

- chronic wounds[J]. Br J Dermatol, 2006, 155(2): 267-274.
- [8] Bui TD, Huerta S, Gordon IL. Negative pressure wound therapy with off-the-shelf components[J]. Am J Surg, 2006, 192(2): 235-237.
- [9] 戴新明, 韩勇, 苏顺青, 等. 封闭式负压吸引技术治疗麻风溃疡[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2010, 26(11): 771.
- [10] 卡姆. 美国负压吸引技术[M]. 周长青, 译. 北京: 科学技术文献出版社, 2005: 65-67.
- [11] Gabouev AI, Schultheiss D, Mertsching H, et al. In vitro construction of urinary bladder wall using porcine primary cells reseeded on acellularized bladder matrix and small intestinal submucosa[J]. Int J Artif Organs, 2003, 26(10): 935-942.
- [12] Hoeller D, Petrie N, Yao F, et al. Gene therapy in soft tissue reconstruction[J]. Cells Tissues Organs, 2002, 172(2): 118-125.
- [13] Zagon IS, Sassani JW, Malefyt KJ, et al. Regulation of corneal repair by particle-mediated gene transfer of opioid growth factor receptor complementary DNA[J]. Arch Ophthalmol, 2006, 124(11): 1620-1624.

(收稿日期: 2011-06-30)

输血前梅毒实验室检测技术与应用现状

陈桂兰 综述, 陆 燕 审校(广西壮族自治区来宾市人民医院 546100)

【关键词】 输血前; 梅毒; 实验室检测

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 01. 036 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)01-0066-02

梅毒(syphilis)是一种全球分布的性传播病,主要通过输血和性接触传播。近年来,在我国发病率逐年增加,2009 年国家卫生部公布的甲、乙类法定报告传染病中,梅毒发病人数已从 2005 年的第 5 位跃居第 3 位。目前,梅毒血清学检验已列入献血员和临床患者输血前、手术前以及各种创伤性检查前的常规检测项目,梅毒血清学实验是血站血液筛选和临床检测项目中的重要指标之一,因此选择合适的实验方法,将为临床输血安全提供有力的保障,同时也可避免不必要的医疗风险和纠纷^[1]。

人是梅毒的唯一传染源。梅毒有先天性和获得性两种。先天性梅毒(又称胎传梅毒)是梅毒螺旋体通过胎盘传染胎儿,早期可致胎儿流产、早产,晚期感染的成活胎儿可能患先天梅毒^[2]。获得性梅毒主要经性接触传播,接吻、手术、哺乳、输血、接触污染物也可被传染。获得性梅毒在临床上分为三期:一期梅毒、二期梅毒和三期梅毒。人体感染梅毒螺旋体后,可产生特异性抗梅毒螺旋体抗体和非特异性抗心磷脂(cardiolipin)抗体。特异性抗梅毒螺旋体主要有 IgM、IgG 抗体, IgM 抗体持续时间短, IgG 抗体却持续时间长,甚至可终生存在,但抗体浓度较低,一般不能预防再感染。非特异性抗心磷脂抗体又称反应素,是由梅毒螺旋体破坏的组织细胞所释放的类脂样物质以及梅毒螺旋体自身的类脂和脂蛋白刺激机体产生的 IgM 和 IgG 抗体。这种抗体也可在非梅毒螺旋体感染的多种急、慢性疾病患者的血清中检出。

梅毒检测的方法有多种,有梅毒螺旋体检查、特异性和非特异性抗体检测及 PCR^[3-4],应视检测目的应用不同联合检测方法,方能达到预期效果,本文就梅毒的实验室诊断及临床相关问题综述如下。

1 几种常用方法及原理

1.1 病原学检查 梅毒螺旋体检查为病原学检查,是早期梅毒检测之一。诊断一期、二期梅毒,可取患者的渗出物或行淋巴结穿刺术得到的组织液,在暗视野显微镜下观察梅毒螺旋体的特征性形态和运动方式。主要方法为暗视野显微镜检查、直接免疫荧光试验(DFA)、梅毒螺旋体镀银染色检查。

1.2 血清学试验 非特异性抗类脂质抗体检测,以甲苯胺红

不加热血清试验(TRUST)为代表,检测的非特异性类脂质抗体也称反应素,为梅毒螺旋体损伤组织所产生;一般在硬下疳出现 4 周才能检出,出现晚于特异性梅毒抗体,在疾病的非活动期或治疗后容易消失,灵敏度较差,并且该法受某些其他疾病的影响均易产生假阳性结果,如自身免疫性疾病、麻风病、病毒感染、高脂血症及妊娠时特异性不高,临床上常将之作为梅毒患者治疗后滴度的检测及疗效观察,而单独用于梅毒的筛查和诊断具有一定的局限性^[2]。梅毒螺旋体抗体酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)检测的是梅毒特异性抗体,是将基因重组表达的梅毒膜特异性抗原包被在微孔板上,用双抗原夹心法测定梅毒特异性抗体。TP-ELISA 主要检测梅毒螺旋体 IgG 和 IgM 抗体, TP-ELISA 检测操作简便,结果用酶标仪分析,客观准确,便于保留及标准化管理,对各期梅毒的检出率都较高,可用作筛查,因此 TP-ELISA 被公认为梅毒血清学诊断实验的首选筛查方法^[3]。

梅毒螺旋体乳胶凝集试验(TPPA)是梅毒的特异性试验, TPPA 是将提纯的梅毒螺旋体特异性抗原包被明胶颗粒上,当抗原与血清中的特异性抗体发生特异性反应时,就会出现颗粒凝集现象,凝集的强弱与抗体浓度呈正相关^[4]。

胶体金法是新兴发展起来的一种体外快速诊断技术,它结合了特异的抗原抗体反应与色谱层析技术,应用现代生物技术制备了纯化的单克隆梅毒螺旋体基因工程抗原,能高度检出梅毒螺旋体抗体,具有快速(5~15 min 即可出结果)、简便与准确的特点^[5]。而且可用于全血、血浆或血清检测,可最大限度避免标本处理及其他条件对结果的影响;并且只需要一次加样,不需要特殊的实验仪器,既可批量检测,也可以用于少量标本的检测。因此,梅毒胶体金法非常适合基层医疗单位用于梅毒的筛查与诊断,值得在临床中进一步推广应用^[6]。

免疫印迹法是一种诊断梅毒感染的特异性试验,通过转移电泳制备的硝酸纤维膜条上含有梅毒螺旋体的各种成分,经过与待测血清和酶标抗体孵育,底物显色后,当血清中存在梅毒特异性抗体时,则在印迹膜上相应的特异性多肽抗原位置出现显色条带。从不同研究者采用免疫印迹法所呈现的梅毒螺旋

体特异性来看,抗原区带结果的报道存在着差异^[7]。

1.3 聚合酶链反应(PCR)检测原理 PCR 是较新的方法,它能对生殖器溃疡进行早期鉴别诊断,区分梅毒、生殖器疱疹及软下疳。虽然血清学实验室诊断是梅毒诊断的主要方法,但其对一期梅毒、伴艾滋病梅毒、神经梅毒等敏感性低,不能区分母体梅毒与胎传梅毒^[8-9],不能判断传染性,PCR 法在一期梅毒的诊断中灵敏性高于血清学方法,其原因是机体感染梅毒后须 3~4 周才产生抗体^[10]。TP 现在还不能人工培养,梅毒检测主要有暗视野或直接荧光染色(DFA)镜检,PCR 试验在此情况下显示其独特的优越性。但当前诊断梅毒的 PCR 仍存在引物的非特异性、对血清(全血)、脑脊液等敏感性低等缺点^[11]。而且当皮损开始愈合、分泌物减少、血清学试验阳性反应时,采用 PCR 方法就不合适。另外,PCR 方法易受标本中的组织和细胞碎片等物质抑制,导致 PCR 假阴性结果^[12]。所以 PCR 检测不宜用作判断是否痊愈。

2 各方法学优缺点

2.1 病原学检查 其原理是取患者损害的渗出物或淋巴结穿刺术得到的组织液,观察螺旋体的特征性形态和运动方式,在理论上对早期梅毒有较高的检出率,但受到条件的制约(包括就用药、高质量的荧光显微镜、试剂和技术等)也较多,因此实际检出率并不高。其中病原学检查中的镀银染色能使梅毒螺旋体染成棕褐色或褐黑色,染色层次清楚,反差明显,形态清晰,背景为黄色,梅毒螺旋体易被着色辨认,封片后可永久保存标本,可被用于科研或者教学^[13]。

2.2 血清学检测

2.2.1 TRUST 优点为临床上常将之作为梅毒患者治疗后滴度的检测及疗效观察。缺点为灵敏度较差,并且该法受某些其他疾病的影响如自身免疫性疾病、麻风病、病毒感染、高脂血症及妊娠时均易产生假阳性结果,特异性不高,在疾病的非活动期或治疗后容易消失,既往感染检测不出来。

2.2.2 TP-ELISA 该方法检测的是梅毒特异性抗体,优点为操作方便,低成本。缺点为有一定的假阳性,不能用于疗效观察。

2.2.3 TPPA 该方法是梅毒的特异性试验。优点为可作为确认实验^[6]。缺点为成本高,操作繁琐,不能用于疗效观察。

2.2.4 金标法 优点为操作简便,成本低。缺点为敏感性比 ELISA 稍差,不能用于疗效观察。

2.3 免疫印迹法 优点为敏感性特异性高,尤其对新生儿先天梅毒^[6]。缺点为成本高,基层医院无条件开展工作。

2.4 PCR 优点为敏感性特异性高,缺点为成本高,基层医院无条件开展工作。当皮损开始愈合、分泌物减少、血清学试验阳性反应时,采用 PCR 就不合适。另外,PCR 易受标本中的组织和细胞碎片等物质抑制,导致 PCR 假阴性结果。所以 PCR 检测不宜用作判断治愈的标准。

3 应用现状

目前视各实验室实验条件所限,各自方法各自总结,但基层医院多数仅用 TRUST。

4 根据所查资料总结,建议各种组合联合检测用于不同的目的

4.1 以诊断治疗为目的 TPPA+TRUST。

4.2 受血者或术前患者 依据各检测单位实验条件:依次选 TPPA+TRUST、TP-ELISA+TRUST、金标法+TRUST,总之不能仅采用 TRUST 检测。

4.3 新生儿先天梅毒检测 免疫印迹法+PCR^[5]。

检测特异性梅毒螺旋体抗体的各种方法,如 TPPA、TP-ELISA、胶体金免疫层析法等,此类方法同时检测 IgG 和 IgM。梅毒患者经正规治疗,其梅毒螺旋体抗原消失后 IgG 抗体仍可继续存在,不易转阴,也不随病程的发展和治疗好坏而变化,可终身或半终身保留,并可在血清中检出^[3]。输血前检测梅毒的目的与门诊诊断有所区别,门诊诊断往往可以忽略既往感染患者,而只对现行感染患者进行治疗。而输血前患者的梅毒检测,有必要把现行感染及既往感染存在的抗体均告知患者,以免引起输血纠纷。总之,选择合适的实验方法,将为临床输血安全提供有力的保障,同时也可避免不必要的医疗风险和纠纷。

参考文献

- [1] 龙振华. 梅毒病学[M]. 北京:北京科学技术出版社, 2004:44.
- [2] 岳秋梅,韦小民. 浅谈梅毒的流行与防治[J]. 医学动物防制, 2010,26(7):680-681.
- [3] 吴辉云,曹月萍,刘隆萍,等. 三种不同的梅毒血清学实验在输血安全中的运用[J]. 实验与检验医学, 2009,27(3):311.
- [4] 钟菊香,付先辉,陈兰芳,等. 三种梅毒血清学试验方法的比较分析[J]. 实验预防医学, 2009,16(1):231-233.
- [5] 李朋友,黎永新,林茂锐,等. 3 种梅毒血清学诊断试验的临床应用评价[J]. 检验医学与临床, 2009,6(9):662-665.
- [6] 宗扬勇. 胶体金在梅毒实验诊断中的应用价值[M]. 现代中西医结合杂志, 2009,18(4):430-431.
- [7] 谭爱国,何美懿,高德琴. 免疫印迹法检测梅毒患者血清中 IgG 抗体临床意义及方法学评价[J]. 现代检验医学杂志, 2002,8(3):19-21.
- [8] 张荣,周华,潘鹏,等. 蛋白免疫印迹和荧光-PCR 诊断早期先天梅毒研究[J]. 中国热带医学, 2006,6(6):947-948.
- [9] Burstain JM, Grimpel E, Lukehart SA, et al. Sensitive detection of *Treponema pallidum* by using the polymerase chain reaction[J]. J Clin Microbiol, 1991,29(1):62-69.
- [10] 曾铁兵,吴移谋,黄澍杰,等. PCR 扩增梅毒螺旋体 *po1A* 基因及其在一期梅毒诊断中的应用[J]. 南华大学学报:医学版, 2003,31(3):12-14.
- [11] 曾铁兵,吴移谋,黄澍杰,等. 巢式 PCR 扩增梅毒螺旋体 *po1A* 及其临床应用的研究[J]. 中国皮肤性病杂志, 2004,18(2):74-76.
- [12] 彭晓灵,李建标,林万明. 梅毒诊断的研究进展[J]. 国外医学:临床生物化学与检验学分册, 1996,17(1):15-17.
- [13] 付绍玲. 4 种方法对早期梅毒患者的检测结果分析[J]. 中国公共卫生, 2003,19(9):107-108.