

3 种 TP-ELISA 试剂盒的性能比对研究

Research of three kinds of TP-ELISA kit performance comparison

袁晓华¹

[摘要] 目的:分析国内不同品牌的 TP-ELISA 试剂盒对梅毒的检测性能,并探讨性能差异的原因。方法:选取上海科华、北京万泰、珠海丽珠 3 种不同品牌的试剂盒,检测 155 例梅毒阳性标本和 100 例梅毒阴性标本,采用 McNemar χ^2 检验,以 TPPA 法为标准,评价这 3 种试剂盒的敏感度、特异度、阴性预期值、阳性预期值和总符合率。然后把丽珠阴性而万泰和科华阳性的标本 8 例进行系列稀释后重新检测。结果:万泰和科华的结果与 TPPA 结果间的差异无统计学意义,丽珠结果与 TPPA 结果间的差异有统计学意义。3 种试剂盒之间敏感度、阴性预期值、总符合率之间的差异有统计学意义。丽珠试剂盒因方法学的原因导致了在检测过程中能产生钩状效应。结论:科华和万泰的试剂盒检测梅毒螺旋体抗体的敏感度和特异度较高,适合献血前或输血前梅毒感染的筛查。丽珠的试剂盒因方法学的缺陷,检测梅毒螺旋体抗体的敏感度不高,不适合用于献血前或输血前梅毒感染的筛查。

[关键词] 梅毒;酶联免疫吸附实验;筛查

Key words syphilis;enzyme-linked immunosorbent assay;screening

[中图分类号] R759.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2013)12-0859-02

目前,梅毒酶联免疫吸附实验(TP-ELISA)已是医疗机构和采供血机构筛查梅毒的主要方法之一,国内市场销售的 TP-ELISA 试剂盒种类较多,有研究称不同厂家生产的试剂性能存在差异,各采供血机构应选择灵敏度高、特异性强的试剂^[1]。

1 材料与方法

1.1 标本

选取我院门诊皮肤性病科确诊的各期梅毒患者 155 例,这些病例均符合卫生部颁布的性病诊断标准《梅毒诊断标准》WS 73-2007,并且梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)为阳性。另选取普通门诊排除梅毒的患者 100 例,这些病例 TPPA 试验全部为阴性。

1.2 试剂

3 种 TP-ELISA 试剂盒包括:上海科华生物工程股份有限公司生产的梅毒螺旋体抗体诊断试剂盒(简称科华)、北京万泰生物药业股份有限公司生产的梅毒螺旋体抗体诊断试剂盒(简称万泰)、珠海丽珠试剂股份有限公司生产的梅毒螺旋体抗体诊断试剂盒(简称丽珠)。TPPA 所用的试剂为日本富士瑞必欧株式会社生产。

1.3 检测方法

①科华:取血清 100 μ l 加入反应孔,放入 37℃ 水浴箱孵育 60 min,洗板 5 次,加入酶结合物 100 μ l,振荡混匀再次放入 37℃ 水浴箱孵育 30 min,洗板 5 次,加入 A 液和 B 液各 50 μ l,37℃ 显色 30 min 后于 450/630 nm 比色,记录 A 值。CutOff 值=阴性对照均 A 值+0.10,样品 A 值 $\geq$ CutOff 值为阳性,反之为阴性。②万泰:取血清 100 μ l 加入反应

孔,放入 37℃ 水浴箱孵育 60 min,洗板 5 次,加入酶标试剂 100 μ l,再次放入 37℃ 水浴箱孵育 30 min,洗板 5 次,加入 A 液和 B 液各 50 μ l,37℃ 显色 30 min 后于 450/630 nm 比色,记录 A 值。CutOff 值=阴性对照均 A 值+0.18,样品 A 值 $\geq$ CutOff 值为阳性,反之为阴性。③丽珠:取血清 50 μ l 加入反应孔,放入 37℃ 水浴箱孵育 60 min,直接加入酶标记物 50 μ l,振荡混匀再次放入 37℃ 水浴箱孵育 30 min,洗板 6 次,加入底物缓冲液和底物液各 50 μ l,37℃ 显色 30 min 后于 450/630 nm 比色,记录 A 值。CutOff 值=阴性对照均 A 值+0.20,样品 A 值 $\geq$ CutOff 值为阳性,反之为阴性。

1.4 统计学处理

用 SPSS16.0 软件进行统计学分析。①对 3 种试剂盒的检测结果和 TPPA 检测结果首先用成组 χ^2 检验进行关联分析, $P<0.05$ 为 2 种方法的检测结果有相关性,然后用配对计数资料的 McNemar χ^2 检验(无卡方值)分析 3 种试剂盒和 TPPA 检测结果的差别, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。②以 TPPA 法为标准,计算 3 种试剂盒的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和总符合率,采用成组 χ^2 检验对 3 组间上述检测指标进行比较。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 检测结果

255 例样本以 TPPA 法为标准,其中 155 例阳性,100 例阴性。检测结果见表 1,3 种试剂盒的检测结果和 TPPA 检测结果有相关性($P=0.000$)。3 种试剂盒的检测结果分别同 TPPA 法的检测结果进行比较,McNemar Test 的 P 值显示:科华和万泰的检测方法与 TPPA 法结果间的差异无统计学

¹黄石市中心医院检验科(湖北黄石,435000)

通信作者:袁晓华,E-mail:david911001@163.com

意义($P>0.05$),丽珠的检测结果与 TPPA 法结果间的差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 以 TPPA 为标准的 3 种试剂盒的检测结果

TPPA 法	科华		万泰		丽珠	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	153	2	153	2	145	10
阴性	1	99	1	99	2	98

2.2 诊断效能评价

以 TPPA 法为标准,分别计算 3 种试剂盒的敏感度、特异度、阳性预期值、阴性预期值和总符合率,比较结果见表 2。

表 2 3 种试剂盒诊断效能评价 %

试剂	敏感度	特异度	阳性 预期值	阴性 预期值	总符合率
科华	98.7	99.0	99.4	98.0	98.8
万泰	98.7	99.0	99.4	98.0	98.8
丽珠	93.6	98.0	98.6	90.7	95.3

从统计数据看,3 种试剂盒特异度、阳性预期值之间的差异无统计学意义,而敏感度、阴性预期值、总符合率之间的差异有统计学意义,表明虽同为 ELISA 方法,但不同品牌试剂盒的检测性能是不同的。

3 讨论

近年来,我国梅毒发病率的增长速度已位居各大传染病的第 1 位,梅毒的诊断虽然必须依靠病史、症状及实验室检查进行综合分析。但是梅毒的实验室检查结果对诊断有决定性意义。TP-ELISA 是实验室检查里面血清学检查中梅毒螺旋体抗原血清学试验的一种重要方法,目前市售的 TP-ELISA 试剂盒虽均经过中国药品生物制品检定所批批检合格,有国药准字号,但本研究表明了不同品牌试剂盒的敏感度、阴性预期值、总符合率之间有差异。TPPA 虽不适合对“血清学阴性窗口期”的诊断^[2],但确是目前国内许多医院常用的梅毒螺旋体确认试验^[3],本研究表明,科华和万泰的检测方法与 TPPA 法结果间的差异无统计学意义,丽珠的检测方法与 TPPA 法结果间的差异有统计学意义。

分析丽珠试剂盒与其他 2 种试剂盒在检测性能上有差异的原因,在于检测方法的不同。对比 3 种试剂盒的检测方法,在第 1 次孵育 60 min 后,丽珠试剂盒没有其他 2 种试剂盒的洗板程序,而是直接加入酶标记物进行第 2 次孵育,3 种试剂盒对于抗体浓度很高的样本,丽珠试剂盒检测的 S/co 值随着稀释倍数的增加先升高后降低,而另两种试剂盒检测的 S/co 值随着稀释倍数的增加先平台后降低。从理论上说,一步法对于阳性样本来说,若抗原浓度过高,过量的抗原会分别与固相抗体和液相酶标抗体结合,而无法形成能够显色的抗体-抗原-酶标抗体复合物,使强阳性样本显色变浅甚至不显色从而形成钩状效应(hook effect)^[4]。一步法吸光度对抗体浓度的变化曲线成钟形,两步法吸光度对抗体浓度的变化曲线成 S 形^[5]。丽珠试剂盒出现了钩状效应,且吸光度对梅毒抗体浓度的变化曲线成 S 形,说明丽珠试剂盒在检测方法上虽然孵育了两次,但实质却是一步法。一般来说筛查实验允许有假阳性,但尽可能没有假阴性^[6],因此,上海科华和北京万泰的试剂盒检测梅毒螺旋体抗体的敏感度和特异度较高,适合献血前或输血前梅毒感染的筛查。珠海丽珠的试剂盒有着方法学的缺陷,检测梅毒螺旋体抗体的敏感度不高,不适合用于献血前或输血前梅毒感染的筛查。

参考文献

- [1] 梁启忠,程玉根,唐建祥. 5 种梅毒酶联免疫吸附实验试剂性能比较[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(2): 227-241.
- [2] 陈述文,梁连辉,蔡常辉. 四种方法检测早期梅毒螺旋体感染的临床应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(21): 2633-2634.
- [3] 李志艳,刘平,高健. 梅毒螺旋体抗体筛查方法的比较性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(12): 1176-1179.
- [4] 龚跃云,欧阳芳,吴豫. 新两步法和一步法检测乙肝表面抗原的比较[J]. 临床输血与检验, 2012, 7(3): 241-243.
- [5] 刘辉. 临床免疫学和免疫检验实验指导[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2005: 19-20.
- [6] 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.

(收稿日期: 2013-02-05)