

网络出版时间: 2020-4-7 16:49 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20200403.1821.027.html>

◇技术与方法◇

## 六种国产乙型肝炎表面抗体 ELISA 试剂盒符合率及 cut-off 值探讨

韩玮玮<sup>1,2</sup>, 金齐力<sup>2</sup>, 刘嘉清<sup>1</sup>, 王莲子<sup>1</sup>, 郝丽<sup>1</sup>, 闫川<sup>1</sup>, 沈翔<sup>1</sup>, 肖春红<sup>1</sup>, 李涛<sup>1</sup>, 周敏<sup>3</sup>, 徐胜前<sup>4</sup>

**摘要** 探讨了六种国产乙型肝炎表面抗体(HBsAb)酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒的符合率、试剂盒临界(cut-off)值的合适性以及采用 cut-off 血清的可行性。分别用电化学发光法(ECLIA)和六种国产 ELISA 试剂检测 HBsAb 标准物质和收集的临床标本。以试剂盒 cut-off 值判定结果,仅试剂 E 和 F 检测 10 mIU/ml 的 HBsAb 标准物质阳性率为 100%。试剂 C、E 的精密度最高。以 10 mIU/ml HBsAb 标准物质作为 cut-off 血清,六家试剂的 cut-off 值和灰区范围差别较大,试剂 D 的 cut-off 值最低,灰区范围最小,试剂 F 的 cut-off 值最高,灰区范围最大。当临床标本 HBsAb 浓度 < 10 mIU/ml、10 ~ < 50 mIU/ml、50 ~ < 100 mIU/ml 时,大多数试剂厂家试剂用试剂盒 cut-off 值判定结果的阳性符合率与 cut-off 血清存在差异。HBsAb 浓度 100 ~ 1 000 mIU/ml 临床标本,六种试剂用两种 cut-off 值判定结果阳性符合率均为 100%。六家国产 HBsAb ELISA 试剂盒检测性能存在一定差异,试剂盒推荐的 cut-off 值计算方式存在不足,采用 cut-off 血清会改变试剂盒的阴性和阳性符合率,使用前需使用临床标本充分验证。

**关键词** 乙肝表面抗体;酶联免疫吸附试验;符合率;临界值  
中图分类号 R 446.61

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)04-0621-08  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.04.027

乙型肝炎病毒表面抗体(hepatitis B virus surface antibody, HBsAb)是一种保护性乙型肝炎病毒抗体,是判断机体对乙型肝炎病毒是否有免疫力的主要指标,也是判断乙型肝炎病毒疫苗是否需要加强接种的指标。HBsAb 有多种检测方法,应用最广泛、性价比最高的仍然是酶联免疫吸附试验(enzyme

linked immunosorbent assay, ELISA)。HBsAb ELISA 试剂盒生产厂家很多,不同厂家试剂盒检测性能指标存在一定差异,给临床应用带来了一定的困惑。该研究探讨了六种国产 HBsAb ELISA 试剂盒的精密度、符合率、试剂盒 cut-off 值的合适性以及采用 cut-off 血清的可行性。

### 1 材料与方法

#### 1.1 样品来源

**1.1.1 标准物质** 北京康彻思坦公司生物技术有限公司的 HBsAb 标准物质,浓度水平 10 mIU/ml,批号 201801001。

**1.1.2 临床标本** 来源于蚌埠医学院第二附属医院 2016 年 10 ~ 11 月经电化学发光法(electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA)检测为阴性的标本 24 份(浓度值 < 10 mIU/ml),阳性标本 91 份(其中浓度值 10 ~ < 50 mIU/ml 标本 30 份,50 ~ < 100 mIU/ml 标本 19 份,100 ~ 1 000 mIU/ml 标本 42 份)。

**1.2 样品处理** 2 个浓度水平的 HBsAb 标准物质,以 L1、L2 表示, L1 为 10 mIU/ml,使用生理盐水对 10 mIU/ml HBsAb 标准物质进行 1 : 1 稀释获得的 L2 为 5 mIU/ml。临床标本为清晨空腹抽取患者全血 2 ml,室温静置 30 min, 3 500 r/min 离心 5 min 分离血清。所有临床标本均为已经完成临床检测后的患者待废弃标本。

**1.3 仪器与试剂** Addcare ELISA 1800 全自动酶免工作站购自烟台艾德康生物科技有限公司; Roche cobas 4000 e411 电化学发光仪购自德国罗氏诊断有限公司。HBsAbE ELISA 试剂盒分别购自国内的六个厂家,用试剂 A、试剂 B、试剂 C、试剂 D、试剂 E、试剂 F 表示,批号为 2018076216(A)、201805091(B)、20180606205(C)、20180712(D)、R20180805A(E)、201806019-2(F)。HBsAb ECLIA 试剂盒购自意大利索林诊断有限公司,批号: 38849301。所有试剂均有医疗器械注册证并且在有效期内。

2019-12-20 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81201488, 81571572); 卫生部应用研究项目(编号: 28-1-50)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院<sup>1</sup> 检验科、<sup>3</sup>ICU、<sup>4</sup> 风湿免疫科, 合肥 230022

<sup>2</sup> 蚌埠医学院第二附属医院检验科, 蚌埠 233000

作者简介: 韩玮玮, 女, 硕士研究生, 主管技师, 讲师;

李涛, 男, 主任技师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: li-medical1974@126.com

**1.4 检测原理** 所有试剂均采用双抗原夹心法检测 HBsAb。

**1.5 检出限及 cut-off 值验证** 一般认为 HBsAb > 10 mIU/ml 对机体产生有效的保护作用,因此本试验采用 10 mIU/ml 作为检出限及 cut-off 值合适性的判断依据。将 10 mIU/ml 和 5 mIU/ml 两个浓度的标本重复检测 24 次,根据试剂盒说明书计算 cut-off 值,根据 cut-off 值判断阴性或阳性,计算阳性率。

**1.6 C5、C50 和 C95 的定义** C5 表示有 5% 的检测孔阳性,C50 表示有 50% 的检测孔阳性,C95 表示有 95% 的检测孔阳性。

**1.7 以 cut-off 血清确定 ELISA 试剂盒 cut-off 值及灰区** 以 10 mIU/ml 的 HBsAb 标准物质作为 cut-off 血清,C50 作为 cut-off 值,C5 ~ C95 作为灰区。利用确定的 cut-off 值和灰区分析 5 mIU/ml 的 HBsAb 标准物质和临床阴性、阳性标本的检测结果。

**1.8 临床标本 ECLIA 定量结果的定性判断** 用 ECLIA 检测 10 mIU/ml HBsAb 标准物质,连续检测 20 个工作日,每个工作日检测 1 次,获得的为 (9.87 ± 0.37) mIU/ml,变异系数 (coefficient of variation, CV) 为 3.75%。根据 10 mIU/ml HBsAb 标准物质的作为灰区,则灰区范围为 (9.13 ~ 10.61) mIU/ml,浓度值低于 9.13 mIU/ml 判定为阴性,高于 10.61 mIU/ml 判定为阳性。

**1.9 统计学处理** 采用 SPSS 23.0 统计软件进行数据分析,组间比较选用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 计算 cut-off 值** 六家 HBsAb ELISA 试剂盒说明书中 cut-off 值计算方式均为 2.1 倍的阴性对照

OD 值的均值,根据试验结果,六家试剂盒 cut-off 值均为 0.105。

**2.2 六家 HBsAb ELISA 试剂盒检测 HBsAb 标准物质的阳性率** 六家 HBsAb ELISA 试剂盒检测 10 mIU/ml 标准物质时,A 试剂 L1 水平结果有 3 个孔属于无效结果,予以剔除。E、F 两家试剂阳性率为 100%,其他四家试剂阳性率均低于 20%。检测 5 mIU/ml 标准物质时,结果全部阴性。具体结果见表 1。

表 1 六家 HBsAb ELISA 试剂盒检测 HBsAb 标准物质的阳性率

试剂	L1 阳性率	L2 阳性率
A	14.3% (3/21)	0% (0/24)
B	0% (0/24)	0% (0/24)
C	8.3% (2/24)	0% (0/24)
D	0% (0/24)	0% (0/24)
E	100% (24/24)	0% (0/24)
F	100% (24/24)	0% (0/24)

**2.3 六家 HBsAb ELISA 试剂盒精密度分析** 六家 HBsAb ELISA 试剂盒在 HBsAb 标准物质浓度 10 mIU/ml 和 5 mIU/ml 时的 OD 值分布及变异系数见表 2、图 1。试剂 C、E 的精密度最高,试剂 A、F 次之,试剂 B、D 精密度最差。

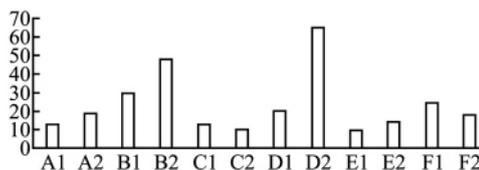


图 1 六家 HBsAb ELISA 试剂盒精密度分析

A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F; 1: 10 mIU/ml; 2: 5 mIU/ml

表 2 六家 HBsAb ELISA 试剂在 HBsAb 浓度 10 mIU/ml 和 5 mIU/ml 时的 OD 值分析

试剂	n	极小值	极大值	极差	$\bar{x} \pm s$	CV(%)
A1	21	0.071	0.118	0.05	0.090 43 ± 0.012 10	13.38
A2	24	0.030	0.062	0.03	0.045 83 ± 0.008 56	18.68
B1	24	0.037	0.097	0.06	0.056 71 ± 0.017 02	30.02
B2	24	0.005	0.046	0.04	0.020 62 ± 0.009 80	47.54
C1	24	0.067	0.123	0.06	0.087 83 ± 0.011 42	13.00
C2	24	0.039	0.059	0.02	0.048 42 ± 0.005 07	10.48
D1	24	0.023	0.061	0.04	0.040 17 ± 0.008 318	20.71
D2	24	0.001	0.052	0.05	0.018 42 ± 0.011 869	64.44
E1	24	0.115	0.167	0.05	0.135 04 ± 0.013 037	9.65
E2	24	0.065	0.097	0.03	0.080 12 ± 0.011 168	13.94
F1	24	0.114	0.265	0.15	0.163 25 ± 0.040 62	24.88
F2	24	0.049	0.097	0.05	0.078 46 ± 0.014 022	17.87

A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F; 1: 10 mIU/ml; 2: 5 mIU/ml

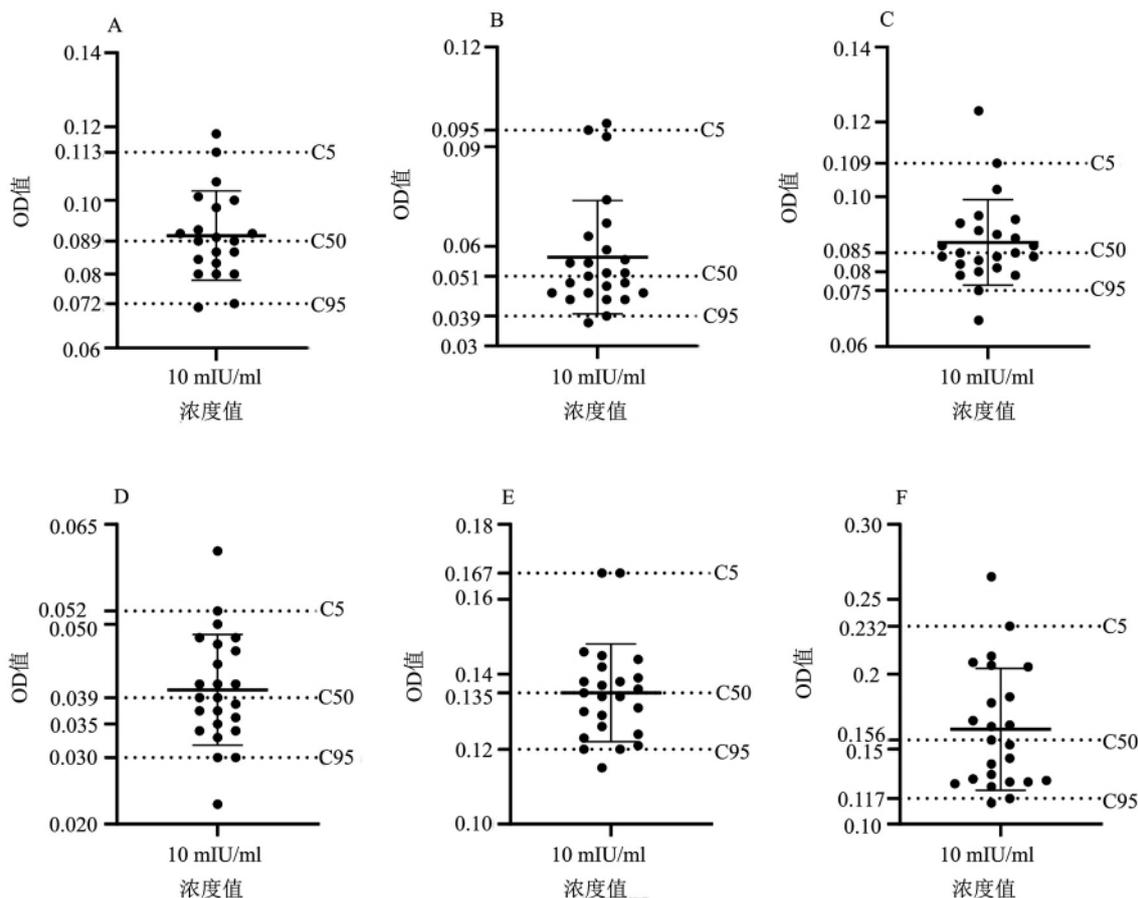


图2 六家 HBsAb ELISA 试剂盒检测 10 mIU/ml HBsAb 标准物质的 C5、C50 和 C95

A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F

**2.4 10 mIU/ml 浓度 HBsAb 标准物质作为 cut-off 血清的 cut-off 值和灰区分析** 分析得出六种试剂的 C5、C50、C95 分别为: 试剂 A (0.113、0.089、0.072), 试剂 B (0.095、0.051、0.039), 试剂 C (0.109、0.085、0.075), 试剂 D (0.052、0.039、0.003), 试剂 E (0.167、0.135、0.12), 试剂 F (0.232、0.156、0.117), 见图 2。10 mIU/ml HBsAb 标准物质的 C50 作为 cut-off 值, C5 ~ C95 作为灰区, 六家试剂的 cut-off 值和灰区范围差别较大, 试剂 D 的 cut-off 值最低, 灰区范围最小, 试剂 F 的 cut-off 值最高, 灰区范围最大。见图 2~4。

**2.5 5 mIU/ml 浓度 HBsAb 标准物质检测结果分析** 以 10 mIU/ml HBsAb 标准物质确定的 cut-off 值和灰区范围, 分析 5 mIU/ml 浓度 HBsAb 标准物质的检测结果, 试剂 B 有 8.33% 的数据落在灰区范围, 试剂 D 有 18.18% 的数据落在灰区范围, 所有试剂的结果均没有超过灰区范围上限。见图 5。

**2.6 临床标本检测结果分析** 以 10 mIU/ml

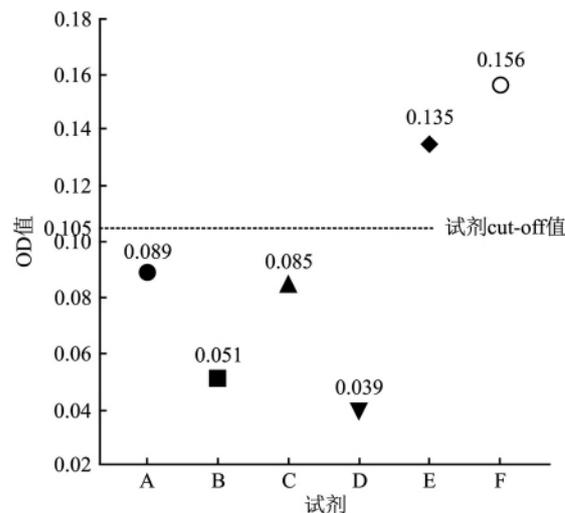


图3 六家试剂盒以 10 mIU/ml HBsAb 标准物质 C50 作为 cut-off 值的分析

HBsAb 标准物质确定的 cut-off 值和灰区范围, 用 ECLIA 检测结果判定的阴性或阳性为标准, 分析六种 ELISA 试剂盒临床标本结果符合率, 并与试剂盒 cut-off 值判定结果符合率比较。

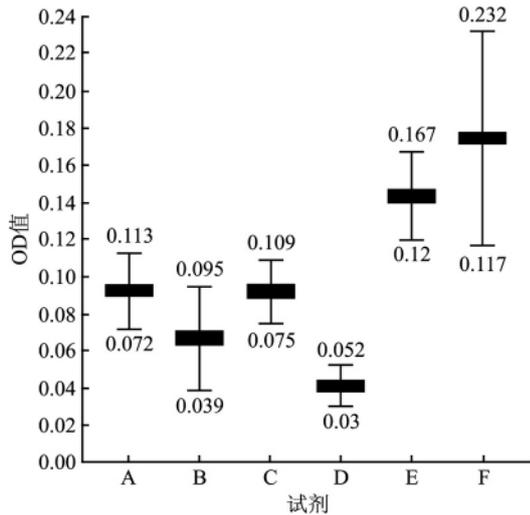


图4 六家 HBsAb ELISA 试剂盒以 10 mIU/ml HBsAb 标准物质 C5 ~ C95 作为灰区的分析

2.6.1 临床阴性标本检测结果分析 试剂 A 用两种 cut-off 值判定结果阴性符合率均为 100% ,试剂 B、C、D 试剂盒 cut-off 值判定结果的阴性符合率高于 cut-off 血清 ,试剂 E、F cut-off 血清判定结果的阴

性符合率高于试剂盒 cut-off 值。但是 cut-off 血清判定结果的阴性符合率与试剂盒 cut-off 值差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) ,具体结果见图 6、7。

2.6.2 10 ~ < 50 mIU/ml 浓度临床标本检测结果分析 试剂 E 用两种 cut-off 值判定结果阳性符合率均为 100% ,试剂 A 用两种 cut-off 值判定结果阳性符合率均为 70% ,试剂 B、C、D cut-off 血清判定结果的阳性符合率高于试剂盒 cut-off 值 ,试剂 F 试剂盒 cut-off 值判定结果的阳性符合率高于 cut-off 血清。F 试剂 cut-off 血清判定结果的阳性符合率小于试剂盒 cut-off 值 ( $P < 0.05$ ) 其余试剂二者差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) ,见图 8、9。

2.6.3 50 ~ < 100 mIU/ml 浓度临床标本检测结果分析 试剂 A、E 用两种 cut-off 值判定结果阳性符合率均为 100% ,试剂 B、C、D cut-off 血清判定结果的阳性符合率高于试剂盒 cut-off 值 ,试剂 F 试剂盒 cut-off 值判定结果的阳性符合率高于 cut-off 血清。但是 cut-off 血清判定结果的阴性符合率与试剂盒 cut-off 值差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) ,见图 10、11。

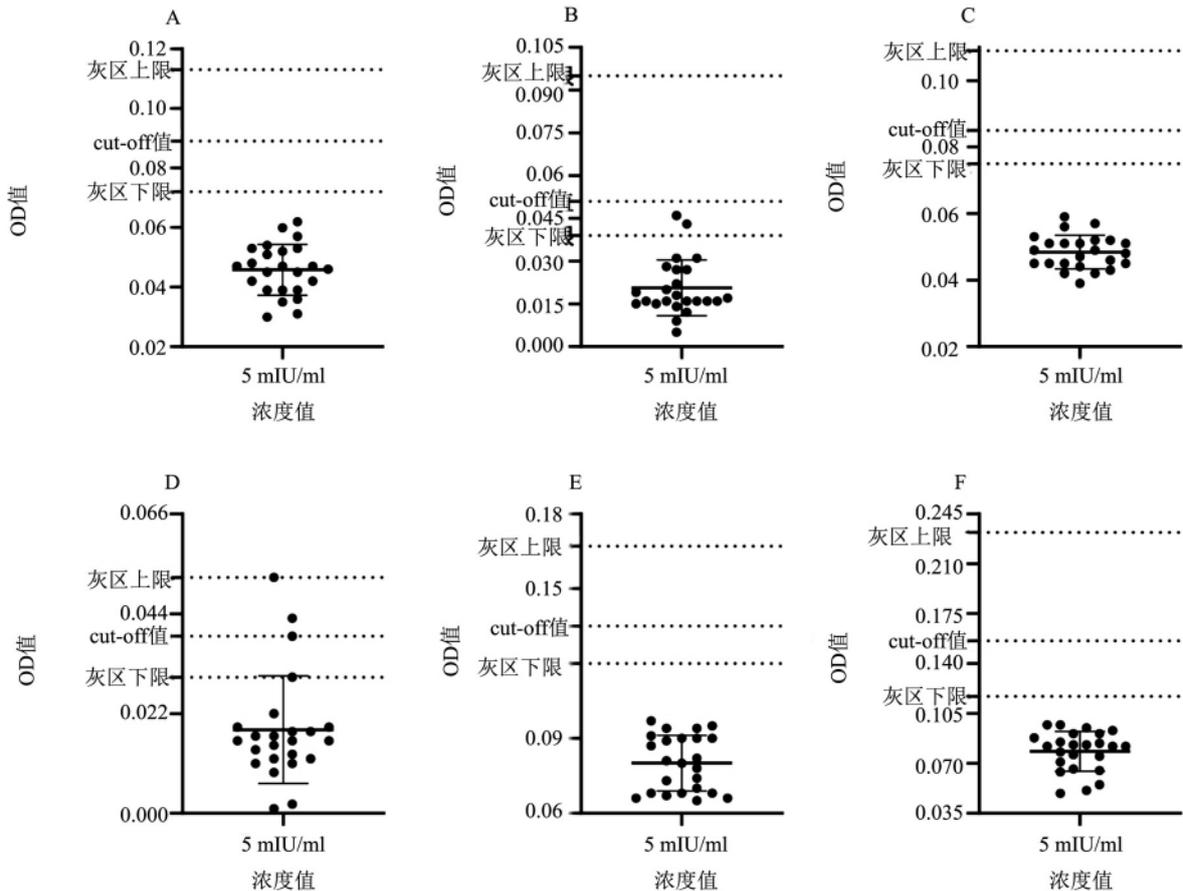


图5 六家 HBsAb ELISA 试剂盒检测 5 mIU/ml HBsAb 标准物质的结果分析 A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F

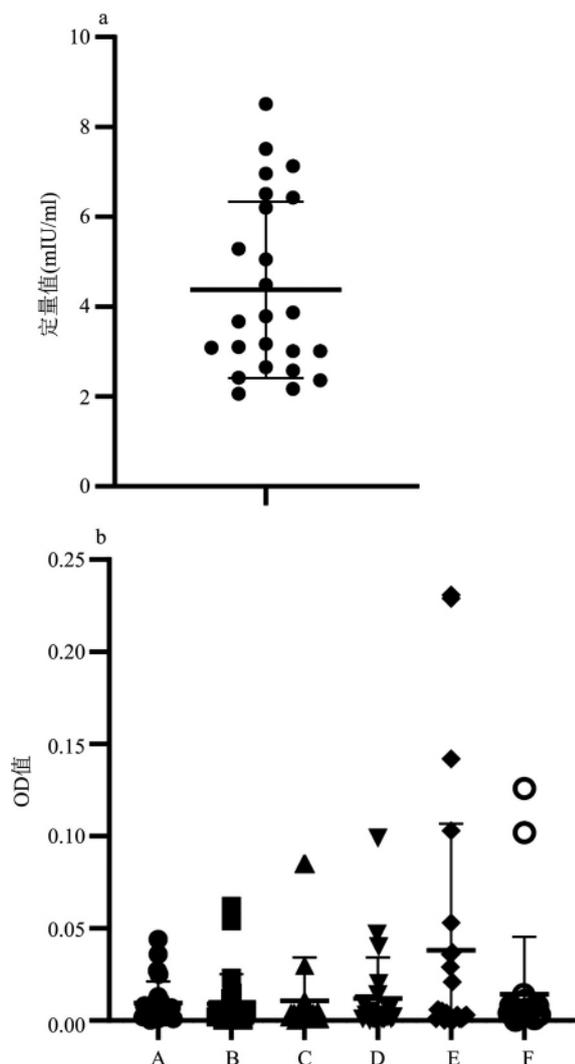


图6 六家 HBsAb ECLIA 及 ELISA 试剂盒检测临床阴性标本的 OD 值分布

A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F;

a: ECLIA; b: ELISA

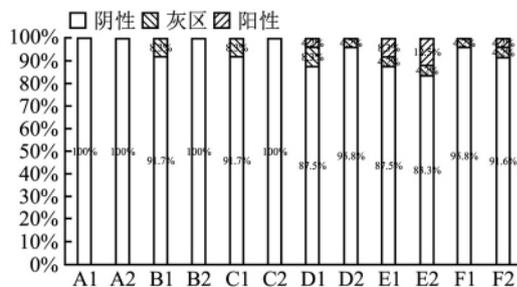


图7 六家 HBsAb ELISA 试剂盒检测临床阴性标本的符合率

A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F;

1: 使用 cut-off 血清判定结果; 2: 使用试剂盒 cut-off 值判定结果

2.6.4 100 ~ 1 000 mIU/ml 浓度临床标本检测结果分析 六种试剂用两种 cut-off 值判定结果阳性符合率均为 100%。见图 12、13。

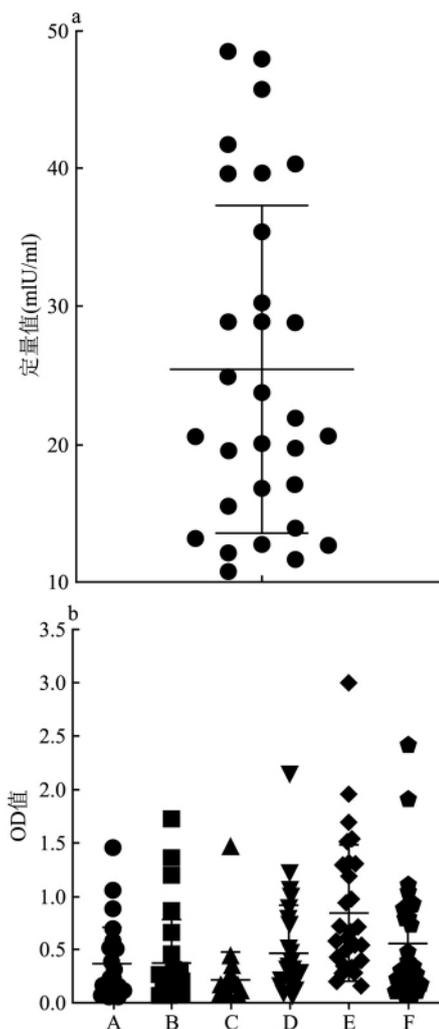


图8 六家 HBsAb ECLIA 及 ELISA 试剂盒检测 10 ~ <50 mIU/ml 浓度临床标本的 OD 值分布

A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F;

a: ECLIA; b: ELISA

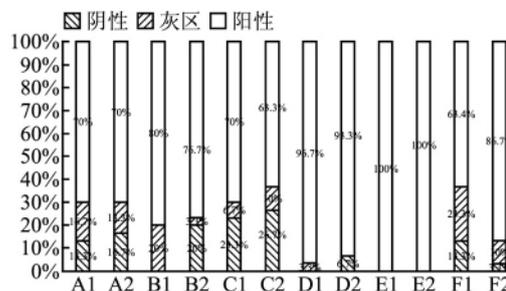


图9 六家 HBsAb ELISA 试剂盒检测

10 ~ <50 mIU/ml 浓度临床标本的符合率

A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F;

1: 使用 cut-off 血清判定结果; 2: 使用试剂盒 cut-off 值判定结果

### 3 讨论

乙型肝炎病毒( hepatitis B virus , HBV) 感染是

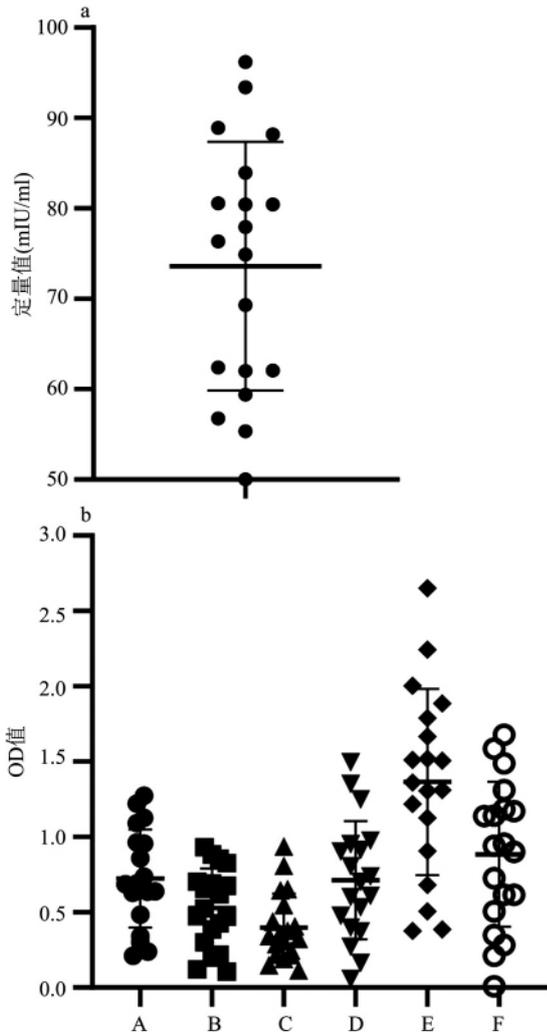


图 10 六家 HBsAb ECLIA 及 ELISA 试剂盒检测

50 ~ <math>< 100</math> mIU/ml 浓度标本的 OD 值分布

A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F;

a: ECLIA; b: ELISA

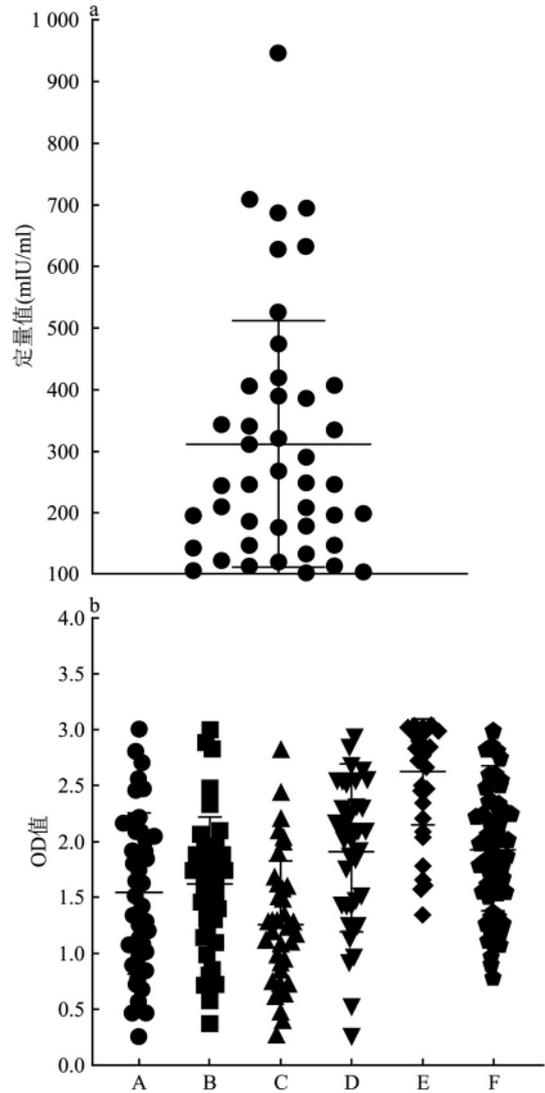


图 12 六家 HBsAb ECLIA 及 ELISA 试剂盒检测

100 ~ 1 000 mIU/ml 浓度标本的 OD 值分布

A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F;

a: ECLIA; b: ELISA

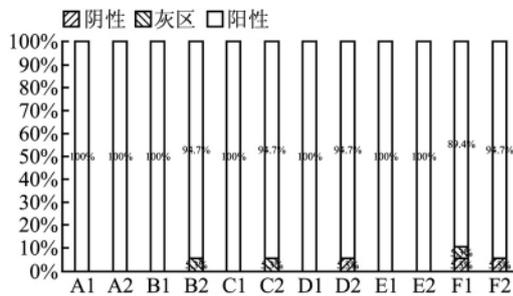


图 11 六家 HBsAb ELISA 试剂盒检测

50 ~ <math>< 100</math> mIU/ml 浓度临床标本的符合率

A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F;

1: 使用 cut-off 血清判定结果; 2: 使用试剂盒 cut-off 值判定结果

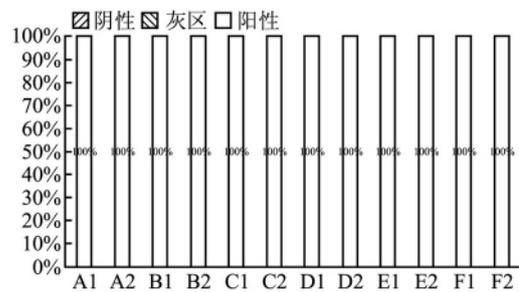


图 13 六家 HBsAb ELISA 试剂盒检测

100 ~ 1 000 mIU/ml 浓度临床标本的符合率

A: 试剂 A; B: 试剂 B; C: 试剂 C; D: 试剂 D; E: 试剂 E; F: 试剂 F;

1: 使用 cut-off 血清判定结果; 2: 使用试剂盒 cut-off 值判定结果

全球最大的公共卫生问题之一,世界卫生组织 (world health organization ,WHO) 建议在新生儿出生后 24 h 内接种第一针乙型肝炎疫苗,但是在完成

3 ~ 4 次疫苗注射后仍有 2% 的婴儿发生无反应或反

应不良<sup>[1]</sup>。并且新生儿免疫后随着接种年限的增长,HBsAb 阳性率下降,平均滴度水平下降。目前普遍认为,普通人群 HBsAb 浓度 $\geq 10$  mIU/ml 有保护作用,但机体对 HBV 的免疫力较弱,荷兰、比利时和瑞士等国家建议 HBsAb 浓度在 10 ~ 100 mIU/ml 时需加强免疫<sup>[2]</sup>。因此,需要定期检测 HBsAb 浓度水平,及时做好免疫强化<sup>[3]</sup>。

近年来,随着现代医学水平的不断发展对医学检验提出了许多新要求,当前的实验室管理越来越规范化、系统化,不同的实验室都制定了相应的质量管理体系,在质量管理体系的建立和运行中方法学的性能验证是一项重要环节。目前 HBsAb 浓度有多种检测方法,包括酶联免疫吸附试验(ELISA)、电化学发光法(ECLIA)、化学发光法(CLIA)等,ELISA 法虽为定性试验,但其操作简便、试剂价格便宜而且灵敏度相对较高,临床应用最广泛,为当前绝大部分临床实验室 HBsAb 筛查的主要检测方法。临床定性免疫检验重要常规检验项目的分析质量控制指标主要包括:精密度、符合率、最低检出限等<sup>[4]</sup>。对 HBsAg 检测方法的精密度、准确度的评价可以反映出实验室选用检测试剂方法的正确性和临床应用价值<sup>[5]</sup>。在进行 HBsAb 水平检测时,其低浓度水平有一定临床意义,因此检测方法的下限性能也很关键<sup>[6]</sup>。表 1 显示,只有 E、F 两家试剂符合其试剂说明书上标示国家要求的最低检出限标准( $\leq 10$  mIU/ml)<sup>[4]</sup>,其余四家均不能达到国家标准。这与试剂盒的分析特异性以及内源性或外源性干扰因素有关。

精密度是  $n$  次重复测定结果彼此相符合程度。表 2 和图 1 可以看出只有试剂 C、E 的两个浓度水平 CV 值均 $\leq 15\%$ ,因此这两种试剂精密度高。试剂 B、D 两种浓度水平的精密度差异显著。

cut-off 值改变会影响检测结果的假阳性率和假阴性率,对于定性实验而言,C50 是常用的 cut-off 值确定方式,每个实验室应评估试剂盒说明书提供的 cut-off 值合适性。当标本内分析物浓度水平在临界值 C50 时对其进行重复性检测能够获得 50% 阳性结果和 50% 阴性结果。C5 表示当标本中分析物在这一浓度水平时能获得 5% 阳性结果和 95% 阴性结果,C95 表示当标本中分析物在这一浓度水平时能获得 95% 阳性结果和 5% 阴性结果,当分析物浓度位于 C5 ~ C95 之外,候选方法对同一样本的重复

性检测将得到相同结果<sup>[4]</sup>。国内绝大部分试剂盒都是以 2.1 倍阴性对照均值为 cut-off 值(阴性对照 OD $< 0.05$  时以 0.05 计算),这种计算方法过于粗糙。该文采用 EP12-A2《定性试验评价方法用户协议》<sup>[7]</sup>,以 HBsAb 标准物质作为 cut-off 血清,C50 作为 cut-off 值,C5 ~ C95 作为灰区,探讨其可行性。C5 ~ C95 区间越窄,代表该试剂的精密度越大。图 5 以 10 mIU/ml HBsAb 标准物质确定的 cut-off 值和灰区范围,分析 5 mIU/ml 浓度 HBsAb 标准物质的检测结果,所有试剂的结果均没有超过灰区范围上限,说明此 cut-off 值是可行的。但是根据图 2 ~ 4, E、F 试剂的 cut-off 值超过试剂盒规定值,而且所有试剂 C95 均超过 C50 + 20%,存在灰区范围过大的嫌疑,这样势必给临床工作带来增加重检率的负担。

经过使用国家标准品的验证,该试验使用的 ECLIA 试剂精密度和准确性均较高<sup>[8]</sup>,在临床标本的符合率分析中,以 ECLIA 结果为标准验证六种国产试剂盒的符合率。图 6 ~ 13 显示,当 HBsAb 浓度 $\geq 100$  mIU/ml 或 $< 10$  mIU/ml 时,大部分试剂用两种 cut-off 值判定结果阳性符合率较高;当 10 mIU/ml $\leq$  HBsAb 浓度 $< 100$  mIU/ml 时,大部分试剂用两种 cut-off 值判定结果阳性符合率差异明显。由此可见,当标本的 OD 值离 cut-off 值较远时对阴阳性结果判定影响不大,当标本 OD 值在 cut-off 值附近时对阴阳性结果判定影响较大。

目前我国有专门的检验校准机构对临床实验室使用的试剂进行定期定批质量检定<sup>[9]</sup>。HBsAb 各生产厂家的试剂说明书也明确标示其各项性能指标符合国家标准要求,但是在临床使用中因实验室环境、人员因素、设备因素各异,或许不能达到理想水平,从而引起一定程度的误检、漏检,因此实验室在选取试剂盒时一定要做性能验证,避免过多的假阴性或假阳性结果,规避偶然误差对检测结果的影响,这样才能最大地发挥其临床应用价值。

## 参考文献

- [1] Committee on Infectious Diseases, Committee on Fetus and Newborn. Elimination of perinatal hepatitis B: providing the first vaccine dose within 24 hours of birth[J]. Pediatrics, 2017, 140(3): e20171870.
- [2] 李金明,张瑞.常用乙型肝炎血清学标志物检测结果报告解释及临床应用[J].中华检验医学杂志,2012,35(4): 296-300.

- [3] 黄小丽,冯丹琴,陈筱铮,等.厦门市学龄前儿童乙肝疫苗免疫状况[J].中国学校卫生 2018, 39(12):1845-7.
- [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.临床定性免疫检验重要常规项目分析质量要求[S].中华人民共和国卫生行业标准 WS/T 494-2017 2017:4.
- [5] Liu C, Chen T, Lin J, et al. Evaluation of the performance of four methods for detection of hepatitis B surface antigen and their application for testing 116,455 specimens[J]. *J Virol Methods* 2014, 196(1):174-8.
- [6] 康凤凤,王薇,王治国.临床实验室检测方法空白限、检出限和定量限评价新方法[J].中国卫生统计 2014, 31(5):901-4.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP-12A2 User protocol for evaluation of qualitative test performance, approved guideline 2nd edition[S]. Wayne PA, USA: CLSI 2008.
- [8] 张小丽,王瑞玲,宋娜,等.四种乙型肝炎病毒表面抗体试剂盒检测人乙型肝炎病毒表面抗体效果比较[J].武警医学, 2014, 25(12):1209-11.
- [9] 吴子安,王栋,徐宁,等.乙肝5项ELISA试剂盒CUTOFF值适用性的验证[J].热带医学杂志 2012, 12(10):1192-4.

## Discussion on the coincidence rate and cut-off value of six domestic hepatitis B surface antibody ELISA kits

Han Weiwei<sup>1,2</sup>, Jin Qili<sup>2</sup>, Liu Jiaqing<sup>1</sup>, et al

<sup>1</sup>Dept of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

<sup>2</sup>Dept of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233000

**Abstract** To verify the coincidence rate and evaluate the cut-off value of six kinds of domestic enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) kits of hepatitis B virus surface antibody(HBsAb), and also to discuss the feasibility of using cut-off serum. HBsAb in clinical samples and the HBsAb standard substances were detected by electro chemiluminescence immunoassay(ECLIA) and six kinds of domestic ELISA kits of HBsAb respectively. Using the cut-off value of each kit to determine the results, the positive rates of reagent E and F were 100% when testing 10 mIU/ml of HBsAb standard substances. Reagent C and E had the highest precision. With 10 mIU/ml of HBsAb standard substances as cut-off serum, the cut-off value and grey zone of the six reagents were different. Reagent D had the lowest cut-off value and the minimum grey zone, while Reagent F had the highest cut-off value and the largest grey zone. When the HBsAb concentration of clinical samples was lower than 10 mIU/ml, 10 ~ <50 mIU/ml and 50 ~ <100 mIU/ml, the positive coincidence rates of the cut-off value determined by the ELISA kit of most reagent manufacturers was different from that of the cut-off serum. When clinical specimens with HBsAb concentration from 100 ~ 1 000 mIU/ml were tested, the positive coincidence rates of the two results determined by the two cut-off values of reagent A, B, C, D, E and F were all 100%. There are some differences in the detection performance of the six domestic ELISA kits of HbsAb, and there are deficiencies in the way that the cut-off value was recommended to be calculated. The use of cut-off serum will change the positive and negative coincidence rate of the ELISA kits, which needs to be fully verified by clinical samples before use.

**Key words** hepatitis B virus surface antibody; enzyme linked immunosorbent assay; coincidence rate; cut-off val