

临床常用三种梅毒检测方法的实验室比较

刘新平, 周方红(湖南省醴陵市中医院检验科 412200)

【摘要】 目的 了解直接镜检法、梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)、聚合酶链反应(PCR)法在梅毒确诊方面的应用价值。方法 对 132 例疑似梅毒患者的标本分别进行直接镜检法、TPPA、PCR 法的检测,并对结果进行分析和总结。结果 TPPA 法的阳性率为 94.9%,PCR 法阳性率 91.9%,直接镜检法阳性率为 89.9%,单一方法可能出现漏检。结论 直接镜检法、PCR 法、TPPA 法均为较好的确诊梅毒的试验,为减少漏检,最好选择 PCR 法和 TPPA 法同时进行检测。

【关键词】 梅毒; 聚合酶链反应; 梅毒螺旋体明胶凝集试验; 直接镜检

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.20.060 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)20-2633-02

梅毒是由梅毒螺旋体引起的一种慢性的、系统性的传染病,早期诊断和及时治疗梅毒对减少患者痛苦和控制其蔓延至关重要。梅毒螺旋体一旦侵入人体后,血清中可产生非特异性反应素抗体和梅毒螺旋体抗原的特异性抗体。目前用于梅毒血清学的检验方法主要有非梅毒螺旋体血清试验和梅毒螺旋体血清试验,检测感染者血清梅毒螺旋体抗体是诊断梅毒螺旋体感染的主要办法。不同的检测方法都有其特殊的临床应用价值,实验室检测结果是诊断梅毒的重要依据^[1-2]。为了解梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)、聚合酶链反应(PCR)和直接镜检法的敏感性和特异性,从 2004 年 7 月至 2010 年 7 月作者在门诊收集了 132 例有溃疡的可疑梅毒患者标本,采用不同方法检测,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 132 例标本取自 2004 年 7 月至 2010 年 7 月本院皮肤科门诊可疑梅毒患者,年龄 15~77 岁,平均 28.7 岁,其中男 79 例,女 53 例,临床表现为阴茎、龟头或外阴有无痛性溃疡硬下疳或假性湿疣。用盖玻片刮取溃疡分泌物溶于无菌生理盐水中立即送检,同时抽取 4 mL 静脉血送检。

1.2 试剂 梅毒螺旋体抗体诊断试剂(凝集法)TPPA 试剂购自日本富士株式会社,梅毒螺旋体核酸扩增荧光检测试剂盒(PCR)购自厦门安普利生物工程公司。

1.3 仪器 全自动 Amply 9800 型 PCR 仪, Olympus BH-2 显微镜(带暗视野镜头),离心机。

1.4 方法 TPPA 法、PCR 法严格按试剂盒说明书进行,直接镜检法,标本滴于载玻片上,用暗视野显微镜检查,苍白螺旋体的特点为运动活泼,沿其长轴滚动,屈伸,旋转,前后转移。

2 结果

132 例可疑梅毒患者确认梅毒 99 例,这 99 例梅毒患者的标本进行检测时,PCR 法有 91 例阳性,阳性率为 91/99 (91.9%);直接镜检法 89 例为阳性,阳性率为 89/99 (89.9%);TPPA 法 94 例为阳性,阳性率为 94.9%。在 99 例确诊病例中三种检测结果一致的有 86 例,有 13 例三种检测结果不完全一致,其中有 8 例 TPPA 法阳性,而 PCR 法和直接镜检法阴性,有 3 例 PCR 法和直接镜检法阳性,而 TPPA 法阴性,有 2 例 PCR 法阳性,而直接镜检法和 TPPA 法为阴性。所有检测结果见表 1。

表 1 99 例患者三种方法的梅毒检测结果

方法	阴性例数	阳性例数	阳性率(%)
TPPA 法	5	94	94.9
PCR 法	8	91	91.9
直接镜检法	10	89	89.9

3 讨论

梅毒是由梅毒螺旋体感染引起的性传染病,感染后产生非特异性抗体类脂质抗体抗心磷脂(cardiolipin)和特异性抗螺旋体抗体(TPAb),后者比前者出现早。临床实验室对梅毒的血清学检查包括非梅毒螺旋体血清学试验和梅毒螺旋体血清学试验。前者常用于临床筛选及判断治疗的效果,后者则主要是确认试验,但它不能判定治疗效果^[3]。因为一旦患有梅毒,即便经过正规抗梅毒治疗,仍可检出其特异性抗体,甚至可终生检出阳性。

直接镜检法和荧光定量 PCR 法是直接检测梅毒螺旋体的一种方法。即是显微镜下没有明亮的光线,光线从聚光器的边缘斜射到涂片上的梅毒螺旋体而发出亮光,从而根据其特殊形态和运动方式进行检查。这是一种病原体检查,对早期梅毒的诊断有十分重要的意义,可以明确诊断。早期皮肤黏膜损害(一期、二期梅毒)可查到苍白螺旋体。一期梅毒苍白螺旋体多在硬下疳的硬结、溃疡的分泌物和渗出液中存在,肿大的淋巴结穿刺也可检出。二期梅毒苍白螺旋体可在全身血液和组织中检出,但以皮肤检出率最高。早期先天性梅毒可以通过皮肤或黏膜损害处刮片发现梅毒苍白螺旋体。而荧光定量 PCR 弥补了常规 PCR 易产生假阳性和不能定量的缺陷。它利用基因扩增的敏感性和光化学的精确性,把 PCR 和光化学融为一体,使 PCR 扩增和产物分析的全过程均在单管封闭条件下进行,通过电脑控制实现了对 PCR 扩增产物的实时动态检测和结果的自动分析。荧光定量 PCR 定量范围宽、定量准确。但 PCR 法所要求设备和工作条件高,价格贵,不适合普遍推广。此外 PCR 法在梅毒诊断方面存在局限,不适用于梅毒血清标本检测,只适用于硬下疳渗出液中 TP-DNA 检测^[4]。因为只有在一期梅毒病灶中才比较容易发现 TP。从表 1 中可以看出荧光定量 PCR 法的阳性率为 91.9%,直接镜检法的阳性率为 89.9%,有 2 例荧光定量 PCR 法为阳性,而直接镜检法阴性,说明 PCR 法优于直接镜检法。

TPPA 是将特异性 TP 抗原包被在明胶颗粒上,省略了吸收剂,不受生物因素影响,与血清中特异性 TP 抗体结合后出现肉眼可见的凝集反应的检测方法。不论对临床标本还是标准血清盘,TPPA 表现出了高敏感性、特异性、一致性和整体检出能力。但依靠主观判断是 TPPA 的一个弱点,此外,TPPA 试剂成本高,操作烦琐,耗时较长,不适合大量标本的筛查。就目前而言,TPPA 是目前公认较好的梅毒抗体确认方法。在本项研究中,TPPA 检测梅毒的阳性率为 94.9%,比 PCR 法(91.9%)和直接镜检法(89.9%)均高,一般来说,筛检试验允许有假阳性,但应尽可能没有假阴性^[5]。因此,TPPA

是梅毒确诊试验的首选,并且 TPPA 试剂稳定、操作简单、特异性强、不需要专门仪器、结果可靠。

3 例 PCR 法和直接镜检法阳性,而 TPPA 法阴性,说明 TPPA 法可能漏检梅毒患者,可能的原因是早期梅毒患者血液中还没有产生一定浓度的梅毒特异性抗体,TPPA 法无法检测出。有 2 例 PCR 法阳性而 TPPA 法和直接镜检法阴性,说明 PCR 法的敏感性高于直接镜检法,还可弥补 TPPA 法的不足,减少漏检。可能的原因为梅毒早期梅毒螺旋体的含量低,直接镜检法不容易找到,同时血液中还未产生一定浓度的梅毒特异性抗体。因而作者认为 PCR 法和 TPPA 法同时检测可减少漏检,提高梅毒的诊断水平。8 例 TPPA 阳性,而 PCR 法和直接镜检法阴性,更加说明了 TPPA 法的敏感性高,出现这种情况的原因是在溃疡晚期分泌物里的梅毒螺旋体已死亡或消失,而人体内梅毒螺旋体已产生了特异性抗体。

总之,本研究通过对梅毒 3 种确认方法的比较发现,TPPA 法、PCR 法和直接镜检法的敏感性均较高,其中 TPPA 法的阳性率最高。但每一种确诊方法都有自己的局限性,使用单一的诊断方法可能出现漏检,给社会造成危害。因此作者认为,PCR 法和 TPPA 法同时进行检测为最佳方案,其次为 TP-

PA 法和直接镜检法同时进行检测。通过本试验统计数据及结果表明,实验室合理地选用 3 种不同检测方法进行梅毒检测,将减少漏诊、误诊,提高诊断率,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和痊愈、判断药物的疗效和防治性传播疾病起到积极作用。

参考文献

[1] 单明华. 梅毒检测报告中注明检测方法的必要性[J]. 实用医技杂志, 2005, 12(5): 1364.

[2] 尚桂芳, 聂冬梅. 两种梅毒检测试剂敏感性 & 特异性比较[J]. 中国输血杂志, 2003, 16(5): 333-334.

[3] 刘业霞, 王新花. 几种梅毒检测方法的比较[J]. 哈尔滨医药, 2003, 23(6): 35-36.

[4] 刘冰, 陈华根, 杨道琼. PCR 技术在诊断一期梅毒中的应用[J]. 检验医学与临床, 2004, 1(2): 49-52.

[5] 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): 353.

(收稿日期: 2012-05-02)

2011 年南京市无偿献血初筛检测结果分析

乔敏, 郑珊峡, 王飞, 艾俊(南京市红十字血液中心 210003)

【摘要】 目的 回顾分析南京市 2011 年无偿献血初筛不合格原因, 并提出对策, 避免血液资源浪费。
方法 对南京市 2011 年城区采血点和团体献血者共计 64 434 人次进行献血前初筛发现的 7 327 人次不合格原因进行分析。
结果 2011 年南京市红十字血液中心无偿献血初筛不合格率为 11. 37%。丙氨酸氨基转移酶(ALT)不合格最多, 达 7. 84%, 其次为脂肪血(1. 38%)、乙型肝炎表面抗原(HBsAg)(1. 32%)和血红蛋白(Hb)(0. 84%)。其中 ALT 和脂肪血因素季节性变化明显。
结论 大力普及献血知识, 明确献血前注意事项及献血前合理饮食, 尤其在高发季节更应加强献血前问诊及体检。

【关键词】 无偿献血; 丙氨酸氨基转移酶; 脂肪血; 南京

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 20. 061 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2012)20-2634-02

为了保证献血者与受血者的安全, 采血过程中要先后进行多次检测, 其中初筛检测的作用是保证检测准确的前提下, 尽量减少不必要的资源浪费。现对南京地区 2011 年无偿献血初筛结果进行分析, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 所有数据均来自南京红十字血液中心 2011 年所采集的无偿献血人群。

1.2 方法 血红蛋白(Hb)测定采用硫酸铜溶液(北京望升伟业)比重法, 乙型肝炎表面抗原(HBsAg)初筛采用胶体金法(北京万泰), 丙氨酸氨基转移酶(ALT)初筛采用 RT-9200 半自动生化分析仪(深圳雷杜)检测, 所有试验均按说明书进行。对脂肪血采取血液离心后肉眼观察判断^[1]。

2 结果

2.1 2011 年, 本中心城区街头采血点与团体献血, 共计筛查 64 434 人次, 初筛不合格 7 327 人次, 初筛不合格率 11. 37%, ALT 不合格最多, 达 5 052 人次(7. 84%), 其次为脂肪血(883 人次, 1. 37%)、HBsAg(851 人次, 1. 32%)和 Hb(541 人次, 0. 84%)。

2.2 对 ALT 和脂肪血两项不合格原因按月份统计, 可见 ALT 不合格项在 1、2 月和 8~10 月出现两次波峰, 其中 2 月不合格率 9. 95%, 9 月不合格率 11. 15%; 脂肪血在 2 月出现

波峰, 为 3. 47%, 见图 1。

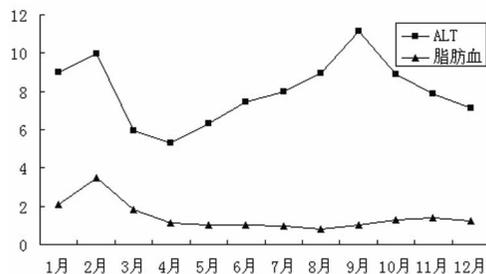


图 1 2011 年本中心 ALT 和脂肪血初筛不合格率随季节变化图

3 讨论

献血前初筛对于降低血液不合格率有重要作用。2011 年, 本中心初筛不合格率为 11. 37%, 其中 ALT 不合格最多, 达 7. 84%, 其次顺序为脂肪血(1. 37%), HBsAg(1. 32%)和 Hb(0. 84%)。

ALT 属于非特异性检测指标, 除肝炎外, 其升高还见于肌肉、心脏等组织损伤或坏死, 脂肪肝, 饮用酒精, 感染, 剧烈运动, 紧张等。且 ALT 增高还与季节性相关^[2], 本中心献血人群数据显示, 1、2 月和 8~10 月 ALT 不合格高于其他月份。1、2