

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.15.004

梅毒螺旋体、心磷脂 IgG 抗体检测在梅毒诊断中的应用分析*

王欣俞¹, 赵晋文¹, 丁晓娜¹, 孟庆晗¹, 孙 斌², 高德禄³, 郭奕阳⁴, 魏殿军^{1△}

1. 河北燕达医院检验科, 河北廊坊 066251; 2. 中国人民解放军第三〇九医院检验科, 北京 100091;
3. 中国人民解放军第三〇五医院检验科, 北京 100017; 4. 河北医科大学第四医院检验科, 河北石家庄 050000

摘 要:目的 探讨梅毒螺旋体、心磷脂 IgG 抗体检测在梅毒诊断中的应用价值。方法 收集河北燕达医院 2017 年 7 月至 2018 年 9 月常规人群血清标本 24 378 例, 应用美国雅培 Architect i2000 全自动化学发光仪, 采用化学发光微粒子免疫检测法(CMIA)对 24 378 例标本进行梅毒血清学筛查测定。对于 Architect i2000 中 S/CO 值 ≥ 20 的强反应性结果, 选用梅毒螺旋体凝胶颗粒凝集试验(TPPA)及快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)复检; 对于 Architect i2000 中 S/CO 值在 1~10 的弱反应性结果, 选用 TPPA 及西门子 ADVIA Centaur XP 全自动化学发光免疫分析仪化学发光免疫法(CLIA)复检, TPPA 阳性标本加做免疫印迹梅毒螺旋体、心磷脂 IgG 抗体(WB-TP-IgG)复测。结果 24 378 例梅毒筛查患者中梅毒特异性抗体阳性 294 例, 非特异性抗体阳性 74 例, 发病人数占人群总数的 0.003%(74/24 378); 初筛 Architect i2000 CMIA 中 S/CO 值 ≥ 20 的反应性结果与复检方法结果比较, 257 例强阳性反应结果与 TPPA 结果符合率为 100.0%, 与 RPR 结果符合率为 28.8%; Architect i2000 CMIA 初筛 S/CO 值在 1~10 的反应性结果 193 例, 选用 ADVIA Centaur CLIA 和 TPPA 两种梅毒特异性抗体检测方法复检, TPPA 检测阴性结果直接判读, 112 例 TPPA 阳性加做 WB-TP-IgG 复核, 比较 4 种梅毒特异性抗体检测方法, 以 WB-TP-IgG 检测结果为标准, 确证试验显示 37 例为阳性(33%)。结论 通过对常规人群梅毒血清学检测方法比较, 对于临床弱反应性结果建议直接选用蛋白免疫印迹法 WB-TP-IgG 作为确证试验, 避免出现假阳性结果而导致医疗纠纷, 同时减少患者心理压力及家庭矛盾。

关键词:梅毒; 确证试验; 化学发光免疫法

中图法分类号: R759.1; R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)15-2123-04

Analysis on application of detection of treponema pallidum, cardiolipin IgG antibody in diagnosis of syphilis*

WANG Xinyu¹, ZHAO Jinwen¹, DING Xiaona¹, MENG Qinghan¹,

SUN Bin², GAO Delu³, GUO Yiyang⁴, WEI Dianjun^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Hebei Yanda Hospital, Langfang, Hebei 066251, China;

2. Department of Clinical Laboratory, 309 Hospital of PLA, Beijing 100091, China;

3. Department of Clinical Laboratory, 305 Hospital of PLA, Beijing 100017, China; 4. Department of Clinical Laboratory, Fourth Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050000, China

Abstract: **Objective** To investigate the application value of treponema pallidum and cardiolipin IgG antibody detection in the diagnosis of syphilis. **Methods** A total of 24 378 serum specimens from routine population in Hebei Yanda Hospital from July 2017 to September 2018 were collected and conducted the syphilis serological screening detection by adopting the chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA) on the Abbott Architect i2000 automatic chemiluminescence instrument, USA. For the strong reactivity results with S/CO value ≥ 20 in Architect i2000, treponema pallidum antibody particle agglutination test (TPPA) and rapid plasma reactive ring card test (RPR) were used for conducting the re-examination; and for the weak reactivity results with S/CO value of 1-10 in Architect i2000, TPPA and Siemens ADVIA Centaur XP automatic chemiluminescence immunoassay (CLIA) were used for conducting the re-examination. The immunoblotted treponema pallidum and cardiolipin IgG antibody (WB-TP-IgG) were added in TPPA positive samples re-examination. **Results** Among 24 378 cases of syphilis screening, there were 294 cases of positive syphilis-specific antibody and 74 cases of positive non-specific antibody, and the onset people number accounted for 0.003% (74/24 378) of total population number. A total of 257 strong positive cases with S/CO ≥ 20 in the preliminary screening by Architect i2000 CMIA were compared with the re-detection methodology retested, showing that

* 基金项目: 河北省卫生青年科技课题(20180899)。

作者简介: 王欣俞, 女, 副主任技师, 主要从事临床免疫学检验方面的研究。△ 通信作者, E-mail: 1127089887@qq.com。

the consistency rate between the strong positive reaction results in 257 cases and the TPPA results was 100.0%, and the consistency rate with RPR results was 28.8%. In 193 cases of S/CO value 1—10 in the preliminary screening by Architect i2000 CMIA, the re-examination selected the two methods of ADVIA Centaur SPYH and TPPA. The negative results of TPPA test were directly interpreted. In 112 cases of TPPA positive, the WB-TP-IgG re-examination was added. By comparing four methods of syphilis specific antibody detection, WB-TP-IgG test results were taken as the standard. The confirmation test showed that 37 cases (33%) were positive. **Conclusion** In the serological screening of syphilis in the routine population, it is recommended to directly select WB-TP-IgG as the confirmation test for clinical weak reactivity results, which avoids medical disputes caused by false positive results, meanwhile reduce psychological pressure and family conflicts of patients.

Key words: syphilis screening; confirmation test; chemiluminescence immunoassay

梅毒是由苍白螺旋体(TP)感染引起的一种全球分布的慢性、系统性传播疾病,人是梅毒的唯一传染源,其主要传播途径有性传播、血液传播和母婴传播 3 种。梅毒可侵犯人体全身器官,临床表现分为一期梅毒、二期梅毒、三期梅毒、潜伏期梅毒以及先天性梅毒,既能产生各种各样的症状和体征,又可多年无症状而呈潜伏状态,对人类健康危害极大^[1]。据国家卫生健康委员会(原国家卫生和计划生育委员会)疾病预防控制中心的官方数据显示:2016 年我国梅毒的发病数为 438 199 例,比 2015 年同期增长 9.74%,发病数位居传播疾病首位,乙类传染病第 3 位,仅次于病毒性肝炎和结核病。由于存在隐性感染以及无法统计的私人诊所接诊患者,目前公布的梅毒发病率或许只是梅毒真实发病率的冰山一角^[2]。目前,孕妇、血液肿瘤患者,以及患者输血前、常规手术前、内窥镜检查前,通常需要进行梅毒血清学筛查。早期梅毒和隐性梅毒可无临床症状,而梅毒血清学检测在临床辅助诊断中是一项良好的实验室检测指标,因此降低检验结果的假阳性率非常重要。本研究对河北燕达医院 2017 年 7 月至 2018 年 9 月常规人群梅毒血清学筛查结果进行分析,应用美国雅培 Architect i2000 全自动化学发光仪,采用化学发光微粒子免疫检测法(CMIA)筛查测定,对于 Architect i2000 中 S/CO 值 ≥ 20 的强反应性结果,选用梅毒螺旋体凝胶颗粒凝集试验(TPPA)及快速血浆反应素环状卡片试验(RPR)复检;对于 Architect i2000 中 S/CO 值在 1~10 的弱反应性结果,选用 TPPA、化学发光免疫法(CLIA)及免疫印迹梅毒螺旋体、心磷脂 IgG 抗体(WB-TP-IgG)复检,分析比较各方法的检测结果,从而探讨在常规人群梅毒实验室诊断中如何选择确证试验,避免出现假阳性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入 2017 年 7 月至 2018 年 9 月在河北燕达医院体检、门诊和住院进行梅毒血清学筛查的血清标本 24 378 例,其中男 9 522 例、女 14 856 例,年龄 0~92 岁、中位年龄 46 岁。

1.2 试剂与仪器 美国雅培公司生产的全自动 Architect i2000 化学发光免疫分析仪及梅毒螺旋体抗体测定试剂盒;德国西门子公司生产的全自动 ADVIA Centaur XP 化学发光分析仪及梅毒螺旋体抗体测定试剂盒;TPPA 试剂,购自日本富士瑞必欧株式会社;WB-TP-IgG 检测试剂盒,购自德国欧蒙公司;RPR 试剂,购自上海科华公司。

1.3 方法

1.3.1 梅毒螺旋体初筛 将 24 378 例患者血清标本进行梅毒血清学筛查,使用美国雅培 Architect i2000 全自动化学发光仪,采用 CMIA 检测梅毒螺旋体特异性抗体。试剂说明书中以 cut-off 值(S/CO 值) ≥ 1 为梅毒螺旋体抗体反应性, < 1 为非反应性。

1.3.2 梅毒螺旋体强反应性结果复检 对 Architect i2000 CMIA 中 S/CO 值 ≥ 20 的反应性结果选用 TPPA 进行梅毒螺旋体特异性抗体复检,并同时选用 RPR 检测梅毒非特异性抗体。RPR 试验检测实验室血清学非特异性抗体,主要用于对梅毒现症感染和疗效的监测。

1.3.3 梅毒螺旋体弱反应性结果复检 对 Architect i2000 CMIA 中 S/CO 值在 1~10 的反应性结果,选用西门子 ADVIA Centaur XP 全自动化学发光仪,采用 CLIA、TPPA 进行复检。TPPA 阴性检测结果直接判读;TPPA 阳性检测结果选用 WB-TP-IgG 进行复检。WB-TP-IgG 为实验室血清学特异性抗体测定,重组梅毒螺旋体基因蛋白抗原采用 TpN47、tmpA (TpN45)、TpN17、TpN15 的 IgG 抗体,最终以 WB-TP-IgG 检测结果为方法学确证。

2 结果

2.1 梅毒发病率 24 378 例梅毒筛查患者中梅毒特异性抗体阳性 294 例(S/CO 值 ≥ 20 的 257 例, S/CO 值在 1~10 且 TP-WB-IgG 确诊 37 例),非特异性抗体阳性 74 例,感染占总人数的 0.012%(294/24 378),发病占总人数的 0.003%(74/24 378)。

2.2 初筛 Architect i2000 CMIA 中 S/CO 值 ≥ 20 的反应性结果与复检方法结果比较 257 例强阳性反应

结果与 TPPA 结果符合率为 100.0%(257/257),与 RPR 结果符合率为 28.8%(74/257)。

2.3 初筛 S/CO 值在 1~10 的反应性结果分析

2.3.1 血清标本来源 24 378 例梅毒血清学检测标本 CMIA 判读 S/CO 值在 1~10 为 193 例,193 例标本来自普外科(17 例)、肿瘤科(17 例)、神经内科(29 例)、心内科(21 例)、骨科(5 例)、体检科(8 例)、消化科(20 例)、妇产科(35 例)、性病门诊(18 例)、泌尿外科(6 例)、风湿免疫科(3 例)、呼吸科(6 例)、急诊(8 例)。

2.3.2 3 种梅毒螺旋体特异性抗体检测方法结果比较 193 例 CMIA 初筛 S/CO 值在 1~10 的弱反应性结果中,CLIA (S/CO 值)检测阳性 125 例,阴性 68 例;以 TPPA 阴性检测结果直接判读,其中 81 例检测结果为阴性,112 例检测结果阳性再次进行复核。雅培 Architect i2000 全化学发光分析仪 CMIA 灵敏度高,与 TPPA 符合率为 58%(112/193);西门子 ADVIA Centaur XP 全自动化学发光分析仪 CLIA 与 TPPA 符合率为 89%(112/125)。

2.3.3 4 种梅毒特异性抗体检测方法结果比较 CMIA 初筛 S/CO 值在 1~10 的弱反应性结果中,对 TPPA 阳性的 112 例加做 WB-TP-IgG,通过 4 种梅毒特异性抗体检测方法比较,CLIA (S/CO 值)检测阳性 98 例,阴性 14 例。以 WB-TP-IgG 检测结果为标准,确证试验显示 37 例为阳性,75 例为阴性,阳性率为 33%(37/112)。

3 讨论

全球每年约有 1 200 万的梅毒新发病例,近年在我国梅毒发病率也呈逐年升高趋势;1993 年每 100 万人的梅毒总发病数不到 2 例,到 2005 年每 100 万人中仅一期和二期梅毒发病数就高达 57 例^[3]。同时,2010 年《新英格兰医学杂志》报道,中国不到 1 h 就增加 1 例先天性梅毒^[4]。这些研究报道已清楚地表明,梅毒的防控形式十分严峻。众所周知,选择不同的检测方法,由于敏感性和特异性不同,其阳性率存在差异^[5]。

血清学检测试验是目前国内外梅毒实验室诊断的主要方法,血清学试验分为梅毒特异性抗体检测和梅毒非特异性抗体检测。梅毒螺旋体侵入人体后,特异性抗体 IgM 最早出现(感染后 2 周左右),特异性抗体 IgG 出现较晚(感染后 4 周左右),两种特异性抗体不易消退,甚至终身存在。非特异性抗体梅毒血浆反应素出现较晚,一般在感染后 5~7 周出现。研究发现,Th2 介导的体液免疫应答是造成梅毒长期潜伏感染的主要原因^[6]。梅毒螺旋体侵入人体后,可诱导机体产生针对不同抗原成分的抗体,主要包括心磷脂抗体和抗梅毒特异性抗体。梅毒外膜蛋白是免疫的主要靶点,相关研究已证实有 9 种具有免疫活性的蛋白,即 TP15、TP17、TP33、TP37、TP39、TP43、TP45、

TP47 和 TP97,其中 TP15、TP17、TP45、TP47 被认为在梅毒的诊治中起重要作用^[7]。Architect TP-CMIA 采用双抗原夹心法,其针对的是 TP15、TP17 和 TP47 抗体;ADVIA Centaur TP-CLIA 应用双抗原夹心法,其针对的是 TP15 和 TP17 抗体;TPPA 是采用梅毒螺旋体作为抗原检测患者血清中的抗体^[8],其针对的是 TP15、TP45 抗体^[9],可出现生物学假阳性^[9];WB-TP-IgG 含电泳转移硝酸纤维素膜分离的梅毒螺旋体抗原检测膜条,膜条中包被重组抗原 TP15、TP17、TP45、TP47, WB 结合免疫学和分子生物学的特点,在分子水平上检测标本中对于不同分子量多肽抗原成分的抗体^[10],敏感性高,特异性强,是目前国际公认的梅毒确证方法^[11]。

快速、准确地检测血清学梅毒抗体,为临床诊断和治疗梅毒现症感染患者提供可靠的依据尤其重要。当免疫检验结果与临床表现明显不符时,必须要考虑梅毒血清学检测生物学假阳性,见于系统性红斑狼疮、风湿热和系统性硬化等自身免疫性疾病患者,也可见于水痘、麻风和病毒性肝炎等患者^[12]。老年人患有恶性肿瘤、心血管疾病、自身免疫性疾病时,刺激机体产生与梅毒螺旋体抗原发生交叉反应的抗体;或者老年患者体内有梅毒螺旋体以外的螺旋体感染,产生抗螺旋体抗体,与梅毒螺旋体血清学试验中的抗原发生交叉免疫反应,从而出现假阳性^[13-15]。

本研究回顾性分析河北燕达医院 2017 年 7 月至 2018 年 9 月通过雅培 Architect i2000 全自动化学发光分析仪采用 CMIA 筛查梅毒抗体的情况,结果显示 CMIA 检测 S/CO 值 ≥ 20 可以作为梅毒特异性抗体阳性诊断;在检测梅毒特异性抗体阳性的同时,RPR 可作为梅毒活动性的一个监测指标,为临床诊疗提供实验室依据;对于 CMIA 初筛 S/CO 值在 1~10 的反应性结果,联合应用西门子 ADVIA Centaur XP 全自动化学发光分析仪 CLIA、TPPA 和 WB-TP-IgG 3 种不同检测方法分析检验结果:TPPA 复检阴性的检测结果,结合人群基础疾病、生理情况可排除梅毒感染;TPPA 复检阳性的结果加做 WB-TP-IgG 复测确证。雅培 Architect i2000 全化学发光分析仪 CMIA 灵敏度高,易导致结果出现假阳性,与 TPPA 符合率为 58%(112/193);西门子 ADVIA Centaur XP 全自动化学发光分析仪 CLIA 与 TPPA 符合率为 89%(112/125)。3 种方法结果显示,弱反应性结果需特异性较高的方法学进行鉴别诊断;应用 WB-TP-IgG 复检,阳性率为 33%(37/112)。

本课题通过对常规人群梅毒血清学检测方法的筛选发现,对于临床弱反应性结果建议直接选用 WB-TP-IgG 检测方法作为确证试验,可大大降低假阳性率,提高筛查梅毒特异性抗体的报告质量,避免实验室检测结果假阳性而导致的医疗纠纷,同时减少患者

心理压力及家庭矛盾。

参考文献

[1] 赵辨. 临床皮肤病学[M]. 南京:江苏科学技术出版社, 2010.

[2] 胡跃华,李镒冲,刘世炜,等. 中国 20 年间淋球菌、性传播衣原体、梅毒螺旋体的发病情况及其疾病负担[J]. 疾病监测, 2015, 30(11):904-910.

[3] CHEN Z Q, ZHANG G C, GONG X D, et al. Syphilis in China: results of a national surveillance programme[J]. Lancet, 2007, 369:132-138.

[4] TUCKER J D, CHEN X S, PEELING R W. Syphilis and social upheaval in China[J]. N Engl J Med, 2010, 362(18):1658-1661.

[5] 童曼莉,刘莉莉,林丽蓉,等. 梅毒实验诊断程序研究进展[J]. 中华检验医学杂志, 2017, 40(11):898-903.

[6] MALM K, ANDERSSON S, FREDLUND H, et al. Analytical evaluation of nine serological assays for diagnosis of syphilis[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2015, 29(12):2369-2376.

[7] CARLSON J A, DABIRI G, CRIBIER B, et al. The immunopathobiology of syphilis: the manifestations and course of syphilis are determined by the level of delayed-type hypersensitivity[J]. Am J Dermatopathol, 2011, 33(5):433-460.

[8] LIN L R, TONG M L, CAN K, et al. A negative non-treponemal and/or specific antitreponemal IgM test does not exclude active infectious syphilis: evidence from a rabbit infectivity test; a case report[J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(31):e4520.

[9] 魏寿忠,林桂花,陈依平,等. 化学发光法检测梅毒螺旋体抗体的效果评价[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(11):1351-1352.

[10] 王文雯,周雅. 免疫印迹法在老年人梅毒诊断中的应用[J]. 中国皮肤性病杂志, 2016, 30(9):922-926.

[11] NOVIKOV A L, DOLGIKH T I, NOVIKOV I A. Western blot as a confirming test in the laboratory diagnosis of syphilis[J]. Klin Lab Diagn, 2011, 8:44-45.

[12] 毛远丽,陈霖. 梅毒检测方法的现状[J]. 中华医学检验杂志, 2013, 36(10):883-886.

[13] 张晓红,张倩,周学红,等. 化学发光检测梅毒特异性抗体在临床筛查试验中的应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(10):780-783.

[14] 廖桂香,李文溯. 抗梅毒螺旋体抗体阳性对老年患者的价值分析[J]. 医学检验, 2011, 8(16):103-104.

[15] 陈虎根. 老年人隐性梅毒诊断之我见[J]. 中国皮肤性病杂志, 2012, 26(12):1442.

(收稿日期:2019-01-08 修回日期:2019-04-16)

(上接第 2122 页)

LSSON A, et al. 2018 ESC/EACTS guidelines on myocardial revascularization[J]. Kardiol Pol, 2018, 76(12):1585-1664.

[3] 王伟民,霍勇,葛均波. 冠状动脉钙化病变诊治中国专家共识[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2014, 22(2):69-73.

[4] WILLIAMS M, SHAW L J, RAGGI P, et al. Prognostic value of number and site of calcified coronary lesions compared with the total score[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2008, 1(1):61-69.

[5] TANIGAWA J, BARLIS P, DI MARIO C. Heavily calcified coronary lesions preclude strut apposition despite high pressure balloon dilation and rotational atherectomy: in-vivo demonstration with optical coherence tomography[J]. Circ J, 2008, 72:157-160.

[6] AGATSTON A S, JANOWITZ W R, HILDNER F J, et al. Quantification of coronary artery Calcium using ultrafast computed tomography[J]. J Am Coll Cardiol, 1990, 15(4):827-832.

[7] STONE G W, SABIK J F, SERRUYS P W, et al. Everolimus-Eluting stents or bypass surgery for left main coronary artery disease[J]. N Engl J Med, 2016, 375(23):2223-2235.

[8] MAKIKALLIO T, HOLM N R, LINDSAY M, et al. Percutaneous coronary angioplasty versus coronary artery bypass grafting in treatment of unprotected left main stenosis (NOBLE): a prospective, randomised, open-label, non-inferiority trial[J]. Lancet, 2016, 388(101):2743-2752.

[9] 周玉杰,刘巍. 2018 年欧洲心脏协会和欧洲心胸外科协会血运重建指南解读[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2018, 26(9):497-500.

[10] LAMONTE M J, FITZGERALD S J, CHURCH T S, et al. Coronary artery Calcium score and coronary heart disease events in a large cohort of asymptomatic men and women[J]. Am J Epidemiol, 2005, 162(5):421-429.

[11] 卢惠玲,王汐,刘白鹭,等. 冠状动脉钙化积分和亚临床动脉硬化关系[J]. 中国全科医学, 2005, 8(17):1454-1456.

[12] 黄恒青,杜茂云,黄茂华,等. 冠状动脉 CTA 成像技术在冠心病临床诊断中的应用进展[J]. 现代诊断与治疗, 2012, 23(9):1409-1411.

[13] 王卫平,陈魁,桑海强,等. 药物支架植入与搭桥术对冠脉三支病变患者的远期疗效及费用对比[J]. 医药论坛杂志, 2014, 35(2):100-101.

[14] 嵇红艳. 冠状动脉旋磨术在冠状动脉钙化病变介入治疗中的应用[D]. 长春:吉林大学, 2013.

[15] 梁思文,陈晖,赵慧强,等. Kiwami 导管在冠状动脉重度钙化病变 PCI 中的应用经验[J]. 心脏杂志, 2018, 30(2):166-169.

(收稿日期:2019-01-25 修回日期:2019-05-12)