

低浓度梅毒螺旋体抗体的调查与分析

吉飞跃, 钱开成, 崔益祥(南通大学附属海安医院检验科, 江苏海安 226600)

【摘要】 目的 探讨改进梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)以检出酶联免疫吸附试验(ELISA)检出的低浓度梅毒螺旋体抗体。方法 使用标准品和家兔免疫血清测试两种方法对低浓度梅毒螺旋体抗体的灵敏度,改进 TPPA,从原倍稀释开始检测低浓度梅毒螺旋体抗体标本。结果 两种方法的灵敏度不一致,ELISA 初筛试验约可出现 11% 的低浓度样本,改进 TPPA 可检出这部分低浓度样本。结论 ELISA 检出的低浓度梅毒螺旋体抗体 TPPA 可通过改进稀释方法检出。

【关键词】 梅毒螺旋体; 梅毒螺旋体明胶凝集试验; 酶联免疫吸附试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.01.011 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)01-0022-02

Investigation and analysis on low concentration of antibody of Treponema pallidum JI Fei-yue, QIAN Kai-cheng, CUI Yi-xiang (Department of Clinical Laboratory, Affiliated Haian Hospital, Nantong University, Haian, Jiangsu 226600, China)

【Abstract】 Objective To improve the check method of Treponema pallidum particle assay(TPPA) for detecting the low concentrations of Treponema pallidum(TP) antibody detect by ELISA. **Methods** The standard and rabbit immune serum were used to test the sensitivity of two methods to the low concentrations of TP antibody. The TPPA method was improved to detect the low concentration of antibody from beginning of the original time dilution. **Results** The sensitivities of the two methods were inconsistent. Using ELISA method as preliminary screening test could arise about 11% low concentrations samples of TP antibody, which could be detected by the improved TPPA. **Conclusion** The low concentrations of TP antibody detected by ELISA can be detected by TPPA with the improved dilution method.

【Key words】 treponema pallidum; Treponema pallidum particle assay; ELISA

近年来,临床广泛使用酶联免疫吸附试验(ELISA)筛查抗梅毒螺旋体(TP)抗体,结果出现抗体阳性率急剧上升,尤其以老年人居多^[1]。目前常推荐采用梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)来确证,但由于不同方法的灵敏度不同,导致两种方法间结果不一致,尤其在低浓度样本这一现象比较明显。虽然荧光密螺旋体抗体吸收试验(FTA-ABS)为公认的诊断金标准,但其灵敏度低于 ELISA、TPPA^[2-3],因此作者认为对于低浓度样本不宜使用 FTA-ABS 来确证。本文按照世界卫生组织(WHO)推荐的方法^[4],即使用 ELISA 进行初筛,采用 TPPA 进行确诊的办法,将 ELISA 筛选出的低浓度抗体,改进 TPPA 稀释方法,探讨检出低浓度抗体的检出。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选择 2009 年 4 月至 2010 年 11 月本院住院患者输血前梅毒抗体筛查者合计 30 856 例。

1.2 仪器与试剂 意大利 SEAC 公司 Alisei 全自动酶联免疫分析仪,伯乐 BIO RAD1575 洗板机。ELISA 试剂盒使用珠海丽珠试剂股份有限公司生产的梅毒螺旋体抗体诊断试剂盒(双抗原夹心酶免法);凝集法试剂为日本富士瑞必欧株式会社生产的赛乐迪亚 TPPA 梅毒螺旋体抗体(凝集法)诊断试剂;抗梅毒螺旋体标准物质来源于北京康彻思坦生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 低浓度 TP 抗体标本筛查 所有患者标本使用全自动酶免分析仪筛查 TP 抗体,样本 S/CO>1 者,结果初步判断为有反应性,再用 ELISA 双孔复检,任一孔判读为有反应性者

使用 TPPA 确认,所有操作均按试剂说明书进行。TPPA、ELISA 两种方法共同有反应性者报告梅毒抗体阳性,甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)检测结果另行报告,记录检测结果。

1.3.2 ELISA、TPPA 方法学敏感性比较 选取 2 NCU/mL 的标准物质及 TPPA 试剂盒中阳性对照血清,该阳性对照血清为梅毒螺旋体(Nichols 株)家兔免疫血清,效价为 1:320,ELISA 按照常规方法进行操作,改良 TPPA 稀释方法进行测定,稀释滴度依次为 1:2、1:4、1:8、1:16……同时作阴性血清及未致敏颗粒的对照试验,所有样本均进行双份检测,得到初次 ELISA 的 S/CO 值及 TPPA 稀释滴度结果。根据初次试验结果,将标准品及阳性血清稀释不同倍数,参照初次试验方法检测,记录检测结果。

1.3.3 低浓度抗体患者样本 TPPA 法的滴度检测 将 1.3.1 中筛选出来的 ELISA 阳性但 TPPA 阴性这一类型的标本,共 54 例,疑为低浓度梅毒抗体阳性;经调查该部分患者排除自身免疫性疾病;使用 1.3.2 中的倍比稀释方法对这部分样本进行检测,记录结果。

1.4 统计学处理 使用 Excel 软件进行处理、计算。

2 结果

2.1 ELISA 筛查 489 例 TP 抗体有反应性,S/CO 均值约为 4.6;共有 434 例经 TPPA 证实为阳性,该部分 ELISA 结果 S/CO 均值约为 5.4;其余 54 例为 TPPA 检测为阴性,约占 11%,其 S/CO 均值约为 3.4;住院人群阳性率为 1.45%,TPPA 可

直接确认为 91.6%，ELISA 的结果为阳性。

2.2 使用 ELISA 最低可检出约 0.8 NCU/mL 的标准物质，最低可检出的家兔免疫血清的滴度约为 1:24；使用 TPPA 检出 1 NCU/mL 标准物质的滴度为 1:4，使用 TPPA 1:80 的判断标准可以检测出标准物质浓度约为 6 NCU/mL。

2.3 54 例低浓度标本经 TPPA 从原倍开始倍比稀释检测后，所有标本在 1:4 稀释度上均为阳性，54 例判读为阳性的滴度均值约 1:32。54 例低浓度标本的 TRUST 方法检测结果均为阴性。

3 讨 论

临床上特异性检测梅毒螺旋体抗体常采用 ELISA 初筛，采用 TPPA 确认。ELISA 使用的是重组抗原，灵敏度较高，但易受到类风湿因子、补体、嗜异性抗体、嗜靶抗原的自身抗体、医源性诱导的抗鼠 Ig(s) 抗体、交叉反应物质等因素的影响，导致其特异性下降。TPPA 采用梅毒螺旋体(Nichols 株)菌体抗原，使用明胶颗粒为载体，试验过程中不使用外来抗体，上述 ELISA 的诸多干扰因素(交叉反应物质除外)对 TPPA 检测影响不大。因此该组合方法筛选检测为 WHO 所推荐。

参照曹树正等^[5]的报道，考虑钩状效应等因素，本试验进行了 ELISA 复检。结果表明：按常规方法测定，约 11% 的 ELISA 阳性标本被 TPPA 确证时判断为阴性。54 例低浓度标本经改进 TPPA 稀释方法检测后，结果均表现为有反应性，这表明该部分标本存在低浓度梅毒抗体，对两种不同类型的抗原均有反应性。

本研究结果表明，ELISA 检测的敏感性高于 TPPA(按 1:80 的判断标准)，这种差异可导致位于 0.8~6.0 NCU/mL 浓度的样本，在经 TPPA 确认时判断为阴性。这种情况的出现，作者认为可能与 TPPA 以 FTA-ABS 为标准设定的临界判定值(cut off)有关^[6]，而实际上 ELISA、TPPA 的灵敏度高于 FTA-ABS，因此对于低浓度样本盲目依赖 FTA-ABS 为金标准并不可取。

按照免疫学的基本原理，TPPA 中 IgG 型抗体反应性较 IgM 型抗体反应性弱。在感染性疾病的潜伏期、恢复期、免疫缺陷症感染者或隐性感染者等人群中，抗体绝大部分以 IgG 型为主，IgM 型抗体含量较低，因此这部分人群在通过 TPPA 法检测时，往往表现为较低滴度的反应性。由于这部分人群梅毒症状不明显，抗体检测结果模棱两可，所以常常为流行病学调查

者和临床所忽视。但这部分低浓度人群中存在进一步发展的可能，因此应予以重视。

通过以上因素分析，作者认为：临床检验工作中应根据实验室实际情况，可适当降低 TPPA 的 cut off 值，使得同一实验室两种办法的敏感度保持基本一致。如经 TPPA 确证时，浓度高于 1:80 的判断标准，直接判断 TP 抗体为阳性；如遭遇低浓度样本，即 TPPA 浓度低于 1:80，ELISA 为有反应性，则应再进行从原倍稀释开始试验，同时做好对照试验，如两种方法均有阳性反应，可判读为弱反应性，可提示临床注意。如有条件，使用其他高灵敏度、高特异性的方法进一步分析，以保证梅毒抗体检测的准确性。这样做有助于提高实验室诊断早期梅毒、隐性梅毒的能力，也有助于梅毒螺旋体的流行病学调查研究^[7]。

参考文献

- [1] 吉飞跃,钱开成,崔益祥,等.江苏省海安县 16932 例住院患者梅毒感染情况调查[J].中华流行病学杂志,2005,26(6):766.
- [2] Young H, Moyes A, Seagar L, et al. Novel recombinant-antigen enzyme immunoassay for serological diagnosis of syphilis[J]. J Clin Microbiol, 1998, 36(4):913-917.
- [3] Young H. Guidelines for serological testing for syphilis [J]. Sex Transm Infect, 2000, 76(5):403-405.
- [4] Egglestone SI, Turner AJ. Serological diagnosis of syphilis. PHLS Syphilis Serology Working Group[J]. Commun Dis Public Health, 2000, 3(3):158-162.
- [5] 曹树正,王文武,张真路.梅毒检测“灰区”样本的分析[J].实用医学杂志,2010,26(3):476-477.
- [6] Deguchi M, Hosotsubo H, Yamashita N, et al. Evaluation of gelatin particle agglutination method for detection of Treponema pallidum antibody[J]. Kansenshogaku Zasshi, 1994, 68(10):1271-1277.
- [7] 李金明.感染性疾病血清学检验中应重视对弱反应性标本的确认[J].中华检验医学杂志,2006,29(7):577.

(收稿日期:2011-06-26)

(上接第 21 页)

- [7] Mizumoto Y, Kyo S, Takakura M, et al. Ca72-4(TAG72) [J]. Nihon Rinsho, 2010, 68(Suppl 7):717-719.
- [8] Talar-Wojnarowska R, Gasiorowska A, Olakowski M, et al. Clinical value of serum neopterin, tissue polypeptide-specific antigen and CA19-9 levels in differential diagnosis between pancreatic cancer and chronic pancreatitis [J]. Pancreatology, 2010, 10(6):689-694.

- [9] 潘源,宋丰举,崔林,等.胃癌联合检测 CA72-4, CA242, CA19-9 和 CEA 的临床意义与诊断价值[J].中国肿瘤临床,2009,36(13):729-731.
- [10] 杨海蔚,温怀凯,余玲玲.4 种血清肿瘤标志物的检测对胃癌的诊断价值[J].现代中西医结合杂志,2007,16(27):4041-4042.

(收稿日期:2011-06-21)