

3 种方法在梅毒实验诊断中的应用价值分析

李果¹ 高兵¹

【摘要】 目的:探讨分析甲苯胺红不加热血清反应素试验(TRUST)、酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)和化学发光法(TP-CMIA)在梅毒实验诊断中的应用价值。**方法:**收集住院患者输血前检查血清样本 8 000 例,分别用 TRUST、TP-ELISA 和 TP-CMIA 进行梅毒抗体的检测,然后进行对比分析。**结果:**TRUST 检出阳性 397 例,阳性率为 4.96%;TP-ELISA 检出阳性 290 例,阳性率为 3.63%;TP-CMIA 检出 340 例,阳性率为 4.25%。TP-CMIA 和 TP-ELISA 两者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**TP-CMIA 优于 TRUST 和 TP-ELISA,具有较高的敏感性和特异性,结果观察直观、快速、省时。TP-CMIA 能够助于梅毒的准确诊断,适合于常规临床筛查应用,对保障临床输血和手术安全起到积极作用。

【关键词】 梅毒;血清学诊断;甲苯胺红不加热血清反应素试验;酶联免疫吸附试验;化学发光法

【中图分类号】 R275.3 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1004-2806(2013)04-0232-03

Values of three methods in detection of syphilis

LI Guo GAO Bing

(Department of Medical Laboratory, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430030, China)

Corresponding author: LI Guo, E-mail: tjyjk_lg@126.com

Abstract Objective: To evaluate the clinical significance of Toluidine red unheated serum test (TRUST), Treponema pallidum-enzyme linked immunosorbent assay (TP-ELISA) and Treponema pallidum-chemiluminescence immunoassay (TP-CMIA) in detection of syphilis. **Method:** We chose 8 000 cases of the patient in hospital. TRUST, TP-ELISA and TP-CMIA were used for each sample. And then we carried out statistical analysis. **Result:** The samples from 397 patient were positive for the detection with TRUST (positive rate=4.96%); the samples from 290 patient were positive for the detection with ELISA (positive rate=3.63%); and the samples from 340 patient were positive for CMIA (positive rate=4.25%). Significant difference was found between CMIA and ELISA ($P<0.05$). **Conclusion:** Compared with TRUST and ELISA, CMIA is more direct, faster and more time-saving. Therefore, CMIA could be used to diagnose the syphilis accurately, and could also be combined to examine syphilis infection, especially before the blood transfusion and surgery.

Key words syphilis; serodiagnosis; TRUST; TP-ELISA; TP-CMIA

梅毒是由苍白密螺旋体苍白亚种(TP)感染引起的慢性全身性传播疾病。随着经济社会的发展,人口流动日益增加,梅毒已成为我国严重的公共卫生问题^[1]。梅毒给患者的身心和健康带来了极大的伤害,因此早期精确诊断是临床检验工作者的重要责任。这有助于有效控制梅毒的发生;同时也是安全输血的需要,对保障临床输血和手术安全起到积极作用,对于避免医疗纠纷有非常重要的意义。

由于其自然病程存在潜伏期,梅毒螺旋体体外培养尚未成功,所以血清学诊断是梅毒诊断(特别是晚期和潜伏期梅毒的诊断)的重要手段。选择敏感性高的血清学试验方法无论对梅毒的诊断、治疗和预防,还是对血液制品的梅毒筛查都十分重要^[2]。目前梅毒最基本最常用的血清学试验方法是 TRUST 和 TP-ELISA,均为手工操作的定性分析方法,而全新的 TP-CMIA 是全自动的定量检测

方法。我们收集我院住院患者输血前检查血清样本 8 000 例,分别用 TRUST、TP-ELISA 和 TP-CMIA 进行梅毒抗体的检测,然后进行对比分析。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 样本来源

2011-10-2011-12 我院住院患者 8 000 例。其中男 4 450 例,女 3 550 例;年龄 12~78 岁。

1.2 仪器及试剂

甲苯胺红不加热血清反应素试验(TRUST)试剂盒由厦门新创科技有限公司提供(批号:20110503、20110701)。酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒由上海科华生物工程股份有限公司提供(批号:20110811、20111020);日本 BIOIAD MODEL680 型酶标仪;DEM III 型洗板仪由北京拓普分析仪器有限公司生产。化学发光法分析试剂为美国雅培公司试剂(批号:86243HN00, 87056HN00, 95600HN00, 83639HN00, 92500HN00, 87445HN00, 88606HN00),仪器为美国雅培

¹ 华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科(武汉,430030)
通信作者:李果, E-mail: tjyjk_lg@126.com

i2000SR。3种方法检测试剂均在有效期内使用。

1.3 方法

3种方法检测均严格按照操作说明进行操作。

1.4 统计学处理

分别统计3种方法的阴性、阳性结果并计算阳性率,采用SPSS11.5统计软件对检测结果进行 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

3种方法阳性检测结果及比较见表1。

表1 3种方法的阳性结果比较

方法	阳性例数	阳性率/%
TRUST	397	4.96 ¹⁾²⁾
TP-ELISA	290	3.63
TP-CMIA	340	4.25 ³⁾

与TP-ELISA比较,¹⁾ $P<0.05$;与TP-CMIA比较,²⁾ $P<0.05$;与TP-ELISA比较,³⁾ $P<0.05$ 。

3 讨论

本试验结果表明,TRUST的阳性率(4.96%)高于TP-ELISA的阳性率(3.63%)和TP-CMIA的阳性率(4.25%),TRUST部分阳性结果为假阳性。TP-CMIA测定值较低的部分阳性标本,TP-ELISA检测结果为阴性。TP-ELISA和TP-CMIA分析比较差异有统计学意义,证实TP-CMIA敏感性比TP-ELISA更高。

人体感染梅毒螺旋体后可产生两类抗体:一类是特异性的抗梅毒螺旋体抗体(IgG、IgM),IgG抗体可终身存在,但浓度一般较低,不能预防再感染,IgM抗体持续时间短;另一类是由螺旋体破坏组织细胞释放的类脂样物质及螺旋体自身的类脂和脂蛋白刺激机体产生的非特异性抗体(IgG、IgM)^[3]。与之相对应,梅毒的血清学诊断也分为特异性和非特异性梅毒螺旋体抗体检测试验。甲苯胺红不加热血清反应素试验(TRUST)是从牛心提取的心磷脂和从鸡蛋黄提取的卵磷脂及胆固醇,检测血清中抗心磷脂抗体,即反应素,属于非特异性梅毒螺旋体抗体检测试验。此方法简便快速,成本低,稳定性好,对非特异性反应素抗体导致的阳性标本,具有较好的敏感性。适用于大量人群的血清筛查、鉴别先天性梅毒与反应素血症、进行疗效观察。缺点是血清中的抗心磷脂抗体可见于多种疾病,高脂血症和抗心磷脂抗体阳性的血清均可干扰而出现假阳性结果^[4]。如急性病毒性感染、自身免疫性疾病、结缔组织病以及怀孕的妇女,在健康人群阳性率亦达0.1%。因此,TRUST为非特异性梅毒血清学试验,存在假阳性,对TRUST筛查阳性标本必须做进一步试验。而由于梅毒患者经治疗后反

应素消失或阴转,TRUST可作为梅毒疗效观察或随访是否复发或再感染的指标。

特异性梅毒螺旋体抗体检测试验的原理是用梅毒螺旋体或其成分作抗原检测血清中的梅毒螺旋抗体。特异性抗体试验方法包括酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)和化学发光微粒子免疫分析(TP-CMIA)等等。TP-ELISA是用基因重组表达的梅毒螺旋体抗原(常用TpN15、TpN17、TpN47)包被在微孔板上,用双抗原夹心法测定梅毒螺旋体特异性抗体(同时检测IgM/IgG抗体)。TP-ELISA特异性、灵敏度都较好,成本低,操作方便,原始数据易于保存,是大批量梅毒检测的理想方法。但由于实验采用片段组合,不可能完全覆盖所有的梅毒抗体,可能存在漏检现象,而且操作步骤多,必须成批标本进行检测。临床中TP-ELISA与疗效的关系目前尚不明确,其结果不能用于观察疗效、判定复发和再感染。化学发光法是近年来美国雅培等公司推出的全自动梅毒特异性抗体测定方法,能同时检测出IgG和IgM型抗体,具有较高的检出率。TP-CMIA采用原管在全自动微粒子化学发光仪器ARCHITECT i2000上完成检测,为定量测定,最小可测值达pg水平。易操作、重复性好,可随时上机检测,结果观察直观、快速、省时,方便患者及时就诊^[5]。Knight等^[6]报道,TP-CMIA的整体灵敏度为95.80%、特异性为99.10%,既可作为筛选试验,又可作为确诊试验。而杨围等^[7]报道用化学发光法在极少数肿瘤患者的血清中可能检测出低浓度阳性值,出现假阳性结果。故在梅毒诊断时不能仅凭TP-CMIA检测结果,还要结合病史、临床表现和其他检查等综合分析。临床中TP-CMIA与疗效的关系目前尚不明确,也不能用于观察疗效、判定复发和再感染。

本试验显示化学发光法能检测出酶联免疫吸附试验所不能检出的有意义血样本,具有更好的敏感性和特异性,重复性强,便于梅毒的协助诊断,具有广泛临床应用和推广意义。当今实验室检测技术的发展趋势是快速化、准确化,标本采集微量化、自动化,TP-CMIA完全符合这些要求。因此,从避免医疗纠纷、减少患者心理压力和家庭矛盾诸方面考虑,TP-CMIA都是梅毒血清学检测的首选方法。但是,TP-CMIA也还有一些不足:①无论何种试验方法,毕竟存在一定的漏检率和非特异性,因此需要联合检测;②TP-CMIA也不能用于观察疗效、判定复发和再感染;③梅毒血清学检测结果目前尚不能用于判断患者有无传染性。随着科学技术的进步,我们有理由期待更为简便、精确的实验诊断方法的推出,以满足临床工作的需要。

(下转第237页)

表 4 肠球菌、链球菌抗菌药物敏感性 %

抗菌药物	无乳链球菌(n=24)			肺炎链球菌(n=22)			粪肠球菌(n=18)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
氨苄西林	100.0	0	0	100.0	0	0	61.1	0	38.8
克林霉素	29.2	0	70.8	0	0	100.0	0	0	100.0
环丙沙星	91.7	4.2	4.1	100.0	0	0	100.0	0	0
红霉素	79.2	0	20.8	18.2	0	81.8	38.8	27.7	33.3
呋喃妥因	87.5	12.5	0	—	—	—	100.0	0	0
左氧氟沙星	95.8	0	4.2	100.0	0	0	100.0	0	0
利奈唑胺	100.0	0	0	100.0	0	0	83.3	5.6	11.1
莫西沙星	95.8	0	4.2	100.0	0	0	100.0	0	0
青霉素	100.0	0	0	100.0	0	0	64.7	0	35.2
喹努普汀/达福普汀	100.0	0	0	—	—	—	0	0	100.0
四环素	0	0	100.0	9.1	9.1	81.8	5.6	0	94.4
替加环素	100.0	0	0	—	—	—	100.0	0	0
万古霉素	100.0	0	0	100.0	0	0	94.4	0	5.6

胞菌对β-内酰胺类抗菌药物耐药率较高,但头孢他啶敏感率 100%,对喹诺酮类、氨基糖苷类和碳青霉烯类抗菌素敏感率高(92%以上),是治疗的理想抗菌素,未出现对亚胺培南耐药菌株。热带假丝酵母 1 株引起血流感染,虽然真菌引起血流感染机率小,但病死率高,应及时向临床报告涂片结果,酵母样真菌(除了红色假丝酵母和克柔假丝酵母)对抗真菌药物耐药率低,两性霉素 B 和唑类药物抗真菌谱广^[9],在临床广泛应用,尤其是氟康唑已成为临床抗真菌感染预防和治疗的的首选药。

血流感染病原菌种类多,耐药情况严重多变,临床应积极进行病原学检查及药敏试验,合理应用抗菌药物,减少多重耐药株的产生,减少血流感染的发生率和病死率。

参考文献

[1] MAJA VERENA NIELSEN,NIMAKO SARPONG,RALF KRUMKAMP,et al. Incidence and Characteristics of Bacteremia among Children in Rural Ghana [J]. Plos One,2012,7:1-8.
[2] DOMBROVSKIY V Y,MARTIN A A,SUNDER-
RAM J,et al. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States:a trend analysis from 1993 to 2003[J]. Crit Care Med,

2007,35:1244-1450.

[3] DELLINGER R P,LEVY M M,CARLET J M,et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008[J]. Intensive Care Med,2008,34:783-785.
[4] 高杲,李丹,汤瑾,等. 2009~2011 年血流感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012,6(13):3650-3653.
[5] MITT P,ADAMSON V,LIVUKENE K,et al. Epidemiology of nosocomial bloodstream infections in Estonia [J]. J Hosp Infect,2009,71:365-370.
[6] 刘昱东,王辉,杜娜,等. 利奈唑胺、替加环素、达托霉素、头孢吡普等抗菌药物对 MRSA 的抗药活性[J]. 中国感染与化疗杂志,2008,8(1):10-14.
[7] 叶素娟,杨青,俞云松. 2005 年中国 CHINET 大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志,2007,7(4):283-286.
[8] BRATU S,MOOTY M,NICHANI S,et al. Emergence of KPC-possessing Klebsiella pneumoniae in Brooklyn,New York:epidemiology and recommendations for detection[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005,49:3018-3020.
[9] 周建党,黄辉,陈颖,等. 四年间酵母样真菌感染的病原菌分布与耐药特征分析[J]. 中国微生态学杂志, 2007,19(2):202-203.

(收稿日期:2012-10-11)

(上接第 233 页)

参考文献

[1] 李安信,王鹰. 梅毒的诊断和治疗策略[J]. 传染病信息,2007,20(1):26-29.
[2] 林碧,陈筱华. 血液梅毒筛查中不同实验方法适用性探讨[J]. 浙江实用医学,2008,13(1):68-69.
[3] 陶小华. 梅毒的临床免疫学研究进展[J]. 岭南皮肤性病科杂志,2009,16(1):65-66.
[4] 马开富,刘胜武. 梅毒血清学诊断试验方法研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(1):63-65.
[5] MO X H,JIN Y L,YANG Y,et al. Evaluation of a

new chemiluminescence immunoassay for diagnosis of Syphilis[J]. European journal of medical research, 2010,15:66-69.

[6] KNIGHT C,MARRY S,CRUM A. Evaluation of the LIAISON chemiluminescence immunoassay for diagnosis of Syphilis[J]. Clinical and Vaccine Immunology, 2007,14:710-713.
[7] 杨围,毛跃. 43 例梅毒假阳性结果分析[J]. 西南军医, 2006,8(5):48-49.

(收稿日期:2012-08-31)