

效分析[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(25): 3990-3991.

[21] 杨文捷. 戊酸雌二醇片/雌二醇环丙孕酮片复合包装治疗围绝经期功能失调性子宫出血的临床效果观察[J]. 中国当代医药, 2014, 21(32): 85-86.

[22] 董宪凤. 小剂量米非司酮联合戊酸雌二醇治疗围绝经期功能性子宫出血效果观察[J]. 中国医药导刊, 2016, 18(8): 815-816.

[23] Wan L, Dong H, Xu H, et al. Aspirin, lysine, mifepristone

and doxycycline combined can effectively and safely prevent and treat cancer metastasis: prevent seeds from germinating on soil[J]. Oncotarget, 2015, 6(34): 35157-35172.

[24] 王婷婷. 小剂量米非司酮联合戊酸雌二醇治疗围绝经期功能失调性子宫出血的疗效观察[J]. 中国医院用药评价与分析, 2016, 16(7): 915-917.

(收稿日期: 2017-04-12 修回日期: 2017-07-14)

• 临床研究 •

化学发光免疫分析法检测乙型肝炎 e 抗体时 临界值的确认和验证方法研究

孙琳¹, 孙志鹏², 哈小琴^{1△}, 杨淑娟¹, 张萍¹

(1. 兰州军区兰州总医院检验科, 甘肃兰州 730050; 2. 希森美康医用电子(上海)有限公司, 上海 200120)

摘要:目的 探讨受试者工作特征(ROC)曲线法、稀释测定法、重复测定法确定和验证以化学发光免疫分析法检测乙型肝炎 e 抗体(抗-HBe)时的临界值的一致性。方法 ROC 曲线法选取采用 ELISA 法检测抗-HBe 时吸光度值/临界值介于 0.1~1.5 的标本, 通过最大约登指数确定最佳抗-HBe 检测临界值; 稀释测定法通过倍比稀释质控品进行抗-HBe 检测临界值验证; 重复测定法选取抑制率介于 40%~60% 的标本进行抗-HBe 检测临界值验证。各标本均采用 HISCL-5000 全自动化学发光免疫分析仪进行测定比较。结果 ROC 曲线法中, 约登指数最大值为 0.90 时, 确定的抗-HBe 检测临界值为 49.89%; 稀释测定法和重复测定法验证通过了试剂厂商指定的抗-HBe 检测临界值(50.00%)。结论 稀释测定法和重复测定法均可用于抗-HBe 检测临界值的验证, ROC 曲线法可以确定出灵敏度高和特异性强的抗-HBe 检测临界值。

关键词: HISCL-5000 全自动化学发光免疫分析仪; 受试者工作特征曲线; 稀释测定; 重复测定

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.21.038

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)21-3036-02

我国乙型肝炎患者人数众多, 乙型肝炎 e 抗体(抗-HBe)检测在乙型肝炎病毒(HBV)既往感染者中具有重要临床价值。日常工作中经常遇到既往感染者外周血抗-HBe 检测阳性的情况^[1], 然而酶联免疫吸附(ELISA)法难以测定 HBV 血清标志物的具体水平, 无法判断其阴阳性^[2-3]。近年来, 化学发光免疫分析法(CLIA)以其高灵敏性、强特异性和宽线性等特点被广泛应用到 HBV 检测中^[4]。除了检测方法的选择, 抗-HBe 阴阳性结果的判断还要依靠临界值, 不同方法中设定的临界值具有一定的差距^[5]。卫生部规定实验室必须使用国家监督管理部门批准、检定合格的试剂, 定性或半定量试剂都有“临界值”说明^[6]。为了获得更灵敏、更特异的检测结果, 避免误诊、漏诊带来的医疗纠纷, 本研究采用受试者工作特征(ROC)曲线法确定抗-HBe 检测临界值, 并采用稀释测定法和重复测定法对试剂厂商指定的抗-HBe 检测临界值进行验证, 旨在为临床提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 收集 2015 年 10 月至 2016 年 6 月兰州军区兰州总医院住院、门诊和健康体检时行抗-HBe 检测的标本作为研究对象, 留取 ELISA 法检测时吸光度值/临界值介于 0.1~1.5 的 214 例标本用于 ROC 曲线法的临界值确定试验, 留取 CLIA 法检测时抑制率介于 40%~60% 的 120 例标本用于重复测定法的临界值验证试验, 其中 60 例标本抑制率介于 40%~50%, 另 60 例标本抑制率介于 50%~60%。所有标本检测之前储存于 -20℃ 下, 且均无凝集不完全、溶血、黄疸及脂血现象。

1.2 仪器与试剂 HISCL-5000 全自动化学发光免疫分析仪购自日本 Sysmex 公司, 全自动酶免工作站购自瑞士 TECAN 公司。试剂由上海科华实业有限公司提, 包括: Sysmex 试剂(EB0537, ZS5008)、校准品(EBC027)、质控品(HBCN-330)、稀释液(S5103)、康彻斯坦质控品(批号 201511003, 8 NCU/mL), EISIA 试剂(批号 201602031)。

1.3 方法

1.3.1 ROC 曲线法 依据临床诊断, 将能确定抗-HBe 阴、阳性结果的标本纳入分析, 所有操作严格按照仪器说明书进行^[7]。根据 HISCL-5000 全自动化学发光免疫分析仪检测结果, 采用 SPSS23.0 分析软件绘制 ROC 曲线。

1.3.2 稀释测定法 将浓度为 8 NCU/mL 的康彻斯坦质控品按 1:4、1:8、1:16 进行倍比稀释, 选取在试剂厂商声称临界值范围内的稀释浓度的标本, 重复测定 20 次, 检测后统计阴、阳性结果符合率^[8]。

1.3.3 重复测定法 采用 HISCL-5000 全自动化学发光免疫分析仪检测留取标本抗-HBe, 分 3 批检测, 每天检测 1 批, 计算均值(\bar{x})和标准差(s)。临界值的验证值为 $\bar{x} - 3s$, 若验证值小于均值, 则验证通过^[9]。

2 结果

2.1 ROC 曲线法检测结果 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.963。当约登指数最大值为 0.899 时, 抗-HBe 检测临界值为 49.89%, 灵敏度为 97.70%, 特异度为 92.20%, 阳性似然比为 12.53, 阳性似然比为 0.03。见图 1、表 1。

2.2 稀释测定法检测结果 按 1:4、1:8、1:16 进行倍比稀

△ 通信作者, E-mail: haxq@yahoo.com.

释的质控品抑制率分别为 59.66%、52.50%、48.87%，其中按 1:8、1:16 进行稀释的质控品符合要求，将这两个水平的标本各重复测定 20 次，阴、阳性符合率达 100%，结果验证试剂厂商指定抗-HBe 检测临界值(50.00%)适用于 HISCL-5000 全自动化学发光免疫分析仪。见表 2。

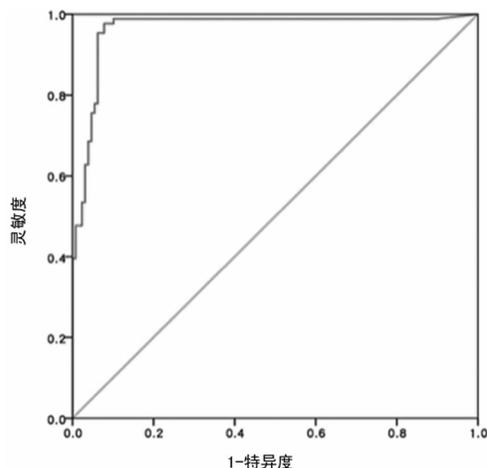


图 1 HISCL-5000 检测的 ROC 曲线

表 1 ROC 曲线法检测结果比较

临界值 (Inh%)	灵敏度 (%)	假阳性率 (%)	特异度 (%)	假阴性率 (%)	阳性似然比	阴性似然比	约登指数
48.60	97.70	10.20	89.80	2.30	9.58	0.03	0.86
48.99	97.70	9.40	90.60	2.30	10.39	0.03	0.88
49.49	97.70	8.60	91.40	2.30	11.36	0.03	0.89
49.89	97.70	7.80	92.20	2.30	12.53	0.03	0.90
50.22	96.50	7.80	92.20	3.50	12.37	0.04	0.89
50.40	95.30	7.80	92.20	4.70	12.22	0.05	0.89
50.57	95.30	7.00	93.00	4.70	13.61	0.05	0.88

表 2 稀释测定法检测结果比较

稀释比例	质控品 (NCU/mL)	抑制率 (Inh%)	阴性 (n)	阳性 (n)
1:4	2.00	59.66	—	—
1:8	1.00	52.50	0	20
1:16	0.50	48.87	20	0

注：“—”表示无数据。

2.3 重复测定法检测结果 抑制率分布于 40~50% 内的 60 例标本为阴性，抑制率分布于 50~60% 内的 60 例标本为阳性， \bar{x} 为 51.03%， $\bar{x}-3s$ 为 36.74%，结果验证试剂厂商指定的抗-HBe 检测临界值(50.00%)适用于 HISCL-5000 全自动化学发光免疫分析仪。

3 讨论

血清标志物方法学的发展和化学发光免疫技术的日臻完善，为输血前抗-HBe 的检测提供了敏感性高、特异性强的快速检测方法。HISCL-5000 全自动化学发光免疫分析仪检测抗 HBe 时仅需要 20 μ L 的微量标本，且测定耗时仅 17 min。临床上提高抗 HBe 的检出率，降低 CLIA 法检测的假阳性率、假阴

性率，确定试验的最佳临界值具有重要意义。

本研究采用 ROC 曲线法确定抗-HBe 的检测临界值，并采用稀释测定法和重复测定法对试剂厂商指定的抗-HBe 的检测临界值进行验证。ROC 曲线法中，AUC 越大越接近于 1，其临床诊断效能越大^[10]，诊断准确性越高。一般情况下，阳性似然比或约登指数最大时的临界值为最佳临界值^[5]。稀释测定法中，标本具有非均质性，容易因系统误差导致验证失败，而且难以稀释到所需的水平。重复测定法中，位于临界值 $\pm 20\%$ 范围内的标本难以收集， \bar{x} 和 s 与所收集的标本是否均匀分布于临界值 $\pm 20\%$ 范围内有直接关系。本研究用 CLIA 法检测抗-HBe 的 AUC 为 0.96 时，约登指数最大值为 0.90，灵敏度为 97.70%，特异度为 92.20%，故确定抗-HBe 的检测临界值为 49.89%，这与试剂厂商提供的抗-HBe 检测临界值(50.00%)接近。同时，本研究通过验证表明试剂厂商指定的抗-HBe 的检测临界值适用于 HISCL-5000 全自动化学发光免疫分析仪。

综上所述，ROC 曲线法提供了多个临界值及各临界值下灵敏度与特异度的关系，临床采用 CLIA 法检测抗-HBe 时应结合现有实验室条件和不同临床要求来确定适合的临界值。

参考文献

- [1] 安哲,李思鹏,张妮,等. 乙肝病毒 e 抗体检测在乙肝病毒既往感染者中的临床价值[J]. 现代预防医学, 2015, 42(10):1839-1840.
- [2] 李红梅,刘书香,邱红梅. 慢性乙型肝炎病毒感染者血清标志物检测及临床分析[J]. 南华大学学报(医学版), 2004, 32(4):517-518.
- [3] 王治新,高强. 观察乙肝五项指标定量与定性检测结果的差异及临床意义[J]. 医学信息, 2015, 28(39):64-65.
- [4] 谢思,张卫云,陈建芸,等. HISCL-5000 高敏发光全自动免疫分析仪检测感染性指标的临床性能评价研究进展[J]. 生物技术通信, 2016, 27(1):142-146.
- [5] 凌月明,杜丕波,黄伟,等. 应用 ROC 曲线分析确定乙肝表面抗原 Cut-off 值[J]. 实用医技杂志, 2006, 13(14):2461-2462.
- [6] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床实验室管理办法实施细则(修正后)[S]. 北京:中华人民共和国卫生部, 2006.
- [7] 欧阳一非,杜文雯,张兵. 受试者工作特征曲线在慢性非传染性疾病筛查中的应用[J]. 中华预防医学杂志, 2015, 49(4):369-372.
- [8] 陈辉兰. ELISA 检测中临界值标本的制备及临床应用[J]. 检验医学与临床, 2005, 2(6):282.
- [9] 中国合格评定国家认可委员会. 医学实验室质量和能力认可准则在临床免疫学定性检验领域的应用说明: CNAS-CL39[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会, 2012.
- [10] 张莉,刘志远,张薇,等. 利用 ROC 曲线分析 HBsAg 试验性能[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(7):718-721.