

## 梅毒的实验室检测技术

朱晓华

梅毒是由苍白密螺旋体 (*Treponema Pallidum*, TP) 感染导致的一种慢性、全身性传染病,主要通过性接触、血液和母婴三种途径传播。近年来,其发病率在我国呈逐年上升趋势。从控制传染源的角度出发,早期诊断梅毒并及时治疗对有效控制梅毒疫情显得尤为重要<sup>[1]</sup>。目前,梅毒的诊断依赖病史、临床表现和实验室检查。实验室检查主要包括病原学检测、血清学检测和梅毒螺旋体核酸检测3类,下面就其各自检测原理、优缺点及适用范围等作以综述。

### 一、病原学检测法

主要包括暗视野显微镜检查和镀银染色检查两种方法。螺旋体检查是诊断早期现症梅毒的最好方法,世界卫生组织指定其为性病实验室必备项目之一。但该方法实施过程中易与类似梅毒螺旋体的其他物质混淆,阳性结果需谨慎解释;未见梅毒螺旋体,并不能排除患梅毒的可能性,应结合其他方法综合诊断。

### 二、血清学检测法

梅毒的血清学检测在梅毒的诊断中发挥着重要的作用,为临床检验科常规检测项目之一。感染梅毒螺旋体后,人体机体产生两类抗体。一类是特异性抗体,治愈后相当长的时间内仍然存在较高的阳性率,甚至终生阳性;另一类是非特异性抗体,是梅毒螺旋体破坏患者组织后释放一种抗原物质刺激机体产生的。鉴于此,梅毒的血清学检测方法分为非梅毒螺旋体抗原血清试验和梅毒螺旋体抗原血清试验两种。

1. 非梅毒螺旋体抗原血清试验:非梅毒螺旋体抗原血清试验包括性病研究实验室(veneral disease research laboratory, VDRL)试验、快速血浆反应素(rapid plasma reagin, RPR)环状卡片试验和甲苯胺红不加热血清学试验(toluidine red untreated serum test, TRUST)等。

(1) VDRL 试验:利用梅毒螺旋体感染人体后,宿主会产生抗类脂抗原的抗体(反应素),与一定比例的心磷脂、卵磷脂及胆固醇混合物抗原反应的原理,用以检测梅毒患者体内的抗类脂抗原的抗体。由于该检测方法受操作步骤繁琐、费时,结果较难判断等条件限制,目前已被 RPR 和 TRUST 替代。

(2) RPR 或 TRUST 试验:是 VDRL 试验的改良方法,两种方法原理相同,均为抗原与待检血清或血浆中反应素反应以产生肉眼可见凝集颗粒;不同之处在于前者 VDRL 抗原吸附于活性炭颗粒表现,后者 VDRL 抗原重悬于含有特制的甲苯胺红溶液中。具有操作简便、快速,试剂成本低的特点。该试验在感染初期、潜伏期及检测过程中出现带现象等情况

下可呈假阴性;另一方面,自身免疫性疾病、妊娠等情况可导致 RPR、TRUST 出现假阳性<sup>[2-3]</sup>。由于 RPR 和 TRUST 存在一定的假阳性或假阴性结果,分析该试验结果时应充分考虑以上干扰因素。RPR 或 TRUST 阳性的患者往往是梅毒现症感染者,其滴度随着临床症状的好转而逐渐下降,故可以作为疗效观察、随访和了解有无复发的指标。

2. 梅毒螺旋体抗原血清试验:梅毒螺旋体抗原血清试验的原理是梅毒螺旋体抗原能与血清或血浆中的特异性梅毒螺旋体抗体发生特异抗原抗体反应,用以检测相应抗体。常用的有梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(*treponema pallidum* particle assay, TPPA)、梅毒螺旋体血球凝集试验(*treponema pallidum* hemagglutination, TPHA)、荧光梅毒螺旋体抗体吸收试验(fluorescent *treponemal* antibody-absorption, FTA-ABS)、梅毒螺旋体酶联免疫吸附试验(*treponema pallidum*-enzyme linked immunosorbent assay, TP-ELISA)和梅毒螺旋体蛋白印迹试验(*treponema pallidum*-Western blot, TP-WB)等方法。

(1) TPPA 或 TPHA 试验:本试验采用包被于人工载体明胶粒子上的梅毒的精制菌体成份能与样品中的梅毒螺旋体抗体产生粒子凝集反应的原理,检测出血清或血浆中的抗梅毒螺旋体特异性抗体,该方法还可用来测定梅毒抗体效价。由于该方法有较高的敏感性和特异性,如呈阳性反应,则基本可确诊感染梅毒。但 TPPA 试剂价格较高,操作较为繁琐、费时,不适宜大批标本筛查。另有文献报道,TPPA 法在老年组患者的检测方面常出现假阳性<sup>[4-5]</sup>,故本方法也不能作为绝对的确认方法,需结合患者病史、临床表现及其他检测方法慎重诊断。

(2) TP-ELISA 试验:本试验将梅毒螺旋体基因工程混合抗原包被于反应孔中,应用双抗原夹心法原理检测人血清或血浆中的抗梅毒螺旋体特异性抗体。由于该方法能够自动、客观记录结果,易于保存,可以自动化、标准化,大批量同时检测,操作简便,成本低廉和高敏感性、特异性等优点,故适用于大量标本的筛查<sup>[6]</sup>。TP-ELISA 的缺点在于检测的梅毒螺旋体 IgM 和 IgG 抗体在梅毒患者治愈后相当长时间仍为阳性,故不能区分既往感染和现症感染,也不能作为疗效观察的指标<sup>[7-8]</sup>。

(3) FTA-ABS 试验:是梅毒螺旋体抗原血清学试验的“金标准”。由于该方法采用非致病性密螺旋体提取物作为吸收剂吸收待检血清,避免了同属抗原的交叉反应,保证了试验结果的特异性。但由于本试验繁琐费时,技术要求高,且需要荧光显微镜,受以上诸多因素影响,该方法应用极少。

(4) TP-WB 试验:是检测梅毒螺旋体抗体的特异性定性试验,是目前较为公认的梅毒螺旋体抗体确证方法。可用于检测 IgM 或 IgG 抗体。

(5) 胶体金免疫层析法(colloidal gold immunochromatographic

assay, GICA): 本法应用现代生物学技术制备的高纯度的单克隆梅毒螺旋体的基因工程抗原, 高度选择性地与相应抗体发生特异性抗原-抗体反应的原理, 从而检测人血清或血浆中的抗梅毒螺旋体特异性抗体。具有快速、简便等特点, 但由于敏感性较差可致假阴性结果, 不适用于筛查。阳性可以报结果, 阴性时必须采用 TPPA 法再次验证, 再报结果。特异性良好, 但敏感性较差。

### 三、梅毒螺旋体核酸检测

常用聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 技术进行检测。梅毒螺旋体感染早期, 由于感染者体内尚未形成相应抗体或仅产生少量抗体, 血清学检测法可能产生假阴性的结果。而隐性梅毒患者是梅毒的主要传染源, 及早发现梅毒感染者对控制梅毒的传播显得尤为重要。应用 PCR 技术检测螺旋体 DNA 不仅可以诊断早期梅毒、神经梅毒和先天梅毒等感染, 而且可以选择各种临床样本进行检测, 并对其进行基因分型, 从而对区分梅毒螺旋体的不同菌株、复发和再感染等有重要意义。但其检测技术要求高, 成本贵, 作为临床常规检测项目开展尚存在一定困难。

综上所述, 随着梅毒检测新方法、新技术的不断涌现, 目前检测梅毒的方法很多。但由于隐性梅毒患者是重要的传染源, 应用高敏感性和特异性的梅毒检测方法, 及早、准确地诊断梅毒感染, 从而采取及时的治疗措施, 对控制梅毒疫情的蔓延至关重要。

一般来说, 如果 RPR 和 TPPA/TPHA 检测均显示阳性, 梅毒感染诊断成立。梅毒诊断标准规定<sup>[9]</sup>, TRUST 法等非特异性试验可用于梅毒的筛查和疗效观察, TPPA 等特异性梅毒螺旋体抗体血清试验则用于确证试验。

但有研究显示, 年龄与疾病等因素能造成老年人梅毒抗体检测 (TPPA 或 TPHA) 易发生假阳性的情况<sup>[4,5,10-11]</sup>。从节约成本, 为临床提供及时、准确的实验室检测结果, 减少不必要的医疗纠纷等多方面考虑, 对梅毒血清学检测结果有疑问的样本最好选用 TP-ELISA 和 TPPA 等方法同时进行检测。

尤其当老年患者出现 TPPA 法阳性反应时, 一些有条件的机构还应结合 FTA-ABS 等方法加以确证, 并结合 RPR 或 TRUST 试验进行疗效观察<sup>[12]</sup>。

### 参 考 文 献

- 1 黄波, 钟方木, 纪红星. 3种梅毒诊断试剂的临床应用评价. 检验医学与临床, 2007, 4(1): 10-11.
- 2 肖建宇, 高美霞, 沈迎枫, 等. 献血者梅毒筛查中两种方法的应用与分析. 江苏预防医学, 2004, 15(2): 63-64.
- 3 黄梅. 三种梅毒血清学诊断方法的比较. 检验医学与临床, 2011, 8(6): 742-743.
- 4 文爱清, 孙继德, 黄衡柳, 等. 梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验临床应用再评价. 重庆医学, 2010, 39(3): 298-299, 301.
- 5 武建国. 老年人抗梅毒螺旋体抗体测定的假阳性率偏高. 临床检验杂志, 2006, 24(4): 241-243.
- 6 高坎坎. 梅毒常见血清学检测方法的评价. 安徽医学, 2010, 38(6): 698-700.
- 7 Castro R, Prieto ES, Santo I, et al. Evaluation of an enzyme immunoassay technique for detection of antibodies against *Treponema pallidum*. J Clin Microbiol, 2003, 41(1): 250-253.
- 8 Manavi K, Young H, McMillan A. The sensitivity of syphilis assays in detecting different stages of early syphilis. Int J STD AIDS, 2006, 17(11): 768-771.
- 9 中华人民共和国卫生部. 梅毒诊断标准 [WS273-2007]. 人民卫生出版社. 2008.
- 10 Lautenschlager S. Diagnosis of syphilis: Clinical and laboratory problems. J Dtsch Dermatol Ges, 2006, 4(12): 1058-1075.
- 11 陈红霞. 肿瘤患者与老年患者的 TPPA 假阳性分析. 江西医学检验, 2007, 25(3): 288.
- 12 吴咏梅, 祖瑜. 几例梅毒螺旋体抗体不同检测结果解释及分析. 重庆医学, 2004, 33(8): 1178.

(收稿日期: 2012-10-22)

(本文编辑: 孙荣华)

朱晓华. 梅毒的实验室检测技术 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7(1): 132-133.