

ICS 11.020
C 59
备案号:20491—2007

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS 273—2007



2007-04-17 发布

2007-10-15 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

根据《中华人民共和国传染病防治法》制定本标准。

按照国家质量监督检验检疫总局国家标准化管理委员会公告(2005年第146号)GB 15974—1995《梅毒诊断标准及处理原则》自本标准实施之日起废止。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C 为规范性附录。

本标准由卫生部传染病标准专业委员会提出。

本标准起草单位:中国医学科学院皮肤病研究所。

本标准主要起草人:王千秋、陈志强、蒋娟、苏晓红、龚匡隆、龚向东。

梅毒诊断标准

1 范围

本标准规定了梅毒的诊断依据、诊断原则、诊断和鉴别诊断。

本标准适用于全国各级各类医疗、疾病预防控制机构及其工作人员对梅毒的诊断和报告。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

梅毒 syphilis

梅毒是苍白螺旋体(*Treponema pallidum*) (又名梅毒螺旋体)感染人体所引起的一种系统性、慢性经典的性传播疾病,可引起人体多系统多脏器的损害,产生多种多样的临床表现,导致组织破坏、功能失常,甚至危及生命。

2.2

前带现象 prozone phenomenon

非梅毒螺旋体抗原试验(如 RPR 试验)中,有时由于血清抗体水平过高,抗原抗体比例不合适,而出现弱阳性、不典型或阴性的结果,但临床上又有典型的二期梅毒体征,将此血清稀释后再做血清学试验,出现了阳性的结果,称为“前带现象”。

3 缩略语

下列缩略语适用于本标准。

VDRL venereal disease research laboratory 性病研究实验室(玻片试验)

USR unheated serum reagin 血清不需加热的反应素(玻片试验)

TRUST toluidine red unheated serum test 甲苯胺红血清不需加热试验

RPR rapid plasma reagin 快速血浆反应素(环状卡片试验)

FTA-ABS fluorescent treponemal antibody-absorption 荧光螺旋体抗体吸收(试验)

TPHA *Treponema pallidum* hemagglutination assay 梅毒螺旋体血凝试验

TPPA *Treponema pallidum* particle agglutination assay 梅毒螺旋体颗粒凝集试验

ELISA enzyme-linked immuno-sorbent assay 酶联免疫吸附试验

4 诊断依据

4.1 一期梅毒

4.1.1 流行病学史

有多性伴,不安全性行为;或性伴有梅毒感染史。

4.1.2 临床表现

4.1.2.1 硬下疳:潜伏期一般为2周~4周。一般为单发,但也可多发;直径约1 cm~2 cm,圆形或椭圆形浅在性溃疡,界限清楚、边缘略隆起,疮面清洁;触诊基底坚实、浸润明显,呈软骨样的硬度;无明显疼痛或触痛。多见于外生殖器部位。

4.1.2.2 腹股沟或患部近卫淋巴结肿大:可为单侧或双侧,无痛,相互孤立而不粘连,质硬,不化脓破溃,其表面皮肤无红、肿、热。

4.1.3 实验室检查

4.1.3.1 暗视野显微镜检查:皮肤黏膜损害或淋巴结穿刺液可查见梅毒螺旋体(见附录 A)。

4.1.3.2 非梅毒螺旋体抗原血清学试验:阳性。如感染不足 2 周~3 周,该试验可为阴性,应于感染 4 周后复查(见附录 B)。

4.1.3.3 梅毒螺旋体抗原血清学试验:阳性(见附录 B)。

4.2 二期梅毒

4.2.1 流行病学史

有多性伴,不安全性行为;或性伴有梅毒感染史;或有输血史。

4.2.2 临床表现

可有一期梅毒史,病期在 2 年以内。

4.2.2.1 皮损呈多形性,包括斑疹、斑丘疹、丘疹、鳞屑性皮损、毛囊疹及脓疱疹等,常泛发对称。掌跖部易见暗红斑及脱屑性斑丘疹。外阴及肛周皮损多为湿丘疹及扁平湿疣。皮损一般无自觉症状,可有瘙痒。口腔可发生黏膜斑。可发生虫蚀样脱发。二期复发梅毒,皮损局限,数目较少,皮损形态奇异,常呈环状或弓形。

4.2.2.2 全身浅表淋巴结肿大。

4.2.2.3 可出现梅毒性骨关节损害、眼损害、内脏及神经系统损害等。

4.2.3 实验室检查

4.2.3.1 暗视野显微镜检查:二期皮损尤其扁平湿疣、湿丘疹及黏膜斑,易查见梅毒螺旋体(见附录 A)。

4.2.3.2 非梅毒螺旋体抗原血清学试验:阳性(见附录 B)。

4.2.3.3 梅毒螺旋体抗原血清学试验:阳性(见附录 B)。

4.3 三期梅毒(晚期梅毒)

4.3.1 流行病学史

有多性伴,不安全性行为;或性伴有梅毒感染史。

4.3.2 临床表现

可有一期或二期梅毒史。病期 2 年以上。

4.3.2.1 晚期良性梅毒:

皮肤黏膜损害:头面部及四肢伸侧的结节性梅毒疹,大关节附近的近关节结节,皮肤、口腔、舌咽的树胶肿,上腭及鼻中隔黏膜树胶肿可导致上腭及鼻中隔穿孔和鞍鼻。

骨梅毒、眼梅毒、其他内脏梅毒,可累及呼吸道、消化道、肝脾、泌尿生殖系、内分泌腺及骨骼肌等。

4.3.2.2 神经梅毒:可发生梅毒性脑膜炎、脑血管栓塞、麻痹性痴呆、脊髓痨等。

4.3.2.3 心血管梅毒:可发生单纯性主动脉炎、主动脉瓣闭锁不全、主动脉瘤等。

4.3.3 实验室检查

4.3.3.1 非梅毒螺旋体抗原血清学试验:阳性(见附录 B)。

4.3.3.2 梅毒螺旋体抗原血清学试验:阳性(见附录 B)。

4.3.3.3 脑脊液检查:白细胞计数 $\geq 10 \times 10^6/L$,蛋白量 $> 500 \text{ mg/L}$ 且无其他引起这些异常的原因。脑脊液 VDRL 试验或 FTA-ABS 试验阳性(见附录 B)。

4.3.3.4 组织病理检查:有三期梅毒的组织病理变化(见附录 C)。

4.4 隐性梅毒(潜伏梅毒)

4.4.1 流行病学史

有多性伴,不安全性行为;或性伴有梅毒感染史。

4.4.2 临床表现

无任何梅毒性的症状和体征,可分为早期隐性梅毒和晚期隐性梅毒。

4.4.2.1 早期隐性梅毒:病期在2年内,根据下列标准来判断:①在过去2年内,有明确记载的非梅毒螺旋体抗原试验由阴转阳,或其滴度较原先升高达4倍或更高。②在过去2年内,有符合一期或二期梅毒的临床表现。③在过去2年内,有与疑似或确诊的一期或二期梅毒,或疑似早期隐性梅毒的性伴发生性接触史。

4.4.2.2 晚期隐性梅毒:病期在2年以上。无证据表明在既往2年中获得感染。无法判断病期者亦视为晚期隐性梅毒处理。

4.4.3 实验室检查

4.4.3.1 非梅毒螺旋体抗原血清学试验:对于无既往梅毒史者,非梅毒螺旋体抗原试验阳性(滴度一般在1:8以上)。对于有既往梅毒治疗史者,与前次非梅毒螺旋体抗原试验结果相比,本次试验结果阳转或其滴度升高4倍或更高(见附录B)。

4.4.3.2 梅毒螺旋体抗原血清学试验:阳性(见附录B)。

4.4.3.3 脑脊液检查:无异常发现。

4.5 胎传梅毒(先天梅毒)

4.5.1 流行病学史

生母为梅毒患者或感染者。

4.5.2 临床表现

4.5.2.1 早期胎传梅毒:一般在2岁以内发病,类似于获得性二期梅毒,发育不良,皮损常为水疱-大疱、红斑、丘疹、扁平湿疣;梅毒性鼻炎及喉炎;骨髓炎、骨软骨炎及骨膜炎;可有全身淋巴结肿大、肝脾肿大、贫血等。

4.5.2.2 晚期胎传梅毒:一般在2岁以后发病,类似于获得性三期梅毒。出现炎症性损害(间质性角膜炎、神经性耳聋、鼻或腭树胶肿、克勒顿关节、胫骨骨膜炎等)或标记性损害(前额圆凸、马鞍鼻、佩刀胫、胸锁关节骨质肥厚、赫秦生齿、口腔周围皮肤放射状裂纹等)。

4.5.2.3 胎传隐性梅毒:即胎传梅毒未经治疗,无临床症状,梅毒血清学试验阳性,脑脊液检查正常,年龄小于2岁者为早期胎传隐性梅毒,大于2岁者为晚期胎传隐性梅毒。

4.5.3 实验室检查

4.5.3.1 暗视野显微镜检查:在早期胎传梅毒儿的皮肤黏膜损害或胎盘中可查到梅毒螺旋体(见附录A)。

4.5.3.2 非梅毒螺旋体抗原血清学试验:阳性(见附录B),其抗体滴度高于母亲4倍及以上。但低于该值并不排除胎传梅毒。应取婴儿血进行检测,而不是脐带血。

4.5.3.3 梅毒螺旋体抗原血清学试验:阳性(见附录B)。应取婴儿血进行检测,而不是脐带血。

5 诊断原则

应根据流行病学史、临床表现及实验室检查等进行综合分析,作出诊断。

6 诊断

6.1 一期梅毒

6.1.1 疑似病例:应同时符合4.1.1,4.1.2和4.1.3.2项。

6.1.2 确诊病例:应同时符合疑似病例的要求和4.1.3.1、4.1.3.3中的任一项。

6.2 二期梅毒

6.2.1 疑似病例:应同时符合4.2.1,4.2.2和4.2.3.2项。

6.2.2 确诊病例:应同时符合疑似病例的要求和4.2.3.1、4.2.3.3中的任一项。

6.3 三期梅毒(晚期梅毒)

6.3.1 疑似病例:应同时符合4.3.1,4.3.2中的任一项和4.3.3.1项。

6.3.2 确诊病例:应同时符合疑似病例的要求和4.3.3.2、4.3.3.3、4.3.3.4中的任一项。

6.4 隐性梅毒(潜伏梅毒)

6.4.1 疑似病例:应同时符合 4.4.1,4.4.2 和 4.4.3.1 项。

6.4.2 确诊病例:应同时符合疑似病例的要求和 4.4.3.2、4.4.3.3 项。

6.5 胎传梅毒(先天梅毒)

6.5.1 疑似病例:应同时符合 4.5.1,4.5.2 和 4.5.3.2 项。

6.5.2 确诊病例:应同时符合疑似病例的要求和 4.5.3.1、4.5.3.3 中的任一项。

7 鉴别诊断

7.1 一期梅毒

7.1.1 硬下疳:需与软下疳、生殖器疱疹、性病性淋巴肉芽肿、糜烂性龟头炎、白塞病、固定型药疹、癌肿、皮肤结核等发生在外阴部的红斑、糜烂和溃疡鉴别。

7.1.2 梅毒性腹股沟淋巴结肿大:需与软下疳、性病性淋巴肉芽肿引起的腹股沟淋巴结肿大,以及转移癌肿鉴别。

7.2 二期梅毒

7.2.1 梅毒性斑疹:需与玫瑰糠疹、银屑病、扁平苔藓、手足癣、白癜风、花斑癣、药疹、多形红斑、离心性环状红斑等鉴别。

7.2.2 梅毒性丘疹和扁平湿疣:需与银屑病、体癣、扁平苔藓、毛发红糠疹、尖锐湿疣等鉴别。

7.2.3 梅毒性脓疱疹:需与各种脓疱病、脓疱疮、脓疱、雅司病、聚合性痤疮等鉴别。

7.2.4 黏膜梅毒疹:需与传染性单核细胞增多症、地图舌、鹅口疮、扁平苔藓、化脓性扁桃体炎等鉴别。

7.2.5 梅毒性脱发:需与斑秃鉴别。

7.3 三期梅毒

7.3.1 结节性梅毒疹:需与寻常狼疮、结节病、瘤型麻风等鉴别。

7.3.2 树胶肿:需与寻常狼疮、瘤型麻风、硬红斑、结节性红斑、小腿溃疡、脂膜炎、癌肿等鉴别。

7.3.3 神经梅毒:梅毒性脑膜炎需与结核性脑膜炎、隐球菌性脑膜炎、钩端螺旋体病引起的脑膜炎等相鉴别。脑膜血管梅毒需与各种原因引起的脑卒中相鉴别。麻痹性痴呆需与脑肿瘤、动脉硬化、阿尔茨海默病(老年性痴呆)、慢性酒精中毒和癫痫发作等相鉴别。脊髓痨需与埃迪(Adie)综合征、糖尿病性假脊髓痨等鉴别。

7.3.4 心血管梅毒:梅毒性主动脉瘤需与动脉硬化症相鉴别。梅毒性冠状动脉病需与冠状动脉粥样硬化相鉴别。梅毒性主动脉瓣闭锁不全需与感染性心内膜炎、先天性瓣膜畸形等引起的主动脉瓣闭锁不全相鉴别。

附 录 A
(规范性附录)
梅毒螺旋体暗视野检查

A.1 原理

暗视野映光检查是采用一个特殊的聚光器,分为干系和湿系两种,其中央均为黑漆所遮蔽,仅在圆周边留有光线斜角处,光线只可从其圆周边缘斜角射到载玻片上。梅毒螺旋体检查一般采用湿系聚光器。倘若斜射光线遇到载玻片上的物体,如螺旋体等,物体会发光显现。

A.2 材料

暗视野显微镜、钝刀(刮勺)、载玻片、注射器、注射针头、无菌等渗盐水。

A.3 取材

A.3.1 皮肤黏膜损害取材:首先在载玻片(厚度为 1.0 mm~1.2 mm)上滴加 50 μ L~100 μ L 盐水备用。然后用棉拭子取无菌盐水轻轻擦去皮损上的污物。如皮损上有痂皮,可用钝刀小心除去。再用钝刀轻轻地刮数次(避免出血),取组织渗液与载玻片上的盐水混匀,加盖玻片置暗视野显微镜下检查。

A.3.2 淋巴结取材:消毒淋巴结表面皮肤,用无菌干棉球擦干。用 1 mL 无菌注射器配 12 号针头,吸取无菌等渗盐水 0.25 mL~0.5 mL,以无菌操作穿刺淋巴结并注入盐水,再吸入注射器内,反复 2~3 次后,取少量淋巴液于载玻片上,加盖玻片,置暗视野显微镜下检查。

A.4 方法

A.4.1 在暗视野聚光器(此法用湿系暗视野聚光器)上加一滴甘油缓冲液(甘油和 0.1 mol/L PBS, pH 7.0按 7:3 配制)。

A.4.2 载玻片置载物台上,上升聚光器使甘油缓冲液接触载玻片,先用 10 倍物镜,使物像清晰,再用 40 倍物镜观察,寻找有特征形态和运动方式的梅毒螺旋体。

A.5 结果及解释

A.5.1 暗视野显微镜下,典型的梅毒螺旋体呈白色发光,其螺旋较密而均匀。运动规律,运动性较强,其运动方式包括:①旋转式,围绕其长轴旋转;②蛇行式,全身弯曲如蛇行;③伸缩其螺旋间距离而移动。观察其运动形式有助于与其他螺旋体相鉴别。

A.5.2 未检出螺旋体不能排除梅毒的诊断,阴性结果可能说明:①螺旋体数量不足(单次暗视野显微镜检查阳性率小于 50%);②患者已接受抗生素或杀灭梅毒螺旋体的药物治疗;③损害接近自然消退;④损害不是梅毒。

附 录 B
(规范性附录)
梅毒血清学检查

当人体感染梅毒螺旋体后 4 周~10 周左右,血清中可产生一定数量的抗类脂质抗原的非特异性反应素(主要是 IgM、IgG)和抗梅毒螺旋体抗原的特异性抗体(主要是 IgM、IgG)。这些抗体均可用免疫学方法进行检测。血清学检查是辅助诊断梅毒的重要手段。

根据检测所用抗原不同,梅毒血清学试验分为两大类:一类为非梅毒螺旋体抗原血清试验,包括 VDRL 玻片试验、USR 玻片试验、RPR 试验、TRUST 试验,这些试验主要应用于梅毒的筛查和疗效观察。另一类为梅毒螺旋体抗原血清试验,包括 TPHA 试验、TPPA 试验、FTA-ABS 试验、ELISA 试验等。这些试验主要用于确证试验,不用于疗效观察。

B.1 非梅毒螺旋体抗原血清试验

B.1.1 原理

梅毒螺旋体一旦感染人体,人体迅速对被损害的宿主细胞以及梅毒螺旋体细胞表面所释放的类脂物质作出免疫应答,在 3 周~4 周产生抗类脂抗原的抗体(反应素)。这些抗体主要是 IgG 和 IgM 型混合抗体。非梅毒螺旋体抗原试验是使用心磷脂、卵磷脂及胆固醇作为抗原的絮状凝集试验。反应素与心磷脂形成抗原抗体反应,卵磷脂可加强心磷脂的抗原性,胆固醇可增强抗原的敏感性。心磷脂、卵磷脂遇水形成胶体溶液,胆固醇遇水形成结晶。当抗原与抗体(反应素)混合发生反应时,后者即粘附胶体微粒的周围,形成疏水性薄膜。由于摇动、碰撞,使颗粒与颗粒互相粘附而形成肉眼可见的颗粒凝集和沉淀,即为阳性反应。如遇到非梅毒血清,因体液中的白蛋白多于球蛋白,而白蛋白对胶体颗粒有保护作用,形成亲水性薄膜,即使同样摇动、碰撞,由于抗原颗粒周围没有粘附免疫球蛋白的作用,不能形成较大颗粒,无肉眼可见的凝集和沉淀,因此为阴性反应。VDRL、USR、RPR 和 TRUST 等试验均为此类试验,它们所采用的抗原成分相同,敏感性和特异性基本相似。

B.1.2 VDRL 玻片试验

B.1.2.1 材料

- a) VDRL 试剂盒:含 VDRL 抗原(0.5 mL);VDRL 缓冲液,pH 6.0±0.1,其配方为中性福尔马林 0.5 mL,Na₂HPO₄ 0.037 g,KH₂PO₄ 0.17 g,NaCl 10.0 g,蒸馏水 1 000 mL;标准针头(60 滴/mL±1 滴/mL),直径 14 mm 漆圈玻片;VDRL 试验结果图片。
- b) 其他:0.85%NaCl 溶液(等渗盐水);可调水平旋转器。

B.1.2.2 VDRL 抗原配制方法

- a) 吸取 0.3 mL VDRL 缓冲液置 30 mL 小瓶。
- b) 吸取 0.3 mL VDRL 抗原迅速滴入小瓶内 VDRL 缓冲液中(约 4 s),随后摇动 10 s,使之混匀。
- c) 立即加 2.4 mL VDRL 缓冲液,盖上瓶盖,来回颠倒摇动小瓶 10 s 约 30 次,即为 VDRL 抗原,此抗原只能用 1 d。

B.1.2.3 定性试验

- a) 血清标本需 56 °C 灭活 30 min 备用。
- b) 吸取 0.05 mL 血清放入玻片圈内,将血清涂开至整个圈内。
- c) 用标准针头加入 1 滴抗原。
- d) 将玻片置旋转器上摇动 4 min,180 次/min±5 次/min,立即置 10×显微镜下观察。

B.1.2.4 定量试验

经 VDRL 定性试验为阳性、弱阳性,可疑反应或阴性但临床怀疑为梅毒者,需做定量试验,前者需

明确抗体滴度,后者为排除“前带现象”。

- a) 在反应板 1~8 孔各加等渗盐水 0.05 mL。
- b) 吸取 0.05 mL 血清标本(血清已灭活)置第 1 孔与等渗盐水混匀,吸取 0.05 mL 稀释液至第 2 孔混匀,再吸取 0.05 mL 至第 3 孔,如此连续稀释至第 8 孔,弃 0.05 mL 稀释液。稀释度为原倍、1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128,必要时可稀释至更高倍数。
- c) 每个稀释度加入抗原 1 滴。
- d) 旋转速度和时间同定性试验。

B. 1.2.5 结果

大或中等大小的絮状物,液体清亮:3+~4+ 强阳性反应;

絮状物较小,液体较清亮:2+ 阳性反应;

絮状物较小,均匀分布,液体混浊:1+ 弱阳性反应;

抗原颗粒稍粗,无凝集:± 可疑;

抗原颗粒均匀,针状细小:— 阴性反应。

B. 1.3 RPR 环状卡片试验

B. 1.3.1 原理

RPR 试验是 VDRL 试验的一种改良方法。该法是在抗原中加入活性炭颗粒作为指示物,加入了氯化胆碱,因此血清不需灭活。特制的白色纸卡替代了玻片。试验结果易于判断,肉眼即可观察。也可用血浆进行检测,试验结果可保存。抗原放 4℃ 冰箱可保存 1 年。

B. 1.3.2 材料

- a) RPR 试剂盒:含 RPR 抗原;直径为 18 mm 圆圈的特制白色反应卡片;标准针头(60 滴/mL ± 1 滴/mL);RPR 试验结果图片。
- b) 其他:可调水平旋转器。

B. 1.3.3 定性试验

- a) 吸取 0.05 mL 血清或血浆加于卡片圈内,并均匀地涂布在整个圈内(每张纸卡有 10 个或 12 个反应圈);
- b) 将抗原轻轻摇匀,用标准针头吸取抗原,每个标本加 1 滴抗原;
- c) 将卡片置水平旋转器旋转 8 min,100 r/min ± 5 r/min;
- d) 立即在明亮光线下观察结果。

B. 1.3.4 定量试验

RPR 定量试验的指证与 VDRL 试验相同。

- a) 在圈内加入 0.05 mL 等渗盐水(一般作 6~8 个稀释度),勿将盐水涂开;
- b) 吸取 0.05 mL 血清或血浆做系列稀释(1:2~1:64),当稀释到最后的第 6 孔时,弃去 0.05 mL 稀释液。从第 6 孔起将血清稀释液涂布整个圈内,再涂布第 5 孔,依此向前到第 1 孔。必要时可稀释至更高倍数;
- c) 滴加抗原,旋转时间、速度和观察结果同定性试验。

B. 1.3.5 结果

中到大的黑色絮状物,液体清亮:3+~4+ 强阳性;

小到中的黑色絮状物,液体较清亮:2+ 阳性;

小的黑色絮状物,液体混浊:1+ 弱阳性;

仅见活性炭颗粒集于中央一点或均匀分散:— 阴性。

B. 1.4 TRUST 试验

B. 1.4.1 原理

TRUST 试验原理与 RPR 试验原理相同。唯 TRUST 试验的抗原中加入甲苯胺红颗粒代替活性

炭颗粒指示物,使阳性结果出现红色絮状现象,阴性结果见红色颗粒集于中央或均匀分散。

B. 1. 4. 2 方法

TRUST 试验方法及结果判断均与 RPR 试验相同。

B. 1. 5 注意事项

B. 1. 5. 1 实验环境温度应为 23 ℃~29 ℃,抗原应保存于 4 ℃冰箱,试验前应恢复到室温。抗原应防止冻结,以免抗原被破坏。

B. 1. 5. 2 校准针头,VDRL、RPR 和 TRUST 等抗原为 60 滴/mL±1 滴/mL。

B. 1. 5. 3 血液标本应防止污染,放置室温应在 24 h 内完成。如血清 56 ℃灭活或放 4 ℃保存,在试验前应恢复试验温度后再开始试验。

B. 1. 5. 4 试验完毕,应立即观察结果。

B. 1. 6 临床意义

B. 1. 6. 1 非梅毒螺旋体抗原血清试验方法简便、快速,敏感性和特异性较好。对一期梅毒的敏感性为 74%~87%,二期梅毒达 100%,三期梅毒 34%~94%。特异性 96%~99%。

B. 1. 6. 2 非梅毒螺旋体抗原血清试验适用于各期梅毒的诊断。早期梅毒经治疗后血清滴度可下降或转阴,故可用于疗效观察、判愈、判定复发或再感染,也适用于人群的筛查、产前检查及健康体检等。

B. 1. 6. 3 VDRL 试验适用于神经梅毒的脑脊液检查,特异性高,但敏感性低。

B. 1. 6. 4 非梅毒螺旋体抗原血清试验可在某些传染病及胶原病时出现假阳性反应,因此对阳性反应应结合临床进行鉴别,或做梅毒螺旋体抗原血清试验以进一步证实之。

B. 2 梅毒螺旋体抗原血清试验

采用梅毒螺旋体作抗原,为特异性抗原,检测血清中抗梅毒螺旋体 IgG 或 IgM 抗体,其敏感性和特异性均较高。

B. 2. 1 梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验

B. 2. 1. 1 原理

TPPA 试验用梅毒螺旋体致敏明胶颗粒,此致敏颗粒与人血清中的抗梅毒螺旋体抗体结合,产生可见的凝集反应。明胶颗粒为玫瑰红色,便于肉眼观察结果。

B. 2. 1. 2 材料

a) TPPA 试剂盒:含蒸馏水(标记 A),用于溶解致敏颗粒、未致敏颗粒和质控血清;标本稀释液(标记 B),用于稀释血清标本;致敏颗粒(标记 C),冷冻干燥品,用前 30 min 按规定量加 A 液溶解并混匀;未致敏颗粒(标记 D),冷冻干燥品,用前 30 min 按规定量加 A 液溶解并混匀;质控血清(标记 E),冷冻干燥品,用时按规定量加入 A 液。

b) 其他:U 型微量反应板;微量加样器(25 μL);微量滴管(C 和 D 管);移液管(微量移液管和刻度滴管);微量板振荡器。

B. 2. 1. 3 定性试验

试验前试剂应恢复到 15 ℃~30 ℃。

a) B 液加至微量反应板孔内,第 1 孔 25 μL,第 2 孔 100 μL,第 3、4 孔各 25 μL。

b) 取血清 25 μL 加至第 1 孔,混匀后取 25 μL 至第 2 孔,混匀后取 25 μL 至第 3 孔,混匀后取 25 μL 至第 4 孔,混匀后弃去 25 μL。

c) 第 3 孔加 D 液(未致敏颗粒)25 μL,第 4 孔加 C 液(致敏颗粒)25 μL。

d) 将反应板置振荡器振荡 30 s。

e) 置有盖湿盒,15 ℃~25 ℃避光孵育 4 h 后,或放 4 ℃冰箱过夜后观察结果。

B. 2. 1. 4 定量试验

a) 加 B 液至微量反应板孔,第 1 孔~第 4 孔与定性试验相同,第 5 孔~第 10 孔各加 25 μL;

- b) 取血清 25 μL 加至第 1 孔,如定性试验稀释方法,从第 2 孔~第 10 孔混匀,混匀后第 10 孔弃去 25 μL ;
- c) 第 3 孔加 D 液 25 μL ,第 4 孔~第 10 孔各加 C 液 25 μL ;
- d) 以后步骤同定性试验。结果以最高血清稀释度能产生阳性反应的稀释度为抗体滴度。

B.2.1.5 结果

- 颗粒光滑覆盖整个孔底,有时边缘有折叠:阳性 4+;
- 颗粒光滑覆盖大部分孔底:阳性 3+;
- 颗粒光滑集聚覆盖孔底,周围有一颗粒环:阳性 2+;
- 颗粒光滑集聚覆盖孔底,周围有一明显颗粒环:阳性 1+;
- 颗粒沉集孔底,中央形成一小点:可疑 ±;
- 颗粒紧密沉积孔底中央:阴性 -。

B.2.1.6 报告方法

- a) 阳性报告:定性试验,血清在 1:80 以上稀释度与致敏颗粒发生凝集反应(1+或更强),与未致敏颗粒(第 3 孔)不发生凝集反应。定量试验则应报告发生阳性反应的血清最高稀释度,为血清滴度。
- b) 阴性报告:血清与致敏颗粒和未致敏颗粒均不发生凝集反应。

B.2.1.7 注意事项

- a) 微量反应板要清洁干净,孔内无异物。
- b) 加入血清后,使用微量板振荡器振荡反应板,而不可使用水平旋转仪。
- c) 试剂盒不可置于 0 $^{\circ}\text{C}$ 以下,防止冻结。不同批号试剂不可混合使用。
- d) 有些血清标本在血清低稀释度时可出现前带现象,此时可作定量试验。
- e) 如未致敏颗粒出现凝集反应,应将血清进行吸收处理后再进行试验,或改用其他试验方法。

B.2.1.8 血清吸收处理

- a) 取 0.95 mL 已恢复体积的未致敏颗粒加入清洁的小试管内。
- b) 试管内加入 50 μL 血清标本并充分混匀,置 15 min~25 $^{\circ}\text{C}$:20 min 或更长时间。
- c) 离心 2 000 r/min,5 min,取 25 μL 上清液(血清标本稀释 1:20)置第 3 孔,注意不要混入颗粒。
- d) 自第 4 孔~第 10 孔各加 25 μL B 液。
- e) 自第 3 孔吸 25 μL 至第 4 孔,混匀后吸 25 μL 至第 5 孔……如此稀释至第 10 孔,弃去 25 μL 。
- f) 按定量试验法加入 D 液和 C 液,将反应板置微量板振荡器上振荡 30 s,置湿盒内,15 $^{\circ}\text{C}$ ~25 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h 观察结果。

B.2.2 荧光螺旋体抗体吸收试验(FTA-ABS)

B.2.2.1 原理

FTA-ABS 试验以完整形态的 Nichol 梅毒螺旋体作为抗原,加上经吸收剂(用 Reiter 株螺旋体制备而成)处理过的患者血清形成抗原抗体复合物,再加入荧光素(FITC)标记的抗人免疫球蛋白,与血清梅毒螺旋体抗体结合。在荧光显微镜下,螺旋体显示苹果绿色的荧光,即为阳性反应。

B.2.2.2 材料

- a) 梅毒螺旋体抗原玻片,有直径 0.5 cm 涂布梅毒螺旋体的圆圈,在高倍镜下每视野不少于 30 条螺旋体,丙酮固定。
- b) 吸收剂(5 mL 冷冻干燥品),由体外培养的 Reiter 株螺旋体制备而成。使用前用无菌蒸馏水恢复原体积。
- c) 荧光抗体,用荧光素标记羊或鼠抗人免疫球蛋白。
- d) 血清稀释板。

B.2.2.3 方法

- a) 将血清标本于 56 °C 灭活 30 min, 备用。
- b) 吸收剂加入 5 mL 无菌蒸馏水, 用作血清的稀释。
- c) 血清标本和吸收剂按 1 : 5~1 : 20 稀释, 混匀后置有盖湿盒内于 35 °C~37 °C 孵育 30 min。
- d) 将系列稀释的血清分别加到抗原片上(每孔不少于 30 μL), 放入有盖湿盒内, 置 35 °C~37 °C 孵育 30 min。
- e) 用 0.01 mol/L 的 PBS 冲洗抗原片, 用磁力搅拌器低速以 0.01 mol/L PBS 溶液洗涤抗原片, 每 5 min 更换 PBS 液 1 次, 共 3 次。最后一次用蒸馏水冲洗一遍, 冷风吹干备用。
- f) 抗原片每个圈内加 30 μL 荧光抗体(荧光抗体稀释为工作液), 放湿盒 35 °C~37 °C 孵育 30 min。重复步骤 5 的洗涤和吹干。
- g) 抗原片加固封剂(甘油缓冲液)1 滴, 覆以盖玻片, 在荧光显微镜下观察。
- h) 试验对照: 每批次试验包括下列对照:
 - 4+ 阳性血清和 1+ 阳性血清对照, 血清用 PBS 液和吸收剂分别按 1 : 5~1 : 20 稀释。
 - 非特异血清对照。
 - 染色对照: 用 0.01 mol/L PBS 和吸收剂分别替代荧光抗体。

B.2.2.4 结果

- | | |
|-------------------------|-----|
| 梅毒螺旋体均匀地发出中等或高强度的苹果绿色荧光 | 阳性 |
| 梅毒螺旋体均匀地发出弱苹果绿色荧光 | 弱阳性 |
| 梅毒螺旋体呈微弱黄色光或观察不到荧光 | 阴性 |

B.2.3 梅毒螺旋体酶联免疫吸附试验(ELISA)

B.2.3.1 原理

该试验是用经纯化及超声裂解处理的梅毒螺旋体为抗原包被固相板条, 加上梅毒血清和辣根过氧化酶标记的抗人 IgG 抗体, 利用酶免疫法检测患者血清中的抗梅毒螺旋体特异性抗体。采用特异的梅毒螺旋体重组蛋白作为抗原, 使试验更加敏感、特异。

B.2.3.2 材料

- a) ELISA 试剂盒: 含包被梅毒螺旋体抗原的反应板(96 孔); 标本稀释液; 洗涤液, 使用前按说明书要求稀释; 酶结合物; 底物液(A 液和 B 液); 反应终止液; 阳性对照血清; 阴性对照血清。
- b) 其他: 酶标检测仪; 洗板机。

B.2.3.3 方法

- a) 取标本稀释液 100 μL 加到反应板孔内, 再加入待检血清 10 μL, 同时作阳性和阴性对照, 置 37 °C 孵育 30 min。
- b) 洗涤液洗板 5 次, 拍干。
- c) 每孔加酶结合物 100 μL, 置 37 °C 孵育 15 min。
- d) 洗涤液洗板 5 次, 拍干。
- e) 每孔加底物液 A 液、B 液各 1 滴(各 50 μL), 37 °C 避光孵育 15 min。
- f) 每孔加终止液 1 滴(50 μL) 终止反应。
- g) 置酶标检测仪 450 nm 波长测定光密度(OD 值)。

B.2.3.4 结果判定

临界值(cut off)=0.10+阴性对照平均 OD 值(阴性对照 OD 值<0.05 时按 0.05 计算)。标本 OD 值<临界值时, 结果为阴性。标本≥临界值, 结果为阳性(或按各诊断试剂要求判定结果)。

B.2.3.5 注意事项

- a) 试剂盒置 4 °C~8 °C 保存。
- b) 不同批号试剂不能混用。

- c) 严格按试剂盒说明书要求操作。
- d) 反应的温度和时间必须严格控制。

B. 2. 4 临床意义

B. 2. 4. 1 梅毒螺旋体抗原血清试验的敏感性和特异性均高,一期梅毒的敏感性为 70%~100%,二期梅毒达 100%,三期梅毒 95%~98%,特异性 94%~100%。

B. 2. 4. 2 梅毒螺旋体抗原血清试验多用作证实试验,特别是隐性梅毒及一些非螺旋体抗原血清试验阴性而又怀疑为梅毒的患者。但不能用于观察疗效、判断复发及再感染。

B. 2. 4. 3 梅毒螺旋体抗原血清试验偶可出现生物学假阳性反应。



附 录 C
(规范性附录)
梅毒的组织病理

梅毒的基本病理变化:①血管特别是小动脉内皮细胞肿胀与增生;②血管周围大量淋巴细胞和浆细胞浸润。二期梅毒晚期和三期梅毒常见上皮样细胞和多核巨细胞等组成的肉芽肿性浸润。

C.1 一期梅毒

硬下疳:

- a) 损害边缘表皮棘层肥厚,海绵形成,淋巴细胞和中性粒细胞外渗。
- b) 近中心表皮变薄,出现水肿及炎症细胞浸润。病损中央可出现表皮缺损。
- c) 真皮乳头水肿,真皮血管特别是小动脉内皮细胞肿胀、增生、闭塞,周围有多量浆细胞与淋巴细胞浸润,常混有中性粒细胞。
- d) 银染色在真皮血管周围和表皮中可见梅毒螺旋体。

C.2 二期梅毒

斑疹、丘疹和丘疹鳞屑性皮炎:

- a) 表皮增生,海绵形成,基底层空泡改变,淋巴细胞外渗,海绵状脓疱,角化不全。
- b) 真皮乳头水肿,真皮血管扩张,管壁增厚,内皮细胞肿胀,血管周围淋巴细胞、组织细胞和浆细胞浸润。浸润的炎症细胞围绕血管呈袖套状。
- c) 银染色约 1/3 的病例可见梅毒螺旋体。

扁平湿疣:

除上述表现外,有明显的表皮增生,表皮内微脓肿形成,含大量梅毒螺旋体。

C.3 三期梅毒

真皮由上皮样细胞、淋巴细胞及浆细胞等构成的肉芽肿性浸润,其中含血管较多,并常有多核巨细胞存在。

结节型:浸润限于真皮,肉芽肿较小,干酪样坏死不广泛,甚或缺如。

树胶肿型:浸润侵及真皮和皮下组织,有大量浆细胞、淋巴细胞、上皮样细胞和多核巨细胞,病损中央有大块凝固性坏死。病变处弹性纤维被破坏,炎症愈重破坏亦愈重。

C.4 内脏梅毒

病理变化为树胶肿性及弥漫性间质性炎症。

C.5 胎传梅毒

无一期梅毒硬下疳的局部病变,其余皮肤病变与获得性各期梅毒相同。其不同者为早期胎传梅毒可有水疱-大疱病变。

- a) 其水疱顶部为 1~2 层疏松幼稚表皮细胞。
- b) 疱液内含多少不等单核及多形核白细胞及脱落表皮细胞。
- c) 真皮呈弥漫性急性炎症浸润,浸润细胞为多形核白细胞及淋巴细胞,无浆细胞。
- d) 银染色可在疏松的组织间隙中及疱液内可发现大量梅毒螺旋体。