

## 应用 Kappa 检验对乙型肝炎病毒血清标志物和丙型肝炎病毒抗体检测方法的评估

杨凡 万海英 单咏梅 周宏

**【摘要】 目的** 对时间分辨免疫荧光法检测乙型肝炎病毒血清标志物和酶联免疫吸附法检测丙型肝炎病毒抗体进行方法学评估。**方法** 用时间分辨免疫荧光法和电化学发光法检测 100 例 HBV 感染者和 50 例正常人的乙型肝炎病毒血清标志物。用酶联免疫吸附法和化学发光法检测 60 例 HCV 感染者和 50 例正常人的丙型肝炎病毒抗体。以 Kappa 检验判断各自方法学结果之间的一致程度。**结果** 时间分辨免疫荧光法和电化学发光法在检测乙型肝炎病毒血清标志物时结果具有高度一致性。酶联免疫吸附法和化学发光法检测丙型肝炎病毒抗体时结果具有高度一致性。**结论** 时间分辨免疫荧光法检测乙型肝炎病毒血清标志物和酶联免疫吸附法检测丙型肝炎病毒抗体方法学可接受,适用于医院实验室临床常规检测。

**【关键词】** 时间分辨免疫荧光;电化学发光;化学发光;Kappa 检验

**Application of Kappa test to evaluate the detection of HBV serologic markers and HCV antibody** YANG Fan, WAN Hai-ying, SHAN Yong-mei, ZHOU Hong. The Department of Clinical Laboratory of Tongji Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 20065, China

Corresponding author: YANG Fan, Email: yangfanyang@hotmail.com

**【Abstract】 Objective** To evaluate the acceptability of time-resolved fluorescence immunoassay (TRFIA) for detecting HBV serologic markers and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting HCV antibody. **Methods** HBV serologic markers in 100 HBV infected patients and 50 healthy adults were detected by TRFIA and electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA). HCV antibody in 60 HCV infected patients and 50 healthy adults were detected by ELISA and chemiluminescence immunoassay (CLIA). Kappa test was applied to determine the concordance between two methods. **Results** It showed that intensive concordance not only between TRFIA and ECLIA but also between ELISA and CLIA. **Conclusions** TRFIA can be a satisfying routine method in place of ECLIA in detecting HBV markers. ELISA can be a usable routine method in place of CLIA in detecting HCV antibody.

**【Key words】** Time-resolved fluorescence immunoassay; Electrochemiluminescence immunoassay; Chemiluminescence immunoassay; Kappa test

目前,国内检测乙型肝炎病毒血清标志物和丙型肝炎抗体常用的方法为酶联免疫吸附法(ELISA)、时间分辨免疫荧光法(TRFIA)、微粒子酶免疫分析法(MEIA)和(电)化学发光法(ECLIA或CLIA)。(电)化学发光法因其高灵敏度和较好的重复性而成为业内公认的方法<sup>[1,2]</sup>,但所需仪器和试剂成本极高,不适合在国内推广使用。而酶联免疫吸附法和时间分辨免疫荧光法因仪器和试剂均已实现国产化,有效地降低了成本而为绝大多数临床实验室所采用,不过因试剂质量差别很大导致结果缺乏可比性。根据ISO15189的要求:实验室应对所选用的方法进行评估以证实其结果符合要求<sup>[3]</sup>。笔者对100例HBV感染者和60例HCV感染者及50例正常人血清用上述方法进行检测,使用Kappa检验分析本实验室采用的方法与公认方法的检测结果是否具有一致性,来评估本实验室采用方法是否符合要求。

## 资料与方法

### 一、检测对象

100例HBV感染者和60例HCV感染者血清来自本院门诊和住院患者,50例正常人血清来自本院健康体检人群。

### 二、仪器与试剂

ELISA使用意大利ALISEI全自动酶标仪和上海科华生物试剂盒。TRFIA使用芬兰Wallac DELFIA-1235时间分辨荧光免疫分析仪和上海新波生物试剂盒。CLIA使用美国强生Vitros ECI化学发光免疫分析仪和强生公司配套试剂。ECLIA使用德国罗氏E601电化学发光免疫分析仪和罗氏公司配套试剂。

### 三、检测方法

乙型肝炎病毒表面标志物(HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb)采用TRFIA和ECLIA方法检测;丙型肝炎病毒抗体采用ELISA和CLIA方法检测。由于检测均使用全自动仪器,操作步骤严格按照厂家操作手册。

### 四、检测结果判断

1. ELISA法:HCV,Cut-off值 =  $0.1 \times$  阳性对照平均A值 + 阴性对照平均A值,检测值 $\geq$ Cut-off值为阳性。

2. TRFIA法:HBsAg $\geq 0.5$  ng/ml, HBsAb $\geq 10$  mIU/ml, HBeAg $\geq 0.03$  NCU/ml, HBeAb $\geq 2$  NCU/ml, HBcAb $\geq 3$  NCU/ml则为阳性。

3. CLIA法:HCV,S/CO值 $\geq 8$ 为阳性。ECLIA法:HBsAg以S/CO值 $\geq 1$ 为阳性,HBsAb以 $\geq 10$  IU/L为阳性,HBeAg以S/CO值 $\geq 1$ 为阳性,HBeAb以S/CO值 $\leq 1$ 为阳性,HBcAb以S/CO值 $\leq 1$ 为阳性。

### 五、统计学方法

采用Kappa检验来判断不同检测方法所得结果是否具有一致性,并进行 $u$ 检

验来排除抽样误差的影响。而一致性程度按照 Landis 和李春波文章中<sup>[4,5]</sup>以 Kappa 系数大小划分 6 个区段的方法来判断:Kappa 系数 < 0,极差;0 ~ 0.2,微弱;0.21 ~ 0.4,弱;0.41 ~ 0.6:中度;0.61 ~ 0.8:高度;0.81 ~ 1.0,极强。

## 结 果

### 一、TRFIA 和 ECLIA 方法检测乙型肝炎病毒表面标志物(表 1)

表 1 电化学发光和时间分辨免疫荧光法检测乙型肝炎病毒表面标志物

HBV 血清标志物	TRFIA	ECLIA		Kappa	<i>u</i>	一致性程度
		阳性	阴性			
HBsAg	阳性	100	4	0.938	31.27	极强
	阴性	0	46			
HBsAb	阳性	19	3	0.795	11.20	高度
	阴性	5	123			
HBeAg	阳性	42	4	0.905	23.82	极强
	阴性	2	102			
HBeAb	阳性	61	4	0.864	20.82	极强
	阴性	6	79			
HBcAb	阳性	98	8	0.829	16.71	极强
	阴性	3	41			
合计	阳性	320	23	0.908	63.06	极强
	阴性	16	391			

注:经 *u* 检验,  $P < 0.05$

从表中可以看出使用时间分辨免疫荧光方法检测乙型肝炎病毒表面标志物与电化学发光方法检测结果在 HBsAg、HBeAg、HBeAb、HBcAb 上具有极强的一致性,在 HBsAb 上也具有高度一致性,两种方法在临床常规检测上并无明显差异(经 *u* 检验  $P$  均  $< 0.05$ ,可以排除偶然性导致的两种结果的一致)。在时间分辨免疫荧光方法检测正常人时出现了 4 例假阳性。

### 二、ELISA 和 CLIA 方法检测丙型肝炎病毒抗体(表 2)

表 2 化学发光和 ELISA 方法检测丙型肝炎病毒抗体

HCV 检测指标	ELISA	CLIA		Kappa	<i>u</i>	一致性程度
		阳性	阴性			
HCV 抗体	阳性	51	4	0.764	12.42	高度
	阴性	9	46			
合计		60	50			

注:经 *u* 检验,  $P < 0.05$

由表中可以看出使用传统 ELISA 法检测丙型肝炎病毒抗体与化学发光方法检测结果具有高度的一致性,两种方法在常规临床检测中并无明显差异(经 *u* 检验  $P < 0.05$ ,可以排除偶然性导致的两种结果的一致)。ELISA 方法检测出现了 9 例假阴性和 4 例假阳性。

## 讨 论

目前,国内在检测肝炎病毒血清标志物时,一般采用酶联免疫吸附法和时间分辨免疫荧光法。国外常用的微粒子酶免疫分析法和(电)化学发光法,由于检测的灵敏度和精密度高,成为行业内公认的方法在三级医院中也有广泛应用,但是这些方法所需仪器和试剂成本很高,不适宜在大多数地方推广,尤其是对普通人群进行初筛时检测方法是否需要如此高的灵敏度,这其中是否存在医疗过度的问题在检验界存在广泛争议。酶联免疫吸附法和时间分辨免疫荧光法虽然在检测灵敏度和特异度上略有不足,但由于已经实现了仪器和试剂的国产化,成本较低,收费也低,可以有效降低医疗费用。但是国产试剂存在质量参差不齐,检测结果缺少可比性的问题,容易引起医疗纠纷。另外临床实验室在进行质量和能力认可时也要求对所选用的方法进行评估以证实其结果是否符合要求。对于肝炎病毒血清标志物这类二分变量(阴性、阳性)检测结果,应用 Kappa 检验来判断不同方法学是否存在一致性及相关程度,成为对检测方法进行评估的有效工具。

本研究表明应用时间分辨免疫荧光法检测乙型肝炎病毒表面标志物与采用电化学发光法结果存在高度一致性,与相关文献<sup>[6]</sup>报道相同,说明使用时间分辨免疫荧光法可以在常规临床检测中替代电化学发光法。应该注意的是:由于医生和患者通常对 HBsAg 结果较为敏感,而在日常检测时也发现会出现一些结果较低的假阳性,因此使用化学发光法对弱阳性结果进行复查仍是避免出现医疗纠纷的有效措施。实验还发现酶联免疫吸附法检测丙型肝炎病毒抗体与采用化学发光法结果存在高度一致性,与相关文献<sup>[1]</sup>报道相同,说明使用酶联免疫吸附法可以替代化学发光法用于常规临床检测。值得注意的是 ELISA 方法存在假阴性可能,因此该方法对血站等部门不适用,但完全可以用于医院的临床实验室。

据评估,使用国产试剂配合常规检测方法可以替代化学发光法作为医院实验室筛查肝炎的检测方法。对国产试剂检测存在假阳性问题,可以通过行业主管部门设立确诊实验室,把各医院实验室难以确诊的标本集中送检,使用权威的确诊检测方法进行复检来解决。这样对提高整个地区乙型肝炎病毒血清标志物和丙型肝炎病毒抗体检测的准确性,减少医疗纠纷和资源浪费都有重要意义。

## 参 考 文 献

- 1 周迎春,陈辉,关平,等.3种方法测定低浓度乙型肝炎病毒表面抗原效果评价. 检验医学与临床,2007,4:1070-1071.
- 2 谷金莲,祁自柏,王尊文,等.丙型肝炎病毒抗体试剂检测结果的可信度分析. 中华检验医学杂志,2005,28:580-583.
- 3 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检验领域的应用指南. 2008.
- 4 Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for Categorical data. Biometrics,1977,33:159-174.
- 5 李春波,何燕玲,张明园.一致性检验方法的合理应用. 上海精神医学,2000,12:228-232.
- 6 夏邦世. 时间分辨免疫荧光技术检测 HBV 血清标志物临床应用评价. 临床医学,2006,26:6-7.

(收稿日期:2009-09-25)

(本文编辑:孙荣华)

杨凡,万海英,单咏梅,等.应用 Kappa 检验对乙型肝炎病毒血清标志物和丙型肝炎病毒抗体检测方法的评估[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2010,4(1):52-55.