]. 中国防痨杂志, 2001, 23(5): 281-283.

(收稿日期:2010-09-08)

手工法与仪器法计数嗜酸性粒细胞和单核细胞结果比较

陆 丹(湖北省妇幼保健院检验科, 武汉 430070)

【摘要】 目的 探讨手工法和仪器法检测不同人群嗜酸性粒细胞和单核细胞的可比性和准确性。方法 采用 Sysmex XS-800i 全自动五分类血细胞分析仪和人工显微镜同时检测 300 份血标本,对白细胞进行分类计数。结果 仪器法检测嗜酸性粒细胞和单核细胞的结果均比人工显微镜检测结果高,差异有统计学意义(*P*<0.01)。结论 用仪器法检测嗜酸性粒细胞和单核细胞结果与人工显微镜检测结果存在差异。

【关键词】 单核细胞; 白细胞/分类; 自动分析; 显微镜检查

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.02.057 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)02-0221-02

为了解血细胞分析仪对嗜酸性粒细胞及单核细胞比率检测的准确性,本文对全自动五分类血细胞分析仪与人工显微镜

分类法计数嗜酸性粒细胞和单核细胞结果进行了比较,以探讨方法间的可比性。