

## · 检验仪器与试剂评价 ·

## Roche e601 检测乙型肝炎病毒表面抗原可行性评价\*

廖焕兰, 许振杰, 陈 富, 丁海明, 周 强, 罗福东

(广州中医药大学第二附属医院检验科, 广东广州 510105)

**摘要:**目的 评价用 Roche e601 检测乙型肝炎病毒表面抗原的可行性。方法 用 Roche e601 测定新鲜标本和 HBsAg 质控品, 通过分析精密度、准确度、阴性和阳性符合率、检测低限、阴性标本可靠性等性能指标评价该检测系统测定 HBsAg 结果的可靠性。结果 低、高值标本批内、批间精密度的变异系数(CV)均比厂家要求小; 在 60 个室间质评样品检测结果中, HBsAg 阴性符合率为 100%(40/40)、阳性符合率 100%(20/20); 该系统的检测临界值为 0.01 IU/mL; 40 份 HBsAg 浓度在  $0.8 < COI < 1.0$  (接近临界值) 且 HBV-DNA 检测结果均小于  $5.0 \times 10^2$  的患者样本, 用该检测系统检测结果均为阴性, 阴性标本可靠性为 100%。结论 该检测系统检测乙型肝炎病毒表面抗原的性能能够满足临床要求。

**关键词:** 电化学发光免疫技术; 乙型肝炎病毒表面抗原; 检测系统

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.16.046

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)16-2226-02

## Evaluation on feasibility of Roche e601 for detecting hepatitis B virus surface antigen\*

Liao Huanlan, Xu Zhenjie, Chen Fu, Ding Haiming, Zhou Qiang, Luo Fudong

(Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital, Guangzhou

University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510105, China)

**Abstract:** Objective To evaluate the of feasibility of Roche e601 for detecting hepatitis B virus surface antigen(HBsAg). **Methods** To evaluate the feasibility of Roche e601 for detecting hepatitis B virus surface antigen(HBsAg). **Results** The coefficient of variation(CV) of inter-run and between-run from low and high value specimens was lower than the requirements of manufacturers; the negative and positive coincidence rates in detecting 60 external quality assessment controls were 100%(40/40) and 100%(20/20), respectively; the detection threshold values of the system was 0.01 IU/mL; the results detected by this detecting system in 40 samples, in which the concentration of HBsAg was  $0.8 < COI < 1$  (close to the critical value) and the detection results of HBV-DNA were less than  $5.0 \times 10^2$ , were negative with the negative sample reliability of 100%. **Conclusion** The performance of this detection system for detecting HBsAg can meet the clinical requirements.

**Key words:** electrochemiluminescence immunoassay technology; hepatitis B surface antigens; detection system

随着由输注血液制品和医学暴露后而感染的传染病引起的医患纠纷的逐年增加<sup>[1]</sup>, 由此而感染的传染病的控制和检测已经引起医疗单位的极大重视。对于某些低水平的或处于窗口期的传染病, 目前的医学检测技术还不能达到检测要求, 所以, 这些传播疾病的危险性一直不能消除<sup>[2]</sup>。为了保证患者和医学工作者的安全, 就必须有一套性能好的检测方法检测血液是否存在感染性疾病。所以, 实验方法的选择就显的非常重要, 而方法的选择可进行方法学的评估, 根据 CAP 的准则以及 ISO 15189 对医学实验室质量控制的要求<sup>[3]</sup>, 医学实验室必须对检测系统(仪器、试剂、校准品等)进行的性能评价。检测系统性能评价的项目较多, 针对低浓度的水平的病毒的危害的重要性, 本文就只对精密度、准确度、阴性和阳性符合率、检测低限、阴性标本可靠性等方面进行了分析评价。

## 1 材料与方 法

**1.1 精密度** 批内精密度实验: 收集实验的新鲜血清标本, 低( $0.5 < COI < 1.0$ )、高( $COI > 10.0$ )两个浓度水平各 20 份, 进行批内重复性测定。批间精密度实验: 直接用 HBsAg 质控品(北京康彻思坦生物技术有限公司提供浓度为 1 IU/mL, 批号: 201301001)进行批间重复测定。每天测 1 次, 连续测 20 d。

**1.2 阴、阳性符合率** 用 2013 年度的卫生部室间质量评价(EQA)15 份标本, 每份标本各分装 4 支, 共 60 支, 每天检测 3 支, 连续检测 20 d, 得到 60 个检测结果。检测结果用 COI 进行报告。结果报告大于或等于 1.00 为阳性,  $< 1.00$  为阴性。以室间质量回报的结果为准。

**1.3 检测临界值(最低检测限)** 将购买的质控品(浓度为 1 IU/mL)用  $COI < 0.1$  的阴性血清稀释, 至 COI 检测值平均分布在 1.0 两侧为止, 然后将此稀释浓度增加 20%<sup>[4]</sup>, 分装成 60 支样品, 每天检测 3 支, 连续检测 20 d, 得到 60 个检测结果。根据该方法学的灵敏度, 将浓度为 1 IU/mL 质控品稀释 100 倍, 得到浓度为 0.01 IU/mL 标本, 再进行临界值(最低检测限)的检测。

**1.4 阴性标本可靠性** 选取 40 份浓度在  $0.8 < COI < 1.0$  (接近临界值)患者的新鲜血清样本, 要求这些患者近 6 个月没有输注过血液制品或医学暴露, 检测其 HBV-DNA, 同时用 ELISA 法检测乙肝表面抗原。

**1.5 仪器与试剂** HBsAg 定量检测用德国 Roche e601 全自动免疫分析仪(电化学发光法, ECLIA)及配套试剂盒检测。HBV-DNA 由 ABI 公司生产的 ABI 7300 荧光定量 PCR 仪检测, 试剂由中山大学达安基因股份有限公司提供。ELISA 法检测 HBsAg 试剂使用上海科华和沈阳惠民两种试剂, 并严格按照试剂说明书操作。

## 2 结 果

**2.1 批内、批间精密度结果比较** 该检测系统的批内、批间精密度均比厂家要求小。批内精密度的实测低值和高值分别为 1.4 和 1.0, 均比厂家要求低值 2.0 和高值 1.2 小; 批间精密度的实测低值和高值分别为 5.2 和 3.4, 均比厂家要求低值 6.0 和高值 4.0 小。

**2.2 阴性、阳性符合率比较** 从表 1 中看出, 60 个检测结果

\* 基金项目: 广东省中医药局科研项目(20131203)。 作者简介: 廖焕兰, 女, 主管技师, 主要从事免疫学检测技术的研究。

中,乙型肝炎病毒表面抗原阴性符合率为 100%(40/40)、阳性符合率 100%(20/20)。

表 1 乙型肝炎病毒表面抗原阴性、阳性符合率

标本号	测定结果	预期结果	符合率 (%)	标本号	测定结果	预期结果	符合率 (%)
201311	+	+	100	201324	+	+	100
201312	-	-	100	201325	-	-	100
201313	+	+	100	201331	-	-	100
201314	+	+	100	201332	+	+	100
201315	+	+	100	201333	+	+	100
201321	+	+	100	201334	+	+	100
201322	+	+	100	201335	-	-	100
201323	+	+	100				

### 2.3 最低检测限

**2.3.1 e601 电化学发光分析仪最低检测限结果** 60 个临界值标本检测结果如下: 1. 152、1. 201、1. 118、1. 182、1. 014、1. 135、1. 111、1. 122、1. 194、1. 084、1. 097、1. 075、1. 019、1. 014、1. 203、1. 118、1. 292、1. 116、1. 099、1. 182、1. 101、1. 018、1. 016、1. 203、1. 182、1. 225、1. 015、1. 124、1. 300、1. 186、1. 108、1. 019、1. 002、1. 153、1. 128、1. 271、0. 982、1. 213、1. 052、1. 124、1. 271、1. 104、1. 099、1. 006、1. 287、1. 284、1. 206、1. 294、1. 211、1. 201、1. 082、1. 201、1. 152、1. 221、1. 192、1. 110、1. 121、1. 227、1. 127、1. 191。平均值( $\bar{x}$ )=1. 144,60 个检测结果有 1 个为“-”(0. 982),59 个为“+”,阳性率 98. 3%,大于 95%,该试剂盒检测系统的 HBsAg 临界值为 0. 01 IU/mL。

**2.3.2 ELISA 法最低检测限结果** 60 个临界值标本检测结果如下: 1. 1、1. 2、1. 1、1. 1、1. 2、1. 1、1. 1、1. 1、1. 3、1. 4、1. 0、1. 0、1. 1、1. 2、1. 2、1. 3、1. 2、1. 1、1. 3、0. 9、1. 1、1. 2、1. 3、1. 2、1. 1、1. 2、1. 3、1. 4、1. 3、1. 1、1. 2、1. 3、1. 2、1. 1、1. 3、1. 2、1. 1、1. 2、1. 3、1. 1、1. 2、1. 1、0. 9、1. 2、1. 2、1. 2、1. 2、1. 2、1. 2、1. 2、1. 2、1. 2、1. 1、1. 2、1. 1、1. 1、1. 1、1. 2、1. 2、1. 1。平均值  $\bar{x}$ =1. 2,60 个检测结果有 2 个为“-”(都是 0. 9),58 个为“+”,阳性率 96. 7%,大于 95%,该试剂盒检测系统的 HBsAg 临界值为 0. 2 IU/mL。

**2.4 阴性标本可靠性** 选取 0. 8<COI<1. 0 浓度体检人员的新鲜血清样本 40 份检测其 HBV-DNA,40 份检测结果 HBV-DNA<5. 0×10<sup>2</sup> IU/mL;两种 ELISA 法检测乙型肝炎病毒表面抗原其 COI<1. 0,可靠性为符合。

### 3 讨论

HBV 是一种以血液传播为主的传染性病原体病毒,感染后易发展为慢性肝炎、肝硬化和肝细胞癌。乙型肝炎在亚洲地区流行,我国人群乙型肝炎病毒表面抗原阳性率约 15%<sup>[5]</sup>。

随着现代医学技术水平的进一步发展,检测乙型肝炎病毒感染的手段也越来越越来越好,方法学也日趋完善。近年来作为基因诊断的核酸检测技术已进一步被广泛应用于临床,但 HBV-DNA 定量检测用时长,价格昂贵的这些缺点目前尚难于进行快速检测和大量筛查样本,而且 HBV-DNA 定量检测也不能取代传统血清学筛选试验<sup>[6]</sup>,现常用于患者在抗病毒治疗后的疗效评估等等。HBsAg 是乙型肝炎病毒感染后最早出现的血清标志物之一,由于检测 HBsAg 比检测 HBV-DNA 快速、价廉、对标本要求不高等因素,HBsAg 检测更适用于常规

筛查工作,尤其对献血员和职业暴露源的健康筛选具有重要意义。ELISA 法检测 HBsAg 应用广泛,但由于检测时间过长,步骤繁琐,实验条件要求较多,不同人员之间的操作也有很大的差距,导致 HBsAg 检测结果差别,特别是灰区的结果差别更大。

定性检测性能评估主要通过重复性研究和方法间比较来评估检测方法的性能。重复性试验能够评价检测方法的精密度,而精密度是检验项目测定中最基本的性能指标<sup>[7]</sup>。本试验以 HBsAg 为例,电化学发光检测系统检测的批内、批间精密度(CV)均小于厂家规定的允许范围,说明该系统精密度比所要求的还好。定性试验结果的准确度常用阴性、阳性符合率来评价,用 2013 年度本科室的 60 份卫生部临检中心室间质评标本进行检测,结果与回报结果来统计比较,阴性、阳性符合率都为 100%。而且对接近临界值的阴性血清标本进行检测(0. 8<COI<1. 0),未出现假阴性,表明该检测方法的特异性好,都能够满足血站和临床诊疗的需求。

本文还对电化学发光检测系统最低检测限进行评估,该检测系统为 0. 01 IU/mL,而 ELISA 法检测最低检测限为 0. 2 IU/mL,说明化学发光检测系统比 ELISA 法更灵敏。从对 40 份 COI 接近临界值(0. 8<COI<1. 0)的阴性标本,用分子生物学和 ELISA 法检测,HBV-DNA 均小于 5. 0×10<sup>2</sup> IU/mL(阴性),且 ELISA 法检测抗原为阴性,可以看出该检测系统具有较高的灵敏度和特异性,完全可以取代其他检测方法用于血液制品的筛查和患者输血前的检测。HBsAg 的检测是诊断乙型肝炎病毒感染的重要依据,通过提高诊断准确最重要的就是选择高灵敏度与高特异性相结合的方法,故检测系统的性能指标能否满足临床检测要求会影响临床诊疗的效果。电化学发光比 ELISA 能检测出更低浓度的 HBsAg,敏感度更好,所以,电化学发光法应该在临床中得到了广泛应用,特别是在患者输血前的快速检测中有重要的应用价值。

总之,通过对 HBsAg 检测的精密度、准确度、阴性和阳性符合率、检测临界值、阴性标本可靠性等评价,证实该检测系统检测 HBsAg 结果可靠。而且该检测系统具有操作简单、快速、价廉、标本来源方便、人员间差异少等因素,所以值得在临床检验上推广,特别是血液制品的筛选和临床用血液制品前的检测,可鉴别患者是否因输血或职业暴露所致传播疾病,可有效减少由输血引起的医疗纠纷;同时对预防医护人员职业暴露,减少医院内感染也有重要意义。

### 参考文献

- [1] 许世琼,吴清. 患者输血前血清指标检查的临床意义[J]. 重庆医学,2007,36(10):924-925.
- [2] 郭永建,池泉. 电子配血与电子发血[J]. 中国输血杂志,2007,20(6):523-526.
- [3] 谢华斌,盛楠,林林志,等. 医学实验室电化学发光分析系统测量不确定度评价[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(1):85-87.
- [4] 陈桂山,张秀明,熊继红,等. 未知诊断定性试验分析性能评价方法探讨[J]. 检验医学,2010,25(12):978-981.
- [5] 包安裕,李艳. 床边检测设备与全自动生化仪检测血电解质及代谢物的比较[J]. 现代检验医学杂志,2008,23(4):81-83.
- [6] 朱芳业,苏富雄,郑舒幸. 输血相关的病毒感染:台湾献血者 HBV 检测探讨[J]. 中国输血杂志,2010,23(10):885-886.
- [7] 杨有业,张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京:人民卫生出版社. 2008:296-312.