• 检验试剂评价 •

5 种梅毒酶联免疫吸附实验试剂性能比较

梁启忠,程玉根,唐建祥
(江苏省盐城市中心血站 224005)

摘要:目的 比较梅毒酶联免疫吸附实验试剂盒的检测性能,优选适宜于献血者梅毒螺旋体检测的试剂盒。方法 应用中国药品生物制品检定所提供的梅毒螺旋体国家参考品血清盘、卫生部临床检验中心提供的梅毒螺旋体血清盘、相关部门确认的标本,对 5 种试剂盒进行性能评价。结果 5 个厂家生产的试剂特异性均为 100.00%,灵敏度 93.44%~100.00%,总符合率 96.92%~100.00%,精密度 5.30%~16.70%,A、B、C 3 种试剂最低检出限低于 D 和 E 试剂。结论 不同厂家生产的试剂性能存在差异,各采供血机构应选择灵敏度高、特异性强的试剂,以提高献血者梅毒螺旋体抗体的检测质量。

关键词:酶联免疫吸附测定; 指示剂和试剂; 梅毒螺旋体抗体; 质量比较

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.02.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)02-0227-01

梅毒是由苍白梅毒螺旋体引起的一种性传播疾病,主要通过性接触传播、血液传播、母婴垂直传播等,20 世纪 60 年代初得到较彻底的控制;20 世纪 70 年代又卷土重来;20 世纪 80 年代后期发病率呈直线上升趋势,成为仅次于艾滋病对人体危害最大的性传播疾病。梅毒患者容易同时患有或携带一种或多种性传播或血液传播疾病。有文献报道,梅毒患者感染艾滋病病毒(HIV)的危险性比健康人高 4~5 倍,梅毒与 HIV 又相互协同,促进艾滋病的传播,已成为重大的公共卫生问题和社会问题^[1]。因此,梅毒患者是献血的高危人群,采供血机构加强梅毒的筛查工作,选择特异性好、灵敏度高的筛查试剂,对确保临床安全输血具有重要的意义。目前市售的梅毒酶联免疫吸附试剂盒虽均经过中国药品生物制品检定所批批检定合格,并贴上防伪标签,但不同厂家试剂的灵敏度、特异性、最低检出限以及精密度等均存在差异。本站 2010 年底对检测试剂进行了重新招标,招标前分别对 5 个厂家的试剂进行了质量考评,现将考评结果进行总结,报道如下。

1 材料与与方法

1.1 试剂 梅毒螺旋体抗体酶联免疫诊断试剂盒(TP-ELISA)分别来自于国内 5 个厂家,以 A、B、C、D、E 表示,批号分别为 A:2010087516, B: N20100908, C: 201009021, D: 20100923, E: 20100925。

1.2 样品 (1)梅毒国家参考品血清盘:由中国药品生物制品检定所提供,批号 902;参考品血清盘组成:10 支阳性参考品(记为 P₁~P₁₀),20 支阴性参考品(记为 N₁~N₂₀),4 支最低检出限参考品(记为 L₁~L₄, L₁~L₃ 为同一血清标本稀释得到, L₁ 水平最高,从 L₁~L₃ 水平依次降低, L₄ 为基质血清),1 支

精密度参考品。(2)卫生部临床检验中心参考品血清盘:由卫生部临检中心提供,批号 200906;参考品血清盘组成:23 支阳性参考品(记为 P₁₁~P₃₃),17 支阴性参考品(记为 N₂₁~N₃₇)。 (3)经过确认的标本 60 份:由本市疾病预防控制中心和几所医院提供,其结果均经过梅毒螺旋体抗体明胶凝集实验(TPPA)确认,其中阳性标本 28 份(记为 P₃₄~P₆₁),阴性标本 32 份(记为 N₃₈~N₆₉,其中 N₃₈~N₄₉ 具有干扰性,即甲型肝炎病毒抗体、丙型肝炎病毒抗体、类风湿因子、抗核抗体等 1 项或多项阳性)。

1.3 设备 Columbus plus 型洗板机,352 型酶标仪, CU600 型恒温水浴箱,移液器等,均经过计量部门检定合格。

1.4 方法 严格按照各厂家试剂说明书和设备操作程序进行操作,应用已知的阴性参考品和阳性参考品检测各厂家试剂,计算 5 种试剂的灵敏度、特异性及总符合率。5 种试剂连续 20 孔重复测定梅毒国家参考品血清盘中的精密度参考品,计算 5 种试剂的精密度(CV)。5 种试剂测定梅毒国家参考品血清盘中的 4 支最低检出限参考品,考核 5 种试剂的最低检出限。

2 结果

2.1 灵敏度、特异性及总符合率 5 种试剂的灵敏度为 93.44%~100.00%,特异性均为 100.00%,总符合率 96.92%~100.00%,见表 1。

2.2 精密度 通过对梅毒国家参考品血清盘中的精密度参考品进行 20 孔检测,5 种试剂精密度 5.30%~16.70%,见表 1。

2.3 最低检出限 通过对梅毒国家参考品血清盘中的 4 支最低检出限参考品进行检测, A、B、C 3 种试剂能够检出 L₃ 样品, D 和 E 试剂只能检出 L₂ 样品,见表 1。

表 1 5 种试剂的检测结果比较

指标	A	B	C	D	E
敏感性(%)	100.00	100.00	96.72	98.36	93.44
特异性(%)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
总符合率(%)	100.00	100.00	98.46	99.23	96.92
精密性(%)	7.60	5.30	16.70	7.50	8.80
最低检出限	L ₁ 、L ₂ 、L ₃ 阳性	L ₁ 、L ₂ 、L ₃ 阳性	L ₁ 、L ₂ 、L ₃ 阳性	L ₁ 、L ₂ 阳性	L ₁ 、L ₂ 阳性

检测结果与预期结果不符的标本编号为 C:P₂₀、P₄₈; D:P₄₄; E:P₈、P₂₀、P₂₂、P₄₄。

3 讨论

有文献报道,自 1982 年起,国外就开始陆续报道采用酶联免疫吸附实验诊断试剂作为梅毒抗体的筛检试剂^[2],其包被抗原从最初采用的心磷脂抗原到梅毒 Nichols 株抗原,再到如今

的基因工程抗原, TP-ELISA 试剂经历了从成长到成熟的过程,灵敏度和特异性有了极大提高。但由于 TP-ELISA 检测试剂是一种生物制品,具有生物活性,质量影响因素较多,从试剂出厂到使用客户过程,中间环节较多,任何环(下转第 241 页)

泡周围弹力纤维不同程度损伤,使呼吸功能低下,咳嗽力减弱,排痰困难,肺部感染发生率更高,应引起临床重视。

本院肾内科以尿培养为主,大肠的分离率最高,产 ESBLs 也最多。ESBLs 是耐 β -内酰胺类抗菌剂产生的一类能使抗菌剂结构中 β -内酰胺环水解裂开,失去抗菌活性的酶,由质粒或染色体介导产生并通过质粒传播,是目前革兰阴性菌的主要耐药问题^[12-15]。ESBLs 菌株的出现给临床抗菌剂应用带来困难,及时报告产 ESBLs 菌对指导临床合理选用抗菌剂、延缓细菌耐药性的产生、控制耐药菌株的传播和流行具有十分重要的意义,尤其还要关注的是耐碳青霉烯类的肠杆菌科细菌。

总之,微生物室应加强细菌耐药监测工作,多与临床沟通并开展一些耐药机制的研究工作,使临床医师严格遵循病原学检测报告和《抗菌药物临床应用指导原则》,制定正确、合理的抗菌剂使用方案。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 中华人民共和国卫生部,2006;12-14.
 [2] 彭华,孙迎娟,王洪梅,等. 重症监护病房感染病原菌分布及体外耐药性监测[J]. 中华医院感染学杂志,2008,18(11):1537-1539.
 [3] 王珂,李兴禄. 常见医院感染菌的耐药与治疗[J]. 国际检验医学杂志,2007,28(9):818-819.
 [4] 李琳,潘自铁,李爱菊. 重症监护病房感染的病原菌分析[J]. 中国微生态学杂志,2008,20(3):283.
 [5] 孟祥红,董梅,孙红宁,等. ICU 患者病原菌分布和耐药性分析

[J]. 中国实验诊断学,2008,12(1):64-66.
 [6] 张敏,满思金. 重症监护病房呼吸道感染病原菌分布及药敏分析[J]. 医学检验与临床,2008,19(5):16-17.
 [7] 田正阳,张绍蕊. 某院 2005~2007 年临床常见病原菌的分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(6):582-583.
 [8] 梁乙安,何晓锋. 糖尿病足 108 例分泌物标本细菌培养和药敏分析[J]. 第四军医大学学报,2006,27(2):189-190.
 [9] 张淑琴,杨惠平. 脑卒中患者医院肺部感染危险因素分析[J]. 中国感染控制杂志,2007,6(6):392-394.
 [10] 申建维,吴远志,许平. 脑卒中患者肺部医院感染的病原菌耐药性探讨[J]. 中华医院感染学杂志,2009,19(7):840-842.
 [11] 田新村,吴文哲,张静,等. 老年人下呼吸道感染常见病原菌与 G⁻杆菌耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(6):696-697.
 [12] 罗燕萍,张秀菊,徐雅萍,等. 产超广谱 β -内酰胺酶肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌的分布及其耐药性研究[J]. 中华医院感染学杂志,2006,16(1):101-104.
 [13] 陈刚,蒋冬香,王玉春,等. 大肠埃希菌的临床分布及其耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2009,19(5):586-588.
 [14] 叶惠芬,陈惠玲,刘平,等. 产 ESBLs 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌耐药性和基因分布[J]. 中国感染与化疗杂志,2007,7(2):127-129.
 [15] 吴蓉,邱燕,刘东华,等. 肺炎克雷伯菌的分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(2):265-266.

(收稿日期:2011-09-02)

(上接第 227 页)

节出现问题都会影响试剂质量。由于梅毒螺旋体比较脆弱,经 4℃ 环境放置 72 h 以上就失去感染能力,所以,部分采供血机构对此不够重视。但由于梅毒患者容易携带其他传染性疾,而且随着成分输血在临床上的大力推广应用,单采血小板的需求量也越来越大,而单采血小板只能在 20~24℃ 条件下保存,在血液供应紧张时,即使是贮存在 2~6℃ 环境下的红细胞类成分血,也难以保存 3 d 以上,因此,要想杜绝经血液传播梅毒,选择一种高效、准确的检测方法就显得尤为重要。

从表 1 可以看出,5 个厂家生产的试剂虽经中国药品生物制品检定所检定合格,但本站用中国药品生物制品检定所提供的血清盘在使用前重新检测时发现,E 试剂出现 1 例阳性标本漏检(P₈);D 和 E 两种试剂最低检出限稍差,未能检出 L₃ 标本;C 试剂变异系数(CV)大于 15%,重复性较差,不利于日常室内质控工作的开展。所以,C 和 E 两种试剂对照中国药品生物制品检定所的合格标准判断,均为不合格试剂。从表 1 中还可以看出,C、D、E 3 种试剂灵敏度较差,存在同样的漏检现象。笔者初步推测存在假阴性的原因可能由以下几点:(1)微板中几种包被抗原水平的构成比、抗原纯度以及生产工艺等因素有关。已有文献报道,rTP47、rTP17 和 rTP15 是梅毒苍白螺旋体特异性抗原,使用这 3 种重组表达抗原的 ELISA 试剂,有非常好的灵敏度^[3]。(2)检测标本采自感染初期(I 期梅毒)和临床治愈期的患者^[4]。(3)TP-ELISA 一步法检测试剂存在钩状效应,普通实验室温度低(冬季常小于 15℃),对检测高浓度梅毒抗体标本时,灵敏度有影响。中国生物制品规程(2010 年版)已规定,各厂家从 2010 年 10 月 1 日起生产的用于献血员筛查的梅毒试剂,必须采用“二步法”,新工艺生产下的试剂,其质量如何,还有待于各采供血机构在工作中进一步研究。

从实验中可以看出,5 种试剂均具有良好的特异性,尤其在检测具有干扰因素的标本(N₃₈~N₄₉),如类风湿因子、抗核抗体等均未出现假阳性反应,说明抗干扰能力都较强,与文献^[5]报道一致。

在实验中发现,吸光度读数(OD 值)接近临界值(cut off 值)的标本(0.8<S/CO<1),其结果判断有一定的不可靠性,故建议有关试剂生产厂家能够设定“灰区”,对处于灰区的标本严格进行双孔复测,有条件的实验室可以采用确证实验进行验证,如梅毒螺旋体明胶凝集实验等。

综上所述,国家实行试剂批批检定制度后,试剂的灵敏度、特异性、重复性、稳定性等都有了很大提高,但质量仍良莠不齐,各采供血机构应加强试剂使用前的质量评价工作,选择特异性好、灵敏度高的试剂,为临床提供合格的血液作保障。

参考文献

[1] 薛大奇. 关于当前梅毒诊治中几个问题的探讨[J]. 中国性科学,2008,8(17):23-25.
 [2] Young MD, Gooch WM, Zuckerman AJ, et al. Comparison of a triple antigen and a single antigen recombinant vaccine for adult hepatitis B vaccination[J]. J Med Virol,2001,64(3):290-298.
 [3] 陈坤,张贺秋,宋晓国,等. 梅毒螺旋体优势表位抗原嵌合表达蛋白对国家参考品的反应性[J]. 中国生物制品杂志,2003,16(2):106-107.
 [4] 周建华,廖贵赏,蒋维国. ELISA 法检测梅毒螺旋体抗体的临床评价[J]. 西部医学,2003,1(4):381.
 [5] 程艳杰,王广杰,王旭,等. 梅毒螺旋体血清学检测方法的实验室评价[J]. 中国皮肤性病学杂志,2005,19(8):503-504.

(收稿日期:2011-09-20)