

• 论 著 •

梅毒螺旋体明胶凝集试验对酶联免疫吸附试验法和金标法梅毒抗体检测的结果评价*

张 赞, 陈娜云, 孙 阳, 姚仁南[△]

(中国人民解放军九七医院输血科, 江苏徐州 221004)

摘要:目的 应用梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)法对 ELISA 法和胶体金法梅毒血清学检测试剂的临床适用性进行评价。方法 收集 6 291 例临床手术前或输血前住院患者的血清标本,采用 ELISA 法(试剂 A、试剂 B)和金标法分别进行初筛检测,初筛阳性或弱阳性标本用 TPPA 法做确证试验。结果 血清标本 6 291 份中,试剂 A、试剂 B、金标法检测阳性分别为 66、64、56 份,金标法阳性检出率与试剂 A、B 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。阳性标本经 TPPA 确证为 66 份,其中试剂 A、试剂 B 阳性均为 61 份,金标法为 56 份。试剂 A 检测为阳性的 5 份标本及试剂 B 检测为阳性的 3 份标本,经 TPPA 确证为阳性的分别为 3、2 份,金标法灵敏度与试剂 A、B 比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 ELISA 法灵敏度高,易实现自动化酶联免疫分析,适合临床手术前或输血前患者标本的筛查,金标法灵敏度低,但特异度高,方法简捷,适用于大规模健康体检及急诊手术前的初筛试验。为避免医疗纠纷,对 ELISA 法和金标法阳性的标本应用 TPPA 法来确诊。

关键词:梅毒; 梅毒螺旋体明胶凝集试验; 酶联免疫吸附试验; 胶体金法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.03.002

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)03-0291-03

TPPA method for evaluating ELISA method and colloidal gold method in detection results of syphilis antibody*

Zhang Zan, Chen Nayun, Sun Yang, Yao Rennan[△]

(Department of Blood Transfusion, 97 Hospital of PLA, Xuzhou, Jiangsu 221004, China)

Abstract: Objective To use the syphilis helicoid gelatin aggregation experiment (TPPA) method to compare the results of syphilis serological detection reagents between the ELISA method and the colloidal gold method for evaluating the clinical applicability of each detection reagent. **Methods** 6 291 serum samples were selected from the hospitalized patients before surgery or before blood transfusion, and performed the preliminary screening detection by the ELISA method (reagent A and B) and the colloidal gold method, the positive or weakly positive specimens in preliminary screening were performed the confirmation test by the TPPA method. **Results** In 6 291 serum specimens, the positive cases of the reagent A, reagent B and colloidal gold method were 66, 64 and 56 cases respectively, the positive detection rate of colloidal gold method had no obvious difference between the reagent A and reagent B ($P>0.05$). The positive samples were confirmed to be 66 cases by TPPA, including 61 cases of reagent A and reagent B positive, and the colloidal gold method had 56 cases. 5 cases of reagent A positive and 3 cases of reagent B positive were confirmed to be 3 and 2 cases by TPPA respectively, the sensitivity of the colloidal gold method had significant difference between the reagent A and reagent B ($P<0.05$). **Conclusion** ELISA method has high sensitivity and is easy to realize the automated enzyme-linked immunoassay, which is suitable for the screening of the patient sample before surgery or before blood transfusion. The colloidal gold method has low sensitivity, but high specificity, is simple and convenient which is suitable for large-scale healthy physical examination and preliminary screening test before emergency surgery. In order to avoid medical disputes, the positive samples by the ELISA method and colloidal gold method should be confirmed by the TPPA method.

Key words: syphilis; syphilis helicoid gelatin aggregation experiment; enzyme-linked immunosorbent assay; colloidal gold method

梅毒是临床上常见的一种经血液和性传播的传染性疾病,是由密螺旋体属苍白螺旋体的苍白亚种感染人体后引起的一种慢性传播疾病。梅毒可以引起患者的皮肤黏膜、心血管系统及神经系统等的病变。其病变过程比较缓慢,病程可以长达数十年,如果不及时诊断和系统治疗,可以引起严重的病变,对患者造成极大的危害^[1]。实验室检查结果对于梅毒的筛查具有重要的作用,对于早期发现梅毒螺旋体(TP)感染及监测临床治疗效果均有不可替代的作用^[2]。本研究分别应用 ELISA 法及金标

法对 2014 年 2~7 月的临床手术前或输血前住院患者血清标本进行检测,旨在探讨各检测试剂的临床适用性。现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 本院 2014 年 2~7 月的临床术前或输血前住院患者血清标本 6 291 份。

1.2 仪器与试剂 上海科华 ST-360 酶标仪,伯乐 1575 型全自动酶标洗板机。梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)试剂盒为日本富士生物制品株式会社产品,批号 VN30714;2 种抗

* 基金项目:南京军区医学科技创新重点课题项目(14ZD17)。 作者简介:张赞,男,主管技师,主要从事采供血、输血前免疫检测研究。

[△] 通讯作者, E-mail: yaorn97@sohu.com。

TP ELISA 试剂盒分别为上海科华实业有限公司生产的第三代批检合格产品,批号 201401031(ELISA 法试剂 A),北京万泰实业有限公司生产的第三代批检合格试剂盒,批号 N20140115(ELISA 法试剂 B)。金标法检测试剂为厦门英科新创科技有限公司产品,批号 2014020909。本次试验质控品由卫生与计划生育委员会临检中心提供。

1.3 检测方法 6 291 例临床手术前或输血前住院患者血清标本,分别进行 ELISA 法试剂 A、ELISA 法试剂 B、金标法检测,阳性标本经同批号试剂复查结果不变的,应用 TPPA 法做确证试验。各种试剂操作方法及结果判断均严格按照说明书要求进行。血清标本经首次检测为阳性后,置于 -80 °C 冰箱存放,避免被检标本反复冻融。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行数据处理及统计学处理,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 种梅毒血清学检测试剂结果比较 6 291 份血清标本经 ELISA 法试剂 A、试剂 B、金标法检测,阳性标本分别为 66 份(1.05%)、64 份(1.02%)、56 份(0.89%),金标法阳性检出率与 ELISA 法试剂 A、ELISA 法试剂 B 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 TPPA 法对 3 种梅毒血清学检测试剂的评价 TPPA 法检测结果显示,阳性标本 66 份。其中试剂 A、试剂 B 均阳性 61 份,金标法阳性为其中 56 份。试剂 A 检测为阳性的 5 份标本经 TPPA 确证 3 份为阳性,试剂 B 检测为阳性的 5 份标本经 TPPA 确证 2 份为阳性。试剂 A、试剂 B 灵敏度分别为 96.97%(64/66)、95.45%(63/66)。金标法检测阳性 56 份,灵敏度为 84.85%(56/66)。金标法与试剂 A、试剂 B 灵敏度比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 TPPA 法对试剂 A、试剂 B 和金标法阳性标本的检测结果($n=66$)

方法	阳性例数(n)	TPPA 法		灵敏度(%)
		阳性例数(n)	阴性例数(n)	
ELISA 法试剂 A	61+5	61+3	2	96.97*
ELISA 法试剂 B	61+3	61+2	1	95.45*
金标法	56	56	0	84.85

*: $P < 0.05$, 与试剂 A、试剂 B 比较。

2.3 ELISA 法试剂 A、试剂 B 和金标法检测结果不一致的 10 份标本原始数据分析 10 份血清标本 ELISA 法试剂 A、试剂 B 检测的标本吸光度/临界值(S/CO)均较低,大部分处于临界值附近,金标法检测结果均为阴性。这 10 份血清标本中 TPPA 法阳性 7 份,其滴度均较低(≤ 160)。数据显示 ELISA 法试剂检测结果在临界值附近时,金标法的灵敏度大大降低,提示单独使用金标法检测会导致漏检。见表 2。

表 2 10 份 3 种梅毒血清学检测不一致结果

编号	TPPA 法 [+/- (滴度)]	试剂 A [+/- (S/CO)]	试剂 B [+/- (S/CO)]	金标法 (+/-)
1	+(1:160)	+(4.421)	-(0.743)	-
2	+(1:80)	+(6.421)	-(0.886)	-

续表 2 10 份 3 种梅毒血清学检测不一致结果

编号	TPPA 法 [+/- (滴度)]	试剂 A [+/- (S/CO)]	试剂 B [+/- (S/CO)]	金标法 (+/-)
3	-(0:0)	-(0.364)	+(1.152)	-
4	+(1:80)	-(0.493)	+(2.676)	-
5	+(1:160)	+(7.264)	+(4.410)	-
6	-(0:0)	+(1.900)	-(0.924)	-
7	+(1:160)	+(10.764)	+(2.305)	-
8	+(1:80)	+(3.393)	-(0.962)	-
9	+(1:80)	-(0.050)	+(2.448)	-
10	-(0:0)	+(2.000)	-(0.543)	-

TPPA 法:(滴度) $\geq 1:80$ 即为阳性;试剂 A、试剂 B:(S/CO) ≥ 1 即为阳性。

3 讨 论

梅毒是严重危害人类健康的一种性传播疾病,具有高度的传染性,症状多样,且传播途径多,潜伏期长,发病初期常被患者忽视,易造成误诊、漏诊,社会危害极大^[3-4]。近年来随着人们思想的开放,社会活动增加和流动人口的加剧,梅毒感染率呈明显增长趋势,已成为较为严重的公共卫生问题。与此同时,梅毒与艾滋病密切相关,梅毒发病率高,意味着性乱现象严重,提供了艾滋病流行的条件。从医学角度来说,患有梅毒的人艾滋病感染的易感性会增加 2~10 倍^[5]。临床发现,除人为原因可引起梅毒检测假阳性外,还有生物学假阳性反应、非螺旋体疾病的病原体 and 某些疾病所致的反应素反应,如系统性红斑狼疮、疟疾、斑疹伤寒及乙型肝炎等^[6],此外,为防止梅毒院内感染,明确医患责任,在临床手术前或输血前进行 TP 筛查意义重大。所以对梅毒阳性标本应采用 TPPA 检测方法,并结合临床做好确诊工作^[7]。

目前,临床常用的梅毒抗体血清学检测方法为 TPPA 法、ELISA 法、金标法。TPPA 主要是把纯化致病性梅毒的精致菌株成分包被在人工载体明胶粒子上检测血清中相应的抗体。其灵敏度和特异度均较高,对各期梅毒的检测都有较好的稳定性,不易出现假阳性反应,作为确证试验被广泛使用,尤其对被检标本在临界值的情况下有较高的准确度。但其操作步骤繁琐,检测时需要将标本做系列倍比稀释,由于手工操作,大批量标本检测时会增加差错概率。肉眼判读结果较为主观,结果不易保存,又因试剂盒的价格较为昂贵,临床上难以将其作为常规的梅毒筛查项目来广泛开展^[8]。

ELISA 法的灵敏度高,对于梅毒窗口期可表现为阳性结果^[9]。原理是利用基因工程合成梅毒特异性抗原包被在微孔板上检测梅毒特异性抗体(IgM、IgG)。当梅毒感染机体后,首先出现 IgM 抗体,随着疾病的发展,IgG 抗体随后才慢慢上升^[10]。即使经过治疗 IgG 抗体在相当长的时间内仍可存在较高的阳性率,甚至终生阳性^[11]。因而 ELISA 法检测梅毒可避免因治疗或非活动期梅毒造成的漏检。本研究结果显示,ELISA 法试剂 A、试剂 B 灵敏度分别达到 96.97%(64/66)、95.45%(63/66),与 TPPA 灵敏度相近。数据还显示试剂 A、试剂 B 同时阳性的 61 份标本 TPPA 也阳性,提示使用不同厂家试剂同时检测可提高结果的准确性。ELISA 法具有灵敏度、特异度、阳性符合率较高等优点,且较易实现自动化酶联免

疫分析,能够进行标准化操作,更符合实验室室内和室间质量控制的要求。其结果判读客观,原始资料易于保存,具有溯源性。所以 ELISA 法是目前梅毒血清学诊断的最佳方法之一^[12]。

金标法是结合了抗原抗体反应与色谱层析技术的一项快速检测技术,具有方便快捷、成本低、对实验室环境要求不高、判读结果直观等特点,可在诊断领域中迅速推广^[13]。本研究结果显示,金标法阳性检出率为 0.89%,与试剂 A、B 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。金标法的灵敏度为 84.85%(56/66),与试剂 A、试剂 B 比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。因其灵敏度较低,易出现假阴性,所以只适合大批量的健康体检及急诊手术的初筛试验。

综上所述,ELISA 法具有较高的灵敏度、特异度和阳性符合率,与 TPPA 法相比,其成本低廉,且较易实现自动化酶联免疫分析,适用于大批量的临床手术或输血前标本的筛查工作。金标法具有检测时间快、假阳性少的优点,但其灵敏度较低,适用于大批量的健康体检及急诊手术前的初筛试验。为避免医疗纠纷,对 ELISA 法检测阳性的标本和金标法检测阳性的标本,均应采用 TPPA 法来确诊。

参考文献

[1] 张荣, 阚乃颖. 妊娠期梅毒的临床结局[J]. 安徽医药, 2012, 16(2):192-193.
 [2] 徐文严. 实验室检查对神经梅毒诊断的重要性[J]. 临床皮肤科杂志, 2009, 38(11):742-743.

[3] 曲惠青, 周晓生, 周肖龙, 等. 检测梅毒的四种方法临床应用比较[J]. 中国医药科学, 2013, 3(18):19-21.
 [4] 何细德, 代国知, 陈虹亮. 应用 TPPA 和 TRUST 试验检测梅毒螺旋体抗体及其临床意义[J]. 实用预防医学, 2012, 17(6):1199-1200.
 [5] 康来仪, 宁镇. 获得性免疫缺陷综合征与梅毒[J]. 上海医学检验杂志, 2002, 17(6):325-328.
 [6] 刘富然, 高新谱. 受血者输血前梅毒抗体筛查方法及临床意义[J]. 山东医药, 2003, 43(20):19.
 [7] 姚仁南, 陈玲, 陈娜云, 等. 27779 例患者输血治疗前血液传染性指标检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(16):652-653.
 [8] 刘金丽, 胡白, 赵政龙, 等. 梅毒血清固定发病原因及相关影响因素分析[J]. 安徽医药, 2010, 14(6):658-660.
 [9] 李从风. 梅毒螺旋体两种检测方法的比较[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(4):355-356.
 [10] Welch RJ, Litwin CM. An evaluation of two immunoblot assays and a western blot assay for the detection of anti-Syphilis IgG antibodies[J]. Clin Vaccine Immunol, 2009, 25, 18(4):255-260.
 [11] 李雷花. 四种梅毒抗体血清学检验方法的比较[J]. 中国实用医药, 2012, 7(16):110-111.
 [12] 刘鹏, 冯国基. 梅毒螺旋体的检测技术与应用现状[J]. 实用医药杂志, 2005, 22(10):939-941.
 [13] 陈晓亮, 浦响, 徐卉, 等. 一种梅毒螺旋体重组抗原胶体金的制备[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2010, 24(9):865-867.

(收稿日期:2015-08-28)

(上接第 290 页)

果提示,该荧光标记抗体具有肿瘤特异性,可为临床恶性浆膜腔积液的早期诊断提供一定的理论基础。

参考文献

[1] Emdada L, Iee SG, Su ZZ, et al. Astrocyte elevated gene-1 (AEG-1) functions as an oncogene and regulates angiogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(50):21300-21305.
 [2] Bergamaschi A, Kim YH, Wang P, et al. Distinct patterns of DNA copy number alteration are associated with different clinicopathological features and gene-expression subtypes of breast cancer[J]. Genes Chromosom Cancer, 2006, 45(3):1033-1040.
 [3] Poon TC, Wong N, Lai PB, et al. A tumor progression model for hepatocellular carcinoma; bioinformatic analysis of genomic data [J]. Gastroenterology, 2006, 131(4), 1262-1270.
 [4] Yoo BK, Emdad I, Lee SG, et al. Astrocyte elevated gene-1 (AEG-1): a multifunctional regulator of normal and abnormal physiology[J]. Pharmacol Ther, 2011, 130(1):1-8.
 [5] Lee SG, Su ZZ, Emdad L, et al. Astrocyte elevated gene 1 (AEG-1) is a target gene of oncogenic Haras requiring phosphatidylinositol 3-kinase and cMyc[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(46):17390-17395.
 [6] Emdad L, Sarkar D, Su ZZ, et al. Astrocyte elevated gene-1: recent insights into a novel gene in involved in tumor progression, metasta-

sis and neurodegeneration[J]. Pharmacol Pharmacol Ther, 2007, 114(2):155-170.

[7] Chen W, Ke Z, Shi H, et al. Over-expression of AEG-1 in renal cell carcinoma and its correlation with tumor nuclear grade and progression[J]. Neoplasma, 2010, 57(6):522-529.
 [8] Emdad L, Sarkar D, Lee SG, et al. Astrocyte elevate gene-1: a novel target for human glioma therapy[J]. Mol Cancer Ther, 2010, 9(1):79-88.
 [9] Liu L, Wu J, Ying Z, et al. Astrocyte elevate gene-1 upregulates matrix metalloproteinase-9 and induces human glioma invasion [J]. Cancer Res 2010, 70(4):3750-3759.
 [10] Song H, Li C, Li R, et al. Prognostic significance of AEG-1 expression in colorectal carcinoma[J]. Int J Colorectal Dis, 2010, 25(10):1201-1209.
 [11] Xia Z, Zhang N, Jin H, et al. Clinical significance of astrocyte elevate gene-1 expression in human oligodendrogliomas [J]. Clin Neurol Neurosurg, 2010, 112(2):413-419.

(收稿日期:2015-09-22)

