

目前公认 MRSA 检测鉴定的金标准,但这 2 项技术要求高、试剂昂贵,不适合普通实验室大量开展^[6]。显色培养基是一类利用微生物自身代谢产生的酶与相应底物反应显色的原理快速检测、鉴定微生物种类的特殊培养基,直接通过菌落颜色鉴定,大大减少了检测时间。近年来,国外各种产色培养基被应用于鉴定 MRSA,也被直接应用于血培养瓶、伤口脓液、脓肿的标本检测,18~24 h 就能检测出 MRSA^[7-10],都显示出了高的敏感性和特异性。美国 Havill 和德国 Wendt 等^[11]报道,用产色培养基检测粪便标本中的 MRSA 敏感度高于传统培养方法。国内张嵘等^[12]也报道了用 MRSAID 产色培养基检测和鉴定 MRSA 的应用价值,但没有用于临床标本直接接种。

根据前 2 年本院临床病原菌的分离及耐药监测数据显示,2008 年分离到的金黄色葡萄球菌 65% 为 MRSA,2009 年为 70%。本研究作者选择重症医学科、烧伤科、神经外科、肿瘤科这些 MRSA 高发的临床病区的 922 份不同种类标本进行直接接种在 ChromID MRSA 产色培养基上,其原理是培养基中含有产色底物 α-葡萄糖苷酶和抗菌剂头孢西丁,产色底物能使 MRSA 直接呈现绿色菌落,头孢西丁可抑制大多数的非葡萄球菌和酵母菌。并与常规培养检测方法比较,结果显示 ChromID MRSA 产色培养基阳性率 14.9%,常规培养基检测阳性率 13.9%,两种方法比较差异无统计学意义,可见,产色培养基可以用于 MRSA 的检测,并且该方法较常规方法缩短 24 h,更加简单快速。不同种类标本阳性率不同,其中血培养瓶 24 h 时阳性率一致,用 MRSA 乳胶凝集实验确证产色培养基上绿色菌落结果显示,对 24 h 出现的绿色菌落 MRSA 符合率 100%,48 h 后出现的绿色菌落经鉴定后 25% 为 MRSA,75% 为耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌,可见,孵育时间较长时,凝固酶阴性的葡萄球菌可能会对实验结果造成假阳性,应同时加做血浆凝固酶实验以保证检测的特异性。

作者认为这种能快速鉴定 MRSA、操作简单、结果可靠的方法,值得在临床实验室应用。尤其在院内感染暴发,对于尽快实施控制,防止 MRSA 的播散、调整抗菌剂治疗方案、节约治疗成本有积极意义。

参考文献

[1] Huang YC,Su LH,Wu TL,et al. Molecular epidemiology of clinical isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Tai-

wan[J]. Clin Microbiol,2004,42(1):307-310.

[2] Francis JS,Carroll K. Community acquired MRSA;a notable adversary[J]. South Med,2005,98(11):1061-1062.

[3] Hal SJ,Stark D,Lockwood B,et al. Methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) detection: comparison of two molecular methods(IDI-MRSA PCR assay and GenoType MRSA direct PCR assay) with three selective MRSA agars (MRSA ID, MRSA Select, and CHROMagar MRSA) for use with infection-control swabs[J]. J Clin Microbiol,2007,45(8):2486-2490.

[4] 张珏,乔昀,倪语星. 医院感染的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药基因分析[J]. 检验医学,2007,22(4):390-393.

[5] 张鹏,张文芳,张媛. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌快速检测方法的比较[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(3):325-329.

[6] 鲁卫平,顾江,安琳,等. 头孢西丁纸片扩散法检测耐甲氧西林金黄色葡萄球菌[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(5):458.

[7] Nahimana I,Francioli P,Blanc DS. Evaluation of three chromogenic media(MRSA-ID,MRSA-Select and CHROMAGAR MRSA) and ORSAB for surveillance cultures of methicillin-resistant Staphylococcus aureus[J]. Clin Microbiol Infect,2006,12(12):1168-1174.

[8] Colakoglu S,Aliskan H,Senger SS,et al. Performance of MRSA ID chromogenic medium for detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus directly from blood cultures and clinical specimens[J]. Diagn Microbiol Infect Dis,2007,59(3):319-323.

[9] Cherkaoui A,Renzi G,Francois P,et al. Comparison of four chromogenic media for culture-based screening of methicillin-resistant Staphylococcus aureus[J]. Medical Microbiol,2007,56(4):500-503.

[10] Van Loo IHM, Van Dijk S,Verbakel-Schelle I,et al. Evaluation of a chromogenic agar(MRSA Select) for the detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus with clinical samples in The Netherlands[J]. J Med Microbiol,2007,56(4):491-494.

[11] Wendt C,Havill NL,Chapin KC,et al. Evaluation of a new selective medium, BD BBL CHRO Magar MRSA II, for detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in different specimens [J]. J Clin Microbiol,2010,48(6):2223-2227.

[12] 张嵘,周宏伟,成功祥. 应用 MRSA ID 产色琼脂培养基等四种方法检测和鉴定耐甲氧西林金黄色葡萄球菌[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(4):388-391.

(收稿日期:2012-01-11)

• 检验技术与方法 •

三种梅毒血清学检测方法比较

陈秀琼
(广东省东莞市慢性病防治院 523008)

摘要:目的 对临床常用的梅毒血清学检测方法(TRUST、ELISA 和 TPPA)的检测结果进行评价,探讨各种方法的适用范围。方法 分别用 TRUST、ELISA 和 TPPA 三种方法对 213 份皮肤科门诊血清标本进行检测,并对结果进行统计分析。结果 TRUST 检出阳性率 16.9%,ELISA 检出阳性率 27.2%,TPPA 检出阳性率 29.1%,三者差异具有统计学意义。结论 三种方法各有优、缺点,应根据临床实际情况综合运用。

关键词:梅毒; 酶联免疫吸附测定; 梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验; 甲苯胺红不加热血清试验
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.14.026 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)14-1720-02

梅毒是由苍白螺旋体引起的慢性、系统性传播疾病,可引起全身性损害,临床上可表现为一、二、三期梅毒和潜伏梅毒。随着人们生活方式的改变和人口流动性增加,梅毒又开始

广泛流行,且发病率呈逐年增高趋势。本市流动人口数量巨大,且安全性行为意识淡薄,生殖健康知识缺乏,使得梅毒等性病的发病率居高不下,早诊断、早治疗对减少梅毒传染源,控制

梅毒的蔓延有重要意义。梅毒的实验室检测在梅毒诊断中占有重要地位,是梅毒诊断的重要依据。近年来,梅毒实验室诊断的血清学方法主要有甲苯胺红不加热血清实验(TRUST),梅毒特异性实验主要为螺旋体明胶颗粒凝集实验(TPPA)和酶联免疫吸附实验(ELISA)。这三种方法的敏感性、特异性和适用范围都存在差异,各有优、缺点,本文对三种方法进行了比较分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 标本来源于本院皮肤科门诊就诊患者 213 例,其中男 137 例,女 76 例;年龄 18~76 岁,平均年龄 41 岁。

1.2 仪器与试剂 仪器包括酶标仪、洗板机、振荡器、水浴箱等。TRUST 试剂购自上海荣盛生物药业有限公司,ELISA 试剂购自上海科华生物工程股份有限公司,TPPA 试剂购自日本富士株式会社。

1.3 方法 每份标本同时用 TRUST、ELISA 和 TPPA 三种方法进行检测,操作严格按照试剂说明书进行。

1.4 统计学处理 用 SPSS13.0 对数据进行统计分析。三种检测方法阳性率的比较用卡方检验,检验水准为 $P<0.05$ 。用 Bonferroni 检验水准调整法对三种方法两两比较,调整后的检验水准为 $P<0.0167$ 。

2 结果

2.1 每份标本同时用三种方法进行检测,结果见表 1。

表 1 三种方法检测结果*

方法	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)
TRUST	36	177	16.9
ELISA	58	155	27.2
TPPA	62	151	29.1

*: $\chi^2=9.973,P=0.007$,三种方法阳性率比较。

2.2 三种方法之间两两比较结果,见表 2。

表 2 三种方法两两比较结果

两两比较	χ^2	P
TRUST 与 ELISA	6.607	0.010
TRUST 与 TPPA	8.959	0.003
TPPA 与 ELISA	0.186	0.667

3 讨论

梅毒侵入人体破坏组织后,组织中的磷脂黏附于螺旋体表面形成复合抗原。这种复合抗原引起机体的免疫反应,产生了对类脂质的非特异性抗体和针对梅毒螺旋体抗原的特异性抗体,对应地,针对检测对象的不同,梅毒血清学检测方法也分为非特异性方法和特异性方法两类。其中,非特异性方法包括性病研究所实验室实验(VDRL)、不加热血清反应素实验(USR)、快速血浆反应素环状卡片实验(RPR)和 TRUST 等,特异性方法包括梅毒螺旋体抗体微量血凝实验(TPHA)、TPPA 以及 ELISA 等。

TRUST 采用牛心肌提取的心磷脂作为抗原,还加入了特制的甲苯胺红溶液,使 TRUST 的敏感性优于 VDRL、USR 和 RPR^[1],但与特异性方法仍有一定差距。本实验对门诊标本进行检测,阳性检出率仅为 16.9%,明显低于 ELISA 和 TPPA

两种方法(表 2)。此外,因检测的是非特异性抗体,结果中生物学假阳性较高,除对其他螺旋体感染时出现阳性外,假阳性还出现在急、慢性感染,妊娠,高丙种球蛋白血症,结缔组织病,溶血性贫血和其他自身免疫性疾病,也可出现在老年人和一些健康人,且多数情况下查不出原因^[2]。但 TRUST 操作简易,费用低廉,所以常用作梅毒的初筛检查,当 TRUST 和 TPPA 同时检出阳性患者往往是梅毒现症感染者,是临床上可开展治疗的指标之一。非特异性抗体会随着有效治疗而逐渐降低,因此,临床上也将 TRUST 等非特异实验作为疗效观察的指标,这是特异性实验无法取代的。

梅毒检测的 ELISA 试剂主要采用双抗原夹心法,是将基因重组表达的纯化抗原包被在微孔板上,用于检测标本中的梅毒特异性抗体。新一代的 ELISA 试剂是将梅毒各区的优势抗原通过基因工程连接成一个多标位的嵌合抗原,大大提高了检测试剂的敏感性。检测结果显示,ELISA 检出率和 TPPA 比较,差异无统计学意义,与其他学者的报道相符^[3-4]。因 ELISA 具有非特异性抗原实验操作简便、成本低廉的优点,又兼有特异性抗原实验高敏感性和强特异性的特点,还可实现自动化操作、仪器阅读,使结果更客观、准确,实验结果也便于存档,利于实验室标准化、实验室管理和大规模标本的筛查。因此,ELISA 法常用于大批量标本的筛查。

TPPA 是在明胶粒子上包被纯化后梅毒菌株成分,用于检测标本中的梅毒特异性抗体。TPPA 法排除了 TPHA 法中吸收剂和稳定剂的影响,具有很高的特异性和敏感性,与 TPHA 法同样作为梅毒的确诊实验。但 TPPA 法操作繁琐,检测时间较长,实验原始数据难以保存管理,且成本较高,不适于大批量的筛选实验。此外,TPPA 法用肉眼判断结果,存在主观误差,在相邻滴度的判断常与一些弱阳性结果报告存在差异。

综上所述,三种检测方法各有优、缺点,在实际临床工作中应综合运用。现在很多实验室是先以 TRUST 法等非特异性方法进行筛选,对疑似感染者再用 TPPA 法进行确认。但由于 TRUST 法敏感性较低,会造成部分阳性患者漏诊,而直接用 TPPA 法进行筛选则成本较高,所以,可采用高敏感性和高特异性的 ELISA 法进行筛选,再用 TPPA 法复查^[5],既可控制成本,又可提高结果的准确性。鉴于梅毒血清学实验还存在其他因素影响,检测结果应结合临床资料进行综合分析,才可进行最后诊断。

参考文献

[1] 莫健民. 梅毒血清学 USR、RPR、TRUST 三种筛选试验与 TPHA 的比较观察[J]. 广东医学,1997,(5):292-293.
[2] 武建国. 老年人抗梅毒螺旋体抗体测定的假阳性率偏高[J]. 临床检验杂志,2006,24(4):241-243.
[3] 钟惠霞. 3 种检测方法对梅毒诊治的临床价值[J]. 检验医学与临床,2009,6(15):1273-1275.
[4] 郑颖,丁文杰,单晓洁,等. 5 种梅毒血清学检测方法的临床应用评价[J]. 现代实用医学,2009,21(8):824-825.
[5] 郭红亮. 关于梅毒血清学试验的几个问题[J]. 中外健康文摘,2010,7(20):12-13.

(收稿日期:2011-12-20)