

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.01.013

应用回归方程设置 CLIA 法检测梅毒抗体的灰区范围

张志远¹, 罗夏菲², 刘荣静^{1△}

广州医科大学附属第二医院:1. 检验科;2. 产科, 广东广州 510260

摘要:目的 研究化学发光免疫分析(CLIA)法检测梅毒抗体时 S/CO 值与阳性预测值的相关关系,建立两者间的回归方程,并应用于设置该方法的灰区范围,以应对检测结果出现假阳性的问题。**方法** 收集 CLIA 法检测梅毒抗体呈阳性(S/CO 值 ≥ 1)的血清标本 878 例,按照 S/CO 值在 $1 < 3$, $3 < 5$, $5 < 7$, $7 < 9$, $9 < 11$, ≥ 11 的范围将所有标本分为 6 个组;以梅毒螺旋体抗体明胶颗粒凝集试验(TPPA)为确证试验对各组标本梅毒抗体进行确认检测,计算各组标本 CLIA 法的阳性预测值;用 SPSS20.0 统计软件对 CLIA 法 S/CO 值与阳性预测值的关系进行曲线估计,获取最佳曲线模型并建立回归方程,通过回归方程设置 CLIA 法检测血清梅毒抗体的灰区范围。**结果** 878 例 CLIA 法检测梅毒抗体呈阳性的血清标本,经 TPPA 检测确认阳性(包括弱阳性)779 例,阴性 99 例;S/CO 值在 $1 < 3$, $3 < 5$, $5 < 7$, $7 < 9$, $9 < 11$, ≥ 11 这 6 个组的阳性预测值分别为 50.77%、79.28%、89.28%、97.80%、98.57%、100.00%;回归分析显示 CLIA 法 S/CO 值与阳性预测值的关系呈 S 型曲线,回归方程为 $Y = e^{-1.692/X + 0.174}$, CLIA 法检测梅毒抗体的灰区范围设置为 $1 \leq S/CO \leq 7.52$ 。**结论** 通过建立 CLIA 法 S/CO 值与阳性预测值的回归方程,可以为该方法检测梅毒抗体设置较为理想的灰区范围,并可以对检测的假阳性状况进行评估。

关键词:化学发光免疫分析; 梅毒抗体; 回归方程; 灰区范围

中图法分类号:R446.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)01-0048-04

Application of regression equation for setting gray zone of CLIA method in detecting syphilis antibody

ZHANG Zhiyuan¹, LUO Xiafei², LIU Rongjing^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Obstetrics, Second

Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510260, China

Abstract: Objective To investigate the correlation between S/CO value and positive prediction value in CLIA for detecting syphilis antibody to establish the regression equation between them and apply it to set the gray zone range in order to cope with the false positive question in detection results. **Methods** A total of 878 cases of positive serum sample (S/CO ≥ 1) detected by CLIA method were collected and divided into six groups according to the S/CO values in the ranges of $1 < 3$, $3 < 5$, $5 < 7$, $7 < 9$, $9 < 11$, ≥ 11 ; the syphilis antibody in each group samples conducted the confirmation detection by treponema pallidum particle agglutination (TPPA) as the confirmatory test. The positive predictive values were calculated in each group; the SPSS20.0 statistical software was used to conduct the curve estimation of S/CO value and positive prediction value detected by the CLIA method for obtaining the optimal curve model and establishing the regression equation. Then the gray zone of serum syphilis antibody detected by the CLIA method was set by the regression equation. **Results** Among 878 cases of syphilis antibody positive serum samples tested by using the CLIA method, 779 cases were confirmed as positive (including weak positive) by the TPPA method, 99 cases were negative; for the six groups with the S/CO value ranges of $1 < 3$, $3 < 5$, $5 < 7$, $7 < 9$, $9 < 11$, ≥ 11 , the positive predictive values were 50.77%, 79.28%, 89.28%, 97.80%, 98.57% and 100.00% respectively; the regression analysis showed that the relationship between S/CO values and the positive predictive values in the CLIA method was present as the S-shaped curve, the regression equation was $Y = e^{-1.692/X + 0.174}$, and the gray zone range of the CLIA method for detecting syphilis antibody was $1 \leq S/CO \leq 7.52$. **Conclusion** By establishing the regression equation of S/CO values and the positive predictive values in the CLIA method, an ideal gray zone can be set for the detection of syphilis antibody by CLIA, moreover can evaluate the false positive

作者简介:张志远,男,主管技师,主要从事生物化学方面的研究。△ 通信作者, E-mail:13660193136@139.com。

本文引用格式:张志远,罗夏菲,刘荣静.应用回归方程设置 CLIA 法检测梅毒抗体的灰区范围[J].检验医学与临床,2021,18(1):48-51.

status of the detection.

Key words: CLIA; treponema pallidum antibody; regression equation; gray zone range

梅毒是由梅毒螺旋体引起的一种慢性全身性传播疾病,在我国属于法定乙类传染病,血清学试验是临床实验室检测梅毒的常用方法。化学发光免疫分析(CLIA)法凭借其灵敏度高、特异性强、结果判定客观、适于自动化检测等诸多优点,被临床广泛应用于梅毒抗体的检测^[1-2]。但是作为一种筛查方法,其检测结果中有一定比例的假阳性,临床实验室将这些假阳性结果报告出去,可能会让临床医生产生疑惑,或者给受检者带来一些麻烦和心理伤害,甚至会引起医患纠纷。为了减少因试验假阳性造成的误诊,提高检验报告准确性,可以将测定中处于临界值(Cut-off 值)附近、临床意义可疑的一部分结果,设置为检测的“灰区范围”,达到提醒临床医生注意和重视的目的。笔者对本实验室使用 CLIA 法检出的 878 例梅毒抗体阳性血清标本,采用梅毒螺旋体颗粒凝集试验(TPPA)为确证试验进行确认,通过研究 CLIA 法 S/CO 值与检测阳性预测值的相关关系,获得两者间的关系模型及回归方程,并以此设置本实验室 CLIA 法检测梅毒抗体的灰区范围,现将方法和结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2019 年 1—12 月广州医科大学附属第二医院检验科使用 CLIA 法检测梅毒抗体结果为阳性(S/CO \geq 1)的血清标本,共计 878 例。

1.2 仪器与试剂 Architect i2000 全自动化学发光免疫分析仪及原装配套试剂,来自美国雅培公司;TP-PA 试剂盒(内含溶解液、血清稀释液、致敏粒子、未致敏粒子、阳性对照血清),为日本富士瑞必欧株式会社产品;质控品来自广东省临床检验中心。

1.3 方法

1.3.1 标本处理 干燥管抽取静脉血液 3~5 mL,待血液自行凝固后 3 500 r/min 离心 5 min,分离血清待检。

1.3.2 CLIA 的检测流程及结果判定 (1)对 Architect i2000 全自动化学发光免疫分析仪进行常规维护和保养;(2)项目质控监测,质控合格后开始标本的检测;(3)记录每个标本测得的 S/CO 值。结果判定:S/CO 值 \geq 1 判定为梅毒抗体阳性,S/CO 值 $<$ 1 判定为梅毒抗体阴性。

1.3.3 TPPA 的检测流程及结果判定 (1)用微量加样器将血清稀释液加入微量反应板中,第 1 孔 100 μ L,第 2 孔至第 4 孔各 25 μ L;(2)吸取 25 μ L 标本至第 1 孔中,吹打混合均匀,然后吸出 25 μ L 加入第 2 孔,以 2" 的方式稀释至第 4 孔;(3)向第 3 孔中滴入

25 μ L 未致敏粒子,在第 4 孔中滴入 25 μ L 致敏粒子;(4)用振荡混匀器以不会导致微量反应板内容物溅出的强度振荡混匀 30 s,加盖后于室温(15~30 $^{\circ}$ C)水平静置。2 h 后,观察其反应图像并进行结果判断和记录。结果判定:观察微量反应板第 3、4 孔中粒子形成的反应图像,参照表 1 进行判断。

表 1 TPPA 反应图像判定表

反应图像	判定
粒子成纽扣状聚集,呈现出外周边缘均匀且平滑的图形	阴性
粒子形成小环状,呈现出外周边缘均匀且平滑的圆形	弱阳性
粒子环明显变大,其外周边缘不均匀且杂乱地凝集在周围	阳性
产生均一的凝集,凝集粒子在底部整体上呈膜状延展	阳性

1.4 统计学处理 对 878 例血清标本经 CLIA 法检测获得的 S/CO 值,按照 S/CO \geq 值 1~ $<$ 3、3~ $<$ 5、5~ $<$ 7、7~ $<$ 9、9~ $<$ 11、 \geq 11 将标本分为 6 组,以 TPPA 结果为金标准,计算出各组 CLIA 法检测的阳性预测值;对各组的阳性预测值与 S/CO 值的关系进行曲线拟合,分析最适合的曲线模型并建立回归方程。

1.5 检验体系灰区的设置 为了使灰区范围以外的阳性结果有 95% 以上的可信度,根据曲线拟合建立的回归方程,计算出 CLIA 法检测阳性预测值达到 95% 时的 S/CO 值,设为本实验室 CLIA 法检测血清梅毒抗体灰区范围的上限,以 S/CO 值=1 设置为灰区的下限。

2 结 果

2.1 TPPA 法对 878 例 CLIA 法检测梅毒抗体呈阳性的血清标本确认结果 878 例标本经 TPPA 法检测,确认阳性(包含弱阳性)标本 779 例,阴性标本 99 例。CLIA 法的阳性预测值为 88.72%。如表 2 所示,S/CO 值在 1~ $<$ 3、3~ $<$ 5、5~ $<$ 7、7~ $<$ 9、9~ $<$ 11、 \geq 11 的 6 个组的阳性预测值分别为 50.77%、79.28%、89.28%、97.80%、98.57%、100.00%。

表 2 S/CO 值在 1~ $<$ 3、3~ $<$ 5、5~ $<$ 7、7~ $<$ 9、9~ $<$ 11、 \geq 11 的 6 组标本 TPPA 确认结果

S/CO 值	阳性(n)	阴性(n)	合计(n)	阳性预测值(%)
1~ $<$ 3	66	64	130	50.77
3~ $<$ 5	88	23	111	79.28
5~ $<$ 7	75	9	84	89.28
7~ $<$ 9	89	2	91	97.80
9~ $<$ 11	69	1	70	98.57
\geq 11	392	0	392	100.00
合计	779	99	878	88.72

2.2 CLIA 法检测血清梅毒抗体 S/CO 值与检测阳性预测值的相关性分析 使用 SPSS20.0 软件对表 2 的数据进行曲线估计,表 3 是 11 种曲线模型的拟合结果,其中 S 型模型有统计学意义($P=0.000$),决定

系数 $R^2=0.997$ 最高,故为最适合的模型。建立的 S 型模型的回归方程: $Y=e^{-1.692/X+0.174}$,其中自变量 X 为 S/CO 值,因变量 Y 为阳性预测值。图 1 为 S 型模型的拟合曲线,可见效果比较满意。

表 3 表 2 数据 11 种模型曲线拟合结果

方程	模型汇总					参数估计			
	R^2	F	$df1$	$df2$	Sig	常数	b1	b2	b3
线性	0.838	15.573	1	3	0.029	0.489	0.057		
对数	0.966	84.413	1	3	0.003	0.328	0.305		
倒数	0.995	564.379	1	3	0.000	1.108	-1.212		
二次	0.988	79.643	2	2	0.012	0.204	0.179	-0.010	
三次	0.995	66.665	3	1	0.090	0.054	0.285	-0.030	0.001
复合	0.782	10.740	1	3	0.047	0.510	1.080		
幂	0.935	42.944	1	3	0.007	0.406	0.418		
S	0.997	958.418	1	3	0.000	0.174	-1.692		
增长	0.782	10.740	1	3	0.047	-0.673	0.077		
指数	0.782	10.740	1	3	0.047	0.510	0.077		
Logistic	0.782	10.740	1	3	0.047	1.960	0.926		

注:曲线估计时设定因变量为阳性预测值,自变量为 S/CO 值。

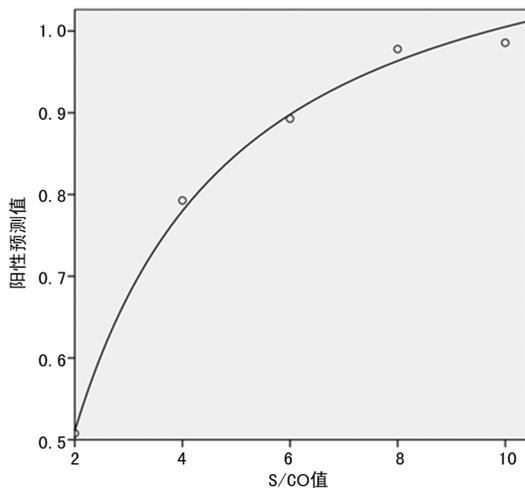


图 1 表 2 数据 S 型模型的拟合曲线

2.3 灰区范围设置 根据 S 型曲线回归方程 $Y=e^{-1.692/X+0.174}$,当阳性预测值 $Y=0.95$ 时, $X=7.52$ 。即 S/CO=7.52 时,阳性预测值可达 95%。因此可设置检验体系的灰区为 $1 \leq S/CO \leq 7.52$ 。

3 讨论

抗体检测的假阳性问题是长期以来梅毒研究者广泛关注的热点之一[3]。近年来,尽管全自动化学发光仪和检测试剂的性能都取得了很大提升,但 CLIA 法检测梅毒抗体假阳性问题依然没有得到令临床满意的解决方案。因此,世界各国和地区都采用了多元化的梅毒血清学诊断策略。美国疾病预防控制中心、加拿大梅毒实验室工作小组和中国国家卫生健康

委员会出台的相关指南和行业标准,都推荐了使用 TPPA 对 CLIA 法检测呈阳性的标本进行复查。多项研究也证明 TPPA 有较高的灵敏度和特异度,可作为梅毒抗体检测的确证试验。

在本研究中,878 份 CLIA 法检测为阳性的标本,经 TPPA 检测后确认有 99 例实际应为阴性,即有 11.28% 的标本经 CLIA 法检测结果呈假阳性。分析其原因:(1)CLIA 法检测梅毒抗体的结果判定标准是将标本中存在的梅毒抗体经过一系列反应后产生的化学发光信号与预先校准确定的 Cut-off 信号进行比较,根据 S/CO 值是否 ≥ 1 确定标本是否存在梅毒抗体。为了保证检测体系有较高的灵敏度,仪器在设定 Cut-off 信号时会将其设定得偏低,相应地会使得检测结果 S/CO 值偏高,导致部分结果为假阳性。(2)标本来源。相关研究表明,恶性肿瘤、心血管疾病、肝炎、自身免疫性疾病、血液病等疾病患者的血清中可能含有某些治疗性抗体、类脂嗜异性抗体、自身抗糖尿病抗体、类风湿因子、甲胎蛋白等[4-5],这些物质能够与试剂中的抗原成分非特异性结合,从而产生假阳性。另外,年龄也是假阳性产生的一个重要因素,一些研究表明老年人梅毒抗体测定的假阳性率偏高[6-7],且阳性率随年龄增大呈阶梯性增高[8-10],可能是因为老年人身体功能衰退,能够产生一些干扰化学发光反应的异常蛋白质[11]。在本研究中,99 例假阳性标本中,来源是 60 岁以上的患者占 45.5%。

对 CLIA 法检测梅毒抗体的检测体系进行灰区的设置,可以提高检测报告的准确性和严谨性,并能够有针对性地对标本进行复查,提高检测效率,节省成本。灰区的设置方法有多种,例如舒丰等^[12]应用 ROC 曲线对 AutoLumo A2000 化学发光仪检测梅毒抗体进行了灰区设置;许晓峰等^[13]认为,使用 CLIA 法检测梅毒抗体时,对于阳性预测值大于 95% 的检测结果,可以不必进行确诊试验以减少工作量。然而根据表 2 发现,CLIA 法检测梅毒抗体的阳性预测值随 S/CO 值增大而升高,S/CO 值与阳性预测值之间存在某种相关关系。因此本研究采用曲线拟合的方法,确认了 S/CO 值与阳性预测值的数量关系呈 S 型,并获得了两者的回归方程。通过回归方程,不仅可以计算出阳性预测值达到 95% 时的 S/CO 值,将其作为 CLIA 法灰区的上限,并且可以根据任何一个阳性标本的 S/CO 值,计算它为真阳性的概率,从某种程度上讲这比设置检验方法的灰区更有意义。国内有研究显示,CLIA 法检测梅毒抗体的灵敏度和阴性预测值均为 100%^[14],表明使用 CLIA 法检测梅毒抗体几乎可以排除假阴性情况的出现。因此,本研究可以将 S/CO 值=1 作为灰区的下限,并将灰区范围最终设置为 $1 \leq S/CO \text{ 值} \leq 7.52$ 。据统计,2019 年本实验室梅毒抗体检测处于灰区范围外的阳性标本约为 530 例,若与临床医生加强沟通,注重流行病学调查,则可为这些患者节省复查费用,节约医疗资源。对于处于灰区范围内,尤其是非孕产妇、老年人、肿瘤及血液病患者等,应该进行 TPPA 等确证试验进行复查确认,以提高诊断准确率。

需要说明的是,入选本研究的 S/CO 值 ≥ 11 的标本,阳性预测值达到了 100%,并不代表不会出现假阳性的情况。但是这并不影响 S/CO 值与阳性预测值关系方程的建立,因为 S/CO 值 ≥ 11 的分组其阳性预测值非常接近 100%,将其应用于曲线估计模型时的意义并不大,也不会影响回归方程的系数。本研究在进行曲线拟合时使用了表 2 的前 5 组数据,并以每组 S/CO 值范围的中位数作为该组的检测阳性预测值,这可能会使曲线模型的估计及回归方程的系数产生一定偏差。

参考文献

[1] GONZÁLEZ V, FERNÁNDEZ G, DOPICO E, et al. Evaluation of the vitros syphilis TPA chemiluminescence im-

munoassay as a first-line method for reverse syphilis screening[J]. J Clin Microbiol, 2015, 53(4): 1361-1364.

- [2] MORSHED M G, SINGH A E. Recent trends in the serologic diagnosis of syphilis[J]. Clin Vaccine Immunol, 2015, 25(2): 137-147.
- [3] WANG K D, XU D J, SU J R. Preferable procedure for the screening of syphilis in clinical laboratories in China[J]. Infect Dis(Lond), 2016, 48(1): 26-31.
- [4] 廖朝辉, 陈民, 黄进华, 等. 恶性肿瘤患者梅毒螺旋体抗体生物学假阳性分析[J]. 实用预防医学, 2004, 11(1): 63-64.
- [5] AUGENBRAUN M, FRENCH A, GLESBY M, et al. Hepatitis C virus infection and biological false-positive syphilis tests[J]. Sex Transm Infect, 2010, 86(2): 97-98.
- [6] 武建国. 老年人抗梅毒螺旋体抗体测定的假阳性率偏高[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(4): 241-243.
- [7] WANG H C, CHEN C, WANG L N, et al. The clinical significance comparison of a latex agglutination based syphilis screening test at low antibody titer[J]. Clin Lab, 2013, 59(11/12): 1429-1432.
- [8] ZHU W F, LEI S Y, LI L J. Hepatitis C infection and biological false positive syphilis test: a single-center experience[J]. Hepatobili Pancreat Dis Int, 2011, 10(4): 399-402.
- [9] ONG J J, FU H, SMITH M K, et al. Expanding syphilis testing: a scoping review of syphilis testing interventions among key populations[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2018, 16(5): 423-432.
- [10] ORTIZ D A, LOEFFELHOLZ M J. Evaluation of the lumipulse G TP-N chemiluminescent immunoassay as a syphilis screening test[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(11): 3236-3241.
- [11] 黎翠翠, 谭俊青, 李嵩文, 等. 化学发光法检测梅毒抗体在临床筛查试验中的应用价值[J]. 实验与检验医学, 2018, 36(2): 207-208.
- [12] 舒丰, 钟志宏, 徐红丽, 等. 应用 ROC 曲线设置梅毒抗体检测灰区的探讨[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2019, 16(3): 7-10.
- [13] 许晓峰, 江铭磊, 卢仁泉, 等. 化学发光免疫分析法检测抗 TP 抗体 S/CO 比值与确证试验阳性的相关性研究[J]. 检验医学, 2015, 30(12): 1185-1189.
- [14] 陈剑锋, 李文超, 常乐, 等. 化学发光法与电化学发光法筛查献血者梅毒抗体的检测性能评价[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(1): 260-265.

(收稿日期: 2020-05-08 修回日期: 2020-10-21)