血液筛查实验室梅毒实用性筛查方案的探讨

汤龙海, 金一鸣, 董 丽, 江丽娜, 潘志荣, 曹 谊 (江苏省苏州市中心血站检验科 215006)

【摘要】 目的 对梅毒螺旋体抗体胶体金法和酶联免疫吸附试验(ELISA)法和梅毒螺旋体抗体诊断凝集法(TPPA)3种实验方法进行应用评价,然后对梅毒的筛查方案进行探讨。**方法** 收集 ELISA 梅毒检测阳性的标本用胶体金法和 TPPA 方法进行检测,然后对结果进行比较。**结果** ELISA 方法进行梅毒检测阳性的标本共 147 例,其中用胶体金法方法检出 79 例,占 54%(79/147);TPPA 方法检出 89 例,占 61%(89/147)。**结论** 胶体金法其特异性高但灵敏度低,可以用于采血前初筛检测,ELISA 方法可以用于血液采集后的初复检筛查,最后用特异性好的 TPPA 方法进行确认,这种针对血液中梅毒抗体的筛查方案是从保证血液的安全性、操作的方便性和经济性 3 个方面来考虑的。

【关键词】 梅毒螺旋体; 胶体金法; 梅毒螺旋体抗体诊断凝集法; 酶联免疫吸附试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.14.008 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)14-1682-02

Study on practical programs for syphilis examination in blood screening laboratories TANG Long-hai, JIN Yi-ming, DONG Li, JIANG Li-na, PAN Zhi-rong, CAO Yi (Department of Clinical Laboratory, Suzhou Blood Center, Suzhou, Jiangsu 215006, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the three experimental methods of treponema colloidal gold assay and enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) and treponema pallidum particle agglutination assay(TPPA) detection on treponema pallidum antibody, and then explore the syphilis screening program. **Methods** We collected positive samples of treponema pallidum antibody tested by ELISA, and tested these by colloidal gold and TPPA and then compared the results. **Results** Among 147 ELISA-positive patients in test group, 89 were confirmed by TPPA and the positive coincidence rate was 61% (89 /147). 79 were positive by colloidal gold and the positive coincidence rate was 54% (79/147). **Conclusion** Colloidal gold assay with high specificity but low sensitivity, can be used for screening test, ELISA method can be used as a screening method after blood collection, TPPA is performed as a confirmatory test. The screening programs for treponema pallidum antibody detection in blood are to ensure the safety of the blood, the operation of the convenience and economy of three to consider.

【Key words】 treponema pallidum; colloidal gold assay; TPPA; ELISA

梅毒是可以由输血传播的疾病,感染后可造成人体多器官和神经的损害,其后果十分严重,我国近年来梅毒的发病率呈逐年上升的趋势^[1]。选择适当有效的检测方案进行血液筛查对于做好无偿献血工作保证血液安全和避免血液浪费是十分重要的。现对目前常用的胶体金法、酶联免疫吸附试验(ELISA)法和梅毒螺旋体抗体诊断凝集法(TPPA)法 3 种方法使用比较,进行方案整合,其结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 从本血站无偿献血者的血液标本中用 ELISA 法双试剂筛出的梅毒抗体阳性的标本共 147 例。

1.2 试剂 胶体金法试剂(厦门新创科技有限公司);TP-ELISA 试剂(厦门新创科技有限公司和珠海丽珠公司);梅毒螺旋体抗体诊断试剂(日本富士株式会社);梅毒质控血清(卫生部临检中心)。所有试剂均严格按照试剂说明书操作,并在有效期内使用。

1.3 仪器 全自动加样系统:瑞士帝肯公司 GENESIS RSP200/型自动样仪;全自动后处理系统:澳斯邦公司 FAME2420/2430 全自动酶免仪;实验室软件:烟台海威实验室软件管理系统。

1.4 方法 采用两种 TP-ELISA 试剂同时对上述标本的血浆进行梅毒筛查,双试剂同时阳性的标本作为筛查阳性,单试剂阳性者进行双孔复检,双孔复检阳性的标本作为筛查阳性。

筛查阳性标本血浆均使用 TPPA 作进一步确证试验;同时对筛查阳性的标本用胶体金试剂进行检测,各试验所有操作均严格按照试剂盒说明书和《中国输血技术操作规程血站部分》规定要求进行。

2 结 果

2.1 从本血站无偿献血者的血液标本中用两种 TP-ELISA 试剂共筛查出梅毒阳性的样本 147 例,其中两种试剂同时检测阳性 102 例,单试剂阳性 45 例。

2.2 147 例梅毒筛查阳性的标本经 TPPA 方法确证的为 89 例,这 89 例中两种 TP-ELISA 试剂同时检测阳性的有 84 例,5 例单试剂阳性。在 TP-ELISA 检测吸光度(A 值)只有为 2.0~3.0 的标本,胶体金法可在 5 min 内出结果,检出率 100%,A 值为 0.5 以下的标本,胶体金法基本检测不出。在 TP-ELISA 双试剂检测同时阳性的标本中 A 值为 2.0~3.0 的标本,TP-PA 确认阳性,符合率 100%。A 值为 1.0 以下的标本,TPPA 确认阳性的只有 2 例。其中还有 1 例 A 值为 0.5 以下的弱阳性标本。

2.3 147 例复检阳性的标本经胶体金法方法检出 79 例,占 54%。

3 讨 论

人体感染梅毒螺旋体后可在不同时间段产生特异性抗梅毒螺旋体抗体和非特异性抗类脂质抗体。主要是通过检测血液中

这两种特异性和非特异性抗体来进行梅毒的诊断的,而梅毒特异性抗体出现早、消失迟,即便经过正规抗梅毒治疗,仍可检出,甚至可终生检出^[2]。本研究主要的检测梅毒特异性抗体的方法是 ELISA 方法,它还可以检出梅毒的免疫球蛋白(IgG)抗体以及早期的 IgM 抗体,有很高的灵敏度^[3-4],同时配合自动化的前处理加样和后处理酶标免疫检测系统以及实验室软件管理系统进行标准化操作还便于检测质量的控制和管理,是目前全国采供血机构应用比较广泛的方法^[5],所以本研究在实验中把 TP-ELISA 检测结果作为比较对象通过与胶体金法和 TPPA 法检测结果的对比评价制订筛查方案。

首先从实验结果看出,147 例 TP-ELISA 阳性标本,胶体金法检测出 79 例,检出率为 54%。胶体金法是目前临床应用比较普遍的一种方法,它是以基因工程方法生产的重组梅毒螺旋体外膜蛋白为包被抗原,采用胶体金标记和免疫层析技术,它的特点是快速、简便,而且对仪器环境无特殊要求^[6]。结果中本研究观察到:在 TP-ELISA 检测吸光度(A 值)只有为 2.0~3.0 的标本,胶体金法可在 5 min 内出结果,检出率 100%,A 值为 0.5 以下的标本,胶体金法基本检测不出,可以看出胶体金法特异性强但灵敏度比 ELISA 低。79 例胶体金法检测阳性的标本中有 72 例 TPPA 确认阳性,符合率 91%,作为一种快速筛查的方法,与确认方法比较能有高符合率,结合它的快速、简便,而且对环境无特殊要求的特点,把胶体金法应用在街头无偿献血者献血前的筛查还有成分血(如血小板)的采前筛查中肯定能淘汰一定数量的梅毒阳性的无偿献血者,减少血液的浪费,这还是很有意义的。

147 例 TP-ELISA 阳性标本,TPPA 法确认 89 例,检出率为 61%。TPPA 多采用梅毒螺旋体全菌体抗原或基因工程重组抗原,特异性强,临床上包括疾控中心会把它当作梅毒的确诊试验^[7],缺点是试剂较贵,检测方法繁琐,检测用时较长,不利于大批量标本筛查。本研究发现在 TP-ELISA 单试剂检测阳性的标本中,只有 5 例 TPPA 确认阳性,在 TP-ELISA 双试剂检测同时阳性的标本中 A 值为 2.0~3.0 的标本,TPPA 确认阳性,符合率 100%;A 值为 1.0 以下的标本,TPPA 确认阳性的只有 2 例。其中还有 1 例 A 值为 0.5 以下的弱阳性标本,从这可以看出 ELISA 方法虽然有很多优点,但假阳性率也是很高的,147 例标本经 TPPA 确认只有 61%被确认阳性,假如在报废之前进行 TPPA 确认,那么就会有 58 例的安全的血液不被误报废,所以在血液供应紧张的今天,对 ELISA 的阳性结

果,临床工作者还是很有必要进行 TPPA 的确认。

从保证血液的安全性、操作的自动化和血液资源的稀缺性 3 个方面考虑,本研究认为针对梅毒的筛查,最好能采取以下方案,首先在未采血前先用胶体金法筛查,合格后献血,献血完后的血液标本用双 ELISA 试剂筛查,如果双试剂阳性且结果 A 值在 2.0~3.0 的,血液直接报废;A 值在小于 2.0 或者是单试剂筛查阳性的,必须用 TPPA 确认,确认阳性的(包括无法确认的)直接报废;确认阴性的,报阴性结果。因为梅毒螺旋体在 4℃ 以下存活 72 h,为了确保安全^[8],这部分血液储存 4℃ 以下 3 d 后再发放临床;同时本研究建议考虑到目前国内的梅毒 ELISA 试剂的品牌较多,灵敏度、特异性也不一样,因此,在使用前进行认真的评估和选择也显得尤为重要。

参考文献

[1] 张君炎. 我国性病流行和控制工作情况以及面临的挑战[J]. 预防医学论坛, 2005, 11(3): 381-384.
 [2] Lambert NL, Fisher M, Imrie J, et al. Community based syphilis screening: feasibility, acceptability, and effectiveness in case finding[J]. Sex Transm Infect, 2005, 81(3): 213-216.
 [3] 郭兑山, 宁平, 方德强. 梅毒螺旋体抗体 IgG ELISA 和 RPR 试验的比较[J]. 中国输血杂志, 2001, 14(2): 88-89.
 [4] 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.
 [5] 程玉根, 唐郁. 不同 ELISA 试剂梅毒抗体阳性献血者标本 TPPA 检测分析[J]. 中国输血杂志, 2009, 22(9): 749-750.
 [6] 徐树良, 赵源源, 蒋理. 胶体金法检测梅毒螺旋体特异性抗体的适用性分析[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(3): 158-159.
 [7] 熊礼宽. 如何提高性传播疾病的实验诊断的准确性[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 23(5): 261-263.
 [8] 贾文祥. 医学微生物学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 278.

(收稿日期: 2011-02-11)

(上接第 1681 页)

发现,及早治疗。梅毒 3 种血清学方法以及临床结果进行对比分析,结果显示 3 种方法灵敏度均符合临床需要,TPPA 特异性较好,3 种方法均存在一定的假阳性率。一般来说 3 种方法中任何一种都可用来做梅毒中期筛查实验,梅毒早期最好选择 ELISA,确诊实验应选择 TPPA。

参考文献

[1] 马莉, 孙波, 隋丛强. 3 种试剂检测梅毒抗体结果比较[J]. 中国卫生工程学, 2007, 5(2): 108-110.
 [2] 康淑霞, 朱安友, 王凤超, 等. ELISA 法筛查联合 TRUST、TPPA 在梅毒诊断中的应用价值[J]. 实用全科医学, 2007, 6(5): 545-546.

[3] 张峥嵘, 孙浩, 鲁润明, 等. 梅毒螺旋体基因重组抗原酶联免疫吸附实验的探讨[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2000, 20(1): 78.
 [4] 姬铁闯, 法爱玲, 张悦, 等. 酶联免疫吸附法在梅毒检测中的应用研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(10): 1252-1253.
 [5] 聂冬梅, 叶贤林, 邓超干, 等. 3 种梅毒抗体筛查方法的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(7): 615-621.
 [6] 刘小平, 邓岩. 3 种梅毒血清学诊断方法在梅毒诊治中的应用价值[J]. 检验医学, 2004, 19(4): 310-311.

(收稿日期: 2011-02-21)