

• 检验技术与方法 •

四种方法检测早期梅毒螺旋体感染的临床应用评价

陈述文,梁连辉,蔡常辉

(中山市第二人民医院检验科,广东中山 528447)

摘要:目的 比较荧光定量 PCR(FQ-PCR)、梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)、酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)、甲苯胺红不加热血清试验 (TRUST)检测梅毒螺旋体早期感染的临床应用价值。**方法** 选择确诊为一期梅毒的患者 200 例作为研究组,非梅毒患者 80 例为对照组,分别采集其分泌物进行 FQ-PCR 检测,同时采集血清进行 TPPA、TP-ELISA 和 TRUST 法检测,探讨上述 4 种方法的敏感度及特异度。**结果** FQ-PCR、TPPA、TP-ELISA、TRUST 检测一期梅毒的敏感度分别为 92.5%、66.5%、68.0%、65.0%,特异度分别为 100.0%、98.8%、96.3%和 92.5%。**结论** FQ-PCR 检测一期梅毒具有很高的敏感度和特异度,可作为一期梅毒的实验室诊断方法。

关键词:梅毒螺旋体; 聚合酶链反应; 梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验; 酶联免疫吸附试验; 甲苯胺红不加热血清试验
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.21.033 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)21-2633-02

梅毒是由梅毒螺旋体苍白亚种(TP)引起的性传播疾病^[1],早期主要表现为皮肤黏膜损伤,晚期将累及心血管、中枢神经、骨骼及眼部等重要脏器,有较强的传染性和复杂的病程,也可通过母婴传播引起胎传梅毒。据 WHO 报道,全球每年报告的梅毒感染病数超过 120 万例,其中 90%以上在发展中国家,在部分地区梅毒已成为常见性病。因此,研究梅毒已成为人类刻不容缓的公共问题,特别是早期梅毒早期诊断尤为重要。国内外检测梅毒的方法与技术有许多^[2-3],但早期梅毒窗口期较长问题仍然没有解决。本研究通过比较荧光定量 PCR(FQ-PCR)、甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)、梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)和酶联免疫吸附试验(TP-ELISA),探讨早期梅毒实验诊断差异性,为探索早期梅毒的临床检测方法提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2007 年 1 月至 2011 年 12 月在本院皮肤科初诊的梅毒患者中,依据 2000 年中国卫生部防疫司颁布的性病诊断标准,随机筛选 200 例一期梅毒患者作为研究组,年龄 16~64 岁,平均年龄 29 岁,男 78 例,女 122 例;同期留取皮肤科门诊及肝病门诊排除梅毒的患者 80 例作为对照组。

1.2 仪器与试剂 FQ-PCR 仪器 ABI7900 核酸自动检测仪,试剂来自中山大学达安基因股份有限公司;TRUST 血清试验诊断试剂盒购自上海荣盛生物技术有限公司,梅毒旋转震荡器由上海长江生化仪器有限公司提供;TPPA 试剂为日本富士瑞必欧株式会社诊断试剂。TP-ELISA 试剂购于北京万泰生物药业股份有限公司,酶标仪为 BioTek ELx80。

1.3 方法 用无菌棉拭子取被检者局部分泌物、渗出液或局部淋巴结抽出液做 FQ-PCR。真空静脉采血 5 mL 置于无菌试管离心分离血清备用。所有检测严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.4 统计学处理 所有数据用 SAS 软件包处理, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

初诊时 4 种检验方法结果,见表 1。其中 FQ-PCR 的敏感度高于其他方法,差异有统计学意义($P<0.05$)。FQ-PCR 与 TPPA 法的特异度差异无统计学意义($P>0.05$),但与其他 2 种方法的差异均有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 4 种梅毒实验检测方法的比较

方法	一期梅毒患者组($n=200$)		非梅毒患者组($n=80$)	
	阳性例数	敏感度(%)	阴性例数	特异度(%)
FQ-PCR	185	92.5	80	100.0
TPPA	133	66.5 *	79	98.8
TP-ELISA	136	68.0 *	77	96.3 [△]
TRUST	130	65.0 *	74	92.5 [△]

*: $P<0.05$,敏感度与 FQ-PCR 法比较;[△]: $P<0.05$,特异度与 FQ-PCR 法比较。

3 讨论

目前国内外检测梅毒方法有直接镜检法、分离培养法、血清学法、金标法、Western-blott 法和 PCR 法^[4]。直接镜检法有暗视野显微镜法(DFM)、镀银染色法与直接荧光抗体试验(DFAT)等,但阳性率较低且对试验人员要求较高;分离培养法需要动物,一般采用家兔的臀部接种,实验比较复杂,不利于临床实际开展;血清学法主要有检测梅毒螺旋体抗体,如性病研究实验室玻片试验(VDRL)、血清不加热的反应素玻片试验(USR)、快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)、TRUST、TPPA 和荧光螺旋体抗体吸收试验(FTA-ABS)等实验,但对于梅毒感染极早期机体梅毒抗体还没有产生,其检验没有价值^[5-9]。

PCR 法检测梅毒螺旋体的核酸,在早期梅毒感染的早期检测中具有一定优势。本实验也表明,在梅毒感染早期与初诊,FQ-PCR 检验技术具有独特的优越性,其阳性率远远高于其他实验室常规方法。不过由于引物设计等问题因此阴性也不能排除梅毒,应在 2 周后再做血清学检查确诊。但就目前来看 PCR 法用于早期梅毒的检查无疑是较为可行的方法。

TPPA 法是以梅毒螺旋体为抗原的特异性试验,本实验表明其特异性较高,但对于早期梅毒感染者同样灵敏度不高,也不适合对“血清学阴性窗口期”的诊断,并且试剂成本较高、检测手工操作繁琐、结果认读存在主观性、不适应于大样本的检测和有时会发生自凝现象而误诊。本实验阴性对照组就有 1 例在中心形成一个小圈而判为弱阳性。TPPA 之前也叫做梅毒确诊试验,本研究也认为不妥,此试验对“血清学阴性窗口期”的早期梅毒患者同样是不能确诊的,而且梅毒患者在经过正规治疗后 TPPA 阳性能保持终生,因而把 TPPA 试验作为

梅毒患者的初筛可能更为合理。

同样 TP-ELISA 法也一样存在早期梅毒患者窗口期长并具有一定假阳性的问题。因此梅毒的早期诊断在一定程度上还要依赖临床医生的临床经验。

本研究表明, FQ-PCR 在一期梅毒的检测中具有很高的敏感性和特异性, 优于其他几种血清学方法。张思平等^[10]研究表明 TP-DNA 在一期梅毒中阳性率 100% 与本研究有一些出入可能是取材或样本量大小引起的。

另外, 也谈谈本研究存在的不足, 如标本采集时机的掌握, 留取标本时有的刚新发硬下疳, 有的已经开始愈合, 可能对结果有所影响等。总之, FQ-PCR 检测一期梅毒具有很高的敏感性和特异性, 能弥补血清学“窗口期”造成的假阴性, 因此, 可作为一期梅毒的实验室诊断方法。

参考文献

[1] Febbraro I, Manetti G, Balestrieri P, et al. Rectal cancer or rectal chancre? Beware of primary syphilis[J]. Dig Liver Dis, 2008, 40 (7): 579-581.

[2] Coelho JS, Soares IS, Lemos EA, et al. A multianalyte Dot-ELISA for simultaneous detection of malaria, Chagas disease, and syphilis-specific IgG antibodies[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007, 58

(2): 223-230.

[3] Tholcken CA, Woods GL. Evaluation of the BioRad Syphilis IgG test performed on the CODA system for serologic diagnosis of syphilis[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2000, 37(3): 157-160.

[4] Juárez-Figueroa L, Uribe-Salas F, García-Cisneros S, et al. Evaluation of a rapid strip and a particle agglutination tests for syphilis diagnosis[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2007, 59(2): 123-126.

[5] 周洪伟, 林松. 三种方法检测梅毒螺旋体抗体的比较[J]. 微生物学杂志, 2005, 25(3): 99-100.

[6] 徐雅萍, 肖征, 沈定霞, 等. 4 种不同方法检测梅毒螺旋体抗体的比较[J]. 中华医院感染学杂志, 2003, 13(1): 87-88.

[7] 羊建, 唐明霞. 不同梅毒螺旋体抗体检测方法的临床应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(14): 1579-1580.

[8] 顾友祥, 姜俊. 多种梅毒抗体检测方法的比较[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(4): 391-392.

[9] Backhouse JL, Nesteroff SI. Treponema pallidum western blot: Comparison with the FTA-ABS test as a confirmatory test for syphilis[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2001, 39(1): 9-14.

[10] 张思平, 胡白, 刘金丽, 等. 荧光 PCR 在早期梅毒患者诊断中的应用[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2008, 22(3): 182-183.

(收稿日期: 2012-04-21)

• 检验技术与方法 •

性传播疾病高危女性人群梅毒螺旋体血清学检测方法研究

解佳妹

(江都市人民医院, 江苏江都 225200)

摘要:目的 通过比较 ELISA、梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)和甲苯胺红不加热血清反应素试验(TRUST)三种梅毒血清学检测方法的结果符合率, 选择简单、快速、敏感性高、特异性强的检测方法, 提高梅毒的早期诊治率。**方法** 选择 76 例来自公共场所女性性工作者梅毒患者的血清标本为研究对象, 分别用 ELISA、TPPA 和 TRUST 进行检测。**结果** ELISA 法、TPPA 法、TRUST 法的敏感度分别为 97.36%、98.58%、59.21%; 特异度分别为 95%、100%、75%。**结论** TPPA 是一种高特异性、高敏感性的梅毒血清学诊断检测方法, 可作为确证试验; ELISA 是一种操作简单、快速, 结果较为准确可靠, 适合现场大量样本的初筛试验; 而 TRUST 只能为辅助试验, 适宜疗效观察。

关键词:梅毒螺旋体; 酶联免疫吸附试验; 明胶颗粒凝集试验; 甲苯胺红不加热血清反应素试验
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.21.034 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)21-2634-03

梅毒是由梅毒螺旋体感染引起的性传播疾病, 主要经性接触传播、也可经血液传播及胎盘垂直传播, 梅毒的发病率正逐年增高^[1]。近年来我国梅毒疫情持续增长, 其中性传播是主要传播途径之一, 女性性工作者是性传播梅毒的主要人群之一^[2]。梅毒血清学试验的方法很多, 其特异性、敏感性及临床价值有所不同^[3-4], 因此, 选择简单、快速、敏感性高和特异性强的梅毒实验室检测方法将十分有助于梅毒的早诊断、早治疗, 对开展高危人群干预及控制梅毒传播都有着重要意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1 月至 2011 年 12 月在本市各休闲中心采集女性性工作者的肘部静脉血液 5 mL, 3 000 r/min 离心 5 min 提取血清。根据梅毒诊断标准^[5], 经病史、临床症状及血清学试验确诊梅毒患者 76 例, 其中潜伏期 9 例, 一期 50 例, 二期 15 例, 三期 2 例, 对同一患者多种标本来源不重复统计; 选择 20 例健康体检者血清作为阴性对照。

1.2 试剂 ELISA 试剂和 TRUST 试剂由北京万泰生物药业股份有限公司提供; 梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)试剂由日本富士株式会社提供, 试剂均在有效期内使用。

1.3 方法 对 76 例来自公共场所女性性工作者的血液标本分别用 ELISA、(TPPA)和甲苯胺红不加热血清反应素试验(TRUST)进行检测, 所有检测操作程序和结果判断均严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 计数资料比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。敏感度 = 真阳性 / (真阳性 + 假阴性) $\times$ 100%; 特异度 = 真阴性 / (假阳性 + 真阴性) $\times$ 100%。

2 结果

2.1 三种梅毒血清学检测方法的检测阳性率比较 在 76 例确诊血清标本中, ELISA 法检测出 74 例阳性, 符合率为 97.37%, TPPA 法检测出 75 份阳性, 符合率为 98.68%, 两种方法检出率比较差异无统计学意义($P > 0.05$); TRUST 法检