

• 检验技术与方法 •

CMIA 与 ELISA、TPPA、TRUST 检测梅毒的方法学比较

马开富

(湖北省襄阳市中心医院 441021)

摘要:目的 比较化学发光法(CMIA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、梅毒螺旋体颗粒凝集试验(TPPA)、甲苯胺红血清不加热试验(TRUST)诊断梅毒的性能。方法 用 CMIA、ELISA、TPPA、TRUST 4 种梅毒血清学试验方法同时检测 188 例来自确诊梅毒患者血清、143 例来自排除梅毒患者血清,并将化学发光法检测结果与其他检测方法检测结果进行比较。结果 化学发光法的梅毒血清学诊断性能与甲苯胺红血清不加热试验有显著差异,但与梅毒螺旋体颗粒凝集试验、酶联免疫吸附试验无差异。结论 由于化学发光法重复性好、易操作、可随时上机进行检测,因而可以取代梅毒螺旋体颗粒凝集试验、酶联免疫吸附试验用于梅毒的诊断。

关键词:化学发光法; 酶联免疫吸附测定; 梅毒螺旋体颗粒凝集试验; 甲苯胺红血清不加热试验; 梅毒螺旋体

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 16. 036 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)16-1994-03

梅毒是由苍白密螺旋体苍白亚种(*treponema pallidum*, TP)感染所引起的一种慢性全身性传播疾病,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。同其他国家一样近年来中国梅毒螺旋体感染的发病率呈逐年上升趋势^[1-3],是目前中国主要的性传播疾病之一。结合临床症状、黏膜或皮肤破损样本直接查找病原体 and 血清学结果是诊断梅毒的有效方法,因为梅毒感染的自然病程存在临床症状不明显的潜伏期,黏膜或皮肤破损样本只在发病早期可以获得,加之梅毒螺旋体体外培养尚未成功,所以血清学诊断是梅毒诊断的重要手段,血清学结果更是晚期和潜伏期梅毒诊断的主要依据。梅毒血清学诊断试验方法很多,经历了从非特异性梅毒螺旋体抗体试验方法到特异性梅毒螺旋体抗体试验方法的发展历程,非特异性抗体方法以 TRUST 为代表,其灵敏度、特异性均较以 TPPA(常用作确认实验)、ELISA 为代表的特异性抗体方法差。特异性抗体试验方法一直在循着“简便、可靠、经济”的方向不断推陈出新。近年来,化学发光法已用于实验室诊断,且有学者对化学发光法检测梅毒评价良好^[4-5],为验证之,作者采用以下 4 种方法对 188 例来自确诊梅毒患者血清和 143 例排除梅毒患者血清同时进行检测,4 种方法分别是:化学发光微粒子免疫分析法(chemoluminescence microparticle immunoassay, CMIA),酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assays, ELISA),梅毒螺旋体颗粒凝集试验(*treponema pallidum* particle agglutination assay, TPPA),甲苯胺红血清不加热试验(toluidine red unheated serum test, TRUST),并将 CMIA 法检测结果与其他 3 种方法的检测结果分别进行比较。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 确诊为梅毒患者为 2007 年 2 月至 2009 年 10 月本院皮肤性病等科室门诊和住院患者(排除免疫缺陷病患者和同一患者多次检查等),共 188 例,其中男 110 例,女 78 例,平均年龄 41.5 岁,按病程分,一期、二期、三期梅毒和潜伏梅毒患者分别为 48 例、117 例、8 例和 15 例。排除梅毒患者为同期本院眼科、外科住院患者,共 143 例,其中男 84 例,女 59 例,平均年龄 43.1 岁。梅毒诊断标准见梅毒诊断标准及处理原则 GB 15974-1995。所有标本收集后分离血清,放-70℃冰箱保存,定期完成检测。检测前血清复溶至室温,并用涡旋混匀器充分混匀。

1.2 仪器 ARCH ITECT i2000 System, BSC-II-A2 型生物安全柜,白洋 B320A 医用低速离心机, Bio-Tek 酶标仪, TS-1 型脱色摇床,快速涡旋混匀器。

1.3 试剂 化学发光法检测试剂 ARCH ITECT R Syphilis TP 购自美国雅培公司(在全自动微粒子化学发光仪器 ARCH ITECT i2000 System 上完成检测), TP-ELISA 试剂购自厦门英科新创科技有限公司, TPPA 试剂购自日本富士株式会社, TRUST 试剂购自上海荣盛公司,所有检测均按厂家说明书完成操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 12.0 软件进行统计分析。两种方法之间比较时用精确概率法计算 *P* 值。

2 结果

2.1 年龄分布 梅毒患者组(简称实验组)和非梅毒患者组(简称对照组)年龄分布,见表 1。由表 1 可见,实验组和对照组人群年龄分布基本一致,两组人群主要来自 20~60 岁各年龄段。实验组平均年龄为 41.5 岁,对照组平均年龄为 43.1 岁。

表 1 梅毒患者组(实验组)和非梅毒患者组(对照组)年龄分布(*n*)

年龄	实验组		对照组	
	男	女	男	女
0~	5	2	3	3
10~	5	2	4	2
20~	16	14	12	8
30~	25	15	16	10
40~	30	14	28	15
50~	22	17	15	15
60~	7	14	6	6

2.2 4 种方法检测梅毒抗体结果比较 -70℃冰箱保存,定期由有经验的检验师用 TRUST、ELISA、TPPA 和 CMIA 4 种方法对 188 例确诊为梅毒患者血清和 143 例排除梅毒患者血清进行双盲检测,检测梅毒抗体结果见表 2。

结果表明:一期梅毒、潜伏梅毒和非梅毒血清检出结果有显著差异;二期梅毒、三期梅毒血清 4 种方法检出结果之间无显著差异。

表 2 4 种方法检测 331 例血清梅毒抗体结果比较 (表中数字为阳性例数)

项目	二期梅毒 (n=48)	二期梅毒 (n=117)	三期梅毒 (n=8)	潜伏期梅毒 (n=15)	非梅毒 (n=143)	合计 (n=331)
TRUST	35(72.92)	113(96.58)	6(75.00)	10(66.67)	9(6.29)	173
ELISA	47(97.92)	115(98.29)	7(87.50)	15(100.00)	1(0.70)	185
CMIA	47(97.92)	117(100.00)	8(100.00)	15(100.00)	1(0.70)	188
TPPA	47(97.92)	117(100.00)	8(100.00)	15(100.00)	0(100.00)	187
χ ²	29.455	7.429	4.046	16.364	19.558	
P	0.000	0.058	0.257	0.001	0.000	

2.3 CMIA 与 TRUST 梅毒抗体检测结果比较 结果表明:两种方法检测结果一致的标本共有 300 例,其中阳性标本 165 例,阴性标本 135 例;检测结果不一致的标本 31 例,其中 24 例标本化学发光法结果阳性,而 TRUST 结果阴性,10 例标本 TRUST 结果阳性,化学发光法检出阴性,统计结果表明,两种方法检出梅毒抗体的能力有显著差异。

2.4 CMIA 与 ELISA 梅毒抗体检测结果比较 结果表明:两法检测结果一致的标本共有 328 例,其中阳性标本 185 例,阴性标本 143 例;检测结果不一致的标本只有 3 例,化学发光法检出阳性,而 ELISA 检出阴性,统计结果表明,虽然两种方法检测梅毒结果不完全一致,但两种检测方法检出梅毒抗体的能力无显著性差异。

2.5 CMIA 与 TPPA 梅毒抗体检测结果比较 结果表明:两者检测结果一致的标本共有 330 例,其中阳性标本 188 例,阴性标本 142 例;检测结果不一致的标本只有 1 例,化学发光法检出阳性,而 TPPA 检出阴性,两种方法检测梅毒结果较一致,统计结果表明,两种检测方法检出梅毒抗体的能力无显著性差异。

2.6 4 种梅毒抗体检测方法的特异性和敏感性比较 TRUST、ELISA、TPPA 和 CMIA 4 种方法检测梅毒抗体的特异性和敏感性比较,结果见表 3,以 TPPA 为参考方法。敏感性为梅毒患者中阳性例数占梅毒患者百分比;特异性为非梅毒患者中阴性例数占非梅毒患者百分比。由表 3 可见,以 TPPA 为参考方法,CMIA 的敏感性和特异性最好,其次是 ELISA,TRUST 最差。

表 3 4 种方法检测血清梅毒抗体的敏感性和特异性比较 (与 TPPA 比较)

方法	灵敏度(%)	特异性(%)
TRUST	88.17	93.79
ELISA	98.38	99.31
CMIA	100.00	99.31
TPPA	100.00	100.00

3 讨 论

近年来梅毒仍在世界范围内流行^[5]。人体是梅毒螺旋体的唯一宿主,感染后会产生梅毒特异性抗体和非特异性抗体。检测特异性抗体常用的方法有 ELISA、TPPA 和 CMIA,检测非特异性抗体常用的方法为 TRUST。

TRUST 是采用 VDRL 抗原重悬于甲苯胺红溶液检测非特异性抗体,出现絮状沉淀为阳性,红色颗粒集中于中央或均匀分散为阴性。该试验简单快速,对一、二、三期梅毒的敏感性

分别为 74%~87%、100.00%和 34%~94%。特异性为 96%~99%^[6]。也有研究表明不同厂家的试剂检出结果之间差异有统计学意义^[7]。本组试验结果:对一、二、三期梅毒的敏感性分别为 72.92%、96.58%和 75.00%,特异性为 93.79%,与指南基本相符,与程艳杰等^[8-9]报道的一期梅毒检测结果相当;9 例假阳性标本分别来自类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮和病毒性肝炎患者,与相关报道一致。TRUST 对一期、隐性梅毒的敏感性明显低于其他 3 种方法,但对二期梅毒,其敏感性与其他 3 种方法无显著差异。

TP-ELISA 灵敏度高、特异性好,常用的是双抗原夹心法,同时检测 IgM/IgG 抗体。最早采用全血溶解产物作为抗原^[10],目前常用的重组抗原 有 TpN15、TpN17 和 TpN47。本组试验结果:对一、二、三、潜伏期梅毒的敏感性分别为 97.92%、98.29%、87.50%和 100.00%,特异性为 99.31%。与 TPPA 敏感性和特异性无差异,优点是可以 用自动酶免分析仪完成检测,仪器自动判别结果,缺点是操作步骤繁琐、必须成批进行标本检测等。

TPPA 是用梅毒螺旋体致敏明胶颗粒,当抗原和血清中抗体发生特异性反应时,产生可见的凝集反应,特异性强,敏感性高,是目前公认的较常用的梅毒确证实验。本组实验显示 TP-PA 除一期梅毒敏感性为 97.92%外,各期梅毒的敏感性和特异性均为 100.00%。但是其操作烦琐,对操作者的水平要求较高,耗时长,结果依赖肉眼判断且不易保存^[11]。

CMIA 原理为:标本中的梅毒抗体和包被有重组梅毒抗原(TpN15、TpN 17 和 TpN 47)的微粒子结合后,洗涤,加入标记有 acridinium 的抗人 IgM 或 IgG,再次洗涤,加入预激发液和激发液,通过相对光强度(RLU)测定梅毒抗体水平。本组实验显示 CMIA 除一期梅毒敏感性为 97.92%外,各期梅毒的敏感性为 100.00%,特异性为 99.31%。检测自动化,而其对患者 的经济负担同 TPPA 和 ELISA 法也是没有区别的。

CMIA 与 TPPA 检测结果一致性较高,331 例标本只有 1 例标本结果不一致,CMIA 检测结果阳性,而 TPPA 阴性。CMIA 与 ELISA 检测结果不一致的标本有 3 例,化学发光法结果阳性,而 ELISA 阴性;以 TPPA 为参考方法,CMIA 敏感性达 100.00%,特异性 99.31%,优于 ELISA 和 TRUST。因 TRUST 假阴性、假阳性率较高,临床上一 般和特异性抗体试验组合使用,更多地是用来判断疗效;CMIA 是采用原管在全自动微粒子化学发光仪器 ARCHITECT i2000 System 上封闭式完成检测,重复性好、可随时上机进行检测,方便患者及时就诊。因而 CMIA 完全可以取代梅毒螺旋体颗粒凝集试验、酶联免疫吸附试验用于梅毒的诊断。

由于化学发光法重复性好、易操作、可随时上机进行检测,

因而可以取代梅毒螺旋体颗粒凝集试验、酶联免疫吸附试验用于梅毒的诊断。

参考文献

[1] Peeling RW, Mabey DC. Syphilis[J]. Nat Rev Microbiol, 2004, 2(6):448-449.

[2] Tikhonova L, Salakhov E, Southwick K, et al. Hillis S for the congenital syphilis investigation team. Congenital syphilis in the Russian Federation: Magnitude, determinants, and consequences[J]. Sex Transm Infect, 2003, 79(2):106-110.

[3] Cohen MS, Hawkes S, Mabey D. Syphilis returns to china... With a vengeance[J]. Sex Transm Dis, 2006, 33(12):724-725.

[4] Marangoni A, Sambri V, Accardo S, et al. Evaluation of LIAISON treponema screen, a novel recombinant antigen-based chemiluminescence immunoassay for laboratory diagnosis of syphilis[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2005, 12(10):1231-1234.

[5] Knight CS, Mary A, Crum. Evaluation of the LIAISON chemiluminescence immunoassay for diagnosis of syphilis[J]. Clin and Vaccine immunology, 2007, 14(6):710-713.

• 检验技术与方法 •

[6] Hopkins S, Lyons F, Coleman C, et al. Resurgence in infectious syphilis in Ireland: An epidemiological study[J]. Sex Transm Dis, 2004, 31(5):317-321.

[7] Hourihan M, Wheeler H, Houghton R, et al. Lessons from the syphilis outbreak in homosexual men in east London[J]. Sex Transm Infect, 2004, 80(6):509-511.

[8] 疾病预防控制中心性病控制中心. 性传播疾病临床诊疗指南[M]. 2006:33-37.

[9] 程艳杰, 王广杰, 王旭, 等. 梅毒螺旋体血清学检测方法的实验室评价[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2005, 19(8):503-504.

[10] 王华, 李代渝, 雷丽明. 梅毒血清学五种检测方法的比较[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2007, 21(7):435-436.

[11] Woznicova V, Valisova Z. Performance of CAPTIA Select Syph-Genzyme-linked immunosorbent assay in syphilis testing of a high risk population: Analysis of discordant results[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(6):1794-1797.

(收稿日期:2012-01-08)

细针穿刺物瑞氏染色与抗酸染色联合检查对乳腺结核的诊断价值

孙磊, 张守永, 广圣芳, 高绪锋
(安徽医科大学附属六安医院检验中心 237005)

摘要:目的 提高乳腺结核的诊断准确率。方法 对 16 例疑似乳腺结核患者行细针穿刺, 采用瑞氏染色进行细胞学检查和抗酸染色进行细菌学检查。结果 细针穿刺细胞学检出率为 62.5%, 但相对特异性较低; 抗酸染色检查阳性率为 25%, 特异性为 100%。结论 瑞氏染色诊断乳腺结核灵敏度较高, 相对特异性差, 抗酸染色法检测乳腺结核阳性率较低, 但特异性高, 两种方法联合检测能有效地提高乳腺结核的诊断率, 减少乳腺结核误诊率, 有效地防止了过度治疗现象的发生。

关键词:细针穿刺细胞学; 抗酸染色; 乳腺结核
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.16.037 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)16-1996-02

乳腺结核又叫结核性乳腺炎, 在乳腺疾病中较少见, 但近年来呈上升趋势。由于其临床表现复杂, 易误诊为单纯乳腺炎、乳腺囊肿和乳腺癌等。细针穿刺细胞学由于其简单、快捷和创伤小而越来越受到临床重视。笔者对 16 例疑似乳腺结核穿刺物进行细胞学和抗酸染色检查, 现分析如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 16 例均为女性, 年龄 27~48 岁, 平均年龄 34 岁。16 例均为单侧, 9 例为左侧, 7 例为右侧。病程为 1 个月至 2 年。既往均无结核病史, 无发热、盗汗、乏力, 进行性消瘦等症状。

1.2 临床表现 16 例都能触及明显肿块, 2 例可触及 3 个结节状肿块, 1 例可触及 2 个结节肿块, 其余皆为单个肿块, 病灶直径 1~10 cm。10 例有肿块与皮肤粘连, 6 例无粘连; 3 例有局部破溃; 9 例有表皮红肿现象; 2 例有乳头内陷; 2 例有乳头分泌物, 3 例伴有同侧腋窝淋巴结肿大。

1.3 检测方法 将细针穿刺乳腺肿块和腋窝淋巴结肿块抽取物, 分别用瑞氏染色法做细胞学检查和抗酸染色法找抗酸杆菌。细胞形态学检查, 依据细胞形态学特征诊断; 细菌学为萏-纳氏染色法, 均采用热染法, 按全国结核病诊断细菌学检验规程, 油镜下 100 个视野找到 3 条抗酸杆菌为阳性, 未见为阴性。

2 结果

16 例细胞学疑似乳腺结核肿块中, 最终经各种检查临床确诊乳腺结核 10 例, 检出率为 62.5%, 另 6 例中有 2 例确诊为

乳腺癌, 4 例确诊为乳腺炎性反应; 16 例中抗酸染色阳性为 4 例, 皆确诊为乳腺结核, 特异性为 100%。穿刺细胞学和抗酸染色结果, 见图 1。

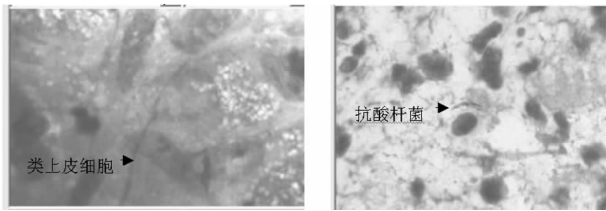


图 1 穿刺细胞学和抗酸染色结果

3 讨论

乳腺结核是结核杆菌感染所致乳腺组织的慢性炎症疾患, 临床较少见, 在世界范围内, 乳腺结核的发病率约占乳腺外科疾病的 0.1%~3.0%^[1], 而在非洲等结核盛行区, 乳腺结核却占有所有乳腺疾病的 4%^[2-3]。乳腺结核多发生于 20~40 岁之间的经产、多产及哺乳期女性, 主要是由于乳腺导管处于扩张状态, 易被外界结核杆菌感染^[4]。感染途径大都是结核杆菌血行播散。原发病灶多为肺或肠系膜淋巴结。由于病例少, 乳腺结核与单纯乳腺炎、乳腺囊肿和乳腺癌的表现存在相似之处, 常易造成误诊。

乳腺结核的钼靶摄片可表现为大片钙化影, 且易与乳腺癌