

反順序 (reverse algorithm) 與傳統梅毒檢驗流程的異同 及對臨床梅毒診斷可能帶來的影響

何承懋^{1,2} 何茂旺³

台中慈濟醫院 ¹臨床病理科 ²感染科

中國醫藥大學附設醫院 ³內科部感染科

梅毒是一個古老的疾病，雖然 penicillin 能有效的治療梅毒，但隨著性行為的開放，被通報的個案數並沒有減少。近年來隨著實驗室軌道系統的發展，以自動化的免疫分析來測試梅毒螺旋體抗體，來取代目前以 RPR/VDRL 來做為梅毒初步的篩檢方式被提出來，即所謂的反順序 (reverse algorithm) 的梅毒檢驗。雖然美國疾病管制局仍保留傳統的梅毒診斷流程，但也將反順序的梅毒檢驗列為替代方式。目前台灣有越來越多的實驗室已經導入自動化的軌道系統，在充分利用自動化軌道系統以減少檢驗人力的考量之下，可預期反順序的梅毒檢驗將會被更多的實驗室採用。而了解傳統和反順序梅毒診斷流程的異同，將是所有臨床醫護人員所不可或缺的知識。（**感控雜誌 2017:27:222-232**）

關鍵詞：梅毒、反順序、診斷、免疫分析

梅毒的歷史

「syphilis」這個名稱來自於一首由義大利詩人及哲學家 Girolamo Fracastoro 於 1530 年所發表的敘述詩「*Syphilis sive morbus Gallicus*」

(Syphilis or the French Disease)，內容描述一位牧羊人因為觸怒太陽神阿波羅而遭受到罹患梅毒 (syphilis) 的懲罰[1]。但這個古老疾病的起源一直充滿爭議性：有一種說法是梅毒是由和哥倫布同行的水手由新大

民國106年7月1日受理
民國106年8月23日接受刊載

通訊作者：何茂旺
通訊地址：台中市育德路2號
連絡電話：(04) 22052121轉1870

DOI: 10.6526/ICJ.2017.503

陸帶回舊大陸的，在 1493 年哥倫布第一次由美洲返回西班牙數年後，歐洲發生了一次 Great Pox 的大流行（相對於當時另一個可怕的傳染病天花；smallpox），而這個 Great Pox 的疫情一般被視為就是梅毒[1,2]；但也有學者經由骨骼上的變化認為在哥倫布找到新大陸之前，梅毒早就存在於歐洲大陸[2]；而最近造成東部非洲野生狒狒生殖道潰瘍而被發現的螺旋體更加深了梅毒起源的爭議[3]。在 17 和 18 世紀淋病和梅毒因為同樣是經由性行為傳播，曾經一度被認為是同一種疾病，直到法國的性病學家 Philippe Ricord 經由一系列從梅毒硬下疳 (syphilitic chancres) 來的接種實驗才將兩者區分，他並且在 1983 年的專題論文 (*Traite des maladies veneriennes*) 中，描述了一級 (primary)、二級 (secondary)、三級 (tertiary) 等梅毒不同階段的感染[1]。在 1905 年德國動物學家 Fritz Schaudinn 及皮膚科醫師 Erich Hoffmann 在臨床病人硬下疳的檢體中發現了一種 Gram (-)、細長、會動的螺旋狀細菌，也就是梅毒的致病原，當時稱之為 *Spirochaeta palida* [1]。而 1906 年 von Wassermann 則提出了最早的梅毒血清學診斷方式，而目前廣泛使用的非特異性梅毒血清學檢驗方式 (Nontreponemal Tests，如 PRP: rapid plasma reagin 及 Venereal Disease Research Laboratory VDRL) 即是由此改良而來。1912 年 Henry J.

Nichols 及 William H. Hough 兩位醫師，將一位接受 salvarsan 治療但仍進展成神經性梅毒病人的腦脊液接種到兔子的睪丸上，首次證實了梅毒螺旋體可以侵犯中樞神經系統，而這株梅毒螺旋體（後來被稱為 Nichols strain）就成為實驗室廣泛採用的為梅毒螺旋體標準菌株[4]。

在 18 和 19 世紀時，梅毒的治療都是使用水銀 (汞) 來以毒攻毒，一直到 1910 年左右，Paul Ehrlich 提出一個有機砷化合物 Salvarsan (又稱 arphenamine 或 606)，相較於毒性極大的傳統汞治療，salvarsan 這個藥物效果較好且副作用少，因此當時被稱為神奇子彈 (magic bullet) [1]。而能真正有效治療梅毒的神奇子彈則是 1928 年佛萊明發現的盤尼西林 (penicillin) [5]。然而一直到 1943 年，John Mahoney 才將 penicillin 應用到臨床上成功治療第一個梅毒病人，並讓梅毒成為一個真正可以治癒的疾病[6]。一直到目前為止，盤尼西林仍是梅毒最可靠且有效的治療藥物，其它的替代藥物如四環素類藥物 (doxycycline、tetracycline)、巨環類藥物 (azithromycin) 或頭孢子素 (ceftriaxone) 等，其效果都沒有盤尼西林可靠；懷孕婦女若需要治療梅毒，盤尼西林更是唯一被證實有效的治療藥物[7]。近幾年台灣盤尼西林的缺藥情形嚴重（特別是肌肉注射的 Benzathine penicillin G），對於臨床梅毒病人治療的完整性造成了極大的不

確定性，值得衛生及防疫單位高度重視。

梅毒螺旋體

梅毒螺旋體菌體寬約 $0.2 \mu\text{m}$ ，長為 $6\sim 20 \mu\text{m}$ ，DNA 大小約 1.14 Mb，相較於一般的細菌明顯較小 (如 *E. coli* DNA 大小 4.6 Mb，*Bacillus subtilis* DNA 大小 4.2 Mb)，因此缺乏很多生存代謝所需要的酵素：如三羧酸循環 (tricarboxylic cycle) 及電子傳遞鏈的相關酵素，也無法有效率的自行合成核酸、胺基酸及脂肪酸，因此到目前為止梅毒螺旋體尚無法在哺乳動物體外被有效的培養繁殖 (即使利用組織培養也很難超過 7 個世代)，最好的繁殖方式是將病原菌注入兔子的睪丸中培養，平均分裂一次的時間約需 30~33 個小時[8]。梅毒螺旋體對環境變化的忍受度很低，只要溫度、濕度或滲透壓的些微改變及絕大部份的消毒劑都可以去活化梅毒螺旋體[8]。

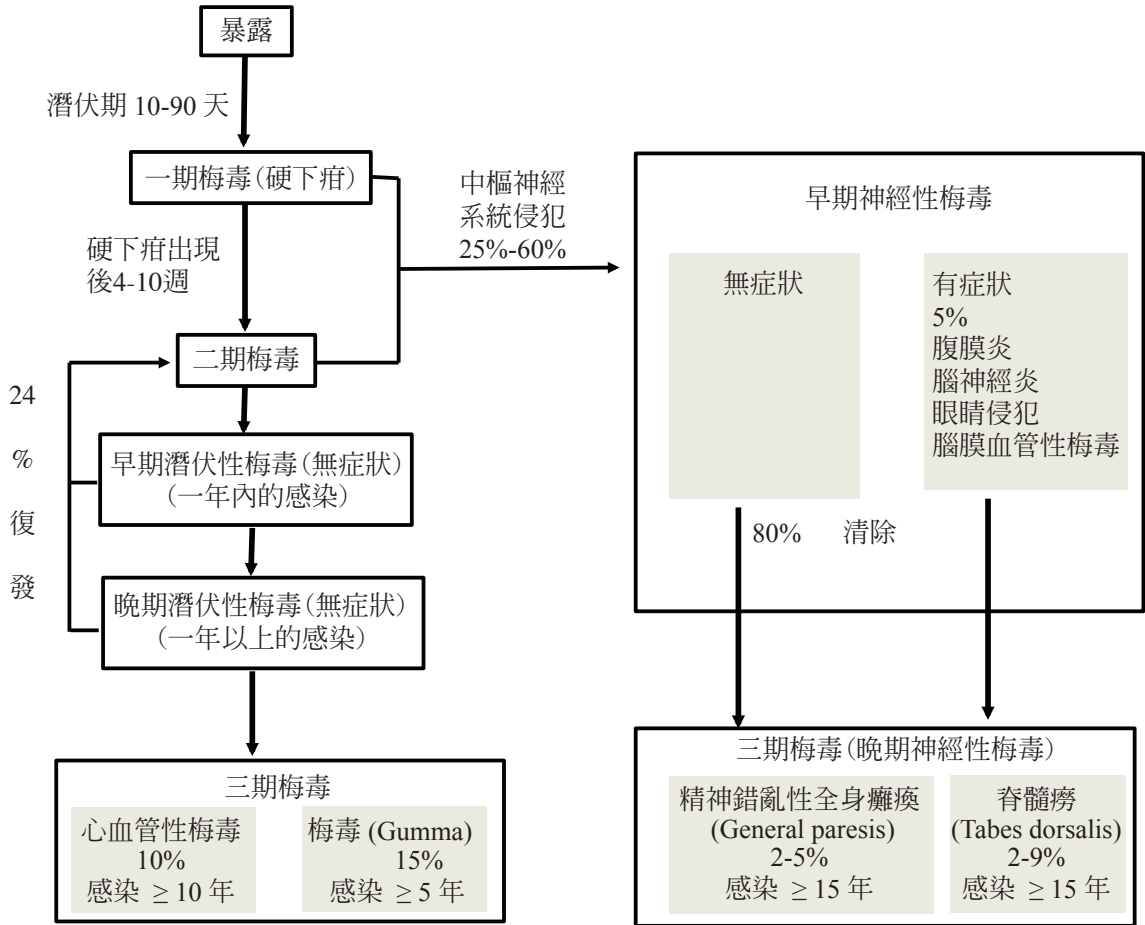
流行病學

在 20 世紀初期 (即盤尼西林被廣泛使用在臨床治療之前)，梅毒一直是造成临床上神經和心血管疾病的重要原因。然而隨著盤尼西林的使用，梅毒被有效的治療及控制，然而在 1960 年代以後，梅毒病例卻有增加的趨勢[9]。在台灣由疾病管制署的資料可知梅毒的通報案例也是

明顯增加：2000-2003 年每年約三千到四千多件，2004~2007 年每年超過五千件，2008~2013 年每年超 6 千件，2014~2015 年每年超七千件，到了 2016 年則有 8,715 件，代表雖然有效的治療方式，但隨著性行為的開放，梅毒被通報的個案數反而是增加的。

臨床表現及診斷

梅毒可經由性行為、血液、及經胎盤而傳染，只不過傳染力隨梅毒罹病時間而逐漸降低，整體來說一期及二期梅毒傳給性伴侶的機會大約是 60% [10]。感染後的臨床表現及疾病進程可見圖一[11]。目前临床上對於梅毒的診斷，主要是由血清學檢測 (syphilis serology test, STS) 的結果並配合臨床判斷來決定。梅毒血清學檢查大致可分成二大類：非特異性梅毒螺旋體檢驗 (nontreponemal test) 及特異性梅毒螺旋體檢驗 (treponemal test) (圖二) [12,13]。非特異性梅毒螺旋體檢驗目前主要是用來做為有沒有感染梅毒的初步篩檢，常用的有快速血漿反應素試驗 (rapid plasma reagin, RPR) 或性病研究實驗室試驗 (Venereal Disease Research Laboratory test, VDRL)；針對血清的檢驗，兩者最大的差異在於受檢的血清在使用 VDRL 測試前必須先加熱至 56°C 30 分鐘去補體，且要用顯微鏡觀察判讀，故目前大多被不用加熱且用



圖一 在免疫正常個體未經治療的梅毒自然病程[11]

肉眼判讀即可的 RPR 所取代；因 RPR 沒有被認可用在腦脊髓液的檢體類別，所以目前懷疑神經性梅毒的病人腦脊液仍是使用 VDRL 來做檢驗。而特異性梅毒螺旋體試驗目前是用來做為確認試驗，常用的有：梅毒螺旋體血液凝集試驗 (Treponema pallidum haemagglutination, TPHA)、梅毒螺旋體粒子凝集試驗 (Treponema pallidum particle agglutination, TPPA)、梅毒抗體間接螢光染色

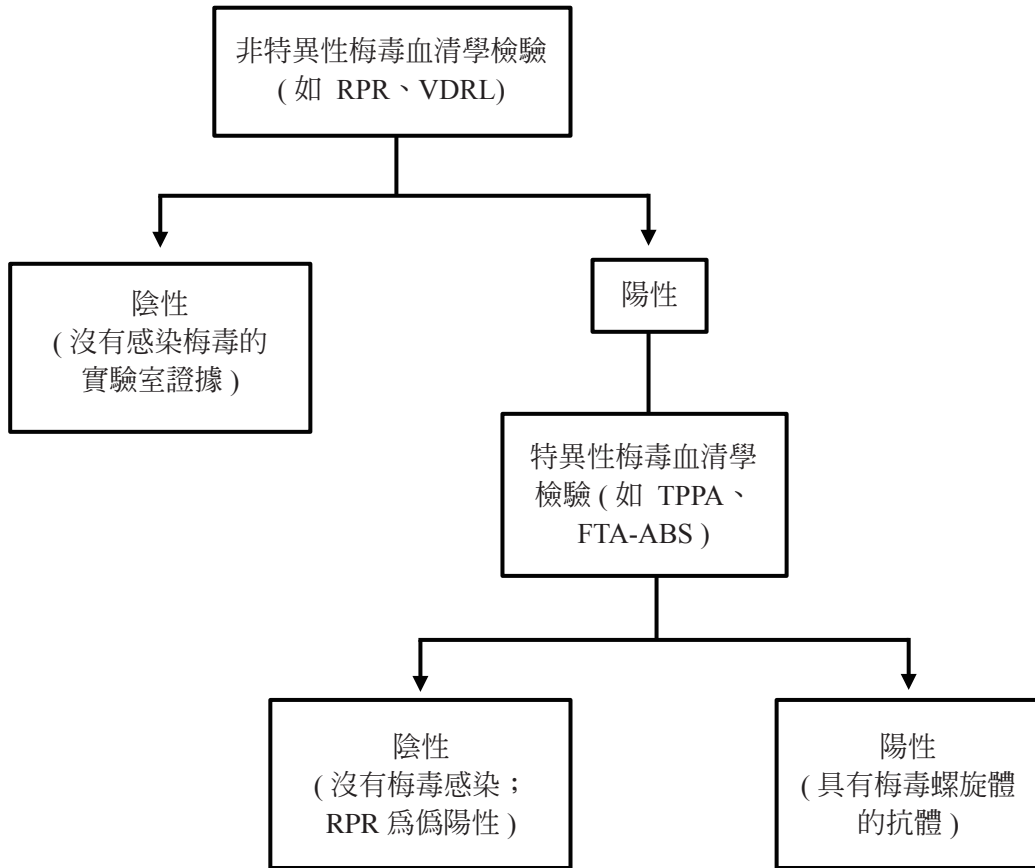
法 (fluorescent treponemal antibody absorption test, FTA-ABS)、梅毒螺旋體乳膠凝集試驗 (Treponema pallidum latex agglutination, TPLA)、梅毒螺旋體酵素免疫分析法 (Enzyme immunoassay, EIA) 或梅毒螺旋體化學冷光免疫分析法 (Chemiluminescence Immunoassays, CIA) 等。不論何種血清學檢查，用單一次的血清學結果去判斷梅毒的活性是不可靠的，最好有前後二次血清價數四倍或以上增加

的證據，或者治療後血清價數有四倍或以上的下降，必要時配合臨床的表現，才可確定疾病的活性[12]。VDRL 及 RPR 的偽陽性 (biologic false-positive) 機率約為 1~2%，原因有懷孕、施打疫苗、自體免疫疾病及其他感染症 (如心內膜炎、HIV、立克次體或其它螺旋體的感染) 等 [11]。臨床上除了上述利用血清學檢驗結果對梅毒活性的判讀要小心之外，做為初步篩檢的 RPR 和 VDRL 對於不同階段的梅毒病人其診斷的敏感性也不同，對於第一期、第二期、潛伏期及第三期梅毒，RPR/VDRL 的陽性率分別為 86/87%、100/100%、98/96% 及 73/71%；而做為確認試驗的 TPHA/FTA-ABS，對不同分期的梅毒病人其檢驗陽性率分別為 86/84%、100/100%、100/100% 及 99/96% [14]。其中第一期梅毒在最常用的傳統血清學檢測其敏感性都是低於九成，因此血清學陰性但具硬下疳病灶的病人，可利用暗視野顯微鏡 (darkfield microscopy) 來觀察硬下疳滲出液中的梅毒螺旋體，約有 15% 暗視野顯微鏡結果陽性的病人其血清為陰性 [15]。另外使用 PCR 去偵測梅毒螺旋體的 DNA 是診斷第一期梅毒的另一個選擇 [12]。

反順序 (reverse algorithm) 梅毒檢驗

近年來隨著實驗室逐步邁向自

動化軌道系統，一直有學者提議以自動化的免疫分析 (immunoassay) 來測試梅毒螺旋體抗體 (IgG 或是 IgG & IgM)，來取代目前以 RPR/VDRL 來做為梅毒初步的篩檢方式，即所謂的反順序 (reverse algorithm) 的梅毒檢驗 (圖三)，而其各種結果的臨床解釋，則見表一 [13,16,17]。反順序的梅毒檢驗之所以可行及被提出在於免疫分析 (不管是酵素免疫分析或化學冷光免疫分析) 對梅毒的偵測和非特異性梅毒螺旋體檢驗 (如 RPR) 有相似的敏感性且專一性較高，且經由自動化的系統大量且快速的執行梅毒的初步篩檢，可以大量的節省檢驗人力，對於檢體量大的臨床實驗室確實有其誘因 [16]。而相較於傳統的 RPR/VDRL 和 TPHA，免疫分析 (酵素免疫分析 IgG-ELISA 或化學冷光免疫分析 CLIA) 對各種不同時期梅毒的對於一期、二期和潛伏梅毒的診斷敏感性分別是 100%/98%、100%/100% 和 100%/100%，而整體的特異性則為 100%/99%，因此特別是第一期的梅毒感染，使用自動化的免疫分析來執行反順序的診斷流程會比傳統使用非特異性梅毒螺旋體檢驗 (如 RPR) 其敏感性會較高 [14]。為此美國 CDC 從 2006 年到 2010 年在五個不同地區的臨床實驗室，比較傳統及反順序兩種梅毒的診斷流程在實際臨床使用上的差異性，在這次的研究中，總共有 140176 個檢體被比較，其中有 3.4% (n = 4834) 的檢體其初步免疫分

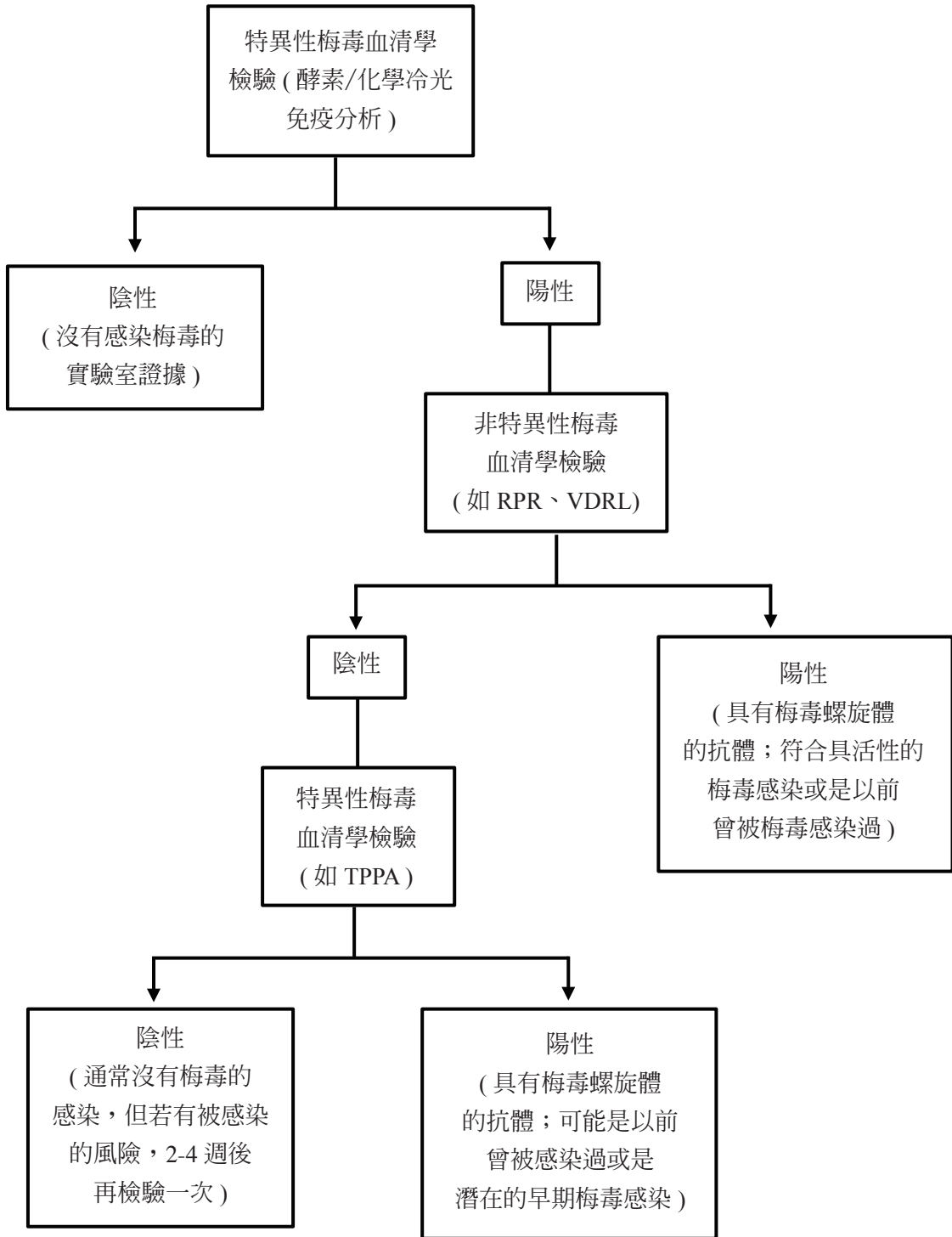


圖二 傳統梅毒檢驗流程[13]

析(反順序流程)為陽性，而這當中有 56.7% ($n = 2743$) 使用非特异性的梅毒血清學檢測(如 RPR)其結果為陰性，而這些不一致的檢體再使用特异性的梅毒血清學檢測(如 TPPA 或 FTA-ABS)，有 31.6% ($n = 866$) 呈現陰性結果，也就是使用反順序的診斷流程所造成的偽陽性結果[17]。特別是在梅毒盛行率較低的地區，使用 reverse algorithm 會有較高的初篩偽陽性而可能導致不必要的醫療浪費[17]，因此是否要全面性的使用 EIA

來取代 RPR 一直存在著爭議[16]。

而衛生福利部疾病管制署在 2016 年四月，因應梅毒檢驗方法產品的多元化與發展，修訂梅毒通報定義，將梅毒通報個案區分為第一期梅毒、第二期梅毒、第三期梅毒及潛伏性梅毒，只要符合以下的檢驗條件都該通報：(1) 未曾接受梅毒治療或病史不清楚者，其血清學非特异性梅毒螺旋體試驗(non-treponemal test)及特异性梅毒螺旋體試驗(treponemal test)陽性；(2) 臨床檢體(病灶滲出液、組



圖三 反順序 (reverse algorithm) 梅毒檢驗流程[13]

表一 反順序梅毒血清學檢測的建議結果報告判讀[13]

	測 試 順 序			實驗室結果 解釋	進一步措施
	第一步	第二步	第三步		
	特異性梅毒螺旋體檢驗 (如免疫分析)	非特異性梅毒螺旋體檢驗 (如 RPR)	特異性梅毒螺旋體檢驗 (如 TPPA)		
測 試 結 果	Non-reactive	—	—	沒有梅毒感染的實驗室證據。	如果最近確定有不安全性行為，建議 2-4 週後再檢驗一次。
	Reactive	Non-reactive	Non-reactive	無法確定具有梅毒螺旋體的抗體。無法確認是否有被梅毒螺旋體感染，有可能是感染初期，也可能是偽陽性。	需要進行臨床評估，包括症狀、徵候及過去病史。如果最近確定有不安全性行為，建議 2-4 週後再檢驗一次。
	Reactive	Non-reactive	Reactive	具有梅毒螺旋體的抗體。可能是以前曾被感染過或是潛在的早期梅毒感染。	需要進行臨床評估，包括症狀、徵候及過去病史。如果之前有因梅毒而接受治療且近期沒有不安全性行為，不需要進一步的臨床處置。如果之前沒有因梅毒接受治療過，依潛伏性梅毒的建議方式治療。如果最近確定有不安全性行為，建議 2-4 週後再檢驗一次。
	Reactive	Reactive	—	具有梅毒螺旋體的抗體。符合具活性的梅毒感染或是以前曾被梅毒感染過。	需要進行臨床評估，包括症狀、徵候及過去病史。

織等) 以暗視野顯微鏡、螢光抗體檢驗或核酸檢驗檢測出梅毒螺旋體；(3) 腦脊髓液性病研究實驗室試驗 (CSF-VDRL) 陽性；曾經接受梅毒治療者，其血清學非特異性梅毒螺旋體試驗 (non-treponemal test) 效價 ≥ 4 倍上升。而其中的特異性梅毒螺旋體試驗 (treponemal test)，則包含了梅毒螺旋體血液凝集試驗 (TPHA)、梅毒螺旋體粒子凝集試驗 (TPPA)、梅毒抗體間接螢光染色法 (FTA-ABS)、梅毒螺旋體乳膠凝集試驗 (TPLA)、梅毒螺旋體酵素免疫分析法 (EIA) 或梅毒螺旋體化學冷光免疫分析法 (CIA)。

治療及追蹤

Penicillin 目前仍是治療梅毒的首選藥物，雖然臨床上有許多的細菌對 penicillin 早已有抗藥性的產生，但梅毒螺旋體對 penicillin 仍保有高度的感受性，因此除非是對 penicillin 有過敏的病人才以紅黴素來替代，但是近年來梅毒螺旋體對紅黴素已經逐漸有抗藥性的產生[18]。而最近幾年 penicillin 的缺藥情況嚴重 (包括靜脈注射的 Aqueous crystalline penicillin G 以及肌肉注射長效型的 Benzathine penicillin G)，對於梅毒的治療及防治產生了嚴重的影響，值得有關單位重視。成功的治療通常是臨床症狀的解除 (如果有症狀的存在) 加上非特異抗體效價在治療 6-12 個月後有四倍以上的下降[19]，而 primary syphilis

在成功治療一年後、secondary 在治療二年之後而晚期的梅毒在治療五年之後其 RPR 通常會轉變成 non-reactive，然而仍有少數病人在完成治療之後其 RPR 的效價仍會長時間的維持在 1:1 到 1:2 的低效價，但是通常不會超過 1:4。若是有超過通常要考慮治療失敗、再次的感染或是其它原因所引起[20]。

結語

總之，隨著自動化平台中梅毒特異性抗體免疫分析的檢驗方法被引進，臨床醫療人員除了熟知傳統梅毒的檢驗流程之外，也應了解如何利用反順序 (reverse algorithm) 梅毒檢驗流程，來處置臨床病人以及其優缺點：如對一級梅毒的血清學診斷較傳統 RPR 敏感及在梅毒低盛行率地區可能產生較高的偽陽性問題。而臨床實驗室在引進自動化的梅毒特異性抗體檢驗之前，除了成本和人力的考量，也應了解所在地區梅毒的流行病學並充份和臨床醫護人員溝通，以免產生不必要的爭議或醫療成本的增加。

References

1. Franzen C: Syphilis in composers and musicians-Mozart, Beethoven, Paganini, Schubert, Schumann, Smetana. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2008;27:1151-7.
2. Rothschild BM: History of syphilis. Clin Infect Dis 2005;40:1454-63.
3. Harper KN, Fyumagwa RD, Hoare R, et al:

- Treponema pallidum infection in the wild baboons of East Africa: distribution and genetic characterization of the strains responsible. *PLoS One*, 2012;7: doi: 10.1371/journal.pone.0050882.
4. Nichols HJ, Hough WH: Demonstration of Spirochaeta Pallida in the Cerebrospinal Fluid. *JAMA* 1913;60:108.
 5. Fleming A: On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenzae. *Bull World Health Organ* 2001;79:780-90.
 6. Mahoney JF, Arnold RC, Sterner BL, et al: Penicillin Treatment of Early Syphilis: II. *JAMA* 1984;251:2005-10.
 7. Tramont EC: Syphilis in adults: from Christopher Columbus to Sir Alexander Fleming to AIDS. *Clin Infect Dis* 1995;21:1361-9.
 8. Lafond RE, Lukehart SA: Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:29-49.
 9. Hook EW 3rd, Marra CM: Acquired syphilis in adults. *N Engl J Med* 1992;326:1060-9.
 10. Garnett GP, Aral SO, Hoyle DV, et al: The natural history of syphilis. Implications for the transmission dynamics and control of infection. *Sex Transm Dis* 1997;24:185-200.
 11. Golden MR, Marra CM, Holmes KK: Update on syphilis: resurgence of an old problem. *JAMA* 2003;290:1510-4.
 12. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH: Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:1-21.
 13. Association of Public Health Laboratories (2015). Suggested Reporting Language for Syphilis Serology Testing. Available https://www.aphl.org/aboutAPHL/publications/Documents/ID_Suggested_Syphilis_Reporting_Lang_122015.pdf
 14. Sena AC, White BL, Sparling PF: Novel Treponema pallidum serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. *Clin Infect Dis* 2010;51:700-8.
 15. 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;34:1016-8.
 16. Loeffelholz MJ, Binnicker MJ: It is time to use treponema-specific antibody screening tests for diagnosis of syphilis. *J Clin Microbiol* 2012;50:2-6.
 17. Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Discordant results from reverse sequence syphilis screening-five laboratories, United States, 2006-2010. *MMWR* 2011;60:133-7.
 18. Katz KA, Klausner JD: Azithromycin resistance in treponema pallidum. *Curr Opin Infect Dis* 2008;21:83-91.
 19. Workowski KA, Bolan GA: Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep* 2015;64:1-137.
 20. Fiumara NJ: Serologic responses to treatment of 128 patients with late latent syphilis. *Sex Transm Dis* 1979;6:243-6.

The Differences in Syphilis Diagnosis between Traditional and Reverse Testing Algorithm and Its Impact on Clinical Interpretation

Cheng-Mao Ho^{1,2}, Mao-Wang Ho³

¹Department of Clinical Pathology and ²Infectious Disease, Taichung Tzu Chi Hospital, Buddhist Tzu Chi Medical Foundation

³Departments of Infectious Disease, China Medical University Hospital, Taichung, Taiwan

Syphilis is a historic disease. Its prevalence rate remained high despite treatment with penicillin. With the advent of automatic systems used in clinical laboratories, the reverse algorithm has been suggested, which involves the replacement of the traditional syphilis screening test (RPR/VDRL) with the immunoassay. To date, the reverse algorithm is approved by the Centers for Disease Control as an alternative method for syphilis diagnosis. As more automatic systems are available in the clinical laboratories in Taiwan, the reverse algorithm for syphilis diagnosis is mostly commonly used. Understanding the differences between the traditional and reverse algorithms for syphilis diagnosis would be essential for all medical staffs.

Key words: Syphilis, reverse algorithm, diagnosis, immunoassay