

酶联免疫吸附试验检测丙型肝炎病毒抗体在酶标仪应用中的探讨

王 红(天津中医药大学第一附属医院 300193)

【摘要】 目的 探讨酶联免疫吸附试验在检测丙型肝炎病毒抗体中的敏感性和特异性。**方法** 采用 TECAN 半自动酶标仪及配套的洗板机,以天津市临检中心提供的质控血清为参照,使用上海科华丙型肝炎病毒抗体酶免疫检测试剂盒,对阳性标本采用胶体金快速吸附法同时检测,对同一标本,在同一时间和同一温度下采用半自动酶标仪及肉眼判读。**结果** 酶标仪判读阳性率高于肉眼判读,同时高于胶体金快速吸附法。**结论** 酶标仪检测结果优于肉眼判读结果,洗板机洗板优于手工洗板,但应选择合适的洗板次数。

【关键词】 丙型肝炎; 病毒抗体; 胶体金法; 酶联免疫吸附试验
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.10.041 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)10-1234-02

丙型肝炎病毒(HCV)是1988年被鉴定出的一种非甲非乙型肝炎的主要病原体,感染呈世界性分布。1991~1995年调查表明,我国HCV感染属中、高流行区,全国有4000万HCV携带者,平均感染率为3.2%。特别是1995年前后我国部分省份因单采血浆交叉感染,导致献血者中发生丙型肝炎暴发流行,抗-HCV阳性率高达80%^[1]。目前,抗-HCV检测试剂均采用酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒。其质量的优劣直接关系到其病毒的检出,关系到输血的安全^[2]。目前已经发展到第3代产品,检测的特异性和灵敏度都比较高^[3]。本文就ELISA和胶体金法两种检测抗-HCV方法的检测结果进行比较,对酶标仪的应用以及规范的洗板操作进行探讨,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 样本为本院住院患者280例,以天津市临床检验中心提供的质控血清(抗-HCV 2_{ncu}/mL)为对照者。

1.2 仪器与试剂 采用上海科华抗-HCV诊断试剂盒(酶免疫试剂盒);英科新创(厦门)科技有限公司提供的胶体金吸附试剂盒,按照说明书严格操作;采用TECAN半自动酶标仪。

1.3 方法 所有研究对象空腹取静脉血4 mL,以3000 r/min离心10 min,分离血清,采用ELISA进行抗-HCV检测,阳性者再用胶体金法复检。各种方法均严格按照试剂盒内说明书操作和判读结果。

2 结 果

280份临床标本中,采用ELISA检测45份阳性,只有S/CO值大于8.0的38份标本中采用胶体金吸附法检测为阳性;而S/CO值为1.0~2.5的7份标本采用胶体金吸附法检测为阴性。手洗5次静置5 s,酶标板较为干净;机洗3次易出现假阳性;机洗5次可达手洗5次标准,若先甩去酶标板内血清与酶结合物,用手拍干酶标板,静置5~10 s,效果较理想。采用目测法一般颜色较浅的容易漏报。胶体金法检测抗-HCV与ELISA相比较,胶体金法敏感性为84.4%,特异性为100.0%。结果见表1。

表1 两种方法检测抗-HCV 结果

胶体金法	ELISA		合计
	阳性	阴性	
阳性	38	0	38
阴性	7	235	242
合计	45	235	280

3 讨 论

丙型肝炎是由HCV引起的一种严重危害人类健康的传染性疾病,可以对肝脏组织进行持续性破坏^[4]。至于引起肝损害的机制,目前认为可能是通过激活病毒特异性细胞毒性T细胞而引起肝损伤,也可能是通过非特异性炎性反应细胞释放细胞因子,特别是γ干扰素而引起肝损伤^[5]。丙型肝炎主要是经血液和血液制品传播,引起慢性肝炎或发展为肝硬化及肝癌。因此,建立一种针对丙型肝炎的具有较高灵敏度、特异性和稳定性的检测方法,对丙型肝炎感染早期诊断与治疗具有重要意义。

本试验采用手洗与机洗酶标板,对抗-HCV阳性判断有重要指导作用。手工洗板污染大,速度慢,受操作人员主观影响,但拍板干净;机器洗板对实验室污染小,工作量小,速度快,注液量及静置时间可设定,稳定性强,但板内有残余试剂,洗板后手工拍板,可减小误差。

本试验ELISA检测S/CO值大于8.0的阳性标本可能感染HCV的时间长,病毒含量高。HCV RNA的存在是HCV在体内活动最直接的指标,有利于HCV感染的早期诊断。文献^[6]报道,只有当HCV RNA浓度较低时,只能用核酸方法检测,HCV RNA载量小于8×10³ copy/mL的血清其抗-HCV的A值也处于最低临界值,此时S/CO值较低。而S/CO值在1.0~2.5的标本可能处于窗口期,平均约为70 d,病毒含量低,胶体金吸附法检测和ELISA检测抗-HCV均具有较高的敏感性,但胶体金法敏感性较低,有可能出现假阴性。因此胶体金吸附法只能作为参考。

目测法受主观影响大,弱阳性标本易漏报,不能开展定量检测,室内质控无法开展;酶标仪不受操作人员主观控制,灵敏度高,能开展质量控制,能完整保存临床资料。对抗-HCV检测阳性的标本最好使用两种以上不同厂家试剂进行复验,如果都阳性,才可以判断为HCV感染。ELISA检测法由于操作过程中影响因素多,在标本量少的时候不易进行质量控制,适合于大批量标本的检验。胶体金法由于每人份试剂均进行独立包装,且均带有质控带,操作简单、快速,适合于标本量少的基层医院的检验,但由于其敏感性较其他方法低,因此,当临床高度怀疑而胶体金法检测抗-HCV阴性时,需进一步用ELISA检测或直接到上级医院做病毒核酸检测^[7]。

参考文献

- [1] 江朝富,崔徐江,汪传喜.现代成分输血与临床[M].天津:天津科学技术出版社,2003:393.
- [2] 谢立,吴晓东.丙型肝炎病毒检测方法的研究进展及其临床意义[J].世界华人消化杂志,2005,13(7):884-886.
- [3] 张菊香.丙型肝炎病毒血清学检测在临床中的应用[J].西部医学,2011,23(6):1146-1149.
- [4] 马顺高,秦红群.1 988 例丙型肝炎病毒抗体检测结果分析[J].检验医学与临床,2010,7(21):2401-2402.
- [5] 丛玉隆,尹一兵,陈瑜.检验医学高级教程[M].北京:人民军医出版社,2010:1100.
- [6] 林敏,刘毅,农天雷.丙型肝炎病毒的检测方法相关性分析及临床应用[J].右江民族医学院学报,2005,27(2):187-188.
- [7] 杨荣昌.丙型肝炎病毒抗体两种检测方法的比较[J].检验医学与临床,2010,7(3):263-264.

(收稿日期:2011-12-24)

厌氧培养和需氧培养在血培养中的应用研究

邱善敏,张险峰,沈春明(苏州大学附属第一医院检验科 215006)

【摘要】 目的 研究厌氧培养和需氧培养在血培养中分离菌阳性率的差异。**方法** 采用全自动血液培养仪(BacT/ALERT 3D)进行需氧和厌氧培养并分离菌株。厌氧培养分离的菌株均做耐氧试验。**结果** 2010 年 2~5 月 591 份标本共检出 81 株细菌,阳性率 13.71%(81/591),其中需氧培养检测出的细菌为 58 份,阳性检出率为 9.81%(58/591),厌氧培养检测出 74 株细菌,阳性检出率为 12.52%;细菌检出最早时间为 2 h。81 株细菌中 24 h 内检出 58 株(71.60%),24~48 h 检出 17 株(20.99%),48 h 以后检出 6 株(7.40%)。**结论** 对于血(体)液标本应同时做需氧和厌氧培养,以提高临床细菌的阳性检出率。

【关键词】 厌氧培养; 需氧培养; 细菌; 阳性率

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.10.042 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)10-1235-02

近年来,尽管血培养厌氧菌各地报告结果不同,但由于厌氧菌的耐药性问题和血培养技术的不断改善,分离率已出现上升趋势,血培养厌氧菌问题再次受到关注。韩国报道 1 岁以下儿童 1974~1983 年脆弱拟杆菌菌血症为 1.5%^[1],1984~1993 年上升至 4.0%~7.0%;儿童和成人厌氧菌菌血症同期则由 2.7%上升 6.4%。2004 年西班牙 Ruiz-Giardin 和 Noguerado Asensio^[2]报道,1985~1986 年厌氧菌菌血症为 4.24%,而 1996~1997 年则上升至 5.08%。美国 1984~1992 年的血培养结果分析也呈类似现象^[3]。国内尚缺乏完整、系统的血培养厌氧菌流行病学资料,但相关文献报道也呈现较高比例。如黄晓元等^[4]对烧伤患者血培养分析显示,厌氧菌败血症占 20.4%。董庆元^[5]对儿童医院败血症患儿厌氧血培养 639 例分析显示,单纯厌氧菌感染占 4.8%,复合感染厌氧菌占 3.1%,合计厌氧菌阳性率达 7.9%。在综合性医院血培养中厌氧菌也占有一定比例,如北京医院张秀珍等^[6]对 1 800 份血培养分析,厌氧菌分离率(拟杆菌属和无芽孢革兰阳性菌)占 8%。为此本文以 591 份全血及骨髓等无菌体液标本为例,研究厌氧培养和需氧培养在血培养中分离菌阳性率的差异,报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2010 年 2 月 1 日至 5 月 31 日苏州大学附属第一医院住院及门诊患者送检的血培养标本 591 份,其中血液(含骨髓)标本 580 份,胸腔积液和腹腔积液、脑脊液等其他体液标本 11 份。每份同时做了需氧和厌氧培养。

1.2 仪器 全自动血培养仪 BacT/ALERT 3D、全自动细菌鉴定仪 VITEK2-Compact 和厌氧培养缸及耗材均为法国生物梅里埃公司产品,CO₂ 孵育箱 Heal Force 为上海力申科学仪器有限公司产品,普通孵育箱为上海森信实业仪器公司产的 GRP-9160 型。

1.3 培养基 血培养瓶(包括需氧培养瓶和厌氧培养瓶)为仪器配套的一次性全封闭专用血培养瓶。需氧和厌氧培养的培养基均采用郑州安图生物公司生产的哥伦比亚血平板、巧克力平板和专用厌氧培养平板。

1.4 方法

1.4.1 细菌培养 以无菌方式采集血液等标本 5 mL,按 BacT/ALERT 3D 操作程序直接上机培养监测。该仪器温度保持在 35.5℃,每 15 min 自动监测 1 次,以培养基内荧光剂分解造成荧光值下降来指示细菌生长,经计算机判读给出阳性信号,阳性者取出分别转种至相应培养基,35℃ 做厌氧或需氧培养,24~48 h 分离菌株(巧克力平板需放置 CO₂ 孵育箱、厌氧培养分离的菌株均做耐氧试验),7 d 未提示阳性者发无菌生长报告。

1.4.2 细菌鉴定 分离纯化的细菌首先进行革兰染色,然后分别采用 VITEK2-Compact 的相应鉴定卡并结合传统手工方法鉴定到种。

2 结果

2.1 阳性率及检出阳性时间 用 BacT/ALERT 3D 全自动血培养仪检测 591 份血培养标本,一共分离出 81 株细菌,阳性率 13.71%(81/591),需氧培养检测出的细菌为 58 株,阳性检出率为 9.81%(58/591),其中需氧培养阳性,厌氧培养阳性 51 株,占 63.7%(51/81),需氧培养阳性,厌氧培养阴性 7 份,占 8.64%(7/81);厌氧培养检测出 74 株细菌,阳性检出率为 12.52%(74/591),其中需氧培养阴性,厌氧培养阳性 23 份,占 28.40%(23/81),厌氧培养阳性,需氧培养阳性 51 份,占 63.7%(51/81)。81 份阳性者细菌最早检出时间为 2 h,24 h 内检出细菌 58 株(71.60%),24~48 h 检出 17 株细菌(20.99%),48 h 以后检出 6 株细菌(7.40%)。