

梅毒的检测方法及临床应用

薄春敏,张 静,俞琮炎,朱秀娟(上海市长宁区妇幼保健院检验科 200051)

【摘要】 目的 探讨梅毒的 4 种检测方法及其临床应用,建立适合自己实验室的梅毒检测流程和报告系统,比较目前临床常用的 4 种梅毒血清学试验方法的效果。**方法** 以明胶颗粒凝集法(TPPA)为标准,对甲苯胺红不加热试验(TRUST)、梅毒螺旋体酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)、微粒子化学发光免疫技术(TP-CMIA)方法的检测结果进行比较。**结果** 在 TP-CMIA 初筛检测的 86 例梅毒患者血清中,4 种方法均为阳性者 54 例,TPPA 阳性 77 例,TRUST 阳性 54 例,TP-ELISA 阳性 83 例,TP-CMIA 阳性 86 例。而在 120 例健康对照组中,经 TP-CMIA 检测阴性例数为 118 例,特异性为 98.33%,2 例阳性标本经 TPPA 确认为阴性。**结论** 4 种方法均存在一定的假阴性和假阳性,为了提高梅毒的检出率,对 TP-ELISA、TP-CMIA 检测出的阳性标本,要做 TRUST 滴度和 TPPA 复检并确认。86 例阳性标本中 TP-ELISA、TP-CMIA 方法与 TPPA 的检测结果显示有统计学意义($P<0.05$),其灵敏度明显高于 TPPA 法。TRUST 与 TPPA 的检测结果显示有统计学意义($P<0.05$)。TP-ELISA 与 TP-CMIA 法检测结果差异无统计学意义($P>0.05$)。

【关键词】 梅毒; 甲苯胺红不加热试验; 明胶颗粒凝集法; 梅毒酶联免疫吸附试验; 微粒子化学发光免疫技术

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.19.032 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)19-2363-02

梅毒是一种经典的性传播疾病,近年来发病率有升高趋势。由于其具有传染性且危害性大,因此对梅毒的早期诊断和及时治疗已成为当前的重要问题,这对控制其蔓延至关重要^[1]。实验室检测常用的有 3 种:性病研究实验室试验(VDRL)、快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)、甲苯胺红不加热血清试验(TRUST),可用作临床筛选,并可作定量,用于疗效观察。梅毒螺旋体血清试验包括荧光密螺旋体抗体吸收试验(FTA-ABS)、梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)、梅毒酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)、微粒子化学发光免疫技术(TP-CMIA)和梅毒螺旋体蛋白印迹试验(TP-WB)等^[2-3]。这类试验特异性高,主要用于确认试验。作者利用 TRUST、TP-ELISA、TPPA、TP-CMIA 法检测分析了 2010 年 5~9 月 86 份梅毒检测呈阳性的血清样本及 120 份健康对照血清,以探讨 4 种方法对梅毒辅助诊断价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 样本来源 86 份血清标本分别取自门诊产科患者 19 例,妇科门诊患者 67 例,均为临床确证的梅毒患者。年龄 22~50 岁。健康对照组 120 例,分别为健康体检者 60 例,健康孕妇 60 例。

1.2 仪器与试剂 (1)TRUST 试剂购自上海荣盛生物技术有限公司,爱林数显混匀器 WZR-H600 型;(2)TPPA 试剂购自日本富士株式会社;(3)TP-ELISA 试剂购自北京科美东雅生物技术有限公司,美国 ELX-800 型全自动定量绘图酶标仪;(4)TP-CMIA 采用美国雅培公司的全自动微粒子学发光仪 Architect i-2000 System,配套试剂为 Architect Syphilis TP。

1.3 方法 对每例检测对象抽取静脉血 3~5 mL 放入干燥试管内,分离血清,同时用 4 种方法对所测标本进行检测。试剂在有效期内使用,严格按操作说明书操作。

1.4 统计学方法 对检测结果进行配对 χ^2 检验。

2 结果

2.1 4 种方法检测 86 例梅毒患者的血清标本结果 见表 1。用 TP-CMIA 初筛检测的 86 例梅毒患者血清中,4 种方法均为阳性者 54 例。其中 TPPA 阳性 77 例,TRUST 阳性 54 例,

TP-ELISA 阳性 83 例,TP-CMIA 阳性 86 例。而在 120 例健康对照组中,经 TP-CMIA 检测阴性例数为 118 例,特异性为 98.33%。2 例阳性标本经 TPPA 确认为阴性,除了有假阳性的可能,据文献报道可能有真阳性的存在,应该用 TP-WB 进一步确认。

表 1 梅毒患者血清标本检测结果($n=86$)

检测方法	阳性	阴性	阳性率(%)
TRUST	54	32	62.79
TP-ELISA	83	3	96.51
TP-CMIA	86	0	100.00
TPPA	77	9	89.53

2.2 将 TPPA 与 TP-ELISA、TP-CMIA、TP-ELISA 与 TP-CMIA 作比较,结果见表 2~4。

表 2 TPPA 与 TP-ELISA 法检测结果比较

TPPA 法	TP-ELISA 法		合计
	阳性	阴性	
阳性	77	0	77
阴性	10	119	129
合计	87	119	206

表 3 TPPA 与 TP-CMIA 法检测结果比较

TPPA 法	TP-CMIA 法		合计
	阳性	阴性	
阳性	77	0	77
阴性	11	118	129
合计	88	118	206

上述结果可以看出,TPPA 阳性标本共有 77 例,用 TP-CMIA 和 TP-ELISA 检测,标本均为阳性。对照检测组标本共

有 120 例, TP-CMIA 和 TP-ELISA 方法检测为阴性的分别是 118 例和 119 例。TP-CMIA 与 TPPA 方法一致性为 94.66%。TP-ELISA 与 TPPA 方法一致性为 90.29%。

表 4 TP-ELISA 与 TP-CMIA 法检测结果比较

TP-ELISA 法	TP-CMIA 法		合计
	阳性	阴性	
阳性	84	2	86
阴性	2	118	120
合计	86	120	206

配对 χ^2 检验显示, TP-CMIA 与 TP-ELISA 法检出阳性率高于 TPPA, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。TP-CMIA 与 TP-ELISA 方法相比, 检出阳性率差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

3 讨 论

3.1 梅毒螺旋体感染人体后, 宿主会产生抗类脂抗原(反应素), 与一定比例的心磷脂、卵磷脂及胆固醇混合物抗原反应, 可检测梅毒患者体内的抗类脂抗原的抗体。TRUST 试验是采用甲苯胺红颗粒代替 RPR 试验中的碳颗粒作为指示物, 与待检血清(浆)中的反应素结合, 若是阳性就形成肉眼可见的红色絮状物。有资料显示, TRUST 的敏感性和特异性均低于 TPPA、TP-ELISA 和 TP-CMIA 法。本组阳性标本检测 TRUST 阳性率在 62.79%, 与文献报道一致^[4-5]。TRUST 对早期梅毒、二期梅毒、治疗后及潜伏期梅毒易出现假阴性或弱阳性反应, 而将血清作倍比稀释后再进行 TRUST, 有可能会 出现较强的阳性反应, 且前几个稀释度的凝集反应随稀释倍数的增加而加强, 这是由于原血清中抗类脂质抗体的浓度太高, 出现前带现象造成假阴性, 血清稀释后该抗体与试剂抗原的比例适合时出现较强的凝集反应。由于各厂家的试剂的灵敏度有差异, 最好选用同一厂家的试剂, 使反应素的滴度有较好的可比性, 以便于临床对梅毒的诊断和疗效观察。另外, 在受到传染病影响如疟疾、风疹、猩红热、结核病、肺炎、类风湿关节炎、自身免疫性溶血及一些原因不明的发热疾病影响时, 均可产生生物学阳性反应, 还会受到年龄、妊娠等影响而产生假阳性。因此, TRUST 的敏感性和特异性有一定局限性, 而且结果为肉眼观察, 易出现漏检和误判。TRUST 适于筛选试验, 不适于梅毒的诊断, 这种非特异性抗体滴度与梅毒活动病程有关, 可用于观察疗效、复发和再感染。因此, 同时采用 TRUST 和 TP-CMIA 或 TPPA 进行梅毒血清学检测, 既可以提高梅毒阳性检出率, 又能观察疗效非常有利于梅毒的早期诊断。

3.2 TP-ELISA 法是利用梅毒螺旋体基因工程混合抗原包被在微孔滴定板上, 检测血清中的梅毒特异性抗体, 是诊断梅毒螺旋体感染的依据之一^[6-7]。早期的 ELISA 试验采用间接法测定相应的特异抗体。近些年来, 随着分子生物学技术的发展, 以及对梅毒螺旋体表面脂蛋白抗原的核苷酸序列的了解, 采用基因工程的方法, 在体外表达得到了梅毒螺旋体的相应特异基因工程抗原, 这种抗原较之从整个梅毒螺旋体经超声波裂解所得抗原要纯得多, 大大提高了测定的特异性, 并且 ELISA 的测定敏感性高于 TPPA 等方法。

3.3 近年来又推出了化学发光法, 雅培公司也推出了微粒子化学免疫技术测定梅毒抗体的方法, 其原理为: 标本与包被有重组抗原(Tp-N15, Tp-N17 和 Tp-N47)的磁微粒及稀释液混合后, 标本中的抗体磁微粒上的抗原结合, 清洗后, 加入标记

acridinum 的抗人-IgM 或 IgG, 孵育并洗涤后, 加入预激发液和激发液, 通过测定反应液的相对光强度(RLU_s)可反映抗体的水平。其敏感性亦高于 TPPA 等方法, 且检测时具有快速和高通量的优点, 有利于大量标本的筛查, 应是梅毒血清学诊断试验的首选方法, 本组试验也对此有了进一步的印证。但由于 TP-CMIA 与 TP-ELISA 方法相比, 检出阳性率差异无统计学意义 ($P>0.05$), 故本院选择了 TP-CMIA 法对所测标本进行筛查。

3.4 TPPA 法是将纯化的致敏性梅毒的精致菌株成分包被在人工载体明胶粒子上, 减少了生物学假阳性的发生。非特异性凝集的发生可能是因为这些患者体内存在与梅毒螺旋体抗原相似的表位, 或者是患者体内存在与生物红细胞或明胶颗粒成分起反应的物质; 也或是体内产生的一些异常蛋白质的干扰, 真正的原因有待进一步的探讨。所谓确认试验, 并非真正意义上的确认, 其阳性结果也应结合临床, 试验时, 为了减少生物学假阳性的发生, 应做未致敏对照, 当发生非特异性凝集时, 应按试剂说明书做吸收试验后再复检。

3.5 在日常检测工作中, 经常发现一些结果为阳性的患者, 特别是老年人、孕妇等, 既无相应的临床症状或体征, 也无梅毒感染史或感染史不清^[8-9]。作者只好用多种方法复检, 并结合临床医生掌握病情, 报告结果。这不仅给实验室工作带来麻烦, 也给患者或临床医生造成对实验室梅毒结果的可信度降低。因此, 为了满足患者和临床需要, 建立自己统一、快速、流畅的检测梅毒方法及报告系统, 与临床结合, 同时开展以下 3 种检测梅毒的方法: TP-CMIA 主要用于临床各科室手术前检查和输血等大批量血标本的筛查试验, TRUST 主要用于皮肤科或性病科患者的筛查及梅毒患者疗效观察, TPPA 主要用于对前两种方法检测出的阳性标本进行复检。若有条件可以对每一份血标本同时进行特异性抗螺旋体抗体和非特异性抗类脂质抗体的检测, 这样可以大大提高梅毒的检出率。

参考文献

[1] 黄波, 钟方木, 纪红星. 3 种梅毒诊断试验的临床应用评价[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(1): 10-11.

[2] 冯焯. 梅毒血清学三种检测方法的比较[J]. 实用临床医学, 2004, 5(2): 106.

[3] 武建国. 老年人抗梅毒螺旋体测定的假阳性率偏高[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(4): 241-243.

[4] 李金明. 临床酶免疫测定技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2005.

[5] 宋继权, 盛晚香, 冯谊, 等. ELISA 在梅毒血清学诊断中的应用[J]. 中国皮肤性病杂志, 2000, 14(3): 258-259.

[6] 曹译毅. 中华妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 625-626.

[7] Peeling RW, Ye H. Diagnostic tools for preventing and managing maternal and congenital syphilis: an overview[J]. Bull World Health Organ, 2004, 82(6): 439-446.

[8] 尹跃平. 性传播疾病实验室诊断指南[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2007: 12.

[9] 尹福波. 临床妇产科学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1994: 389.