

## 梅毒化学发光与酶联免疫试剂的性能对比分析

陈明军<sup>1</sup> 张燕<sup>1</sup> 吕永磊<sup>1</sup>

**[摘要]** **目的:**通过与酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂对比,探讨梅毒化学发光免疫分析(CLIA)试剂的检测性能及其在血液筛查中的应用价值。**方法:**分别采用 2 种 ELISA 试剂和 2 种 CLIA 试剂对血清盘和无偿献血标本进行梅毒抗体(抗-TP)检测,并对检测结果进行对比。**结果:**4 种试剂的 C1 和 C2 浓度的批内 CV 均小于 15%,所有试剂批间 CV 均小于 20%。4 种试剂中除了 1 个 1 : 800 的稀释标本未被 ELISA2 试剂检出,其他稀释标本全部检测阳性。各试剂间的相关系数  $r$ , 均大于 0.8,有极强的相关性。各试剂间的  $K$  值均大于 0.8,具有极好的一致性。4 种试剂 ROC 曲线下面积在 0.980~0.998,表明这几种试剂的准确性均较好,其中 CLIA1 试剂的准确性最好,4 种试剂的最佳临界值均大于说明书推荐的临界值。3050 份普通无偿献血者标本中初筛反应性标本 11 份,其中 1 份确认阳性,其余均阴性。ELISA1 假阳性 2 例,ELISA2 和 CLIA1 试剂假阳性均 3 例,CLIA2 试剂假阳性 6 例。**结论:**CLIA 试剂有较好的诊断性能,可以用于血液筛查。

**[关键词]** 梅毒;化学发光免疫分析;酶联免疫吸附试验;检测性能;血液筛查

**DOI:**10.13201/j.issn.1004-2806.2022.02.010

**[中图分类号]** R275.3 **[文献标志码]** A

## Evaluation of chemiluminescent and ELISA reagents for syphilis detection

CHEN Mingjun ZHANG Yan LV Yonglei

(Henan Red Cross Blood Center, Zhengzhou, 450012, China)

**Abstract Objective:** To explore the detection performance and application value of syphilis chemiluminescence in blood screening by comparing with ELISA. **Methods:** Serum panel and blood donor samples were tested using 2 ELISA reagents and 2 CLIA reagents simultaneously. The results were compared and analyzed. **Results:** The intra-assay coefficient variations(CV) of C1 and C2 concentrations of 4 reagents were less than 15%, and the inter-assay CV of all reagents were less than 20%. Except one 1 : 800 diluted sample was not detected by ELISA2, all the other diluted samples were positive. The correlation coefficient of each reagent was greater than 0.8, which showed a strong correlation. The  $K$  values of all reagents were greater than 0.8, which showed excellent consistency. The area under the ROC curve of the 4 reagents ranged from 0.980 to 0.998, indicating that the accuracy of the 4 reagents was good, among which CLIA1 reagent had the best accuracy. Of the 3050 blood donors, 11 were positive, and the rest were negative. The false positive numbers of ELISA1, ELISA2, CLIA1 and CLIA2 were 2, 3, 3 and 6, respectively. **Conclusion:** CLIA reagents show good detection performance and are suitable for blood screening.

**Key words** syphilis; chemiluminescence immunoassay; enzyme linked immunosorbent assay; detection performance; blood screening

<sup>1</sup>河南省红十字血液中心(郑州,450012)

- [13] Gupta N, Sharma A, Sharma A. Emerging biomarkers in Multiple Myeloma: A review[J]. Clin Chim Acta, 2020, 503: 45-53.
- [14] Cai Y, Zhao Y, Dai Q, et al. Prognostic value of the albumin-globulin ratio and albumin-globulin score in patients with multiple myeloma[J]. J Int Med Res, 2021, 49(3): 300060521997736.
- [15] Laudin GE, Levay PF, Coetzer B. Globulin fraction and albumin:globulin ratio as a predictor of mortality in a South African multiple myeloma cohort[J]. Int J Hematol Oncol, 2020, 9(3): IJH27.
- [16] Kawano Y, Roccaro AM, Ghobrial IM, et al. Multiple Myeloma and the Immune Microenvironment[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2017, 17(9): 806-818.
- [17] Huang C, Wei H, Lan F, et al. Assessment of Red Blood Cell Distribution Width and Multiple Myeloma in a Guangxi Population: a Retrospective Study[J]. Clin Lab, 2019, 65(3).
- [18] Wang J, Xie X, Cheng F, et al. Evaluation of pretreatment red cell distribution width in patients with multiple myeloma[J]. Cancer Biomark, 2017, 20(3): 267-272.
- [19] Sweiss K, Calip GS, Johnson JJ, et al. Pretransplant hemoglobin and creatinine clearance correlate with treatment-free survival after autologous stem cell transplantation for multiple myeloma[J]. Bone Marrow Transplant, 2019, 54(12): 2081-2087.
- [20] 史青林, 顾炎, 沈旭星, 等. 修订的国际分期系统对初诊多发性骨髓瘤的预后意义[J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(5): 359-364.

(收稿日期:2021-05-22 修回日期:2021-06-17)

梅毒是由苍白螺旋体引起的慢性、系统性传播疾病,主要通过性接触、母婴和血液等方式传播,是常见的输血传播性疾病之一,感染后全身各个器官都可能被侵犯,如果不能及时得到诊断和治疗,可能引起严重的并发症,甚至危及生命。梅毒抗体(抗-TP)筛查方法及试剂较多,其中,采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)和化学发光免疫分析(chemiluminescence immunoassay, CLIA)方法的试剂,因具有可自动化、高灵敏度和高特异性等特点,已被越来越多地应用到了临床患者筛查<sup>[1-3]</sup>。目前,我国批准用于献血者梅毒筛查的试剂,普遍采用 ELISA 方法,且具有“药”字号资质。为了客观评价 CLIA 梅毒筛查试剂的检测性能,以及用于献血者梅毒筛查的可行性,分别使用 2 家 ELISA 和 CLIA 梅毒筛查试剂对 616 份血清盘样本和 3050 份无偿献血标本进行检测,并对相关数据进行了统计分析,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 标本

**1.1.1 血清盘标本** 国家卫健委临检中心提供的 7 个血清盘(A-G)共 616 个样本。每盘均设有阴性、弱阳性(C1)和强阳性质控品(C2),共 84 份。稀释标本 11 份和确认结果不确定标本 18 份,确认阳性标本 372 份,确认阴性标本 130 份,有 1 份标本为空管,排除本研究。

**1.1.2 无偿献血者标本** 随机选择 2017 年 11 月 24 日至 12 月 11 日郑州市体检合格无偿献血者 3050 份标本。

### 1.2 仪器与试剂

STAR 全自动加样器(瑞士 HAMILTON 公司),FAME 全自动酶免分析仪(瑞士 HAMILTON 公司),台式离心机(日本久保田),HT3 恒温酶标仪(奥地利 Anthos 公司);全自动化学发光测定仪(郑州安图);万泰抗-TP 酶免试剂(批号: N20170725);丽珠抗-TP 酶免试剂(批号: 2017061308);安图抗-TP 化学发光试剂(批号: 20170727);达瑞抗-TP 化学发光试剂(批号: 201702)。以上试剂均在有效期内使用。

### 1.3 检测方法

分别采用 2 种 ELISA 和 CLIA 试剂,严格按照试剂说明书要求对血清盘和无偿献血标本进行抗-TP 检测。血清盘标本的临界值均设置为 1,且均只检测一次。当无偿献血标本 ELISA 试剂 S/CO $\geq$ 0.7,CLIA 试剂 S/CO $\geq$ 1 时需双孔复试,任一孔呈反应性送往卫健委临检中心进行确认。

### 1.4 统计学分析

运用 EXCEL 2010 计算批内和批间精密度。使用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,一致性检验

采用 kappa 系数检验, $K \geq 0.75$  时表示有较高的一致性, $K > 0.8$  时表示有极好的一致性。对各试剂的 S/CO 值进行 Spearman 相关分析, $r_s \geq 0.6$  时表示强相关, $r_s \geq 0.8$  时表示极强相关。使用 graphpad prism 8 软件进行受试者工作特征曲线(ROC)绘制并计算曲线下面积(AUC),选择 Youden 指数最大时对应的界值作为最佳临界值。

## 2 结果

### 2.1 批内精密度和批间精密度

4 种试剂的 C1 和 C2 浓度的批内 CV 均小于 15%,其中 ELISA1 和 CLIA1 的批内 CV 明显小于其他 2 种试剂。4 种试剂的 2 个浓度的批间 CV 均小于 20%,各试剂间没有明显差异,见表 1。

表 1 4 种试剂的精密度评价 %

| 试剂     | 批内 CV  |        | 批间 CV  |        |
|--------|--------|--------|--------|--------|
|        | C1     | C2     | C1     | C2     |
|        | (n=20) | (n=20) | (n=14) | (n=13) |
| ELISA1 | 3.99   | 2.61   | 14.13  | 16.88  |
| ELISA2 | 14.49  | 8.76   | 12.50  | 15.79  |
| CLIA1  | 6.34   | 2.49   | 19.70  | 15.16  |
| CLIA2  | 14.79  | 13.24  | 14.36  | 19.26  |

### 2.2 稀释灵敏度

4 种试剂中除了 1 个 1 : 800 的稀释标本未被 ELISA2 试剂检出,其他稀释标本全部检测阳性,见表 2。

表 2 梯度稀释标本各试剂的检测结果

| 稀释比例    | 编号       | ELISA1 | ELISA2 | CLIA1 | CLIA2 |
|---------|----------|--------|--------|-------|-------|
| 1 : 50  | TPS B 38 | 20.46  | 10.85  | 27.23 | 24.07 |
|         | TPS B 39 | 20.48  | 11.21  | 28.89 | 23.27 |
| 1 : 100 | TPS B 41 | 18.91  | 7.00   | 17.99 | 13.54 |
|         | TPS B 79 | 19.17  | 7.64   | 17.83 | 11.45 |
| 1 : 200 | TPS B 42 | 13.90  | 3.92   | 10.79 | 6.56  |
|         | TPS B 43 | 13.71  | 4.09   | 9.89  | 7.01  |
| 1 : 400 | TPS B 44 | 7.36   | 2.21   | 5.71  | 3.78  |
|         | TPS B 47 | 7.07   | 2.12   | 5.64  | 3.87  |
| 1 : 800 | TPS B 48 | 3.49   | 1.12   | 2.71  | 2.75  |
|         | TPS B 49 | 3.40   | 1.20   | 2.74  | 2.23  |
|         | TPS B 58 | 1.95   | 0.67   | 1.484 | 1.56  |

### 2.3 相关性和一致性分析

各试剂间的相关系数  $r_s$  均大于 0.8,有极强的相关性。各试剂间的  $K$  值均大于 0.8,具有极好的一致性,Spearman 相关分析  $P$  均  $< 0.01$ ,见表 3。

### 2.4 ROC 曲线

4 种试剂 AUC 在 0.980~0.998,表明这几种

试剂的准确性均较好,其中 CLIA1 试剂的准确性最好,见图 1。以 Youden 指数最大时对应的界值作为最佳临界值,4 种试剂的最佳临界值均大于说明书推荐的临界值,见表 4。

2.5 普通无偿献血者标本检测结果

3050 份普通无偿献血者标本中初筛反应性标本 11 份,其中 1 份确认阳性,其余均阴性。ELISA1 假阳性 2 例,ELISA2 和 CLIA1 试剂假阳性均 3 例,CLIA2 试剂假阳性 6 例,见表 5。

表 3 4 种试剂间的相关性和一致性分析结果

| 试剂     | CLIA2 |       | CLIA1 |       | ELISA2 |       |
|--------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|
|        | $r_s$ | K     | $r_s$ | K     | $r_s$  | K     |
| ELISA1 | 0.810 | 0.868 | 0.824 | 0.926 | 0.882  | 0.926 |
| ELISA2 | 0.880 | 0.865 | 0.867 | 0.933 | /      | /     |
| CLIA1  | 0.846 | 0.888 | /     | /     | /      | /     |

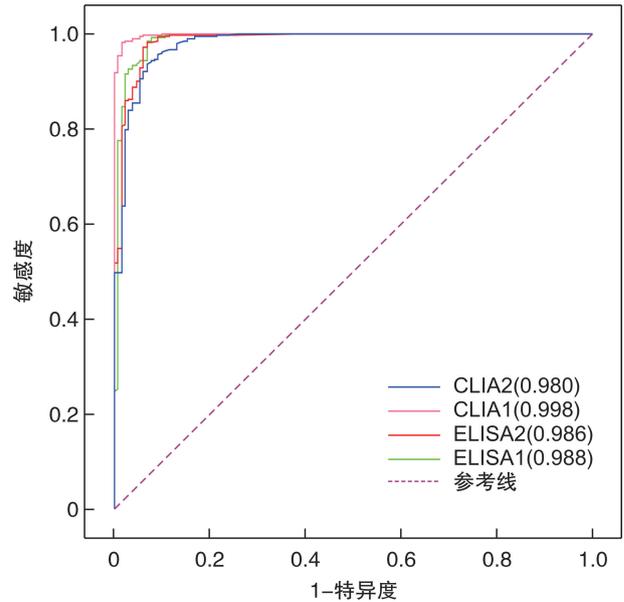


图 1 4 种梅毒检测试剂的 ROC 曲线及 AUC

表 4 4 种试剂在不同临界值时的性能指标

| 试剂     | 最佳临界值  |       |       |        | 说明书临界值 |        |       |        |
|--------|--------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|--------|
|        | 临界值    | 灵敏度   | 特异性   | Youden | 临界值    | 灵敏度    | 特异性   | Youden |
|        | ELISA1 | 2.85  | 98.66 | 93.08  | 91.74  | 1.00   | 99.73 | 83.08  |
| ELISA2 | 1.44   | 98.39 | 93.08 | 91.47  | 1.00   | 99.73  | 88.46 | 88.19  |
| CLIA1  | 3.37   | 98.39 | 98.46 | 96.85  | 1.00   | 100.00 | 89.23 | 89.23  |
| CLIA2  | 1.59   | 93.82 | 93.08 | 86.90  | 1.00   | 98.66  | 85.38 | 84.04  |

表 5 11 份初筛反应性献血者标本确认结果

| 序号 | ELISA1 | ELISA2 | CLIA1 | CLIA2 | 确认结果 |
|----|--------|--------|-------|-------|------|
| 1  | 0.00   | 0.03   | 0.02  | 1.03  | -    |
| 2  | 0.92   | 0.03   | 0.02  | 0.60  | -    |
| 3  | 0.67   | 0.97   | 0.95  | 0.73  | -    |
| 4  | 2.16   | 1.43   | 2.41  | 0.85  | -    |
| 5  | 15.90  | 20.22  | 58.19 | 40.56 | +    |
| 6  | 0.17   | 1.19   | 0.22  | 0.55  | -    |
| 7  | 0.01   | 0.01   | 0.04  | 8.18  | -    |
| 8  | 0.02   | 0      | 0     | 18.00 | -    |
| 9  | 0.22   | 0.42   | 0.47  | 4.19  | -    |
| 10 | 0.01   | 0.02   | 0.01  | 2.93  | -    |
| 11 | 0.01   | 0.07   | 0.17  | 6.06  | -    |

3 讨论

梅毒的血清免疫学检查方法灵敏度高,特异性好,操作简便快捷,自动化程度高,适合大样本高通量筛查,是实验室筛查梅毒的主要手段。《血站技术操作规程(2019)版》中规定献血者梅毒螺旋体感染标志物血清学检测技术包括 ELISA 和 CLIA 试验。目前,血站主要采用的是具有“药”字号资质的 ELISA 试剂,而 CLIA 试剂在获得相应资质及用于

血筛之前还需要进行充分评估。

从表 1 的结果看,4 种试剂的 C1 和 C2 浓度的批内 CV 均小于 15%,4 种试剂的 2 个浓度的批间 CV 均小于 20%,与其他实验室结果一致<sup>[4]</sup>。其中 ELISA1 和 CLIA1 的批内 CV 明显小于其他 2 种试剂。4 种试剂的 2 个浓度的批间 CV 均小于 20%,各试剂间没有明显差别。以上结果表明 4 种试剂均具有良好的稳定性并符合《血站技术操作规程版》的要求,但不同试剂也存在一定的差异。通过对梯度稀释标本的检测,发现 2 种 CLIA 试剂和 ELISA1 试剂均能检出所有稀释样本,表明这 3 种试剂具有较好的稀释灵敏度。而 ELISA2 有一个 1 : 800 的样本未检出,说明该试剂在对低浓度标本的检测能力上还有待进一步提高。

ELISA 试剂是国内所有血站都在使用的 1 种血筛试剂,试剂盒及实验技术都已十分成熟<sup>[5-6]</sup>。为了评价 CLIA 试剂是否具有相似的检测能力,对 2 种 CLIA 试剂和 2 种 ELISA 试剂分别进行了符合性和相关性分析。从表 3 的结果看,各试剂间的 kappa 系数均大于 0.8,各试剂间的相关系数  $r_s$  也均大于 0.8,这些结果均表明 CLIA 和 ELISA 具有极好的一致性和极强的相关性,与其他文献报道一致<sup>[6-7]</sup>。ROC 曲线目前被公认为是判断试验方

法诊断性能的最佳方法,AUC越大,诊断的准确性越高。从图1的结果看,4种试剂均表现出了非常好的诊断性能,所有试剂AUC均大于0.95,其中CLIA1试剂诊断性能最佳,其次为ELISA1试剂。临界值是判断标本阴阳性的标准,设置过高容易导致漏检,过低又会降低试剂的特异性,因此,设置最佳临界值也是需要关注的问题。很多血站出于安全第一原则,人为降低临界值,设置“灰区”,我实验室也把临界值下调到0.7。但越来越多的学者对设置“灰区”的必要性和合理性提出了质疑<sup>[9-10]</sup>,认为每个实验室对不同试剂的“灰区”设置要进行科学的评估。通过各试剂的ROC曲线进行分析发现,以Youden指数最大时对应的界值作为最佳临界值,4种试剂的最佳临界值均大于说明书推荐的临界值,也就说明没有必要再下调临界值,这与其文献的观点一致<sup>[8]</sup>。

为了解日常血液筛查工作中各试剂的诊断性能,对3050份普通无偿献血者标本进行平行检测,从表5的结果看,所有试剂均未出现漏检现象,表明4种试剂均具有较好的灵敏度。而4种试剂特异性存在一定差异,其中CLIA1和ELSIA1试剂只有1例假阳性,ELSIA2试剂有2例假阳性,CLIA2试剂有6例假阳性,说明CLIA2试剂的特异性还有待提高。

总之,本文通过对CLIA和ELISA2种试剂进行对比分析,CLIA试剂表现出了较好的诊断性能,可以用于血液筛查,但在使用之前还需对相应试剂进行客观地评估,既最大限度保证血液安全,

又避免造成血液资源浪费。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 殷欢,王继超,吴凤,等.化学发光微粒子免疫分析法检测孕妇梅毒特异性抗体的应用评价[J].中国艾滋病性病,2021,27(5):508-511.
- [2] 贺锋,程金凤,蔡细英,等.2种化学发光仪检测梅毒螺旋体特异性抗体性能分析[J].临床血液学杂志,2019,32(4):304-306.
- [3] 韩骏飞,姜宇,宋发谷.电化学发光免疫法与ELISA法检验性能比较[J].临床血液学杂志,2019,32,(2):152-154.
- [4] 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.
- [5] 郭宏.献血前ELISA法检测HBsAg、抗-HCV、抗-HIV及抗-TP的价值分析[J].中国医疗器械信息,2018,24(8):21-22.
- [6] Lixin Li, Bei Cai, Chuanmin Tao, et al. Performance Evaluation of CLIA for *Treponema Pallidum* Specific Antibodies Detection in Comparison with ELISA[J]. Clin Lab Anal, 2016, 30(3):216-222.
- [7] Huimin Ji, Le Chang, Junpeng Zhao, et al. Evaluation of ELISA and CLIA for *Treponema pallidum* specific antibody detection in China: A multicenter study[J]. Microbiol Methods, 2019, 166:105742.
- [8] 高楠,王瑞,常乐,等.11家血站实验室抗-TP酶联免疫吸附试验临界值的评价[J].中国输血杂志,2017,30(10):1201-1205.

(收稿日期:2021-06-06 修回日期:2021-07-21)