

• 临床检验研究 •

DPP®梅毒筛查和确证检测试剂(胶体金法)的临床应用评价

黎小东, 曹文苓, 梁艳华, 林路洋, 毕超, 宋卫忠, 张莉, 吴德标, 张锡宝

(广东省广州市皮肤病防治所检验科 510095)

摘要:目的 了解 DPP®梅毒筛查和确证检测试剂(胶体金法)与 RPR 和 TPPA 的差异。方法 用 DPP®梅毒筛查和确证检测试剂分别检测高危人群 245 例全血、血浆、100 例手指末梢血,同时 245 例高危人群的血清用 RPR 和 TPPA 方法检测。结果 DPP®梅毒筛查和确证检测试剂检测全血、血浆和指血中的梅毒特异性抗体与 TPPA 比较,无显著性差异(χ^2 值 0.25、1.5、0.0, $P>0.05$);全血、血浆和指血的非梅毒特异性抗体与 RPR 比较,无显著性差异(χ^2 值 0.125、0.083、1.125, $P>0.05$)。DPP®梅毒筛查和确证检测试剂的敏感性为 94.3%~100%,特异性为 78.6%~98.9%,准确性为 92%~99%。结论 DPP®梅毒筛查和确证检测试剂操作简单、快速,结果准确,可作为临床筛查和确诊梅毒的主要检测方法,值得推广应用。

关键词:梅毒; 梅毒抗体明胶凝集试验; 快速血浆反应素试验; 双通道检测平板

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.04.007

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)04-0399-02

Evaluation of DPP®syphilis screening and confirmation assay(colloidal gold method)

Li Xiaodong, Cao Wenling, Liang Yanhua, Lin Luyang, Bi Chao, Song Weizhong, Zhang Li, Wu Debiao, Zhang Xibao

(Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Institute of Dermatology, Guangzhou 510095, China)

Abstract: **Objective** To investigate the differences between DPP® syphilis screening and confirmation assay (colloidal gold method) and RPR, TPPA. **Methods** 245 cases of venous whole blood or plasma samples and 100 cases of finger-stick whole blood samples were detected with DPP® syphilis screening and confirmation assay, and serum samples from the same 245 cases of subjects were detected with RPR and TPPA. **Results** There was no significant difference of syphilis specific antibody in venous whole blood, plasma and finger-stick whole blood samples, detected with DPP® syphilis screening and confirmation assay and TPPA (χ^2 values were 0.25, 1.5 and 0.0, $P>0.05$), and also between DPP® syphilis screening and confirmation assay and RPR (χ^2 values were 0.125, 0.083 and 1.125, $P>0.05$). The sensitivity, specificity and accuracy of DPP® syphilis screening and confirmation assay were 94.3%~100%, 78.6%~98.9% and 92%~99%. **Conclusion** DPP® syphilis screen and confirm assay could effectively shorten testing time for the detection of syphilis, with fine accuracy, and could be used for the screening and confirmation of syphilis.

Key words: syphilis; tetrapheny phenolic anhydride; rapid plasma reagin test; dual-path platform

梅毒是由梅毒螺旋体引起的一种常见性传播疾病之一,其传染性强,危害大,可引起全身组织、器官损害,近年来其发病率有上升趋势^[1],为了选择一种对梅毒螺旋体(treponema pallidum, TP)简便、准确、快速的检测方法,以协助临床诊断与治疗,WHO 与中国 CDC 性病控制中心合作,以 TPPA 和 RPR 作对照,对 DPP®(dual-path platform, 双通道检测平板)梅毒筛查和确证检测试剂(胶体金法)进行了评估,本单位是该项目实施方案的参与者之一,现将评估结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 静脉血(全血、血浆、血清)245 份,选择广州地区 2011 年 3 月至 4 月的高危人群样本量,包括本所性病门诊患者 144 例(男 77 例,女 67 例),高中低档性工作者、戒毒所吸毒人员等女性 101 例,其中 100 例同时做手指血标本,年龄 4~73 岁。梅毒阳性标本 150 例,滴度 1:1 至 1:32 不等,阴性标本 95 例。

1.2 主要试剂 (1)DPP®梅毒筛查和确证检测试剂盒(胶体金法)由美国纽约 CHEMBIO 公司生产,批号: DPP syp122910,有效期:2012-10-28.; (2)TPPA(梅毒螺旋体明胶凝集试验)试剂盒由日本富士株式会社生产,批号:VN00809,有效期:2011-08-23; (3)RPR(梅毒快速血浆反应素试验)试剂盒由上海科华生物工程股份有限公司生产,批号:20101101,有效期:2011-11-30。

1.3 研究方法 (1)DPP®梅毒筛查和确证检测法(胶体金

法)用移液器吸取 10 μ L 全血、5 μ L 血浆或血清,用专用虹吸管吸取 10 μ L 指血(采血针取材,擦去第一滴血,取第二滴血),所取样本各自加入 DPP®梅毒反应板上的样品孔 1,滴加 2 滴缓冲液,等待 5 min,确保板上显色窗口蓝线、绿线消失,在缓冲液孔 2 加 4 滴缓冲液,10~15 min,肉眼判读显色结果或用 Chembio 读板器记录实验结果。显色窗口(从左至右)第一条线为梅毒螺旋体抗体线(梅毒特异性抗体),中间为类脂质抗体线(非梅毒特异性抗体),最后为阳性对照线。检测线 and 对照线浅红或紫色为阳性结果,对照线阳性,检测线不显色为阴性结果,对照线无显色表明结果无效,重新检测。操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 利用 SPSS10.0 进行统计学分析。采用 Kappa 检验比较胶体金法与其相应血清的 TPPA 及 RPR 法的一致性,采用 χ^2 检验比较胶体金法阳性率与其相对应血清 TPPA 及 RPR 法检测结果的关系, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 DPP®梅毒筛查和确证检测试剂检测 245 例梅毒高危人群全血、血浆和 100 例指血,其梅毒特异性抗体检测结果与相应血清的 TPPA 结果比较,全血 $\chi^2=0.25$, $P>0.05$; 血浆 $\chi^2=1.50$, $P>0.05$; 指血 $\chi^2=0.0$, $P>0.05$; 差异均无统计学意

义($P>0.05$),见表 1。

表 1 DPP®梅毒螺旋体抗体与 TPPA 的检验结果									
DPP®梅毒螺旋体抗体									
TPPA	全血		合计 (n)	血浆		合计 (n)	指血		合计 (n)
	+	-		+	-		+	-	
+	147	3	150	145	5	150	76	0	76
-	1	94	95	1	94	95	1	23	24
合计	148	97	245	146	99	245	77	23	100

2.2 DPP®梅毒筛查和确证检测试剂检测 245 例梅毒高危人群全血、血浆和 100 例指血,其非梅毒特异性抗体检测结果与相应血清 RPR 结果比较,全血 $\chi^2=0.125, P>0.05$;血浆 $\chi^2=0.083, P>0.05$;指血 $\chi^2=1.125, P>0.05$;差异均无统计学意

义($P<0.05$),见表 2。

2.3 均以血清 TPPA 和 RPR 法为对照,采用 DPP®梅毒筛查和确证检测试剂盒,检测 245 例梅毒高危人群全血、血浆和 100 例指血,其梅毒特异性抗体结果与相应血清的 TPPA 结果比较,其非梅毒特异性抗体结果与相应血清的 RPR 结果比较,进行 DPP®梅毒特异性抗体和非特异性抗体的敏感性、特异性、准确性和 Kappa 值分析,见表 3。

表 2 DPP®非梅毒螺旋体抗体与 RPR 的检验结果									
TPPA	全血		合计 (n)	血浆		合计 (n)	指血		合计 (n)
	+	-		+	-		+	-	
+	118	5	123	116	7	123	70	2	72
-	3	119	122	5	117	122	6	22	28
合计 n	121	124	245	121	124	245	76	24	100

样本类型	DPP®梅毒螺旋体特异性抗体				DPP®非梅毒特异性抗体(类脂质抗体)			
	敏感性(%)	特异性(%)	准确性(%)	Kappa 值	敏感性(%)	特异性(%)	准确性(%)	Kappa 值
全血	98.0	98.9	98.4	0.967	95.9	97.5	96.7	0.934
血浆	96.7	98.9	97.6	0.950	94.3	95.9	95.1	0.902
指血	100.0	95.8	99.0	0.972	97.2	78.6	92.0	0.793

3 讨 论

梅毒的实验室检查方法中^[2-5],梅毒的 TPPA 和 RPR 联合应用是目前比较理想的检测梅毒螺旋体方法^[6]。RPR 操作简便,但对梅毒正规治疗后的潜伏期梅毒和神经梅毒不敏感^[7],易出现假阴性反应;而心磷脂抗原易引起生物学假阳性^[8],如结核、结缔组织病等。TPPA 是梅毒血清学的确证试验,虽然敏感性、特异性较高,但操作繁琐费时,而梅毒发病率逐年上升,临床上梅毒血清学试验已成为产前、术前、献血员及性病高危人群的常规检查项目,因此需要一种快速、特异、敏感的方法来满足临床实际工作的需要。所以最好能将筛选试验和确证试验同时快速检测应用^[9]。

DPP®梅毒筛查和确证检测试剂(胶体金法)正是能同时快速检测梅毒螺旋体抗体和非梅毒螺旋体抗体(类脂质抗体)且适应临床需要的新一代快速检测试剂^[10]。该试剂采用独特的 DPP®双通道免疫层析检测装置专利技术,第一通道免疫反应是指样本和缓冲液加 1 号孔内,当样本液通过检测窗口时,其中的抗体与硝酸纤维素膜上的梅毒螺旋体基因工程抗原和人工合成的类脂质抗原(检测区)以及蛋白 A(对照区)结合,充分反应,形成抗原抗体复合物和 IgG-蛋白 A 结合物。第二通道的免疫反应是指在 2 号孔内加缓冲液,蛋白 A/胶体金和抗人 IgM/胶体金流向测试区,与抗原抗体复合物和 IgG 蛋白 A 复合物结合。如果样本中含有梅毒螺旋体抗体和类脂质抗体,胶体金复合物将同抗原结合,并在检测线上滞留成一条或二条红线,这表明阳性结果。线条颜色的深浅同样本中的抗体数量不一定相关。检测区如果没有红线表示样本中不含梅毒螺旋体抗体和类脂质抗体,游离的胶体金复合物继续向检测窗口的对照区移动,同蛋白 A 结合聚集在对照线上形成红线。无论样本中是否含有梅毒抗体,对照线的出现证明试剂的检测结果有效。

该试剂采用创新的双检测条带及先进的双通道免疫层板

检测装置专利技术,使得敏感性和特异性大大提高到 ELISA 水平,甚至可用特定检测仪器进行定量,但显色的读数,其阴性值范围、灰度值范围和阳性值范围尚未确定,有待进一步研究。标本的检测不仅可采用静脉血、血浆、血清和手指末梢血,还可采用口腔里的唾液标本进行检测,由于本组测试中,唾液标本例数过小,本组未纳入计算范畴,有望下一步继续探讨。

本文以 TPPA 和 RPR 来对照研究该试剂,结果显示: DPP®梅毒检测试剂的梅毒螺旋体抗体与 TPPA 比较,经 χ^2 检验,均没有显著性差异(全血 $\chi^2=0.25$,血浆 $\chi^2=1.50$,指血 $\chi^2=0.0$,均 $P>0.05$),其 Kappa 值分别为 0.967、0.950、0.972。当 Kappa 值大于 0.75 时,两种检验方法有高度的一致性^[11]。提示 DPP®梅毒螺旋体抗体阳性率与 TPPA 阳性率一致。而 DPP®非梅毒螺旋体抗体与 RPR 比较,经 χ^2 检验,也没有显著性差异(全血 $\chi^2=0.125$,血浆 $\chi^2=0.083$,指血 $\chi^2=1.125$,均 $P>0.05$),Kappa 值 0.934、0.902、0.793,显示两种方法有一致性,提示 DPP®梅毒检测试剂的非梅毒特异性抗体的阳性率与 RPR 阳性率一致。指血的类脂质抗体检测结果显示,其特异性 78.6%和 Kappa 值 0.793 相对较低,这可能与临床病例数(100 例)少有关系,也可能与临床阳性标本滴度较低有关系,或不同检测方法之间可能存在系统误差也有关系^[12],有待下一步研究。从表 3 结果还显示: DPP®梅毒快速检测试剂(胶体金法)的敏感性为 94.3%~100%,特异性为 78.6%~98.9%,准确性为 92%~99%,均相对较高。

综上所述,该试剂只有 1 个反应板和 1 瓶缓冲液,室温存放,操作简单、方便、快速的 DPP®梅毒筛查和确证检测试剂(胶体金法),可推荐用于难以抽取静脉血的戒毒人员、婴儿、预防保健的外展等扎指血检查梅毒,血库批量筛查梅毒和对梅毒流行病学的调查研究等,以及实验室血清学梅毒特异性抗体和非梅毒特异性抗体检查,有助于临床梅毒的快速诊断。所以笔者认为 DPP®梅毒检测试剂能有效缩短梅毒(下转第 403 页)

平的检测结果显示, HIE 患儿的血清脂联素水平较健康对照组显著下降, 且病变程度越重下降越明显, 说明其水平的高低与神经系统损伤程度和炎性存在状态有密切关联, APN 水平与 HIE 患儿的病变程度呈明显的负相关。在疾病的治疗的过程中, 对各患儿组的血清 APN 水平进行动态观察结果表明, 随着病情的好转, APN 水平持续上升, 在治疗第 7 天, 各患儿组的血清 APN 水平已开始升高, 重度组因病情较重, 可能需要较长的一段时间才能升高到正常水平, 至于重度组儿需要多长时间才能恢复到正常水平, 需要作进一步研究。

hs-CRP 是一种非特异性急性时相蛋白, 是炎性反应的敏感标志物, 当组织损伤、缺血、缺氧时, 其浓度急剧上升^[9]。本研究通过对不同病变程度的 HIE 患儿 h-CRP 水平的检测结果显示, HIE 患儿的血清 APN 水平较健康对照组显著升高, 且病变程度越重升高越明显, 说明其水平的高低与 HIE 脑组织损伤程度和炎性状态密切相关, hs-CRP 水平与 HIE 患儿的病变程度呈明显的正相关。在治疗第 7 天, 各患儿组的 hs-CRP 水平已开始下降, 在治疗第 14 天, 轻度组已下降至正常水平, 在治疗第 30 天, 中度组和重度组亦降至正常水平。因此, 测定 HIE 患儿的 hs-CRP 能够更早、更可靠地了解 HIE 患儿脑组织缺血缺氧性损伤后的炎性程度和预后情况。

对 HIE 患儿血清 APN 和 hs-CRP 水平的动态测定, 能够很好地了解 HIE 患儿的神经系统损伤程度和炎性状态, 在临床上对 HIE 的用药指导、疗效观察和预后判断中有重要的意义, 并为进一步探讨 HIE 的病理生理和发病机制提供新的参考。

参考文献

- [1] Sivane, Maiaki-Tovis, Parientec, et al. Adiponectin in human cord blood: relation to fetal birth weight and gender[J]. Clin Endocrinol Metab, 2003, 88(12): 5656-5660.
- [2] 田朝霞, 李彦敏, 范雪爱, 等. 新生儿脐血脂联素水平的变化及其

与生长激素、胰岛素的关系[J]. 实用儿科临床杂志, 2005, 20(6): 547-548.

- [3] 吴正林, 朱新建, 叶军. 冠心病患者同型半胱氨酸和超敏 C-反应蛋白的检测意义 [J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(3): 395-396.
- [4] Langer HF, Bigalke B, Seizer P, et al. Interaction of platelets and inflammatory endothelium in the development and progression of coronary artery disease[J]. Semin Thromb Hemost, 2010, 36(2): 131-138.
- [5] 麦水强, 陈铭珍, 苏赞彩. 新生儿儿缺血性脑病血清细胞因子测定及临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(20): 3001-3002.
- [6] Beltowski J, Jamroz WA, Widomska S. Adiponectin and its role in cardiovascular diseases[J]. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets, 2008, 8(1): 47-46.
- [7] Ekmekci H, Ekmekci OB. The role of adiponectin in atherosclerosis and thrombosis[J]. Clin Appl Thrombosis/Hemostasis, 2006, 12(2): 163-168.
- [8] Ouchi N, Shibata R, Walsh K. Cardioprotection by adiponeclin[J]. Trends Cardiovasc Med, 2006, 16(5): 141-146.
- [9] Polak J, Kovcova Z, Holst C, et al. Total adiponectin and adiponectin multimeric complexes in relation to weight loss-induced improvements in insulin sensitivity in obese women: the nugenob study[J]. Eur J Endocrinol, 2008, 158(4): 533-541.
- [10] Wang Jing, LI Huai xing, et al. Adiponectin and metabolic syndrome in middle-aged and elderly Chinese[J]. Obesity, 2008, 16: 172-178.
- [11] 冯晔, 施圣云, 周晓玉. 缺氧缺血性脑病新生儿血清脂联素、白细胞介素-6 变化的意义[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(18): 1425-1426.
- [12] 张金波, 龚国富. 糖尿病患者胱抑素 C 和超敏 C 反应蛋白检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(7): 789-791.

(收稿日期: 2011-10-17)

(上接第 400 页)

检测的时间, 可作为临床筛查和确诊梅毒的主要检测方法, 值得在初级卫生保健中推广应用^[10]。

参考文献

- [1] 曹文苓, 梁艳华, 叶兴东, 等. 广州市性病实验室室间质量评价结果分析[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(2): 109-210.
- [2] Rita C, Emilia S, Maria JA, et al. Evaluation of TPPA in the diagnosis in the neurosyphilis[J]. Clin Lab Anal, 2006, 20(2): 233-238.
- [3] 钟娜, 张丽芬, 郑文爱, 等. 梅毒血清学三种检测方法的比较[J]. 中国皮肤性病杂志, 2009, 23(10): 652-653.
- [4] 敖必蓉, 卢元全. 不同检测方法对梅毒检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(12): 封 3.
- [5] 吴颖之. 神经梅毒诊疗进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2010, 26(8): 574-576.
- [6] 杨飞, 刘伶. TPPA 和 RPR 联合检测在梅毒诊断和疗效观察中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 713-714.

- [7] 臧艳. 梅毒实验室检测技术评价[J]. 医学信息, 2008, 10(10): 1869-1870.
- [8] 蔺承艳, 袁昌猛. ELISA 梅毒检测法中假阳性的观察与结果分析[J]. 中国实验诊断学, 2009, 10(13): 1449.
- [9] Sea AC, White BL, Sparling PF. Novel Treponema pallidum serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century[J]. 2010, 51(6): 700-708.
- [10] Arnold R, Castro, Javan Esfandiari, Shailendra Kumar, et al. Novel Point-of-Care Test for Simultaneous Detection of Nontreponemal and Treponemal Antibodies in Patients with Syphilis[J]. Clin Microbiol, 2010, 48(12): 4615-4619.
- [11] 吴泰相, 刘关键, 王家良. 医学检验方法学研究和文献评价原则[J]. 中华检验医学杂志, 2000, 23(6): 379-380.
- [12] 曹文苓, 宋卫忠, 毕超, 等. 六种梅毒初筛试验试剂的评价[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(2): 129-130.

(收稿日期: 2011-10-10)