

例改变^[4]。但本次试验,室温下 2.5 h 只下降 7%,5 h 下降 14.3%,与目前报道有较大差异。分析室温中全血标本糖酵解下降的原因,可能是因为实验操作方法的的不同,本实验在第 1 次检测前就将标本离心,使得血清与血细胞即时处于相对分离状态(上面为血清,下面为血细胞)。这样就减少了血细胞对葡萄糖的酵解作用,使葡萄糖浓度下降速率减低。另外,据报道下降的原因可能是以前生化试验中,医院都是采用注射器抽血再打到玻璃试管中,玻璃试管清洗后重复使用,而真空采血管是由正规厂家提供,可直接使用,且为一次性使用。相对于以前普通试管,不需清洗而且真空负压状态下细菌污染减少使血糖降解率下降^[5]。从试验可以看出,温度与血糖浓度变化甚为密切,随着温度的升高,血糖浓度下降明显增快。这是因为随着温度的升高,加速细胞内酶向血清中释放,其活性也增强,对葡萄糖的酵解速度增快,使血糖浓度下降。

以上试验表明,因为标本保存因素,未将血清与血细胞即时分离的标本,由于细胞对葡萄糖不停地分解代谢,对血糖浓度的检测有很大的影响,特别是那些处于临界值的标本容易造成临床对患者的漏诊。因此实验室人员不仅应该了解标本因素对血糖检测的影响,而且还必须熟悉采取何种方法来避免这些因素的干扰。为了保证血糖检测结果的准确和可靠,原则上必须对采集完的标本即时离心,并即时将血清与血细胞分离。有学者建议,分离血清或血浆的时间最好不晚于标本采集后 1 h^[3]。但实验室由于各种原因,一些大医院的检验科由于标本量比较多,往往不能即时分离血清,而一些小医院的检验室由于标本量比较少,往往需要等到一定数量后进行处理。从表 1 冰箱组可以看出,冷藏可以短时间内保存标本,置冰箱 2.5 h 差异无统计学意义($P>0.05$),但 5 h 变化差异有统计学意义。标本冷藏在抑制糖酵解的同时, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶平衡被打破,造成红细胞内钾快速渗透到血清中,使得血清中钾离子显著增高^[2]。从表 2 可以看出专门用于葡萄糖检测的氟化钠/草酸钾抗凝管,2.5 h 和 5 h 差异均无统计学意义($P>0.05$)。据李广权、周东且等报道的氟化钠抗凝剂由于抑制的不是糖酵解限速酶,因此抑制糖酵解的速度慢、效果差。氟化钠和草酸钾联用抗凝剂能抑制糖酵解限速酶——丙酮酸激酶。采血 1 h 即有效阻止乳酸形成,且可减少氟化钠的用量,减轻溶血的程度^[6]。

但氟化钠、草酸钾抗凝管仅限于对血糖的检测,不适用于其他化学特别是酶类的检测^[2]。目前,很多实验室开始采用含有分离胶和促凝剂的真空采血管做化学检测。由于真空管内添加的分离胶、促凝剂,均采用惰性物质,其物理、化学性质稳定,一些化学检测都适用,促凝剂能使血液尽快凝固,便于离心分离血清,因为分离胶的比重介于血细胞和血清之间,离心后的标本、血清和血细胞被分离胶隔离,防止血细胞与血清之间物质交换,从而避免细胞内酶对葡萄糖酵解。血糖标本在分离胶管中,3 d 内稳定性良好^[7]。本次试验,葡萄糖在分离胶真空抗凝管中 2.5 h 和 5 h 差异均无统计学意义。

综上所述,随着温度的升高,时间的延长,细胞内酶对葡萄糖酵解增快、增多使血糖浓度下降,影响血糖的检测。因此,实验室为了确保血糖检测结果的可靠,避免各种因素对血糖标本的影响,作者认为,对于实验室能及时进行检测的血糖标本可以采用一般的无添加剂真空采血管。对于单做血糖测定的标本,可以采用氟化钠草酸钾真空抗凝管。对于那些做的项目比较多而且较复杂时,可以采用分离胶促凝剂管,并即时进行离心。

参考文献

- [1] 陈诗书. 医学生物化学[M]. 北京:科学出版社,2004:89.
- [2] 周新,涂植光. 临床生物化学和生物化学检验[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2006:75-205.
- [3] 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,2006:359.
- [4] Zhang DJ. The effect of chemistry test as time goes on with blood[J]. Clin Chem,1998,44(6):1325-1333.
- [5] 邢喜龙,张建君. 负压管中血糖酵解试验分析[J]. 实用医技杂志,2007,14(5):576-577.
- [6] 周雪艳. 抗凝剂及稳定剂在实验室中的应用[J]. 国外医学:临床生物化学与检验学分册,2001,22(5):267-268.
- [7] 范小斌,谢红东. 血液葡萄糖在分离胶血液真空采集管中的稳定性观察[J]. 江西医学检验,2004,22(1):25-28.

(收稿日期:2010-10-11)

• 临床研究 •

二级医院选择梅毒血清学检查方法的探讨

任保艳(云南省马关县人民医院检验科 663700)

【摘要】 目的 探讨二级医院梅毒血清学检查的实用方法。**方法** 采用酶联免疫吸附试验作为常规筛选方法,夜间急诊用甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)和苍白螺旋体(TP)金标法联合检测筛选,阳性者用梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)作确证试验。**结果** 酶联免疫吸附试验(ELISA)阳性结果与 TPPA 法相符,TRUST 出现假阳性和假阴性各 1 例,TP 金标法出现假阴性 1 例。**结论** 在二级医院梅毒筛查中首选 ELISA 法,对夜间急诊用 TP 金标法与 TRUST 法联合检测,用 TPPA 作确证试验,可减少漏诊或误诊。尽管血清学检查很重要,但不是诊断梅毒的惟一依据,检查结果还要结合流行病学调查、临床表现及抗梅毒治疗等情况综合分析,才能作出判断。

【关键词】 梅毒; 苍白螺旋体; 血清学实验; 检测

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.06.036 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)06-0712-02

梅毒是由苍白螺旋体(*treponema pallidum*, TP)感染引起的一种慢性全身性传播疾病,主要经性接触、母婴垂直传播、输血及其他密切接触传播。梅毒的诊断依靠流行病学史、临床

症状和体征及实验室诊断 3 方面信息,其中实验室诊断具有重要意义,它不仅是诊断梅毒必不可少的方法,也是判断疗效和复发的重要依据。实验诊断的方法很多,大致可分为病原体检

查和血清学试验。病原体检查需特殊设备(荧光显微镜),操作人员不易掌握,故二级医院一般采用较少。作者对 1 000 份血清样本采用酶联免疫吸附试验(ELISA)筛选〔急诊用甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)和 TP 金标法联合检测筛选〕,用 TPPA 作确证试验收到较好的效果。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 血样样本 收集门诊及住院患者血样 1 000 份,其中男 698 例,女 302 例。年龄最小者 3 个月,最大 78 岁,平均 39.7 岁。

1.2 试剂 (1)TRUST:试剂购自上海荣盛生物制品有限公司;(2)TP 金标法:试剂购自英科新创科技有限公司;(3)双抗原夹心法 ELISA:试剂购自英科新创科技有限公司;(4)梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA):试剂盒购由日本富士株式会社供给。以上试剂盒均贴有防伪标签。

1.3 主要仪器 DRW-320 自动酶标洗板机和 KHB ST-360 自动多功能酶标仪。

1.4 方法 常规采用 ELISA 筛选,夜间急诊用 TRUST 和 TP 金标法联合检测筛选,阳性者用 TPPA 作确证试验。严格按照各厂家提供的说明书进行,且有质控品同时进行试验。

2 结果

ELISA 法检测 957 份样本,阳性 9 例,TPPA 确认均为阳性。夜间急诊用 TRUST 和 TP 金标法联合检测 43 份样本,TRUST 法和 TP 金标法均为阳性 1 例,TPPA 确认为阳性。其中 1 例肝硬化患者 TRUST 法为阳性(效价 1:16),TP 金标法为阴性,TPPA 确认为阴性,经治疗后半年及一年复查两次,TRUST 法、TP 金标法和 ELISA 法均为阴性。1 例临床可疑梅毒患者 TRUST 法和 TP 金标法均为阴性,TPPA 确认为阳性,经临床观察及 3 个月后复查,TRUST 法、TP 金标法、ELISA 法和 TPPA 均为阳性。TRUST 法出现假阳性和假阴性各 1 例,TP 金标法出现假阴性 1 例。

3 讨论

近年来,我国梅毒发病率呈逐年上升之势,卫生部疫情报告显示:2003 年报告梅毒 60 654 例,2004 年 92 573 例,2005 年 126 445 例,2006 年 167 370 例,2007 年 220 501 例,2008 年 272 938 例。5 年时间,报告发病数增加了 4 倍多,已经达到几何级数增长的程度。梅毒的实验诊断可分为病原体检查和血清学试验。病原体检查包括暗视野显微镜检查法,Fontana-Tribomdextn 镀银染色法,浓盐酸蒸汽显示法,单克隆免疫荧光法(DFI),聚合酶链检测法(PCR)。这些方法在二级医院受条件限制,不易普及。梅毒血清学试验方法很多,大致可分为非特异性的类脂质抗体试验和特异性的密螺旋体抗原试验两大类。目前较为常用的有 TRUST、TP 金标法、ELISA、TPPA 等方法,其中 TPPA 法被认为是梅毒确证试验^[1]。

非特异性的类脂质抗原血清试验用心磷脂作抗原,测血清中心磷脂抗体,包括:(1)性病研究实验室试验(VDRL);(2)不加热血清反应素试验(USR);(3)快速血浆反应素环状卡片试验(RPR);(4)TRUST。这类试验对梅毒的敏感性高,与梅毒的临床症状相关性好,患者治愈时这些试验转阴性,复发及再感染时,这些试验转阳性,根据滴度的变化还有助于判断疗效,具有重要的临床应用价值。且试验操作简便、快速,试剂成本价格低廉,被各级医疗单位广泛应用。但由于试验是非特异性的,系统性红斑狼疮、风疹、传染性肝炎、肝硬化、风湿性心脏病、活动性肺结核等均可引起梅毒反应素慢性生物学假阳性,

效价可达 1:64~1:128,且持续 6 个月至数年以上^[2-3]。本组 1 例肝硬化患者 TRUST 法出现假阳性。

特异性的密螺旋体抗原血清试验用梅毒螺旋体或其成分作抗原测定血清中抗梅毒螺旋体抗体。这类试验敏感性和特异性均高,可用作证实试验,但特异性抗体可终身存在,所以不能用于疗效观察。主要有:(1)荧光螺旋体抗体吸收试验(FTA-ABS),该试验被认为是“金标准”试验,具有特异性强,敏感性高的特点。但试验需有质量优良的荧光显微镜和技术熟练的操作人员,才能得到较为准确的试验结果。(2)梅毒螺旋体血球凝集试验(TPHA)。(3)TPPA,原理与 TPHA 基本相同,操作较 TPHA 方便,出结果较快。(4)TP-ELISA,是近年来广泛用于诊断梅毒的新方法。其检测结果与 FTA-ABS 和 TPPA 比较,差异均无统计学意义^[4],本文结果与 TPPA 法阳性符合率达 100%。其优点在于适用于全自动化酶免系统大批量的筛查,可用于医院的常规筛查检测。(5)TP 金标法,具有简便快速,不需特殊设备,且可单份测定的特点,在临床免疫学检验中应用广泛,但仍有出现假阳性或假阴性的可能性,本组出现 1 例假阴性。(6)梅毒螺旋体免疫印迹试验(western immunoblotting technique, WB),WB 结合了免疫学和分子生物学的特点,通过电泳转移硝酸纤维素膜抗原条上含有梅毒螺旋体的各种成分来确认是否有梅毒感染。当 TPN15、TPN17、TPN45 和 TPN47 蛋白抗原中出现二条或多条显色带时,可判断为阳性结果。TPN17 脂蛋白对早期梅毒的诊断最敏感,TPN47 脂蛋白对早期和晚期梅毒的诊断均具有重要意义。该法不能用于自动化操作,而且成本较高,故推广应用受到限制。

综上所述,两类血清学试验各有优缺点。在临床应用时,以方便、快速、准确的试验为首选。作者认为在二级医院梅毒筛查中,ELISA 法应为首选方法,筛选出的阳性结果再用 TPPA 法确证,需要判断疗效时加做 TRUST 法。对急诊初筛试验用 TP 金标法与 TRUST 联合检测,用 TPPA 作确证试验,这样联合检测可提高阳性检出率,减少漏诊或误诊。值得一提的是,血清学检查并不是诊断梅毒的惟一依据,在几种检测方法中任一种为阳性,且没有进行确证试验时,不能确认梅毒感染。对检查阳性或阴性结果的解释,还需要结合流行病学调查、临床表现及抗梅毒治疗情况等综合分析,才能作出正确的判断^[5-6]。

参考文献

- [1] 刘传江. 3 种梅毒检测方法的比较[J]. 临床血液学杂志, 2008, 21(12): 648-649.
- [2] 叶顺章, 张木有. 现代性传播疾病实验诊断技术[M]. 广州: 广东科技出版社, 1999: 1-7.
- [3] 刘海涛. 献血者梅毒反应素初筛实验方法的选择浅谈[J]. 江西医学检验, 2002, 20(1): 41-42.
- [4] 高坎坎, 居军. 梅毒常见血清学检测方法的评价[J]. 安徽医学, 2010, 31(6): 698.
- [5] 周秀萍, 杨长顺, 刘志杰, 等. 三种梅毒检测方法的应用评价[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(17): 1877.
- [6] 夏建晖, 朱效科. 梅毒血清学检测策略应用进展[J]. 职业与健康, 2010, 26(9): 1053-1054.

(收稿日期: 2010-11-09)