

## 应用 ROC 曲线分析确定 ELISA 法检测泡型包虫病的诊断界值\*

李艳红, 朱有森, 张朝霞<sup>△</sup>

(新疆医科大学第一附属医院医学检验中心, 新疆乌鲁木齐 830000)

**摘要:**目的 应用 ROC 曲线确定 ELISA 法检测泡型包虫病的诊断界值。方法 筛选经金标准确认的 34 例泡型包虫病标本, 通过 ELISA 法检测, 通过 ROC 曲线分析确定诊断界值, 并根据其诊断界值计算诊断敏感度和特异度。结果 当诊断界值为 0.44 时, ROC 曲线下面积最大, 为 0.995, 诊断敏感度为 97.06%, 特异度为 97.06%。结论 ROC 曲线法是寻找 ELISA 法诊断界值的最佳方法。

**关键词:** ROC 曲线; 酶联免疫吸附测定; 泡型包虫病; 诊断界值

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.22.038

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2014)22-3090-02

## Application of ROC curve to determine the ELISA cut-off value for the diagnosis of alveolar echinococcosis\*

Li Yanhong, Zhu Yousen, Zhang Zhaoxia<sup>△</sup>

(Center of Medical Inspection, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China)

**Abstract: Objective** To determine the ELISA cut-off value for the diagnosis of alveolar echinococcosis by applying ROC curve. **Methods** 34 cases of alveolar echinococcosis specimens confirmed by the gold standard were selected and detected by ELISA. The diagnostic cut-off value was determined by ROC curve, and the sensitivity and specificity were calculated according to the cut-off value. **Results** When the cut-off value was 0.44, the ROC curve had the largest area under the curve (AUC) accounting of 0.995, and the sensitivity and specificity were 97.06% and 97.06% respectively. **Conclusion** The ROC curve is the best way to determine the cut-off value of ELISA.

**Key words:** ROC curve; enzyme linked immunosorbent assay; alveolar echinococcosis; cut-off value

泡型包虫病, 又称泡棘球蚴病, 是由多房棘球绦虫感染所致的一种寄生虫病, 其发病率远低于细粒棘球蚴病, 但泡状棘球蚴如同肿瘤呈浸润性、外生性生长, 常向远处器官转移, 所以有“虫癌”之称<sup>[1]</sup>。我国以新疆、甘肃、青海、内蒙古、西藏、四川西北部及陕西较为多见<sup>[2]</sup>。仅新疆每年因患包虫病而接受手术者达 2 000 人次以上, 已成为农牧民“因病致贫, 因病返贫”的主要原因, 严重的危害人类健康<sup>[3]</sup>, 免疫学实验可在包虫感染早期, 形态结构不典型时对其进行诊断。研制棘球蚴病早期鉴别诊断的免疫检测试剂盒, 对防治泡型棘球蚴病具有重要的现实意义<sup>[4-5]</sup>。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 新疆医科大学第一附属医院标本库 2011 年 11 月至 2013 年 6 月住院及门诊血清标本 68 例, 其中健康体检者标本 10 例, 泡型包虫病标本 34 例, 囊型包虫病标本 10 例, 肝癌标本 5 例, 肝硬化标本 5 例, 肝囊肿标本 4 例。

**1.2 仪器与试剂** Xmark 型酶标仪 (BIORAD 公司), 1~10  $\mu\text{L}$  单通道连续可调移液枪, 50~200  $\mu\text{L}$  八通道连续可调移液枪, 100~1 000  $\mu\text{L}$  单通道连续可调移液枪, 50~300  $\mu\text{L}$  十二通道连续可调移液枪, 均购自德国 Eppendorf 公司, Millipore Ultra4 超滤离心管, 1/100 000 电子天秤, 购自德国赛多利斯, 37  $^{\circ}\text{C}$  保温箱购自上海琅玕实验设备有限公司。羊抗人

IgG 酶标抗体购自 Sigma 公司, 96 孔可拆酶标板购自上海生工服务技术有限公司, 其他试剂均为分析纯。

## 1.3 方法

**1.3.1 制备试剂盒** 自行配置包被液、封闭液、显色液、终止液、一抗、二抗、包被抗原 (Em18), 利用双抗原夹心法制备试剂盒, 采用 ELISA 法分别检测经金标准 (手术) 确认的 34 例泡型包虫病、10 例健康体检者及 24 例相似病例的标本。所有标本经检查, 无凝集不完全、黄疸、溶血、脂血。

**1.3.2 操作步骤** 按照 ELISA 检测常规步骤, 37  $^{\circ}\text{C}$ , 封闭 2 h; 弃去洗板液, 加待测标本, 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 h; 弃去洗板液, 加入二抗, 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 h; 弃去洗板液, 显色, 终止, 酶标仪于 450 nm 处测定吸光度。

**1.4 统计学处理** 将酶标仪检测数据录入 SPSS17.0 统计软件, 以不同的检测值为临界点, 计算每个临界点所对应的敏感度、特异度、阳性似然比和 ROC 曲线下的面积 (AUC), 并进行比较分析。

## 2 结果

泡型包虫病患者不同 Em18 临界值时诊断泡型包虫病的效率不同, 见表 1。当 Em18 诊断临界值为 0.44 时, AUC 最大, 为 0.995, 见图 1。此时敏感度为 97.06%、特异度为 97.06%、阳性似然比为 33.00%; 当诊断临界值为 0.43 时, 敏

敏感度为 97.06%、特异度为 94.12%、阳性似然比为 16.5%。

表 1 不同 Em18 临界值时诊断泡型包虫病的效率 (%)

Em18 临界值	灵敏度	特异度	阳性似然比
>0.23	100.00	0.00	1.00
>0.28	100.00	11.76	1.13
>0.33	100.00	58.82	2.43
>0.38	100.00	79.41	4.86
>0.43	97.06	94.12	16.50
>0.44	97.06	97.06	33.00

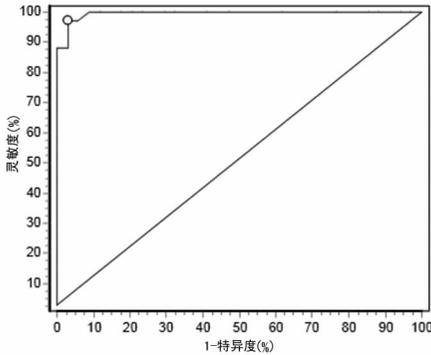


图 1 Em18 诊断泡型包虫病的 ROC 曲线图

### 3 讨 论

Em18 抗原是泡球蚴的种特异性抗原组分<sup>[6]</sup>。有文献报道,将纯化的天然 Em18 抗原用于泡型包虫病的诊断,其敏感度和特异度分别高达 90.91%和 93.80%,阳性似然比和阴性似然比分别为 83.33%和 96.80%<sup>[7-9]</sup>。本研究通过包被 Em18 抗原检测泡型包虫病的敏感度为 97.06%,特异度为 97.06%,阳性似然比为 33.00%。Em18 是一种具有诊断和免疫随访意义的诊断抗原,但天然 Em18 是从人工感染的泡球蚴原头节中提取的,其提取难度大、产量少,不能满足诊断需要。因此,开展人工合成 Em18 的研究,是包虫病免疫诊断的迫切要求<sup>[10]</sup>。

ELISA 法用于检测特异性 IgG,具有方便、易操作等特点,多用于临床诊断及大规模筛选易感人群<sup>[11-13]</sup>,该方法也是当今最常用的免疫诊断方法。ROC 曲线分析可以反映敏感度和特异度的相互关系。以敏感度为纵坐标,1-特异度为横坐标绘制成 ROC 曲线,其 AUC 越大,即 ROC 曲线越靠左上方,表示该方法所能同时达到的敏感度和特异度越高,该指标的诊断价值越大。临界值是根据对 ROC 曲线的特异度和敏感度做综合评价的约登指数来确定的<sup>[14]</sup>,也可以根据 ROC 曲线中特异度和敏感度的走势来确定诊断性实验的可疑值范围。本研究通过 ROC 曲线确定 ELISA 法测定泡型包虫病试剂盒的诊断临界值为 0.44。ROC 曲线能够较准确地确定方法学的临界点,是十分方便、快捷的统计方法,其关键在于必须有金标准确定的检测指标的敏感度和特异度。由于 ELISA 法本身影响因素较多,诊断阈值难以确定,因此本研究采用金标准(手术)确定 34 例泡型包虫病病例,再通过 ROC 曲线分析,这样可减少假

阴性率和假阳性率。本研究中,Em18 的诊断临界值为 0.44 时,AUC 最大,为 0.995,敏感度为 97.06%,特异度为 97.06%,阳性似然比为 33.00%。但是为了给临床提供更合理的参考资料,还应扩大样本数量,进行进一步研究。

### 参考文献

- [1] 詹希美.人体寄生虫学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2010:185-190.
- [2] 李艳红,孟存仁,张朝霞,等.抗原 B ELISA 法对细粒棘球蚴病诊断价值的 Meta 分析[J].中国循证医学杂志,2013,13(3):332-338.
- [3] 邵英梅,温浩.肝包虫病的外科治疗现状[J].肝胆外科杂志,2009,17(1):13-14.
- [4] 贺强,严律南.肝包虫病的诊治进展[J].四川医学,2000,21(8):699-700.
- [5] 米赛良,袁方曙,郭淑玲,等.棘球蚴病(包虫病)诊断治疗进展[J].医学动物防制,2002,18(6):326-328.
- [6] Ito A,Sako Y,Yamasaki H,et al. Development of Em18-immunoblot and Em18-ELISA for specific diagnosis of alveolar echinococcosis[J]. Acta Trop,2003,85(2):173-182.
- [7] Jiang L,Wen H,Ito A. Immunodiagnostic differentiation of alveolar and cystic echinococcosis using ELISA test with 18-kDa antigen extracted from Echinococcus protoscoleces[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg,2001,95(3):285-288.
- [8] Sako Y,Nakao M,Nakaya K,et al. Alveolar echinococcosis: characterization of diagnostic antigen Em18 and serological evaluation of recombinant Em18[J]. J Clin Microbiol,2002,40(8):2760-2765.
- [9] Eckert J,Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern[J]. Clin Microbiol Rev,2004,17(1):107-135.
- [10] 王俨,林仁勇,丁剑冰,等.泡球蚴 Em18 重组蛋白的表达及其抗原性检测的研究[J].中国寄生虫病防治杂志,2005,18(1):33-36.
- [11] 冯笑梅,冀虎岗,曹银芳,等. PCR 与 DNA 杂交技术在细粒棘球蚴诊断方面的实验研究[J].中国血吸虫病防治杂志,2004,16(3):206-209.
- [12] Daeki AO, Craig PS, Shambesh MK. IgG-subclass antibody responses and the natural history of hepatic cystic echinococcosis in asymptomatic patients[J]. Ann Trop Med Parasitol, 2000, 94(4): 319-328.
- [13] Doiz O, Benito R, Gil J, et al. Pre- and postsurgical detection of IgG, IgM, and IgA specific to hydatidosis by ELISA with purified antigen enriched with the 5/B antigen complex[J]. J Clin Lab Anal, 2002, 16(6): 295-298.
- [14] 武建国. 怎样写好医学检验论文[J]. 临床检验杂志,2009,21(1):3-4.

(收稿日期:2014-03-18)