

• 检验技术与方法 •

化学发光法检测梅毒螺旋体抗体的效果评价

魏寿忠,林桂花,陈依平,黄志容

(福建医科大学教学医院/福建省宁德市医院输血科,福建宁德 352100)

摘要:目的 评价化学发光法检测梅毒螺旋体特异性抗体的效果。方法 对室间质量评价标本同时进行化学发光法(CLIA)和梅毒螺旋体颗粒凝集试验(TPPA)检测;对患者标本,先进行 CLIA 检测,阳性结果进行 TPPA 和快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)检测,对 CLIA 和 TPPA 结果不一致的标本,进行免疫印迹(WB)法确认。结果 195 份室间质量评价标本中,CLIA 敏感性为 100.0%,CLIA 与 TPPA 阳性率差异无统计学意义;12 075 份患者标本,CLIA 与 TPPA 结果不一致的有 25 份,其中 WB 法阳性 9 份。结合 WB 法结果,CLIA 阳性符合率 100.0%,TPPA 阳性符合率 98.7%。结论 CLIA 的敏感性与 TPPA 比较有一定优势,且具有操作简便、易于自动化等特点,适用于进行大规模的筛选试验。

关键词:梅毒血清诊断; 化学发光法; 颗粒凝集试验; 免疫印迹
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.11.032 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)11-1351-02

梅毒是苍白密螺旋体苍白亚种引起的一种性传播疾病,具有高度的传染性。近年来,中国梅毒的发病率呈较大的上升趋势,为了控制梅毒的传播,多数医院规定在手术前、输血前以及各种创伤性、侵入性操作前必须进行梅毒螺旋体抗体的检测,因此,选择一种高度敏感性、高度特异性、方便、快捷且能自动化的检测方法,有助于梅毒的准确、快捷诊断。目前,常用的梅毒血清学试验有:快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)、不加热血清反应素试验(USR)、甲苯胺红不加热血清实验(TRUST)、梅毒螺旋体血凝试验(TPHA)、梅毒螺旋体颗粒凝集试验(TPPA)、梅毒螺旋体酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)。而化学发光免疫分析(CLIA)作为国内新开发的一种检测梅毒的试剂,由于性能良好、能自动分析,越来越广泛地应用于临床。本研究对 195 份室间质量评价标本和 12 075 份患者血清标本进行梅毒螺旋体 CLIA 检测,对 CLIA 和 TPPA 结果不一致的患者标本,进行免疫印迹(WB)法确认。评价 CLIA 检测梅毒螺旋体特异性抗体的效果,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 福建省临床检验中心 2008~2011 年的室间质量评价标本 65 份,其中 43 份阳性,将标本行 2 倍、4 倍稀释后,与未稀释标本一起共计 195 份。12 075 份血清标本来自本院 2010 年 9 月至 2011 年 4 月住院患者标本,用真空促凝管采集静脉血 3 mL,分离血清,4~8℃冰箱保存,3 d 内检测。

1.2 仪器与试剂 CLIA 试剂盒购自北京科美东雅生物技术有限公司,RPR 试剂盒购自上海荣盛生物技术有限公司,TP-PA 试剂盒购自日本富士株式会社,WB 法试剂盒购自德国欧蒙医学实验诊断股份公司。CHEMCLIN600 化学发光免疫分析仪(北京科美东雅生物技术有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 195 份室间质量评价标本同时进行 CLIA 和 TPPA 检测,比较两方法的敏感性、特异性。

1.3.2 12 075 份患者标本,先进行 CLIA 检测,检测结果阳性的标本进行 TPPA 和 RPR 检测,分析 CLIA 阳性结果的 S/CO 值与 TPPA、RPR 的关系。对 CLIA 和 TPPA 结果不一致的标本,进行 WB 法确认。检测所用的试剂在有效期内,严格按照试剂操作说明书操作。

1.4 统计学处理 用 SPSS11.0 软件进行配对 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 195 份室间质量评价标本中,CLIA 法检测阳性 126 份,

TPPA 阳性 121 份,以回报结果为参考,则 CLIA 阳性率为 97.67%,TPPA 阳性率为 93.80%,两种方法差异无统计学意义($\chi^2=3.2,P<0.05$)。若以 TPPA 为相对标准,则 CLIA 敏感性为 100.0%(121/121),特异性为 93.2%。

2.2 12 075 份患者标本,CLIA 法检测阳性 709 份,阳性率 5.87%。709 份 CLIA 阳性标本中,TPPA 阳性 684 份,RPR 阳性 252 份。CLIA 的 S/CO 值在 1~10 有 85 份,其中 TPPA 阳性 65 份,RPR 阳性 26 份;10<S/CO≤20 有 162 份,其中 TPPA 阳性 157 份,RPR 阳性 70 份;S/CO>20 的 462 份,TP-PA 均阳性,RPR 阳性 156 份。CLIA 阳性 S/CO 值与 TPPA、RPR 检测结果的关系见表 1。

表 1 CLIA 阳性 S/CO 值与 TPPA、RPR 检测结果的关系			
S/CO	n	TPPA 阳性份数(n)	RPR 阳性份数(n)
1~10	85	65	26
>10~20	162	157	70
>20~30	211	211	72
>30~40	128	128	40
>40~50	71	71	27
>50~60	30	30	8
>60	22	22	9
合计	709	684	252

2.3 CLIA 与 TPPA 结果不一致的 25 份,经 WB 法检测,阳性 4 份,其中 1 份含 TP45、TP47 条带,2 份含 TP17、TP47 条带,1 份含 TP17、TP45、TP47 条带,不确定 5 份,均为单条 TP47 阳性。16 份 WB 法检测阴性的标本经 CLIA 法重新检测均为阴性。结合 WB 法结果,则 CLIA 阳性符合率 100.0%,TPPA 阳性符合率 98.7%。

3 讨论

人感染梅毒螺旋体 4~10 周后,可产生抗类脂抗原的非特异性抗体和抗梅毒螺旋体特异性抗体^[1],所以用于梅毒血清学试验有两类:一类是非密螺旋体抗体试验(NT-AT),包括性病研究实验室(VDRL)、RPR、USR、TRUST 等;另一类是密螺旋体抗体试验(T-AT),包括 TPHA、TPPA、TP-ELISA 及荧光密螺旋体抗体吸收试验(FTA-ABS)。梅毒的确诊主要依靠特异性抗体的检测及临床症状。TP-ELISA 是用纯化的基因重组梅毒螺旋体抗原包被和酶标记抗原采用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,但经常遇到假阳性的情况^[2]。TPPA 是目前国内常用的梅毒血清学确

诊试验,该试验采用的是纯化的致病性梅毒螺旋体(Nichols株)抗原,其敏感性、特异性均较高,被誉为“证实试验”,但这种试验并非完美无缺,仍可出现生物学假阳性^[3-4]。

CLIA 技术是 ELISA 技术的新发展,通过化学发光底物取代传统的显色底物,其特点是酶促增强发光信号,并稳定和延长发光信号时间,既保持发光免疫分析的高灵敏性,又克服了传统方法光信号持续时间短的缺点。目前常用的有辣根过氧化物酶催化鲁米诺发光和碱性磷酸酶催化金刚烷衍生物发光。CLIA 法检测梅毒螺旋体是近年应用的一种新技术,有报道其对各期梅毒的敏感性和特异性分别大于 98.7%和 99.9%^[5-6]。本研究对大量标本的检测结果显示 CLIA 阳性符合率为 100.0%,高于 TPPA 的 98.7%。对 CLIA 阳性结果的 S/CO 值分析,可以看出在 S/CO 值低时容易出现 TPPA 的阴性结果,结合 16 份 WB 法确认阴性,再次进行 CLIA 检测也为阴性的结果,这一方面说明 CLIA 在敏感性方面比 TPPA 有优势,同时也说明 CLIA 检测中会由于标本处理等原因而存在假阳性的结果。

在本研究中, WB 法检测阳性 4 份,其中 1 份含 TP45、TP47 条带, 2 份含 TP17、TP47 条带, 1 份含 TP17、TP45、TP47 条带, 不确定 5 份,均为单条 TP47 阳性。这是由于 CLIA 包被的梅毒抗原是针对 TP15、TP17、TP47 抗体,而 TPPA 采用的是纯化的致病性梅毒螺旋体菌体抗原,针对的是 TP15、TP45 的抗体,所以当仅有 TP17、TP47 抗体时, TPPA 无法出现阳性。有报道 TP47 为梅毒早期诊断指标^[7], TP15 是活动期梅毒标志抗体^[8-10], 因此,这 9 份抗体不全型梅毒标本可能属于早期感染或隐性感染的患者,说明 CLIA 比 TPPA 在早期或隐性梅毒感染中的检测更具优势。

综上所述,CLIA 作为新开发的梅毒抗体检测试剂,在敏感性上与 TPPA 比较有一定的优势,而且具有操作简便、易于自动化、结果判断客观且重复性好的特点,便于进行大规模的筛选试验。由于 CLIA 也存在个别的假阳性,在临床工作中,

• 检验技术与方法 •

可以将 CLIA 与 RPR 或 TRUST 进行结合检验,对阳性结果用 TPPA 进行复查,对于 CLIA 与 TPPA 结果不相符的,用 WB 法进行确认,以达到最准确的结果。

参考文献

[1] 刘建华. 4 种梅毒螺旋体检测方法的临床评价[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(9): 1031-1032.

[2] 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.

[3] 武建国. 老年人抗梅毒螺旋体抗体测定的假阳性率偏高[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(4): 241-243.

[4] 程艳杰, 王广杰, 王旭, 等. 梅毒螺旋体特异性抗体检测方法的实验室评价[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(3): 272.

[5] 侯晓青, 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] 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.

[7] 张良芬. 梅毒螺旋体 47 kD 脂蛋白的研究现状[J]. 国外医学皮肤性病学分册, 2001, 27(4): 219-221.

[8] Sato NS, Hiratani H, Hirata RDC, et al. Analysis of Treponema pallidum recombinant antigens for diagnosis of syphilis by western blotting technique[J]. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 1999, 41(2): 115-118.

[9] 何惠, 周迎春, 刘基铎, 等. 化学发光免疫测定在梅毒螺旋体抗体检测中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(13): 1469-1470.

[10] 白雪梅, 闪全忠, 刘欧, 等. 不同方法检测抗梅毒抗体阳性标本的分析[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(2): 96-98.

(收稿日期: 2011-08-12)

被动凝集法和 ELISA 法检测肺炎支原体抗体及其 IgM、IgG 分型研究

欧阳芳, 吴 豫, 龚跃云

(中国人民解放军第九四医院检验病理科, 南昌 330002)

摘要:目的 研究成人呼吸道感染患者中肺炎支原体(MP)抗体效价检测和 MP-IgM、MP-IgG 抗体分型检测结果的一致性及其在 MP 诊断中的价值。方法 分别采用被动颗粒凝集法(PPA)、ELISA 法检测 527 例成人呼吸道感染者的 MP 抗体效价、MP-IgG 和 MP-IgM, 对所测结果进行对比研究。结果 经配对 χ^2 检验发现, PPA 法与 ELISA 法所测得的 MP-IgM 结果之间差异有统计学意义($P=0.000$), 且结果缺乏一致性($Kappa=0.256$)。而 PPA 法与 ELISA 法所测得的 MP-IgG 结果之间差异无统计学意义($P=1.000$), 且具有良好的一致性($Kappa=0.702$)。如果将 MP-IgM 和(或)MP-IgG 阳性的患者均认为 ELISA 法检测阳性, 与 PPA 法所报告的 MP 抗体结果之间差异无统计学意义($P=0.073$), 两种报告方式之间具有更好的一致性($Kappa=0.746$)。结论 在成人患者中, 诊断 MP 感染不能仅依靠检测 MP-IgM, 而应动态检测 MP-IgG 或 MP 抗体效价, 并结合患者病史、发病时间、用药情况等因素综合分析。

关键词: 支原体, 肺炎; 被动凝集法; 酶联免疫吸附测定; 抗体分型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.11.033 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)11-1352-03

肺炎支原体(MP)是引起呼吸道感染最常见病原体^[1], 目前检测 MP-IgM 抗体是诊断 MP 感染的最常用的诊断证据^[2], 各临床实验室采用的检测方法也较多, 其中被动颗粒凝集法(PPA)和 ELISA 法都得到了广泛使用。然而在实际工作中使用这两种方法得出 IgM 阳性结果的一致性并不令人满意,

给临床解释工作带来一定的困难。一些临床研究也发现 PPA 法检测 MP 抗体阳性率偏高, 认为 PPA 法检测 MP 抗体所设置的 1:40 的阳性界值偏低, 应提高到 1:80 或 1:160^[3], 但实际工作中发现这样操作仍然不能完全解决问题, 尤其在成人患者中效果不明显。因此笔者采用这两种方法对成人患者的