

ELISA 检测梅毒的钩状效应与 RPR 检测梅毒的相互关系

陆正贤¹, 李松华² (江苏省启东市人民医院:1. 检验科;2. 心内科 226200)

【摘要】 目的 通过快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)检测梅毒的结果来证实酶联免疫吸附试验(ELISA)一步法检测梅毒所存在的钩状效应。**方法** 将 RPR 检测结果为阳性且滴度大于 1:4 而 ELISA 一步法检测结果阴性或弱阳性的血清标本,经倍比稀释后再用 ELISA 一步法检测。**结果** 原倍血清梅毒抗体为阴性或弱阳性的标本,随着稀释度的增加,OD 值也逐渐增加,当稀释度为 1:8 或 1:16 时 OD 值达最高,以后随着稀释度的增加,OD 值逐渐降低,梅毒抗体也由阳性到弱阳性到阴性,至稀释度为 1:128 时,OD 值都小于 cut off 值,即全部为阴性。**结论** ELIAS 一步法检测梅毒抗体存在钩状效应,患者检测时应同时采用 RPR 检测,以免漏检或延误病情。**【关键词】** 梅毒抗体; 酶联免疫吸附试验; 钩状效应; 快速血浆反应素环状卡片试验
DOI:10.3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 04. 056 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)04-0478-02

ELISA 是利用基因重组工程合成抗原,检测血清中的特异性抗体,在梅毒的各期均有较高的敏感性,并且假阳性率低,是一种适合大规模筛查和临床诊断的方法,其检测的是梅毒 IgM 和 IgG 混合抗体,IgG 抗体在治愈后相当长的一段时间内仍然存在着较高的阳性率。但如果样本血清中的抗体浓度过高时,易造成前带现象^[1]即钩状效应,引起假阴性,一旦漏检后果严重。

在近期的实际工作中,作者发现,快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)阳性(滴度大于或等于 1:4)的血清标本,采用 ELISA 双抗原夹心一步法检测梅毒抗体时,会因钩状效应现象出现假阴性或弱阳性。为此,本文将对 RPR 阳性而一步法检测梅毒抗体阴性或弱阳性的血清进行不同比例稀释,以探讨 ELISA 一步法检测梅毒的钩状效应与 RPR 检测梅毒的相互关系。

1 材料与方法

1.1 样本 收集本院住院及门诊一步法检测梅毒抗体阴性或弱阳性、RPR 检测阳性且滴度大于或等于 1:4 的血清标本 10 份。

1.2 试剂与仪器 上海科华生物有限公司提供梅毒抗体 ELISA 一步法试剂盒和 RPR 试剂盒。仪器为 Alisei 全自动酶免疫分析仪。

1.3 样本处理 将 10 份血清标本用生理盐水进行对倍稀释至 1:128,再进行一步法检测。

1.4 检测方法 梅毒抗体检测和 RPR 检测严格按试剂盒说明书操作。

2 结果

ELISA 一步法梅毒抗体阴性或弱阳性但 RPR 阳性的 10 份血清(RPR 滴度为 1:8、1:16、1:32 不等),经不同比例稀释后抗体的 OD 值结果见表 1,本次检测的 cut off 值为 0.105。由表 1 可见,标本 1、2、3、4、10 号的原倍血清梅毒抗体都为阴性,标本 5、6、7、8、9 号的原倍血清梅毒抗体都为弱阳性,随着稀释度的增加,OD 值也逐渐增加,梅毒抗体也由阴性、弱阳性到阳性,当稀释度为 1:8 或 1:16 时 OD 值达最高,以后随着稀释度的增加,OD 值逐渐降低,梅毒抗体也由阳性到弱阳性到阴性,至稀释度为 1:128 时,OD 值都小于 cut off 值,也即全部为阴性,从而可证实标本存在钩状效应。

表 1 10 份样本稀释后 ELISA 一步法梅毒抗体试验结果

稀释比例	1:32	1:32	1:16	1:8	1:16	1:32	1:8	1:16	1:8	1:32
原倍	0.061	0.040	0.045	0.092	0.272	0.109	0.115	0.137	0.223	0.018
1:2	0.104	0.117	0.227	0.165	0.395	0.263	0.315	0.218	0.753	0.107
1:4	0.804	0.514	0.625	0.476	1.415	0.536	0.403	0.421	1.644	0.721
1:8	2.798	1.217	1.050	0.917	2.933	1.882	2.606	1.774	2.066	1.552
1:16	1.241	3.334	2.235	1.265	1.876	3.083	0.839	0.904	1.768	3.754
1:32	1.015	1.036	1.157	1.123	1.544	1.920	0.131	0.433	0.948	1.003
1:64	0.103	0.131	0.096	0.100	0.072	0.080	0.100	0.094	0.104	0.614
1:128	0.051	0.102	0.041	0.022	0.020	0.021	0.013	0.038	0.073	0.091

3 讨论

双抗原夹心 ELISA 法检测梅毒抗体,是基于待测梅毒抗体在固相抗原和酶标抗原间的连接作用,若样本中待测梅毒抗体浓度过高,可能会因竞争抑制而导致钩状效应^[2]。

RPR 试验检测的是人体内的反应素,它是人体感染梅毒螺旋体后组织受到破坏裂解处理的一种类脂成分,这种成分与梅毒螺旋体的蛋白质结合成为抗原,刺激机体产生抗类脂质抗体即反应素。

本文资料显示:当钩状效应严重时,反应甚至可不显色而出现假阴性结果而造成漏检,这对患者来说延误病情,耽误治疗,对社会来说增加了传染源及隐患。而当患者经过有效治疗后,RPR 滴度降低,OD 值反而增高,这又容易引起患者的误解和用药剂量的错误。因此,作者认为,检测梅毒抗体的同时应采用 RPR 检测,以免漏检那些 RPR 滴度高而梅毒抗体阴性的患者,且当 RPR 滴度大于 1:4 时,应将原倍血清倍比稀释后再测梅毒抗体,并将最高的 OD 值报告给患者。

参考文献

[1] 王兰兰. 临床免疫学与检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 16-17.

[2] 邓晓琴, 杨茂. ELISA 法梅毒检测的钩状效应及其分析[J]. 中国输血杂志, 2006, 19(3): 220.

(收稿日期: 2010-09-04)

凝血功能检查在重型脑损伤中的应用

周 铭, 张艳萍, 易光明, 熊 军 (长江大学附属第一人民医院, 湖北荆州 434023)

【摘要】 目的 研究重型脑损伤患者凝血功能的改变以及病情严重程度, 并对预后作出判断。**方法** 以长江大学附属第一医院近年来神经诊疗中心收治的 108 例重型脑损伤患者为对象, 测定血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血酶原时间(APTT)、纤维蛋白原(Fib)、凝血酶时间(TT)、D-二聚体(D-D)及血小板(PLT), 同时记录患者的急性生理和健康状况并作格拉斯哥预后评分(GOS), 并与健康对照组比较。**结果** 急性脑损伤与健康对照组比较, 其凝血相关指标在评价格拉斯哥评分中有显著性异常。**结论** 重型脑损伤患者的凝血功能改变, 可以反映脑组织受伤程度以及对预后具有重要的临床意义。

【关键词】 凝血功能检查; 重型脑损伤; 预后

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 04. 057 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2011)04-0479-02

近年来随着交通的发达及工程建筑大量开展, 脑损伤发生率不断上升, 其致死及致残率极高。重型脑损伤不仅与脑内血肿的压迫、机体的应激、特殊的解剖因素以及炎症介质等密切相关, 而且与凝血功能异常变化也密不可分。在重型脑损伤中, 受伤的脑组织释放凝血因子可引起凝血功能障碍, 因此, 检查凝血功能能够反映脑组织的受伤程度, 并对预后、干预性治疗及恢复提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2008 年 1 月至 2009 年 12 月本院神经诊疗中心收治重型脑损伤患者 108 例, 其中男 66 例, 女 42 例, 年龄 17~60 岁; 并选择同期健康体检者 78 例作为对照组, 其中男 50 例, 女 28 例, 年龄 18~65 岁。

1.2 仪器与试剂 仪器为 ACL7000 全自动血凝仪。所用试剂为其公司配套试剂, 采血管为内表面经过非离子表面物质处理过的试管如硅化玻璃管。所用校准品也为该公司提供, 严格按照说明书操作。

1.3 标本采集与测定 所有确定对象均于入院确诊的 48 h 内空腹取 1.8 mL 静脉血注入含 109 mol/L 枸橼酸钠 0.2 mL 的采血管内, 马上轻轻摇匀。用 1 500 r/min 离心 15 min 分离血小板的血浆。1 h 内完成测定。

1.4 临床分类的采集 确定对象由临床医生与护士给予格拉斯哥评分。

2 结 果

凝血指标与格拉斯哥评分分组及对照组的关系见表 1。

表 1 凝血指标与格拉斯哥评分分组及对照组的关系($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PT(s)	APTT(s)	Fib(g/L)	D-D(mg/L)	PLT(10^9 /L)	TT(s)
GOS>8 分组	50	14.1±1.33	5.6±17.2	2.2±0.7	2.120±3.100	154.0±44.2	16.6±6.9
GOS≤8 分组	58	17.2±8.1	60.2±40.2	1.7±1.2	4.410±5.020	105.0±80.2	20.4±6.3
对照组	78	11.9±1.5	33.6±6.2	3.0±1.1	0.309±0.085	165.4±45.1	15.4±2.5

注: 表中 PT 表示凝血酶原时间; APTT 表示活化部分凝血酶时间; Fib 表示纤维蛋白原; D-D 表示 D-二聚体; TT 表示凝血酶时间。

3 讨 论

重型脑损伤患者病情重, 病死率、致残率高。脑损伤后引起凝血功能异常因素较多。主要是: (1) 凝血物质过度释放。脑组织中含有大量的凝血激酶, 脑损伤后, 脑组织与血管内皮损害, 凝血激酶释放入血液中, 激活外源性和内源性凝血系统, 血小板化学质量发生改变, 形成血栓阻塞血管, 并继发纤溶。(2) 脑损伤后大量应用脱水剂, 抗纤溶药物使血液黏度增高, 或降压药物使用不当, 使颅内压下降引致脑血栓形成。(3) 脑损伤时可引起体液以及激素分泌, 使血小板聚集, 引起弥散性血管内凝血发生。(4) 脑损伤后常合并缺氧、酸中毒、细菌感染、休克等, 也可引起内源性凝血途径和血小板聚集^[1]。

通过观察与分析结果表明, 轻型脑损伤患者凝血功能基本正常, 而重型脑损伤患者凝血功能显著性异常, 并且持续时间较长。PT、APTT 明显延长, 表明在重型脑损伤中, 患者的内、外源性凝血功能及纤溶功能均发生了紊乱。TT 也明显高于对

照组, TT 反映凝血因子变化, 是内外源性凝血系统的共同途径。根据临床 GOS 以及 APACHⅢ评分, 发现 PT、APTT、TT 明显增高, 表明其脑损伤患者凝血功能紊乱与其病情轻重有关。当血液中 Fib 明显减少时, TT 延长, 因此, Fib 低于健康组, TT 高于健康对照组。血小板低于正常对照组, 是因为血小板大量被消耗。D-D 的显著升高预示高凝血状态、纤溶亢进及凝血因子过度消耗存在^[2]。

PT、APTT、PLT、D-D、Fib 对患者预后及病情轻重有重要判断价值。尤其是 Fib、D-D 是判断病情和预后的重要指标。因此重型脑损伤后, 检测其凝血指标比其他检查快速、方便, 而且能反映发病程度, 对早期治疗和预后健康恢复有重要临床价值。

参考文献

[1] 夏志洁. 114 例急性颅脑损伤患者凝血和抗凝血功能监测