

神经性梅毒引起酶联免疫吸附实验一步法“钩状效应”3例

陈 琪 董长林 杨 勇 金晓东 袁 梅 (武警浙江总队医院化验科, 嘉兴 314001)

【关键词】 神经性梅毒 双抗原夹心一步法 钩状效应

【中国图书分类号】 R377.1 R446.1

酶联免疫吸附实验(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)一步法检测梅毒螺旋体抗体(TP-Ab)灵敏度高、特异性强,我院从2007年引进该方法对临床患者进行初筛、复检。但笔者在用ELISA一步法检测TP-Ab的工作中遇到3例神经性梅毒患者,血清结果均为阴性,而脑脊液(CSF)结果均为阳性。经进一步实验判断此结果是由于高浓度的TP-Ab血清标本引起“钩状效应”^[1],现报告如下:

1 临床资料

1.1 一般资料 来自2007~2008年间本院住院患者血清3份和脑脊液3份。样本1,女,58岁,头痛20 d入院;样本2,男,39岁,神志不清入院;样本3,女,38岁,头痛,颅内占位性病入院,经临床诊断均为神经性梅毒。

1.2 仪器 西班牙全自动酶免系统,型号6418SO。

1.3 试剂 双抗原夹心一步法(ELISA)试剂:上海科华(批号20080703)。甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)试剂:上海荣盛(批号20080401)。梅毒螺旋体血凝试验(TPHA)试剂英国(批号7017919),严格按照操作说明。

1.4 方法 将3份血清样本分别用两步法ELISA试验和生理盐水稀释后ELISA试验检测TP-Ab,同时作TRUST法检测TP-Ab。一步法检测是用ELISA双抗原夹心法,两步法检测是用一步法试剂分两步进行,加样本后37℃温育30 min洗板,再加酶标抗体37℃温育30 min洗板,加底物液显色。

1.5 判断标准 样品OD值/阴性对照平均OD值 ≥ 2.1 ,判断为阳性,否则为阴性。阴性对照值低于0.05作0.05计算,高于0.05按照实际OD值计算。ELISA法临界值(Cut-off)经测定为0.105。样本OD值 > 0.105 为阳性。

1.6 结果

1.6.1 在3份血清样本中一步法均未稀释检测 OD值结果分别为0.084、0.048、0.093。根据判断标准结果均判为阴性。然而一步法在不同稀释度时,呈现不同阳性结果。3份样本在一步法中,随着稀释倍数的增加,样本结果显色呈“无-淡-深-淡”的变化。ELISA一步法血清结果见表1(样品稀释)。

作者简介:陈 琪,女,1982年出生。大专学历,技士。主要从事免疫检验工作。

表1 ELISA一步法血清结果

稀释度	样本1 (OD)	(S/CO)	样本2 (OD)	(S/CO)	样本3 (OD)	(S/CO)
未稀释	0.084	-0.8	0.048	-0.46	0.093	-0.89
1:2	0.145	+1.38	0.102	-0.97	0.210	+2.00
1:4	0.189	+1.8	0.196	+1.87	0.460	+4.38
1:8	0.390	+3.71	0.468	+4.57	0.971	+9.25
1:16	0.638	+6.08	0.877	+8.35	1.221	+11.62
1:32	0.896	+8.53	0.904	+8.61	0.895	+8.52
1:64	0.703	+6.70	0.984	+9.37	0.814	+7.75
1:128	0.543	+5.17	0.673	+6.41	0.651	+6.20
1:256	0.337	+3.21	0.393	+3.74	0.502	+4.78
1:512	0.220	+2.10	0.248	+2.36	0.370	+3.52

1.6.2 3份血清样本在ELISA两步法中检测结果均为阳性。ELISA二步法血清结果见表2(样品未稀释)

1.6.3 TRUST与TPHA血清结果 样本1 TPHA+, TRUST+(1:16);样本2 TPHA+, TRUST+(1:64);样本3 TPHA+, TRUST+(1:32)。

1.6.4 脑脊液样本ELISA一步法(未稀释) TRUST和TPHA结果见表3。

表2 ELISA两步法血清结果

血清样本	(OD)	(S/CO)
样本1	0.468	4.57+
样本2	0.573	5.46+
样本3	0.796	7.58+

表3 脑脊液样本ELISA一步法(未稀释)、TRUST和TPHA结果

方法	样本1	样本2	样本3
ELISA一步法(S/CO)	3.37	4.08	6.12
TRUST	+(1:4)	+(1:8)	+(1:4)
TPHA	+	+	+

2 讨论

神经梅毒是由苍白密螺旋体(梅毒螺旋体)感染人体中枢神经系统引起的大脑、脑膜和脊髓损害的一组临床综合征,是晚期梅毒全身性损害的重要标志^[2]。神经梅毒的临床表现复杂,易误诊、漏诊,如不及时治疗会产生严重后果。因此怎样对梅毒患者进行早期诊断必须引起我们实验室工

作人员的高度重视。

首先必须考虑 ELISA 双抗原夹心一步法易出现“钩状效应”^[3,4]的情况。本文资料显示 ELISA 双抗原夹心一步法检测 TP - Ab 存在“钩状效应”。一步法测定时,如标本中 TP - Ab 含量很高,过量 TP - Ab 分别与固相抗原及酶标抗原结合,而不再形成“夹心复合物”,反应结果甚至可以不显色而出现假阴性。而二步法检测中,高浓度的 TP - Ab 只与包被的固相抗原结合形成抗原 - 抗体复合物,多余的未结合的 TP - Ab 被第一次洗板时洗掉。随后加入的酶标抗原就与抗原 - 抗体复合物再次结合,形成酶标抗原 - 抗体 - 固相抗原的双夹心复合物,加入底物后显色,呈现阳性结果不被漏检。为了防止“钩状效应”对结果的影响,建议试剂生产厂家生产能有效防止高浓度梅毒螺旋体抗体漏检的二步法 ELISA 试剂。规范临床实验室的管理和标准操作规程的建立和实行,要求严格按照试剂说明书进行操作,切勿擅自将一步法试剂改成二步法进行使用。对阴性但有颜色的标本,可用 TRUST 和 TPHA 进行复检。TRUST 法是检测 TP - Ab 的初筛方法,其原理有别于 ELISA,本文中显示 3 例样本 TRUST 都呈阳性反应。由此可见 TRUST 一定程度上对防止由高浓度引起的“钩状效应”标本的漏检。ELISA 法和 TRUST 法两者联用对 TP - Ab 进行初检和复检不失为一种既有效又经济的方法。

其次不能忽视“灰区”的存在对结果的影响。当样本与试剂略微起颜色反应,但还不构阳性标准,介于阴性和阳性之间,称之为“灰区”。本文资料中,3 份血清样本中一步法均未稀释检测 OD 值结果分别为 0.084、0.048、0.093,由此可以判定 3 份

本 OD 值均落在“灰区”。由于受到不确定因素如试剂盒的敏感性,操作人员技术熟练程度及其责任心,实验室温度,加样器等都可能使结果落在“灰区”。对于落在“灰区”的标本可以进行重复检。为了提高梅毒的检出率,最大限度地防止漏检,使患者能尽可能地提早治疗,笔者认为“灰区”的设置有着重要的意义。但在工作中有关 ELISA 双抗原夹心一步法检测 TP - Ab“灰区”的设置范围应该多大才合适,有待进一步探究。

本组资料中 3 份脑脊液样本 ELISA 一步法、TRUST、TPHA 均为阳性符合临床诊断为神经性梅毒。由于 ELISA 一步法存在“钩状效应”,很可能导致 3 例高浓度的 TP - Ab 神经性梅毒漏诊,而延误患者的治疗。因此,对于临床疑似神经性梅毒的患者,除了检测血清的 TP - Ab,同时应检测脑脊液 TP - Ab。我们在检验工作中对于疑似神经性梅毒的标本应提高重视,应该用 3 种方法进行重复检验。

参 考 文 献

- [1] 沈玉清. 免疫学与免疫检验学[M]. 北京:中国医药科技出版社,1989.150
- [2] 张学军. 皮肤性病学[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2001.179
- [3] 邓晓琴,杨 茂,向艳玲等. 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
- [4] 易永忠,张光永,胡 可等. 高浓度梅毒抗体血清样本致携带污染及钩状效应 1 例[J]. 中国输血杂志,2006,19(4):299
(2008-06-05 收稿,责任编辑 岳建华)

病毒性肝炎继发再生障碍性贫血治疗后阵发性睡眠性血红蛋白尿 1 例

丁 琪¹ 姚桂玲¹ 金哈斯² 赵怡雯¹ 宋丽洁¹ 王海燕¹

(武警总医院:¹ 检验科,² 简易门诊,北京 100039)

【关键词】 病毒性肝炎 再生障碍性贫血 阵发性睡眠性血红蛋白尿

【中国图书分类号】 R446.1

1 病例报告

患者,男,41 岁,2005 年 2 月因再生障碍性贫血(Aplastic anemia, AA)入我院治疗,患者有乙型病毒性肝炎 16 年(小三阳),并有输血史,对青霉素类药物过敏;否认疫水接触史及疫区生活史,否认化学性和放射性物质接触史,否认烟酒嗜好,否认家族性遗传性疾病。1 年前因运动后出现头晕、心慌、全身乏力并伴有发热现象,就诊某院,诊断 AA,给予环孢素 A、十一酸睾酮、强的松、丙种球蛋白、拉米呋啶、ATG(抗

胸腺细胞球蛋白)、EPO(促红细胞生成素)、惠尔血、间断输血。治疗过程中发现肝功能受损,给予保肝降酶治疗后效果不满意,为进一步治疗药物性肝损害收入我院消化科。入院时患者呈中度贫血貌,查体:全身皮肤、黏膜未见黄染,淋巴结、肝、脾未触及肿大,可见肝掌,双肺呼吸音粗糙,超声检测示肝硬化。实验室检查:WBC $2.38 \times 10^9/L$,RBC $1.79 \times 10^9/L$,HGB 73 g/L,PLT $6 \times 10^9/L$,ALT 349.4 U/L,AST 99.4 U/L,GGT 82.2 U/L,ALP 66.9 U/L,TBIL 6.8 $\mu\text{mol/L}$,DBIL 1.2 $\mu\text{mol/L}$,TP 66.0 g/L,ALB 41.8 g/L,TBA 21.7 $\mu\text{mol/L}$,HBV - DNA: $1.05 \times 10^7/L$ 。骨髓检查报告:骨髓增生欠活跃,粒(+)空虚,以浆网细胞为主,油(++) ,粒系比值 47.0%,早幼粒细胞 1.5%,嗜酸性粒细胞 2.5%,分叶减少。红系统比值 27.5%,以中、晚幼红细胞为主,少数类巨幼改

作者简介:丁 琪,女,1973 年出生。本科学历,主管技师。主要从事骨髓细胞形态学检验工作。