

[9] 徐雷,明忠光.瑞氏-吉姆萨复合染色法在分泌物涂片中的应用价值[J].中国基层医药,2003,10(5):480.

[J].实用医技杂志,2011,18(5):503-504.

[10] 孙学青,李志城,韩景银.血涂片细胞形态学检查及其临床应用

(收稿日期:2011-12-09)

• 检验技术与方法 •

抗人类免疫缺陷病毒抗体酶联免疫吸附法检测条件的优化

彭 宽,李俊明,鞠北华

(南昌大学第一附属医院检验科,江西南昌 330006)

摘要:目的 探讨抗人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体酶联免疫吸附法检测条件的优化途径。方法 比较不同离心和水浴条件下血清标本检测假阳性率。结果 3 000 r/min 离心 3 min 和 4 000 r/min 离心 5 min 获得的血清标本假阳性率分别为 7.64% 和 1.80%,二者比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。3 000 r/min 离心 3 min 获得的血清标本,经未水浴、37 °C 水浴 30 min、37 °C 水浴 60 min 处理后,假阳性率依次降低($P < 0.05$)。结论 适当提高离心速度、延长离心时间或增加水浴时间可降低因标本凝固不全导致的假阳性结果。

关键词:HIV; 酶联免疫吸附测定; 假阳性率

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.033

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)05-0582-02

临床通常以酶联免疫吸附法(ELISA)检测抗人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体(HIV 抗体),且均以微孔板条为固相,一般涉及标本收集、保存、试剂准备、加样、温育、洗板、显色、比色和结果判断等步骤,任一步骤操作不当都有可能假阳性结果^[1]。为实现不漏检 HIV 抗体阳性者,同时也对每位受检者负责,在检测过程中需严格按照标准程序进行操作,以确保初筛工作的质量^[2]。笔者通过总结临床工作经验,分析了不同离心和水浴条件对 ELISA 检测 HIV 抗体的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 于本院进行 HIV 抗体检测的患者。

1.2 仪器与试剂 HIV 抗体 ELISA 双抗原夹心法检测试剂购自珠海丽珠生物有限公司(批号:I20090420);ELX-800 酶标仪购自美国 Bio Tek 公司,DEM-3 型全自动酶标洗板机购自北京拓普分析仪器有限公司,SH-2(A)酶标板脱水仪购自早稻田(北京)生物科技发展有限公司;KJ-201A 振荡器购自江苏康健医疗用品有限公司,HFsafe-900 生物安全柜购自利康生物医疗科技控股有限公司。

1.3 方法 以干燥真空采血管采集患者外周静脉血标本,分别统计 3 000 r/min 离心 3 min 和 4 000 r/min 离心 5 min 条件下获得的血清标本检测结果,以及 3 000 r/min 离心 3 min 条件下获得的血清标本未经水浴或不同条件下水浴后的检测结果。其他操作步骤参考《全国艾滋病检测技术规范》。假阳性的判断标准为初筛阳性,但复核试验阴性,或初筛及复核试验均为阳性,但确认试验为阴性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行完全随机设计两样本率的 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

不同试验条件下血清标本检测结果见表 1~2。

表 1 离心条件对血清标本检测结果的影响

离心条件	n	假阳性(n)	假阳性率(%)
3 000 r/min 离心 3 min	2 760	21	7.64*
4 000 r/min 离心 5 min	2 775	5	1.80

*:与 4 000 r/min 离心 5 min 条件下获得的血清标本假阳性率比较, $P < 0.05$ 。

表 2 水浴条件对血清标本检测结果的影响[△]

水浴条件	n	假阳性(n)	假阳性率(%)
未置水浴	2 760	21	7.64
37 °C 水浴 30 min	2 024	10	4.99*
37 °C 水浴 60 min	1 840	4	2.38*#

[△]:血清标本均经 3 000 r/min 离心 3 min 后获得; *:与未置水浴组比较, $P < 0.05$; #:与 37 °C 水浴 30 min 组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨 论

造成 ELISA 检测 HIV 抗体假阳结果的因素很多,比如操作不当^[3-4]、标本因素^[5-6]等。一般而言,如检验科工作人员严格按照《全国艾滋病检测技术规范》进行操作,可避免因操作不当造成的假阳性结果。标本因素则包括内源性(类风湿因子、补体、异嗜性抗体、自身抗体、溶菌酶等)和外源性(标本溶血、标本被细菌污染、标本凝固不全、反复冻融等)干扰因素^[7-9]。厂商在研发试剂时,已考虑内源性因素对检测结果的影响,基本可避免内源性干扰因素对检测结果的影响^[6]。就外源性干扰因素而言,本研究中检出的假阳性标本均无溶血、细菌污染和反复冻融等情况。由于全血标本需 18~24 h 才能完全凝固,而本院从标本采集到分离血清开始检测所耗时间较短,全血标本基本上均为完全凝固,因此,笔者认为本研究中的假阳性结果极有可能与标本凝固不全有关。标本凝固不全时,离心获得的血清标本中易残留纤维蛋白原成分,导致 ELISA 测定过程中在微孔中形成纤维蛋白凝块,进而导致假阳性结果。因此,本科室结合实际情况,考虑通过适当改变离心条件(离心速度和时间)和水浴条件以避免假阳性结果的出现。

本研究显示,4 000 r/min 离心 5 min 和增加水浴时间均可有效降低假阳性率。适当增加水浴时间和改变离心条件^[10]可促进全血标本充分凝固,有助于避免血清中残留纤维蛋白原,从而避免纤维蛋白原对检测结果的影响。考虑到全血标本凝固程度影响检测结果,笔者建议进行 HIV 抗体检测时,使用含有分离胶或促凝剂的试管采集全血标本,因为分离胶能有效分离血清和纤维蛋白原成分,促凝剂则可加速血液凝固,而促凝剂作为惰性材料,对标本检测几乎没有影响。因此使用含分离胶或促凝剂的试管也是有效降低因标本凝固不全导致假阳性

结果的有效方法。

参考文献

[1] 汪德宇. 酶联免疫吸附法出现假阳性的原因分析和解决方法评论[J]. 中国当代医药, 2009, 16(19): 137-138.
 [2] 王支兰. ELISA 试验的质量控制[J]. 现代预防医学, 2004, 31(1): 148.
 [3] 张华荣, 曾令聪, 陈正明, 等. 出现 HIV 抗体检测结果假阳性报告的原因分析[J]. 中国国际卫生检疫杂志, 2008, 31(6): 395.
 [4] 李广权, 周卫东. 生化样本不同放置方式对血清钾、钠、氯结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(4): 486-487.
 [5] 高丹, 李丁, 董雪, 等. ELISA 法检测 HIV 抗体需注意的问题[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(1): 115.

[6] 刘国刚, 钟海明, 胡金元. ELISA 法检测 HIV 抗体的几点体会[J]. 中华医学实践杂志, 2004, 3(10): 907.
 [7] Carlander D, Larsson A. Avian antibodies can eliminate interference due to complement activation in ELISA[J]. Ups J Med Sci, 2001, 106(3): 189.
 [8] 陈远林, 秦立新, 张仁生. 抗-HIV 初筛试验阳性结果分析[J]. 实用预防医学, 2006, 13(2): 284.
 [9] 熊朝俊. 无促凝剂快速分离血清方法及效果观察[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 32(1): 44-46.
 [10] 张帆. 高速离心对临床常规生化项目测定结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 887-888.

(收稿日期: 2011-11-30)

• 检验技术与方法 •

两种不同方法检测血清肺炎支原体抗体结果比较

刘学政, 雷选斌, 董虹

(湖北省荆州市第一人民医院检验科, 湖北荆州 434000)

摘要:目的 探讨被动凝集法和酶联免疫吸附法(ELISA)在支原体肺炎诊断中的价值及临床意义。方法 采用被动凝集法和 ELISA 对 1 633 例疑似肺炎支原体(MP)感染患儿进行血清 MP IgM 检测。结果 1 633 例血清标本中, 被动凝集法检测阳性率为 17.4%(285/1 633), ELISA 检测阳性率为 21.0%(343/1 633), 2 种方法阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。285 例被动凝集法检测阳性标本 ELISA 检测均为阳性; 1 348 例被动凝集法检测阴性标本中, 有 58 例 ELISA 检测为阳性, 被动凝集法漏检率为 3.55%(58/1 633)。结论 被动凝集法用于支原体肺炎疑似患者的初筛, 当抗体效价小于 1:160, 但临床症状支持阳性诊断时, 需进行 ELISA 检测以提高检出率, 从而避免漏诊。

关键词:支原体肺炎; 抗体; 被动凝集法; 酶联免疫吸附测定

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.034

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)05-0583-02

肺炎支原体(MP)因缺乏细胞壁结构, 对治疗肺炎、上呼吸道感染的一般药物有耐药性, 单一青霉素或头孢类抗菌药物治疗无效, 而对大环内酯类敏感, 治疗首选药物为阿奇霉素^[1]。为探讨 2 种不同 MP 检测方法在支原体肺炎诊断中的价值及临床意义, 本研究通过对 1 633 例疑似 MP 感染患儿采用被动凝集法及酶联免疫吸附法(ELISA)进行 MP 抗体血清学检测, 并进行结果对比分析, 报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 8 月至 2011 年 4 月于本院就诊的疑似 MP 感染患儿 1 633 例, 男性 781 例、女性 852 例, 年龄 3 个月到 8 岁, 平均 1.9 岁, 病程 2~45 d, 平均 12 d。临床诊断 MP 感染的标准为 MP IgM 阳性、X 线胸片示肺部不同程度炎性反应表现、呼吸道症状和(或)体征明显、大环内酯类抗菌药物治疗明显有效^[2]。

1.2 仪器与试剂 被动凝集法 MP IgM 检测试剂盒购自日本富士瑞必欧株式会社; MP IgM ELISA 检测试剂盒购自欧蒙(德国)医学实验诊断股份公司。

1.3 方法 采集所有受试者静脉全血, 常规离心分离血清后进行 MP IgM 检测。被动凝集法及 ELISA 检测均按试剂说明书进行所操作。被动凝集法 MP IgM 效价大于或等于 1:160 时判为 MP 感染阳性^[3-4]。ELISA 检测以标准品的吸光度值作为未感染人群参考范围上限(临界值), 检测结果低于临界值时判为阴性, 反之判为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计分析软件, 计数资料的比较采用 χ^2 检验, 统计学检验水准为 0.05。

2 结果

被动凝集法阳性率为 17.4%(285/1 633), ELISA 检测阳性率为 21.0%(343/1 633), 两种检测方法阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 详见表 1。58 例患儿被动凝集法检测为阴性, 但 ELISA 检测为阳性, 以 ELISA 作为参考方法, 被动凝集法漏检率为 3.55%(58/1 633), 该 58 例患儿经青霉素、头孢类抗菌药物治疗无效, 改用大环内酯类抗菌药物则疗效显著, 临床综合分析诊断为支原体肺炎。

表 1 被动凝集法和 ELISA 检测结果比较(n)

被动凝集法	ELISA		合计
	阴性	阳性	
阴性	1 290	58	1 348
阳性	0	285	285
合计	1 290	343	1 633

3 讨论

MP 主要通过呼吸道飞沫传播, MP 感染多为散发病例, 全年均可发病, 以秋冬季为高峰^[5]。近年来 MP 感染率逐年上升, 而患者年龄呈下降趋势。MP 感染临床表现多种多样, 难以与其他病原微生物感染相鉴别。因此, MP 感染的实验室诊断极为重要。

目前 MP 感染血清学检测方法包括冷凝集试验、被动凝集法、聚合酶链反应(PCR)、ELISA 及间接免疫荧光法(IIF)等。冷凝集试验特异性及灵敏度均较差^[6-7]; PCR 操作繁琐, 污染率高^[8-9]; IIF 虽特异性最高, 但检出率相对较低^[10]。因此被动