

梅毒螺旋体特异性 IgG 和 IgM 抗体在早期梅毒诊断和治疗的应用评价

周琼, 谭黎明, 黎村艳, 资彩琴

湖南师范大学附属第一医院, 湖南 长沙 410002

摘要: **目的** 探讨梅毒螺旋体 (*Treponema pallidum*, Tp) 特异性抗体 (Tp47、Tp45、Tp17、Tp15 IgG 和 IgM 抗体) 与梅毒血清甲苯胺红不加热血清试验 (toluidine red unheated serum test, TRUST) 滴度之间的相关性, 分析治疗前后梅毒特异性抗体谱的特点, 为临床诊断早期梅毒以及判定病情和疗效提供实验依据。 **方法** 收集 2015—2018 年就诊于湖南省人民医院门诊或住院的梅毒早期患者 166 例为梅毒组, 均满足早期梅毒临床表现 (外阴有硬下疳或梅毒疹等)、TRUST 和 TPPA 阳性, 并以同期健康体检者 166 例为对照组。采用 χ^2 检验分析四种 IgG 和 IgM 抗体与 TRUST 不同滴度之间的相关性; 经苋星青霉素治疗后随诊 12 个月内进行免疫印记法检测梅毒特异性抗体的患者有 41 例, 同时分析 41 例梅毒患者治疗前后血清各特异性抗体的表达变化情况。 **结果** 梅毒组治疗前抗 Tp47、Tp45、Tp17、Tp15 IgG 抗体和抗 Tp45、Tp17、Tp15 IgM 抗体阳性率明显高于对照组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。治疗前 TRUST 高滴度组 (TRUST 滴度 $\geq 1:8$) Tp47、Tp45、Tp15 IgG 抗体阳性检出率明显高于 TRUST 低滴度组 (TRUST 滴度 $< 1:8$), 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 而 Tp17 IgG 抗体在二组中阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗前 TRUST 高滴度组 (TRUST 滴度 $\geq 1:8$) 抗 Tp45、Tp17 IgM 抗体阳性检出率明显高于 TRUST 低滴度组 (TRUST 滴度 $< 1:8$), 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$), Tp47 和 Tp15 IgM 抗体在二组中阳性率差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。41 例患者治疗后的 IgM Tp45、Tp17 抗体阳性表达率显著低于治疗前, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 四种 IgG 抗体及 Tp47、Tp15 IgM 抗体阳性表达率治疗前后无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。 **结论** Tp47、Tp45、Tp17、Tp15 四种特异性抗体 IgG 和 IgM 联合检测有助于早期梅毒诊断和病情严重程度判断, Tp45、Tp17 IgM 抗体有助于梅毒疗效的判断。

关键词: 早期梅毒; 梅毒螺旋体特异性抗体; 甲苯胺红不加热血清试验; 免疫印迹法

中图分类号: R759.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2020)08-1005-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2020.08.032

梅毒 (syphilis) 是由梅毒螺旋体 (*Treponema pallidum*, Tp) 引起的慢性、系统性传播疾病, 早期侵犯生殖器和皮肤, 晚期侵犯全身各器官, 并产生多种多样的症状和体征^[1-2]。当人体被 Tp 感染后, 一方面是梅毒螺旋体在破坏组织时释放的抗原性物质 (心磷脂) 刺激机体产生的有抗体性质的反应素 (抗心磷脂抗体), 另一方面可激发机体的细胞及体液免疫反应产生特异性抗体。关于血清免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) 和免疫球蛋白 M (immunoglobulin M, IgM) 抗体 Tp47、Tp45、Tp17、Tp15 出现的早晚及治疗后患者携带抗体情况已有相关报道^[3-6]。非特异性抗体检测中, 研究指出 TRUST 定量滴度与患者体内梅毒螺旋体数量呈正相关^[7], 常用于判断病情及疗效观察, 当病情好转或治愈时, 滴度便可

下降或转阴。但其易受免疫力下降、自身免疫性疾病或肿瘤等多种因素影响, 且存在血清固定现象。本研究拟分析早期梅毒患者治疗前后 IgG 和 IgM 型 Tp47、Tp45、Tp17、Tp15 抗体阳性率与血清甲苯胺红不加热血清试验 (toluidine red unheated serum test, TRUST) 不同滴度之间的相关性, 探讨其对梅毒的早期诊断、治疗及预后的评价。

1 资料与方法

1.1 资料来源 选取 2015—2018 年在湖南省人民医院门诊或住院就诊的早期梅毒患者 166 例为梅毒组 (其中单独检测 IgG 抗体 81 例, 单独检测 IgM 抗体 12 例, 二者同时检测 73 例), 并以同期健康体检者 166 例为对照组 (其中单独检测 IgG 抗体 67 例, 单独检测 IgM 抗体 64 例, 二者同时检测 35 例)。梅毒组: 男 75 例, 女 91 例; 年龄 14~84 岁, 平均 (38.24±16.08) 岁; 对照组: 男 80 例, 女 86 例; 年龄 15~89 岁, 平均 (38.98±14.59) 岁。两组在性别、年龄方面比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。另追踪收集梅毒组中 41 例患者经苋星青霉素治疗^[8]后随诊 12 个月内的资料。

基金项目: 湖南省卫生计生委科研课题 (B2017079), 湖南省技术创新引导计划临床医疗技术创新引导项目 (2017SK50509)

作者简介: 周琼 (1990-), 女, 湖南人, 研究生, 检验师, 主要从事临床检验诊断工作。

通信作者: 谭黎明, E-mail: tanliming838@163.com。

本研究经本院伦理委员会审核通过。

1.2 梅毒组纳入标准 患者有不同程度的硬下疳、皮疹、发热、淋巴结肿大等症状,疑似梅毒感染症状^[9-10],符合中华人民共和国卫生行业标准指南共识:新版梅毒诊断标准(WS 273-2018)关于梅毒的诊断标准。

1.3 梅毒组排除标准 ①严重心肝肾功能异常者;②肿瘤患者;③其他传染性疾病患者;④免疫性疾病患者^[9]。

1.4 仪器与试剂 梅毒螺旋体明胶凝集试验(*Treponema pallidum* particle assay, TPPA):由富士瑞必欧株式会社生产的梅毒螺旋体抗体检测试剂盒(凝集法)检测。梅毒甲苯胺红不加热血清试验:由上海荣盛公司生产的梅毒甲苯胺红不加热血清试验诊断试剂盒检测。免疫印迹法(Western blotting, WB):欧蒙公司生产的抗梅毒螺旋体、心磷脂抗体 IgM 检测试剂盒和梅毒螺旋体、心磷脂 IgG 抗体检测试剂盒,使用欧蒙公司的全自动免疫印迹仪(型号:EUroBlot Master)进行自动化检测,均严格按照相关标准操作程序进行检测。

1.5 观察指标 ①比较治疗前梅毒组及对照组特异性 IgG、IgM 抗体阳性表达率。②分析早期梅毒患者治疗前 TRUST 滴度和梅毒螺旋体特异性抗体谱之间的关系。③追踪梅毒组 41 例患者治疗后 12 个月内血清 IgG 和 IgM 抗体阳性表达情况。

1.6 统计学处理 研究所得数据均用 SPSS 22 软件处理,计数资料以百分比表示,采用 χ^2 检验比较组间差异;计量资料经正态检验后用($\bar{x} \pm s$)表示,用 t 检验比较组间差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组特异性 IgG、IgM 抗体阳性率比较 梅毒组治疗前 Tp47、Tp45、Tp17、Tp15 IgG 抗体和抗 Tp45、Tp17、Tp15 IgM 抗体阳性率均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。梅毒组内 IgG 和 IgM 四种抗体阳性率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中 Tp45、Tp17、Tp15 IgG 抗体阳性率明显高于 Tp47 IgG 抗体($P < 0.05$),Tp45、Tp17 IgM 抗体阳性率明显高于 Tp47、Tp15 IgM 抗体($P < 0.05$),见表 1、表 2。

表 1 治疗前梅毒组 and 对照组血清特异性 IgG 抗体阳性率比较($n, \%$)

组别	IgG			
	Tp47	Tp45	Tp17	Tp15
梅毒组($n=154$)	103(66.88) ^a	142(92.21) ^{ab}	147(95.45) ^{ab}	134(87.01) ^{ab}
对照组($n=102$)	0(0.00) ^a	5(4.90) ^a	3(2.94) ^a	5(4.90) ^a

续表 1

组别	IgG			
	Tp47	Tp45	Tp17	Tp15
χ^2 值	114.147	191.295	216.458	166.711
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注:a 为二组阳性率比较, $P < 0.05$;b 为梅毒组内四种特异性抗体阳性率相比, $P < 0.05$ 。

表 2 治疗前梅毒组 and 对照组血清特异性 IgM 抗体阳性率比较($n, \%$)

组别	IgM			
	Tp47	Tp45	Tp17	Tp15
梅毒组($n=85$)	5(5.88)	36(42.35) ^{ab}	41(48.24) ^{ab}	7(8.24) ^a
对照组($n=99$)	2(2.02)	0(0.00) ^a	4(4.04) ^a	0(0.00) ^a
χ^2 值	0.958 ^c	52.128	48.349	6.374 ^a
P 值	0.328	0.000	0.000	0.012

注:a 为二组阳性率比较, $P < 0.05$;b 为梅毒组内四种特异性抗体阳性率相比, $P < 0.05$;c 为校正 χ^2 值。

2.2 治疗前梅毒组患者 TRUST 滴度和 IgG、IgM 特异性抗体之间的分析

2.2.1 治疗前 TRUST 高滴度组 (TRUST 滴度 $\geq 1:8$) Tp47、Tp45、Tp15 IgG 抗体阳性检出率明显高于 TRUST 低滴度组 (TRUST 滴度 $< 1:8$) (Tp47: $\chi^2 = 23.309, P = 0.000$; Tp45: $\chi^2 = 5.713, P = 0.017$; Tp15: $\chi^2 = 6.383, P = 0.012$); Tp17 抗体在二组中阳性率差异无统计学意义 (Tp17: $\chi^2 = 0.012, P = 0.915$),见图 1。

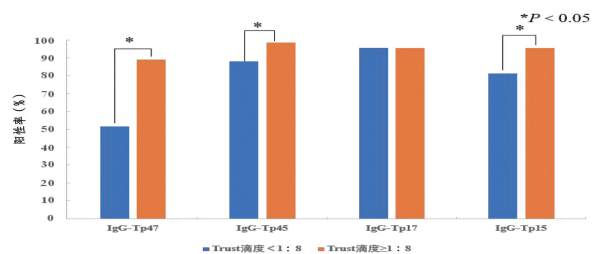


图 1 TRUST 滴度组中 IgG 特异性抗体的阳性检出情况 (%)

2.2.2 治疗前 TRUST 高滴度组 (TRUST 滴度 $\geq 1:8$) 抗 Tp45、Tp17 IgM 抗体阳性检出率明显高于 TRUST 低滴度组 (TRUST 滴度 $< 1:8$) (Tp45: $\chi^2 = 20.732, P = 0.000$; Tp17: $\chi^2 = 26.171, P = 0.000$); Tp47 和 Tp15 抗体在二组中阳性率差异无统计学意义 (Tp47: $\chi^2 = 0.144, P = 0.704$; Tp15: $\chi^2 = 3.521, P = 0.061$),见图 2。

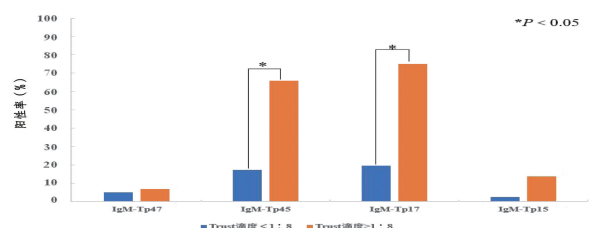


图 2 TRUST 滴度组中 IgM 特异性抗体阳性检出情况 (%)

2.3 早期梅毒治疗前后 IgG、IgM 抗体变化情况 41 例患者治疗后的 Tp45、Tp17 IgM 抗体阳性表达率显著低于治疗前,差异有统计学意义 ($P<0.05$),四种 IgG

抗体及 Tp47、Tp15 IgM 抗体阳性表达率治疗前后无统计学意义 ($P>0.05$),见表 3。

表 3 梅毒组治疗前后 IgG、IgM 抗体阳性率比较 (n,%)

组别	IgG (n=41)				IgM (n=41)			
	Tp47	Tp45	Tp17	Tp15	Tp47	Tp45	Tp17	Tp15
治疗前	22(53.66)	37(90.24)	33(80.49)	30(73.17)	4(9.76)	11(26.83) ^a	16(39.02) ^a	2(4.88)
治疗后	19(46.34)	35(85.37)	30(73.17)	28(68.29)	1(2.44)	3(7.32) ^a	6(14.63) ^a	1(2.44)
χ^2 值	0.439	0.456	0.617	0.236	0.852 ^a	5.513	6.212	0.000 ^a
P 值	0.508	0.500	0.432	0.627	0.356	0.019	0.013	1.000

注:a 为校正 χ^2 值。

3 讨论

人体在感染梅毒螺旋体后,机体对梅毒螺旋体特异性抗原 (Tp47、Tp45、Tp17、Tp15) 发生体液免疫应答,分别在感染梅毒螺旋体 2 周和 4 周后产生 IgM 和 IgG。IgM 是临床上常用于梅毒早期感染并活动的血清学标志物之一;IgG 是体液免疫应答产生的主要抗体^[7]。Tp47、Tp45、Tp17、Tp15 是抗原性较强的 Tp 蛋白,其中 Tp47 膜脂蛋白在 Tp 膜蛋白中含量较高,基因全长 1 302 bp,相对分子质量为 47 kDa,具有特异的强免疫原性,为梅毒的早期诊断指标之一。Tp45 是梅毒螺旋体的特异性抗原,与人类肠道螺旋体、疏螺旋体、钩端螺旋体以及其它密螺旋体抗原成份不发生交叉反应,其与 Tp15 同为活动期梅毒标志性抗体。Tp15 在内膜中含量相对较少,其基因全长 426 bp,相对分子质量为 15 kDa。有研究显示,Tp15 在各期梅毒中阳性检出率较低,其引起的早期体液免疫反应有限。Tp17 蛋白抗原在内膜中含量丰富,基因全长 468 bp,相对分子质量为 17 kDa,早期便可引起较强的体液免疫反应,在各期梅毒中 Tp17 的阳性检出率最高^[6,11-13]。本研究中,梅毒组治疗前 Tp47、Tp45、Tp17、Tp15 IgG 抗体和 Tp45、Tp17、Tp15 IgM 抗体阳性率均明显高于对照组,且分别比较梅毒组内 IgG 和 IgM 四种抗体阳性率,其中 Tp45、Tp17、Tp15 IgG 抗体阳性率明显高于 Tp47 IgG 抗体,Tp45、Tp17 IgM 抗体阳性率明显高于 Tp47、Tp15 IgM 抗体,说明早期梅毒患者体内 Tp47、Tp45、Tp17、Tp15 IgG 和 IgM 抗体阳性表达率高于正常水平,且梅毒组中 Tp45、Tp17、Tp15 IgG 抗体和 Tp45、Tp17 IgM 抗体呈高阳性检出率,这表示在机体感染梅毒后,会引起特异性体液反应,从而导致机体出现梅毒免疫反应增强的现象。

本研究治疗前 TRUST 高滴度组 (TRUST 滴度 $\geq 1:8$) 抗 Tp47、Tp45、Tp15 IgG 抗体阳性检出率明显高于 TRUST 低滴度组 (TRUST 滴度 $<1:8$),提示 Tp47、

Tp45、Tp15 IgG 抗体与病情严重程度相关,病情越严重,梅毒特异性抗体表达越高。Tp17 IgG 抗体在各 TRUST 滴度组中阳性率分布无明显差异,均呈高阳性检出率,这与相关文献报道相符^[5,14-15],提示 Tp17 IgG 抗体在感染早期升高,但与病情严重程度无关。

Tp-IgM 检测对早期确诊梅毒具有重要的意义,有研究指出^[16],梅毒螺旋体特异性 IgM 抗体可作为梅毒感染并活动的指标之一,其对梅毒血清固定患者判愈更有意义。本研究显示,治疗前 TRUST 高滴度组 (TRUST 滴度 $\geq 1:8$) 抗 Tp45、Tp17 IgM 抗体阳性检出率明显高于 TRUST 低滴度组 (TRUST 滴度 $<1:8$),提示这两个抗体与病情严重程度相关。Tp47 和 Tp15 抗体在二组中阳性率差异无统计学意义,与杨帆等^[17]报道一致。可能与 Tp45 和 Tp17 具有强免疫原性相关。

Tp 蛋白免疫反应是一个持续性的过程,本研究中 41 例梅毒患者经有效治疗后,IgG 各特异性抗体与治疗前无明显变化,表明 IgG 抗体在治疗后仍然有较高表达。与白顺等^[18]观点一致,提示 IgG 抗体阳性表达不能作为治疗疗效判定指标,仅表示患者已经被 Tp 感染过。但赵玉磊等^[6]报道治疗 10 年以上的老年梅毒患者 IgG Tp17 和 Tp47 抗体表达显著下降,考虑赵玉磊等^[6]选用的梅毒患者年龄均 ≥ 60 岁,且跟踪至治疗后 10 年以上,可能与本研究年龄跨度较大、随访时间较短且数据病例数少等有关。治疗后 Tp45 和 Tp17 IgM 抗体阳性表达率明显低于治疗前,这与白顺等^[18]报道一致,这可能与早期梅毒患者治疗后体内梅毒螺旋体含量降低,且体液免疫反应减弱有关,提示 Tp45 和 Tp17 IgM 抗体有作为治疗效果的监测潜能。而治疗后早期梅毒患者体内 Tp47 和 Tp15 IgM 抗体阳性表达率与治疗前相比无明显变化,提示梅毒螺旋体在治疗后可能并未完全清除,也可能与本研究样本量少和检测时间短、抗体还未完全消失有关。

综上所述,Tp47、Tp45、Tp17、Tp15 四种特异性抗