

酶联免疫吸附试验检测梅毒抗体的应用评价

桂万羊, 邓宇峰(安徽省铜陵市铜陵有色职工总医院检验科 244000)

【摘要】 目的 评价酶联免疫吸附试验(ELISA)在临床应用于梅毒患者诊断的效果。方法 采用 ELISA 方法对住院患者血清进行梅毒抗体检测,收集阳性标本,同时随机收集部分 ELISA 法检测为阴性样本,使用 TPPA 试验作为确认试验,从而判断 ELISA 方法与 TPPA 检测方法的差异性。结果 两种检测方法的一致率较高。ELISA 的灵敏度为 100%,假阴性率是 0,特异性为 89.83%,假阳性率是 10.17%。假阳性结果主要出现在 $1 \leq S/CO < 3$ 的区间内。结论 TP-ELISA 能有效应用于梅毒的临床筛查,对于检测结果在 $1 \leq S/CO < 3$ 时,应进行确认试验,以减少假阳性。

【关键词】 梅毒; 梅毒螺旋体; 梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验; 酶联免疫吸附试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.20.012 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)20-2552-02

Application evaluation of ELISA method for detecting specific antibodies of *Treponema pallidum* GUI Wan-yang, DENG Yu-feng (Tongling Nonferrous Metals Workers General Hospital, Tongling, Anhui 244000, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the effects of the ELISA method in the diagnosis of *Treponema pallidum* (TP) infection. Methods The serum samples from inpatients were detected the TP antibodies by ELISA for collecting the positive samples. At the same time, partial negative samples in ELISA detection were collected randomly. The collected samples were confirmed by the TPPA test. Then the difference between ELISA test and TPPA test was judged. Results The concordance rate of the two detection methods was higher. The sensitivity of ELISA was 100%, the false negative rate was 0, the specificity was 89.83% and the false positive rate was 10.17%. The false positive results occurred mainly in the interval range of $1 \leq S/Co < 3$. Conclusion TP-ELISA can be effectively applied in clinical screening of syphilis. If the detection results was in $1 \leq S/Co < 3$, the confirmatory test should be conducted for reducing false positive.

【Key words】 syphilis; *Treponema pallidum*; TP gelatin particle agglutination test; enzyme linked immunosorbent assay

梅毒螺旋体是引起人类梅毒的病原体。长期以来临床实验室诊断梅毒螺旋体感染的血清实验主要有快速血清反应素环状卡片试验(RPR)、梅毒甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)及梅毒螺旋体血凝试验(TPHA)、梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)等。RPR、TRUST 属于非特异性试验,不能够用于梅毒的确诊,在一些感染和自身免疫性疾病患者中易出现假阳性^[1]。TPHA、TPPA 虽然特异性和灵敏度均高,但由于其试剂成本高、收费高也不宜用作筛检试验。且很多医院对于手术患者和接受输血的患者,在受血前进行梅毒、艾滋病等传染病指标检测已成为临床常规项目^[2],样本量较以往均有明显增加。因此,选择一种合适的检测方法用于梅毒的批量检测显得尤为重要。梅毒 ELISA 试剂(TP-ELISA)从理论上兼顾了 TRUST 和 TPPA 试验的优点,且适用于梅毒的批量样本的检测。为了探讨 ELISA 在临床上的实用价值,作者采用 ELISA 对临床标本进行检测,得到的阳性检测结果经 TPPA 确认,同时随机抽取部分阴性检测样本进行 TPPA,以评价 TP-ELISA 的应用效果。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 选择本院 2010 年 12 月至 2011 年 11 月收治的住院患者血清标本,包括各科各年龄共 186 例。

1.2 仪器与试剂 酶标仪(上海科华 ST-360 酶标仪)和洗板机(深圳凯特 KWP-100A)。ELISA 试剂盒(上海科华试剂有限公司),TPPA 试剂盒(日本富士公司产品)。

1.3 方法 TP-ELISA 采用两步法进行操作,150 min 内检测

完成;TPPA 采用被动凝集法,2 h 观察结果,具体操作均严格按照说明书进行。

1.4 统计学方法 两种方法间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 用两种方法对 186 份血清梅毒特异性抗体进行检测,其中 TP-ELISA 法检测阳性 80 例,阴性 106 例;TPPA 法检测阳性 68 例,阴性 118 例。对两种方法检测的结果采用 χ^2 检验进行比较,差异无统计学意义,说明两者检测一致性较高。结果见表 1。

表 1 两种方法检测 252 份血清梅毒特异性抗体结果(n)

TPPA	TP-ELISA		合计
	阳性	阴性	
阳性	68	0	68
阴性	12	106	118
合计	80	106	186

注: $\chi^2 = 10.08, 0 < P < 0.005$,但数据中出现了样本为 0,统计学有差异,但无临床实际意义。

2.2 以 TPPA 为参考方法,计算 TP-ELISA 的灵敏度、特异性、假阴性率及假阳性率。灵敏度 = (梅毒患者中阳性例数/梅毒患者总例数) $\times 100\% = (68/68) \times 100\% = 100\%$;特异性 = (非梅毒患者中阴性例数/非梅毒患者总例数) $\times 100\% = (106/118) \times 100\% = 89.83\%$;假阴性率 = $1 - \text{灵敏度} = 0$;假

阳性率 = 1 - 特异性 = 10.17%。

2.3 为了更好地观察 TP-ELISA 检测结果,以 S/CO 值作为指标,分为 S/CO < 1, 1 ≤ S/CO < 3, 3 ≤ S/CO < 6 以及 S/CO ≥ 6 四个等级,观察两种方法的检测结果,以更好分析 TP-ELISA 出现假阳性的情况,结果见表 2。从表中可以看出,只有在 1 ≤ S/CO < 3 的区间内,TP-ELISA 法才会出现假阳性结果。

表 2 不同 S/CO 值时两种方法的检测结果

组别	TP-ELISA		TPPA	
	阳性	阴性	阳性	阴性
S/CO < 1	0	106	0	106
1 ≤ S/CO < 3	19	0	7	12
3 ≤ S/CO < 6	15	0	15	0
S/CO ≥ 6	46	0	46	0

3 讨 论

TP-ELISA 是将基因重组表达的梅毒螺旋体抗原联合包被在微孔板上,用双抗原夹心法测定梅毒特异性抗体。TP-ELISA 检测具有 ELISA 的多种优点,并且适用于样本的批量检测^[2],如果检测结果能和梅毒的确证试验如 TPPA、TPHA 相一致,那么对于检验人员的工作量是一个巨大的解放,也是降低检验成本的一个有效的方法。

在试验中,将收集的样本经两种方法检验,差异以 TPPA 作为参考方法,结果(表 1)经 χ^2 检验,差异有统计学意义,但仔细对该样本资料分析发现两个检测方法的一致率较高,差异无临床意义,说明 TP-ELISA 法可以替代 TPPA 用于梅毒复查。经计算,ELISA 方法的灵敏度为 100%,假阴性率是 0%,特异性为 89.83%,假阳性率是 10.17%。ELISA 方法的假阳性率比文献报道的高^[3-4]。TP-ELISA 方法的假阴性率为 0,这也提示 ELISA 方法能够有效地筛除掉梅毒阴性样本。梅毒属于传染性疾病,试验假阳性会造成误诊,给患者造成精神和身体上的痛苦,而假阴性往往造成漏检、漏诊,使患者不能得到及

时医治而延误病情或造成更广泛的传染。为了发现 TP-ELISA 出现假阳性的概率,作者将检测的标本以 S/CO(样品 A 值/临界值)进行分级,结果见表 2。从表 2 中可见,出现 ELISA 假阳性结果均在 1 ≤ S/CO < 3 的区间内,这提示尽管试剂说明书上标明 S/CO ≥ 1 为阳性,但在临床实际工作中当 1 ≤ S/CO < 3 时,可能存在一定的假阳性,因为 ELISA 法检测过程中会受到各种因素影响^[5]。这和唐跃华等^[6]报道相一致。此时应该通过 TPPA、TPHA 等确认试验给予确认以排除。

因此,作者认为,TP-ELISA 能有效应用于梅毒的临床筛查,在检测结果在 1 ≤ S/CO < 3 时应进行确认试验,以减少假阳性;在 S/CO ≥ 3 时,可基本确定为梅毒感染。

参考文献

[1] Contreras MA, Andru JL, Lsasi C, et al. False positive treponemal test result in a patient with active systemic lupus erythematosus[J]. J Rheumatol, 2000, 27(8): 2059.

[2] 宫济武,李淑萍,周航,等. 受血者输血前相关检测在医院感染控制中意义的探讨[J]. 中华医院感染学杂志, 2002, 12(9): 641-642.

[3] 王露楠,邓巍,李金明. 梅毒螺旋体感染不同血清学诊断方法的临床评价[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(6): 352-353.

[4] 张国忠,薛国章,林丽容,等. 梅毒血清学试验的方法学比较及对国产第一代 ELISA 试剂的初步评价[J]. 中国输血杂志, 2001, 14(10): 19-20.

[5] 张德志. 关于 ELISA 检测影响因素分析[J]. 中外医学研究, 2011, 8(4): 53.

[6] 唐跃华,谢健敏,刘建辉. ELISA 法检测梅毒螺旋体的临床应用评价[J]. 中华传染病杂志, 2003, 21(4): 280-281.

(收稿日期:2012-03-21)

(上接第 2551 页)

[8] 张青,肖和平. ADA 检测在淋巴细胞性胸腔积液中的应用价值[J]. 临床肺科杂志, 2003, 8(2): 103-104.

[9] 秦忠琦. 结核性胸腔积液联合检测鉴别诊断的探讨[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(4): 700-702.

[10] Sharma SK, Mohan A. Adenosine deaminase in the diagnosis of tuberculosis pleural effusion [J]. Indian J Chest Dis Allied Sci, 1996, 38(2): 69-71.

[11] 严碧涯,端木洪谨. 结核病学[M]. 北京:北京出版社, 2003: 398-578.

[12] 何菊芳,董梅,朱蕾,等. 肺结核患者血清中 ADA、TBA 以及 HS-CRP 等指标水平的调查分析[J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(9): 1147-1149.

[13] 宋花玲,贺佳,黄品贤,等. ROC 曲线下面积估计的参数法与非参数法的应用研究[J]. 第二军医大学学报, 2006,

27(7): 726-728.

[14] Xue K, Xiong S, Xiong W. Clinical value of vascular endothelial growth factor combined with interferon-gamma in diagnosing malignant pleural effusion and tuberculous pleural effusion[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2007, 27(5): 495-497.

[15] Porcel JM. Pearls and myths in pleural fluid analysis[J]. Respirology, 2011, 16(1): 44-52.

[16] Porcel JM, Esquerda A, Bielsa S. Diagnostic performance of adenosine deaminase activity in pleural fluid: a single-center experience with over 2100 consecutive patients [J]. Eur J Intern Med, 2010, 21(5): 419-423.

(收稿日期:2012-03-19)