

• 论 著 •

化学发光免疫分析法检测梅毒螺旋抗体的应用评价

邓 劲, 饶郴丽, 杨廷富, 罗 岚, 王婷婷, 陶传敏[△]

(四川大学华西医院实验医学科, 四川成都 610041)

摘 要:目的 评价化学发光免疫分析法(CLIA)在梅毒实验室诊断中的应用。方法 以酶联免疫吸附试验(ELISA)为相对标准,以明胶颗粒凝集试验(TPPA)为确证标准,收集 2 223 份门诊和住院患者的血清标本,采用 CLIA 和 ELISA 法分别检测血清梅毒螺旋体抗体,并采用 TPPA 对检测结果进行确证,分析 CLIA 的检验效能。结果 2 223 份血清标本中,ELISA 检测阳性 53 份,阳性率为 2.34%;CLIA 检测阳性 60 份,阳性率为 2.70%;CLIA 的阳性预测值为 98.33%、检测灵敏度为 100.00%、特异度为 99.95%。结论 CLIA 具有自动化、量化、检测周期短的特点。可用于实验室对梅毒螺旋体抗体的批量检测。

关键词:化学发光免疫分析法; 明胶颗粒凝集试验; 酶联免疫吸附试验; 梅毒螺旋体抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.08.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)08-1041-02

Evaluation of chemiluminescence immunoassay in the detection of treponema pallidum antibody

Deng Jin, Rao Chenli, Yang Tingfu, Luo Lan, Wang Tingting, Tao Chuanmin[△]

(Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract: Objective To analyze the clinical performance of chemiluminescence immunoassay(CLIA) in determination of treponema pallidum antibody(TP antibody). **Methods** The results detected by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) were regarded as relative standards, and results detected by treponema pallidum particle assay(TPPA) were regarded as recognition criteria. 2 223 serum samples of outpatients and inpatients were collected, and TP antibodies were detected by CLIA and ELISA method respectively, and followed by confirmation of TPPA test. **Results** Among 2 223 serum samples, 53 samples were TP antibody positive detected by ELISA and 60 samples were TP antibody positive detected by CLIA, and the positive incidence of TP antibody detected by the ELISA and CLIA method was 2.34% and 2.65% respectively. The positive predictive value, sensitivity and specificity of the CLIA method was 98.33%, 100.00% and 99.95%, respectively. **Conclusion** The CLIA method could be considered adequate for screening of TP antibody in a large volume of samples, with characteristics of automatic, quantitative and short turn around time.

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

梅毒是一种古老且全球分布的性传播疾病,由梅毒螺旋体(TP)感染引起^[1],传染性较强,TP 对于人体皮肤和黏膜的亲性和性较强,会继发引起机体各个组织和脏器损伤,可累及皮肤、黏膜,甚至心脑血管,严重危害人类健康。近年来国内梅毒感染病例增长迅速,位居性传播疾病的首位^[2-3],而梅毒的临床表现复杂多样,约半数以上的患者无任何临床症状,因此 TP 实验室检测尤其是梅毒血清学检测成为诊断梅毒的常用手段和重要依据。目前,国内检测 TP 的主要方法包括:快速血浆反应素试验(RPR)、甲苯胺红快速反应素试验(TRUST)、TP 酶联免疫吸附试验(ELISA)、梅毒螺旋体血凝试验(TPHA)和梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)等,其中 TPPA 是目前公认的较好的 TP 抗体确认方法,但是其试剂昂贵、操作复杂、耗时长,不适于大批量标本的检测,在临床应用上受到较大的限制^[4]。化学发光免疫分析法(CLIA)检测 TP 抗体是近年新出的检测方法,具有很高的灵敏度和特异度,有广泛的应用前景。日本富士 Lumipulse G1200 全自动免疫分析仪于 2013 年在国内上市,本研究笔者在此平台上利用 CLIA 法检测临床标本中的 TP 抗体,并进行了评价、分析。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 7 月 14 日至 8 月 13 日于四川大学华西医院进行 TP 抗体检测的门诊和住院患者 2 223 例,年龄 15~80 岁。

1.2 仪器与试剂 Lumipulse G1200 全自动免疫分析仪及配套 CLIA 法 TP 抗体诊断试剂(日本富士瑞必欧株式会社);TP

抗体诊断试剂盒(英科新创科技有限公司,ELISA);TPPA 试剂盒(日本富士瑞必欧株式会社)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 取患者肘正中静脉血,静置待血液凝固后,4 000 r/min 离心 10 min;对所有标本的 TP 抗体均同时进行 CLIA 和 ELISA 检测,对 2 种方法检测结果不一致的标本,使用 TPPA 进行确证。

1.3.2 CLIA 检测 CLIA 试剂盒是基于两步夹心法的化学发光免疫检测法研制的 TP 抗体检测试剂。C.O.I=样品的发光量(S)/临界值(C)。CLIA 检测结果的判定:C.O.I 不足 1.0 则判定为阴性;C.O.I 超过 1.0 则判定为阳性,C 为 TP-N 阳性校准液的发光量 $\times 0.12$ 。

1.3.3 ELISA 检测 ELISA 试剂盒采用双抗原夹心法检测血清中 TP 抗体。在微孔条预包被基因表达 TP 抗原,与血清中抗 TP 抗体反应,再加入辣根过氧化物酶(HRP)标记基因工程重组 TP 抗原与之结合,然后用四甲基联苯胺(TMB)系统作用显色。ELISA 检测结果的判定:样品吸光度(A)值(S)/临界值(CO)不低于 1 者为 TP 抗体反应阳性,S/CO<1 者为 TP 抗体反应阴性;其中 CO=阴性对照 A 的均值 $\times 2.8$,阴性对照 A 的均值小于 0.05 时以 0.05 计算。

1.3.4 TPPA 是将 TP 的精制菌体成分包被在人工载体明胶粒子上,这种致敏粒子和样品中的 TP 抗体进行反应、发生凝集,产生粒子凝集反应,由此可以检测出血清中的 TP 抗体,并且可用来测定抗体效价。TPPA 检测结果的判定:未致敏粒子

(最终稀释倍数 1 : 40) 的反映图像判定为(－),致敏粒子(最终稀释倍数 1 : 80 以上)的反应图像判定为(＋)时,最终判定为阳性;无论未致敏粒子呈现何种反应图像,只要致敏粒子(最终稀释倍数 1 : 80 以上)的反应图像显示为(－)时,最终判定为阴性。

1.3.5 质量控制 (1)室内质量控制:每日使用康彻思坦的 TP 抗体标准物质(12 mIU/mL)进行室内质控。(2)室间质量评价:每年参加卫生部临床检验中心 PT、美国病理学家协会 PT、中国疾病预防控制中心性病实验室 PT 和中国疾病预防控制中心性病艾滋病血清学检测能力验证的关于 TP 的所有相关实验,成绩优秀。(3)严格按照 Lumipulse G1200 全自动免疫分析仪及 TP 抗体试剂、ELISA 试剂盒和 TPPA 说明书检测 TP 与判断结果,在室内质控均在控的情况下检测患者标本。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理,计数资料以例数或百分率表示。

2 结 果

2.1 ELISA 和 CLIA 检测 TP 抗体的结果比较 2 223 份血清标本中,ELISA 检测阳性 53 份,阳性率为 2.34%(53/2 223),CLIA 检测阳性 60 份,阳性率为 2.70%(60/2 223);有 2 216 份标本 CLIA 和 ELISA 检测结果一致,7 份检测结果不一致,CLIA 与 ELISA 检测的一致性为 99.69%(2 216/2 223)。见表 1。

表 1 ELISA 和 CLIA 检测 TP 抗体的结果比较(n)

CLIA	ELISA		合计
	阳性	阴性	
阳性	53	7	60
阴性	0	2 163	2 163
合计	53	2 170	2 223

2.2 TPPA 确证结果分析 7 份 CLIA 和 ELISA 检测结果不一致的标本用 TPPA 进行确证,其中阳性 6 份、阴性 1 份。CLIA 和 ELISA 与 TPPA 确证后结果的比较,见表 2~3。CLIA 的阳性预测值为 98.33%(59/60),检测灵敏度为 100.00%(59/59),特异度为 99.95%(2 163/2 164);ELISA 的检测灵敏度为 89.83%(53/59),特异度为 100.00%(2 164/2 164)。

表 2 CLIA 检测 TP 抗体与 TPPA 确证后结果比较(n)

CLIA	TPPA 确证结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	59	1	60
阴性	0	2 163	2 163
合计	59	2 164	2 223

表 3 ELISA 检测 TP 抗体与 TPPA 确证后结果比较(n)

ELISA	TPPA 确证结果		合计
	阳性	阴性	
阳性	53	0	53
阴性	6	2 164	2 170
合计	59	2 164	2 223

3 讨 论

人体感染 TP 后,可产生 2 种抗体。一种为非特异性类脂质抗体(又称为反应素),是由螺旋体破坏的组织细胞所释放的类脂样物质;另一种为特异性抗螺旋体抗体,主要有 IgM、IgG 两种,IgG 终生存在于人体内,可终生检出阳性。若能检测抗

体的动态变化,则有助于梅毒的临床诊治。TP 检测方法较多,但多数为手工法,监测时间长,不适合批量标本,目前国内实验室最常采用 ELISA 法^[5]。ELISA 是采用纯化的基因重组 TP 抗原包被和酶标记抗原以双抗原夹心法检测血清中相应的特异性抗体的方法,适合大批量操作,但经常出现假阳性^[6]。

CLIA 是由抗原结合粒子的重组 TP 抗原(Tp15-17)及 Tp47 与样品中所含的 TP 抗体形成免疫复合物^[7],除去反应液后,进行抗原粒子的清洗工作,通过来自样品中结合在重组 TP 抗原的 TP 抗体和碱性磷酸酶标记 Tp15-17 及 Tp47(酶标记抗原)结合形成免疫复合物,再次除去反应液后,进行抗原结合粒子的清洗工作,在粒子中加入底物液 200 uL 搅拌后,让其在 37 ℃ 条件下反应 5 min,在波长 477 nm 条件下检测发光量以达到检测 TP 抗体的目的。CLIA 法检测 TP 是近年应用的一种新技术,研究报道其对各时期梅毒的灵敏度和特异性分别大于 98.7% 和 99.9%^[8-10]。本研究显示,2 223 份血清标本中,ELISA 检测阳性 53 例,阳性率为 2.34%;CLIA 检测阳性 60 例,阳性率为 2.70%。此外,CLIA 的阳性预测值 98.33%,检测灵敏度为 100.00%,特异度为 99.95%;ELISA 的检测灵敏度 89.83%,特异度为 100.00%。CLIA 的灵敏度优于 ELISA,且具有结果判断客观、操作简便、重复性好、检测周期短等优点,可作为梅毒大规模筛查的方法。在临床上,为克服 CLIA 存在的个别假阳性和试验中的钩状效应,可与 TRUST、TPPA 联合检测,是目前梅毒血清学诊断较好的选择。但对于 CLIA 阳性,而 TPPA 阴性、TRUST 又疑似阳性或阴性的病例,临床医生必须结合患者的病史、体检结果,其他检验结果,临床表现及抗梅毒治疗等情况进行综合分析后作出诊断,以避免误诊。

综上所述,梅毒是一种经典的性传播疾病,本试验以 ELISA 为相对标准,以 TPPA 为确证标准,将 CLIA 用于检测患者的血清标本中的 TP 抗体,发现 CLIA 具有自动化、量化、检测周期短等特点,可用于实验室对 TP 抗体的批量检测。

参考文献

[1] 陆学东.梅毒螺旋体抗原成份研究进展[J].国外医学:微生物学分册,1992,15(5):216-219.

[2] 付志智,李永红.2005~2010 年广西胎传梅毒流行病学及防治对策分析[J].应用预防医学,2011,17(2):65-68.

[3] 王雁,公洁,郑笑莉.梅毒患者感染现状调查与分析[J].中国临床研究,2011,24(10):926-927.

[4] 金国江,邹大伟,杜毅鑫,等.CMIA 法测定梅毒螺旋体抗体在临床筛查梅毒的应用[J].中国卫生检验杂志,2012,22(8):1890-1891.

[5] 牛奇山.明胶颗粒凝集试验与微粒子化学发光免疫分析法检测梅毒螺旋体[J].国际检验医学杂志,2014,35(4):493-494.

[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] Fujimura K,Ise N,Ueno E,et al.Reactivity of recombinant Treponema pallidum(r-Tp) antigens with anti-Tp antibodies in human syphilitic sera evaluated by ELISA[J].J Clin Lab Anal,1997,11(6):315-322.

[8] 侯晓菁,梁艳,陈洁,等.化学发光法检测梅毒螺旋体特异性抗体的实验评价[J].检验医学,2010,25(5):365-367.

[9] Marangoni A,Sambri V,Aceardo 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.

[10] 潘顺.19 986 例梅毒螺旋体抗体检测结果分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(24):3410-3411.