

四种梅毒血清学检测方法 在梅毒抗体不确定样本的分析及评价*

王欣俞¹, 赵晋文¹, 张廷海¹, 高雅婷¹, 孙斌², 高德禄¹, 魏殿军¹, 郭奕阳³

(1. 河北燕达医院检验科, 河北廊坊 066251; 2. 中国人民解放军第三〇九医院检验科, 北京 100091; 3. 河北医科大学第四医院检验科, 石家庄 050000)

摘要:目的 探讨应用于梅毒抗体不确定样本的四种梅毒检测方法的分析及评价。方法 纳入于2018年1月~2019年1月期间, 河北燕达医院应用美国雅培 Architect i2000 全自动化学发光仪化学发光微粒子免疫检测法(CMIA), 对梅毒筛查结果为 $1 \leq S/CO < 10$ 的弱反应性的190例人群为研究对象, 收集患者的临床资料和实验数据, 应用梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)、快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)、CMIA梅毒实验室检测方法分别对敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、误诊率以及漏诊率进行分析比对。结果 Architect i2000 CMIA初筛 S/CO 值 $1 \sim 10$ 反应性结果190例, 选用TPPA, RPR及TP-WB三种梅毒检测试验方法复核, 对四种梅毒试验检测方法进行比较, 以梅毒抗体免疫印迹法(TP-WB)检测结果为确认实验标准, 检出56例阳性, 134例阴性。确证试验显示为56例阳性(占29.5%)。CMIA与TPPA阳性符合率为75.3%(143/190); TPPA结果与TP-WB阳性符合率为28.4%(54/190), 误诊率为66.42%(89/134), 漏诊率为3.57%(2/56), 阴性预测值为95.74%(45/47), RPR现正感染阳性预测值100%(2/2), 阴性预测值为100%(188/188)。结论 在梅毒血清临床样本筛查中出现弱反应性结果时, 对于检测弱反应性结果不一致的标本应首选免疫印迹法检测确证, 避免临床诊断中漏诊或者误诊发生。

关键词:梅毒; 化学发光微粒子免疫检测法; 梅毒螺旋体凝集试验; 快速血浆反应素环状卡片试验; 梅毒抗体免疫印迹法

中图分类号: R377.1; R446.61 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)03-109-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.03.026

Analysis and Evaluation of Four Syphilis Detection Methods in Uncertain Samples of Syphilis Antibody

WANG Xin-yu¹, ZHAO Jin-wen¹, ZHANG Yan-hai¹, GAO Ya-ting¹, SUN Bin²,

GAO De-lu¹, WEI Dian-jun¹, GUO Yi-yang³ (1. Department of Clinical Laboratory, Hebei Yanda Hospital, Hebei Langfang 066251, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the 309th Hospital of the People's Liberation Army, Beijing 100091, China; 3. Department of Clinical Laboratory, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the analysis and evaluation of four syphilis detection methods in uncertain samples of syphilis antibody. **Methods** From Jan. 2018 to Jan. 2019, 190 patients in Hebei Yanda Hospital were screened for S/CO with a value of less than 1 to < 10 , the Abbott Architect i2000 automatic chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA). The clinical data and experimental data were collected, and the treponema pallidum particle agglutination (TPPA) was calculated for the sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, misdiagnosis rate and missed diagnosis rate of rapid plasma reactin ring card test (RPR) and CMIA syphilis laboratory detection methods. **Results** 190 patients with S/CO value (≥ 1 to < 10) were screened by Architect i2000 CMIA, TPPA, RPR and TP-WB were used to check the results. Four syphilis test methods were compared. The results of TP-WB were used as the confirmation standard. 56 cases were positive and 134 cases were negative. Confirmation test showed that 56 cases (29.5%) were positive. The positive coincidence rate between CMIA and TPPA was 75.3% (143/190), the positive coincidence rate between TPPA and TP-WB was 28.4% (54/190), the misdiagnosis rate was 66.42% (89/134), the missed diagnosis rate was 3.57% (2/56), the negative predictive value was 95.74% (45/47), the positive predictive value of RPR was 100% (2/2) and the negative predictive value was 100% (188/188). **Conclusion** When weak reactivity results occur in the screening of syphilis serum clinical samples, immunoblotting should be first used to detect the samples with inconsistent weak reactivity results, avoid missed diagnosis or misdiagnosis in clinical diagnosis.

* 基金项目: 河北省卫生青年科技课题项目(20180899)。

作者简介: 王欣俞(1983—), 女, 本科, 副主任技师, 从事临床免疫学检验, E-mail: 532161952@qq.com。

通讯作者: 魏殿军(1962—), 男, 博士研究生, 教授, 从事临床免疫学检验, E-mail: 1127089887@qq.com。

Keywords: syphilis; chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA); treponema pallidum particle agglutination assay (TPPA); rapid plasma regain card test (RPR); syphilis antibody western blot (TP-WB)

梅毒是一种全球流行的传染病,被列为《中华人民共和国传染病防治法》乙类防治管理的病种及《性病防治管理办法》中5种重点防控性病之一^[1]。有研究表明,男男性行为人群中 HIV 与梅毒共感染率高达 50%~70%^[2],梅毒的诊断主要根据病史、临床表现和实验室血清学检测。梅毒螺旋体抗体血清检测是目前临床常用的检测方法^[3],在梅毒的诊断方面起到重要的作用^[4]。选择不同的检测方法,由于敏感度和特异度不同,可能造成漏检或者误诊,严重影响就诊者的身心健康,并导致医疗纠纷^[5]。本研究对经化学发光微粒子免疫检测法 (chemiluminescence microparticle immunoassay, CMIA) 梅毒螺旋体抗体筛查的不确定标本进行梅毒螺旋体抗体免疫印迹试验 (treponema pallidum-western blot, TP-WB)、梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验 (treponema pallidum particle agglutination assay, TPPA) 及快速血浆反应素环状卡片试验 (rapid plasma reagin, RPR) 法检测对比及分析评价,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 回顾性纳入 2018 年 1 月~2019 年 1 月期间,河北燕达医院 27 831 例经 CMIA 法梅毒螺旋体抗体筛查样本,其中选取检测结果 S/CO 比值在 1~10.0 内反应性的不确定标本 190 例为研究对象,其中男性 76 例,女性 114 例,平均年龄 45±17 岁。

1.2 试剂和仪器 CMIA 检测法试剂盒及 ARCHITECT i2000 仪器(美国雅培公司);TPPA 检测法试剂(日本富士公司的瑞必欧株式会社);TP-WB 检测试剂盒(德国欧蒙公司);RPR 试剂(上海科华公司)。

1.3 检测方法 抽取患者空腹静脉血 5 ml, 3 000 r/min 离心 10 min, 血清样本加样, -20℃ 保存。CMIA 法:采用 CMIA 检测梅毒特异性抗体,仪器测得样本发光值,计算反应物浓度,依据临界值对结果进行判断, S/CO≥1 为梅毒螺旋体抗体反应性, S/CO<1 为非反应性。RPR 法:取 50 μl 血清

滴加反应卡片,加 50 μl 抗原悬液,微量旋转仪器震动卡片 8 min 后观察结果。TPPA 法:在 25 μl 待测血清中加入 100 μl 稀释液混匀,吸取 25 μl 混合液滴加微孔板,再加稀释液 25 μl 倍比稀释,重复上述操作,混匀静止 2 h 后观察结果。TP-WB 法:采用重组梅毒螺旋体基因蛋白抗原,通过含电泳转移硝酸纤维素膜分离的梅毒螺旋体抗原检测膜条置于全自动免疫印迹仪 EUROBlotMasterII 检测,通过 EUROLIneScan 软件读取反应结果。以上所有操作和结果判定均严格按照作业指导书进行,实验同时设置阴性和阳性质控。

1.4 观察指标统计 CMIA, RPR, TPPA 和 TP-WB 检测梅毒螺旋体抗体的结果;对比梅毒检测方法中 CMIA, RPR 和 TPPA 法的灵敏度、特异度、误诊率、漏诊率、阳性预测值、阴性预测值。

2 结果

2.1 四种方法检测梅毒螺旋体抗体的结果 见表 1。以 TP-WB 检测结果为标准,检出 56 例阳性, 134 例阴性;47 例样本 CMIA 与 TPPA 的结果不一致,CMIA 检测均阳性,TPPA 检测 47 例阴性、143 例阳性。2 例样本 TPPA 检测阴性,经 TP-WB 确证阳性;56 例样本 CMIA 与 TP-WB 的结果不一致,CMIA 检测均阳性,经 TP-WB 确证 56 例阳性,134 例阴性;2 例样本 RPR 检测阳性,经 TP-WB 确证阳性。

表 1 CMIA, RPR, TPPA 和 TP-WB 检测梅毒螺旋体抗体的结果 (n)

TP-WB	TPPA		RPR		CMIA		总计
	+	-	+	-	+	-	
+	54	2	2	0	56	0	56
-	89	45	0	188	134	0	134
合计	143	47	2	188	190	0	190

2.2 TP-WB 检测在初筛梅毒抗体不确定样本的诊断价值 见表 2。1

表 2 三种梅毒检测方法结果比较

方法	灵敏度 (%)	特异度 (%)	误诊率 (%)	漏诊率 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)
TPPA	96.43(54/56)	33.58(45/134)	66.42(89/134)	3.57(2/56)	37.76(54/143)	95.74(45/47)
RPR	100(2/2)	100(188/188)	0(0/188)	0(0/2)	100(2/2)	100(188/188)
CMIA	100(56/56)	0(0/134)	100(134/134)	0(0/56)	29.47(56/190)	0(0/0)

90 例弱反应性结果进行不同试验方法学的比

对,以 TP-WB 阳性结果为真阳性进行分析,最终

56例阳性,134例阴性。TP-WB与CMIA阳性符合率为29.5%(56/190);CMIA与TPPA阳性符合率为75.3%(143/190);TPPA结果与WB-TP-IgG阳性符合率为28.4%(54/190),误诊率为66.42%(89/134),漏诊率为3.57%(2/56),阴性预测值为95.74%(45/47),RPR现正感染阳性预测值100%(2/2)、阴性预测值为100%(188/188)。

3 讨论 梅毒是由苍白梅毒螺旋体引起的一种具有复杂临床表现的慢性接触性传染病,传播途径多、传染性强,对社会和人类健康造成极大的危害。2015年国家卫生健康委员会发布《全面控制艾滋病、梅毒和乙肝母婴传播工作》通知^[2,6]。

目前,我国梅毒血清学检测策略有2种:非特异性梅毒螺旋体血清试验、梅毒螺旋体抗原血清试验^[7]。非特异性梅毒螺旋体血清试验常选用RPR或甲苯胺红不加热血清试验(toluidine red unheated serum test, TRUST)^[8];本项目实验室方法CMIA,TPPA及TP-WB为特异性梅毒螺旋体抗原血清试验。

CMIA法易于批量样本自动化检测,具有高效率、无携带污染。TPPA法检测判定以产生可见的红色凝集反应,即免疫凝集反应^[9]。TP-WB法检测使用重组梅毒螺旋体基因蛋白抗原(TpN47, tpmA, TpN17, TpN15)的IgG抗体,是目前较为公认的梅毒特异性抗体确证方法^[10]。熊继红等^[11]对雅培CMIA法结果S/CO值 ≥ 10 无需复查可直接发出结果,准确率达到100%;张晓红等^[12]对843份TPPA试验阳性标本中,S/CO值 ≥ 10 时100%为阳性。实验室工作人员在梅毒检测结果强反应性时,检测结果直接签发,为临床提供诊断依据。而弱反应性结果时,有学者报道^[13],梅毒检测试验方法学不同厂家存在特异性差异。我们的课题研究中,梅毒检测弱反应性结果需特异性较高的TP-WB检测方法学进行鉴别诊断。CMIA检测方法灵敏度高,特异性低;RPR检测可以排除梅毒活动性感染;TPPA检测方法的阴性预测值可以排除阴性结果;TP-WB检测方法可以为临床诊断提供实验室结果的确证。

综上所述,实验室梅毒血清方法学的检测存在局限性,多种因素可导致检测结果的假阳性,目前还没有一种试验方法能完全满足临床需求,对于检测弱反应性结果不一致的标本应首选免疫印迹法检测确证,避免临床诊断中漏诊或者误诊发生。

参考文献:

- [1] 郑和平,黄进梅,薛耀华,等.梅毒实验室诊断技术与质量控制[M].北京:人民卫生出版社,2015.
ZHENG Heping, HUANG Jinmei, XUE Yaohua, et

al. Syphilis experimental diagnosis technology and quality control[M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2015.

- [2] PATTON M E, SU J R, NELSON R, et al. Primary and secondary syphilis-United States, 2005 ~ 2013 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2014, 63(18): 402-406.
- [3] SOMMESE L, SABIA C, ESPOSITO A, et al. Comparison of performance of two treponema pallidum automated chemiluminescent immunoassays in blood donors[J]. Infect Dis(Lond), 2016, 48(6): 483-487.
- [4] LI Lixin, CAI Bei, TAO Chuanmin, et al. Performance evaluation of CLIA for treponema pallidum specific antibodies detection in comparison with ELISA[J]. J Clin Lab Anal, 2016, 30(3): 216-222.
- [5] 童曼莉,刘莉莉,林丽蓉,等.梅毒实验诊断程序研究进展[J].中华检验医学杂志,2017,40(11):898-903.
TONG Manli, LIU Lili, LIN Lirong, et al. Research progress of laboratory detective algorithms for syphilis[J]. Chin J Lab Med, 2017, 40(11): 898-903.
- [6] 胡跃华,李镓冲,刘世炜,等.中国20年间淋球菌、性传播衣原体、梅毒螺旋体的发病情况及其疾病负担[J].疾病监测,2015,30(11):904-910.
HU Yuehua, LI Yichong, LIU Shiwei, et al. Incidence of gonococcal infection, sexually transmitted chlamydial infection and syphilis and related disease burden in China, 1990-2010[J]. Disease Surveillance, 2015, 30(11): 904-910.
- [7] 王勤.梅毒血清学方法检测策略探讨[J].检验医学,2018,33(8):749-751.
WANG Qin. Strategies for syphilis serological determination[J]. Laboratory Medicine, 2018, 33(8): 749-751.
- [8] 唐利利,程玉燕,高金平,等.梅毒免疫学机制研究进展[J].中国麻风皮肤病杂志,2017,33(5):317-320.
TANG Lili, CHENG Yuyan, GAO Jinping, et al. Update of the immunopathogenesis of syphilis[J]. China Journal of Leprosy and Skin Diseases, 2017, 33(5): 317-320.
- [9] 刘成让. TPPA与TPAb检测血清梅毒螺旋体抗体的临床价值分析[J].河南医学研究,2018,27(7):1304-1305.
Liu Chengrang. Clinical value of TPPA and TPAAb in detecting serum treponema pallidum antibody[J]. Henan Medical Research, 2018, 27(7): 1304-1305.
- [10] 党倩丽,吴玲智,张小艳,等.重组抗原免疫印迹法与化学免疫发光法检测梅毒假阳性对比分析[J].中国皮肤性病学杂志,2018,32(5):536-540.
DANG Qianli, WU Lingzhi, ZHANG Xiaoyan, et al. Comparative studies of recombinant antigen western blot and CMIA to exclude the false positive of syphilis[J]. The Chinese Journal of (下转114页)

(上接 111 页)

Dermatovenereology, 2018, 32(5): 536-540.

- [11] 熊继红, 张秀明, 卢建强, 等. 雅培 I2000srCMIA 法筛查梅毒螺旋体特异性抗体的测量阈值探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(6): 105-106.

XIONG Jihong, ZHANG Xiuming, LU Jianqiang, et al. Study on measurement threshold of screening specific antibody of treponema pallidum with Abbott I 2000sr CMIA method[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2012, 27(6): 105-106.

- [12] 张晓红, 张倩, 周学红, 等. 化学发光法检测梅毒特异性抗体在临床筛查试验中的应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(10): 780-783.

Zhang Xiaohong, Zhang Qian, Zhou Xuehong, et al.

Evaluation of the chemiluminescence immunoassay for diagnosis of syphilis in the clinical screening test [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2014, 37(10): 780-783.

- [13] 徐飞, 刘颖, 周淳, 等. 三种方法学对于梅毒患者血清及脑脊液的临床诊断价值的评估[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(11): 1736-1739.

XU Fei, LIU Ying, ZHOU Chun, et al. A study of the clinical diagnostic value three kinds of methodologies for syphilis patients serum and cerebrospinal fluid evaluation[J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2018, 25(11): 1736-1739.

收稿日期: 2018-11-08

修回日期: 2019-04-26