

·诊疗技术·

TP-光激化学发光、TPPA、TRUST 试验的临床应用评价

陶春妃

(成都市第三人民医院检验科,四川 成都 610031)

摘要:目的 通过对 TP-光激化学发光、梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)、甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)的临床应用进行评价,为临床医生在不同情况下选择梅毒螺旋体抗体检测方法提供依据。方法 选取 2019 年 4 月 1 日~7 月 31 日我院 11619 例住院患者、2458 例门诊患者及 2983 例健康体检者进行 TP-光激化学发光和 TRUST 检测,将 TP-光激化学发光检测阳性或 TRUST 检测阳性的标本进行 TPPA 法检测,比较 TP-光激化学发光及 TRUST 检测结果,TP-光激化学发光、TRUST 检测及 TPPA 法检测结果及检测梅毒螺旋体抗体的诊断价值,TP-光激化学发光、TRUST 检测梅毒螺旋体抗体的诊断价值及 TP-光激化学发光法 S/CO 值与 TPPA 结果。结果 TP-光激化学发光检测门诊阳性率为 6.18%,住院阳性率为 3.46%,体检阳性率为 0.67%;TRUST 检测门诊阳性率为 3.42%,住院阳性率为 1.11%,体检阳性率 0.27%。对 557 例 TP-光激化学发光阳性和 222 例 TRUST 检测阳性的标本同时进行 TPPA 法检测,TPPA 法阳性率为 79.73%,TP-光激化学发光阳性率为 98.30%,TRUST 阳性率为 37.82%,三种方法检测结果两两比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。TRUST 检测梅毒螺旋体抗体的敏感度低于 TP-光激化学发光,差异有统计学意义($P<0.05$)。以 TPPA 结果为标准,通过对 TP-光激化学发光结果的 S/CO 值分段分析,结果显示 S/CO 值越高,与 TPPA 的阳性符合率越高。结论 TP-光激化学发光灵敏度高,适用于梅毒的感染筛查及辅助诊断;TPPA 法检测适用于梅毒感染的确证,能有效排除 TP-光激化学发光和 TRUST 假阳性的问题;TRUST 检测灵敏度较低,对梅毒螺旋体的筛查结果准确性不及 TP-光激化学发光和 TPPA 法检测,不适合用于梅毒感染的筛查,可联和使用 TP-光激化学发光以提高诊断梅毒的准确率。

关键词:梅毒;梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验;TP-光激化学发光;甲苯胺红不加热血清试验

中图分类号:R446.1

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2019.23.052

文章编号:1006-1959(2019)23-0164-03

Clinical Application Evaluation of TP-photoexcited Chemiluminescence,TPPA and TRUST Test

TAO Chun-fei

(Department of Clinical Laboratory,the Third People's Hospital of Chengdu,Chengdu 610031,Sichuan,China)

Abstract:Objective To evaluate the clinical application of TP-photochemiluminescence, treponema pallidum gelatin aggregation test (TPPA) and toluidine red non-heated serum test (TRUST), and provide a basis for clinicians to choose the detection method of Treponema pallidum under different conditions. Methods From April 1st to July 31st, 2019, 11619 inpatients, 2458 outpatients and 2983 physical examination patients in our hospital underwent TP-photochemiluminescence and TRUST test, and TP-photochemiluminescence detection was positive or TRUST Detecting positive samples by TPPA method, comparing TP-photoexcited chemiluminescence and TRUST detection results, TP-photoexcited chemiluminescence, TRUST detection and TPPA detection results and detection of syphilis antibody diagnostic value, TP-photochemical chemiluminescence, TRUST test the diagnostic value of Treponema pallidum antibody and TP-photochemiluminescence S/CO value and TPPA results. Results The positive rate of TP-photochemiluminescence detection was 6.18%, the hospitalization positive rate was 3.46%, the positive rate of physical examination was 0.67%; the positive rate of TRUST test was 3.42%, the hospitalization positive rate was 1.11%, and the positive rate of physical examination was 0.27%. 557 cases of TP-photoexcited chemiluminescence and 222 positive samples were tested by TPPA. The positive rate of TPPA was 79.73%, the positive rate of TP-photochemiluminescence was 98.30%, and the positive rate of TRUST was 37.82%. The results of the three methods were compared, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The sensitivity of the TRUST test for Treponema pallidum was lower than that of TP-photochemiluminescence, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Based on the TPPA results, the S/CO value of the TP-photoexcited chemiluminescence results was analyzed by segmentation. The results showed that the higher the S/CO value, the higher the positive coincidence rate with TPPA. Conclusion TP-photosensitive chemiluminescence sensitivity is high, suitable for syphilis infection screening and auxiliary diagnosis; TPPA method is suitable for syphilis infection confirmation, can effectively eliminate TP-photoexcited chemiluminescence and TRUST false positive problem; TRUST detection sensitivity low, the screening results of Treponema pallidum are less accurate than TP-photochemiluminescence and TPPA detection, not suitable for screening for syphilis infection, and can be combined with TP-photochemiluminescence to improve the accuracy of diagnosis of syphilis.

Key words: Syphilis; Syphilis spirogel gel particle agglutination test; TP-photoexcited chemiluminescence; Toluidine red unheated serum test

梅毒(syphilis)是由苍白螺旋体引起的慢性、系统性性传播疾病。由于梅毒螺旋体无法进行实验室培养,且针对其病原体的检测较为困难(免接种试验要求时间过长,而暗视野显微镜检测螺旋体方式需在实验室中进行)^[1,2]。但由于多数梅毒感染者为无症状或皮损症状为一过性,因此梅毒的血清学检测

应用更加迫切。我院梅毒血清学检测流程,特异性梅毒螺旋体血清试验选用 TP-光激化学发光,血清非特异性梅毒螺旋体血清试验选用甲苯胺红不加热血清试(TRUST)。所有标本选用 TP-光激化学发光和 TRUST 进行初筛,对于 TP-光激化学发光和 TRUST 阳性的标本加做 TPPA 试验。TPPA 是目前公认的梅毒抗原血清学试验的“金标准”^[3],常用于新方法、新试剂的参照标准。本研究通过对不同试验方法的敏

作者简介:陶春妃(1990.6-),女,四川绵阳人,本科,检验师,主要从事临床免疫检验工作

感度、特异度及准确度进行分析,探讨其临床应用价值,为临床医生在不同情况下合理选择梅毒螺旋体抗体检测方法及其结果的判读提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2019 年 4 月 1 日~7 月 31 日成都市第三人民医院共 17132 例患者,其中住院患者 11691 例、门诊患者 2458 例、健康体检者 2983 例;男性 8863 例,女性 8269 例。均行梅毒螺旋体抗体相关检测。

1.2 试剂 TP-光激化学发光检测试剂盒购自博阳生物科技(上海)有限公司;TRUST 试剂盒购自上海荣盛生物药业有限公司;TPPA 试剂盒购自富士瑞必欧株式会社。所有试剂均在有效期内严格按标准操作规程文件操作。

1.3 检测方法 所有患者均进行 TP-光激化学发光和 TRUST 检测,对 TP-光激化学发光方法检测阳性和 TRUST 检测阳性的标本同时再进行 TPPA 法检测。

1.3.1 TP-光激化学发光 基础原理是一种均相免疫反应,主要由 TP15-1 抗原、TP17-1 抗原、TP47-1 抗原包被的发光微粒、生物素标记 TP15-2 抗原、TP17-2 抗原、TP47-2 抗原组成。TP-光激化学发光法试剂试用前平衡至环境温度,在反应孔中分别加入 25 μ l 样本及阴性对照、阳性对照及参考样品。接下来在反应孔中依次加入 25 μ l 试剂 1 和 25 μ l 试剂 2。把反应孔放入仪器,由仪器自动操作。最后经软件计算出 S/CO 值,并判断阴阳性。

1.3.2 TRUST 检测 在 23~29℃条件下进行,纸卡圈中加入 50 μ l 血清,用生理盐水将血清进行 2、4、8 倍的稀释,用专用滴管及针头垂直分别加 TRUST 试剂 1 滴于上述血清中,按 1000 r/min 转 8 min 进行测定,反应完成后立即用肉眼进行结果观察,阳性标准根据说明书来界定,以确定阳性样本的最高稀释倍数。

1.3.3 TPPA 法 采用的抗原是超声裂解梅毒螺旋体,用样品稀释液将血清进行 5、10、20、40 倍的稀释,依次向 20 倍孔和 40 倍孔滴加未致敏明胶粒子和致敏明胶粒子各 25 μ l,将反应板置于湿盒中 2 h 后观察反应结果。如果致敏粒子形成不规则的杂乱聚集则为阳性,相反致敏粒子形成圆形且光滑的聚集则为阴性。

1.4 评价方法 比较 TP-光激化学发光及 TRUST 检测结果、三种方法检测结果及检测梅毒螺旋体抗体的诊断价值,TP-光激化学发光、TRUST 检测梅毒螺旋体抗体的诊断价值及 TP-光激化学发光法 S/CO 值与 TPPA 结果。

1.5 统计学处理 采用 Excel 2007 软件进行统计分析,计数资料以(%)表示,采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 表

示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TP-光激化学发光与 TRUST 检测结果 共 17132 例患者,TP-光激化学发光检测门诊阳性率为 6.18%,住院阳性率为 3.46%,体检阳性率为 0.67%;TRUST 检测门诊阳性率为 3.42%,住院阳性率为 1.11%,体检阳性率 0.27%,见表 1。

表 1 TP-光激化学发光与 TRUST 检测结果(n,%)

| 患者来院 | 检测数 | TP-光激化学发光 | | | TRUST | | |
|------|-------|-----------|-------|------|-------|-------|------|
| | | 阳性 | 阴性 | 阳性率 | 阳性 | 阴性 | 阳性率 |
| 住院 | 11691 | 405 | 11285 | 3.46 | 130 | 11561 | 1.11 |
| 门诊 | 2458 | 152 | 2307 | 6.18 | 84 | 2374 | 3.42 |
| 体检 | 2983 | 20 | 2393 | 0.67 | 8 | 2974 | 0.27 |
| 合计 | 17132 | 577 | 16555 | 3.36 | 222 | 16918 | 1.29 |

2.2 TP-光激化学发光、TRUST 检测及 TPPA 法检测结果比较 共 557 例 TP-光激化学发光阳性和 222 例 TRUST 检测阳性的标本同时进行 TPPA 法检测,TPPA 法阳性率为 79.73%,TP-光激化学发光阳性率为 98.30%,TRUST 阳性率为 37.82%,三种方法检测结果两两比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 TP-光激化学发光、TRUST 检测及 TPPA 法检测结果比较(n,%)

| 方法 | 阳性 | 阴性 | 合计 | 阳性率 |
|-----------|-----|-----|-----|-------|
| TPPA | 468 | 119 | 587 | 79.73 |
| TP-光激化学发光 | 577 | 10 | 587 | 98.30 |
| TRUST | 222 | 365 | 587 | 37.82 |

2.3 TP-光激化学发光法的 S/CO 值与 TPPA 结果比较 以 TPPA 结果为标准,通过对 TP-光激化学发光结果的 S/CO 值分段分析,结果显示 TP-光激化学发光法的 S/CO 值越高,与 TPPA 的阳性符合率越高,见表 3。

表 3 TP-光激化学发光法的 S/CO 值与 TPPA 结果比较(n=577,%)

| 分段 | TP-光激化学发光例数 | TPPA 阳性例数 | 符合率 |
|---------|-------------|-----------|-------|
| 0~5 | 73 | 9 | 12.33 |
| 5~10 | 24 | 6 | 25.00 |
| 10~20 | 30 | 17 | 56.67 |
| 20~50 | 54 | 50 | 92.59 |
| 50~100 | 72 | 65 | 90.28 |
| 100~200 | 174 | 173 | 99.43 |
| 200~400 | 150 | 149 | 99.33 |

2.4 TP-光激化学发光、TRUST 检测梅毒螺旋体抗体的诊断价值比较 TRUST 检测梅毒螺旋体抗体的敏感度低于 TP-光激化学发光,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 4 TP-光激化学发光、TRUST 检测梅毒螺旋体抗体的诊断价值比较 (%)

| 检测方法 | 敏感度 | 特异度 | 准确度 | χ^2 | P |
|-----------|-----------------|--------------------|--------------------|-----------|-------|
| TP-光激化学发光 | 100.00(468/468) | 99.35(16555/16664) | 99.36(17023/17132) | 13774.225 | 0.000 |
| TRUST | 44.44(208/468) | 99.91(16650/16664) | 98.42(16862/17132) | 6969.0693 | 0.000 |

3 讨论

梅毒的传播途径主要是性传播、母婴传播等。此病可使孕妇流产,或致胎儿死亡,严重威胁人们的生命健康^[4]。由于梅毒螺旋体无法在实验室培养,因此针对病原体的检测较为困难。虽然免疫荧光抗体定量检测结果较可靠,但由于其对实验室条件与人员技术水平的要求较高且所用试剂比较昂贵,并不适合梅毒的初筛,并且有类风湿因子等因素的干扰,其特异度并不高。因此寻找检测快速、准确度高的梅毒血清学试验意义重大。

本研究结果发现,住院患者 TP-光激化学发光法检测阳性率为 3.46%,TRUST 检测阳性率为 1.11%;门诊患者 TP-光激化学发光法检测阳性率为 6.18%,TRUST 检测阳性率为 3.42%;健康体检者 TP-光激化学发光法检测阳性率为 0.67%,TRUST 检测阳性率为 0.27%。分析原因:门诊患者是有症状及有目的的针对性检测,因此阳性率较另外两种方法高;住院患者为手术前或输血前筛查,阳性率低于门诊患者;健康体检者是正常人群,阳性率最低。另外,本研究通过对 587 例 TP-光激化学发光检测阳性和 222 例 TRUST 检测阳性的标本同时进行 TPPA 试验验证,结果显示 TPPA 试验阳性率为 79.73%,说明 TPPA 试验能有效排除 TP-光激化学发光试验和 TRUST 的假阳性情况。但是,患者在感染梅毒后,特异性抗体几乎呈终身阳性状态^[5,6],即使经过规范治疗也很少转阴,是梅毒感染的记忆性抗体标志^[7],且 TPPA 试验操作复杂需人工判读结果,不适合大样本量检测,其应用受到一定限制。TRUST 试验阳性率较低,仅 37.82%,TP-光激化学发光法检测阳性率为 98.30%。由此可见,与 TRUST 相比较,TP-光激化学发光具有明显的优势。TRUST 法是检测非特异性类脂抗体的重要方法^[8],肉眼可判读检测结果,但一些疾病和生理因素易出现梅毒血清学试验生物学假阳性,如细菌性心内膜炎、软下疳、病毒性肝炎、传单增多症、恶性肿瘤、SLE 类多发性骨髓瘤、年老、妊娠、毒品等。本研究结果显示,TP-光激化学发光法的灵敏度为 100.00%,特异度位 99.35%,适用于梅毒的感染筛查及辅助诊断;TP-光激化学发光是一种均相免疫反应,检测时间短,适用于透析、急诊患者的梅毒快速检测。TRUST 的灵敏度为 44.44%,低

于 TP-光激化学发光,说明 TRUST 筛查会漏检很多梅毒抗体血清阳性的早期梅毒患者。本研究以 TP-PA 为标准,对 577 例 TP-光激化学发光结果的 S/CO 值分段分析,结果显示在低值段区间,阳性符合率较低,随着 S/CO 值的升高,阳性符合率越高。可能该法灵敏度较高,在低值段区间易出现假阳性结果,间接证明 TPPA 确证试验能有效排除 TP-光激化学发光试验的假阳性结果。

尽管实验室检测梅毒螺旋体感染的方法很多,但其各有优缺点:TP-光激化学发光灵敏度高,适用于梅毒感染的筛查及辅助诊断;TP-光激化学发光检测时间短,适用于透析、急诊患者的梅毒快速检测;TRUST 检测灵敏度较低,不适合用于梅毒感染的筛查,但可用于监测梅毒的复发与再感染,可联合 TP-光激化学发光提高诊断的准确率。在实际工作中,对于 TP-光激化学发光和 TRUST 阳性的标本要用 TPPA 法检测进行确证,临床医师需根据具体情况作出判断,正确解读结果,有效提高检出率。

参考文献:

- [1]孙蓉,张玲.梅毒特异性抗体和非特异性抗体同时检测的临床意义[J].实验与检验医学,2015,31(1):92-94.
- [2]但吉元,刘丹.浅析梅毒特异性抗体与非特异性反应素检测诊断隐性梅毒的准确度[J].中外健康文摘,2013(23):197-198.
- [3]赵娜,刘瑞霞,李鲁平,等.捕获法 ELISA 检测 TP-IgM 抗体在各期梅毒诊断及疗效评估中的应用[J].中国病原生物学杂志,2015,10(12):1104-1107.
- [4]夏浩海,钱小莲.快速血浆反应素试验及酶联免疫吸附试验在梅毒诊断中的应用[J].国际检验医学杂志,2015,36(8):1141-1142.
- [5]孔海芳,闫伯英,杨华,等.三种梅毒血清学检测方法的临床评价[J].中国皮肤性病杂志,2016,30(2):164-166.
- [6]郭焱星,劳丽婷,蒋敏慧,等.梅毒螺旋体 4 种血清学检测方法的临床评价[J].中华医院感染学杂志,2016,37(11):1484-1485.
- [7]Lin LR,Tong ML,Fu ZG,et al.Evaluation of a colloidal goldimmunochromatography assay in the detection of treponemapallidum specific IgM antibody in syphilis serofast reaction patients:a serologic marker for the relapse and infection of syphilis[J].Diagn Microbiol Infect Dis,2011,70(1):10-16.
- [8]施俊,李玲,朱精华.不同梅毒血清学检测方法的临床价值[J].临床血液学杂志,2014,27(10):857-859.

收稿日期:2019-8-29;修回日期:2019-9-16

编辑/钱洪飞