

论著·临床研究

高敏化学发光法检测血清梅毒特异性抗体临床应用价值

杨卫华, 王文惠, 杨乐园, 杨振华[△]

(上海市宝山区中西医结合医院检验科, 上海 201999)

摘要:目的 比较高敏化学发光法(HISCL)和临床常用的梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)检测血清梅毒螺旋体特异性抗体的符合率;应用蛋白质免疫印迹法(Western blot)对阳性结果和两种方法不一致的结果进行验证,以判定 HISCL 检测血清梅毒特异性抗体的临床应用价值。**方法** 收集 5 568 例临床检测的血清标本,分别用 HISCL 和 TPPA 进行检测,对于检出的阳性结果和两种方法不一致的结果应用 Western blot 验证。**结果** 5 568 例血清标本中, HISCL 和 TPPA 共同检出阳性标本 201 例,无结果不一致的情况。对所有 201 例阳性标本均采用 Western blot 检测验证,结果确认阳性标本数为 185 例,确认阴性标本数 10 例,可疑 6 例。在本次研究中 HISCL 和 TPPA 的符合率为 100%,灵敏度为 100%,特异度为 99.70%,阳性预测值为 92.04%,阴性预测值为 100%。HISCL 出现的 16 例不符合中,临界值指数(COI)值大多在 4.0 以下。确认的 10 例阴性结果中,主要为 60 岁以上的老年人、孕妇和 1 岁以下儿童,均为免疫状态不稳定的人群;可疑的 6 例经 Western blot 验证均为非阴性结果,需临床跟踪随访。**结论** HISCL 与 TPPA 有很好的 consistency,且 HISCL 具有检测快速、结果客观、重复性好、适合大批量检测的特点,适合进行梅毒的筛查和确认。但 HISCL 仍存在一定的假阳性,对于 COI 值较低的标本应结合临床资料。

关键词:高敏化学发光; 梅毒螺旋体明胶凝集试验; 免疫印迹法; 梅毒特异性抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.16.013

中图法分类号:R446.61

文章编号:1673-4130(2019)16-1973-04

文献标识码:A

Evaluation of clinical application of high sensitivity chemiluminescence assay for detection of serum syphilis specific antibodies

YANG Weihua, WANG Wenhui, YANG Leyuan, YANG Zhenhua[△]

(Department of Clinical Laboratory, Baoshan Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital of Shanghai, Shanghai 201999, China)

Abstract: Objective To compare the coincidence rate of high sensitivity chemiluminescence assay (HISCL) with treponema pallidum gelatin agglutination test (TPPA) in the detection of serum treponema pallidum specific antibodies, and to validate the positive results by Western blot and the inconsistent results of the two methods in order to determine the clinical value of HISCL in the detection of serum Treponema specific antibodies. **Methods** A total of 5 568 serum samples were collected and tested with HISCL and TPPA respectively. Western blot was used to verify the positive results and the inconsistent results between the two methods. **Results** Among 5 568 serum samples, 201 were positive for HISCL and TPPA, and there was no inconsistent result. Western blot test was used to verify all 201 positive cases. The results showed that 185 positive cases, 10 negative cases and 6 suspicious cases were confirmed. In this study, the coincidence rate of HISCL and TPPA was 100%, the sensitivity was 100%, the specificity was 99.70%, the positive predictive value was 92.04%, and the negative predictive value was 100%. Among the 16 cases with HISCL, COI values were mostly below 4.0. Among the 10 negative results confirmed, the main ones were elderly people over 60 years old, pregnant women and children under 1 year old, all of them were the people with unstable immune status. The suspected 6 cases were all non-negative results verified by Western blot and needed follow-up clinically. **Conclusion** HISCL is consistent with TPPA, and HISCL has the characteristics of rapid detection, objective results, good repeatability and suitable for large-scale detection. It is suitable for syphilis screening

作者简介:杨卫华,男,主管技师,主要从事临床免疫学方面的研究。[△] **通信作者,** E-mail: shbsyzh@126.com.

本文引用格式:杨卫华,王文惠,杨乐园,等.高敏化学发光法检测血清梅毒特异性抗体临床应用价值[J].国际检验医学杂志,2019,40(16): 1973-1975.

and confirmation. However, there are still some false positive results in HISCL, which should be combined with clinical data for specimens with low COI value.

Key words:high sensitivity chemiluminescence; treponema pallidum gelatin agglutination test; western blot; syphilis specific antibody

梅毒是由梅毒螺旋体引起的慢性、系统性性传播疾病。主要通过性途径传播,感染后可导致全身多器官损害^[1]。由于梅毒的病程进展缓慢,常出现长时间的潜伏感染,并且显性和隐性感染患者都具有传染性,故梅毒的发生率在我国一直呈上升趋势。近 20 年来,梅毒疫情一直是我国乃至世界范围的严重公共问题^[2]。

在梅毒防控和治疗中,性能优越的梅毒检测方法至关重要^[3]。梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)是一种具有很高的灵敏度和特异度的检测方法,也是目前公认常用的梅毒抗体检测的确证方法,但由于检测时间较长、步骤繁琐,不适宜实验室大批量标本的检测。且采用主观的人眼判断实验结果,对于一些弱阳性样本可能发生漏报,某些强阳性样本则可能由于“HOOK”效应而出现假阴性结果。为了提高检测效率和准确性,目前越来越多的实验室采用化学发光法进行梅毒特异性抗体的检查,其中高敏化学发光法(HISCL)是新的梅毒螺旋体抗原血清试验方法,该方法不仅提高了检测自动化程度,同时大大缩短了检测时间^[4]。

本研究应用 HISCL 和 TPPA 对 5 568 例血清标本进行梅毒螺旋体特异性抗体检测,对于阳性和不一致的检测结果采用蛋白质免疫印迹法(Western blot)进行确证试验^[5]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 5 568 例血清标本来自于 2017 年 12 月至 2018 年 6 月本院门诊及住院患者,其中男 2 270 例,女 3 298 例。<1 岁 18 例,1~18 岁 895 例,>18~60 岁 3 876 例,>60 岁 779 例。本研究经本院伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 HISCL 5000 全自动免疫分析仪及其配套的梅毒螺旋体抗体试剂盒(日本希森美康医用电子有限公司);TPPA 试剂盒(日本富士必欧株式会社);抗梅毒螺旋体抗体 IgG 免疫印迹试剂盒(德国欧蒙医学诊断股份公司);梅毒螺旋体室内质控品(上海市临床检验中心提供,浓度为 8 NCU/mL)。

1.3 方法 所有血清标本分别用 HISCL 和 TPPA 进行检测,实验前操作人员掌握检测方法、实验方案和质量控制方法。所有操作严格按照试剂说明书以及《全国临床检验操作规程》^[6]进行。

检测样本的同时检测室内质控品及阴、阳性对

照,确保室内质控在控,以保证检测质量。两种方法试剂盒阴、阳性对照应符合预期;且外部室内质控检测结果符合预期,TPPA 外部阳性质控结果允许靶值上下一个滴度内,HISCL 外部阳性质控结果应符合 22S 和 13S 规则。

HISCL 检测结果采用临界值指数(COI)表示。COI 为样本发光强度和临界值发光强度之比。COI 不足 1.0 的样本,判定为阴性;COI 在 1.0 及以上的样本,判定为阳性。

TPPA 检测结果用阴阳性表示,非致敏颗粒检测结果为阴性、致敏颗粒检测结果为阳性,标本检测孔肉眼可见 U 型板底均匀、散在颗粒,且滴度大于或等于 1:80 即为阳性结果;否则即为阴性结果。

WB 检测结果时,印迹膜条上出现 1 条以上,相对分子质量为 47 000、45 000、17 000 或 15 000 的特异度条带时,结果判为阳性;当仅出现 1 条特异度条带即为临界阳性,判为可疑;无特异度条带出现则为阴性。TPPA 和 WB 检测结果均由两位以上实验操作人员进行独立复核确认。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件,方法一致性采用 Kappa 检验^[7],一致性判断标准:弱(Kappa≤0),轻(0<Kappa≤0.20),尚好(0.20<Kappa≤0.40),中度(0.40<Kappa≤0.60),高度(0.6<Kappa≤0.80),最强(0.80<Kappa≤1.00)。

2 结 果

2.1 HISCL 和 TP 检测结果 5 568 例血清标本中,HISCL 和 TPPA 的均各检出阳性标本 201 例,阴性标本 5 367 例,阳性检出率均为 3.61%。见表 1。

表 1 HISCL 和 TPPA 符合率实验表^[3](n)

HISCL	TPPA	
	阳性	阴性
阳性	201	0
阴性	0	5 367
共计	201	5 367

由表中计算得阳性符合率=201/(201+0)×100%=100%;阴性符合率=5 367/(5 367+0)×100%=100%,即本研究中 HISCL 和 TPPA 的符合率为 100%,结果一致性等级达到最强(kappa=1.0)。灵敏度可达 100%,特异度达 99.70%,阳性预测值为 92.04%,阴性预测值为 100%。

2.2 结果不符及阳性样本进行免疫印迹法检测结果

201 例阳性血清标本中,经 Western blot 验证,共计确认阳性标本 185 例,阴性标本 10 例,可疑标本 6 例。此 6 例可疑标本经临床随访确认排除梅毒螺旋体感染。见表 2。

表 2 HISCL 检测性能表^[3] (n)

检测结果	分析物阳性	分析物阴性
阳性	185	16
阴性	0	5 383
合计	185	5 399

3 讨 论

血清学检测是诊断梅毒的重要依据,敏感度高和特异度好的检测方法对梅毒诊治至关重要^[8]。据文献报导,上海市近年来 I、II 期梅毒发病有所趋缓,隐性梅毒发病逐渐升高^[9]。然而,目前普遍采用 RPR 和 TRUST 进行梅毒的初筛,TPPA 进行梅毒确诊的检查方案,该方案对于潜伏期梅毒和神经性梅毒会造成一定的漏检,不仅延误临床的治疗,更容易导致性病的进一步传播。

本实验室应用 HISCL 和 TPPA 检测了 2017 年 11 月至 2018 年 6 月的 5 568 例血清样本,经统计分析 HISCL 与 TPPA 的符合率为 100%。

应用 Western blot 对检出的 201 例阳性标本进行验证,HISCL 与 Western blot 法检测结果相比较出现的 16 例不符合中,COI 值均在 4.0 以下。HISCL 检出阳性而 Western blot 确认为阴性的 10 例样本中,主要为 60 岁以上的老年人、孕妇和 1 岁以下儿童。有文献报告,老年患者随着年龄的增高,梅毒抗体的假阳性率也呈上升趋势,且年龄越高假阳性率越高,阳性率随年龄增大呈阶梯性升高^[10-13]。导致老年患者梅毒抗体检测生物学假阳性的因素有许多,主要包括癌症、溶栓剂或抗凝剂治疗、糖尿病、肝硬化、肝炎、肾病、自身免疫病、严重感染、代谢紊乱、手术等^[14-15]。而且在实际诊疗过程中老年患者经常伴随不止一个以上原因。而 1 岁以下儿童由于自身免疫系统尚未完全建立,因此不能单以实验室检测结果判断是否感染梅毒,应结合流行病学调查加以判定。据文献报告^[16]:孕妇样本中有较高比例的抗 TP 抗体假阳性,可能是其体内免疫、血脂及内分泌环境等因素改变引起的干扰所致。Western blot 确认可疑的 6 例样本经均为非阴性结果,即出现了 1 条特异度条带,可能为梅毒早期感染或抗原较差反应,需临床跟踪随访。按 ALTER 等^[17]在美国疾病预防控制中心拟定的“抗 HCV 的实验室检测和结果报告指南”中对 Western blot 确证试验“不确定”结果的解释,在排除

检测对象处于血清转换过程的前提下,在低感染率人群中,Western blot“不确定”结果提示筛查试验的结果为假阳性。6 个可疑样本经临床流行病学调查结合随访,确认为非梅毒螺旋体感染。

TPPA 因存在手工倍比稀释、价格昂贵、检测时间长、操作人员要求较高、主观判读结果等不足限制了使用范围^[15]。在检测原理上,与传统的 TPPA 采用“一步法”不同,HISCL 采用两步法检测梅毒特异性抗体,在方法学上可以尽可能避免“HOOK”效应的产生,且自动化程度高,检测速度快,以 COI 值进行结果判断更客观简便,适宜进行大批量梅毒样本的检测。

4 结 论

HISCL 法检测梅毒特异性抗体结果与 TPPA 有很高一致性,且能实现自动化、高通量以及节省劳动力成本,可用于大规模梅毒初筛试验。在实际应用中,应注意 COI 值 4.0 以下的弱阳性结果,而对老年人、肿瘤患者等梅毒抗体阳性报告无法确认,必要时应与临床沟通,结合病史、临床症状并进行 WB 确认实验,以期为临床提供更准确判断依据。

参考文献

[1] 李兰娟,任红.《传染病学》[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社,2013:259-263.

[2] WANG L,TANG W,QIAN S,et al. The HIV, syphilis, and HCV epidemics among female sex workers in china: results from a serial cross-sectional study between 2008 and 2012[J]. Clin Infect Dis,2014,59(1):e1-e9.

[3] MULLER I,BRADE V,HAGEDORN H J,et al. Is serological testing a reliable tool in laboratory diagnosis of syphilis Meta-analysis of eight external quality control surveys performed by the german infection serology proficiency testing program[J]. J Clin Microbiol,2006,44(4): 1335-1341.

[4] 李淑莲,许奇萍,林惠玲,等. 高敏化学发光法检测梅毒特异性抗体的评价[J]. 中国皮肤性病学杂志,2016(4):415-418.

[5] 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.

[6] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2014.

[7] LANDIS J R,KOCH G G. The measurement of observer agreement for categorical data[J]. Biometrics, 1977, 33 (1):159-174.

[8] FRENCH P,GOMBERG M,JANIER M,et al. IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis [J]. Int J STD AIDS,2009,20(5):300-309.

[9] 严华美,杨瑛,张星灿,等. 上海市闵行区 2005—2016 年梅毒疫情分析[J]. 复旦学报(医学版),2017,44(5):585-589.

(下转第 1979 页)

然而,之前的报道显示,患有不同间质性肺病的患者血清中 IGFBP-2 也增加^[15]。因此,IGFBP-2 虽然不是 一种 IPF 特异性的生物标志物,但是其与病理生理学 相关,提示 IGFBP-2 可作为肺部疾病的广谱标志物。

4 结 论

IL-8、CXCL14、IGFBP-2 联合具有较好的检验效 能。因此,IL-8、CXCL14、IGFBP-2 可作为联合诊断 IPF 的潜在标志物。目前的发现可能为诊断 IPF 增 加新的前景。

参考文献

[1] 袁殷茹,张敏. 特发性肺纤维化预后相关生物标志物的研究进展[J]. 中国医药导报,2017,14(5):31-34.

[2] 朱莉莉,代华平,王辰. 特发性肺纤维化急性加重研究进展[J]. 华西医学,2018,33(1):1-6.

[3] GUIOT J,BONDUE B,HENKET M,et al. Raised serum levels of IGFBP-1 and IGFBP-2 in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. BMC Pulm Med,2016,16(1):86-93.

[4] YANG L B,HERRERA J,GILBERTSEN A,et al. IL-8 mediates idiopathic pulmonary fibrosis mesenchymal progenitor cell fibrogenicity[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,2018,314(1):L127-L136.

[5] JIA G Q,CHANDRIANI S,ABBAS A R,et al. CXCL14 is a candidate biomarker for Hedgehog signalling in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Thorax,2017,72(9):780-787.

[6] 张楠,雷伟,曾辉,等. 特发性肺纤维化合并肺癌 37 例临床分析[J]. 实用癌症杂志,2016,31(9):1473-1475.

[7] 刘茗心,陈菊屏. Wnt 信号通路 与肺纤维化的研究进展[J]. 现代医药卫生,2016,32(1):83-85.

[8] 王金丹,黄茜茜,叶璐璐,等. 趋化因子 CXCL14 在 SLE

患者外周血单个核细胞中的表达及启动子甲基化分析[J]. 中国应用生理学杂志,2017,33(3):197-201.

[9] SHAYKHIEV R,SACKROWITZ R,FUKUI T,et al. Smoking-Induced CXCL14 expression in the human airway epithelium links chronic obstructive pulmonary disease to lung cancer[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2013,49(3):418-425.

[10] 李鹏,朴龙. KL-6 蛋白对特发性肺纤维化诊断及治疗的意义研究进展[J]. 延边大学医学学报,2015,34(1):76-78.

[11] 张瑜,冯颖. IGFBP-2、-3、-5 表达变化与非小细胞肺癌患者化疗敏感性的关系[J]. 临床与实验病理学杂志,2016,32(6):656-659.

[12] 李会广,高贵荃. 早期肺癌患者血清中 MIF、IGFBPs 含量与病灶中癌细胞活力的相关性[J]. 海南医学院学报,2017,23(7):987-989.

[13] GAO C,ZHANG R S,ZHENG N,et al. Adeno-associated virus type 2-mediated gene transfer of a short hairpin-RNA targeting human IGFBP-2 suppresses the proliferation and invasion of MDA-MB-468 cells[J]. Mol Med Rep,2018,17(3):4383-4391.

[14] LIU H,LI L,CHEN H,et al. Silencing IGFBP-2 decreases pancreatic cancer metastasis and enhances chemotherapeutic sensitivity. [J]. Oncotarget,2017,8(37):61674-61686.

[15] CHADELAT K,BOULE M,CORROYER S,et al. Expression of insulin-like growth factors and their binding proteins by bronchoalveolar cells from children with and without interstitial lung disease[J]. Eur Respir J,1998,11(6):1329-1336.

(收稿日期:2018-11-12 修回日期:2019-02-24)

(上接第 1975 页)

[10] 卞成蓉,卢珊珊,宋英伟,等. 老年患者梅毒螺旋体特异性抗体生物学假阳性结果分析[J]. 标记免疫分析与临床,2017,24(9):967-972.

[11] 宋焕景,侯生根,陈建春,等. 梅毒特异性抗体试验生物学假阳性分析[J]. 国际检验医学杂志 2013,34(14):1846-1847.

[12] 宋燕,肖君. 雅培 i2000 梅毒螺旋体特异性抗体检测阈值及假阳性结果分析[J]. 海南医学,2017,28(12):1962-1964.

[13] 吴立春,代黄梅,谷仕艳. 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):1053-1058.

[14] CRUZ A R, RAMIREZ L G, ZULUAGA A V. Immune evasion and recognition of the syphilis spirochete in blood and skin of secondary syphilis patients: two immunologi-

cally distinct compartments[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2012,6(71):e1717.

[15] 陈兰兰,邵燕玲,王巧凤,等. 自动化梅毒螺旋体抗体初筛实验的特异性及流程改进探讨[J]. 中华检验医学杂志,2013,36(10):891-894

[16] 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,2015,30(12):1190-1192.

[17] ALTER M J, KUHNER W L, FINELLI L, et al. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention[J]. MMWR Recomm Rep,2003,52(RR-3):1-13.

(收稿日期:2018-11-20 修回日期:2019-03-04)