

献血人群抗-TP ELISA 检测呈反应性 S/CO 值 ROC 曲线分析

黄伯泉, 李仲平, 梁浩坚, 谢君谋, 黄爱琼, 郑优荣* (广州血液中心/广州市医学重点实验室, 广东广州 510095)

摘要: 目的 了解献血人群中 2 种抗-TP ELISA 试剂的应用价值。方法 用 2 种国产抗-TP ELISA 试剂检测无偿献血者血浆标本, 阳性标本再用梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验 (TPPA) 确认; 绘制抗-TP S/CO 值 ROC 曲线, 分析 2 种试剂灵敏度、特异性、阳性预测值。结果 抗-TP ELISA 检测阳性 1 103 例 (0.37%), 其中 TPPA 确认阳性 738 例, 阴性 353 例, 不确定 12 例; ROC 曲线显示 2 种抗-TP ELISA 试剂与 TPPA 确认结果均有较高符合度。A、B 试剂在 S/CO 最佳阈值分别为 11.5 和 9.05, 均可预测大于 95% 确认阳性结果, S/CO 值为 10~14.99 时阳性预测值分别为 95.3%、93.2%。结论 2 种抗-TP ELISA 试剂 S/CO 值均 ≥ 10 时, 可直接屏蔽这类献血者; 单试剂 S/CO 值 ≥ 10 或者双试剂 S/CO 值均 < 10 时, 需要 TPPA 确认。

关键词: 梅毒; S/CO 值; ROC 曲线

中图分类号: R575.5

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)02-0215-05

ROC curve analysis of reactive S/CO value in blood donors with anti-TP ELISA

HUANG Bo-quan, LI Zhong-ping, LIANG Hao-jian, XIE Jun-mou, HUANG Ai-qiong, ZHENG You-rong* (Guangzhou Blood Center/ Guangzhou Key Laboratory of Medicine, Guangzhou 510095, China)

Abstract: Objective To investigate the application value of 2 anti-TP ELISA reagents in blood donors. Methods The plasma samples of unpaid blood donors were detected using two domestic anti-TP ELISA reagents, of which the positive ones were confirmed by Treponema pallidum gelatin particle agglutination test (TPPA). The ROC curve of S/CO value was used to analyze the sensitivity, specificity and positive predictive value of 2 reagents. Results The positive donors of anti-TP ELISA were 1 103 cases (0.37%), of which 738 cases were TPPA positive, 353 were negative, and 12 were uncertain. The ROC curve showed the higher conformity between 2 anti-TP ELISA reagents and TPPA. The optimal thresholds of reagents A and B were respectively 11.5 and 9.05 at S/CO value, with positive predictive value being greater than 95%. The positive predictive values of S/CO values at 10–14.99 were 95.3% for reagent A and 93.2% for reagent B. Conclusion When S/CO values of 2 anti-TP ELISA reagents are ≥ 10 , these donors can be shielded without further confirmation; when S/CO values of single reagent ≥ 10 or 2 reagents < 10 , TPPA confirmation is required.

Key words: syphilis; S/CO value; receiver operating characteristic curve

梅毒是由苍白密螺旋体 (TP) 感染引起人体多器官和神经损害的慢性传播疾病, 也是血液传播疾病之一, 危害极大^[1]。近年国内外梅毒感染率呈增长趋势, 美国近十年感染率翻一番^[2], 在 2019 年国内甲乙类传染病发病数报告中排名第 3^[3]。无偿献血者中因梅毒抗体呈反应性报废仍是主要原因之一^[4], 威胁输

血的安全^[5]。目前, 国内采供血机构多采用 2 种不同厂家的检测梅毒螺旋体抗体酶联免疫吸附法 (ELISA) 试剂盒对献血者进行初筛和复检, 有条件的单位会对全部抗-TP ELISA 不合格者进行 TPPA 确认。国内有一些关于抗-TP ELISA S/CO 值与 TPPA 的相关性分析文献, 但对于献血人群分析案例较少^[6], 或只是针对医院就医人群^[7]的分析案例, 不同试剂又有不同分析结果。笔者统计分析 2014–2015 年广州地区无偿献血梅毒情况以及对一段时间内 2 种抗-TP ELISA 试剂筛查呈反应性结果 (包括双试剂、单试剂和灰区) 的吸光度/校准临界值 (S/CO 值) 与其 TPPA 确认结果进行 ROC 曲线分析, 对比 2 种试剂在本实验室的检测能力 (灵敏度、特异性), 并评估 2 种

基金项目: 广州市医学重点学科建设项目 (血液安全重点实验室), 广东省医学科学技术研究基金项目 (No.B2017024)

收稿日期: 2020-09-21; **修订日期:** 2020-12-12

作者简介: 黄伯泉 (1982–), 男, 本科, 副主任技师

通信作者: 郑优荣, 男, 硕士, 主任技师, E-mail: 13826036001@163.com

试剂 S/CO 值的阳性预测值,旨在优化本地区 TP 抗体筛查策略,提高工作效率以及保障献血者权益。另外,探讨对所有抗-TP ELISA 呈反应性的标本进行确认的必要性。

1 材料和方法

1.1 实验对象

选取 2014 年 6 月-2015 年 4 月广州血液中心无偿献血者的全血标本,献血者献血前知情同意相关传染病检测项目。标本采集为 EDTA-K2 抗凝试管,并以 3 000 r/min 离心 10 min。留取血浆标本置-30℃ 冰库保存。

1.2 主要试剂和仪器

梅毒螺旋体抗体酶联免疫吸附(ELISA)试剂分别是北京万泰生物技术有限公司试剂盒(A)、上海科华生物技术有限公司试剂盒(B)。梅毒螺旋体抗体颗粒凝集试剂盒(日本富士株式会社,TPPA)为确认试剂。检测试剂均经国家批检合格并在有效期内使用,实验操作均严格按照试剂说明书要求以及按本实验室标准操作规程进行。主要使用仪器为:瑞士哈曼顿公司 STAR 8CH 自动加样仪、FAME24/30 自动酶联免疫处理系统;奥地利 Anthos 公司酶标比色仪 340RT;洗板机;久保田离心机;孵育箱。以上仪器设备均经过计量部门检定校准合格。

1.3 实验方法

采用 A 和 B 试剂盒对标本进行梅毒螺旋体抗体筛查,单试剂或双试剂呈反应性标本进行双试剂双孔复核检测,复核后单或双试剂仍呈反应性则判读为 TP 抗体不及格,对不及格标本进行 TPPA 确认,确认阳性即为 TP 阳性。本实验室对试剂判读 S/CO 值下限的 10% (即 $0.9 \leq S/CO < 1$, 判读为反应性) 设为灰区,对灰区标本作为反应性标本处理,最终所选取复检双孔 S/CO 值均值作为统计资料。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件进行数据学处理,绘制受检标本的工作特征曲线(ROC),利用 ROC 曲线确定 S/CO 值最佳阈值:计算出最大 ROC 曲线下面积(AUC),约登指数最大时对应 S/CO 值即为最佳阈值,95%的置信区间用 CI 表示。计数资料用率(%)表示,采用 χ^2 检验。分析 2 试剂的灵敏度和特异性,并计算其对 TPPA 确证试验结果的预测值。采用 GraphPad Prism 7 对 A、B 试剂 S/CO 值数据绘制直方图,并对其 TPPA+和 TPPA-的 A、B 试剂组内和 TPPA+中 A、B 组间比较,采用 Z 检。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 广州地区献血人群梅毒筛查以及 TPPA 确认结果

2014 年 6 月-2015 年 4 月广州地区献血人群为 295 766 例,抗-TP ELISA 检测呈反应性标本(包括双试剂、单试剂和灰区)为 1 103 例(0.37%, 1 103/295 766),其中抗-TP ELISA 呈反应性的 1 103 例标本进行 TPPA 确认,确认阳性 738 例(66.91%, 738/1 103),阴性 353 例,不确定 12 例,2 种试剂检测与 TPPA 确认情况见表 1,2 种试剂检测 S/CO 值的差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2、3。

表 1 ELISA 抗-TP 呈反应性标本 TPPA 确认表

检测试剂	呈反应性例数	TPPA		
		阴性	阳性	不确定
A+/B+	866	116	738	12
A+/B-	153	153	0	0
A-/B+	84	84	0	0
合计	1103	353	738	12

表 2 抗-TP ELISA 2 种试剂检测结果 S/CO 值的比较

A 试剂	B 试剂		合计
	S/CO ≥ 1	S/CO < 1	
S/CO ≥ 1	862	103	965
S/CO < 1	58	80	138
合计	920	183	1103

$$\chi^2 = 195.17, P < 0.01$$

表 3 抗-TP 2 种试剂检测结果 S/CO 值与 TPPA 确认关系

ELISA 试剂	TPPA			合计
	-	+	-/+	
A 试剂				
S/CO≥1	222	738	5	965
0.9≤S/CO<1	54	0	0	54
S/CO<0.9	84	0	0	84
合计	360	738	5	1103
B 试剂				
S/CO≥1	175	738	7	920
0.9≤S/CO<1	30	0	0	30
S/CO<0.9	153	0	0	153
合计	358	738	7	1103

2.2 2 种试剂检测结果 S/CO 值比较结果

2 种试剂 ROC 曲线 A 试剂灵敏度为 0.944, 特异

性为 0.975, AUC 为 0.992 (95% CI: 0.988~0.997, $P<0.01$); B 试剂灵敏度为 0.948, 特异性为 0.972, AUC 为 0.993 (95% CI: 0.990~0.996, $P<0.01$), A、B 试剂在 S/CO 最佳阈值分别为 11.5 和 9.05, 均可预测大于 95% 的确认实验阳性结果, 见图 1; A 和 B 2 种试剂的 S/CO 值, TPPA 确证阴阳性之间的 S/CO 值差异有统计学意义, $P<0.01$, 见图 2。

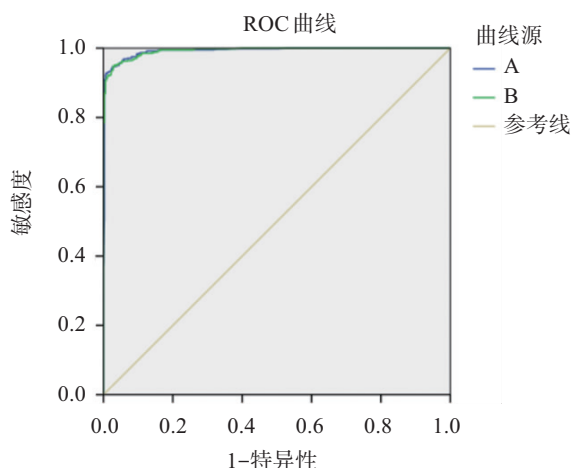


图1 A和B 2种试剂 S/CO 值 ROC 曲线

2.3 A、B 试剂 S/CO 值范围与 TPPA 阳性预测值结果
A、B 试剂 S/CO 值在 (5~9.99) 和 (10~14.99) 时阳性预测值分别为 67.9%、52.3% 和 95.3%、93.2%; 当 S/CO 值 ≥ 5 时, A、B 总阳性预测值达到 95.5%、95.2%。而当 $5 \leq S/CO \leq 14.99$ 时, A、B 总阳性预测值仅为 83.2%、80%, 见表 4。2 种试剂抗-TP ELISA S/CO 值各段范围与 TPPA 阳性率关系, 见图 3。

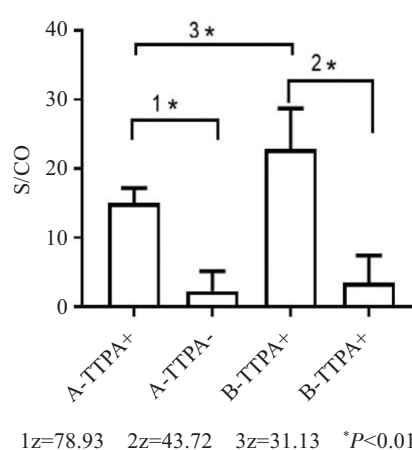


图2 A和B 确认 TPPA S/CO 值比较

表4 A和B 检测结果与 TPPA 阳性预测值

S/CO 值	A 试剂 TPPA				B 试剂 TPPA			
	-	+	-/+	阳性预测值/%	-	+	-/+	阳性预测值/%
<0.9	84	0	0	0	153	0	0	0
0.9~0.99	54	0	0	0	30	0	0	0
1~4.99	189	11	0	5.5	138	6	0	4.2
5~9.99	27	57	2	67.9	28	34	2	52.3
10~14.99	5	102	3	95.3	8	110	5	93.2
≥ 15	2	568	0	99.6	1	588	0	99.8
合计	360	738	5	67.2	358	738	7	67.3

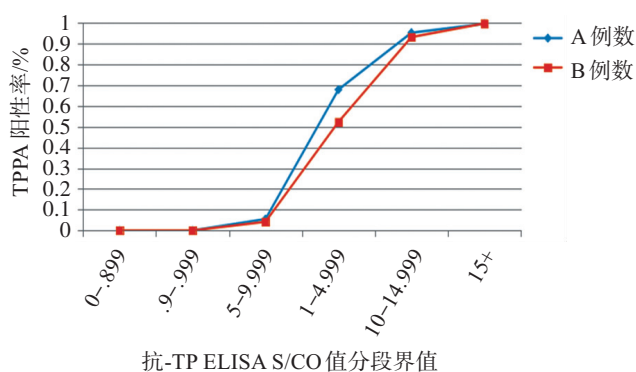


图3 2种试剂抗-TP ELISA S/CO 值各段范围与 TPPA 阳性率关系

3 讨论

本文实验结果显示广州血液中心无偿献血者梅毒抗体不及格率为 0.37%, 比本地区 10 年前报道的 0.45%^[8]有所降低, 低于佛山报道的 0.38%^[9], 大大低于商丘的 0.55%^[10]、北京的 0.462%^[11]。剔除部分单试剂和灰区不及格标本, 广州地区献血人群真实梅毒感染率会更低, 以本文在 2014 年 6 月-2015 年 4 月内 TPPA 确认来计算只有 0.25% (738/295 766), 佛山是 0.34%^[9]。广州地区梅毒阳性率比较低的主要原因有: 近年不断加强的献血宣传以及单位团体献血动员

的力度,其次是严格执行献血前的筛查。虽然 ELISA 方法的灵敏度高,特异性较好,但会出现非特异性反应,出现假阳性,这不但增加经济成本,同时加大检测部门确认复核的工作量,而且假阳性献血者会被献血信息系统屏蔽,打击献血者的献血热情和爱心,给献血者带来极大的影响,甚至导致医疗纠纷,不利于献血事业的发展。TPPA 是目前梅毒公认的确证试验,但试剂昂贵、操作耗时繁琐,本文中 A、B 试剂 S/CO “灰区”共 84 例,TPPA 确认全为阴性,显示抗-TP ELISA 的“灰区”设置并没起到实质作用,反而增加复核工作量、提高血液报废率以及给这部分假阳性献血者带来极大影响,但是“灰区”设置是否必要以及设置的范围,笔者认为还要对本次 84 例 TPPA 确认阴性献血者进行复查后的追踪查证,而且需要收集更多数据论证。不可否认“灰区”的设置发挥一定的作用,谭艳等^[7]报道医院筛查的 3 例 $0.5 \leq S/CO < 1$ “灰区”样本,最后 TPPA 确诊阳性。有文献报道 ELISA 灰区设置在检测抗-HBV、抗-HCV 和抗-HIV 中发挥重要作用^[12]。另外,国内大多采供血机构“灰区”设置为 $0.5 \leq S/CO < 1$ ^[6],笔者认为这是国内大部分地区 TP 阳性率高的原因之一。酶联免疫吸附检测虽然在血液筛查中有很多优点,但也有容易发生非特异性反应的缺点,假阳性的出现主要是存在内源性(类风湿因子 RF、补体、高浓度非特异性免疫球蛋白和异嗜性抗体等)和外源性(标本溶血、放置时间过长和抗凝不全等)干扰因素^[13],也有可能是感染“窗口期”和病毒变异等原因所致^[7]。美国 CDC 对 Ortho 的抗 HCV ELISA 试剂盒研究发现,检测结果 S/CO 值 ≥ 3.8 才有 95% 以上初筛检测呈反应性标本是真阳性,小于 3.8 的假阳性高;国内的某些抗 HCV 试剂即更高,个别甚至 S/CO 值 ≥ 12.0 才有 95% 的真阳性^[13]。本文抗-TP ELISA 的 S/CO 值比较中,我们发现 A、B 2 试剂的差异有统计学意义($P < 0.05$),2 种试剂的 S/CO 值以 TPPA 确认分类之间比较差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 2、图 2,可能与它们包被的单克隆抗原和反应体系差异造成的,但是 2 种试剂的检测形成了互补降低假阴性的可能,大大保证血液安全,见表 3、表 4 和图 3。

2 种试剂 ROC 曲线显示它们与 TPPA 确认结果均具有较高的符合度,A、B 试剂灵敏度和特异性比较一致,S/CO 最佳阈值分别为 11.5 和 9.05,均可以预测大于 95% 的确认实验阳性结果。这与何芮^[6]报道的万泰抗-TP ELISA 试剂最佳阈值 8.99(即本研究的 B

试剂)基本一致。根据表 4,我们发现 A、B 试剂 S/CO 值(10~14.99)时阳性预测值分别达到 95.3%、93.2%,有文献报道当 S/CO 值达到一定高值时可以取消 TPPA 的确认^[14]直接屏蔽献血者。因此,笔者认为本文中 2 种抗-TP ELISA 的 S/CO 值均 ≥ 10 时,即无需作 TPPA 的确认,可直接屏蔽这类献血者。而对于单试剂 S/CO 值 ≥ 10 或双试剂 S/CO 值均 < 10 的均需要进行 TPPA 确认,再给献血者进行结果反馈和日后追踪复查,给这部分假阳性献血者正名,为日后尽早归队提供保障。

综上所述,对于“灰区”不及格献血者,笔者将继续追踪其复查检测数据以及收集更多的数据以探讨献血者梅毒筛查“灰区”中是否存在 TP 真阳性的问题。潜伏性梅毒、不同梅毒期或者用药治疗后都会影响梅毒血清检测结果^[15-16],所以需要严格把关献血者献血前的体格检测,同时梅毒的检测还需要综合考虑,对于 ELISA 不确定结果还是要做 TPPA 确认;不同抗-TP ELISA 血液筛查试剂有各自的最佳阈值,抗-TP ELISA 通过最佳 S/CO 阈值和阳性预测值设定出适合本试验室在用试剂的“总最佳阈值”和使用条件。以上检测策略在保证检测质量同时能大大提高工作效率以及节省成本,从而更好地为献血者归队服务提供支持。

参考文献:

- [1] COHEN S E, KLAUSNER J, ENGELMAN J, et al. Syphilis in the modern era: an update for physicians. *Infectious disease clinics of North America*[J]. *Syphilis in the Modern Era*, 2013, 27 (4): 705-722.
- [2] KREMASTIOU J, POLYMEROU V, LAVRANOS D, et al. Evaluation of elecsys syphilis assay for routine and blood screening and detection of early infection[J]. *J Clin Microbiol*, 2016, 54(9): 2330-2336.
- [3] 国家卫生计生委疾病预防控制局. 2019 年全国法定传染病疫情概况[EB/OL]. [2020-08-30]. <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3578/202004/b1519e1bc1a944fc8ec176db600f68d1.shtml>.
- [4] 刘蕾, 王莉, 刘玉振. 无偿献血者血液报废情况分析[J]. *中国输血杂志*, 2019, 32(1): 49-52.
- [5] 尹恒, 王乃红, 卞鹰. 中国部分地区无偿献血者梅毒感染情况比较分析[J]. *中国输血杂志*, 2011, 24(1): 31-33.
- [6] 何芮, 李玲, 钱立琼, 等. 梅毒螺旋体筛查反应性献血者 S/CO 值与真阳性的相关性研究[J]. *中国输血杂志*, 2019, 32(8): 761-764.
- [7] 谭艳, 李媛, 韩晓芳. ELISA 检测 TP 抗体灰区设置的探讨[J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(5): 613-615.

- [8] 郑优荣, 李仲平, 梁浩坚, 等. 广州地区 1226507 例无偿献血者梅毒筛查结果分析[J]. 热带医学杂志, 2010, 10(4): 469-470, 476.
- [9] 林俊填, 伍伟健, 杨富燕, 等. 2008-2017 年佛山市无偿献血人群梅毒流行趋势分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2020, 28(2): 641-645.
- [10] 王颖. 商丘地区 2014-2017 年无偿献血者梅毒阳性感染的流行病学调查[J]. 实验与检验医学, 2019, 37(1): 154-156.
- [11] 张莉, 袁曜, 孙莉, 等. 北京市无偿献血人群梅毒抗体筛查结果调查[J]. 中国医药导报, 2014, 11(23): 94-97.
- [12] 陈显, 胡文佳, 黄成根, 等. 献血者 ELISA 检测为灰区标本的确证试验与核酸检测情况分析[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(2): 198-199.
- [13] 李金明. 感染性疾病血清学检验中应重视对弱反应性标本的确认[J]. 中华检验医学杂志, 2006(7): 577-580.
- [14] LI D, CHEN Z, TAO C. Comparison of three syphilis algorithms in West China[J]. Clin Chim Acta, 2019, 488: 76-80.
- [15] 李军, 王林娜, 郑和义, 等. 潜伏梅毒的临床特点与血清学分析[J]. 中国医学科学院学报, 2010, 32(3): 336-339.
- [16] 白顺, 郑和平, 薛耀华, 等. 各期梅毒治疗后 IgG、IgA 和 IgM 抗体谱表达差异检测[J]. 中国皮肤性病杂志, 2018, 32(9): 1036-1039.

N1 级护士使用新型桡动脉采血辅助工具的临床效果观察

陈秋兰 (广东医科大学附属第三医院、顺德龙江医院肾病内分泌科, 广东佛山 528300)

摘要: 目的 观察 N1 级护士使用新型桡动脉采血辅助工具的临床效果。方法 60 例患者随机分为基础组和改良组, 由 3 名 N1 级护士分别采用传统采血方法、新型桡动脉采血辅助工具进行桡动脉采血, 比较两组一次穿刺成功率、采血时间、疼痛和皮下瘀血发生率。结果 与基础组比较, 改良组一次穿刺成功率较高($P<0.05$)、采血时间较短($P<0.01$)、疼痛程度较轻($P<0.01$)。结论 N1 级护士使用新型桡动脉采血辅助工具可提高一次穿刺成功率、缩短采血时间。

关键词: 桡动脉; 辅助工具; 采血; 护士

中图分类号: R473

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)02-0219-03

Clinical application of a new auxiliary device for blood collection of radial artery by N1 nurses

CHEN Qiu-lan (Department of Nephrology and Endocrinology, Third Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Longjiang Hospital of Shunde District, Foshan 528300, China)

Abstract: Objective To observe the clinical application of a new auxiliary device for blood collection of radial artery by N1 nurses. Methods Sixty patients were randomly divided into basic and improved groups. Radial artery blood was collected by 3 N1 nurses through traditional method or new auxiliary device. The success rate of one-time puncture, blood collection time, pain and ecchymosis were compared between two groups. Results Compared with basic group, success rate of one-time puncture was higher ($P<0.05$), while blood collection time and pain were lower ($P<0.01$) in modified group. Conclusion The new auxiliary device for blood collection of radial artery can improve the success rate of one-time puncture and shorten blood sampling time, which is suitable for N1 inexperienced nurses.

Key words: radial artery; auxiliary device; blood collection; nurse

血气分析是临床用来判断机体是否存在酸碱失衡和血氧缺乏程度的关键指标, 在患者的治疗、疗效分析及预后判断都有重要意义。动脉血能够准确反映机体的氧化代谢和电解质指标, 故临床通常抽取动脉血进行临床检测。常取的部位为桡动脉、股动脉

等。股动脉穿刺失败率较低, 但操作复杂, 特别是冬季在股动脉采血困难加剧; 而桡动脉采血简单, 动脉位置表浅易于消毒, 操作简单止血快, 故我院通常采用桡动脉进行穿刺采血^[1]。采血过程中通过主动或被动的方式直接将机体的桡动脉绷紧, 使其暴露血

基金项目: 广东医科大学研究基金面上项目(No.GDMUM201825)

收稿日期: 2020-09-17; **修订日期:** 2021-01-26

作者简介: 陈秋兰(1983-), 女, 本科, 主管护师