

梅毒抗体检测中胶体法和酶联免疫吸附法的对比分析

周 红¹,刘道伟²,王 青³(1.湖北省恩施土家族苗族自治州鹤峰县妇幼保健院 445000;2.湖北省恩施土家族苗族自治州中心医院临床检验中心 445000;3.湖北省恩施土家族苗族自治州优抚医院检验科 445000)

【关键词】梅毒抗体检测; 胶体法; 酶联免疫吸附法
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.16.082 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)16-2044-02

近年来,中国性病发病率有上升趋势,梅毒是其中一种。这在全国各地均有报道,对该病的早期诊断与治疗已成为当前首要问题。对 3 667 例孕产妇、婴幼儿、婚检对象及部分已婚成年人用金标法进行常规梅毒血清学抗体的筛查,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 2009 年 2 月至 2010 年 9 月来本院进行体检的教师、学生、产检的孕妇等人群 3 667 例,均行胶体金法进行检测,阳性者用酶联免疫吸附(ELISA)法进行确认。抽静脉血者采用胶体金法和 ELISA 法同时进行检测。

1.2 检验方法

1.2.1 胶体金法 (1)试剂:梅毒螺旋体抗体诊断试剂盒(胶体金法)由艾康生物技术有限公司提供。(2)取材:取指尖末梢血或静脉血、乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝血全血 100 μ L,或血清 50 μ L。(3)操作步骤:将试剂条从冰箱中取出恢复至室温,然后平放于干净的台面上,用一次性采血管吸取末梢血约 100 μ L,或者用塑料吸管吸取全血 100 μ L 或血清 50 μ L,垂直滴加于加样区,然后再加入 1 滴缓冲液。10~20 min 后读取结果。当质量控制区结果正常,而检测区出现紫红色条带时判定为阳性。质量控制区无紫红色条带出现或检测标本层析过慢时重做。

1.2.2 ELISA 法 (1)试剂:北京万泰生物药业有限公司提供酶标仪(瑞士安图 2010)。(2)取材:取 EDTA 抗凝血的血浆或血清。(3)质量保证:严格执行项目 SOP,按试剂盒要求进行操作,检测均由专人完成。(4)操作步骤:1 支浓缩洗涤液加 190 mL(48T)或 380 mL(96T)蒸馏水配置洗涤液。

1.3 样本稀释 待测血清或血浆用样本稀释液按 1:100 稀释后,每孔加样 100 μ L。

1.4 加样 加入已稀释的样本 100 μ L,并设空白、阴、阳对照各 1 孔,置 37 $^{\circ}$ C 温育 30 min。甩干孔中的液体,用已稀释好的洗液每孔加 200~300 μ L 洗板 3 次,每次均需拍干。

1.5 加酶结合物 每孔加酶结合物 100 μ L,置 37 $^{\circ}$ C 温育 30 min。甩干孔中液体,洗 3 次,每次均拍干。

1.6 显色 每孔加显色剂 A 及显色剂 B 各 50 μ L 混匀,37 $^{\circ}$ C 温育 10 min 取出判断结果。

1.7 目测 白色背景下观察各孔显色,有明显兰色者为阳性,无色者为阴性,或按说明书酶标仪比色。

2 结 果

见表 1~4。

样本类型	胶体法		ELISA 法	
	阳性	阴性	阳性	阴性
末梢血、全血	18	1 619	0	0
血清或血浆	29	2 001	30	2 000

表 2 人群分类对比(n)				
组别	2~7 岁儿童	孕产妇	婚检人群	其他人群
阳性	0	18	2	28
阴性	498	1 619	213	1 289
累计例次	498	1 637	215	1 317

表 3 胶体金法检测结果用 ELISA 确认后结果的对比分析(n)			
检测方法	阳性	阴性	假阴性
胶体法	47(30 min 内)	2 001	1
ELISA 法	48	2 000	0

表 4 胶体金法检测时间阳性率的对比(例)			
组别	10 min 以内	15~30 min	30 min 以后
阳性	45	47	50
阴性	2 003	2 001	1 998

3 讨 论

梅毒是由苍白螺旋体引起的一种性传播疾病,这种病原体通过黏膜或有破损的皮肤进入人体后,经淋巴系统及血液循环播散到全身,几乎可以侵犯全身各脏器和组织^[1]。梅毒主要通过性接触传染,也可通过胎盘传染下一代。根据传染途径的不同,可将梅毒分为获得性梅毒和先天梅毒。先天梅毒主要是小儿通过胎盘从母体获得,新生儿梅毒多为二期梅毒,可侵犯小儿心血管系统和神经系统,导致严重后果。另外孕产妇梅毒还可致死胎、流产、早产、产后子宫大出血等。在梅毒发病率逐年升高,一对夫妇只生一、二个小孩,生活快节奏的今天,优生优育越来越为人们重视。如何常规快速的检测梅毒也是人们非常关注的一个问题。

胶体金梅毒检测法试验采用高度特异性的抗原、抗体反应及免疫层析分析技术,来定性检测血液或血清样本中是否含有梅毒抗体,试剂盒含有被事先固定于膜上测试区(T)的重组特异性梅毒抗原和质控区(C)的相应抗体。便于肉眼观察结果,无设备要求、报告快速、有较高的敏感性,可作为是否感染或曾感染梅毒的观察指标。而酶联免疫法是检测梅毒抗体公认的确证方法之一,其敏感性和特异性较高,常作为梅毒的确证试验^[2]。在胶体金法 30 min 内判定为阳性的 47 例样本,经 ELISA 检测均为阳性,符合率为 100%。在胶体金法判定为阴性的 2 001 例样本中有 1 例为阳性,且抗体滴度很低,可能与抗体含量过低有关。从胶体金法不同判定时间中阳性例数的不同可以看出,胶体法仍然有一定假阳性率的干扰。但是只要不超过 30 min 就可以避免类似情况的出现。

另值得注意的是,本次观察试验中 498 例婴幼儿体检没有发现 1 例梅毒抗体阳性患儿。2 例患者婚检女方为阳性,经询问以前有相关病史,且经过相关治疗。1 637 例孕产妇中 18 例

为阳性,其中 8 例有相关病史,10 例无相关病史。28 例其他人群的阳性患者仅有 13 例有相关病史。显示成年已婚人群中隐性感染的例数要高于显性感染的例数。18 例阳性孕产妇经追踪调查 18 个月,有 3 例梅毒抗体转阴,证明并不是所有梅毒感染者抗体会终身阳性。

本次检测过程中,小儿占 13.6%,未检出阳性患者。婚检 215 例,占受检人群的 5.9%,发现 2 例阳性,阳性率为 0.9%。除小儿、婚检对象以外的其他人群 1 317 例,占受检人群的 35.9%(主要是已婚成年人),阳性率为 2.1%,明显高于小儿、婚检对象这两类人群。胶体法可用末梢血、全血、血清等样本检测,对检测样本要求低,且检测不需要特殊器材,检测速度

微柱凝胶试验在交叉配血中的应用

王德付(江苏省姜堰市人民医院输血科 225500)

【关键词】 微柱凝胶试验; 交叉配血; 输血
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.16.083 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)16-2045-02

输血是一种纠正血液缺乏的安全和暂时有效的方法,交叉配血是决定是否可以输血的检查项目,是输血前必须进行的工作^[1]。准确的血型鉴定及交叉配血是临床安全、有效输血的重要保证。Lapierre 在 1990 年发表了微柱凝胶试验(MGT)免疫技术的报道^[2]。MGT 是 20 世纪 90 年代进入国内实验室并用于交叉配血的新方法,而在一些先进国家已成为常规的红细胞血型血清学检测技术^[3]。

本科自 2005 年 7 月起,采用微柱凝胶法操作系统进行输血前检测。本文应用微柱凝胶技术、凝聚胺法、盐水法 3 种方法同时平行进行 1 000 例次交叉配血试验,并进行比较。微柱凝胶法具有标准化程度高、重复性强、试验结果明确可靠、患者血标本用量少、操作简单、结果易于观察及保存时间长等优点,大大减少了实验误差。现总结报道如下。

1 材料与与方法

1.1 试剂 微柱凝胶抗人球蛋白交叉配血卡(长春博迅生物技术有限公司);凝聚胺试剂盒(BASO 企业有限公司);等渗盐水(江苏亚邦生缘药业有限公司)。

1.2 仪器 80-2 离心沉淀器(上海手术器械厂);免疫微柱孵育箱、RYL 型血清学多用离心机(长春博研科学仪器有限公司)。

1.3 检测对象 1 000 例受血者为本院临床住院输血患者,供血者为泰州市中心血站检测合格的无偿献血者。

1.4 方法

1.4.1 微柱凝胶法 (1)操作步骤:①将受血者与献血者的红细胞血清分离。②分别将受血者与献血者红细胞配成 0.5% 等渗盐水悬液。③将受血者血清 50 μ L 与献血者红细胞悬液 50 μ L 加入主侧管中。④将受血者红细胞悬液 50 μ L 与献血者血清 50 μ L 加入次侧管中。⑤加样后的试剂卡,置 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min。⑥使用专用离心机离心 5 min(900 r/min 离心 2 min,1 500 r/min 离心 3 min),取出肉眼观察结果。(2)结果判定:①阴性结果为红细胞完全沉降于凝胶管底部,表明受血者与献血者血型相合,可以输注。②阳性结果为红细胞凝集块位于凝胶表面或凝胶中,表明受血者与献血者血型不相合。

1.4.2 盐水法 按操作规程进行^[4]。

1.4.3 凝聚胺法 严格按照试剂盒操作说明书进行操作。

1.5 统计学方法 将微柱凝胶法分别与盐水法和凝聚胺法组成两组配对资料,采用配对计数资料 χ^2 检验。

2 结 果

对 1 000 例受血者用微柱凝胶法、凝聚胺法、盐水法 3 种

快,与确诊实验符合率高,是门诊梅毒检测工作中值得推广的新方法。

参考文献

- [1] 张卓然.临床微生物学和微生物检验[J].3 版.北京:人民卫生出版社,2003:287.
- [2] 丛宪玲,姜日花.580 例梅毒患者实验室检测结果分析[J].中国实验诊断学,2003,7(3):264-265.

(收稿日期:2011-03-02)

方法同时进行交叉配血试验。实验结果见表 1。

表 1 3 种方法交叉配血结果(n)

微柱凝胶法	盐水法		凝聚胺法		合计
	不配合	配合	不配合	配合	
不配合	0	6	4	2	6
配合	0	994	0	994	994
合计	0	1000	4	996	1000
χ^2	4.2		0.5		
P	<0.05		>0.05		

3 讨 论

3.1 本实验结果中 1 000 例标本中微柱凝胶法有 6 例不配合,经检查献血者与受血者血型相同,其中 4 例为主侧凝集,2 例为次侧凝集。将 4 例主侧凝集的患者血样做间接抗人球蛋白试验(IAT)为阳性,表明被检患者血清中含有 IgG 类不完全抗体。送至江苏省血液中心鉴定为抗 E、抗 D 等不完全抗体。为更好地预防溶血性输血反应,对血清中有不完全抗体的这类患者,应寻找与其相对应的阴性血液输注。将另 2 例次侧凝集的患者血样做直接抗人球蛋白试验(DAT)为阳性。大多因患者多次输血使其红细胞被自身抗体致敏,DAT 阳性。对 DAT 阳性的这类患者输注主侧配合的洗涤红细胞后,无任何不良反应。

3.2 将盐水法与微柱凝胶法比较,结果差异有统计学意义($P<0.05$)。盐水法全部配合未能检出 IgG 类不完全抗体,而微柱凝胶技术不但可以检出 IgM 抗体,而且可检出 IgG 类不完全抗体,大大减少了溶血性输血反应的发生,保证了临床输血的安全性。

3.3 凝聚胺法检出 4 例不配合,与微柱凝胶法检出的 4 例不完全抗体相符,经统计学比较,差异无统计学意义($P>0.05$),但对于 2 例微柱凝胶法交叉配血次侧凝集的血样凝聚胺法未能检出,可能是患者自身红细胞被致敏。有研究报道,凝聚胺技术对 Kell 血型系统及冷抗体不易检出,且在某些血浆蛋白紊乱患者中还可引起假阳性检测结果^[5]。在实际工作中,一些临床上常用的药物能干扰和影响凝聚胺法配血的结果^[6]。

3.4 微柱凝胶试验与盐水法和凝聚胺法比较有许多优越性,但操作时间稍长,需 20~30 min,价格也较贵,在试验操作过程中如果不能正确使用,假阳性和假阴性都会出现,给输血带来