



广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒实验室检测技术及进展

朱邦勇

广西壮族自治区性病中心实验室
广西皮肤病防治研究所中心实验室
广西皮肤病医院检验科

2019-10-31





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

主要内容

概述

- 病原体特征
- 感染途径

检测方法

- 病原学检测
- 血清学检测

质评分析

- 自治区组织的梅毒实验室室间质量评价





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

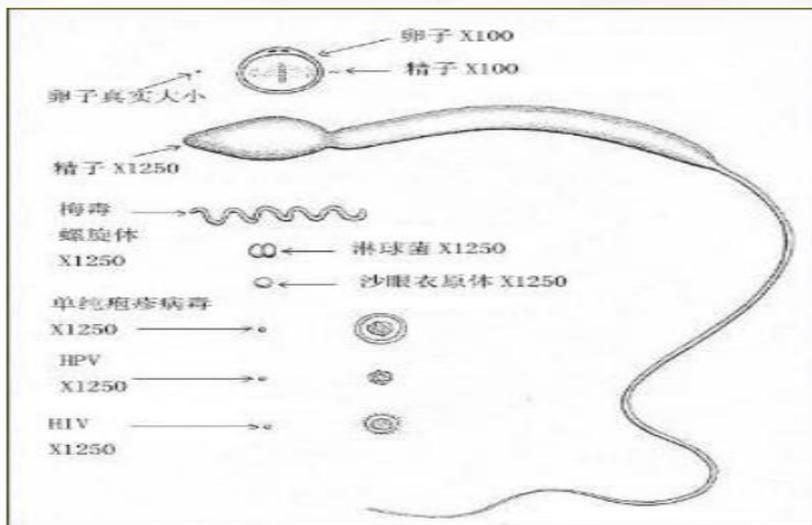
梅毒螺旋体

小而纤细的
螺旋状微生物

长5-20 μm ,
粗细 <
0.2 μm

6-12个规则
螺旋

运动缓慢而
有规律





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒螺旋体的特征

人是梅毒螺旋体的唯一自然宿主

不能在体外培养繁殖

最适温度37度，离开人体很快死完

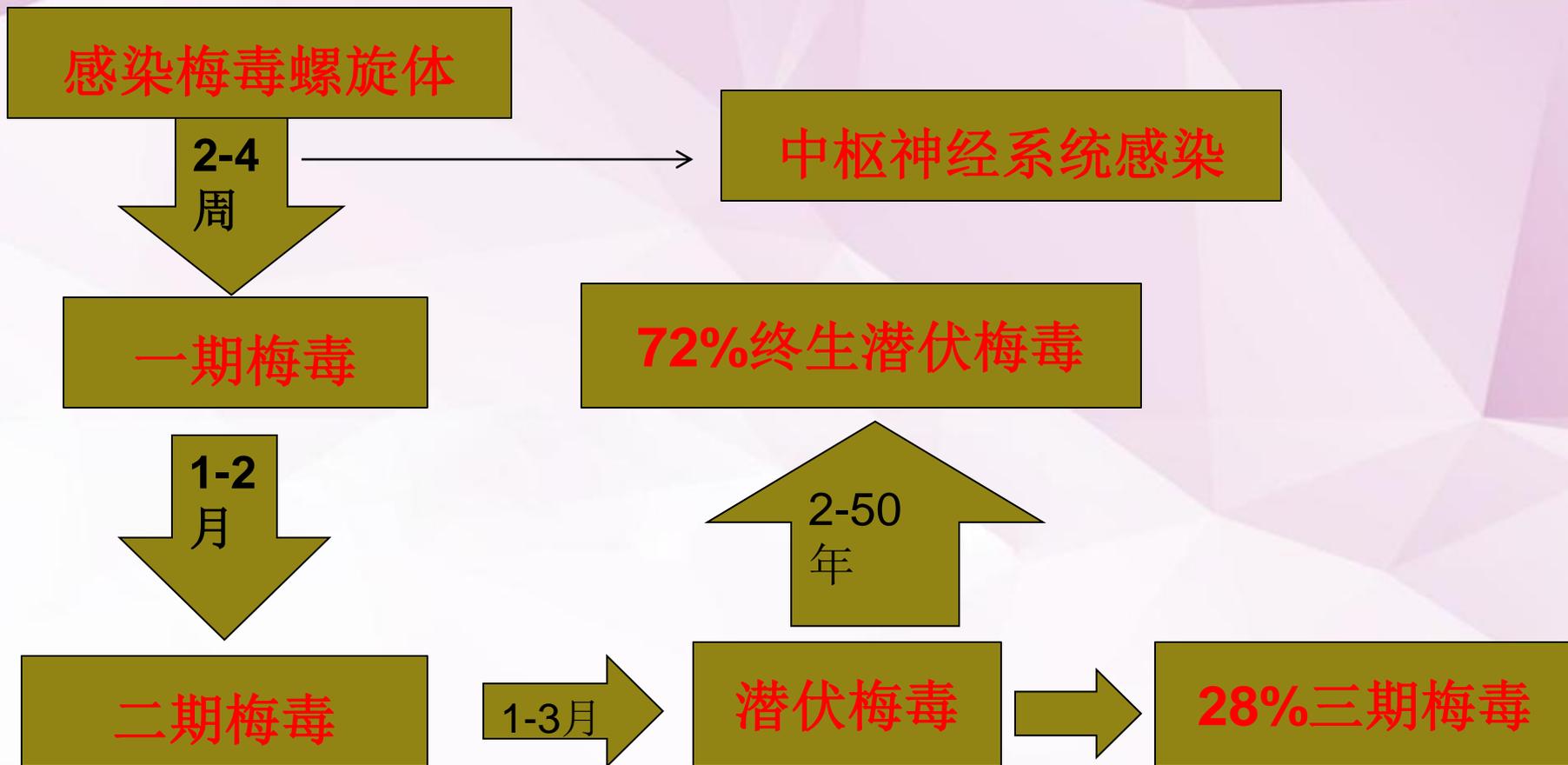
煮沸、干燥、肥皂水及一般消毒剂很容易杀灭





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

未经治疗的梅毒患者的自然病程





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

传播途径

性接触感染

- 这是最主要的途径。传播效率30%，在感染梅毒后**第1年内**，患者具有很强的传染性；随着病期的延长，传染性越来越小；感染后**4年**，通过性接触基本无传染性。

母婴传染

- 梅毒螺旋体可以通过胎盘感染胎儿。

其他

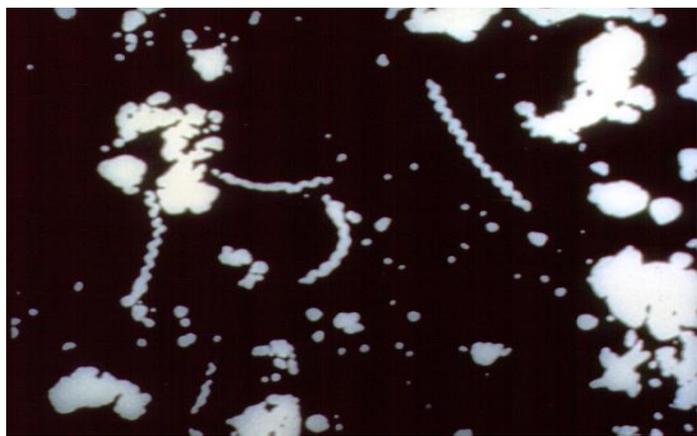
- 梅毒可通过输血
- 其他间接方式传播



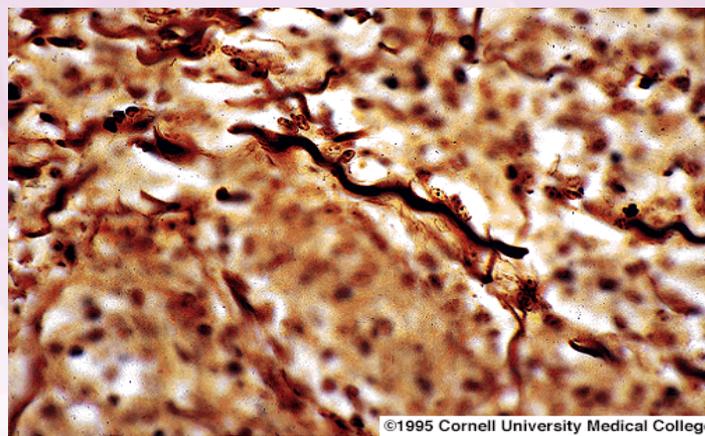


广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒的实验室检测-病原学检测

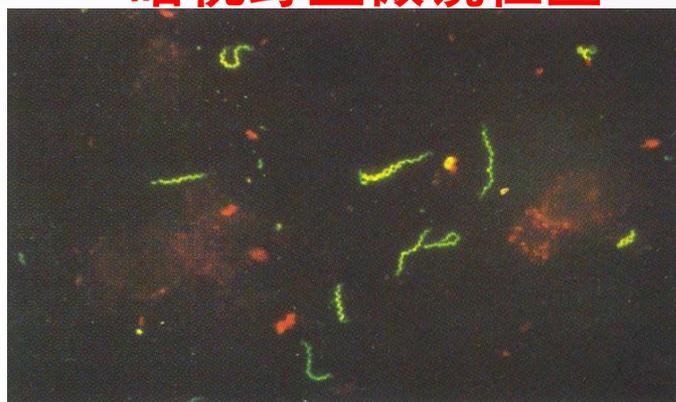


暗视野显微镜检查

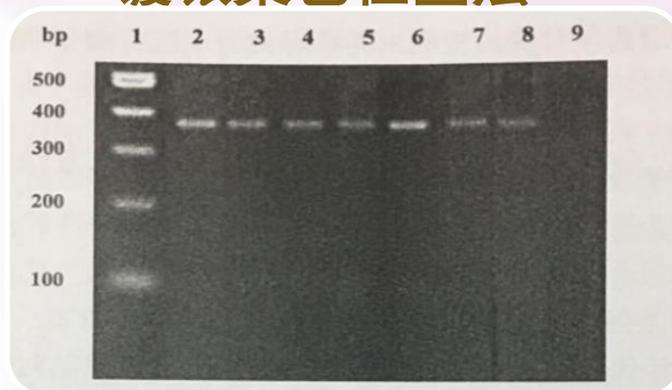


©1995 Cornell University Medical College

镀银染色检查法



免疫荧光试验DFA



核酸扩增技术





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

病原学检查

原理

- **一期、二期梅毒**时，取硬下疳、扁平湿疣、黏膜斑等皮损部位组织液或淋巴结穿刺术的组织液。

临床意义

- 诊断早期现症梅毒的最佳方法
- 早期诊断、及时治疗、预后和尽早切断传染源

注意事项

- 如未见到梅毒螺旋体，并不能排除患梅毒的可能性。





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒血清学检测

分类	梅毒非特异性抗体检测	梅毒特异性抗体检测
原理	梅毒螺旋体一旦感染人体，宿主3-4周产生抗类脂质抗原的抗体（反应素）	梅毒螺旋体感染人体，宿主在2-3周产生抗螺旋体的特异性抗体
抗原	抗原为心磷脂、卵磷脂和胆固醇等类脂质抗原	抗原为梅毒螺旋体特异蛋白，包括重组抗原
目标	检测患者血中的反应素（ 损伤指标 ）	检测患者血中的特异性抗梅毒螺旋体抗原的抗体（ 感染指标 ）
特点	未经治疗的病人，其血清内的反应素可长期存在。经正规治疗后，反应素可逐渐减少至转阴	一旦梅毒螺旋体抗体试验呈阳性，则常终生阳性



广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒血清学检测

梅毒非特异性抗体

VDRL

TRUST

RPR

梅毒特异性抗体

TPPA

TPHA

ELISA

CLIA

RT

FTA-ABS

WB

TRFIA





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒非特异性抗体试验操作要点-定性试验

加样：吸取0.05mL血清(浆)放在卡片圈中，并均匀地涂布
在整个圈内

加抗原：将抗原轻轻摇匀，用9号针头加1滴抗原

反应：水平旋转仪旋转8分钟(23 °C -29 °C) ，亮光 下观察结果



60滴/mL，1滴=17ul





梅毒非特异性抗体血清学试验操作要点

3、定量试验

- * 稀释液准备：在反应纸板圈内加入50uL生理盐水（根据需要确定圈数），勿将盐水涂开
- * 加样：吸取50uL血清（浆）与各圈中盐水作系列稀释，并涂布整个圈内。

	反应圆圈					
	1	2	3	4	5	...
生理盐水（ μL ）	50	50	50	50	50	...
待测样本（ μL ）	50	-	-	-	-	...
混合和转移（ μL ）	└ 50 └ 50 └ 50 └ 50 └ 50					
滴 度	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	...





梅毒非特异性抗体血清学试验操作要点

水平旋转仪，转速、转幅



100r/min, 约18mm

- 要求：
- 1、转速恒定；
 - 2、数控计时一体化设计；
 - 3、带盖、防止挥发、生物安全；
 - 4、加湿、保证试验条件；
 - 5、夹槽固定、分批进行；
 - 6、定期进行转速核查；
 - 7、不应使用旋钮式调节装置的旋转仪；
 - 8、不应使用震荡仪代替水平旋转仪反应；





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院



微量振荡器 ×





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

旋扭式调节装置 ×

转速

定时





广西壮族自治区皮肤病防治研究所 广西壮族自治区皮肤病医院

保湿盖



电子钟控
数字显示

加湿盒



水平旋转仪/水平摇床





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

H5000型数显混匀器



H6000型数显混匀器



H6000s型数显混匀器





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒非特异性抗体试验-质量控制

- 1、环境温湿度：**18℃-29℃**
- 2、移液器：**强检和定期校准，固定量程**
- 3、旋转仪：**转速周期性核查、厂商校准**
- 4、专用滴针：**工作结束后，蒸馏水冲洗**
- 5、反应圈：**整体平坦、完整均匀涂布**
- 6、人员：**经过培训有经验、双人核对结果**
- 7、操作：**反复操作、定期考核和比对**





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒非特异性抗体试验-质量控制

内部 对照

- 用于检测试剂盒有效性，不可混用，不可冻存；
- 不可作为监测检测质量稳定性的质控品；

外部 对照

- 已知阳性的血清制品；用于监测质量稳定性、重复性和可比性
- 有适当的敏感度、明确的预期值
- 仅含特异性抗体的质控品不能作为非特异性抗体检测的质控品





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒非特异性抗体血清试验临床意义

辅助诊断（类纸质抗体未经治疗可长期存在）

- 是“现症感染”的指标
- VDRL是唯一诊断神经梅毒的标准发放
- 低滴度值不可用于排除假阳性反应

疗效监测（有效治疗后抗体逐渐减少至转阴）

- 抗体下降 ≥ 2 个滴度，判断治疗有效
- 抗体下降 ≥ 2 个滴度，且连续两个监测周期定性试验呈阴性，判断治愈
- 抗体下降或上升 < 2 个滴度，继续随访监测
- 抗体上升 ≥ 2 个滴度，或阴性转阳性，可判断复发、或再感染、或治疗失败





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒非特异性抗体试验-特殊情况

假阳性反应

- 生物学假阳性：患者自身原因（免疫性、传染性等因素）
- 技术性假阳性：实验室因素（试剂、操作等因素）

前带现象

- 血清中存在高浓度的反应素，导致抗原抗体浓度不匹配，出现阴性或者不确定的结果，将血清稀释后再进行试验，出现阳性结果的现象，主要出现在（一二期梅毒）

血清固定

- 指经过抗梅毒治疗后，非特异性抗体试验在一定时期内不阴转。常与治疗不规范或不足量或神经梅毒等因素有关

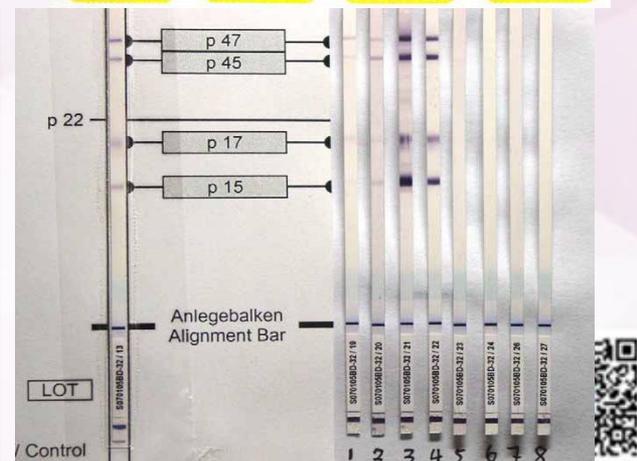
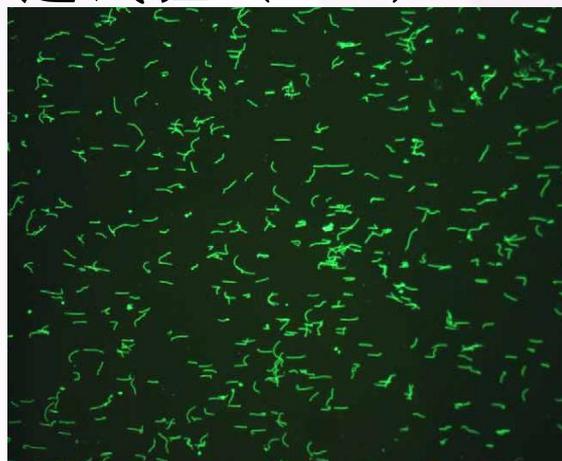
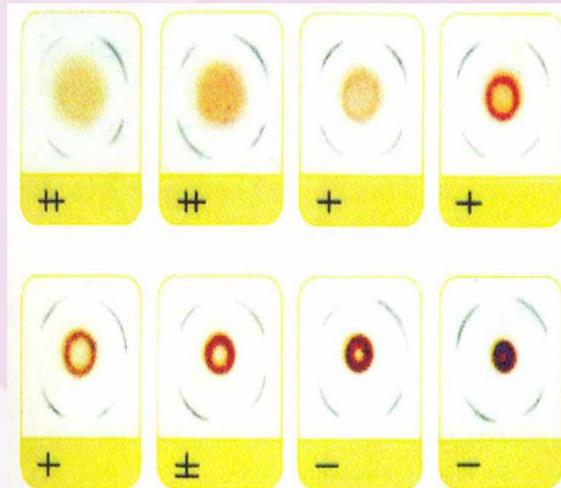




广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒螺旋体抗原血清学试验方法

- * 梅毒螺旋体血球凝集试验 (TPHA)
- * 梅毒免疫层析法-梅毒快速检测 (RT)
- * 荧光螺旋体抗体吸收试验 (FTA-ABS)
- * 梅毒螺旋体蛋白印迹试验 (WB)





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

特异性梅毒血清学试验

● 梅毒螺旋体明胶凝集试验 (TPPA)

原理：用超声裂解的梅毒螺旋体为抗原，致敏经人工合成的惰性明胶颗粒，此致敏明胶颗粒与人血清或血浆中的梅毒螺旋体抗体结合，产生肉眼可观察的凝集反应

- 优点：
- 1、试剂稳定
 - 2、操作简单、结果判读清晰明确
 - 3、敏感性和特异性高
 - 4、可单人份操作





广西壮族自治区皮肤病防治研究所 广西壮族自治区皮肤病医院

TPPA试剂盒



【主要组成成分】

本试剂盒是由下述试剂和附带器具组成。

试剂组成 包装规格 (注)	溶解液 (液状)	血清稀释液 (液状)	致敏粒子 (冷冻干燥)	未致敏粒子 (冷冻干燥)	阳性对照血清 (液状)
20个测试×5	8ml/瓶×1	29ml/瓶×1	0.6ml/瓶×5	0.6ml/瓶×5	0.5ml/瓶×1
55个测试×4	18ml/瓶×1	60ml/瓶×1	1.5ml/瓶×4	1.5ml/瓶×4	0.5ml/瓶×1

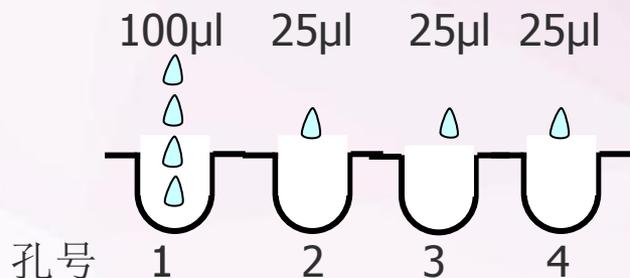
13. 试剂盒内的冷冻干燥品原则上仅限于调制当天使用，但如果保存在2~10℃下，7日之内都很稳定。但为了慎重起见，在检查之前请进行对照试验。另外，在保存调制后的致敏粒子，未致敏粒子时，要特别注意不要混入异物，所以请用封膜等加以密封。



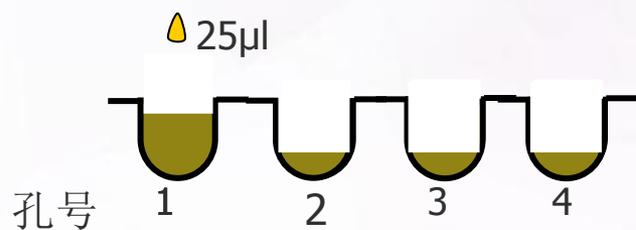


TPPA的操作步骤

1、加入样品稀释液

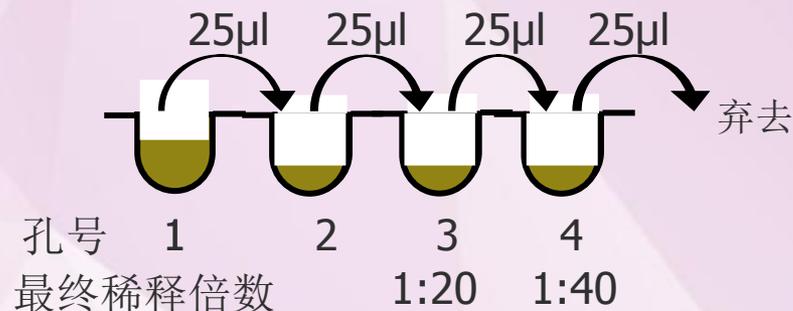


2、加入测试样品

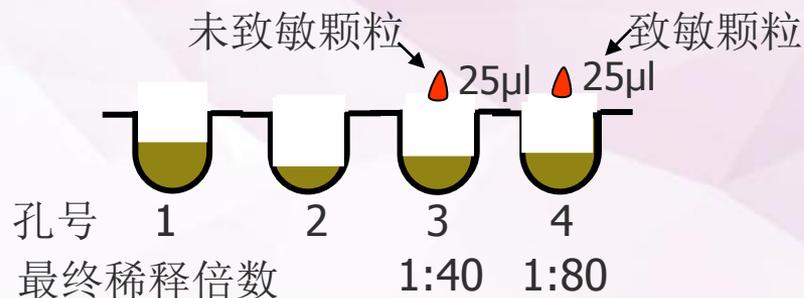


注：实验过程可用多孔道加样器操作

3、样品的倍比稀释



4、加入明胶颗粒



5、混匀，加盖，孵育2个小时

6、结果判读

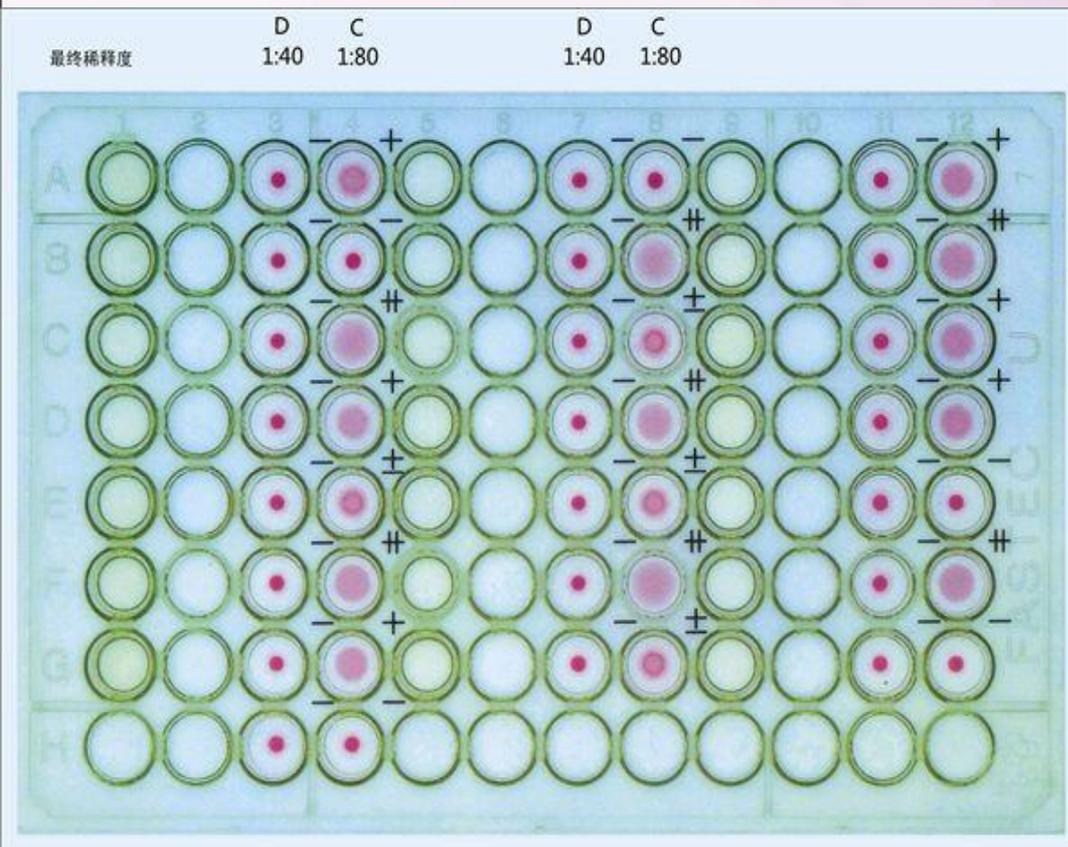




广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒特异性抗体血清学试验方法

* 梅毒螺旋体颗粒凝集试验 (TPPA)





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

TPPA重吸收试验

**如标本与非致敏和致敏颗粒均产生凝集者，
标本需作重吸收试验：**

- 1、加0.95ml非致敏颗粒溶液于小试管内
- 2、加入0.05ml血清充分混匀，置室温吸收30min以上
- 3、2000r/min离心5min，吸取上清液0.05ml加入第3孔
- 4、第4孔加血清稀释液25 μ l
- 5、孔3吸取25 μ l至孔4，混匀后弃去25 μ l
- 6、分别加致敏与未致敏颗粒（方法同常规）





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

TPPA

- TPPA试验用梅毒螺旋体致敏明胶颗粒人血清中的抗梅毒螺旋体抗体结合，产生可见的凝集反应，具有较高的敏感性和特异性。
- TPPA是目前WHO公认的梅毒抗原血清学试验的“**金标准**”，常用于新方法、新试剂的**参照标准**。





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒特异性抗体临床意义

感染性指标

排除非特异性抗体检测假阳性

终生阳性，不能作为疗效观察的指标

不能区分现症或既往感染





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒非特异性抗体血清试验结果解释示意图

*

治疗前

治疗后



阳性 

阴性 



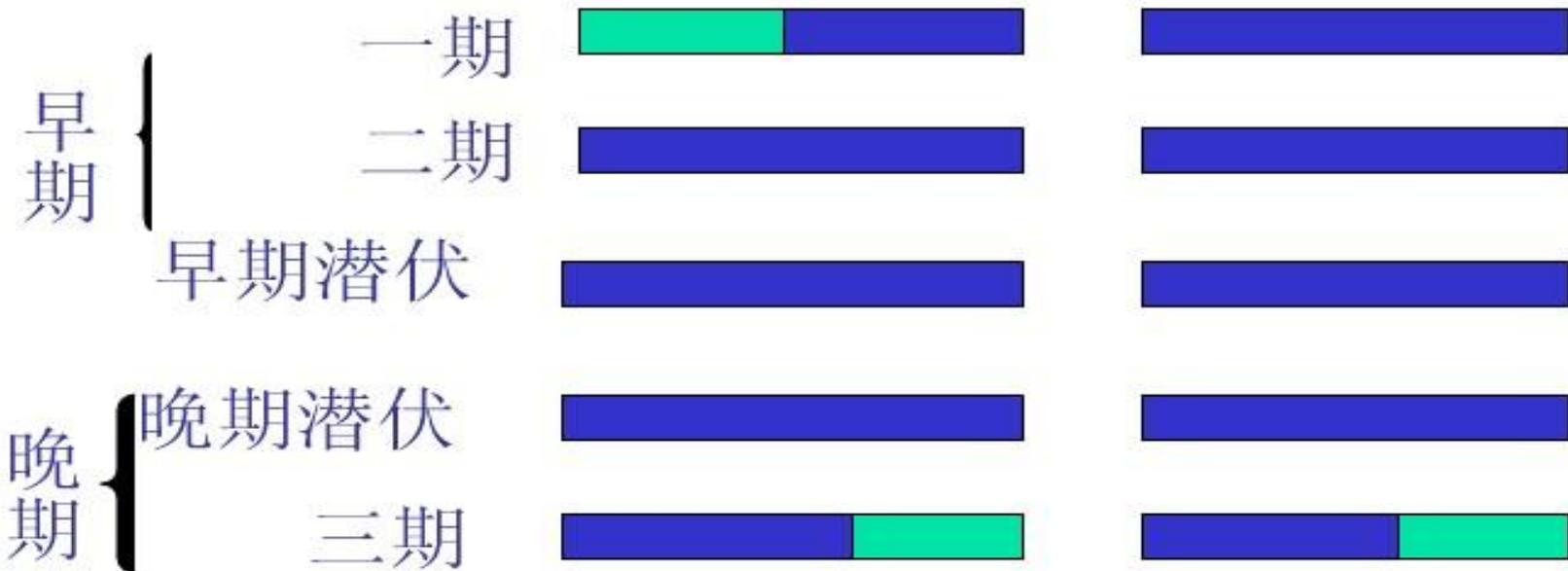


广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒特异性抗体血清试验结果解释示意图

治疗前

治疗后



阳性



阴性

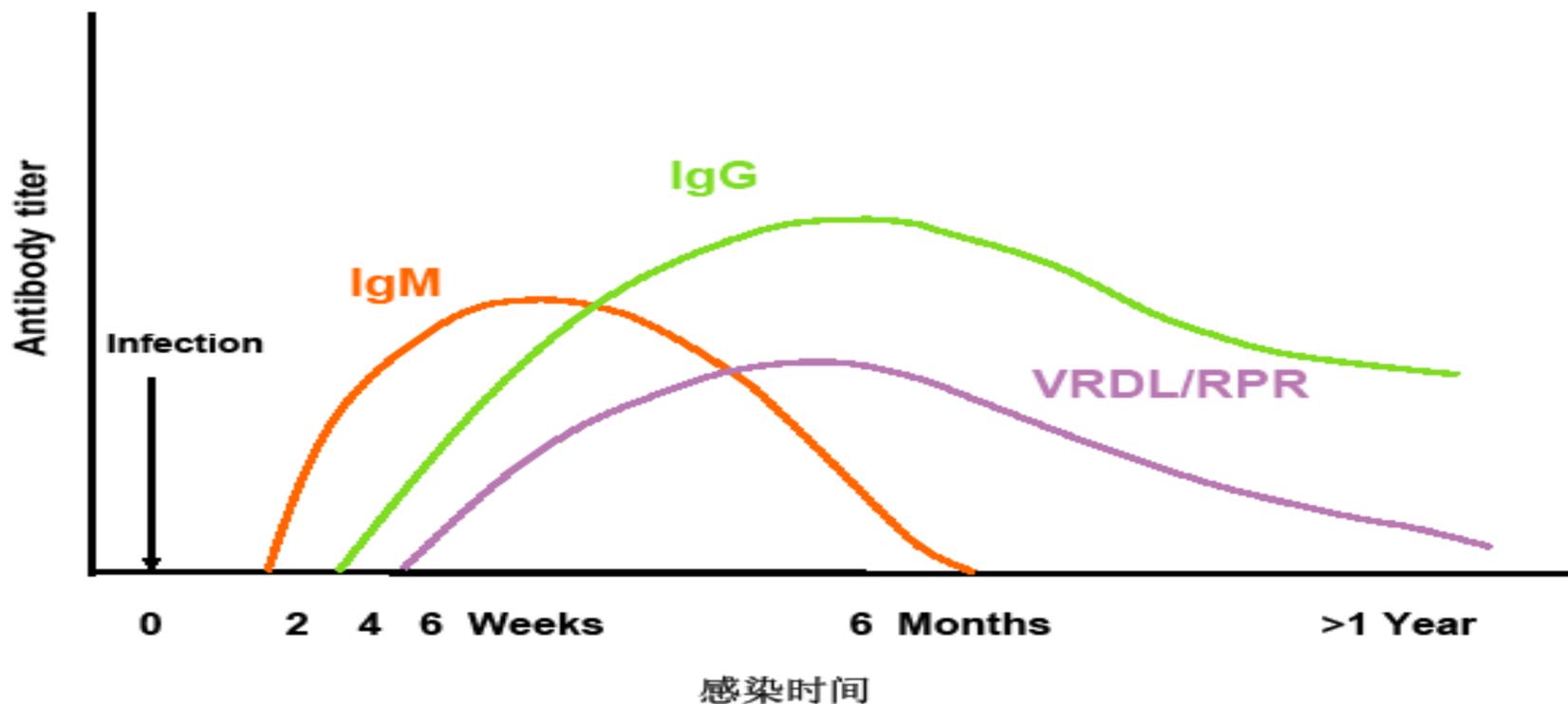




广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒血清学抗体的演变过程

梅毒血清学模式





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒诊断标准-WS 273_2018

ICS 11.020
C 59

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS 273—2018
代替 WS 273—2007

梅毒诊断
Diagnosis for syphilis

2018-03-06 发布 2018-08-01 实施
中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

梅毒实验室检测方法

病原学

血清学（梅毒非特异性抗体和梅毒特异性抗体）

暗视野显微镜检查

镀银染色

核酸检测

VDRL

RPR

TRUST

TPPA
TPHA
ELISA
CLIA
RT
FTA-ABS
WB
IgM





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

一期梅毒诊断标准

	疑似病例		确诊病例	
流行病学史	√	√	√	√
临床表现	√	√	√	√
病原学检测				√
梅毒非特异性抗体	√		√	√/ -
梅毒特异性抗体		√	√	√/ -

注：√=符合；√/ - =符合或未做





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

二期梅毒诊断标准

	疑似病例		确诊病例	
流行病学史	√	√	√	√
临床表现	√	√	√	√
病原学检测				√
梅毒非特异性抗体	√		√	√/ -
梅毒特异性抗体		√	√	√/ -

注：√=符合；√/ - =符合或未做





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

三期梅毒诊断标准

	疑似病例		确诊病例	
流行病学史	√	√	√	√
临床表现	√	√	√	√
梅毒非特异性抗体	√		√	√
梅毒特异性抗体		√	√	√
组织病理				√/—
脑脊液异常				√/—





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

隐性（潜伏）梅毒诊断标准

	疑似病例	疑似病例	确诊病例
流行病学史	√	√	√
临床表现（无）	√	√	√
梅毒非特异性抗体	√		√
梅毒特异性抗体		√	√

注：√=符合

- 1、既往无梅毒诊断治疗史（与血清固定鉴别）
- 2、梅毒非特异性抗体滴度高低不是诊断必要条件
- 3、有条件时进行CSF检查以排除神经梅毒





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

先天梅毒诊断标准-疑似病例

疑似病例：

所有**未经有效治疗**的患梅毒母亲所生的婴儿，或所发生的死胎、死产、流产病例，证据尚不足以确诊先天梅毒者。

何谓未经有效治疗：

- 1、孕期末接受全程、足量的青霉素治疗
- 2、接受非青霉素方案治疗
- 3、在分娩前1个月内才进行抗梅毒治疗





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

先天梅毒诊断标准-确诊病例

婴儿出生时

病原学阳性

梅毒IgM抗体阳性

婴儿非特异性抗体滴度 \geq 母亲的4倍，且特异性抗体试验阳性

婴儿随访时

婴儿出生时非特异性抗体(-)或 $<$ 母亲的4倍，但随访从阴转阳，或滴度上升，可有临床症状，且特异性试验阳性

婴儿随访到18个月时
特异性抗体仍阳性





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

梅毒血清学试验的临床应用

适用对象

皮肤性病门诊

输血前检查

手术前检查

入院检查

产前检查

检验
检疫

每个人都查





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

不同病期实验室方法学选择

分期	方法学	标本种类
一期梅毒	病原学检查 血清学检查	组织液、淋巴液 血液
二期梅毒	病原学检查 血清学检查	组织液、淋巴液 血液
三期梅毒（含神经梅毒）	血清学检查 脑脊液检查 组织病理	血液 脑脊液 组织块
隐性梅毒	血清学检查	血液





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

血清学检测结果要谨慎对待特殊人群

孕产妇

老人

免疫性疾病患者

儿童





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

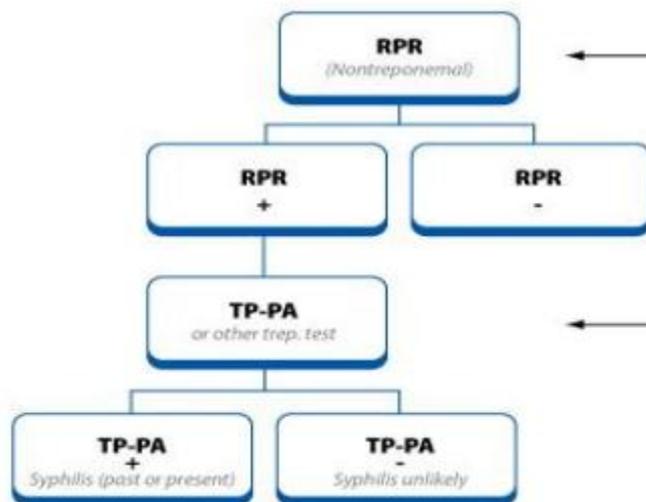
梅毒血清学试验结果谨慎解释

试验结果		主要临床意义	谨慎解释
特异性抗体试验	非特异性抗体试验		
+	+	现症梅毒 或接受过治疗的晚期梅毒	两类均为假阳性或一类假阳性？ 梅毒孕妇产的新生儿？
-	-	排除梅毒感染 极早期梅毒 免疫力极度低下	不能排除其他方法是阳性， 仅仅阴性不说排除
-	+	非特异性抗体试验假阳性	基本可以排除
+	-	治愈的早期梅毒（既往感染） 极早期梅毒	非特异性抗体滴度结果？ 特异性抗体是否复核？

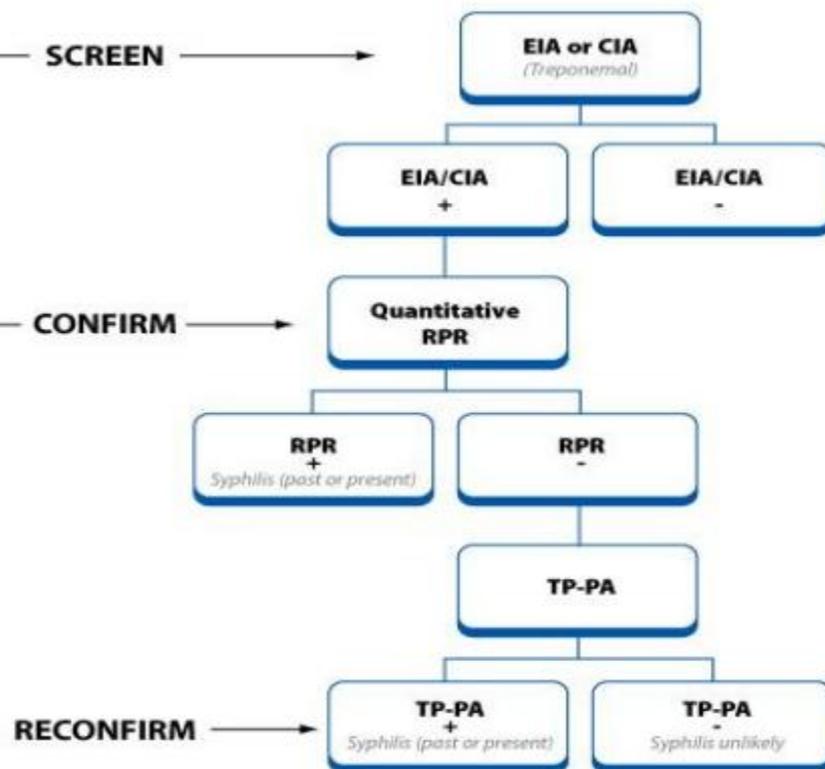


美国CDC梅毒实验诊断的检测策略 (2015)

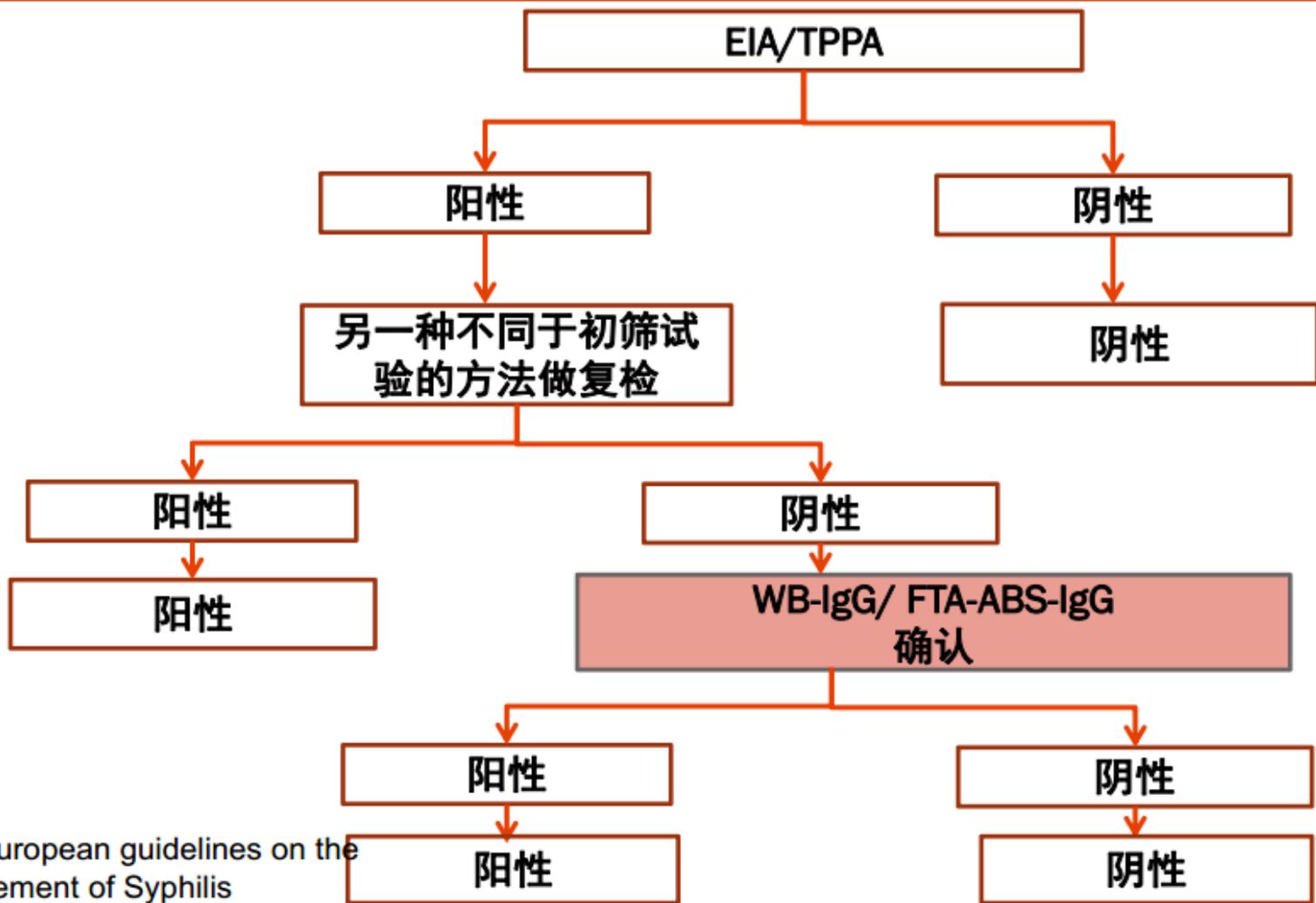
CDC Recommended Screening



Reverse Sequence Screening

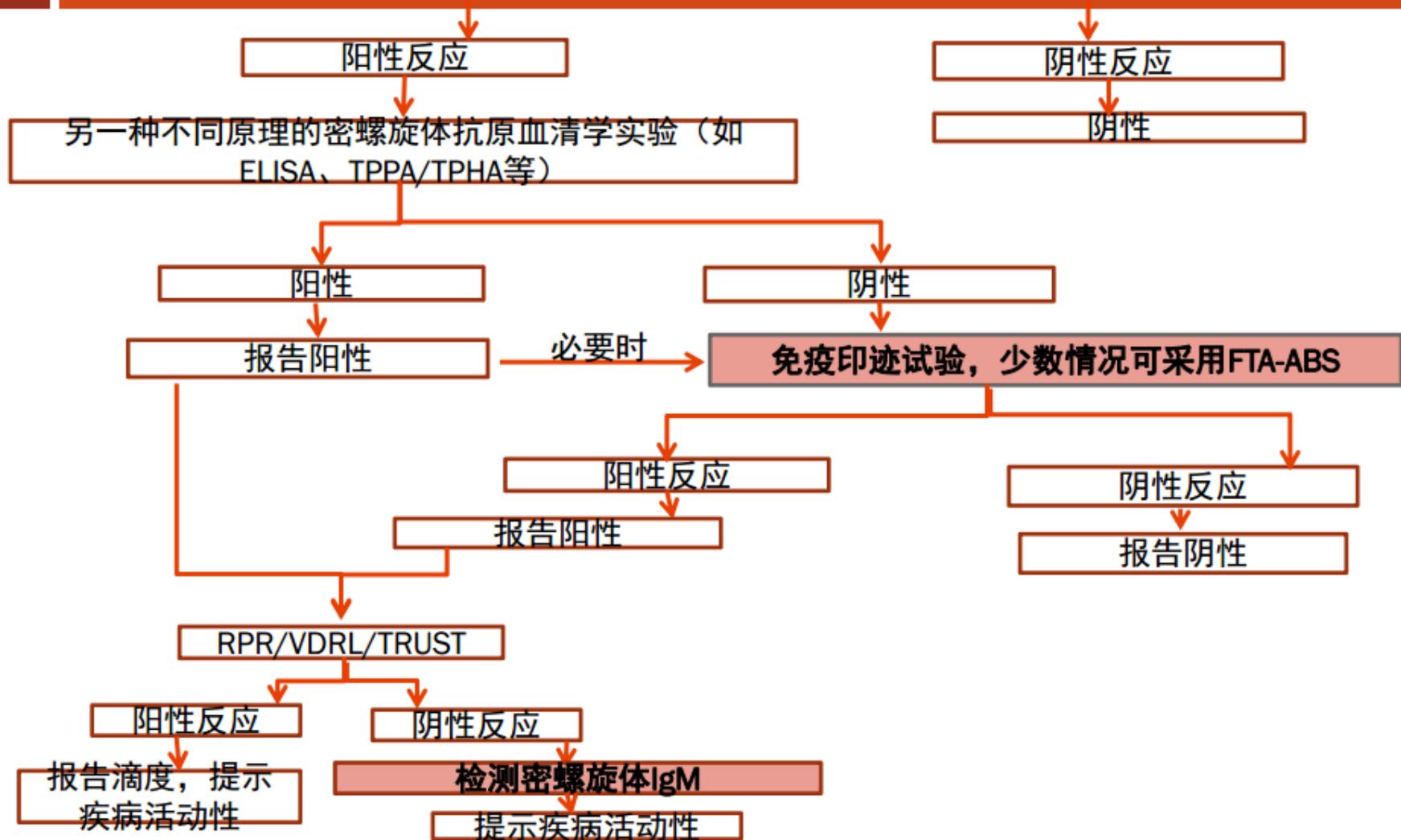


欧洲梅毒实验筛查策略 (2008)



2014卫生部临检中

一种密螺旋体抗原血清学实验（如ELISA、TPPA/TPHA等）



梅毒螺旋体血清试验
(ELISA)

阳性

阴性

RPR 定性/定量试验

报告：
ELISA 阴性

阳性

阴性

报告：
ELISA 阳性
RPR 阳性及滴度
果

报告：
ELISA 阳性
RPR 阴性
果

推荐 TPPA 复检

阳性

阴性

报告：
ELISA 阳性
TPPA 阳性
RPR 阴性

报告：
ELISA 阳性
TPPA 阴性
RPR 阴性





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

2017年全国多中心梅毒检测试剂评估结果

方法	简称	样本量	敏感性 (%)	特异性 (%)	功效率 (%)	Kappa值 (%)	CV%
ELISA	英科	307	98.31	100.00	99.35	98.62	9.52
	科华	307	97.46	100.00	99.02	97.93	6.05
	丽珠	307	97.46	100.00	99.02	97.93	10.49
	金豪	307	97.46	100.00	99.02	97.93	11.95
	万泰	307	96.61	100.00	98.70	97.23	4.20
	吉比爱	307	96.61	100.00	98.70	97.23	5.25
	三维	307	96.61	100.00	98.70	97.23	11.30
	科卫	307	95.76	100.00	98.37	96.53	6.13
化学发光	ROCHE	307	96.61	100.00	98.70	97.23	1.22
	Abbott	307	96.61	100.00	98.70	97.23	14.09
	HISCL	307	95.76	100.00	98.37	96.53	13.14
快速检测试剂	博拓	307	96.61	100.00	98.70	97.23	/
	英科	307	96.61	100.00	98.70	97.23	/
	万泰	307	96.61	100.00	98.70	97.23	/
	Alere Medical	307	96.61	99.47	98.37	96.54	/
	艾博	307	94.92	100.00	98.05	95.83	/
	万孚	307	94.92	100.00	98.05	95.83	/

参与单位

- 广西壮族自治区皮肤病防治所
- 河北省疾病预防控制中心
- 浙江省皮肤病防治研究所
- 重庆市第一人民医院
- 深圳市慢性病防治中心
- 德清县人民医院和德清县中医院等



广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

2017年全国多中心梅毒检测试剂评估结果

方法	简称	样本量	敏感性 (%)	特异性 (%)	功效率 (%)	Kappa值 (%)
RPR	科华	310	99.00	97.14	97.74	94.90
	英科	310	98.00	99.52	99.03	97.78
	荣盛	310	97.00	98.57	98.06	95.57
	金豪	310	96.00	99.52	98.39	96.28
	万泰	310	96.00	99.52	98.39	96.28
TRUST						

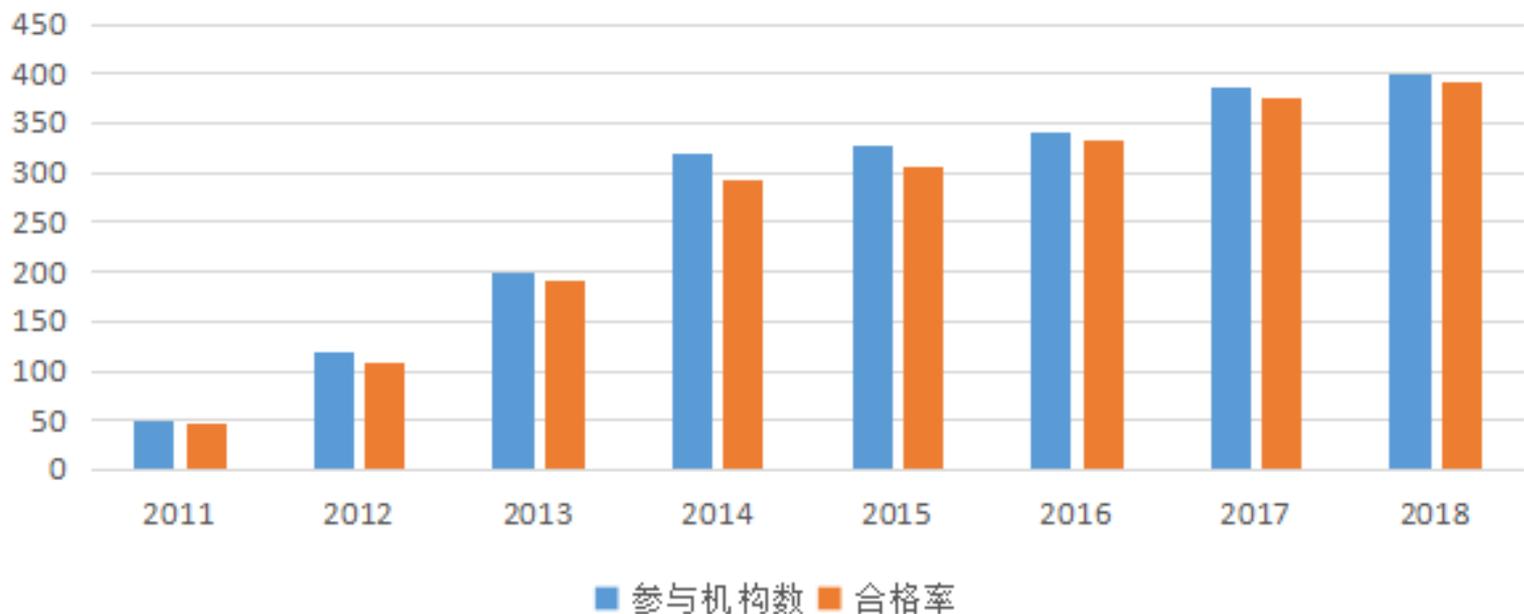




广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

* 全区梅毒实验室室间质评工作

	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
参与机构数	49	120	200	320	328	340	385	400
合格率	93.70%	90.80%	95.50%	91.30%	93.60%	98.20%	97.40%	97.80%





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

总结

* 参加广西区性病中心实验室组织的梅毒室间质评
注意：

- 1、开展的项目
- 2、仪器设备：水平旋转仪、振荡器、酶标仪
- 3、检测结果
- 4、报告规范





广西壮族自治区皮肤病防治研究所
广西壮族自治区皮肤病医院

THANK YOU

0771-2317266

