

参考文献

- [1] 王凤学, 张毅男, 李昕, 等. 前、中斜角肌间隙体表定位的观测[J]. 中华麻醉学杂志, 1998, 18(12): 751-752.
- [2] 孟庆云, 柳顺锁. 小儿麻醉学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 274-276.
- [3] 王卫平. 儿科学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2008: 56-57.
- [4] 李蕊. 臂丛神经阻滞复合氯胺酮麻醉在小儿上肢手术中的应用[J]. 河南外科学杂志, 2009, 15(2): 40-41.

(收稿日期: 2011-12-17)

• 临床研究 •

4 种梅毒螺旋体检测方法的应用探讨

解拥军(江苏省南京市浦口区中医院检验科 211800)

【摘要】 目的 探讨采用甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)、明胶颗粒凝集试验(TPPA)、梅毒酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)、化学发光免疫分析法对梅毒螺旋体进行检测及鉴定, 提高临床对其诊断。**方法** 用 TRUST、TPPA、TP-ELISA 对用化学发光免疫分析法大批量筛查的 4 592 例标本中 67 例阳性标本和 50 例健康体检标本进行检测, 评价 4 种方法在临床诊断中的优缺点。**结果** 用化学发光免疫分析法筛出的 67 例阳性标本中, TPPA 法确认阳性 65 例, 符合率为 97.01%; TP-ELISA 检出阳性 66 例, 符合率为 98.51%; TRUST 检测出阳性 54 例, 符合率为 83.08%; 50 例健康体检标本均为阴性。**结论** 化学发光免疫分析法也可用于大量标本筛查, 对于检测和临床诊断两种方法筛查血液的选择最好是用 ELISA 或化学免疫发光分析结合 TRUST 进行判断, 是较为理想的血清学试验组合。

【关键词】 梅毒; 甲苯胺红不加热血清试验; 明胶颗粒凝集试验; 梅毒酶联免疫吸附试验; 化学发光免疫分析法

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.09.031 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)09-1086-02

梅毒(TP)是由梅毒螺旋体(苍白螺旋体)引的慢性传染病, 也是常见的性传播疾病之一。近年来, 我国发病率有逐渐升高的趋势, 由于具有传染性且危害性大, 因此, 实验室对梅毒的诊断也显得尤其关键。梅毒诊断必须根据病史、临床症状、体检和实验室检查结果进行综合分析, 慎重作出诊断。实验室中梅毒血清学检查包括非梅毒螺旋体血清试验和梅毒螺旋体血清试验。前者用于临床筛选及判断治疗的效果; 后者则主要是确认试验, 但是它不能判断治疗效果, 因为一旦患上梅毒, 即使经过抗梅毒治疗以后, 也可检出其特异性抗体, 甚至可终生检出阳性。不同的检测方法都具有其特殊的临床价值。实验室如何更合理地选用检测方法, 避免误诊、漏诊以及引起医患纠纷等问题是非常必要的。为此, 作者就如何合理地、更好地利用甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)、明胶颗粒凝集试验(TPPA)、梅毒酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)、化学发光免疫分析法对梅毒辅助诊断进行探讨, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 标本来源于本院 2010 年 1~6 月所有住院和门诊(包括孕产妇产前检查)患者, 共 4 592 例; 另外 50 例是来自本院健康体检者的血清标本。

1.2 试剂与仪器 TRUST 试剂由上海荣盛生物药业有限公司提供、TPPA 试剂由日本株式会社生产、TP-ELISA 试剂由上海科华生物工程股份有限公司提供、化学发光免疫分析法试剂由北京科美东雅生物技术有限公司提供, 以上试剂均在试剂有效期内使用。国营华东电子管厂制造的 DG5031 酶标仪、洗板机、加样器为上海求精生化试剂仪器有限公司制造。

1.3 方法 采用性病研究实验室抗原重悬于含有特制的甲苯胺红溶液中制成, 在特制白色卡片上进行试验, 以检测血清或血浆用。定量试验时(血清用生理盐水做倍比稀释后再进行试

验)每次试验用专用滴管及针头垂直分别滴加 TRUST 试剂于血清中并按每分钟 100 转摇动 8 min 后观察结果, 本试验在 23~29 °C 条件下进行。

1.3.1 TPPA 用生物红细胞做载体吸附 TP 的粉碎物做抗原检测血清中相应的抗体, 并且它是使用将纯化的致病性梅毒的精致菌株成分包被在人工载体明胶颗粒上, 以减少生物学假阳性的发生, 虽然可发生非特异性凝集, 但非常少见。

1.3.2 TP-ELISA 用梅毒螺旋体基因工程混合抗原($17 \times 47 \times 10^3$)包被的微孔反应板和混合酶标记基因工程抗原($17 \times 47 \times 10^3$)及其他试剂制成, 应用一步双抗原夹心法原理检测。每次实验设空白对照 1 孔, 阴、阳性对照各 2 孔, 加样后 37 °C 孵育 60 min 洗板后加底物显色, 用 450/630 nm DG5031 型酶标仪, 先用空白校零, 然后读取每孔吸光度值。

1.3.3 化学发光免疫分析法 用一步双抗原夹心免疫分析模式, 属于梅毒螺旋体抗原结合试验, 使用多种 TP 特异性蛋白抗原制备固相抗原, 辣根过氧化物标记的相同蛋白作为标记抗原与样品中的梅毒螺旋体抗体形成双抗原夹心, 洗涤后 5~30 min 内测定其发光强度, 根据临界值判断样品是否含有梅毒螺旋体特异性抗体。

2 结果

4 592 例筛查标本用化学发光免疫分析法共筛查出 67 例阳性, 检出率为 1.46%, 其中 65 例 TPPA 确认试验阳性, 2 例 TPPA 确认试验阴性, 化学发光免疫分析法假阴性率为 2.98%, 化学发光免疫分析与 TPPA 符合率达到 97.01%; 67 例标本用 TP-ELISA 检测后 66 例阳性, 1 例阴性, TP-ELISA 与 TPPA 符合率达到 98.51%; 用 TRUST 检测则能检出 54 例阳性, 13 例阴性, TRUST 与 TPPA 符合率为 83.08%; 50 例健康体检者血清用化学发光免疫分析法和 TP-ELISA 检测均

为阴性。

3 讨 论

梅毒螺旋体存在于患者的血液或脑脊液中,在人工培养基上不生长繁殖。梅毒可分为后天性梅毒和先天性梅毒,前者主要通过性接触传播,后者从母体通过胎盘传给胎儿,也可经血液传播。当人体感染梅毒以后,3~6 周以后可在患者血清中检查出两种抗体,一种是针对螺旋体抗原的抗体,另一种是针对非螺旋体抗原的抗体。梅毒特异性抗体出现早、消失迟,即便经过正规抗梅毒治疗,仍可检出其特异性抗体,甚至可终生检出。抗-TP 是诊断梅毒螺旋体感染的依据。临床梅毒检测经常使用的血清学试验,分为非梅毒螺旋体抗原试验(如 TRUST)和梅毒螺旋体抗原试验(如 TPPA、ELISA、化学发光免疫分析法)。

TPPA 使用梅毒螺旋体毒株制成抗原,检测血清中的梅毒特异性抗体,特异性好、灵敏度高,已是目前公认的梅毒血清确证试验,但试剂较贵,检测时需将标本进行系列稀释,检测时间较长,不利于大批量标本检测,且以肉眼判断结果,所以结果的判断常带有主观色彩,原始数据也无法保存。TRUST 是梅毒诊断的筛查而非确诊试验。TRUST 检查的是人体内的反应素,目前对反应素的来源尚有争议,多数人认为它是人体感染梅毒螺旋体后组织受到破坏裂解出来的一种类脂成分,这种成分与梅毒螺旋体的蛋白质结合,成为抗原,刺激机体产生抗类脂质抗体即反应素^[1]。梅毒螺旋体破坏组织可使机体产生反应素,而其他破坏机体的过程也可产生反应素,所以梅毒患者 TRUST 阳性,但 TRUST 阳性者并不一定感染梅毒螺旋体。人体某些生理状态,如怀孕时,TRUST 可以出现假阳性;患有急性传染病,如风疹、水痘、病毒性肝炎、上呼吸道感染、肺结核、肺炎、亚急性细菌性心内膜炎等疾病时,TRUST 也可以呈假阳性;许多慢性病,如类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、风湿性心脏病、肝硬化、干燥综合征、慢性肾炎和海洛因成瘾等,TRUST 同样也可以呈假阳性。因此,不能单独根据因 TRUST 阳性诊断梅毒,而应对患者进行全面检查,并密切随访。曾有报道,TRUST 在 I 期梅毒、II 期梅毒的检出率非常高,高达 95% 以上^[2];TRUST 在 I 期梅毒早期和晚期梅毒、晚期潜伏梅毒及治疗后梅毒可呈阴性,在 I 期潜伏期及晚期梅毒中检出率为 58%~85%^[3]。由于各科室住院患者 3 期梅毒、隐性梅毒较多,65 例 TPPA 检测阳性病例中 11 例可能为晚期梅毒或潜伏期隐性梅毒,从而用 TRUST 测出为阴性。故用 TRUST 作为大批量标本的筛查,将造成漏诊、误诊以及引起医患纠纷等,所以 TRUST 不适合于大批量标本的筛查,但是 TRUST 可进行定量或滴度的测定,目前阶段主要依靠 TRUST 的滴度变化来判断疗效更为安全可靠。TP-ELISA 是利用基因重组工程合成抗原,亦是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。其特异性、灵敏度与 TPPA 相近,符合率为 98.48%,与周君霞和巫翠云^[4]的报道相似。早期的 ELISA 采用间接法测定相应的特异抗体。近年来,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 的测定敏感性亦高于 TPPA 等方法。此外,ELISA 还具有简单、快速和高通量的优点,是梅毒血清学诊断试验的首选方法。但其检测的是梅毒 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,甚至终生阳性,因此,TP-ELISA 阳性只能说明正处于感染期或曾经感染过,不能判断梅毒病毒活动与否,所以不能作为疗效监测手段。TP-ELISA 试剂成本低,操作方便,可使用全自动或半自动酶标仪,原始数据易于保存,是大批量标本梅毒筛查的理想方法。

化学发光免疫分析法是近几年发展起来的新兴方法,其原理采用一步双抗原夹心免疫分析模式,它属于梅毒螺旋体抗原结合试验,也是检测血清中的梅毒特异性抗体,其灵敏度、特异性与 TPPA 也相近^[5-6]。临床大量试验显示,此法在临床上也可用于大量标本筛查,其特异性和灵敏度也相当的高,也是个首选的筛查方法。患者标本单一方法检测,漏检的机会较大,TRUST 存在不同水平的假阳性,从医疗单位避免医疗纠纷和患者减少心理压力及家庭矛盾 2 个方面考虑,标本的检测最好采取 ELISA 或化学发光免疫分析法和 TRUST 两种方法筛查,阳性标本再用 TPPA 进行生物学假阳性鉴别。TPPA 特异性好,适合用于梅毒筛查后阳性标本的确证,不宜作为梅毒筛查及疗效判断。血液筛查从包括血液的安全性、操作的方便性和经济性 3 个方面考虑,双法筛查血液的选择最好是 ELISA 或化学免疫发光分析法结合 TRUST 进行判断,是较为理想的血清学试验组合。

因此,临床应该同时检测非特异性抗类脂质抗体和特异性抗-TP 来确诊梅毒。梅毒血清学检查是诊断梅毒的重要依据,但并非唯一依据,医生应在掌握了患者的个人生活史及体检的基础上,综合分析梅毒血清学检测结果,排除假阳性、假阴性情况,才能作出正确的诊断。通过本试验统计数据结果表明,实验室合理地选用 4 种不同检测方法进行梅毒检测,将减少漏诊、误诊,为临床梅毒分期的确诊提供全面的参考依据,并且对判定梅毒的发展、痊愈及判断药物的疗效都有十分重要的意义。

参考文献

- [1] 倪蓝. 748 例梅毒患者血清学试验结果分析[J]. 中华现代临床医学杂志, 2004, 10(8): 93-94.
- [2] 田绿波, 陈肖潇. 3 种梅毒筛查方法的比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(8): 1567-1568.
- [3] 陈春梅, 曾志良. 潜伏期梅毒 85 例血清学检测分析[J]. 中国皮肤性病杂志, 2004, 14(5): 329-330.
- [4] 周君霞, 巫翠云. 四种梅毒螺旋体检测方法的应用[J]. 山东医药, 2008, 48(1): 122-123.
- [5] 金月兰, 顾伟鸣. 化学发光免疫分析与梅毒螺旋体明胶凝集试验检测螺旋体特异性抗体的比较[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(11): 1229-1230.
- [6] 阮豪骥. 两种梅毒检测方法比较的初步研究[J]. 检验医学, 2005, 20(2): 180.

(收稿日期: 2011-12-14)