

บทความพิเศษ

การตรวจซีฟิลิสโดยวิธีนำเหลืองวิทยา

นพพรณ จารุรักษ์*

Charuruks N. Serological laboratory diagnosis of syphilis. Chula Med J 1993 Oct; 37(10) : 601-608

Syphilis occurs throughout the world, with majority of cases occur in sexually active adults between 15 and 30 years of age. Because sensitivity and specificity of various serological tests are dependent on disease state. This artical is a review of the different serological tests essentially for each stage of the disease.

Key words : *Syphilis diagnosis, Serological laboratory.*

Reprint request : Charuruks N, Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. April 16, 1993.

* ภาควิชาเวชศาสตร์ชันสูตร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ซิฟิลิสมีสาเหตุจากเชื้อ *Treponema pallidum* ระยะของโรคซิฟิลิสแบ่งออกได้เป็น 2 ระยะใหญ่ๆ คือ Early stage และ Late stage หรือ Latent stage (ตารางที่ 1) การวินิจฉัยโรคนอกจากจะอาศัยการซักประวัติตรวจร่างกาย

แล้ว ยังคงต้องอาศัยผลการตรวจจากห้องปฏิบัติการอย่างใดอย่างหนึ่งได้ทั้ง 2 อย่าง ต่อไปนี้ร่วมด้วยเสมอ คือ 1) การตรวจพบเชื้อ *T. pallidum* จากแผล และ/หรือ 2) การตรวจพบ Antibodies ในน้ำเหลืองของผู้ป่วย (Serological Tests)

Table 1. Classification of stages of acquired syphilis. (7)

Acquired syphilis :

1. Early stage
 - a. Primary
 - b. Secondary
 - c. Early latent
2. Late stage
 - a. Gummatous ("benign")
 - b. Cardiovascular
 - c. CNS
 - d. Late-stage latent

ปัจจุบันการตรวจหาเชื้อ *T. pallidum* ใช้วิธี Dark-field microscopy technique และ Immunofluorescence staining technique ส่วนวิธี Indian ink staining technique และ Silver staining technique ปัจจุบันเลิกใช้แล้ว การตรวจหาเชื้อ *T. pallidum* จากแผลมีข้อจำกัดอยู่หลายประการ คือ 1) จำกัดอยู่เฉพาะแผล primary และ secondary ในระยะ early stage เท่านั้น 2) ถ้าผลการตรวจเป็นลบ คือ ตรวจไม่พบเชื้อ ควรจะทำการตรวจซ้ำทุกวันติดต่อกันอย่างน้อย 3

วัน 3) การตรวจหาเชื้อในแผล secondary มักจะตรวจไม่พบนอกจากแผลที่อยู่ในบริเวณที่ชื้น 4) มีผลบวกปลอมจากเชื้ออื่นสูง ฉะนั้นการตรวจที่นิยมอยู่ในปัจจุบันจึงถือ การตรวจหา Antibodies ในน้ำเหลือง ซึ่งมีความสะดวกและสิ้นเปลืองน้อยกว่าจึงแพร่หลายไปทั่วโลก การตรวจหา antibodies นี้แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ Non-specific antitreponemal antibodies และ Specific antitreponemal antibodies (ตารางที่ 2)

Table 2. Tests to detect antibodies produced during treponemal infection. The year of introduction of each test is given in brackets. (7)

Non-specific antitreponemal antibodies	Antibodies specific for pathogenic treponemes
Antibodies to cardiolipin	
Wassermann reaction (1906)	TPI <i>Treponema pallidum</i> immobilization test(1949)
Kahn test (1928)	FTA-ABS Fluorescent treponema antibody absorbed test (1964)
Venereal disease Research Laboratory (VDRL) test (1946)	TPHA <i>Treponema pallidum</i> haemagglutination assay (1967)
Rapid plasma reagin test (1957)	
Automated reagin test (1957)	
Antibodies to group treponemal antigen	
Reiter protein complement fixation test (1953)	

Serological tests in clinical practice

เนื่องจากซีฟิลิสอาจจะเป็นควบคู่ไปกับโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์อื่น ๆ และ การวินิจฉัยโรคโดยการซักประวัติและตรวจร่างกายโดยขาดการตรวจทางห้องปฏิบัติการมักจะขาดความถูกต้องแม่นยำในการวินิจฉัยโรค(1) การตรวจทาง Serological tests จึงมีความสำคัญในการตรวจวินิจฉัยแยกโรค นอกจากนี้การตรวจทาง Serological tests ยังเป็นที่นิยมใช้ในการตรวจกรองเลือดในคนตั้งครรภ์ และผู้บริจาคเลือดเพื่อป้องกันการติดเชื้อทาง congenital และ transfusion จะเห็นว่า serological tests มีความสำคัญและความจำเป็นในทั้งการตรวจวินิจฉัยและตรวจกรองกับตัวอย่างเลือดเป็นจำนวนมากและซีฟิลิสเองเป็นโรคที่มีระยะโรคนานมากโรคหนึ่ง จึงมีความต้องการ serological tests ที่มีคุณสมบัติดังนี้ 1) มีความไวสูงกับทุกระยะของโรค (High sensitivity) 2) มีความจำเพาะเฉพาะโรคสูง (High

specificity) 3) มีความเที่ยง (Precision หรือ Reproducibility) คือให้ผลการทดสอบในตัวอย่างเดียวกันใกล้เคียงกันเมื่อทำการทดสอบซ้ำหลาย ๆ ครั้ง 4) มีความสะดวกง่าย และรวดเร็วในการทำ และ 5) มีราคาถูก แต่ไม่มีการทดสอบวิธีใดวิธีหนึ่งเพียงวิธีเดียวใน Serological tests ที่จะมีคุณสมบัติครบทั้ง 5 ประการ

เนื่องจาก Venereal disease research laboratory test (VDRL) มีความไวสูงกว่า *Treponema Pallidum* Hemagglutination (TPHA) ในระยะ Early stage และ TPHA มีความไวสูงกว่า VDRL ในระยะ Late stage(2-4) ฉะนั้นการตรวจกรองโรคซีฟิลิสที่ให้ประสิทธิภาพสูง จึงนิยมตรวจด้วย VDRL ร่วมกับ TPHA(2,3) ซึ่งทั้ง 2 วิธีเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและสะดวกแต่อย่างไรก็ตามแม้จะใช่การตรวจ VDRL ร่วมกับ TPHA การตรวจกรองโรคในระยะ Early Primary ของโรคก็ยังคงให้ผลไม่เป็นที่น่าพอใจนักจึงมักจำเป็นต้องใช้

Fluorescent treponemal antibody-absorption test (FTA-ABS) ซึ่งมีราคาแพงและยุ่งยากกว่าในการตรวจวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะติดเชื้อซิฟิลิสในระยะดังกล่าว(2) การตรวจ FTA-ABS นั้นนิยมใช้ตรวจเพื่อยืนยันการวินิจฉัยโรค

ในตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวก ในการตรวจ VDRL และ/หรือ TPHA(2,5) ผลของการตรวจด้วย VDRL, TPHA, และ FTA-ABS นั้นสามารถนำมาสรุปเป็นระยะต่าง ๆ ของโรคได้ (ตารางที่ 3, 4)

Table 3. Comparison of VDRL, TPHA, and FTA-ABS reactivity in various stages of syphilis.

Stage	Percent reactive		
	VDRL	TPHA	FTA-ABS
Primary syphilis	78	70	90
Secondary syphilis	97	98	100
Latent and late syphilis	75	96	97

Table 4. Commonly observed pattern of results of serological tests in different stages of acquired syphilis. (7)

VDRL	TPHA	FTA-ABS	Likely diagnosis
+	-	-	Flase-positive reaction.
-	-	+	Early primary syphilis.
+	-or+	+	Primary syphilis
+	+	+	Untreated or recently treated. Probably beyond primary stage.
-	+	+	Treated or partially treated at any stage.
-	+	-	Untreated latent or late. History of treated syphilis.

Patterns of serological results

Biological false-positive pattern

ในการตรวจทาง Serological tests ที่ให้ผลบวกซึ่งมิได้เกิดจากเชื้อ *T. pallidum* เรียกว่า False positive (FP) ประมาณ 1 ใน 4 ของ FP เกิดจากความผิดพลาดทางเทคนิค (Technical Errors) ในกรณีนี้การตรวจซ้ำจะได้ผลลบสาเหตุอื่น ๆ ของ FP ที่เกิดจากโรคอื่นเรียกว่า Biological false

positive (BFP) (ตารางที่ 5,6) การตรวจที่ได้ผลบวกเฉพาะ VDRL อย่างเดียวนั้นมักจะเกิดจาก BFP ฉะนั้นการตรวจซ้ำเพื่อตรวจสอบความผิดพลาดทางเทคนิคหรือค้นหา Atypical primary pattern จึงมีความจำเป็นโดยตรวจซ้ำที่ 1 สัปดาห์, 1 เดือน และ 3 เดือน ถ้าการตรวจยังคงได้ผลบวกเฉพาะ VDRL ที่ 6 เดือน ควรตรวจหาสาเหตุของ Chronic BFP อื่น ๆ(4-9)

October 1993

Table 5. Possible causes of biological false results in nonspecific serologic tests for syphilis. * (9,10,11)**False positives**

Acute (< 6 months)
 Infection (eg, atypical pneumonia, malaria, other viral or bacterial)
 Immunizations
 Pregnancy

Chronic (> 6 months)

Chronic infection (eg, lepromatous leprosy, tuberculosis)
 Autoimmune disorder (eg, lupus erythematosus, Hashimoto's thyroiditis, primary biliary cirrhosis, autoimmune hemolytic anemia, idiopathic thrombocytopenic purpura)
 Narcotic addiction
 Old age (abnormality of serum proteins, lymphoproliferative disorders)
 Lupus anticoagulant

False negatives

Earliness of infection
 Treatment
 Alcoholism
 Immunodeficiency
 Human immunodeficiency virus infection

* VDRL and rapid plasma reagin tests.

Table 6. Possible causes of biological false results in specific serologic test for syphilis * (9,10,11)**False positives**

Lupus erythematosus (systemic, discoid, drug-induced)
 Rheumatoid arthritis
 Hyperglobulinemia
 Cirrhosis (primary biliary, alcoholic)
 Treponemal infection (nonsyphilitic)
 Infectious mononucleosis
 Lepromatous leprosy
 Scleroderma
 Mixed connective tissue disease
 Genital herpes

False negatives

Earliness of infection
 Immunodeficiency
 Human immunodeficiency virus infection

* Fluorescent treponemal antibody absorption test.

Biological false-negative pattern

ในการตรวจทาง Serological tests ที่ให้ผลลบซึ่งผู้ป่วยติดเชื้อ *T. pallidum* อยู่เรียกว่า False negative (FN), FN ที่เกิดขึ้นบ่อยมักเกิดจากการเกิด "Prozone" ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อมี antibodies ในน้ำเหลืองสูงมากทำให้ไม่ได้สมดุลย์ในปฏิกิริยาระหว่าง Antibodies และ Antigens สามารถแก้ไขโดยการเจือจางน้ำเหลืองในตัวอย่างที่เราตรวจ(4,9,11) นอกจากนี้ FN ยังพบในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอดส์ และ พวกที่ภูมิคุ้มกันบกพร่องอื่น ๆ (ตารางที่ 5,6)(4-9) Center for Disease Control (CDC) และสหรัฐอเมริกาแนะนำว่า ผู้ป่วยซิฟิลิสทุกคนควรตรวจหา Human Immunodeficiency Virus (HIV) Antibody และผู้ป่วยเอดส์ทุกคนควรตรวจหาซิฟิลิส(5,10)

Primary syphilis

Typical pattern ในระยะนี้ VDRL และ FTA-ABS ในผลบวก ส่วน TPHA มักจะให้ผลลบ หรือผลบวกอย่างอ่อน (weakly reactive) ในช่วง Very early ของระยะนี้อาจจะพบว่าเฉพาะ FTA-ABS เท่านั้นที่ให้ผลบวกได้

Secondary syphilis

ในระยะนี้การตรวจ Quantitative VDRL และ TPHA ให้ผลบวกใน High titer และ FTA-ABS ก็ให้ผลบวกด้วย ซึ่งมี Pattern เช่นเดียวกับที่พบในระยะ Early Latent และ Late Stage รวมทั้งในช่วง Secondary ที่เพิ่งรักษาหายใหม่ ๆ ฉะนั้นการแปลผล Serological tests ต้องกระทำร่วมกับการซักประวัติ และตรวจร่างกาย(2,11)

Late-stage syphilis

VDRL Titer จะลดลงหลังจากช่วง Secondary และอาจได้ผลเป็นลบได้ถึงร้อยละ 30 ในผู้ป่วยระยะ Late stage ที่ไม่ได้รับการรักษา อย่างไรก็ตามใน Active cardiovascular, Neurosyphilis และ Gummatous lesions อาจจะมี VDRL ให้ผลบวกใน High Titer (16-128) ได้(2,4,12) ในระยะ Late Stage นี้ TPHA Titer ยังคงให้ผลบวกอยู่ (80-640) และอาจให้ผลบวกสูงมาก (> 5120) ในระยะ Active Late นี้ได้(2,4,11) ส่วน FTA-ABS ให้ผลบวก ถ้า TPHA เป็นการตรวจชนิดเดียวที่ให้ผลบวกมักจะให้ Titer ค่อนข้างต่ำ และมักจะเกิดจากโรคซิฟิลิสที่เคยได้รับการรักษามาก่อน(2,4,11)

After treatment

โดยทั่วไป VDRL มักจะให้ผลลบภายใน 1 ถึง 2 ปี หลังจากรักษาซิฟิลิสในระยะ Early stage ส่วนการรักษาในระยะ Late stage ผล VDRL อาจะยังคงพบได้ใน Titer ต่ำ ๆ (<8) อยู่หลายปีได้(2) VDRL ที่ Titer > 16 อาจจะมีพบได้ในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาไม่เพียงพอ(2) นอกจากนี้ VDRL อาจให้ผลลบได้ใน Late stage ที่ไม่ได้รับการรักษาถึงร้อยละ 30(2) การทำ Serial quantitative VDRL นั้นควรทำที่ 3,6,12 และ 24 เดือน สำหรับติดตามผลการรักษาผู้ที่ติดเชื้อในระยะ Early stage และ ควรติดตามถึง 5 ปี ใน ผู้ป่วยระยะ Late stage(2,5)

การเปลี่ยนแปลง Titer ในระยะ Early stage ขึ้นหรือลง 4 เท่าถึงจะถือว่ามีความสำคัญ ในระยะ Late stage และ Congenital ที่ได้รับการรักษาการเปลี่ยนแปลงของ Antibody อาจจะมีขึ้น ๆ ลง ๆ ได้(2,11)

สำหรับ TPHA นั้นให้ผลบวกตลอดชีวิตแม้จะได้รับการรักษาด้วย Penicillin จนครบเทอมก็ตาม(2,5) ในบรรดาการตรวจหา Antibody นั้น IgM-FTA-ABS ให้ผลน่าเชื่อถือและสอดคล้องกับผลการรักษาโรคซิฟิลิสในระยะต่าง ๆ IgM-FTA-ABS จะให้ผลลบใน 3 เดือนใน Early stage ที่ได้รับการรักษาจนหายและใน 1 ปีใน Late stage(2,3,11,12)

Congenital syphilis

การตรวจทาง Serological tests ในทารกที่ให้ Titer สูงกว่าในมารดา แสดงว่าเป็น Congenital syphilis สำหรับ IgM-FTA-ABS นั้นเป็นการตรวจที่ใช้ตรวจย้ำ Congenital syphilis ที่เชื่อถือได้ที่สุดในปัจจุบันในกรณีที่ไม่ใช่ Congenital syphilis และเพียงแต่มีการส่งผ่าน Antibody จากแม่ไปยังทารกในครรภ์ VDRL จะมี Titer ต่ำลงในทารกจนกระทั่งให้ผลลบใน 3 เดือน และ TPHA ถ้าจะมี Titer ต่ำลงจนกระทั่งให้ผลลบใน 6-12 เดือน(2,5,11,12,14)

Neurosyphilis

Neurosyphilis มักจะเกิดในระยะ Tertiary แต่ก็อาจจะเกิดขึ้นได้บ้างในระยะ Primary หรือ Secondary(2,5,15) การตรวจ TPHA หรือ FTA-ABS ในน้ำไขสันหลังที่ให้ผลเป็นลบ แสดงว่าไม่ได้เป็น Neurosyphilis แต่การตรวจ VDRL ในน้ำไขสันหลังที่ให้ผลเป็นลบไม่สามารถใช้ปฏิเสธการเป็น Neurosyphilis ได้ เพราะสามารถ

October 1993

ตรวจพบผลลบใน Active Neurosyphilis ได้ถึงร้อยละ 30-60(2,5,15) ส่วนการตรวจ TPHA หรือ FTA-ABS ในน้ำไขสันหลังที่ให้ผลเป็นบวกก็ไม่สามารถนำมาใช้ยืนยันการเป็น Neurosyphilis ได้ เพราะอาจมีการปะปนของ Antibody จากน้ำเหลืองเข้าไปในน้ำไขสันหลัง สำหรับ VDRL ในน้ำไขสันหลังนั้นมีความไวต่ำมาก แต่การตรวจพบผลบวกแสดงว่าน่าจะเป็น Neurosyphilis เพราะ Cardiolipin Antibody ไม่สามารถแทรกผ่าน Blood-Brain Barrier จากน้ำเหลืองเข้าไปปะปนในน้ำไขสันหลังได้ สรุปได้ว่า : 1) หากไม่มีหลักฐานทางคลินิกหรือทางห้องปฏิบัติการอย่างอื่นสนับสนุนผลบวกของ FTA-ABS ในน้ำไขสันหลังแล้ว ไม่สามารถวินิจฉัยว่าเป็น Neurosyphilis ได้ 2) ผลบวกของ VDRL ในน้ำไขสันหลังบ่งชี้ว่าน่าจะเป็น Neurosyphilis

นอกจากนี้การที่มีการตรวจพบเซลล์เม็ดเลือดขาว การเพิ่มของระดับโปรตีนในน้ำไขสันหลัง ก็ใช้เป็นปัจจัยบ่งชี้ว่ามีการอักเสบในระบบประสาท แต่การตรวจไม่พบเซลล์เม็ดเลือดขาว และการเพิ่มขึ้นของระดับโปรตีนในน้ำไขสันหลังก็ไม่สามารถใช้บ่งบอกว่าไม่มีการติดเชื้อในระบบประสาทได้

Luger และคณะ (1981) ได้นำ TPHA Index มาใช้ร่วมวินิจฉัย Neurosyphilis และพบว่า ค่า TPHA Index ที่สูงกว่า 100 ใช้บ่งชี้ภาวะ Active Neurosyphilis ได้ แม้นในผู้ป่วยที่มีปัญหา Impaired blood brain barrier patient(2,15-16)

$$\begin{aligned} \text{TPHA INDEX} &= \frac{\text{CSF TPHA TITER}}{\text{ALBUMIN QUOTIENT}} \\ &= \frac{\text{CSF TPHA TITER X SERUM ALBUMIN (mg/dl)}}{\text{CSF ALBUMIN (mg/dl) X } 10^3} \end{aligned}$$

อ้างอิง

1. Chapel TA, Brown WJ, Jafferries C, Stewart JA. How reliable is the morphological diagnosis of penile ulceration? Sex Transm Dis 1977 Oct - Dec ; 4 (4) : 150-2
2. Robertson DHH, McMillan A, Young H. Clinical Practice in Sexually Transmissible Diseases. 2nd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1989 : 108-82
3. Young H, Henrichsen C, Robertson DHH. Treponema pallidum haemagglutination test as a screening procedure for the diagnosis of syphilis . Br J Vener Dis 1974 Oct; 50(5) :341-46
4. Bauer JD. Clinical Laboratory Methods . 9th ed . St. Louis : CV Mosby, 1982 : 1035-48
5. Farnes SW, Setness PA. Serologic tests for syphilis. Postgrad Med 1990 Feb; 87(3) : 37-46
6. Ravel R. Clinical Laboratory Medicine : Clinical Application of Laboratory Data. 5th ed. St Louis ; Mosby- Year Book, 1989:561-68
7. Sparling PE. Sexually transmitted disease. In : Wyngaarden JB, Smith LH Jr, eds. Cecil Textbook of Medicine. Philadelphia : WB Saunders, 1988 : 1701 - 22
8. Conley CL, Savarese DM. Biological false-positive serologic tests for syphilis and other serologic abnormalities in autoimmune hemolytic anemia - and thrombocytopenic purpura. Medicine (Baltimore). 1989 Jan; 68(1) : 67- 84
9. Bernard C, de Moerloose P , Tremblet C, Reber G, Didierjean L. Biological true and false serological tests for syphilis : Their relationship with anticardiolipin antibodies. Dermatologica 1990 ; 180(3) : 151-3
10. Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Method. 17th ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1991 : 1093-6
11. Recommendations for diagnosis and treating syphilis in HIV-infected patients . MMWR 1988 Oct 7; 37(39) : 600-8
12. Daniels KC, Ferneyhaugh HS. Specific Direct fluorescent antibody detection of Treponema pallidum. Health Lab Sci 1977 Jul; 14(3):164-74

13. Luger A, Schmidt BL, Spendling WI. Quantitative evaluation of the FTA-ABS-IgM and VDRL test in treated and untreated syphilis. *Br J Vener Dis* 1977 Oct; 53(5) : 287-92
14. Huber TW, Storms S, Young P, Phillips LE, Rogers TE, Moore DG. Reactivity of Microhaemagglutination Fluorescent Treponemal Antibody Absorption Veneral Disease Research laboratory and Rapid Plasma Reagin Tests in Primary Syphilis. *J Clin Microbiol* 1983 Mar; 17(3) : 405-9
15. Luger A, Schmidt BL, Steyer K, Schonwald E. Diagnosis of Neurosyphilis by examination of the cerebrospinal fluid. *Br J Vener Dis* 1981 Aug; 57(4): 232-37
16. Luger A. Diagnosis of Syphilis. *Bull WHO* 1981 ; 59 : 647-55