

真空抗凝试管留取 3 mL 全血血液标本。

1.2 试剂 抗-A、抗-B、抗-D 血清,标准 A、B、O 血清均由上海血液生物医药公司提供,微柱凝胶卡由南京杲昊科技有限公司提供。所有试剂均在有效期内使用。

1.3 检测方法

1.3.1 试管法 ABO 及 Rh(D)定型取受检者 5% 红细胞悬液 20 μ L,抗-A、抗-B、抗-D 血清各 40 μ L,混匀,3 000 r/min 离心 15 s,显微镜观察结果,镜下凝集者判为阳性^[4]。

1.3.2 仪器法 TECNO 全自动血型配血仪采用达亚美(DiaMed)血型配血微量定型系统完成,操作按照其说明书执行,样本稀释、加样、离心、判读结果均由机器自动完成。

2 结果

由表 1 可知,ECNO 全自动血型配血仪与试管法的结果符合率为 100%,两种方法检测结果无差别,两种方法均检测出 Rh(D)阴性 22 例。

表 1 仪器法和试管法检测结果(n)

方法	A 型	B 型	O 型	AB 型	RH(D)阴性	符合率(%)
试管法	8 680	7 349	8 178	2 752	22	100
仪器法	8 680	7 349	8 178	2 752	22	100

3 讨论

TECNO 全自动血型配血仪具有以下优点:(1)检测技术的先进性。TECNO 采用的是卡式微柱凝胶测试技术,1986 年 Lapiere 发明了微柱凝胶技术并用于鉴定血型^[5]。由于采用了凝胶分子筛技术,将凝集的、游离的红细胞分开,使结果一目了然,避免了操作上的主观影响^[6]。该方法具有易于自动化、标准化、反应结果可靠和特异性强等特点。卡式微柱凝胶测试技术是一种新型的血清学检验技术,是近年来逐渐兴起的一项免疫检测新方法,随着科学技术进步,国内不少医院已开始了此项技术的使用,已经逐步取代了已使用百年传统式的血型血清学技术^[7]。(2)检测程序的先进性。TECNO 使用的达亚美(DiaMed)血型配血微量定型系统,使检测自动化、程序化、简单化,样本稀释、加样、离心、判读结果均由机器自动完成,采用

标准化定量工作,减少了操作人员的随意性^[8]。(3)检测结果保存的先进性。检测结果拍照保存,直观准确,可存盘永久记录,以备血型鉴定错误时查对原始资料。而且能与实验室信息系统连接,实现数据传输网络化。

本科室于 2010 年 7 月购置了 TECNO 全自动血型配血仪用于 ABO 血型及 Rh(D)血型的检测,实现了整个检测过程的自动化,提高了工作效率,减少了人员带来的主观因素。结果既有文字又有影像,直观清晰,而且与实验室信息系统联网,利于查询和举证。其运用的卡式微柱凝胶测试法对 ABO 血型及 Rh(D)血型鉴定与试管法相比,符合率达 100%,准确率 100%,说明在严格控制标本质量的前提下,应用 TECNO 全自动血型配血仪鉴定血型准确可靠,可完全替代试管法普遍运用于临床。

参考文献

- [1] 王敏,王保龙,姚萍,等.全自动血型仪在输血前检查中的应用[J].临床输血与检验,2011,13(2):123-126.
- [2] 韩璐,孙立平,许婷婷.2 种微板法用于血型反定型检测的效果比较[J].中国输血杂志,2007,20,(4):323-324.
- [3] 刘玉美,刘芳庆,刘肖利.卡式法血型鉴定、交叉配血的注意事项[J].实用医技杂志,2006,13(1):80.
- [4] 李勇,杨贵贞.人类红细胞血型学实用理论与实验技术[M].北京:中国科学技术出版社,1999:276-278.
- [5] 赖科,杨丽媛,秦建芳.全自动血型仪在血型检测中的应用[J].临床血液学杂志,2009,22(4):207-209.
- [6] 彭道波,兰炯采,王梁平,等.用微柱凝试验进行交叉配血[J].中国输血杂志,2001,14(4):232.
- [7] 宋淑清,夏鲁宁.卡式微柱凝胶试验在临床输血检验中的应用[J].实用医技杂志,2005,12(3):646.
- [8] 石凤燕.微柱凝胶法在血型鉴定中的应用小议[J].中外健康文摘,2010,7(18):75-76.

(收稿日期:2012-06-08)

乙型肝炎病毒前 S1 抗原的检测及其与病毒复制的关系

李湘英(湖北省随州市中心医院检验科 441300)

【摘要】 目的 探讨乙型肝炎病毒(HBV)前 S1 抗原(PerS1-Ag)的检测及其与病毒复制的关系。**方法** 用荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测 275 例血清中的 HBV-DNA,用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中前 S1 抗原和乙型肝炎病毒血清标志物(HBV-M),同时进行 PerS1-Ag 在乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)(+)组和 HBeAg(-)组中 HBV-DNA 检测率的分析。**结果** PerS1-Ag 在 HBeAg(+)组中的检出率明显高于 HBeAg(-)组,差异有统计学意义($P < 0.05$);在 HBsAg(+),抗-HBc(+)组中的检出率高于在 HBsAg(+),HBeAg(+),抗-HBc(+)组中的检出率,但差异无统计学意义($P > 0.05$);PerS1-Ag 在 HBeAg(+)组和 HBV-DNA(+)组中的检出率分别为 93.75%、96.88%,二者差异无统计学意义($P > 0.05$),85 例 HBV-DNA PCR(+)标本中,PreS1(+) 48 例, HBeAg(+) 32 例。**结论** PerS1-Ag 与 HBV 复制的关系密切,作为 HBV 复制的一个新的标志物,PerS1-Ag 比 HBeAg 更优越。

【关键词】 前 S1 抗原; HBV-DNA; 乙型肝炎病毒血清标志物; 酶联免疫吸附试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.23.061 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)23-3015-03

健康人肝细胞膜上存在乙型肝炎病毒(HBV)前 S1 抗原(PerS1-Ag)受体,能直接吸附 HBV 这种受体与 HBV 的结合点定位于前 S1 蛋白的 21~47 的氨基酸序列上^[1]。PerS1-Ag

主要存在于完整的病毒颗粒,一般认为与 HBV 复制的关系密切,它在血清中的出现和消失与乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)和乙型肝炎病毒基因(HBV-DNA)的消长一致,以前 HBeAg

常被临床作为判断 HBV 复制状态的血清学指标,但有许多因素会导致酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 HBeAg 假阴性,从而产生同一标本 HBeAg 阴性而 PerS1-Ag、HBV-DNA 阳性的结果。HBV-DNA 是反映 HBV 复制状态最直接的指标,而 PerS1-Ag 又与 HBV-DNA 有较高的相关性,所以 PerS1-Ag 的检测可作为 HBV 复制及有传染性的标志。为此作者进行了 PerS1-Ag、HBeAg 与 HBV-DNA 检测的对比分析。

1 材料与方法

1.1 标本来源 275 例血清标本均来自 2012 年 3~4 月本院门诊和住院的患者。

1.2 试剂和仪器 厦门英科新创科技有限公司试剂盒和上海科华科技发展有限公司诊断试剂盒。Rayto RT-6100 酶标仪,PW-960 全自动酶标洗板机,ABI7500 全自动荧光定量检测仪。

1.3 方法 用 ELISA 检测 PerS1-Ag 和 HBV 标志物(HBV-M),用荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测 HBV-DNA,所有操作和结果判断均严格按试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PerS1-Ag、HBV-M、HBV-DNA 同步检测的结果 PerS1-Ag 主要存在 HBsAg(+)组中,HBsAg(-)组只有 1 例出现,即乙型肝炎病毒核心抗体(抗-HBc)(+)组。在 HBsAg(+),抗-HBc(+)组中的检出率高于在 HBsAg(+),HBeAg(+),抗-HBc(+)组中的检出率但差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 HBeAg(+)组中的 PerS1-Ag 检出率明显高于在 HBeAg(-)组中的检出率,前者为 93.75%,后者为 57.83%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 PerS1-Ag、HBV-M、HBV-DNA 的 PCR 3 项同步检测结果[n(%)]

组别	n	PerS1-Ag(+)	HBV-DNA(+)
HBsAg(+) HBeAg(+) HBcAg(+)	32	30(93.75)	31(96.88)
HBsAg(+) HBeAg(+) 抗-HBc(+)	52	29(55.77)	31(59.62)
HBsAg(+)+HBeAg(+)	31	19(61.29)	21(67.74)
抗-HBs(+) HBeAg(+) 抗-HBc(+)	38	0(0.00)	0(0.00)
抗-HBs(+)抗-HBc(+)	33	0(0.00)	0(0.00)
抗-HBc(+)	29	1(3.48)	2(6.89)
HBV-M(-)	60	0(0.00)	0(0.00)
合计	275	79(28.72)	85(30.80)

2.2 PerS1-Ag 和 HBV-DNA 检测的相关性分析 从表 1 中 5 种模式各选 29 例,根据 PerS1-Ag 在 HBV-M 5 种模式中 HBV-DNA 的检出率,计算出 PerS1-Ag 和 HBV-DNA 检出率的相关系数 $r = 0.999 8$,回归方程为 $y = 1.08x + 0.076$,说明二者关系密切。见表 2。

表 2 HBV 5 种模式中 PerS1-Ag、HBV-DNA 的检出率[n(%)]

组别	n	PerS1Ag (+)	HBV-DNA (+)
HBV-M(-)	29	0(0.00)	0(0.00)
抗-HBc(+)	29	1(3.48)	2(6.89)
HBsAg(+),HBeAg(+),抗-HBc(+)	29	16(55.17)	17(58.62)
HBsAg(+),HBeAg(+)	29	18(62.07)	19(65.52)
HBsAg(+),HBeAg(+),抗-HBc(+)	29	27(93.10)	28(96.55)

3 讨论

本实验结果表明,HBV-M 的表现与 HBV-DNA 的复制表达差别较大,但 PreS1-Ag 与 HBV-DNA 的复制表达差别不大,PreS1-Ag 和具有病毒复制意义的指标 HBeAg 密切相关。但在 ELISA 中,当 HBeAg 浓度大大高于包被抗体时,会产生后带现象,导致 HBeAg 假阴性。本研究中,在 HBeAg 阴性的两组标本中都检出了 PreS1-Ag,这说明 HBV 复制仍较为活跃,有较强的传染性,之所以 HBeAg 为阴性,是由于 HBV 基因 C 区 1 896 位点突变广泛存在^[2-3]。其中 HBeAg(+)组和 HBeAg(-)组标本的 PreS1-Ag 的检出率分别是 55.77% 和 61.29%,差异无统计学意义($P > 0.05$)。HBsAg(+),抗-HBc(+)组的检出率略大于 HBsAg(+),HBeAg(+),抗-HBc(+)组的检出率,这反映了在 HBV 感染者体内 HBeAg 向 HBeAg 血清转换的动态过程中,病毒的复制逐渐减少,PreS1-Ag 的表达也随之减少,但这并不意味着 HBeAg 阴性,HBV 的复制就完全终止或病毒的完全消失。这主要是因为 HBV 感染宿主后为逃避宿主的免疫应答而发生 C 区与 C 区基因的突变导致 C 区变异,不能产生 HBeAg,但这并不影响病毒复制,造成 HBV 的持续感染^[4]。这也提醒医务工作者要注意观察其向慢性活动性肝炎的转化。在 HBV-DNA PCR 阳性标本中,PerS1-Ag 比 HBeAg 更好地反映病毒的复制情况,但在 85 例 PCR 阳性标本中仍有 6 例 PerS1-Ag 阴性,推测与前 S 区缺失突变有关^[5]。

近来不少研究证明了 PreS1 蛋白也可作为 HBV 复制的标志物,HBeAg 转阴并不一定意味病毒停止复制^[6]。从本实验结果可以看出 HBeAg 阴性患者中仍有 48 例 PerS1-Ag(+),52 例 HBV-DNA(+),说明部分 HBV 仍处于高水平复制状态。因此 HBeAg 作为反映 HBV 在体内复制的指标,对 HBeAg 阴性的 HBV 感染者已失去作用,而 PreS1 蛋白常在 HBV 感染早期就出现,1 个月左右消失,但持续存在表示乙型肝炎转变为慢性^[7]。所以 PreS1-Ag 能更客观地反映病毒在体内的活动状态,可作为更敏感的病毒复制与传染性的标志。PreS1-Ag 的检测也可较好地反映 HBV-DNA 的存在或复制状况。同时 PreS1-Ag 又具有操作方便、使用灵活、特异性高、稳定性高、灵敏度好的特点。为此建议临床常规进行 PreS1-Ag 的检测。

本研究结果显示,PreS1-Ag 在 HBeAg(+)组中检出率和在 HBV-DNA(+)组中的检出率无明显差异,且 PerS1-Ag 与 HBV-DNA 的相关性高于 HBeAg,可作为更敏感的病毒复制与传染性的标志。因此联合检测 PerS1-Ag 和 HBeAg 能够更好地反映 HBV 复制情况。同时由于临床治疗药物等因素会导致 HBV 发生 HBeAg 阴性的变异,检测 PerS1-Ag 还可避免这种因 HBeAg 变异所导致的对临床病情分析的误导。

参考文献

[1] 高建国,周运恒,姚雯颖.前 S1 蛋白在检测乙型肝炎的研究进展[J].医学综述,2003,9(6):361.
 [2] 解松刚,张素华,张玲.乙型肝炎患者 HBV-DNA 载量及基因型与 YMDD 变异的相关性研究[J].实用临床医药杂志,2008,12(9):119-121.
 [3] 朱美玲,陈灿锋.e 抗原阴性乙型肝炎患者病毒前 C 区 1896 点突变的检测[J].中华医学检验杂志,1998,21(6):382.
 [4] 叶俊英,李静,谢建渝.乙肝病毒前 S1 前 S2 蛋白与血清

HBV-DNA 两对半检测的相关性[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(7): 520.

[5] Sugauchi F, Ohno T, Orito E, et al. Influence of hepatitis B virus gene 2 types on the development of presdeletions and advanced liver disease[J]. J Med Virol, 2003, 70(4): 537-540.

[6] 王槐堂, 魏中南. 乙型肝炎病毒前 S1 蛋白抗原检测的临

床意义[J]. 中国医药生物技术, 2009, 4(5): 365.

[7] 陈曼丹, 邱小华, 林漫燕, 等. 乙型肝炎患者血清 PreS1-Ag 检测的临床分析[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2007, 34(6): 367-368.

(收稿日期: 2012-05-24)

3 种检测梅毒抗体的实验方法学评价

湛晓燕, 张银辉(湖北省襄阳市中医医院检验科 441000)

【摘要】 目的 探讨酶联免疫吸附试验(ELISA)、梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)和快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)对梅毒的诊断价值。**方法** 对 218 份梅毒阳性标本和 218 份阴性标本采用 ELISA、TPPA 和 RPR 3 种方法进行检测。**结果** ELISA 的敏感度为 100%, 特异性为 100.0%; TPPA 的敏感度为 55.1%, 特异性为 100.0%; RPR 敏感度为 40.4%, 特异性为 100.0%; TPPA 与 RPR 的敏感度比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 9.41, P < 0.05$)。**结论** 用 TPPA 与 RPR 检测梅毒易造成假阴性而漏检, 建议实验室使用 ELISA 法检测以提高梅毒检测的阳性率, 避免漏检。

【关键词】 梅毒抗体; 酶联免疫吸附试验; 梅毒螺旋体明胶凝集试验; 快速血浆反应素环状卡片试验; 方法学评价

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.23.062 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2012)23-3017-02

近年来为控制梅毒的传播, 多数医院对手术、输血及各种创伤性检查的患者都进行梅毒的实验室检查^[1]。因此, 选择敏感性高的试验室检测方法, 对梅毒的早期诊断提供准确及时的依据有助于梅毒的准确诊断和早期治疗, 尤其对控制其蔓延至关重要。为了解酶联免疫吸附试验(ELISA)、梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)和快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)敏感度和特异性的差异, 作者对 218 份梅毒阳性标本和 218 份梅毒阴性标本分别进行检测, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集湖北省襄阳市中医医院 2011 年 5 月至 2012 年 4 月住院及门诊患者被确诊为梅毒患者的 218 份阳性血清作为实验组, 其中男 98 例, 女 120 例, 年龄 17~73 岁; 同期本院经健康体检为健康人的 218 份梅毒阴性血清作为健康对照组, 男 106 例, 女 112 例, 年龄为 22~65 岁。

1.2 仪器与试剂 ELISA 试剂盒由厦门(新创)科技有限公司生产, TPPA 采用日本富士瑞必株式会社提供的梅毒螺旋体抗体诊断试剂(凝集法); RPR 采用上海科华生物有限公司提供的梅毒快速反应素诊断试剂, 均在有效期内使用。采用 anths-2010 酶标仪, amths fluidm 洗板机, 75-2a 微型振荡器。

1.3 方法 所有受检者均空腹抽静脉血 5 mL, 分离血清, 血清标本如在 24 h 内检测则置于 4℃ 冰箱, 否则置于 -30℃ 冰箱内保存待检测, 避免反复溶冻。所有标本分别用 3 种方法同时检测, 其操作均严格按试剂盒内的操作说明书进行, 质控血清由湖北临检中心提供。敏感度和特异性计算方法: 敏感度(%) = 真阳性 / (真阳性 + 假阴性) × 100%, 特异性(%) = 真阴性 / (真阴性 + 假阳性) × 100%。

1.4 统计学处理 计数资料采用配对资料 *McNemar* 和 *Kappa* 一致性检验。

2 结果

实验组和健康对照组的 218 例血清分别采用 3 种方法进行测定, 其结果表明 ELISA、TPPA 和 RPR 敏感度分别为 100%、55.1% 和 40.4%; 特异性均为 100%。ELISA 与 TPPA

的敏感度比较, 差异无统计学意义($\chi^2 = 126.4, P > 0.05$); RPR 与 TPPA 的敏感度比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 9.41, P < 0.05$)。见表 1。

表 1 3 种方法检测结果

方法	n	阳性	阴性	阳性率(%)
ELISA	218	218	0	100.0
TPPA	218	120	98	55.1
RPR	218	88	130	40.4

3 讨论

梅毒的诊断需要依据病史、临床表现及实验室检查。目前梅毒的实验室检查方法有病原体直接检查法和血清学检查法。病原体直接检查法是用暗视野显微镜检测特征性的梅毒螺旋体, 主要适用于人体感染梅毒的初期即一期梅毒和二期梅毒, 但阴性不能完全排除, 多数实验室特别是基层实验室不在此实验。血清学实验是目前国内外检测梅毒螺旋体的主要方法, 人体一旦感染梅毒螺旋体后, 将引起一系列血清免疫学反应, 产生两种抗体。TPPA 检测的是梅毒的特异性抗体, 具有很高的敏感度和特异性, 通常以 TPPA 阳性作为临床实验室诊断梅毒的依据^[2]。因此, 本研究以该法为金标准对 ELISA 和 RPR 进行评价。结果显示, TPPA 和 RPR 的比较, 检测结果差异有统计学意义($\chi^2 = 9.41, P < 0.05$)。说明 RPR 检测梅毒的结果与 TPPA 不一致, 其原因与检测过程中抗体含量过高时导致的假阴性反应及生物学假阳性反应引起的漏检有关。ELISA 是将基因重组表达的梅毒螺旋体特异性抗原包被在微孔板, 用双抗夹心法测定梅毒螺旋体特异性抗体的一种较新的梅毒血清学诊断方法。尽管测定梅毒螺旋体感染的灵敏度和特异性随 ELISA 方法、疾病的进展和流行而异, 但多在 99% 左右, 本研究显示 ELISA 和 TPPA 检测结果差异无统计学意义($\chi^2 = 126.4, P > 0.05$), 这与其他学者的研究一致^[3]。表明 ELISA 检测梅毒的结果与 TPPA 检测的结果具有较高的一致性^[4-5], 且强于 RPR。此外, 本研究还表明, ELISA 的敏感