

戊型肝炎病毒抗体检测试剂盒临床考核数据分析

李宏峰, 赵红

■背景资料

近年来, 散发的戊型肝炎病例呈增多趋势, 临床上 HEV IgM、IgG 的检测有助于疾病的诊断, 国内尚无批准上市检测 HEV 总抗体 (IgM+IgG) 的产品。

李宏峰, 赵红, 天津市传染病医院检验科 天津市 300192

作者贡献分布: 李宏峰与赵红对此文所作贡献均等; 此课题由李宏峰与赵红设计; 研究过程由李宏峰与赵红操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由赵红提供; 数据分析由李宏峰完成; 本文写作由李宏峰与赵红完成。

通讯作者: 李宏峰, 300192, 天津市传染病医院检验科。
lhfh001@163.com

电话: 022-27468190

收稿日期: 2009-10-10 修回日期: 2009-11-04

接受日期: 2009-11-09 在线出版日期: 2009-12-08

Analysis of clinical assessment data for a hepatitis E virus antibody test kit

Hong-Feng Li, Hong Zhao

Hong-Feng Li, Hong Zhao, Clinical Laboratory, Tianjin Infectious Disease Hospital, Tianjin 300192, China

Correspondence to: Hong-Feng Li, Clinical Laboratory, Tianjin Infectious Disease Hospital, Tianjin 300192, China. lhfh001@163.com

Received: 2009-10-10 Revised: 2009-11-04

Accepted: 2009-11-09 Published online: 2009-12-08

Abstract

AIM: To evaluate the quality and possible uses of a hepatitis E virus (HEV) antibody test kit.

METHODS: The kit evaluated (HEV antibody test kit; Dia.Pro Diagnostic Bioprobes Srl, Italy), reference kit (HEV antibody test kit; Wantai Biological Pharmacy, Beijing, China) and a third-party kit were used to detect 450 serum samples taken from individuals undergoing routine physical examination and those potentially infected with HEV. Statistical analysis was then performed to evaluate the test data obtained.

RESULTS: The coincidence rates of positive and negative results and the total coincidence rate between the evaluated kit and the reference kit were 98.35%, 99.70% and 99.33%, respectively. A sample that showed inconsistent results between the evaluated kit and the reference kit was subjected to confirmation test using the third-party kit. The results demonstrated that the evaluated kit had a sensitivity of 99.17% and a specificity of 100%.

■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学第二医院感染科

CONCLUSION: Combined detection of HEV antibody (IgG+IgM) in the serum of patients can improve the detection rate of HEV.

Key Words: Hepatitis E virus antibody; ELISA; Clinical assessment

Li HF, Zhao H. Analysis of clinical assessment data for a hepatitis E virus antibody test kit. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(34): 3550-3552

摘要

目的: 探讨国外戊型肝炎病毒(HEV)抗体检测试剂盒的质量及可能的用途。

方法: 用考核试剂(意大利Dia.Pro Diagnostic Bioprobes S.r.l., HEV抗体检测试剂盒)、参比试剂(北京万泰生物药业有限公司, HEV抗体诊断试剂盒)及第三方试剂对本院常规体检标本及戊型肝炎可疑感染者血样共450份血清进行检测, 并对检测数据进行统计分析。

结果: 考核试剂和参比试剂的阳性符合率98.35%, 阴性符合率99.70%, 总符合率99.33%。对考核试剂和参比试剂检测结果不一致的1例样本进行第三方试剂检测, 表明, 考核试剂的敏感性为99.17%, 特异性为100%。

结论: 采用对患者血清中的HEV抗体(IgG+IgM)的联合检测, 可以提高戊型肝炎的临床检出率, 有助于疾病的诊断与预防。

关键词: 戊型肝炎病毒抗体; 酶联免疫吸附试验; 临床考核

李宏峰, 赵红. 戊型肝炎病毒抗体检测试剂盒临床考核数据分析. *世界华人消化杂志* 2009; 17(34): 3550-3552

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/3550.asp>

0 引言

戊型肝炎(hepatitis E, HE)是由戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)引起的病毒性肝炎, 主要经粪-口途径传播, 多呈散发性流行, 也可引起暴发性流行^[1]。在我国, 散发性HE病例约占急性

散发性病毒性肝炎的8.6%^[2-8], 成为不可忽视的公共卫生问题. 在HE早中期, 患者粪便和血清中常可检出病毒RNA, 是HE确诊的可靠指标. 但在疾病中后期, 体内病毒已基本被清除, 此时血清中HEV IgM、HEV IgG通常也已转阳. 在临床上HEV IgM、IgG的检测有助于疾病的诊断. 国内尚无批准上市检测HEV总抗体(IgM+IgG)的产品, 目前应用范围比较广的由北京万泰生物药业有限公司生产的HEV抗体酶联免疫诊断试剂盒(双抗原夹心法). 国内批准上市的相关产品为北京现代高达生物技术有限责任公司生产的HEV IgM抗体诊断试剂盒(酶联免疫法)和HEV IgG抗体酶免检测试剂盒; 国外批准上市的公司有DIA.PRO、DiaSorin等.

1 材料和方法

1.1 材料 采用本院常规体检标本及HEV可疑感染者血样共450份血清, 样本通过静脉穿刺术无菌采集血样, 采用制备临床实验室分析用样品的标准制备血清, 丢弃溶血(红色)样品或明显高脂(乳状)样品, 每份样品分管保存于-70℃. 考核试剂为意大利DIA.PRO Diagnostic Bioprobes Srl生产的HEV抗体检测试剂盒(酶联免疫法)(以下简称考核试剂), 批号为0907, 效期为2008-12; 参比试剂为北京万泰生物药业有限公司生产的HEV抗体酶联免疫诊断试剂盒(双抗原夹心法)(以下简称参比试剂), 批号为ES20080402, 效期为2008-10; 第三方试剂为北京现代高达生物技术有限责任公司生产的HEV IgM抗体诊断试剂盒(酶联免疫法), 批号为200711005, 效期为2008-11, 注册证号为国药准字S20063144; 北京现代高达生物技术有限责任公司生产的HEV IgG抗体酶免检测试剂盒, 批号为200709004, 效期为2008-09, 注册证号为国药准字S20000034. Ortho系统酶标仪.

1.2 方法 所有检测严格按使用说明书操作. 所有判断结果由Ortho-Clinical Diagnostics系统软件完成. 检测结果均根据S/Co值来判断, 意大利DIA.PRO Diagnostic Bioprobes Srl HEV抗体检测试剂盒当待测样品信号/临界阈值(S/CO)<0.9, 样品为阴性, 当待测样品信号/临界阈值(S/CO)≥1.1, 报告显示样品为阳性. 北京万泰生物药业有限公司生产的HEV抗体酶联免疫诊断试剂盒及北京现代高达生物技术有限责任公司生产的HEV IgM抗体诊断试剂盒(酶联免疫法)和HEV IgG抗体酶免检测试剂盒, 当待测样品信号/临界

阈值(S/CO)<1, 样品为阴性. 当待测样品信号/临界阈值(S/CO)≥1, 报告显示样品为阳性.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 对结果进行Kappa和ROC曲线分析.

2 结果

2.1 临床研究及分析 本院检测的总样本量为450例. 经检测, 共有119份样本考核试剂与参比试剂检测结果完全一致, 均为阳性; 共有328份样本考核试剂与参比试剂检测结果完全一致, 均为阴性. 有1份样本, 考核试剂检测为阳性, 参比试剂检测为阴性. 有2份样本, 考核试剂检测为阴性, 参比试剂检测为阳性. 结果显示: 考核试剂与参比试剂的阳性符合率为98.35%, 阴性符合率为99.70%, 总符合率为99.33%. 用SPSS13.0对实验结果进行Kappa分析, 结果显示Kappa值为0.983($P<0.001$), 反映考核试剂和参比试剂之间有很好的-致性(表1).

2.2 诊断敏感性和诊断特异性分析 对考核试剂和参比试剂检测结果不一致的样本, 应用第三方试剂进行检测, 结果显示有1份为假阴性, 1份为真阳性, 1份为真阴性. 所以考核试剂的敏感性为99.17%, 特异性为100%. ROC曲线下面积达0.990, 说明考核试剂盒的检测性能优越, 有较高的准确性(图1).

3 讨论

戊型病毒性肝炎的流行特点似甲型肝炎, 经粪-口途径传播, 具有明显季节性, 多见于雨季或洪水之后, 无慢性化, 预后良好.

HEV根据易感宿主的差别可以分为2大类: 一类只分离自人的H(human)类, 包括HEV-1和HEV-2; 一类为人畜共患的Z(zoonosis)类, 包括HEV3和HEV-4. HEV分部具有一定的地区性, 但尽管不同地区分离、克隆的HEV病毒株的核苷酸序列变异较大, 但其基因结构基本相似, 基因组全长7.6 kb, 编码ORF1, ORF2, ORF3 3种病毒蛋白. ORF1被编码蛋白与RNA复制有关的非结构蛋白. ORF2具有典型的病毒衣壳蛋白的特征, 带有明显的信号肽序列, ORF2有2个主要抗原位点, 一个位点在感染性病毒的表面是不可接近的, 而另一个位点可以接触到抗体, 被特异性中和抗体所识别. ORF3蛋白的25氨基酸区为ORF3和ORF2相互作用所必需, ORF3在HEV结构组装中可能具有很好的调控作用. 意大利DIA.PRO Diagnostic Bioprobes Srl生产的戊型肝炎病毒抗

■应用要点

本文提示, 意大利DIA.PRO Diagnostic Bioprobes Srl生产的HEV抗体检测试剂盒由于采用对患者血清中HEV抗体(IgG+IgM)的联合检测, 可以提高HEV的临床检出率, 有助于疾病的诊断与预防.

■同行评价

本研究对HEV抗体检测试剂盒临床考核数据进行了分析,是一篇有临床实际应用价值的文章。

表 1 考核试剂与参比试剂测定结果 (n)

		万泰试剂		合计
		阳性	阴性	
Dia.Pro	阳性	119	1	120
	阴性	2	328	330
合 计		121	329	450

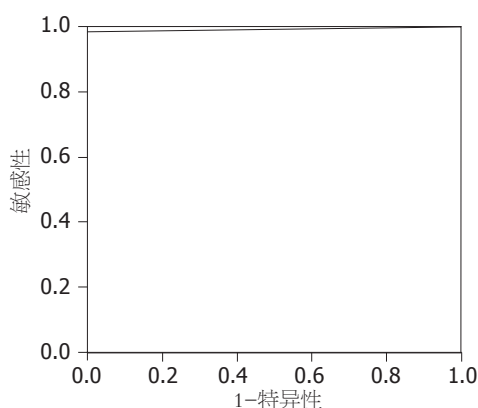


图 1 考核试剂检测HEV IgG+IgM的ROC曲线。

体检测试剂盒的微孔板上包被了HEV 1, 2, 3, 4型的ORF2和ORF3的抗原保守片段, 所以大大地降低了假阴性结果的产生, 提高了检测的准确性。

一种新的体外诊断试剂盒的灵敏性、重复性、准确性、精密性、特异性和可靠性等参数是首先必须考核的指标^[9]。同时通过对临床标本的检测, 并将结果与同类产品(或方法)比较和分析, 也是考核试剂盒临床实际性能的重要内容, 是综合评价新研发产品灵敏度和特异性的重要资料^[10]。由于目前国内尚无批准上市的同类产品, 参比试剂选用北京万泰生物药业有限公司生产的HEV抗体酶联免疫诊断试剂盒。

根据对以上450例标本的临床试验结果表明, 通过对考核试剂与参比试剂进行对比研究,

考核试剂和参比试剂的阳性符合率98.35%, 阴性符合率99.70%, 总符合率99.33%。对考核试剂和参比试剂检测结果不一致的3例样本进行第三方试剂检测, 有1份为假阴性, 1份为真阳性, 1份为真阴性, 结果表明, 考核试剂的敏感性为99.17%, 特异性为100%。经过Kappa分析和ROC分析, 可见该考核试剂检测性能优越, 有较高的准确性, 与国内应用范围比较广的HEV抗体酶联免疫诊断试剂盒相比无明显差别, 有很好的-致性; 且方法简单, 易于操作, 可同时处理大量样品, 可用于高通量检测。该试剂由于采用对患者血清中的戊型肝炎病毒抗体(IgG+IgM)的联合检测, 还可以提高HEV的临床检出率, 有助于疾病的诊断与预防。

4 参考文献

- 1 Nakamura M, Takahashi K, Taira K, Taira M, Ohno A, Sakugawa H, Arai M, Mishiro S. Hepatitis E virus infection in wild mongooses of Okinawa, Japan: Demonstration of anti-HEV antibodies and a full-genome nucleotide sequence. *Hepatol Res* 2006; 34: 137-140
- 2 庄辉. 重视戊型肝炎的研究. *中华肝脏病杂志* 2004; 12: 5-6
- 3 曲勇刚, 朱光泽, 孙中锋, 王铁峰. 戊型肝炎流行病学研究进展. *传染病信息* 2007; 20: 86-89
- 4 Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, Luk KC, Young LM, Fry KE, Bradley DW. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. *Science* 1990; 247: 1335-1339
- 5 陈紫榕. 病毒性肝炎. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 126-127
- 6 中华医学会传染病与寄生虫病学会和肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝脏病杂志* 2000; 8: 324-326
- 7 康来仪, 孙永德, 郝连杰, 曹学义, 潘启超. 我国丙型和戊型肝炎人群流行病学调查及流行因素的研究. *中华传染病杂志* 1997; 15: 712-715
- 8 程岩, 许家璋, 高蕾, 谢琴秀, 张馨, 孟运运. 164例散发性戊型肝炎临床分析. *江苏医药* 2005; 31: 337
- 9 张庆生. 分析方法的验证. *中国新药与临床药理* 1999; 10: 376
- 10 王瑞莲. 新药临床研究实用手册2设计、执行和分析. 北京: 化学工业出版社, 2003: 38-44

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕