

· 论 著 ·

# 酶联免疫吸附法与甲苯胺红不加热血清试验在梅毒 检验中诊断价值的比较

吴昊

(江苏省南通市老年康复医院检验科, 江苏南通 226001)

**摘要:**目的 比较酶联免疫吸附法(ELISA)与甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)在梅毒检验中的诊断价值。方法 随机选择 2015 年 1 月至 2016 年 12 月于该院进行梅毒检查的 1 500 例疑似病例进行临床研究。所有患者来诊后,使用梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)、ELISA、TRUST 三种方法进行梅毒螺旋体检测。以 TPPA 法检测结果为金标准,判断 ELISA 与 TRUST 检测的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值。结果 1 500 例疑似患者中梅毒确诊患者为 1 093 例,排除患者 407 例。ELISA 法检测的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 98.08%、96.07%、98.53%、94.09%,TRUST 法检测分别为 92.04%、87.22%、95.08%、80.32%。ELISA 各项指标均高于 TRUST,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 ELISA 对梅毒检验的灵敏度和特异度较高,但是不能反映病情的变化情况;TRUST 检测虽然灵敏度和特异度较低,但是其结果能随病情变化而变化,可以用作疾病治疗和预后的观察指标。因此在临床应用过程中应当将两种检查方法结合应用,在提高检查的准确性的同时也能够指导临床治疗,成为判断患者预后的依据。

**关键词:**酶联免疫吸附法; 甲苯胺红不加热血清试验; 梅毒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.23.028

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)23-3298-03

## Comparison of the diagnostic value of Enzyme-linked Immunosorbent Assay and Toluidine Red Unheated Serum Test for syphilis

WU Hao

(Department of Clinical Laboratory, Nantong Geriatric Rehabilitation Hospital, Nantong, Jiangsu 226001, China)

**Abstract: Objective** To compare the diagnostic value of Enzyme-linked Immunosorbent Assay(ELISA) and Toluidine Red Unheated Serum Test(TRUST) in the diagnosis of syphilis. **Methods** 1 500 suspected cases of syphilis in our hospital from January 2015 to December 2016 were randomly selected for clinical study. All patients were received three tests including TPPA, ELISA and TRUST for syphilis positive detection. The results of TPPA test were taken as the gold standard to estimate sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value of ELISA and TRUST. **Results** In 1 500 suspected cases, a total of 1 093 cases was diagnosed as syphilis and 407 cases were excluded. Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of ELISA were 98.08%, 96.07%, 98.53%, and 94.09% respectively. The values of TRUST were 92.04%, 87.22%, 95.08% and 80.32% respectively. The values of ELISA method were higher than those of TRUST, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Sensitivity and specificity of ELISA method for syphilis test is relatively high, but the results can't reflect the changes of the disease. Although sensitivity and specificity of TRUST assay is low, but the results can vary with changes of patients' condition, so they can be used as observation index for disease treatment and prognosis. Therefore, in the process of clinical application, two methods can be used together to improve the accuracy of the tests and guide the clinical treatment, which can also provide a basis for the prognosis.

**Key words:** Enzyme-linked Immunosorbent Assay; Toluidine Red Unheated Serum Test; syphilis

梅毒是临床常见的性传播疾病之一,而且近年梅毒的患病率呈现逐年增长的趋势。梅毒螺旋体的检测方法中,目前准确性最高的是梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA),但是该检测的试剂盒价格昂贵,难以作为常规筛查手段<sup>[1-3]</sup>。酶联免疫吸附法(ELISA)与甲苯胺红不加热血清试验(TRUST)是临床上常用的检测梅毒螺旋体的实验室方法,为了比较两种方法的优劣,为后续的检验工作提供理论依据,特进行了本次研究,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 随机选择 2015 年 1 月至 2016 年 12 月至本院进行梅毒检查的疑似梅毒病例 1 500 例进行临床研究。其中男性 843 例,女性 657 例,年龄 20~59 岁,平均年龄(43.82±11.33)岁。

**1.2 方法** 所有患者就诊后,均给予 TPPA、ELISA、TRUST

三种方法进行梅毒螺旋体阳性检测。具体检测方法如下。(1)TPPA 检测<sup>[4]</sup>:每份标本做 9 孔,在 U 型反应板加入标本稀释液(B液),第 1 孔 100 μL,其余 8 孔均为 25 μL,使用移液器取出 25 μL 血清至第 1 孔,混匀后取 25 μL 至第 2 孔,再取 25 μL 至第 3 孔,后面同前,直至第 9 孔,第 10 孔混匀后弃去 25 μL,然后在第 3 孔中加 25 μL 未致敏粒子 D 液,第 4~9 孔中加入 25 μL 致敏粒子 C 液,微量反应板置于振荡器内,振荡 30 s,放置到有益湿盒内,在 15~30 ℃ 的室温下伙子 37 ℃ 孵箱内静置 120 min,观察结果。(2)ELISA 检测<sup>[5]</sup>:在预包被板条孔中分别加入 50 μL 血清标本,同时设置阳性、阴性、空白对照,在 37 ℃ 温育 60 min。取出板条孔,在阳性、阴性和对照孔内分别加入 50 μL 酶标记物,振荡摇匀,在 37 ℃ 温育 30 min。取出,洗板,在每个孔中加入 50 μL 底物缓冲液,振荡摇匀,在 37 ℃ 温育 30 min,每孔中加入 50 μL 终止液,混匀。在酶标仪(ST-

360 酶标仪,上海天呈科技有限公司)上读出数值。样品 OD 值  $S/CO \geq 1$  表示梅毒抗体为阳性,样品 OD 值  $S/CO < 1$  为梅毒抗体阴性。(3)TRUST 检测<sup>[6]</sup>:在加样卡片圈中放置 50  $\mu$ L 血清样本,将其均匀涂布于整个卡片圈,轻轻摇匀抗原液,试剂盒为上海荣盛生物药业有限公司生产,使用试剂盒提供的针头加抗原液 1 滴,然后将卡片放置到立体脱色摇床上,以 100 r/min 速度振荡摇匀 8 min,在亮光下立即观察结果。一般以圆圈内出现红色或者粉色絮状物为阳性,以圆圈内件甲苯胺红颗粒聚集中央一点或者均匀分布作为阴性。

**1.3 分析指标** 观察 ELISA 法与 TRUST 法对 1 500 例患者检查的阳性结果,以 TPPA 法检测结果为最终诊断结果,判断 ELISA 法与 TRUST 法检测的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值。

**1.4 统计学处理** 用 SPSS19.0 统计学数据处理软件处理研究中所有相关数据,计数资料采用例数表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

以 TPPA 法检测结果作为金标准,1 500 例疑似病例中梅毒确诊患者为 1 093 例,排除 407 例,ELISA 法与 TRUST 法检测结果详见表 1、表 2。ELISA 法检测的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值均高于 TRUST 法差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),详见表 3。

**表 1 ELISA 法对梅毒患者检测结果 (n)**

ELISA 法	TPPA 法		合计
	+	-	
+	1 072	16	1 088
-	21	391	412
合计	1 093	407	1 500

**表 2 TRUST 法对梅毒患者检测结果 (n)**

TRUST 法	TPPA 法		合计
	+	-	
+	1 006	52	1 058
-	87	355	442
合计	1 093	407	1 500

**表 3 ELISA 法与 TRUST 法对梅毒检测性能比较 (%)**

组别	n	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
ELISA 法	1 093	98.08	96.07	98.53	94.90
TRUST 法	1 093	92.04	87.22	95.08	80.32
$\chi^2$		41.154	19.657	19.632	39.758
P		0.000	0.000	0.000	0.000

**3 讨 论**

梅毒是一种全世界流行的性传染疾病,全球每年的新发病例约为 1 200 万,南亚、东南亚为集中发病区域。近年来我国梅毒患者的数量迅速增长,已经成为报告病例数最多的性病,其中潜伏梅毒占多数,一、二期梅毒也比较常见,而先天梅毒的患者数量也在增加<sup>[7-8]</sup>。

梅毒患者的皮肤和黏膜中均含有梅毒螺旋体,在接触梅毒患者过程中,皮肤或者黏膜稍有破损即可被感染<sup>[9]</sup>。而且潜伏期、一期、二期的梅毒孕妇也有很高概率传染给胎儿,或者导致死产、流产、早产、婴儿早夭,是一种对妇女儿童健康产生严重

危害的疾病<sup>[10]</sup>。潜伏期梅毒患者可无临床表现,晚期可累及到关节、心血管、神经等系统,患者丧失劳动能力,影响家庭稳定,也增加了社会负担<sup>[11-12]</sup>。梅毒的治疗强调早期诊断、早期治疗,疗程规整,剂量足够,因此梅毒的早期诊断一直是临床研究的重点课题之一。

TPPA 目前被认为是梅毒确诊的金标准,具有极高的准确性,但是其试剂价格昂贵,不能作为早期筛查手段使用,也限制其在基层医院的应用,通常是作为复查手段,排除假阳性诊断<sup>[13]</sup>。TPPA 是通过提取 Nichols 株梅毒螺旋体特异性抗原进行检查,对梅毒螺旋体抗体的效价进行测定,因此不受生物因素的影响,具有非常好的特异度和灵敏度<sup>[14]</sup>。由于患者一旦感染梅毒,体内终生携带有抗原,因此这种检查方法只能确定患者既往感染过梅毒,不能观察患者病情的变化,而且不容易实现结果的自动化评价。ELISA 法与 TRUST 法是目前临床应用比较广泛的梅毒血清学筛查方法<sup>[15]</sup>。TRUST 主要通过检查抗心磷脂抗体来确诊梅毒。这种检查方法的假阳性率和假阴性率较高,但是其价格低廉,患者容易接受,而且其检查结果会随患者病情变化而变化,可以用来监测患者的病情变化。二期梅毒的滴度最高,而随着病情发展至三期梅毒,其滴度反而降低,因此也可以作为临床治疗方案制定和调整的依据。而且 TRUST 在梅毒病灶出现 7~14 d 就可以有阳性结果,适用于早期筛查。ELISA 法是通过基因重组梅毒螺旋体的特异性抗原 TP47 和 TP17 包被酶板孔,使用双抗原夹心法对梅毒螺旋体的特异性抗原 IgM 和 IgG 抗体进行检测的一种方法,这种方法能够减少主观判定的误差,使用定位酶标仪对结果进行判读,提高了检出率,是一种可靠的检测方法。

从本次研究来看,以 TPPA 法检测结果作为诊断金标准,1 500 例疑似患者中梅毒确诊患者为 1 093 例,排除患者 407 例,ELISA 法检测的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值均高于 TRUST 法差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。说明在检测的准确性上,ELISA 法明显优于 TRUST 法。但是从检测的特点来说,三种检测方法各有所长,也各有弊端。ELISA 法检测准确性高,但是不能够反映病情变化,TRUST 法检测的灵敏度和特异度略低,但是其滴度变化可以作为患者病情变化的观察指标,而 TPPA 法检测准确性最高,但是成本高,通常是作为 ELISA 法和 TRUST 法检测出阳性结果后复查使用,以便剔除假阳性和假阴性结果,提高检测的准确率。

综上所述,ELISA 法对梅毒检验的灵敏度和特异度最高,但是不能反映病情的变化情况;TRUST 法检测虽然灵敏度和特异度较低,但是其结果能随病情变化而变化,可以用作疾病治疗和预后的观察指标。因此在临床应用过程中应当将两种检查方法结合应用,一方面避免漏诊和误诊,提高检查的准确性,另一方面也能够为患者治疗方案的确定和调整提供指标,成为判断患者预后的依据。

**参考文献**

[1] 刘冰. 酶联免疫吸附法检测梅毒抗体与甲苯胺红不加热血清试验检测梅毒螺旋体结果对比分析[J]. 河南预防医学杂志, 2015, 26(5): 377-378.  
 [2] 郭家权, 洪敏, 林永前. 酶联免疫吸附法检测与甲苯胺红不加热血清试验在梅毒检验中应用价值的比较[J]. 广东医学, 2014, 35(5): 738-740.  
 [3] 丁国良, 商发奎, 延义芹, 等. 采供血机构对梅毒螺旋体检测的最佳方案探讨[J]. 国际输血及血液学杂志, 2014, 37(3): 222-225.

TNM 分期为 III + IV 期的患者体内 Smad4 阳性表达率则显著低于 I + II 期;伴有淋巴结转移的患者体内 EGFR 和 VEGF 阳性表达率显著高于无淋巴转移的患者,而伴有淋巴转移的患者体内 Smad4 阳性表达率则显著低于无淋巴结转移。Pearson 分析结果显示,EGFR 和 VEGF 阳性表达率与淋巴结转移呈正相关,Smad4 阳性表达率与淋巴结转移呈负相关。本研究认为 EGFR、VEGF 和 Smad4 参与了乳腺癌的发生、发展,其中 EGFR 和 VEGF 阳性表达率与淋巴结转移呈正相关,而 TGF- $\beta$ /Smads 信号通路活性与淋巴结转移呈负相关。EGFR 和 VEGF 的高表达可促进肿瘤细胞的生长、增殖、分化、血管新生和转移,抑制肿瘤的凋亡,促进肿瘤的进展;而 Smad4 的高表达则对肿瘤的进展具有抑制作用。关于 VEGF、EGFR 和 Smad4 在淋巴结转移中具体的作用机制和信号途径则有待进一步研究。

综上所述,VEGF、EGFR 和 Smad4 在乳腺癌的发生、发展中发挥着重要的作用。EGFR 和 VEGF 阳性表达率与淋巴结转移呈正相关,而 Smad4 阳性表达率与淋巴结转移呈负相关,其对评估乳腺癌患者的预后具有一定的指导意义。

#### 参考文献

[1] 王超群,黄必飞,胡桂女,等.表皮生长因子受体 1 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J].中华实验外科杂志,2015,32(11):2822-2822.

[2] 熊立新.VEGF 和 EGFR 在青年乳腺癌的表达及其与淋巴结转移的关系[J].中国普通外科杂志,2012,21(5):614-616.

[3] 刘楠楠,李玉林,孙立伟,等.Smad2 和 Smad4 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其意义[J].吉林大学学报(医学版),2016,0(4):763-767.

[4] 李嗣杰,贾泓瑶,韩冰,等.信号转导及转录活化因子 3 蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J].吉林大学学报:医学版,2011,37(1):72-75.

[5] 孙红艳,伍治平,邹天宁,等.乳腺癌组织 COX-2 和 VEGF-C 表达与淋巴转移的相关性研究[J].中华肿瘤防治杂志,2009,16(1):51-54.

[6] 程甜甜,杨贤子,骆志国.MCM2 基因和蛋白在乳腺癌组织中的表达及其临床意义.实用癌症杂志,2014,0(9):1067-1069.

[7] 孟垂叶,王霞,韩金霞.SOX2、EGFR 在乳腺癌组织中的表达及临床意义[J].滨州医学院学报,2015,38(6):423-425.

[8] 高亚丽,任铁军,薛琪,等.TIP30、EGFR 在 HER-2 阳性乳腺癌诊疗中的价值探讨[J].中国妇幼保健,2015,30(10):1525-1527.

[9] 汤永峰,谢莉莉.PTEN、p53 和 EGFR 在乳腺癌中的表达与临床意义[J].现代肿瘤医学,2014,22(2):345-349.

[10] 张景华,王保信.乳腺癌组织中 HSG 和 EGFR 的表达及其与临床病理特征的关系[J].实用癌症杂志,2013,28(1):24-27.

[11] Nicholson RI, Gee JM, Harper ME. EGFR and cancer prognosis[J]. European Journal of Cancer, 2001, (Suppl 4):S9.

[12] 谭林深,秦海明,朴瑛等.异黏蛋白和血管内皮生长因子蛋白在三阴性乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J].中华肿瘤杂志,2015,37(11):827-832.

[13] 李海峰,刘芳,温立梅等.表皮生长因子受体、血管内皮生长因子和孕激素受体在乳腺癌患者乳腺组织的表达[J].中国老年学杂志,2010,30(20):2911-2912.

[14] 陈国平,范平明,夏立平等.Smad4、TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ R1 表达与乳腺癌细胞恶性程度的相关性[J].中国老年学杂志,2015,35(24):7009-7010.

[15] 夏立平,张进芳,张嵩.TGF- $\beta$ 1/Smad4 在乳腺癌细胞中的表达及意义[J].实用医学杂志,2011,27(16):2953-2955.

[16] 吕晓红,杨树才,李鑫磊等.Smad4 和 VEGF-C 的表达与乳腺癌淋巴管生成之间的关系[J].解剖科学进展,2013,19(4):316-319.

(收稿日期:2017-06-12 修回日期:2017-08-25)

(上接第 3299 页)

[4] 姚家奎,丁德坤,孙蓉,等.应用多种方法检测老年患者梅毒抗体的探讨与分析[J].国际检验医学杂志,2012,33(19):2376-2378.

[5] 陈述文,梁连辉,蔡常辉,等.四种方法检测早期梅毒螺旋体感染的临床应用评价[J].国际检验医学杂志,2012,33(21):2633-2634.

[6] Shin J, Kho SA, Choi YS, et al. Antibody and T cell responses to fusobacterium nucleatum and treponema denticola in health and chronic periodontitis[J]. PLoS One, 2013,8(1):e53703.

[7] Loeffelholz MJ, Binnicker MJ. It is time to use treponema-specific antibody screening tests for diagnosis of syphilis[J]. J Clin Microbiol, 2012,50(1):2-6.

[8] 郑伟,杜艳丽,王慧媛,等.三种梅毒螺旋体 IgM 抗体检测方法在献血员筛查中的意义评价[J].航空航天医学杂志,2013,17(4):405-406.

[9] 刘春华,孙国清,薛秀娟,等.TPPA 和酶联免疫吸附法在梅毒诊断中的作用[J].中国医药科学,2014,4(6):142-

144.

[10] 唐满玲,顾敏,将最明,等.几种梅毒血清学检测方法的评价及临床应用[J].国际检验医学杂志,2012,33(9):1105-1107.

[11] 夏雁南.化学发光微粒子免疫分析法对梅毒螺旋体特异性抗体的检测价值探究[J].中国性科学,2013,22(1):40-41.

[12] 薛大奇.我国梅毒防治面临的挑战及对策[J].中国性科学,2012,21(1):15-16.

[13] 柴银柱,张俊强,宋玉平,等.综合医院 HIV 抗体和梅毒抗体检测结果分析[J].中国性科学,2013,22(1):36-39.

[14] 薛大奇,薛立纬,薛少真,等.梅毒预防控制问题的思考[J].中国性科学,2013,22(3):40-45.

[15] 蒋银,王红华,冯娅萍,等.三种梅毒血清学试验在梅毒诊断中的临床对比研究[J].中国性科学,2013,22(11):40-42.

(收稿日期:2017-07-11 修回日期:2017-09-24)