

TNFR-Shedding by CD4⁺CD25⁺ Regulatory T Cells Inhibits the Induction of Inflammatory Mediators[J]. J Immunol, 2008, 180(26):2747-2751.

[2] Albano GD, Di Sano C, Bonanno A, et al. Th17 immunity in children with allergic asthma and rhinitis: a pharmacological approach[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e588-592.

[3] Ramirez-Velazquez C, Castillo EC, Guido-Bayardo L, et al. IL-17-producing peripheral blood CD177⁺ neutrophils increase in allergic asthmatic subjects[J]. Allergy Asthma Clin Immunol, 2013, 9(1):23.

[4] Doe C, Bafadhel M, Siddiqui S, et al. Expression of the T helper 17-associated cytokines IL-17A and IL-17F in asthma and COPD[J]. Chest, 2010, 138(5):1140-1147.

[5] Mays LE, Ammon-Treiber S, Mothes B, et al. Modified Foxp3 mRNA protects against asthma through an IL-10-dependent mechanism[J]. J Clin Invest, 2013, 123(3):1216-1228.

[6] Togbe D, Fauconnier L, Madouri F, et al. Thymic Stromal Lymphopoietin Enhances Th2/Th22 and Reduces IL-17A in Protease-Allergen-Induced Airways Inflammation[J]. ISRN Allergy, 2013, 2013(3):971036.

[7] Tsuji M, Kawamoto T, Koriyama C, et al. IL-22 mRNA expression in blood samples as a useful biomarker for assessing the ad-

verse health effects of PCBs on allergic children[J]. Int J Environ Res Public Health, 2012, 9(12):4321-4332.

[8] Wakashin H, Hirose K, Maezawa Y, et al. IL-23 and Th17 cells enhance Th2-cell-mediated eosinophilic airway inflammation in mice[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2008, 178(10):1023-1032.

[9] Bajoruniene I, Malakauskas K, Lavinskiene S, et al. Response of peripheral blood Th17 cells to inhaled Dermatophagoides pteronyssinus in patients with allergic rhinitis and asthma[J]. Lung, 2012, 190(5):487-495.

[10] Eusebio M, Kraszula L, Kupczyk M, et al. Low frequency of CD8⁺CD25⁺FOXP3(BRIGHT) T cells and FOXP3 mRNA expression in the peripheral blood of allergic asthma patients[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2012, 26(2):211-220.

[11] Yalcin AD, Bisgin A, Gorczyński RM. IL-8, IL-10, TGF- β , and GCSF levels were increased in severe persistent allergic asthma patients with the anti-IgE treatment[J]. Mediators Inflamm, 2012(2012):720976.

[12] Albano GD, Di Sano C, Bonanno A, et al. Th17 immunity in children with allergic asthma and rhinitis: a pharmacological approach[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e58892.

(收稿日期:2015-10-28)

• 临床研究 •

RPR、TP-ELISA、TPPA 试验在梅毒诊断中的应用评价

丁 静, 王 泉, 王庆国

(徐州市第一人民医院检验科, 江苏徐州 221002)

摘要:目的 评价梅毒快速血浆反应素试验(RPR)、梅毒抗体酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)、梅毒明胶凝集试验(TPPA)在梅毒诊断中的应用, 制定结合实际的梅毒血清学筛选检测方案。方法 采用 RPR、TP-ELISA、TPPA 试验检测 430 例梅毒患者, 其中临床一期现症梅毒患者 184 例, 既往梅毒感染而无临床症状患者 246 例, 同时检测健康体检者 52 例, RPR 阳性患者采用血清倍比稀释检测, 报告最高稀释度。结果 在 430 例梅毒患者中, TPPA 阳性 428 例, ELISA 阳性 426 例, RPR 阳性 237 例。在 4 例 TP-ELISA 阴性患者中, TPPA 检测均为阳性, 对样本稀释后再检测 TP-ELISA, 结果有 3 例阳性, 这 3 例患者 RPR 检测均为高滴度现症一期梅毒患者。在 52 例健康体检者中, RPR 和 TP-ELISA 各有 1 例阳性, TPPA 全部为阴性。3 种不同检测方法的灵敏度: TPPA > TP-ELISA > RPR, 且敏感性比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。不同方法联合检测的灵敏度均高于单一方法, 其独立检测的特异度均高于 98%。结论 TP-ELISA、TPPA 敏感度和特异度均较高, TP-ELISA 适合筛选试验, TPPA 适合复检确认, RPR 可判断是否为现症患者, 并用于观察梅毒治疗及预后, 不同方法互相补充才能提供科学的实验结果。

关键词:梅毒螺旋体; 梅毒快速血浆反应素试验; 酶联免疫吸附试验; 梅毒明胶凝集试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.07.058

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)07-0997-02

近年来, 梅毒发病率在我国有逐年上升的趋势, 由于人是梅毒的唯一宿主, 其病程漫长、症状复杂, 实验室检测成为梅毒诊断的重要依据^[1-2]。为了选择敏感性高、特异性好、操作简单等临床检测方法, 本研究通过评价梅毒快速血浆反应素试验(RPR)、梅毒抗体酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)、梅毒明胶凝集试验(TPPA)3 种检测方法在临床中的应用, 以期更好、更快、更准确辅助诊断、治疗和控制梅毒, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 2 月至 2015 年 1 月在徐州第一医院性病中心就诊的 430 例临床梅毒患者, 其中现症 1 期梅毒患者 184 例, 既往感染无临床症状复检者 246 例(梅毒诊断参照 1995 年卫生部防疫司颁布的梅毒诊断标准^[3]), 男 216 例, 女 224 例, 年龄 18~72 岁。52 例健康体检者排除内、外科疾病, 从体检科随机抽取, 年龄 20~78 岁。

1.2 仪器与试剂 RPR 试剂由上海科华生物技术公司提供;

TPPA 试剂由日本富士瑞欧株式会社提供, 96 孔选用瑞必欧生产的原装 U 形板; ELISA 试剂购于北京万泰生物技术公司; 梅毒质控血清(1NCU)由卫生部临床检验中心提供。仪器为 BIO-RAD 680 酶标仪和 YT-wash II 全自动洗板机。

1.3 检测方法 TPPA 试验在 U 形板上用稀释液将每份血清样本作倍比稀释, 加致敏粒子孔大于或等于 1:80 凝集为阳性; TP-ELISA 检测采用酶标仪 450 nm 读取吸光度(A 值), A 小于临界值为阴性, A 大于或等于临界值为阳性; RPR 可作半定量试验, 以定性试验结果进行统计, 所有检测步骤严格按说明书进行。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计软件进行分析, RPR 与 TP-ELISA、TPPA 方法的敏感度和特异度比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TPPA、TP-ELISA、RPR 检测结果 52 例健康体检者中

出现 1 例 RPR 和 TP-ELISA 同时阳性,而 TPPA 为阴性。在 430 例梅毒患者中,TPPA 阳性 428 例,ELISA 阳性 426 例,RPR 阳性 207 例。在 4 例 TP-ELISA 阴性患者中,TPPA 检测均为阳性,对样本稀释后再检测 TP-ELISA,结果有 3 例阳性,这 3 例患者 RPR 检测均为高滴度现症 1 期梅毒患者。有 2 例现症 1 期梅毒患者 TPPA 结果为阴性,2 周后复检为阳性,临床反馈为新近感染;TPPA 阳性而 RPR 阴性患者共 223 例,经与临床沟通,均为既往梅毒感染者。1 例现症 1 期梅毒患者为 RPR 阴性,临床反馈进行复检,该标本经 1:8 稀释后检测为阳性,其余 183 例现症 1 期梅毒患者 RPR 检测均为阳性。50 例健康体检者 RPR 和 TP-ELISA 各有 1 例阳性,TPPA 全部为阴性。

表 1 430 例梅毒患者 TPPA、TP-ELISA、RPR 检测结果[n(%)]

方法	阳性	阴性
TPPA	428(99.5)	2(0.5)
TP-ELISA	426(99.1)	4(0.9)
RPR	237(55.1)	193(44.9)

2.2 RPR、TP-ELISA、TPPA 检测方法的综合评价 3 种不同检测方法的灵敏度 TPPA>TP-ELISA>RPR,RPR 与 TP-ELISA、TPPA 方法的灵敏度比较差异有统计学意义($P<0.05$),TP-ELISA 与 TPPA 方法的灵敏度比较差异无统计学意义($P>0.05$),不同方法联合检测的灵敏度均高于单一方法。独立检测的特异度均高于 98%,差异无统计学意义($P>0.05$),不同方法的综合评价,见表 2。

表 2 3 种检测方法检测结果的综合评价(%)

指标	RPR	TP-ELISA	TPPA	RPR+TP-ELISA	RPR+TPPA
灵敏度	55.0	99.1	99.5	99.8	99.8
特异度	98.8	98.8	100.0	97.5	97.5
正确指数	53.8	97.9	99.5	97.3	97.3

3 讨论

人体感染梅毒后会产生 2 种抗体,一类是对类脂的抗体,此类抗体是梅毒螺旋体破坏人体组织过程中在体内释放出一种抗原性心磷脂,可以刺激机体产生反应素,该反应素与从牛心中提取的心磷脂在体外可发生抗原抗体反应,该抗体因不直接针对梅毒螺旋体,因此无特异性^[4]。另一类为抗梅毒螺旋体的特异性抗体,此抗体由病原体产生。

RPR 方法是以心磷脂加入活性炭组成的复合物为抗原,结果容易判断。根据 184 例 1 期现症梅毒患者检测结果,梅毒在人体内感染活动的程度基本与 RPR 半定量试验成正比,若梅毒复发后再感染则其定量实验的滴度亦相应增高,因此 RPR 能观察治疗效果、复发或再感染,与一些报道基本一致^[5-6]。在分析 430 例梅毒患者检测结果时,有 1 例临床反馈为 1 期现症梅毒而 RPR 为阴性,经分析,此标本中抗体过量,导致前带现象^[7],结果肉眼很难判断而出现假阴性。这种情况出现时就要加大血清稀释倍数,同时要注意和其他检测方法相结合,加强和临床联系复检,避免错误报告发出。TP-ELISA

既可单独检测 IgG 或 IgM,也可以用双抗原夹心法同时检测 IgG、IgM。笔者发现 430 例梅毒患者中 RPR 检测为高稀释度阳性而 TP-ELISA 结果为阴性标本为 3 例,这 3 例经 TPPA 检测全部均为阳性,没有发现 TP-ELISA 为阳性而 TPPA 为阴性的病例。接着把这 3 例标本都用生理盐水做了倍比稀释再次检测 TP-ELISA,均为阳性,说明这 3 例标本的结果是因为“钩状效应”而产生了假阴性,“二步法”的 TP-ELISA 并没有象理论推测那样能解决“钩状效应”的问题^[8]。笔者还发现这 3 例出现“钩状效应”的标本还有一个共性,就是 $OD>0.1$ 且小于临界值,结果虽判为阴性,但并不是绝大多数阴性标本那样 $OD<0.1$ 。1 例 TP-ELISA 假阳性体检者,可能产生 IgG 和 IgM 类抗体。因此,仅仅凭借其阳性结果就诊断为梅毒,尤其是无症状的老人,显然是不正确,亦与一些研究相符^[9-10]。根据 246 例既往感染无临床症状患者 TPPA 检测结果,此抗体在体内持续存在,不易转阴,也不随病程发展和治疗的好坏而变化。430 梅毒患者中,有 2 例 1 期现症梅毒患者首次检查出现阴性,隔 2 周重新复查为阳性,说明该法对梅毒患者的检出率与患者血清中梅毒螺旋体特异性抗体的含量有关,当患者血清抗体的含量低于试剂检测限时,就有可能出现假阴性。TP-PA 试剂稳定、批间差小、结果判断分析明确,同时因具有倍比稀释操作,从理论上可以排除“钩状效应”,且也未见此现象的报道。

TPPA、TP-ELISA 灵敏度和特异度均较高,应采用操作较为简单的 TP-ELISA 法进行初筛,可提高梅毒抗体检出率;用 TPPA 作复检试验,可排除假阳性;RPR 检测可判断是否为现症患者,并用其观察疗效和预后。3 种方法在临床上的意义不同,应相互补充、比较,才能为临床提供更为科学和准确的结果,更好地早期检测和控制梅毒疾病。

参考文献

- [1] 羊海涛,傅更锋,徐晓琴,等.江苏省梅毒检测实验室发展现状及分析[J].中国麻风皮肤病杂志,2012,28(10):708-710.
- [2] 楚承霞,魏聪,李涛,等.昆明市医疗机构梅毒检测实验室现状调查[J].皮肤病与性病,2012,34(3):360-361.
- [3] 中华人民共和国卫生部.梅毒诊断标准及处理原则[S].北京:中华人民共和国卫生部,1995:GB15974.
- [4] 李丹,崔巍,高伟.血清中梅毒抗体检测的研究进展[J].内蒙古医学杂志,2010,42(3):321-323.
- [5] 王珍光,郭建巍,马驰,等.梅毒检测方法的临床应用研究[J].现代检验医学杂志,2011,26(1):153-155.
- [6] Yeong Sic, Kim, Jehoon, et al. Comparison of quantitative results among two automated Rapid Plasma Reagin (RPR) assays and a manual RPR test[J]. Korean J Laboratory Med, 2009, 29(4): 331-337.
- [7] 孙中文.免疫检验技术[M].南京:南京大学出版社,2014:5-6.
- [8] 武雨霖,阮森林,王敏敏.梅毒螺旋体感染实验室诊断方法研究进展[J].中国微生态学杂志,2013,25(2):208-210.
- [9] 李娜,王珍光,荣扬.老年人梅毒抗体血清学检测结果的分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(16):2189-2190.
- [10] Wang TT, Li Q, Yu JY, et al. Application of TRUST, TP-ELISA and TPPA in the serologic of syphilis[J]. National J Androl, 2012, 18(11):1020-1022.