

反向梅毒筛查血清学检测结果分析

戴淑琴 王军业 郑妍 吴兴平 苏鸿凯 徐新华 赵擎宇

【摘要】 目的 分析以螺旋体抗原血清学试验为初筛的反向梅毒检测方法不一致结果(血清梅毒螺旋体抗体阳性而非梅毒螺旋体抗体阴性)的特点,并据此选择可靠的反向梅毒筛查流程。方法 回顾性分析反向梅毒筛查方法的实验室数据,以 ELISA 作为梅毒螺旋体抗体初筛试验,初筛阳性标本均进行梅毒螺旋体抗体确认(梅毒螺旋体明胶粒子凝集试验,TPPA)和定量非梅毒螺旋体抗体检测(甲苯胺红不加热试验,TRUST),采用 χ^2 检验统计分析实验室数据。结果 21 049 份筛选标本中 ELISA 初筛阳性 666 份(3.16%)。其中 TRUST 阳性 169 份,经 TPPA 确认 168 份阳性,1 份阴性,ELISA 检测假阳性率为 0.6%(1/169)。在 666 份初筛阳性标本中,TRUST 阴性 497 份,不一致血清结果(ELISA 结果阳性,TRUST 结果阴性)的比率为 74.6%(497/666),497 份标本经 TPPA 确认,有 74 份为阴性,ELISA 检测假阳性率为 14.9%(74/497)。经 χ^2 检验,TPPA 阳性组内 TRUST 阴性和阳性结果构成比的差异有统计学意义($\chi^2=110.025, P=0.000$),即 TRUST 阴性率(71.6%,423/591)显著高于 TRUST 阳性率。结论 选择 ELISA 作为梅毒螺旋体抗体初筛方法,应对初筛阳性标本先做 TPPA 确认,再对确认阳性标本进行定量非螺旋体抗体检测,可避免假阳性结果。

【关键词】 梅毒;反向筛查方法;不一致结果

The discordant results in serum through reverse syphilis screening algorithm DAI Shu-qin, WANG Jun-ye, ZHENG Xin, WU Xing-ping, SU Hong-kai, XU Xin-hua, ZHAO Qing-yu. State Key Laboratory of Oncology in South China, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China Corresponding author: ZHAO Qing-yu, Email: zhaoyq@sysucc.org.cn

【Abstract】 **Objective** The emerging reverse sequence on syphilis screening program generates special discordant results, characterized with the appearance of both positive treponemal test and negative nontreponemal test at the same time. The aim of this study was to analyze the characteristics of the discordant results among low syphilis prevalence population in China, to provide evidence for improving the process of reverse sequence syphilis screening program. **Methods** Laboratory data was retrospectively analyzed, under reverse sequence screening algorithm selecting ELISA as the initial screening test for syphilis. All the screening reactive samples were tested by TPPA for confirmation and by quantitative TRUST for the reactivity of syphilis. **Results** 666 out of a total of 21 049 serum samples were reactive under the screening program. Among the 666 reactive samples, 169 were reactive to TRUST. One in the 169 samples was confirmed negative on TPPA, and the false positive rate on ELISA was 0.6% (1/169). In those 666 reactive samples, 497 were nonreactive to TRUST. 74 in the 497 samples were confirmed negative to TPPA, with false positive rate of ELISA as 14.9% (74/497). In the group of 591 TPPA confirmed positive samples, the TRUST negative rate was found 71.6% (423/591), significantly higher than the TRUST positive rate (*chi-square test*, $\chi^2=110.025, P=0.000$). **Conclusion** Among the results from reverse sequence syphilis screening program, majority of the samples which showed positive treponemal antibody, would have negative nontreponemal antibody. We therefore recommended a more reasonable reverse sequence syphilis algorithm to be used. False positivity could be eliminated if TPPA was performed on all screening reactive samples by ELISA a first and then followed by quantitative TRUST on samples that were TPPA confirmed as positive.

【Key words】 Syphilis; Reverse sequence screening; Discordant results

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.10.015

作者单位:510060 广州,中山大学肿瘤防治中心 华南肿瘤学重点实验室

通信作者:赵擎宇, Email: zhaoyq@sysucc.org.cn

梅毒发病率近年来在我国增长较快,如 1995 年为 0.54/10 万,至 2010 年已跃升至 26.86/10 万^[1]。并在传染性疾病的排名仅次于肝炎和结核,在性传播疾病中位列第一^[2],已成为医院侵入性检查和手术前必检项目。目前血清学检测仍是梅毒的主要诊断方法^[3,4]。传统的梅毒筛查方式是先采用非螺旋体抗原血清试验如快速血浆反应素试验(RPR)或甲苯胺红不加热试验(TRUST)等作为筛选,筛选出的阳性标本再利用螺旋体抗原血清试验如梅毒螺旋体粒子凝集试验(TPPA)或梅毒螺旋体红细胞凝集试验(TPHA)等确认^[3],2 种试验结果均阳性即为活动性梅毒。目前多数实验室选择易于高通量自动化操作的酶免疫分析(EIA)或化学发光分析(CLIA)作为初筛^[5],阳性标本再以 RPR 或 TRUST 确认,该试验顺序可减少人力成本,缩短报告时间。由于 EIA 或 CLIA 属于螺旋体抗原血清试验,以其为初筛试验的梅毒筛查方法被称为反向筛查方法(reverse sequence screening)。

但采用梅毒传统筛查方法无法检测螺旋体抗体阳性而非螺旋体抗体阴性者,即不一致结果(discordant results)。这类血清学结果的重要性目前尚不明确,对其解释及病例的分期尚较为困难^[5],并在疾病上报中存在混乱现象。美国疾病预防控制中心(CDC)早在 2008 年就对这类结果做过调查^[6],而我国至今尚无此方面的资料。本文回顾性分析以 EIA 作为初筛试验的梅毒反向筛查方法,研究其血清学结果的特点,并对反向梅毒筛查的流程提出合理建议。

材料与方 法

1. 初筛试验:采用两步法双抗原夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清梅毒特异性抗体。血清标本来自 2011 年 11 月 14 日至 2013 年 4 月 7 日中山大学附属肿瘤医院门诊和住院病例。初筛试剂盒购自北京现代高达生物技术有限公司,采用 Freedom Evolyzer 150/8 加样器(瑞士 TECAN 公司)自动加样, Microlab FAME24/20 全自动酶免分析仪(瑞士 HAMILTON 公司)做后续酶免过程处理,并且弱阳性室内质控(抗 TP, 12 mIU/ml,北京康彻斯坦生物制品有限公司)当批血清标本。记录病例的性别、年龄及初筛梅毒抗体阳性标本的结果(阴性或阳性)、标本信号值与临界值的比率(S/CO 值)、当批次弱阳性室内质控的 S/CO 值。

2. 确认试验:以 TPPA 作为初筛阳性标本的确

认试验,试剂盒购自日本富士瑞必欧株式会社。

3. TRUST:初筛阳性标本均做 TRUST,用以检测梅毒的活动性。试剂盒购自上海荣盛生物药业有限公司。每份血清标本做 3 次倍比稀释,以避免前带效应。

4. 统计学分析:组内 TRUST 阳性率与阴性率的差异采用同组内构成比的 χ^2 检验。由于 S/CO 值是非正态分布,其集中水平采用中位数(M),其变异水平采用四分位数间距。使用 SPSS 19.0 分析软件。

结 果

此期间本研究共筛查 21 049 份血清标本,筛出螺旋体抗体阳性标本 666 份(图 1),ELISA 初筛阳性率为 3.16%(666/21 049)。666 份阳性标本中,441 份来自男性,平均年龄 58 岁;225 份来自女性,平均年龄 50 岁。

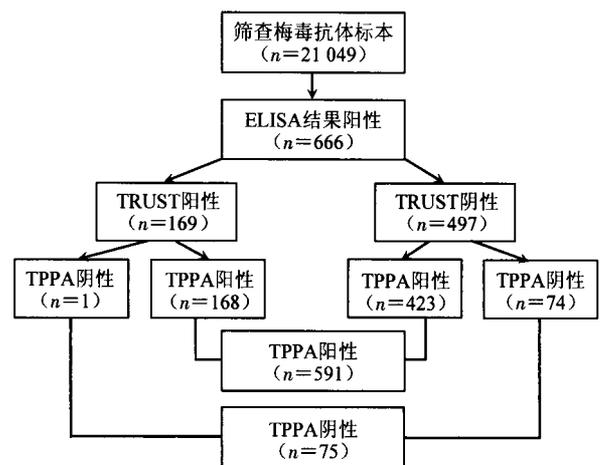


图 1 反向梅毒筛查试验结果

666 份初筛阳性标本中,TRUST 阳性 169 份,再经 TPPA 检测,有 168 份阳性,1 份阴性,ELISA 假阳性率为 0.6%(1/169);TRUST 阴性的 497 份,不一致血清结果(ELISA 阳性,TRUST 阴性)的比率为 74.6%(497/666),后经 TPPA 确认,74 份为阴性,ELISA 假阳性率为 14.9%(74/497)。TPPA 确认阴性 75 份标本 ELISA 的 S/CO 值为 1.01 ~ 33.30 ($M=2.77$),四分位数间距为 4.13。但 6 份(8%)标本的 S/CO 值 > 10.0,分别为 10.88、13.95、17.16、17.51、22.67 和 33.30。

591 份 TPPA 抗体确认阳性标本的 TRUST 结果见表 1。经组内构成比的 χ^2 检验($\chi^2=110.025, P=0.000$),发现 TRUST 阴性率(71.6%,423/591)显著高于 TRUST 阳性率。

表 1 591 份 TPPA 确认梅毒抗体阳性标本的 TRUST 试验结果

项目	TRUST 阴性	TRUST(1:)阳性					合计
		原血清	2	4	8	>8	
标本份数	423	90	32	21	8	17	591
构成比(%)	71.6	15.2	5.4	3.6	1.4	2.9	100.0

讨 论

传统梅毒筛查方法(以 RPR 或 TRUST 作为筛选试验)主要缺陷为①非螺旋体抗原血清试验所用抗原为心磷脂,具有非特异,可在某些人群(自身免疫疾病患者和孕妇)中出现假阳性结果;②在梅毒一期硬下疳早期、梅毒晚期潜伏期及神经梅毒患者,非梅毒螺旋体抗原血清试验多为阴性,易漏诊;③前带现象引起假阴性结果使部分二期梅毒患者漏诊^[3,7,8]。故多数学者认为,非螺旋体抗原血清试验不适合作为梅毒筛选^[9-12]。而螺旋体抗原血清试验可在一期梅毒较早就出现阳性^[3,13],并在潜伏期、晚期及神经梅毒患者皆为阳性,且极少出现前带现象。1982 年 WHO 推荐螺旋体抗原血清试验作为梅毒筛选^[14];2000 年英国梅毒检测指南推荐 EIA 作为筛选试验^[15,16],不再支持非螺旋体抗原血清试验作为筛选试验,而仅推荐螺旋体抗原血清试验作为筛选试验^[17];我国也已将 EIA 或 CLIA 作为梅毒初筛方法。

2008 年美国 CDC 调查的 4 个实验室^[6],在 EIA 初筛阳性后对所有初筛阳性标本做 RPR,但螺旋体抗体确认试验皆不相同,说明反向梅毒筛查方式需要一个初筛阳性试验后的流程指南。虽然美国 CDC 推荐传统的梅毒筛查方法,并对反向筛查方式的试验流程提出了建议,即对初筛阳性标本先做定量非螺旋体抗体试验,如呈阳性,即可判断为梅毒阳性;对非螺旋体抗体阴性的不一致血清结果应做 TPPA 确认。本研究对 ELISA 初筛阳性标本均进行 TRUST 检测,ELISA 阳性而 TRUST 阴性的不一致血清结果比率达到 74.6%,这部分标本需要做 TPPA 确认,经确认后发现 ELISA 结果的假阳性率为 14.9%,说明筛查人群中,采用反向梅毒筛查方法多数需经 TPPA 确认。本研究中,ELISA 和 TRUST 双阳性的标本仅有 25.4%,按照美国 CDC 推荐的准则,ELISA 和 TRUST 双阳性标本,不需再做 TPPA,即可判断为梅毒阳性,但有 1 例标本虽然 ELISA 和 TRUST 皆阳性,但 TPPA 结果阴性,占双阳性标本的 0.6%(1/169)。2011 年美国 CDC 报告的 EIA 和 RPR 皆阳性标本中有 2.5%(2/80)经 TPPA 确认螺旋体抗体阴性^[18],说明在反向梅毒筛查方式中双阳性判断

准则存在一定的假阳性风险。考虑到 ELISA 和 TRUST 双阳性的标本仅为 25.4%,笔者认为对所有 ELISA 初筛阳性标本先做 TPPA 确认,再对确认阳性标本做定量 TRUST,可以彻底避免假阳性风险,这种梅毒筛查流程也是欧洲梅毒诊疗指南(2008 版)推荐的,但其缺点是增加了 TPPA 检测费用。

虽然 ELISA 和 TPPA 同属于螺旋体抗原血清试验,但本研究中有 14.9%的 ELISA 结果经 TPPA 确认为假阳性。究其原因,笔者认为,选择反向筛查方式的目地在于高通量自动化,所以初筛方法应为 EIA/CLIA,而非采用手工操作的 TPPA。EIA/CLIA 与 TPPA 的本质差异在于其抗原。TPPA 采用的抗原是经过超声破碎的苍白螺旋体菌体(Nichols 株)的精制抗原,故 TPPA 的特异性较强,目前被认为是梅毒螺旋体抗体试验的金标准^[19]。EIA/CLIA 采用的是基因重组蛋白抗原,是螺旋体抗体假阳性反应的主要来源,如本研究中 75 个 ELISA 阳性而 TPPA 阴性的标本,其 ELISA 的 S/CO 值分布从弱反应性 1.01 一直到强反应性 33.30,有 8%的标本 S/CO 值 > 10.0,证明酶免实验易于出现假阳性。酶免方法检测螺旋体抗体的临床敏感性为 1 μg/ml IgG,而 TPPA 为 31 μg/ml IgG^[20],故酶免试验结果需经 TPPA 确认。

本研究血清样本来自临床肿瘤患者,其梅毒螺旋体抗体 ELISA 初筛阳性率为 3.16%,不一致血清结果占初筛阳性标本的 74.6%,高于美国普通筛查人群的不一致血清学结果(60.6%)^[18]。由于感染梅毒后即使经过足量抗感染治疗,螺旋体抗体仍为阳性,见于既往治疗过的梅毒或正在感染的梅毒,而非螺旋体抗体阴性并不能排除感染早期、持续时间较长的晚期潜伏期梅毒,所以临床医生应该慎重对待这种不一致的血清结果。采用反向梅毒筛查方法的实验室,在初筛阳性标本中这种不一致血清学的结果占大多数。可以参照 2010 年美国 CDC 的梅毒治疗指南管理有不一致血清结果的人群,即如果有梅毒治疗史但无疑似再次暴露的性活动史,可以按照既往梅毒对待;如果性生活史或身体检查能排除近期感染,以前没有治疗史,则按照晚期潜伏期梅毒接受治疗^[21]。

本研究发现在反向梅毒筛查方式下,螺旋体抗体阳性人群中大多数呈阴性的非螺旋体抗体结果,并根据这种特点,推荐欧洲梅毒诊疗指南(2008 版)的反向梅毒筛查方法,先采用 ELISA 作为初筛方法,然后对所有初筛阳性标本做 TPPA 确认,再对确认螺旋体抗体阳性的标本做定量非螺旋体抗体试验,

此流程可避免假阳性结果。

参 考 文 献

- [1] Anonymous. Ministry of Health of People's Republic of China. Chinese Health Statistical Digest, 1996–2010. <http://www.moh.gov.cn/publicfiles/business/htmlfiles/zwgkzt/ptjty>.
- [2] Anonymous. Chinese Center for Disease Control and Prevention. <http://www.chinacdc.cn>.
- [3] Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev*, 1995, 8(1):1–21.
- [4] Singh AE, Romanowski B. Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiological and some biologic features. *Clin Microbiol Rev*, 1999, 12(2):187–209.
- [5] Ji FY, Qian KC, Cui YX, et al. The syphilis infection investigation of 16 932 hospitalized patients at Haian county in Jiangsu province. *Chin J Epidemiol*, 2005, 26(10):766. (in Chinese)
吉飞跃, 钱开成, 崔益祥, 等. 江苏省海安县16 932例住院患者梅毒感染情况调查. *中华流行病学杂志*, 2005, 26(10):766.
- [6] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Syphilis testing algorithms using treponemal tests for initial screening—four laboratories, New York City, 2005–2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2008, 57(32):872–875.
- [7] Peter CR, Thompson MA, Wilson DL. False-positive reactions in the rapid plasma reagin-card, fluorescent treponemal antibody-adsorbed, and hemagglutination treponemal syphilis serology tests. *J Clin Microbiol*, 1979, 9(3):369–372.
- [8] Calonge N. Screening for syphilis infection: recommendation statement. *Ann Fam Med*, 2004, 2(4):362–365.
- [9] Young H. Standard serologic testing for syphilis in individual patients: the European View. IUSTI/WHO Conference on STI. Europe Syphilis Guideline Expert Workshop, Mykonos, Greece, 2004.
- [10] 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.
- [11] Geusau A, Kittler H, Hein U, et al. Biological false-positive tests comprise a high proportion of venereal disease research laboratory reactions in an analysis of 300 000 sera. *Int J STD AIDS*, 2005, 16(11):722–726.
- [12] Creegan L, Bauer HM, Samuel MC, et al. An evaluation of the relative sensitivities of the venereal disease research laboratory test and the Treponema pallidum particle agglutination test among patients diagnosed with primary syphilis. *Sex Transm Dis*, 2007, 34(12):1016–1018.
- [13] Young H, Moyes A, Seagar L, et al. Novel recombinant-antigen enzyme immunoassay for serological diagnosis of syphilis. *J Clin Microbiol*, 1998, 36(4):913–917.
- [14] World Health Organization. Treponemal infections. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1982. http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_674.pdf.
- [15] Young H. Guidelines for serological testing for syphilis. *Sex Transm Infect*, 2000, 76(5):403–405.
- [16] Egglestone SI, Turner AJ. Serological diagnosis of syphilis. PHLS Syphilis Serology Working Group. *Commun Dis Public Health*, 2000, 3(3):158–162.
- [17] French P, Gomberg M, Janier M, et al. IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis. *Int J STD AIDS*, 2009, 20(5):300–309.
- [18] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Discordant results from reverse sequence syphilis screening—five laboratories, United States, 2006–2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2011, 60(5):133–137.
- [19] Cole MJ, Perry KR, Parry JV. Comparative evaluation of 15 serological assays for the detection of syphilis infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2007, 26(10):705–713.
- [20] Phonex Corporation. New Syphilis Screening Algorithm. <http://www.phoenixbiotech.com/Syphilis-Mainpage.php> (Accessed December 2012).
- [21] <http://www.cdc.gov/std/treatment/2010>.

(收稿日期:2013-06-04)

(本文编辑:张林东)

读者·作者·编者

关于中华医学会系列杂志投稿网址的声明

为维护广大读者和作者的权益以及中华医学会系列杂志的声誉,防止非法网站假冒我方网站诱导作者投稿,并通过骗取相关费用非法获利,现将中华医学系列杂志稿件管理系统网址公布如下,请广大作者加以甄别。

1. “稿件远程管理系统”网址:中华医学会网站(<http://www.cma.org.cn>)首页的“业务中心”栏目、中华医学会杂志社网站(<http://www.medline.org.cn>)首页的“稿件远程管理系统”以及各中华医学会系列杂志官方网站接受投稿。作者可随时查阅到稿件处理情况。

2. 编辑部信息获取:登录中华医学会杂志社网站(<http://www.medline.org.cn>)首页,在《中华医学会系列杂志一览表》中可查阅系列杂志名称、编辑部地址、联系电话等信息。

3. 费用支付:中华医学会系列杂志视杂志具体情况,按照有关规定,酌情收取稿件处理费和版面费。稿件处理费作者在投稿时支付;版面费为该稿件通过专家审稿并决定刊用后才收取。

欢迎投稿,并与编辑部联系。特此声明。