

· 论著 ·

血清抗体ELISA、TPPA联合检测在梅毒诊断中的应用

刘玲玲*

商丘市立医院检验科 (河南 商丘 476000)

【摘要】目的 探讨血清抗体酶联免疫吸附试验(ELISA)、明胶颗粒凝集试验(TPPA)联合检测对梅毒的诊断价值。方法 选取126例我院2020年8月~2022年8月就诊的疑似梅毒患者,入院后均行血清抗体ELISA、TPPA检查,比较血清抗体ELISA、TPPA对梅毒的诊断结果、诊断效能,并比较其对不同梅毒分期的阳性检出率。结果 经ELISA检测显示,阳性37例;TPPA检测显示,阳性38例;ELISA、TPPA联合诊断显示,阳性47例;与血清抗体ELISA、TPPA单独诊断比较,联合诊断灵敏度93.75%、准确率96.03%较高,漏诊率6.25%较低($P<0.05$);血清抗体ELISA、TPPA联合诊断对梅毒一期阳性检出率高于单独诊断($P<0.05$)。结论 血清抗体ELISA、TPPA联合检测能提高梅毒诊断准确性,可用于临床早期筛查、病情分期中,为临床制定相应治疗方案提供依据。

【关键词】酶联免疫吸附;明胶颗粒凝集;梅毒;诊断

【中图分类号】R759.1

【文献标识码】A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2024.3.045

Application of Combined Serum Antibody ELISA and TPPA Test in the Diagnosis of Syphilis

LIU Ling-ling*

Clinical Laboratory Department of Shangqiu Municipal Hospital, Shangqiu 476000, Henan Province, China

Abstract: **Objective** To investigate the diagnostic value of serum antibody enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and gelatin particle agglutination test (TPPA) for syphilis. **Methods** One hundred and twenty-six patients with suspected syphilis from August 2020 to August 2022 were selected as study subjects, and serum antibody ELISA and TPPA were performed after admission. **Results** The ELISA test showed 37 positive cases; the TPPA test showed 38 positive cases, and the combined ELISA and TPPA diagnosis showed 47 positive cases; the combined diagnosis had a higher sensitivity of 93.75%, a higher accuracy of 96.03%, and a lower leakage rate of 6.25% ($P<0.05$); the combined diagnosis of serum antibody ELISA and TPPA had a higher positive detection rate for syphilis stage I than that of the diagnosis alone ($P<0.05$). **Conclusion** The combined serum antibody ELISA and TPPA test can improve the diagnostic accuracy of syphilis, and can be used in early clinical screening and disease staging to provide a basis for clinical formulation of the corresponding treatment plan.

Keywords: Enzyme-linked Immunosorbent Assay; Gelatin Particle Agglutination; Syphilis; Diagnosis

梅毒为一种系统性传播疾病,早期可多种组织器官,随病情进展可侵犯至心血管、神经系统,对患者生命安全造成一定威胁^[1-2]。报道显示^[3],梅毒可提高机体感染艾滋病风险,经母体胎盘可传播至胎儿,引起不良妊娠结局。因此,积极探讨梅毒早期筛查诊断方案具有重大意义。梅毒螺旋体抗体检测为临床诊断梅毒的常用方案,其中酶联免疫吸附试验(ELISA)具有良好灵敏度,可通过自动化检测系统进行检测,具有简便快捷、结果客观准确等优点^[4]。明胶颗粒凝集试验(TPPA)利用梅毒螺旋体毒株制作抗原,测定特异性抗体,具有较高稳定性,且无需使用特定仪器^[5]。但目前临床关于其联合应用于梅毒评估中相关研究鲜有,基于此,本研究试分析血清抗体ELISA、TPPA对梅毒的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 经我院伦理委员会审核批准,选取126例我院2020年8月~2022年8月就诊的疑似梅毒患者,其中男68例,女58例,年龄21~55岁,平均 (32.58 ± 3.45) 岁;临床症状:硬下疳36例,扁平湿疣25例,生殖器溃疡41例,梅毒疹24例。

1.2 纳入及排除标准

纳入标准:均经临床初步诊断为疑似梅毒患者;可接受本研究检查方案;知晓本研究,并签订同意书。排除标准:梅毒复发、二次感染者;合并重大脏器功能障碍;入院前1个月接受过抗生素治疗者;合并其他感染型疾病;精神障碍或沟通障碍者。

1.3 方法 标本采集:采集入院后外周静脉血3mL,37℃条件下经离心半径8cm、3500r/min离心10min后,分离血清、血浆于保存待测。

主要仪器与试剂:ELISA试剂盒购于北京万泰生物药业股份有限公司,TPPA试剂盒购于珠海丽珠试剂股份有限公司,选用仪器分别为北京白洋BY-400C型医用离心机、烟台艾德康ELISA400

全自动酶免仪、江苏新康600-A型电热恒温水浴箱、上海旌派自动梅毒旋转振荡器。

ELISA检测:将浓缩洗涤液稀释20倍,编号样品对应微孔板,每板设置1孔空白对照、2孔阳性对照及3孔阴性对照,分别于相应孔内加入阴、阳对照100ul,于37℃条件下温育60min,采用洗板机洗涤5遍,每孔内加入酶标试剂100ul,空白对照孔无需加入,于37℃条件下温育30min,采用洗板机洗涤5遍,每孔内加入显色剂A、B各50ul,振荡均匀后避光显色30min,每孔内加入终止液50ul,振荡均匀后10min内测定结果,观察并记录反应图像,采用酶标仪(波长于450/630nm处)用空白孔调零后,测量各孔吸光度(A)。其中A值<临界值判定为阴性,≥临界值判定为阳性,临界值=阴性对照孔A均值+0.18。

TPPA检测:采用微量滴管将血清稀释液滴加至微量反应板第1孔内,第2孔至最后一孔内各滴加1滴,取25ul样品加入第1孔内,采用2"方式从第1孔稀释至第4孔。于第3孔中滴加25ul未致敏粒子,第4孔至最后一孔内各滴加25ul致敏粒子。采用平板混合器混合30s,加盖后静置2h。发生凝集反应则判定为阳性。

梅毒分期评估:一期:合并生殖器溃疡、硬下疳等临床症状,梅毒特异性IgG抗体、IgM抗体或梅毒非特异性抗体中一项以上为阳性;二期:合并扁平湿疣、梅毒疹或黏膜斑等临床症状,梅毒特异性IgG抗体、IgM抗体或梅毒非特异性抗体中一项以上为阳性;潜伏期:无梅毒既往史及相关临床表现,梅毒特异性IgG抗体、IgM抗体或梅毒非特异性抗体中一项以上阳性。

1.4 观察指标 (1)比较血清抗体ELISA、TPPA单独诊断结果。(2)比较血清抗体ELISA、TPPA联合诊断结果,联合诊断结果采用并联原则。(3)比较血清抗体ELISA、TPPA诊断效能。(4)比较血清抗体ELISA、TPPA对不同分期梅毒阳性检出率。

1.5 统计学方法 采用SPSS 23.0软件对不同类型数据进行相关处理

【第一作者】刘玲玲,女,主管技师,主要研究方向:临检,免疫检验。E-mail: yangliu199007@163.com

【通讯作者】刘玲玲

分析,用EXCEL软件建立数据库,常规进行逻辑检错,计数资料用n(%)表示,两组间比较行 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清抗体ELISA、TPPA单独诊断结果 经血清抗体ELISA检测结果显示,阳性37例,阴性89例;经血清抗体TPPA检测结果显示,阳性38例,阴性88例。见表1。

2.2 血清抗体ELISA、TPPA联合诊断结果 经血清抗体ELISA、TPPA联合诊断结果显示,126例疑似梅毒患者中,阳性47例,阴性79例,诊断灵敏度为93.75%(45/48)、特异度为97.44%(76/78)、准确率为96.03%(121/126)。见表2。

2.3 血清抗体ELISA、TPPA单独、联合诊断效能 与血清抗体ELISA、TPPA单独诊断比较,联合诊断灵敏度93.75%(45/48)、准确率为96.03%(121/126)较高,漏诊率6.25%(3/48)较低,差异显著($P<0.05$)。见表3。

2.4 梅毒分期评估价值 经血清抗体结合临床症状评估,48例

梅毒患者中,一期20例,二期11例,潜伏期17例。与血清抗体ELISA、TPPA单独诊断比较,联合诊断对于梅毒一期阳性检出率较高,差异显著($P<0.05$)。见表4。

表1 血清抗体ELISA、TPPA单独诊断结果

金标准	ELISA		TPPA		总计
	阳性	阴性	阳性	阴性	
阳性	35	13	37	11	48
阴性	2	76	1	77	78
总计	37	89	38	88	126

表2 血清抗体ELISA、TPPA联合诊断结果

金标准	TPPA		总计
	阳性	阴性	
阳性	45	3	48
阴性	2	76	78
总计	47	79	126

表3 血清抗体ELISA、TPPA单独、联合诊断效能n(%)

项目	灵敏度	特异度	准确率	漏诊率	误诊率	阳性预测值	阴性预测值
ELISA	72.92(35/48)	97.44(76/78)	88.09(111/126)	27.08(13/48)	2.56(2/78)	94.59(35/37)	85.39(76/89)
TPPA	77.08(37/48)	98.72(77/78)	90.48(114/126)	22.92(11/48)	1.28(1/78)	97.37(38/39)	87.50(77/87)
联合	93.75(45/48)	97.44(76/78)	96.03(121/126)	6.25(3/48)	2.56(2/78)	95.75(45/47)	96.20(76/79)
χ^2	7.658	0.409	5.394	7.658	0.409	0.400	5.583
P	0.022	0.815	0.043	0.022	0.815	0.819	0.061

表4 梅毒分期评估价值n(%)

组别	一期(n=20)	二期(n=11)	潜伏期(n=17)
ELISA	12(60.00)	10(90.91)	13(76.47)
TPPA	14(70.00)	10(90.91)	13(76.47)
联合	19(95.00)	11(100.00)	15(88.24)
χ^2	6.933	1.065	0.995
P	0.031	0.587	0.608

3 讨论

梅毒为一种由梅毒螺旋体感染引起的性疾病,感染后可累及多种脏器,临床症状较为复杂,且病程较长,早期诊断存在一定难度^[6]。报道显示^[7-8],血清学为诊断梅毒的主要方案,通过非特异性类脂质抗体检测具有较高敏感度,但反应素也存在于非梅毒患者中,且早期梅毒患者反应素出现时间较晚,反应素滴度下降时易发生前带现象,存在一定局限性。因此,积极探讨一种早期梅毒筛查诊断方案具有重大意义。

梅毒螺旋体镜检为临床诊断梅毒“金标准”,可通过暗视野显微镜进行观察,结合临床症状、性接触史等可进行确诊,但梅毒螺旋体镜检需取病灶组织渗出物、淋巴结穿刺液或组织研磨液,患者接受度较低,不适用于筛查诊断^[9]。血清抗体ELISA为一种基因功能特异性检测技术,可通过检测人血清、血浆标本中梅毒螺旋体IgG抗体进行诊断,具有较高敏感度,且ELISA法检测可利用全自动酶免^[10],结果清晰易整理,有利于大样本量检测,适用于早期筛查^[10]。本研究结果发现,血清抗体ELISA检测对于梅毒诊断灵敏度为72.92%、特异度为97.44%、准确率为88.09%,具有一定诊断价值,可用于早期初步筛查诊断中。分析本研究ELISA检测存在一定假阳性率原因在于,ELISA检测为梅毒IgM、IgG混合抗体,其中IgG抗体在治愈后仍存在一定阳性率,且部分皮肤病、自身免疫疾病及血清纤维蛋白异常患者均可引起ELISA检测阳性^[11-12]。因此,单纯通过ELISA检测部分梅毒患者易出现漏诊、误诊现象,无法评估梅毒活动状态及疗效,可联合其他检测方案进行诊断,以提高诊断准确性。

本研究通过TPPA检查结果发现,TPPA对于梅毒诊断准确率为90.48%,具有较高诊断价值。TPPA为一种通过梅毒螺旋体毒株制作抗原检测特异性抗体的诊断方案,当人体感染梅毒螺旋体后,体内可产生梅毒螺旋体抗体,其中TP抗体为梅毒螺旋体的特有抗体,因此可通过TPPA检测特异性抗体进行诊断,且其试剂具有较强稳定性,结果较为准确^[13]。本研究还发现,血清抗体ELISA、TPPA联合诊断灵敏度93.75%、准确率为96.03%显著高于二者单独诊断,可有效降低漏诊率,提示临床可通过血清抗体ELISA、TPPA联合检测进行早期筛查诊断。报道显示^[14],梅毒

患者感染后梅毒螺旋体抗体可在体内终生保留,且不随患者病情进展、治疗变化,因此TPPA检测结果具有较强稳定性,不易出现假阳性反应,可有效弥补血清抗体ELISA检测缺点。但TPPA检测自动化程度较低,需通过肉眼进行判断结果,无法保存检测数据,且检测时需将样本进行系列稀释,不利于大批量样本筛查,因此血清抗体ELISA、TPPA检测可相互弥补不足,临床可先通过ELISA进行初步筛查后,再行TPPA检测进行确诊^[15]。本研究结果还发现,血清抗体ELISA、TPPA联合诊断相较于单独诊断对于梅毒一期阳性检出率较高,进一步说明二者联合应用对梅毒具有较高的诊断价值,为临床病情分期提供参考。

综上所述,血清抗体ELISA、TPPA联合检测对于梅毒具有较高诊断价值,为临床早期筛查诊断、病情分期提供依据,以制定相应干预方案。

参考文献

- [1]刘晓静,黄卫平,赵丽娜,等.妊娠合并梅毒外周血miR-101-3p、miR-195-5p和miR-223-3p表达及临床意义[J].中华医院感染学杂志,2023,33(5):766-770.
- [2]Orrestel AK,Kovarik CL,Katz KA.Sexually acquired syphilis:Historical aspects,microbiology,epidemiology, and clinical manifestations[J].J Am Acad Dermatol,2020,82(1):1-14.
- [3]荆玉慧,李玲,杨露,等.不同时机抗梅毒治疗妊娠合并梅毒对患者不良妊娠结局的影响因素分析[J].中国计划生育学杂志,2022,30(7):1659-1663.
- [4]何小霞,冯月平.梅毒螺旋体酶联免疫吸附试验和梅毒甲苯胺红不加热血清试验及梅毒螺旋体明胶凝集确证试验在梅毒血清学检测中的应用价值分析[J].中国现代药物应用,2021,15(9):74-76.
- [5]王征,区晓雯,夏勇.化学发光微粒子免疫测定法、梅毒螺旋体明胶凝集试验及ELISA三种梅毒血清学诊断方法的比较[J].广州医科大学学报,2020,48(5):15-18.
- [6]Figueiredo DCM,Figueiredo AM,Souza TKB,et al.Relaco entre oferta de diagnstico e tratamento da sifilis na atenco bsica sobre a incidncia de sifilis gestacional e congnita Relationship between the supply of syphilis diagnosis and treatment in primary care and incidence of gestational and congenital syphilis[J].Cad Saude Publica.,2020,36(3):74-76.
- [7]李韦杰,郭杰,迟小伟,等.353例梅毒患者脑脊液、血清检测结果及神经梅毒预测分析[J].标记免疫分析与临床,2020,27(5):724-728,733.
- [8]易黎鸿.酶联免疫吸附试验(ELISA)与梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)在梅毒检测中的应用效果对比[J].现代诊断与治疗,2015,26(13):3015-3016.
- [9]马洁琼,邢文萃,蒋岩.干血斑样本用于梅毒酶联免疫吸附试验检测方法的初步评价及应用研究[J].中国艾滋病性病,2020,26(5):517-521.
- [10]Solaimalai D,Rathore S,Beck MM,et al.Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) versus Venereal Disease Research Laboratory test (VDRL) and rapid plasma reagin test (RPR) for screening of syphilis in pregnant women[J].Int J Gynaecol Obstet,2020,150(1):103-107.
- [11]涂继军,杜金红.ELISA和TRUST在梅毒检测中的应用价值[J].深圳中西医结合杂志,2021,31(13):93-95.
- [12]祝磊.ELISA法梅毒抗体检测与TRUST试验在梅毒诊断中的应用价值分析[J].中国医药指南,2020,18(10):99-100.
- [13]周振兴,刘倩宜,曹秀芬.胶体金免疫层析法检测梅毒螺旋体特异性抗体的临床分析[J].中国实用医药,2021,16(17):76-79.
- [14]景文博,姚秀.梅毒螺旋体明胶凝集试验定量检测在神经梅毒诊疗中的临床意义研究[J].贵州医药,2021,45(5):802-803.
- [15]刘博,刘志强.明胶凝集试验联合酶联免疫吸附试验在梅毒检测中的应用价值分析[J].现代诊断与治疗,2022,33(13):1989-1992.

(收稿日期:2023-03-25)

(校对编辑:谢诗婷)