

· 论 著 · DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2022. 07. 009

4 种不同方法在献血者梅毒检测中的应用*

陈邦锐, 许婷婷, 张红, 乐森
武汉血液中心, 湖北武汉 430030

摘要:目的 制订合适的血液梅毒筛查策略。方法 2018 年 1—6 月该地区采集的 78 997 份标本采用两种不同的梅毒酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂检测,共检出 331 份梅毒 ELISA 初筛阳性的标本(包括双试剂阳性标本 227 份,单试剂阳性标本 104 份),再进行梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)、金标试纸条、快速血浆反应素试验(RPR)检测,以 TPPA 为金标准,比较各方法之间的检测结果差异。结果 梅毒初筛 ELISA 单试剂阳性标本 104 份,TPPA 检出 3 份阳性,金标试纸条检出 1 份阳性,RPR 检出 1 份阳性,其余为阴性;梅毒初筛 ELISA 双试剂阳性标本 227 份,TPPA 检出 209 份阳性,金标试纸条检出 192 份阳性,RPR 检出 39 份阳性。结论 梅毒 ELISA 试剂存在一定比例的假阳性,尤其是单试剂阳性,所以有必要进行确证试验,为献血者归队策略提供数据支持;另外建议献血前加做梅毒金标试纸条初筛,可有效降低因梅毒假阳性导致的血液报废;最后 TPPA 确证为阳性的标本,可补充 RPR 试验,以有效判断献血者所处的感染状态,便于接受献血者的试验咨询。

关键词:献血者; 梅毒; 酶联免疫吸附试验; 梅毒螺旋体明胶凝集试验; 快速血浆反应素
中图分类号:R446.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2022)07-0898-04

The application of four different methods in the detection of syphilis in blood donors*

CHEN Bangrui, XU Tingting, ZHANG Hong, YUE Miao
Wuhan Blood Center, Wuhan, Hubei 430030, China

Abstract: Objective To develop appropriate blood screening strategy for syphilis. **Methods** From January to June 2018, 78 997 blood samples were collected for donation in Wuhan. Two different syphilis ELISA reagents were used to detect the samples, 331 samples were positive. Then treponema pallidum gelatin agglutination test (TPPA), gold standard test strip and rapid plasma reagin test (RPR) were used to detect the 331 samples. TPPA positive was used as the gold standard to compare the detection characteristics of each method. **Results** Among 104 positive samples of single reagent ELISA, TPPA positive was detected in 3 cases, gold standard test strip positive was detected in 1 case, RPR positive was detected in 1 case, the rest were negative. Among 227 positive samples of double reagent ELISA, TPPA positive was detected in 209 cases, gold standard test strip positive was detected in 192 cases, and RPR positive was detected in 39 cases. **Conclusion** Syphilis ELISA reagent has a certain proportion of false positive, especially single reagent positive, so it is necessary to make confirmatory test to provide data support for the strategy of blood donors returning. In addition, it is suggested to do syphilis gold standard test strip screening before blood donation, which could effectively reduce the blood waste caused by syphilis positive. Finally, the samples confirmed as positive by TPPA could supplement RPR test, which could effectively judge the infection status of blood donors, which is convenient for the consultation and reply to blood donors.

Key words: blood donors; syphilis; Enzyme-linked immunosorbent assay; treponema pallidum gelatin agglutination test; rapid plasma reagin test

梅毒是由苍白密螺旋体感染引起的一种常见性传播疾病,可导致心血管、神经系统、皮肤等全身性病变,近年来其发病率呈上升趋势。国内采供血机构的

血液因梅毒阳性的报废率也在上升^[1],在血液报废的传染类指标中,梅毒阳性报废率已经超过丙型肝炎病毒和人类免疫缺陷病毒(HIV)阳性的报废率。有研

* 基金项目:湖北省武汉市卫生健康委员会医学科研项目(WG18Z06)。

作者简介:陈邦锐,男,副主任技师,主要从事血液安全筛查研究。

本文引用格式:陈邦锐,许婷婷,张红,等.4 种不同方法在献血者梅毒检测中的应用[J]. 检验医学与临床,2022,19(7):898-901.

究报道中国的部分地区无偿献血者梅毒阳性率为 0.56%~0.59%^[2],梅毒感染已成为威胁血液安全的重要因素之一,而实验室对梅毒的准确检测是治疗和控制梅毒传播的一个前提。目前,酶联免疫吸附试验(ELISA)因检测成本低,灵敏度高,操作方法简单成熟,且可以实现自动化、批量化检测等优点,在采供血机构各实验室已成为梅毒血清学检测的主要方法之一。在采供血机构实验室中,同一项目的 ELISA 检测采用两个不同厂家的试剂同时进行检测,结果中就有双试剂阳性和一定比例的单试剂阳性,根据《血站质量管理规范》要求,凡出现梅毒阳性结果均予以屏蔽献血资格。因此,笔者认为有必要对采用 ELISA 进行梅毒初筛阳性的献血者进行梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)、金标试纸条、快速血浆反应素试验(RPR)检测,并对不同方法的检测结果进行比较,目的是为了有效减少血液资源浪费,同时也为献血者咨询提供更好的服务,减少献血者的心理负担和不必要的纠纷,也为以后的献血者归队提供一定数据支持。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2018 年 1—6 月本中心采集的 78 997 份献血者标本中经 ELISA 检出的 331 份梅毒阳性标本,包括双试剂阳性标本 227 份、单试剂阳性(包括灰区值, S/CO ≥ 0.70)标本 104 份。

1.2 仪器与试剂 全自动酶免分析仪 FAME, 型号 24/20(瑞士 HAMILTON);加样仪 STAR, 型号 8CH(瑞士 HAMILTON);洗板机 HYDROFLEX(奥地利 TECAN);酶标仪 SUNRISE(奥地利 TECAN);离心机 ST40R(德国 Thermo Fisher);梅毒自动混旋仪 TL-2000B(中国 天力)。厦门新创梅毒螺旋体抗体检测试剂盒(试剂 A,批号 2018047512、2018067518);广州丽珠梅毒螺旋体抗体检测试剂盒(试剂 B,批号 2018010208、2018041008);上海科华梅毒螺旋体抗体检测试剂盒(试剂 C,批号 201708251),在采样检测期间,先以新创和科华试剂组合使用,后期更换为新创和丽珠试剂组合使用。日本富士瑞必欧株式会社 TPPA 试剂,批号 VN81025;上海科华 RPR 试剂,批号 20181005;厦门新创梅毒金标试纸条,批号 2018113351。所有试剂均批检合格,并在有效期内使用。

1.3 方法 收集双试剂阳性标本、单试剂阳性重复检测仍为阳性标本,同时进行 TPPA、金标试纸条、RPR 检测。TPPA 检测时严格按照试剂盒说明书进行操作。TPPA 步骤如下:室温条件下在 U 型板上用稀释液依次倍比稀释标本,然后分别加入未致敏和致敏明胶颗粒,振荡混合 30 s,加盖后于室温(15~30 ℃)下水平静置。2 h 后,在观察镜上记录并观察其反应图像,进行测定结果的判定。RPR 步骤如下:在卡片上滴加一滴试剂,抹匀,然后加 50 μL 标本,卡

片旋转 8 min 后观察结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据处理及统计分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

104 份 ELISA 单试剂阳性标本进行 TPPA、金标试纸条、RPR 检测,仅 3 份标本 TPPA 呈阳性,金标试纸条检出 1 份阳性,RPR 检出 1 份阳性,其余为阴性,见表 1。227 份 ELISA 双试剂阳性标本进行 TPPA、金标试纸条、RPR 检测,有 209 份 TPPA 呈阳性,梅毒 ELISA 检测结果和 TPPA 确证结果比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 246.37, P < 0.01$)。ELISA 双试剂阳性的标本进行 TPPA、金标试纸条、RPR 检测,3 种方法均阳性 39 份;TPPA、金标试纸条均阳性,RPR 阴性 153 份;TPPA 阳性,金标试纸条、RPR 阴性 17 份;3 种方法均阴性 18 份。ELISA 双试剂检测的 S/CO 值与 TPPA 比较见表 2,当 S/CO 值 ≥ 5.00 时,ELISA 与 TPPA 符合率很高,当 S/CO 值 < 5.00 时,二者才略有差异;ELISA 单试剂检测的 S/CO 值与 TPPA 比较见表 3。

表 1 ELISA 单试剂阳性标本 3 种方法联合检测呈阳性的 3 份标本结果

标本序号	S/CO	TPPA	金标试纸条	RPR
13	试剂 A 4.50;试剂 C 0.50	+	+	-
37	试剂 A 0.04;试剂 B 2.64	+	-	-
131	试剂 C 0.40;试剂 B 3.20	+	-	+

表 2 ELISA 双试剂阳性 S/CO 值与 TPPA 对应情况(n/n)

S/CO	试剂 A/TPPA+	试剂 B/TPPA+	试剂 C/TPPA+
1.00~<5.00	6/2	8/1	7/4
5.00~10.00	16/15	15/15	7/7
>10.00	59/59	143/143	85/85

注:该表以单个试剂进行统计,日常检测以其中两种不同厂家试剂组合。

表 3 ELISA 单试剂阳性 S/CO 值与 TPPA 对应表(n)

试剂	S/CO < 0.70	TPPA+	S/CO ≥ 0.70	TPPA+
试剂 A	74	1	17	1
试剂 B	11	0	85	2
试剂 C	19	2	2	0

注:该表以单个试剂进行统计,日常检测结果以其中两种不同厂家试剂的组合。

3 讨论

TPPA 是目前公认的梅毒确证方法,具有很高的检测效能,常用于梅毒初筛试验后的确证检测,检测

的是梅毒特异性抗体,该抗体可终身存在体内,即使患者被治愈后仍然可以存在;RPR 是检测梅毒患者血液中非特异性的心磷脂抗体,多用于梅毒病情发展判断和疗效观察,但在感染早期检出效能低,且治愈后该抗体会逐渐消失;梅毒金标试纸条检测快速简单,且对环境要求不高,适合采血现场使用,但灵敏度不高,仅用于献血前的初筛;梅毒 ELISA 具有试剂稳定性好、价格适宜、灵敏度较高、操作简单、可实现批量自动化检测等优点,因此在采供血机构被广泛使用。目前行业内多采用两个不同生产厂家的 ELISA 试剂同时检测梅毒特异性抗体。ELISA 试剂的方法学多为双抗原夹心法,该方法灵敏度较高,因而在实际检测中不可避免地会有假阳性存在^[2-3],同时由于方法学上的缺陷及包被原料的差异,也存在一定的漏检风险^[4]。比较梅毒 ELISA 试剂呈反应性的 331 份标本的 TPPA、金标试纸条、RPR 检测结果,单试剂阳性的 104 份标本中仅有 3 份 TPPA 确证为阳性,有 101 份确证为阴性;双试剂阳性的 227 份标本中有 209 份 TPPA 确证为阳性,18 份确证为阴性,ELISA 与 TPPA 检测结果比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。以 TPPA 作为金标准,则 ELISA 存在较多假阳性结果,统计梅毒 ELISA 试剂检出的不合格标本,TPPA 总的确证阳性率仅为 64.05%(212/331),但这一结果仍高于胡晓玉等^[5]报道的确证阳性率 57.24%,以及李玲等^[6]报道的确证阳性率 38.87%。但是本着安全第一,保护用血者安全的角度考虑,这部分筛查结果为假阳性的血液亦做报废处理,献血者资格采取永久屏蔽的策略。这不仅造成血液资源的浪费,还会造成献血者资源的流失,而且梅毒假阳性结果给献血者带来了一些困扰,甚至导致家庭矛盾,产生一定的精神压力^[7]。

本研究结果显示,梅毒 ELISA 双试剂阳性检测结果的 TPPA 确证阳性符合率高达 92.07%(209/227),低于王艳彬等^[8]在文献中报道的 93.82%;而单试剂阳性检测结果的(包括灰区标本)TPPA 确证阳性符合率为 2.88%(3/104),低于王艳彬等^[8]在文献中报道的 7.44%,这得益于本机构工作人员良好的操作能力,以及优良的试剂选择。血站系统为了提高血液安全性,均采用灵敏度高的 ELISA 筛查试剂,在实际工作中允许存在一定假阳性结果。另外,根据 WHO 发布的《筛查献血者血液经输血传播感染的建议书》可知,要求血站开展筛查的同时,也建议开展确证试验,分别用于献血者筛查和献血后服务管理。选择灵敏度、特异度高的 ELISA 试剂,并且对 ELISA 检测不合格的标本进行梅毒确证试验,不但可以提高梅毒检出率、保证血液安全,而且可以减少因为假阳性结果给献血者带来的不必要麻烦,减少

献血者的流失;采供血机构咨询人员也可以更好地开展咨询工作,为献血者做好解释、回访服务。根据本研究数据,笔者发现 ELISA 双试剂阳性的结果 S/CO 值与 TPPA 具有很高的符合率,TPPA 检出率与 S/CO 值呈正比,而 ELISA 单试剂阳性的标本 TPPA 确证阳性率极低,且 S/CO 值与 TPPA 不具有相关性,因此,笔者建议目前仅针对 ELISA 单试剂阳性标本进行 TPPA 确证,这样可以有效减少工作量,提高效率^[9],即对于梅毒 ELISA 单试剂阳性且 TPPA 确证阳性结果的献血者必须进行屏蔽处理;对于梅毒 ELISA 单试剂阳性而 TPPA 确证阴性献血者可纳入献血者归队人群管理,待献血者满献血间隔期后重新进行采样检测,再次进行梅毒 ELISA 及 TPPA 确证,结果若均为阴性,则献血者可归队,结果仍为阳性者作屏蔽处理。这样既可以最大限度地保证血液质量,也可以减少因试剂的假阳性结果给献血者造成的心理负担,缓解采供血机构与献血者之间的不必要矛盾,促进采供血事业的可持续健康发展。

本研究结果还显示,单试剂检测可能存在漏检,在确证为阳性的标本中,有 3 份标本 ELISA 单侧阳性标本其对侧检测结果小于 cut off 值(0.7),其 S/CO 值别为 0.50、0.04、0.40,说明 ELISA 实行双试剂检测还是有必要的,同时笔者准备下一步对该 3 份标本及献血者进行追踪,做回访调查分析。

在 TPPA 梅毒确证为阳性的标本中梅毒金标试纸条检出率高达 91.04%(193/212),说明梅毒金标试纸条与 TPPA 具有较高的符合率^[10],如果采用梅毒金标试纸条则可以有效降低血液报废率,减少血液资源的浪费,建议在献血前采用梅毒金标试纸条进行初筛,用来在献血前淘汰一部分梅毒真阳性感染者。同时,梅毒感染既有既往感染,也有现症感染,即 TPPA+/RPR+ 为现症感染,TPPA+/RPR- 为既往感染,本研究中现症感染占 18.87%(40/212),多数为既往感染人群,因为梅毒感染是可以通过有效药物治疗的,且可治愈,但其特异性抗体会长期存在^[11]。实际工作中,存在一部分现症感染者来献血,可能是在发生危险行为后,为了自我体检而来献血,这为献血者招募工作带来了挑战,要求工作人员进一步提高对献血者献血前的问询水平,同时针对梅毒现症感染者在回访咨询时可以告知其做进一步的检测与治疗,以免造成梅毒感染者的家庭内传播及社会上传播。

综上所述,血液安全永远是第一位,血液检测方法也要不断优化,应该是全流程覆盖,包括献血前检测、献血后常规检测及常规检测后的结果分析。因此,可以采用不同检测方法与技术,即在献血之前有必要进行梅毒金标试纸条检测,淘汰一部分梅毒感染者,这可以在一定程度上减少因梅毒阳性而导致的血

液报废;在常规检测中要选择灵敏度和特异度较高的 ELISA 试剂,不断优化试剂组合,尽量减少假阳性的发生,减少不必要的血液报废;同时在采血之后针对梅毒 ELISA 单试剂阳性标本,通过 TPPA 确证试验,有效鉴别出假阳性,为献血者结果咨询提供准确答复,减少献血者心理负担和精神困扰,提高公众对无偿献血的信任度,为献血者提供更好的精细化服务;将不同的检测方法应用在血液检测的不同阶段,提高采供血机构的血液安全和服务质量,甚至可以为以后构建梅毒初筛反应性献血者归队策略做好数据支持。目前全国采供血机构还没有形成统一的梅毒初筛反应性献血者归队指南,即 ELISA 任意 1 种试剂有反应性均判为不合格,屏蔽献血资格,而在国外,在明确梅毒治愈 1 年后,即便特异性抗体(如 ELISA 检测)呈反应性,若非特异性抗体(RPR 检测)无反应性,则献血者仍然可以献血。最近几年国内大多数血站尝试归队的梅毒初筛反应性献血者人群仅仅针对 TP-PA 阴性或不确定结果,相信随着更多实验室的参与,更多数据的积累,我国的献血者归队策略将更加完善。

参考文献

[1] 陈剑锋,肖晨,李蓬. 济南地区无偿献血人群梅毒感染状况分析[J]. 中国性科学, 2020, 29(8): 153-156.
 [2] 靖春旭,赵菲,沈延平,等. 南阳地区无偿献血人群梅毒感染状况分析及预防输血传播途径的策略[J]. 中国输血杂

志, 2021, 34(7): 751-753.
 [3] 潘丽艳,晏燕. ELISA 法检测梅毒特异性抗体假阳性分析[J]. 中国继续医学教育, 2019, 11(31): 95-97.
 [4] 何芮,李玲,钱立琼,等. 梅毒螺旋体筛查反应性献血者 S/CO 值与真阳性的相关性研究[J]. 中国输血杂志, 2019, 32(8): 762-763.
 [5] 胡晓玉,吴学忠,程卫芳,等. 梅毒抗体筛检不合格献血者的梅毒确认及梅毒感染状况分析[J]. 临床输血与检验, 2020, 22(2): 142-147.
 [6] 李玲,郭晓婕,牛丽彬,等. 梅毒螺旋体抗体筛查反应性献血者归队策略研究[J]. 中国输血杂志, 2016, 29(1): 21-23.
 [7] 李玲,刘忠. 初筛反应性献血者确证方案与归队策略分析[J]. 中国输血杂志, 2016, 29(1): 1-2.
 [8] 王艳彬,韩卫,张慧贤,等. 无偿献血者梅毒 ELISA 不合格结果的 TPPA 确证分析[J]. 医学动物防制, 2015, 31(9): 958-960.
 [9] 周晓真,江伟梅,林洪铿,等. 福州地区无偿献血人群梅毒感染检测情况分析[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(12): 1341-1342.
 [10] 蔡县成,叶青,刘芳菲,等. 无偿献血者献血前梅毒螺旋体抗体快速检测结果分析及策略优化[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(13): 1784-1785.
 [11] 王艳彬,韩卫,张慧贤,等. 对无偿献血者梅毒 ELISA 检测阳性结果的确证及分析[J]. 临床血液学杂志, 2015, 28(12): 693-694.

(收稿日期:2021-09-02 修回日期:2022-01-05)

(上接第 897 页)

[3] XU X, ZHOU G W, FU Q, et al. Efficacy of intra-arterial thrombolytic therapy for vision loss resulting from hyaluronic acid filler embolization[J]. J Cosm Dermatol, 2021, 6(4): 1111-1114.
 [4] 吴凡,马俊芬,平杰丹,等. 早期平均血小板体积/淋巴细胞比值对急性脑梗死的诊断价值[J]. 郑州大学学报(医学版), 2020, 55(1): 89-92.
 [5] 于兰兰,刘飞,赵素芹,等. 丁苯酞联合双抗血小板治疗对急性分水岭脑梗死近期神经功能、日常生活能力的影响[J]. 河北医药, 2020, 42(10): 1511-1514.
 [6] 魏兴海. 第五届全国脑血管病学术会议简介[J]. 现代康复, 2000, 4(3): 357.
 [7] HAYNES J, SHAPIRO M, RAZ E, et al. Intra-arterial thrombolytic therapy for acute anterior spinal artery stroke[J]. J Clin Neurosci, 2020, 84(2): 102-105.
 [8] CHEN J L, DURIS K, YANG X B. Effect of cerebral microbleeds on hemorrhagic transformation and functional prognosis after intravenous thrombolysis of cerebral infarction[J]. Brain Hemorrh, 2021, 13(4): 113-119.
 [9] MIAO J F, SONG X Y, SUN W Z, et al. Predictors of malignant cerebral edema in cerebral artery infarction: a

Meta-analysis[J]. J Neurol Sci, 2020, 409(15): 1160-1167.
 [10] 郎娜,张娟,乔赞芳. 双联抗血小板和不同剂量阿托伐他汀钙治疗急性脑梗死患者临床疗效及对颈动脉粥样硬化的影响[J]. 贵州医药, 2020, 44(1): 49-50.
 [11] 孙逸夫,肖成华,陆军,等. 急性脑梗死患者不同 MS 组分对其血小板聚集功能的影响及相关性研究[J]. 徐州医科大学学报, 2020, 40(3): 185-189.
 [12] 刘湧,肖立,宋艳红,等. 脑梗死患者血栓弹力图与血小板指标的相关性[J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(9): 2332-2335.
 [13] 雷军. 急性脑梗死患者平均血小板体积和血小板压积与短期功能恢复关联[J]. 山西医药杂志, 2020, 48(11): 1397-1399.
 [14] 韩光. 外周血血小板参数对评估急性脑梗死患者生活能力改善的临床价值[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(2): 119-123.
 [15] 梅花,曹建. 平均血小板体积与急性脑梗死的相关性分析[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志, 2020, 15(5): 563-565.

(收稿日期:2021-08-06 修回日期:2021-12-09)