梅毒感染人群中 3 种血清学检测方法与结果分析

丁正林¹, 刘少华², 李 燕² (1. 重庆市南川区人民医院检验科 408400; 2. 重庆市涪陵中心医院检验科 408000)

【摘要】 目的 通过用 3 种血清学方法对本地性病门诊高危人群梅毒感染情况的研究, 一方面了解高危人群梅毒感染率, 另一方面评价 3 种方法在梅毒血清筛查中的运用。**方法** 用酶联免疫吸附法(TP-ELISA)、明胶颗粒凝集法(TPPA)、甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)3 种方法分别对高危人群 352 例进行筛查, 用 χ^2 检验分析结果。**结果** TRUST 检测结果显示男性阳性率为 15.7%, 女性阳性率为 17.1%, 总体阳性率为 16.8%; TP-ELISA 检测结果显示, 男性阳性率为 14.9%, 女性阳性率为 15.9%, 总体阳性率为 15.6%; TPPA 检测结果显示, 男性阳性率为 13.1%, 女性阳性率为 15.9%, 总体的阳性率为 15.0%。对 3 种检测结果进行 χ^2 检验, 结果显示男性阳性率、女性阳性率以及总体阳性率 3 种检测结果差异无统计学意义。**结论** 该地高危人群梅毒感染率较高。梅毒 3 种血清学方法显示灵敏度均符合临床需要, TPPA 特异性较好, 3 种方法均存在一定的假阳性率。一般来说 3 种方法中任何一种都可用来做梅毒中期筛查实验, 梅毒早期最好选择 ELISA 方法, 确诊实验应选择 TPPA 的方法。

【关键词】 梅毒; 酶联免疫吸附法; 明胶颗粒凝集法; 甲苯胺红不加热血清试验

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.14.007 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)14-1680-02

Analysis of the three kinds of serological tests on patients with syphilis DING Zheng-lin¹, LIU Shao-hua², LI Yan²
(1. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Nanchuan District, Chongqing 408400, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Fulin Center Hospital, Chongqing 408000, China)

【Abstract】 Objective To study the infection status of syphilis in our sexually transmitted diseases(STD) out-patients by using three serological methods, and to learn about the syphilis infection rate of high risk population, and to evaluate the three methods in syphilis screening. **Methods** Methods of TP-ELISA, TP-PA and TRUST were used to do syphilis screening respectively in 352 high risk patients, and chi-square statistics was used to analyze the results. **Results** The positive rates were as follows: the results of method TRUST showed positive rate of 15.7% in male while 17.1% in female, 16.8% in total; the results of TP-ELISA showed positive rate of 14.9% in male while 15.9% in female, 15.6% in total; the results of TP-PA showed positive rate of 13.1% in male while 15.9% in female, 15% in total. There was no significant difference in the positive rates of male, female and total among the three methods. **Conclusion** There is a high infection rate of syphilis in the high risk population of this area. The sensitivities of three serological methods can meet the demand of clinic, but certain false positive rate exists in all of the three methods, while TPPA has a higher specificity. In general, any of these can be used for the screening of secondary syphilis, but ELISA is the best choice for detecting primary syphilis while TPPA is the best choice to confirm.

【Key words】 syphilis; ELISA; TPPA; TRUST

梅毒是由梅毒螺旋体引起的一种慢性传播疾病, 它可以侵犯皮肤、黏膜及其他多种组织器官, 可有多种多样的临床表现, 病程中有时呈无症状的潜伏状态, 根据病程可分为 3 期, 病原体也可以通过胎盘传染给胎儿而发生胎传梅毒(TP)。近年来其发病率有上升趋势, 为了掌握本地高危人群的梅毒感染情况, 协助临床诊断和治疗, 本研究用酶联免疫吸附法(TP-ELISA)、明胶颗粒凝集法(TPPA)、甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)3 种方法分别对高危人群 352 例进行筛查, 并对结果进行了分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 主要是于 2009 年 6 月至 2010 年 12 月来重庆市南川区人民医院性病门诊就诊的疑似梅毒患者的高危人群(有相应病史或症状)共 352 例, 男 107 例, 平均(35±5.2)岁; 女 245 例, 平均(26±4.9)岁。排除心、肾等功能异常者。

1.2 试剂 TRUST 试剂由上海荣盛生物技术有限公司提

供。TPPA 试剂由日本富士瑞必欧株式会社公司提供。ELISA 试剂由中山生物工程有限公司提供。上述试剂均在有效期内使用。

1.3 仪器 RT-2100 型全自动酶标仪由深圳雷杜有限公司提供; KJ TE-B 型定时微量振荡器, 江苏省康健医疗器械厂生产。普朗 DNX-9620 型洗板机由北京普朗新技术有限公司提供。

1.4 方法 试剂盒操作均在有效期之内, 严格按说明书进行。TRUST 和 TPPA 目测观察结果。ELISA 结果用酶标仪检测吸光度(A 值), 以 cut off 值为界判断结果。

2 结果

2.1 352 例高危人群 3 种血清学检测结果 352 例中男 107 例, 女 245 例。TRUST 检测结果显示男性阳性 17 例, 女性阳性 42 例, 男性阳性率为 15.7%, 女性阳性率为 17.1%, 总体阳性率为 16.8%; TP-ELISA 检测结果显示男性阳性 16 例, 女性阳性 39 例, 男性阳性率为 14.9%, 女性阳性率为 15.9%, 总

体阳性率为 15.6%；TP-PA 检测结果显示男性阳性 14 例，女性阳性 39 例，男性阳性率为 13.1%，女性阳性率为 15.9%，总体的阳性率为 15.0%。对 3 种检测结果进行 χ^2 检验，结果显示男性阳性率 ($\chi^2 = 0.126, P > 0.05$)、女性阳性率 ($\chi^2 = 0.033, P > 0.05$) 以及总体阳性率 ($\chi^2 = 0.136, P > 0.05$) 3 种检测结果差异没有统计学意义。见表 1。

表 1 352 例高危人群 3 种血清学检测结果 (n)

项目	TRUST			TP-ELISA			TPPA		
	男	女	合计	男	女	合计	男	女	合计
阳性	17	42	59	16	39	55	14	39	53
阴性	90	203	293	91	206	297	93	206	299
阳性率(%)	15.7	17.1	14.6	14.9	15.9	15.6	13.1	15.9	15.0

表 2 3 种血清学检测阳性临床确诊结果 (n)

项目	男性	女性	合计
阳性	14	36	50
阴性	93	209	302
阳性率(%)	13.1	14.7	14.5

3 讨论

近年来梅毒发病率有逐年上升趋势。全国每年报道的病例数约 8 万例，但估计实际病例数为 (40~80) 万。在福建、辽宁、吉林等地，梅毒已高居常见性病的第 2 位，高危人群中较高的感染率。本文对来院性病门诊的部分患者的梅毒感染检测结果结合临床发现，梅毒感染率达到 14.5%，其中男性感染率为 13.1%，女性感染率为 14.7%。统计学显示男、女性高危人群，感染率差异无统计学意义。作为一种可治愈的性病，梅毒可通过价廉、敏感、特异的血清学检测方法做到早期发现、早期诊断、早期治疗。再加上有针对性的、有效的健康教育，在一定范围内达到梅毒的基本控制是可行的。因此，及时对高危人群进行梅毒血清学筛查是有必要的。

目前，梅毒检测的常用方法主要有快速血浆反应素试验 (RPR)、甲苯胺红快速反应素试验、梅毒螺旋体 ELISA 试验、梅毒螺旋体血凝试验 (TPHA) 和梅毒螺旋体颗粒凝集试验^[1]。梅毒螺旋体感染机体后可产生两种抗体，一种是抗心磷脂抗体，即非特异性抗体，也称反应素，主要检测方法有 RPR，这种抗体滴度与梅毒活动有关，临床上主要用于观察疗效，复发及再感染。另一种梅毒螺旋体抗体，即特异性抗体，主要有免疫球蛋白 (Ig) M 和 IgG。IgM 抗体有助早期诊断和判断疗效；IgG 抗体出现较晚，即使患者经足够的抗梅毒治疗，血清反应仍保持阳性，主要检测荧光螺旋体。这种方法特异性好，但操作比较复杂，血清标本需 56℃ 处理，荧光抗体要求稀释，要有荧光显微镜和专业实验人员。

TRUST 检测的是非特异性的抗心磷脂抗体，而 ELISA、TPHA 和 TPPA 检测的是特异性的 TP 抗体。本文结果显示 TRUST 特异性低于 TP-ELISA、TPPA，存在一定的假阳性率。主要因为 TRUST 的检测原理是采用牛心磷脂作为抗原的非特异性检测，非特异性抗体在 I 期梅毒阶段增加 (约感染后 6 周)，特别是对早期梅毒的辅助诊断能力差，因此不适合

2.2 3 种血清学检测阳性临床确诊结果 结合临床表现以及其他辅助检测确诊 50 例，临床病例显示这 50 例梅毒感染者 TRUST、TP-ELISA 以及 TPPA 均为阳性，男性 14 例阳性率为 13.1%，女性 36 例阳性率为 14.7%，总体阳性率为 14.5%。男女患者之间差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.158, P > 0.05$)。见表 2。

用于早期梅毒的辅助诊断^[2]。但该方法操作简便，试剂价格便宜，反应快，不需要特殊仪器设备，方便测定抗体滴度，其滴度变化与梅毒的治疗情况呈正相关，适合用于疗效观察、随访和复发的辅助诊断以及基层医院应用。

ELISA 应用于梅毒检测最早出现于 1975 年，大量实验表明该方法具有特异性强、重复性好、操作简便，结果易于判断、便于自动化检测等优点，故得到了广泛的应用。近年来伴随着基因工程的不断发展，通过重组手段，国内外已经开发出多种含有螺旋体不同膜蛋白主要活性区域的重组蛋白，以此为基础生产的梅毒螺旋体 ELISA 检测试剂盒，无论是灵敏度还是特异性都有很大提高^[3]。TP-ELISA 是一种基于基因工程的特异性检测技术，灵敏度和特异性均较高，特异性抗体在梅毒的潜伏期即产生 (约感染后 2 周)，对梅毒的早期辅助诊断较好。TP-ELISA 是检验科的常规操作技术，操作简便，试剂价格比较便宜，适合医院大批量体检和大、中型医院检验室对梅毒感染的早期检查，但耗时比 TRUST 长，需要酶标仪、洗板机。其主要缺点为该法检测的是梅毒 IgM 和 IgG 的混合抗体，梅毒 IgG 抗体治愈后相当长的时间内仍然存在较高的阳性率，甚至终身阳性，因此，TP-ELISA 阳性只说明正在感染或曾经感染过，不能判断梅毒疾病活动与否，所以不能作为疗效监测手段^[4]。故对梅毒的诊断必须结合临床表现，否则，可能导致临床误诊，同时增加患者的心理负担。若试剂生产商能生产 TP-ELISA 法梅毒 IgG 和 IgM 抗体独立检测试剂盒应用于临床，则更有价值。

TPPA 是目前公认的较好的梅毒抗体的确认方法，具有很高的敏感度和很强的特异性，与 TPHA 试验不同，TPPA 试验是将特异性的梅毒螺旋体抗原包被在明胶颗粒上，省略了吸收剂，使其不受生物学因素的影响，包被了 TP 抗原的明胶颗粒与血清中的特异性 TP 抗体结合后出现肉眼可见的凝集反应的检测方法，故目前使用 TPPA 多于 TPHA^[5]。TPPA 的灵敏度和特异性比前两种方法都高，是临床常用的梅毒确诊试验，也可以进行效价测定，但试剂成本高，检验收费高，操作较烦琐，耗时较长，不适合大量标本的筛查，适合用于前两方法测定阳性后的确诊试验。由于该法检测同样是梅毒 IgM 和 IgG 的混合抗体，存在与 TP-ELISA 类似问题^[6]。

总之，本文研究显示本地区高危人群梅毒感染率较高，要定期对这些人群进行血清学筛查，以便及早 (下转第 1683 页)

这两种特异性和非特异性抗体来进行梅毒的诊断的,而梅毒特异性抗体出现早、消失迟,即便经过正规抗梅毒治疗,仍可检出,甚至可终生检出^[2]。本研究主要的检测梅毒特异性抗体的方法是 ELISA 方法,它还可以检出梅毒的免疫球蛋白(IgG)抗体以及早期的 IgM 抗体,有很高的灵敏度^[3-4],同时配合自动化的前处理加样和后处理酶标免疫检测系统以及实验室软件管理系统进行标准化操作还便于检测质量的控制和管理,是目前全国采供血机构应用比较广泛的方法^[5],所以本研究在实验中把 TP-ELISA 检测结果作为比较对象通过与胶体金法和 TPPA 法检测结果的对比评价制订筛查方案。

首先从实验结果看出,147 例 TP-ELISA 阳性标本,胶体金法检测出 79 例,检出率为 54%。胶体金法是目前临床应用比较普遍的一种方法,它是以基因工程方法生产的重组梅毒螺旋体外膜蛋白为包被抗原,采用胶体金标记和免疫层析技术,它的特点是快速、简便,而且对仪器环境无特殊要求^[6]。结果中本研究观察到:在 TP-ELISA 检测吸光度(A 值)只有为 2.0~3.0 的标本,胶体金法可在 5 min 内出结果,检出率 100%,A 值为 0.5 以下的标本,胶体金法基本检测不出,可以看出胶体金法特异性强但灵敏度比 ELISA 低。79 例胶体金法检测阳性的标本中有 72 例 TPPA 确认阳性,符合率 91%,作为一种快速筛查的方法,与确认方法比较能有高符合率,结合它的快速、简便,而且对环境无特殊要求的特点,把胶体金法应用在街头无偿献血者献血前的筛查还有成分血(如血小板)的采前筛查中肯定能淘汰一定数量的梅毒阳性的无偿献血者,减少血液的浪费,这还是很有意义的。

147 例 TP-ELISA 阳性标本,TPPA 法确认 89 例,检出率为 61%。TPPA 多采用梅毒螺旋体全菌体抗原或基因工程重组抗原,特异性强,临床上包括疾控中心会把它当作梅毒的确诊试验^[7],缺点是试剂较贵,检测方法繁琐,检测用时较长,不利于大批量标本筛查。本研究发现在 TP-ELISA 单试剂检测阳性的标本中,只有 5 例 TPPA 确认阳性,在 TP-ELISA 双试剂检测同时阳性的标本中 A 值为 2.0~3.0 的标本,TPPA 确认阳性,符合率 100%;A 值为 1.0 以下的标本,TPPA 确认阳性的只有 2 例。其中还有 1 例 A 值为 0.5 以下的弱阳性标本,从这可以看出 ELISA 方法虽然有很多优点,但假阳性率也是很高的,147 例标本经 TPPA 确认只有 61%被确认阳性,假如在报废之前进行 TPPA 确认,那么就会有 58 例的安全的血液不被误报废,所以在血液供应紧张的今天,对 ELISA 的阳性结

果,临床工作者还是很有必要进行 TPPA 的确认。

从保证血液的安全性、操作的自动化和血液资源的稀缺性 3 个方面考虑,本研究认为针对梅毒的筛查,最好能采取以下方案,首先在未采血前先用胶体金法筛查,合格后献血,献血后的血液标本用双 ELISA 试剂筛查,如果双试剂阳性且结果 A 值在 2.0~3.0 的,血液直接报废;A 值在小于 2.0 或者是单试剂筛查阳性的,必须用 TPPA 确认,确认阳性的(包括无法确认的)直接报废;确认阴性的,报阴性结果。因为梅毒螺旋体在 4℃ 以下存活 72 h,为了确保安全^[8],这部分血液储存 4℃ 以下 3 d 后再发放临床;同时本研究建议考虑到目前国内的梅毒 ELISA 试剂的品牌较多,灵敏度、特异性也不一样,因此,在使用前进行认真的评估和选择也显得尤为重要。

参考文献

[1] 张君炎. 我国性病流行和控制工作情况以及面临的挑战[J]. 预防医学论坛, 2005, 11(3): 381-384.
 [2] Lambert NL, Fisher M, Imrie J, et al. Community based syphilis screening: feasibility, acceptability, and effectiveness in case finding[J]. Sex Transm Infect, 2005, 81(3): 213-216.
 [3] 郭兑山, 宁平, 方德强. 梅毒螺旋体抗体 IgG ELISA 和 RPR 试验的比较[J]. 中国输血杂志, 2001, 14(2): 88-89.
 [4] 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.
 [5] 程玉根, 唐郁. 不同 ELISA 试剂梅毒抗体阳性献血者标本 TPPA 检测分析[J]. 中国输血杂志, 2009, 22(9): 749-750.
 [6] 徐树良, 赵源源, 蒋理. 胶体金法检测梅毒螺旋体特异性抗体的适用性分析[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(3): 158-159.
 [7] 熊礼宽. 如何提高性传播疾病的实验诊断的准确性[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 23(5): 261-263.
 [8] 贾文祥. 医学微生物学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 278.

(收稿日期: 2011-02-11)

(上接第 1681 页)

发现,及早治疗。梅毒 3 种血清学方法以及临床结果进行对比分析,结果显示 3 种方法灵敏度均符合临床需要,TPPA 特异性较好,3 种方法均存在一定的假阳性率。一般来说 3 种方法中任何一种都可用来做梅毒中期筛查实验,梅毒早期最好选择 ELISA,确诊实验应选择 TPPA。

参考文献

[1] 马莉, 孙波, 隋丛强. 3 种试剂检测梅毒抗体结果比较[J]. 中国卫生工程学, 2007, 5(2): 108-110.
 [2] 康淑霞, 朱安友, 王凤超, 等. ELISA 法筛查联合 TRUST、TPPA 在梅毒诊断中的应用价值[J]. 实用全科医学, 2007, 6(5): 545-546.

[3] 张峥嵘, 孙浩, 鲁润明, 等. 梅毒螺旋体基因重组抗原酶联免疫吸附实验的探讨[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2000, 20(1): 78.
 [4] 姬铁闯, 法爱玲, 张悦, 等. 酶联免疫吸附法在梅毒检测中的应用研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(10): 1252-1253.
 [5] 聂冬梅, 叶贤林, 邓超干, 等. 3 种梅毒抗体筛查方法的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(7): 615-621.
 [6] 刘小平, 邓岩. 3 种梅毒血清学诊断方法在梅毒诊治中的应用价值[J]. 检验医学, 2004, 19(4): 310-311.

(收稿日期: 2011-02-21)