

• 论 著 •

梅毒螺旋体特异性抗体检测方法的实验室评价

余亚辉, 韩媛媛, 周光庭, 贾芳岩

(亳州市人民医院检验科, 安徽 236800)

摘要: 目的 对 ELISA 法联合化学发光法用于特异性梅毒抗体检测的效果进行评价。方法 选取 2014 年 1 月至 2014 年 4 月于该院皮肤性病科就诊患者, 共 628 例。对患者血清采用 ELISA 法进行初筛, 再将检测结果在复检标准范围内 ($0.5 < S/CO < 3$) 的样本用化学发光法进行复检, 然后与梅毒螺旋体明胶凝集试验 (TPPA) 法平行测定的结果进行比较。结果 TPPA 法检测为阳性的标本为 171 例; ELISA 法检测符合该科梅毒阳性判断标准的标本共 162 例, 另外还有 15 例处于该科梅毒。经化学发光法进一步复检, 阳性结果为 9 例, 阴性结果为 6 例, 并且此联合检测法得到的 171 例阳性结果与 TPPA 法阳性结果完全吻合。结论 ELISA 法与化学发光法联合检测的结果与 TPPA 有很好的一致性。

关键词: 化学发光法; 酶联免疫吸附测定; 梅毒螺旋体明胶凝集试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.016

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2015)03-0324-02

Evaluation of combined detection of antibodies specific for syphilis

She Yahui, Han Yuanyuan, Zhou Guangting, Jia Fangyan

(Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Bozhou City, Bozhou, Anhui 236800, China)

Abstract: Objective To evaluate ELISA combined with chemiluminescence in the detection of syphilis specific antibodies.

Methods 628 patients who came to our hospital and treated in dermatology department were recruited in the study from January 2014 to April 2014. Patients' serum samples were detected by using ELISA firstly, and then the samples, the test results of which were within the recheck standard range ($0.5 < S/CO < 3$) were retested by using chemiluminescence. And then the results of parallel Treponema pallidum gelatin agglutination test (TPPA) measurement were compared with. **Results** There were 171 cases of TPPA positive samples detected and 162 cases meets the positive criteria for syphilis ($S/CO \geq 3.0$) in the hospital. In addition to that, 15 cases of syphilis detected were within the recheck standard range. In the samples rechecked by using chemiluminescence, there were 9 cases of positive results, and 6 cases of negative results. 171 cases of positive results were detected by the combined method, which were consistent with TPPA. **Conclusion** The detection results of ELISA combined with chemiluminescence detection are consistent with that of TPPA.

Key words: chemiluminescence; enzyme-linked immunosorbent assay; treponema pallidum particle assay

梅毒是一种性传播疾病, 近年来感染率有上升的趋势, 但是由于技术原因, 梅毒螺旋体尚不能进行体外培养, 而且在显微镜下也不宜观察, 因此目前梅毒螺旋体检测主要还是以实验室血清学检测为主要手段, 血清学检测又分非特异性和特异性梅毒螺旋体抗体检测两种, 非特异抗体实验主要以 RPR 和 TRUST 为主, 虽然方便、快速, 但是特异性不高, 因此目前主要作为抗梅治疗之后的疗效观察和确认新近感染及复发的目的。梅毒螺旋体特异性抗体检测实验室以酶联免疫吸附测定 (ELISA) 和梅毒螺旋体明胶凝集试验 (TPPA) 为主, 前者为初筛实验, 后者为确认实验, 化学发光法相对于上述两种传统方法来说是一种具有全自动、定量、快速等特点的特异性抗体新检测方法^[1-2]。本文以 TPPA 结果为参考, ELISA 法联合化学发光法结果与其比较, 进行分析, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1 月至 2014 年 4 月于亳州市人民医院皮肤性病科就诊的患者 (年龄 3~73 岁, 平均年龄 33.2 岁) 血液标本共 628 例, 其中来自男性的标本 415 例, 来自女性的 213 例, 标本于室温放置 1 h 后离心分离血清, 于 -20 ℃ 保存。

1.2 仪器与试剂 ELISA 检测仪器为深圳爱康尤瑞纳斯 120 全自动酶免仪; 化学发光仪器为美国雅培 Architect i2000 化学发光仪。ELISA 试剂盒由英科新创 (厦门) 科技有限公司提供; TPPA 试剂由日本富士瑞必欧株式会社提供; 化学发光试剂及定标液均为美国雅培 I2000 定量检测配套试剂。所有试剂均在有效期内。

1.3 方法

1.3.1 TPPA 检测 根据试剂盒操作说明操作, 阳性以在 U 型培养板上聚集成散在样判定。

1.3.2 化学发光检测 试剂为雅培化学发光仪配套原装试剂, 根据试剂盒操作说明进行操作及结果判断。

1.3.3 梅毒螺旋体抗体的 ELISA 检测 对于结果处于本实验室梅毒复检标准范围 ($0.5 < S/CO < 3$) 内的结果进一步采用化学发光法进行复检。 $S/CO \leq 0.5$ 判断为阴性, $S/CO \geq 3$ 判断为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行数据分析, 方法间的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

628 例就诊患者中, ELISA 法检测为阳性的为 162 例, 阳

性检出率为 25.8% (162/628); TPPA 法检测为阳性的为 171 例, 阳性检出率为 27.2% (171/628); 两种方法的阳性检出率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。对 ELISA 法检测结果在本科室梅毒复查标准 ($0.5 < S/CO < 3$) 内的结果 (15 例) 进一步采用化学发光法进行复检, 得到 9 例阳性结果和 6 例阴性结果, ELISA 法与化学发光法联合检出的阳性标本完全与 TPPA 法吻合。

3 讨 论

梅毒是一种性传播疾病, 是一种复杂的慢性、系统性疾病可以侵害人的各种脏器, 对人和社会的危害极大的疾病, 而且因为其性质的特殊性, 一旦试验结果出错, 很容易引起家庭纠纷乃至医疗纠纷^[3], 会对医院、科室造成不良的影响。因此, 现在医院临床实验室的做法一般都是先用 ELISA 法进行初筛, 对阳性标本在第 2 天再用 TPPA 法复检一次, 这样的做法能很大程度上保证结果的准确性, 但是却延长了患者等待检测结果的时间, 也增加了检验人员的工作量。那么如何能够更好地解决这些问题呢? 笔者试着采用以下两种方法来解决。

一个方法是采用 ELISA 法初筛。ELISA 试剂盒包被的抗原是根据基因重组工程进行合成的, 可检测血清中梅毒特异性抗体, 在梅毒的各期都有非常高的灵敏度及特异性, 而且采用两步法可以有效避免因血清中抗体效价过高而产生的前带现象^[4-5]。但是也存在着一定的缺陷, 那就是在梅毒感染的窗口期或老年人、肿瘤患者、孕妇、自身免疫性疾病等患者的血清检测中, 会产生一些检测结果处在临界值附近的情况。国内外有很多文章都报道过老年人、孕妇、癌症患者的假阳结果的病例^[6-8]。有文献报道, 用同批号 ELISA 试剂测定 5 000 例健康人血清标本和 2 000 例随机选取的 HBsAg 阳性血清标本, 分别得到阴性和阳性参考血清的吸光度均值和标准差, 横轴为吸光度, 纵轴为标本数量, 使用正态分布的 μ 检验, 得到“灰区”的范围为 0.08~0.11^[9]; 又有文献报道, ELISA“灰区”对于不同检测项目和应用的领域、地域的不同, 其设置不能一概而论^[10]。因此根据梅毒性质的特殊性, 本实验室结合自身情况, 为了防止漏检或假阳性引起误检而造成的不必要的医疗纠纷制定了稍宽的复检标准 ($0.5 < S/CO < 3$), 检测结果再次范围内的标本都需要进行复检。本研究中有 15 例经 ELISA 法检测, 结果处于复查标准内的标本。经化学发光复检结果为阴性标本为 6 例, 其中有 3 例为 60 岁以上老人和 1 例孕妇。

另一个方法是对待复检标本采用化学发光法进行复检。化学发光法作为一种新的检测方法, 从检测到结果判定均由仪器自动完成, 具有操作方便, 人为干扰少的优点。雅培 I2000 化学发光法采用的是微粒子免疫技术来对血清或血浆梅毒特异性抗体进行测定, 反应原理与 ELISA 相同, 只不过是包被梅毒抗原的载体换为微粒子。反应后对反应液的发光强度进行测定, 根据光子强度来反映血清中梅毒抗体的水平, 强度越高说明机体内抗体水平越高。作为临床化验室新引进的一种确证实验, 化学发光法既能够检测梅毒的 IgG 抗体又能检测 IgM 抗抗体。其灵敏度和特异性相对 TPPA 法都有所提高^[11]。对梅毒抗体的检测来说, 化学发光法是一种可以替代 TPPA 法的新方法^[12], 并且对弱阳性标本具有较强的检出能力, 对于本

次实验, TPPA 方法检测出的 171 例阳性标本, 化学发光法结果均为阳性, 因此两者之间的符合率较好。其自动化程度高, 是一种应用前景非常好的梅毒抗体的检测方法^[13]。

综上所述, 对大中型医院来说, 采用 ELISA 法初筛, 然后对可疑标本进行化学发光法复检可以防止 ELISA 法的漏检及误诊, 相对 TPPA 方法繁琐、干扰因素多的缺点, 此两种方法联合检测不但能够保证标本结果的准确而且也能达到医院大批量标本的筛查要求。真正做到患者结果的准确、及时地发放, 更符合以人为本、一切为患者服务的要求^[14]。对于中小型医院采用手工 ELISA 法初筛, 再对可疑结果进行 TPPA 确证, 能达到同样的诊断效率。

参 考 文 献

- [1] Mo X, Jin Y, Yang Y, et al. Evaluation of a new chemiluminescence immunoassay for diagnosis of syphilis[J]. Eur J Med Res, 2010, 15(2): 66-69.
- [2] Marangoni A, Sambri V, Accardo S, et al. Evaluation of LIAISON treponema screen, a novel recombinant antigen-based chemiluminescence immunoassay for laboratory diagnosis of syphilis[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2005, 12(10): 1231-1234.
- [3] 胡平. 性病诊疗中医疗纠纷的特点与防范[J]. 皮肤病与性病, 2003, 25(4): 57-58.
- [4] 张京豫, 谭爱国, 郭健. TP-ELISA 一步法检测梅毒螺旋体抗体钩状现象研究[J]. 中国实验诊断学, 2007, 11(11): 1520-1523.
- [5] 洪宏, 赵枰. ELISA 法检测 TP-Ab 前带现象 1 例[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(1): 53-53.
- [6] 高俊, 黄文红. 梅毒酶联免疫吸附测定法假阳性结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(12): 1439-1440.
- [7] 季德成, 李晓平, 董春雷, 等. ELISA 法检测老年人梅毒抗体易产生假阳性分析[J]. 放射免疫学杂志, 2005, 18(3): 239-240.
- [8] Moore JE, Mohr CF. Biologically false positive serologic tests for syphilis: type, incidence, and cause[J]. J Am Med Assoc, 1952, 150(5): 467-473.
- [9] 李金明. 临床酶免疫测定技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2005: 95.
- [10] 毛瑞. 西藏自治区血液中心实验室酶联免疫吸附试验检测“灰区范围”浅谈[J]. 实用医技杂志, 2013, 20(3): 285-287.
- [11] 杨永泉, 石玉玲, 徐少珊, 等. 化学发光法在梅毒实验诊断中的应用价值[J]. 生物技术通讯, 2012, 23(2): 258-259.
- [12] Wellinghausen N, Dietenberger H. Evaluation of two automated chemiluminescence immunoassays, the LIAISON Treponema Screen and the ARCHITECT Syphilis TP, and the Treponema pallidum particle agglutination test for laboratory diagnosis of syphilis[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(8): 1375-1377.
- [13] 朱邦勇, 赵秀梅, 甘泉等. 检测一期梅毒 3 种试验方法的比较[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(2): 98.
- [14] 贾杰. ELISA 法与 TPPA 法检测梅毒螺旋体抗体的比较[J]. 预防医学情报杂志, 2001, 17(5): 410-411.

(收稿日期: 2014-10-15)