

• 短篇论著 •

化学发光法与酶联免疫吸附诊断献血者梅毒螺旋体特异性抗体的价值研究^{*}

何宝明, 柏莹

(汉中市中心医院检验科, 陕西汉中 723000)

摘要:目的 探讨化学发光法(CLIA)与酶联免疫吸附法(ELISA)用于检测献血者梅毒螺旋体(TP)特异性抗体的价值。方法 选取 2017 年 1 至 6 月该站无偿献血者献血后存留的血液标本共 51 721 份,采用 CLIA、ELISA、梅毒螺旋体颗粒凝集试验(TPPA)进行检测,对于上述 3 种检测方法检出的阳性标本均进一步用免疫印迹(WB)法进行验证。以 WB 结果作为“金标准”,分析 CLIA、ELISA 的灵敏度和特异度。结果 CLIA 检出阳性患者 218 例(占 0.42%),ELISA 法检出阳性患者 195 例(占 0.38%),TPPA 法检出阳性患者 209 例(占 0.40%)。3 种检测方法检出的阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$);对上述 3 种检测结果有差异的 61 例患者进行 TP-WB 确认,其中阳性 34 例,阴性 27 例,综合分析认为 TP 特异性抗体阳性 214 例,阴性 51 507 例;CLIA 对 TP 特异性抗体检出的灵敏度为 100.00%,特异度为 99.99%;ELISA 对 TP 特异性抗体检出的灵敏度为 84.11%,特异度为 99.97%。结论 与 ELISA 比较,CLIA 诊断无偿献血者 TP 特异性抗体有更高的灵敏度和特异度,并且能够实验自动化检测,操作简便,对于无偿献血者大批量血液标本的检测有较大的应用价值。

关键词:化学发光法; 酶联免疫吸附法; 献血; 梅毒螺旋体; 特异性抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.15.030

中图法分类号:R446.61

文章编号:1673-4130(2018)15-1897-03

文献标识码:B

梅毒螺旋体(TP)属于密螺旋体属苍白螺旋体的苍白亚种,梅毒是由 TP 所引起的一种慢性全身性的传播性疾病,流行病学调查研究显示,梅毒发病率呈逐年上升趋势^[1-2]。无偿献血人群中 TP 感染者的比例逐年升高,成为了血站血液报废的一个主要原因,对医疗用血安全构成了严重威胁。因此,对献血者 TP 的检测便显得尤为重要^[3]。《血站技术操作规程(2012 版)》中明确规定:对于梅毒特异性抗体的检测,需采用 2 个不同生产厂家的酶联免疫吸附法(ELISA)试剂进行检测。但是采用 ELISA 检测 TP 特异性抗体会有一定的漏检^[4-5]。化学发光法(CLIA)是近些年出现的一种新的检测 TP 抗体的方法,为了进一步了解 CLIA 在献血者 TP 抗体检测中的应用价值,本研究比较并分析了 CLIA 与 ELISA 诊断献血者 TP 特异性抗体的诊断效能,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 至 6 月本站无偿献血者献血后存留的血液标本 51 721 份,年龄 18~55 周岁,平均年龄(32.17±9.84)岁,其中男性 28 683 份,女性 23 038 份。

1.2 仪器与试剂 罗氏 E601 全自动化学发光免疫分析仪及其配套检测试剂、酶标分析仪(德国帝肯公司)、TP 抗体 ELISA 试剂盒(厦门新创生物有限公司)、TPPA 试剂盒(日本东京富士瑞必欧株式会社)。

1.3 方法 将本站存留的 51 721 份血液标本分别进

行 CLIA、ELISA、梅毒螺旋体颗粒凝集试验(TPPA)检测,检测严格参照试剂盒使用说明书进行。对于上述 3 种检测方法检出阳性的标本均进一步采取免疫印迹(WB)法进行验证,对于 TP-WB 检测结果,当印迹膜上无显色带出现或无特异性条带出现时,则判断为阴性;当印迹膜上出现 1 条及 1 条以上相对分子质量为 15 000、17 000、45 000 或 47 000 的特异性条带时,则判断为阳性。以 TP-WB 结果作为标准,分析 CLIA 与 ELISA 检查的灵敏度及特异度。

1.4 统计学处理 采用统计学软件 SPSS22.0 进行数据处理分析,计数资料采用百分率表示,两组计数资料比较采用 χ^2 检验,3 组计数资料的比较采用秩和检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CLIA、ELISA、TPPA 3 种检测方法阳性率的比较 CLIA 检出阳性患者 218 例(占 0.42%),ELISA 检出阳性患者 195 例(占 0.38%),TPPA 法检出阳性患者 209 例(占 0.40%),3 种检测方法阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

2.2 TP-WB 检查结果 对上述 3 种检测结果有差异的 61 例患者进行 TP-WB 确认,包括 CLIA 阳性、ELISA 阴性、TPPA 阳性 21 例,CLIA 阳性、ELISA 阴性、TPPA 阴性 17 例,CLIA 阴性、ELISA 阳性、TPPA 阴性 15 例,CLISA 阴性、ELISA 阴性、TPPA 阳性 8 例,3 种检测方法检出阳性结果均一致患者

^{*} 基金项目:陕西省医学会科研基金(2697)。

180 例。TP-WB 结果显示,61 例患者阳性 34 例、阴性 27 例。综合 CLIA、ELISA、TPPA 检出结果与 TP-WB 确认结果,认为 51 721 例献血者 TP 特异性抗体阳性 214 例,阴性 51 507 例。

表 1 CLIA、ELISA 以及 TPPA 3 种检测方法
阳性率的比较

方法	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阳性率(%)
CLIA	51 721	218	0.42
ELISA	51 721	195	0.38
TPPA	51 721	209	0.40

2.3 CLIA 对 TP 特异性抗体检出的灵敏度和特异度 CLIA 对 TP 特异性抗体检出的灵敏度为 100.00%(214/214),特异度为 99.99%(51 503/51 507),见表 2。

表 2 CLIA 对 TP 特异性抗体检出一致性(*n*)

综合确认结果	CLIA		总计
	阳性	阴性	
阳性	214	0	214
阴性	4	51 503	51 507
总计	218	51 503	51 721

2.4 ELISA 对 TP 特异性抗体检出的灵敏度和特异度 ELISA 对 TP 特异性抗体检出灵敏度为 84.11%(180/214),特异度为 99.97%(51 492/51 507),见表 3。

表 3 ELISA 对 TP 特异性抗体检出一致性(*n*)

综合确认结果	ELISA		总计
	阳性	阴性	
阳性	180	34	214
阴性	15	51 492	51 507
总计	195	51 526	51 721

3 讨 论

梅毒是由 TP 感染所导致的一种性传播疾病,其主要传播途径包括性接触传播、母婴传播、输血传播等^[6-7]。我国规定,对于献血者其梅毒检测必须为阴性,在献血筛查过程中,选择敏感而特异,同时又适合血站进行大规模血液筛检的检测方法,无论对于血液质量的提高、预防梅毒传播以及保证输血安全方面,还是对于血液资料节约、保障献血者权益方面均有重要的现实意义^[8]。机体在感染 TP 30~60 d 后,可产生抗 TP 以及抗类脂抗原的非特异性抗体,因此,对于 TP 的血清学实验室检测方案,主要包括依靠患者临床症状以及特异性抗体检测^[9-10]。

TPPA 是目前国内最为常用的一种梅毒血清学检测方案,该方法采用纯化的致病性 TP 抗原进行检测,从而有较高的特异度以及灵敏度,但在实际运用中,仍然会出现生物学假阳性结果^[11-13]。ELISA 适用于大批量检测,采用双抗原夹心法检测血清中相应的特异性抗体,但报道显示 ELISA 仍具有较高的假阳性^[14-15]。CLIA 作为近些年出现的一种新的检测 TP 特异性抗体的检测方法,具有操作简便、灵敏度高、特

异性强等临床优点,CLIA 将传统的显色底物转变为化学发光底物,延长了发光信号时间以及稳定性,是目前 TP 特异性抗体实验室诊断中最具有发展前景的一种检验手段^[16-18]。本研究将 CLIA 运用于无偿献血患者的血液标本筛查中,分析了 CLIA 与 ELISA 在献血者 TP 特异性抗体检测中的应用价值。

研究结果显示,3 种检测方法阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。在 TP 感染血液标本的检出率上,本研究与其他学者调查研究比较检出率较低^[19],主要是由于选择标本的差异所引起,对于无偿献血者,多为梅毒感染低危人群,因此检出阳性率较低;不同检测方法的阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$),然而由于每种检测方法中可能存在假阳性,单纯阳性率的比较对评价不同检验方法并无较大参考价值。本研究对于 3 种检测方法结果有差异的标本进一步进行了 TP-WB 验证,验证后分析了 CLIA 与 ELISA 检测 TP 特异性抗体的效能。结果显示,CLIA 对 TP 特异性抗体检出的灵敏度为 100.00%(214/214)、特异度为 99.99%(51 503/51 507);ELISA 对 TP 特异性抗体检出的灵敏度为 84.11%(180/214),特异度为 99.97%(51 492/51 507)。表明 CLIA 对 TP 特异性抗体检出的灵敏度高于 ELISA,CLIA 假阳性 4 例,ELISA 假阳性 15 例。

4 结 论

与 ELISA 比较,CLIA 检测用于诊断无偿献血者 TP 特异性抗体有更高的灵敏度和特异度,并且能够实验自动化检测、操作简便,对于无偿献血者大批量血液标本的检测有较大的临床应用价值。

参考文献

[1] 夏芳,徐元宏,汪学龙,等.梅毒螺旋体抗体血清学检测方法的临床应用价值探讨[J].中华流行病学杂志,2016,37(6):863-867.

[2] 陈佩宣,李汉秋,吴细妹,等.免疫比浊法检测梅毒螺旋体抗体的临床应用研究[J].国际检验医学杂志,2016,37(16):2316-2318.

[3] LIU L J,XIE Y L,DAI Z X,et al. Establishment and evaluation of a One-Step microplate chemiluminescence immunoassay to detect IgG antibody against treponema pallidum[J].J Clin Lab Anal,2015,29(6):493-497.

[4] DAI S,CHI P,LIN Y,et al. Improved reverse screening algorithm for Treponema pallidum antibody using signal-to-cutoff ratios from chemiluminescence microparticle immunoassay[J].Sex Transm Dis,2014,41(1):29-34.

[5] 陈存存,范列英.抗 HCV 抗体和抗 TP 抗体筛查试验的假阳性问题及对策研究进展[J].检验医学,2015,7(12):1167-1174.

[6] 陈兰兰,王巧凤,崔京涛,等.低危人群梅毒螺旋体抗体初筛试验结果分析及流程改进建议[J].临床检验杂志,2015,33(1):9-11.

[7] 张婷,林勇平,范婷婷,等.自动化初筛检测梅毒螺旋体抗体流程的改进[J].广东医学,2014,35(21):3333-3335.

[8] LEE J H,LIM C S,LEE M G,et al. Evaluation of a rapid

- immunochromatographic treponemal antibody test comparing the treponema pallidum particle agglutination assay [J]. J Clin Lab Anal, 2015, 29(5): 383-386.
- [9] FUKUDA H, TAKAHASHI M, KATO K, et al. Multiple primary syphilis on the lip, nipple-areola and penis: an immunohistochemical examination of Treponema pallidum localization using an anti-T. pallidum antibody[J]. J Dermatol, 2015, 42(5): 515-517.
- [10] 魏方, 张鹏. ELISA 法与 TPPA 法检测梅毒螺旋体抗体的相关性研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2014, 1(5): 651-652.
- [11] LUTHRA A, ANAND A, HAWLEY K L, et al. A homology model reveals novel structural features and an immunodominant surface loop/opsonic target in the treponema pallidum BamA ortholog TP—0326[J]. J Bacteriol, 2015, 197(11): 1906-1920.
- [12] HUMPHRIES R M, WOO J S, CHUNG J H, et al. Laboratory evaluation of three rapid diagnostic tests for dual detection of HIV and treponema pallidum antibodies[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(12): 4394-4397.
- [13] STAMM L V, DRAPP R L. A synthetic lymph node containing inactivated Treponema pallidum cells elicits strong, antigen-specific humoral and cellular immune responses in mice[J]. Pathog Dis, 2014, 70(1): 88-94.
- [14] 邹红霞, 郝军, 倪丽娜, 等. 四种梅毒螺旋体抗体血清学试验方法的临床评价[J]. 国际免疫学杂志, 2014, 37(3): 260-262.
- [15] 蔡徐山, 齐结华, 陈宇, 等. 化学发光免疫分析法检测孕妇抗 TP 抗体阳性判断值探讨[J]. 检验医学, 2015, 11(12): 1190-1192.
- [16] LEVCHIK N, PONOMAREVA M, SURGANOVA V A. Treponema pallidum Haemagglutination Assay Serum Titres as a Predictor of Cerebrospinal Fluid Abnormalities in Patients with Syphilis[J]. Acta Derm Venereol, 2015, 95(7): 841-842.
- [17] 吴立春, 代黄梅, 谷仕艳, 等. 3 种梅毒抗体检测方法在梅毒诊断中的应用分析[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(8): 1053-1055.
- [18] MARRA C M, TANTALO L C, SAHI S K, et al. Reduced treponema pallidum-Specific opsonic antibody activity in HIV-Infected patients with syphilis[J]. J Infect Dis, 2016, 213(8): 1348-1354.
- [19] 李晓霞, 迟伟群, 姚玉虹, 等. 温湿度对高通量 ELISA 检测系统检测梅毒螺旋体抗体影响的分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(1): 46-51.

(收稿日期: 2017-12-20 修回日期: 2018-03-28)

• 短篇论著 •

氨基甲酰血红蛋白对 3 种糖化血红蛋白检测方法干扰研究*

贺乐奇¹, 沈芳¹, 李鹏², 胡娟¹, 葛亚娟¹, 申春梅^{1△}

(复旦大学附属上海市第五人民医院 1. 检验科; 2. 肾内科, 上海 200240)

摘要:目的 评估慢性肾脏疾病(CKD)5 期患者糖化血红蛋白(HbA1c)检测结果受氨基甲酰血红蛋白(carHb)的影响。方法 收集进行血液透析治疗的 CKD5 期患者 92 例, 其中 31 例合并 2 型糖尿病(T2DM), 分别使用毛细管电泳法(Sebia Capillarys™2 Flex Piercing)、离子交换高效液相色谱法(Variant II Turbo 2.0)和硼酸亲和层析法(Primus Ultra2)进行检测 HbA1c。用广义估计方程用来分析不同测量方法之间的差异, 作业相关矩阵设为复对称相关结构, 进一步计算 HbA1c 的最小二乘均数, 并以硼酸亲和层析法作为参比方法进行多重比较。结果 CKD5 合并 T2DM 组中 Variant II turbo 2.0 检测 HbA1c 结果与参比方法比较差异无统计学意义($P>0.05$); CKD5 无 T2DM 组 Variant II turbo 2.0 检测 HbA1c 结果与参比方法比较差异有统计学意义($P<0.001$), 其差异为 15.48%, 有临床意义。CKD5 合并 T2DM 组和无 T2DM 组, Sebia Capillarys™2 Flex Piercing 检测 HbA1c 结果与参比方法比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 对 CKD5 患者, Sebia Capillarys™2 Flex Piercing 检测 HbA1c 不受 carHb 的干扰, 而 Variant II turbo 2.0 可能由于 carHb 的干扰会引起 HbA1c 假性增高。

关键词:糖化血红蛋白; 氨基甲酰血红蛋白; 慢性肾脏疾病; 2 型糖尿病; 毛细管电泳法; 离子交换高压液相色谱法; 硼酸亲和层析法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.15.031

文章编号: 1673-4130(2018)15-1899-03

中图法分类号: R446.1

文献标识码: B

糖化血红蛋白(HbA1c)已经被广泛认为是评估糖尿病控制的金标准, 其与糖尿病并发症风险之间的

关系已得到证实。2010 年美国糖尿病协会(ADA)已将 HbA1c 推荐为糖尿病的诊断指标, HbA1c \geq

* 基金项目: 上海市闵行区卫生和计划生育委员会基金(2014MW04)。

△ 通信作者, E-mail: dachun20040613@126.com。

本文引用格式: 贺乐奇, 沈芳, 李鹏, 等. 氨基甲酰血红蛋白对 3 种糖化血红蛋白检测方法干扰研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(15): 1899-1901.