

按 2010 版《中国药典》要求研制的丙型肝炎病毒抗体检测试剂性能验证

王 左(四川省肿瘤医院,成都 610041)

【摘要】 目的 对按新版《中国药典》要求研制的丙型肝炎病毒抗体(下称丙肝抗体)试剂的方法学性能进行评价和分析。**方法** 结合美国临床实验室标准化协会(CLIS)发布的 EP12-A2 文件《定性试验评价方法用户协议和提议指南》和中国合格评定国家认可委员会(CNAS)颁发的《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指南》对丙肝抗体进行性能评价。**结果** 丙肝抗体定性试验的临界值为 0.3 NCU/mL;诊断敏感性为 95.83%,特异性为 100%,符合率为 97.5%;批内精密度高值:12.94%,低值:13.67%;批间精密度的 CV 是 14.83%。**结论** 丙肝抗体试剂的方法学性能符合 2010 版《中国药典》要求,且比以前同类产品检测性能优良。

【关键词】 丙型肝炎病毒抗体; 中国药典; 验证

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.04.005 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)04-0393-02

Performance verification of anti-HCV test kit developed according to requirement of Chinese Pharmacopoeia 2010 version WANG Zuo(Sichuan Provincial Cancer Hospital, Chengdu, Sichuan 610041, China)

【Abstract】 Objective To perform the performance verification of the anti-HCV test kit developed according to requirement of the 2010 version of Chinese Pharmacopoeia. **Methods** According to the Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI) document EP12-A2 User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline and China National Accreditation Service for Conformity Assessment (CNAS) document Guidance on the Application of Medical Laboratory Quality and Competence Accreditation Criteria in the Fields of Clinical Immunology, the performances of anti-HCV was evaluated. **Results** The critical concentration at HCV blood serum in our laboratory was 0.3 NCU/mL. Sensitivity: 95.83%, specificity: 100%, compliance rate: 97.5%. Strong positive CV of within-run precision: $\leq 12.94\%$, weak positive: 13.67%. Between-run precision: 14.83%. **Conclusion** The performance verification of the anti-HCV test kit is accord with requirement of Chinese Pharmacopoeia 2010 version and better than previous similar products.

【Key words】 anti-HCV; Chinese Pharmacopoeia; verification

《中国药典》是我国保证药品、生物制品等质量的法典,具有科学性、先进性、规范性和权威性。2010 版《中国药典》充分借鉴了国际先进技术和经验,客观反映了中国当前医药工业、临床用药及检验技术水平,将在提高药品等质量过程中起积极而重要的作用。主要针对生物制药的《中国药典》第三部,对丙型肝炎病毒检测方法做了详细规定,为了验证按照新规定要求研制生产的市售丙型肝炎病毒抗体的性能,本文使用定性检测试剂的评价方法,针对科室现使用的丙肝病毒抗体检测试剂作如下验证。

1 材料与方法

1.1 标本 卫生部临床检验中心丙型肝炎质控品(1 NCU/mL)和卫生部临床检验中心临床考核血清盘。

1.2 仪器与试剂 北京万泰丙型肝炎病毒抗体检测试剂盒、汇松 MB-580 型多功能酶标分析仪。

1.3 方法及验证标准

1.3.1 临界点和临界点重复性验证 厂家给定的丙型肝炎病毒抗体临界点为 0.2 NCU/mL,用卫生部临床检验中心丙肝病毒抗体的质控血清稀释为此浓度,并对其重复测定 20 次。若产生 50%的阳性结果和 50%的阴性结果,此点为临界点,若非如此则需做一系列稀释来确定真正的临界点。在产生的临界点基础上准备出-20%浓度的标本和+20%浓度的标本,对以上低、高浓度标本分别测定 20 次,记录阴性及阳性结果数。如果-20%浓度的标本的结果大于或等于 95%结果是阴性;

+20%浓度的标本的结果大于或等于 95%结果是阳性,则说明重复测定临界点附近 95%区间的标本能得到一致结果^[1]。

1.3.2 临床敏感性和特异性 临床考核血清盘按丙型肝炎病毒抗体操作规程进行检测,统计标本真阳性(TP)、假阴性(FN)、真阴性(TF)、假阳性(FP)。诊断敏感性 = $TP / (TP + FN) \times 100\%$,要求大于或等于 95%;诊断特异性 = $TF / (TF + FP) \times 100\%$,要求大于或等于 95%;符合率 = $(TF + TP) / (TF + FP + TP + FN)$,要求大于或等于 95%。

1.3.3 精密度的验证^[2] 批内精密度:取高、低值临床患者血清,各连续重复测定 20 次,计算 CV。批间精密度:取质控血清,连续测定 5 d,每天测定 4 次,计算 CV。要求用国家参考品或经国家参考品标化的参考品进行检定, CV(%) 应不大于 15%。

2 结 果

2.1 根据厂家给出临界浓度 0.2 NCU/mL 的测试结果为 17 例为阴性,3 例为阳性,不满足临界点的定义。经过反复试验最终得出的临界浓度为 0.3 NCU/mL。在获得临界点的基础上临界点重复性结果:-20%的标本获得阴性结果为 $19/20 \times 100\% = 95\%$, +20%的标本获得阳性结果为 $19/20 \times 100\% = 95\%$ 。故临界值为 0.3 NCU/mL 适合本科室条件,此点重复性较好。

2.2 临床敏感性和特异性符合要求,结果见表 1。

2.3 批内精密度和批间精密度 CV 值均不大于 15%,符合要

求,检测结果见表 2。

表 1 临床敏感性和特异性结果

组别	参考血清盘结果		
	阴性	阳性	总数
阴性	16	1	17
阳性	0	23	23
总数	16	24	40

注:诊断敏感性:23/24×100%=95.83%。诊断特异性:16/16×100%=100%。符合率:39/40=97.5%。

表 2 精密度检测结果

测定次数	批内精密度		批间精密度
	高值	低值	
1	4.486 4	1.3333	3.840 7
2	4.203 1	1.666 7	4.731 4
3	4.652 1	1.802 1	4.467 5
4	5.997 9	1.992 3	3.901 4
5	5.180 7	1.993 3	3.908 6
6	5.321 4	1.995 2	4.290 0
7	5.090 7	2.307 6	5.485 7
8	5.753 6	2.316 2	3.972 9
9	4.706 4	1.751 4	3.839 3
10	4.986 5	1.976 2	4.730 7
11	4.459 3	1.783 5	5.651 4
12	4.032 9	1.798 7	4.665 7
13	4.735 7	1.856 2	4.730 7
14	4.896 5	2.202 9	4.555 0
15	4.426 4	2.210 5	4.995 7
16	6.451 4	2.159 8	3.088 6
17	5.812 1	2.405 7	4.065 7
18	5.812 9	1.735 2	4.045 7
19	4.801 4	2.008 6	3.357 1
20	5.596 4	1.691 4	4.195 7
$\bar{x}$	5.070 19	1.949 34	4.325 98
s	0.655 94	0.266 52	0.641 38
CV(%)	12.94	13.67	14.83

3 讨 论

丙型肝炎病毒在全球感染率已高达 3%^[3],且易转化为慢性肝炎、肝硬化和肝癌^[4]等慢性难治性疾病,已严重危害公共卫生安全。但目前还未阐明丙型肝炎病毒的致病机制^[5],又无有效疫苗可利用,因此对丙型肝炎病毒感染者的早期诊断是预防和控制丙型肝炎的最有效措施。现在丙型肝炎病毒检测的主要手段为定性检测,为确保检测结果的可靠,对其进行性能评价显得十分必要。

对定性实验而言,临界值是惟一的医学决定水平,当标本中被测物浓度处于临界水平时,重复检查同一标本,将产生 50%的阳性结果和 50%的阴性结果,厂家提供的临界点为 0.2

NCU/mL 而本科实际验证后所得临界点为 0.3 NCU/mL,说明厂家提供这些参数都是在最佳条件下完成的,而每个实验室条件和检测系统均有差异,故每个实验室应按照各自的检测系统和实验条件进行验证评价或建立方法学性能参数。

新方法的临界点 0.3 NCU/mL 与之前丙型肝炎病毒抗体诊断试剂的 1.0 NCU/mL 相比敏感性得到了显著提高。这可能与《中国药典》^[6]规定:加入标本后反应时间应不低于 60 min,加入酶结合物后反应时间应不低于 30 min,加入显色液后反应时间应不低于 30 min;辣根过氧化物酶的 RZ 值应不低于 3.0,其他酶的纯度应符合相应的要求等有关。因为反应时间的延长和标记酶的纯度都能不同程度地提高酶联免疫吸附试验的敏感性。

现目前国内的丙型肝炎病毒质控品最低浓度为 1 NCU/mL,本室测得的 S/CO 值约为 4;随着新试剂敏感性的提高,现已无 S/CO 值为 1~1.5 左右的质控血清,就不能很好地判断试剂盒检测低值的有效性。建议增加这个范围的质控血清,以满足临床质量控制的要求。

由于定性试验的结果不同于生化试验的比对,需要用临床资料或确诊试验所证实,所以通常用敏感性和特异性来评价定性试验的性能^[7]。本试剂特异性和敏感性较高,分别达到 100%和 95.83%,表明对丙型肝炎病毒的检出率高、误检率低,能满足临床需求。

批内精密度和批间精密度 CV 值均不太理想,需进一步探索最佳重复条件。但与临床免疫学室内质控 CV 的控制:ng 级可接受的 CV 在 30%^[8]相比,此方法试剂精密度已有较大提高。

总之,丙型肝炎病毒抗体试剂的方法学性能符合 2010 版《中国药典》要求,且比以前同类产品检测性能优良。

参考文献

[1] 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.

[2] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A2, evaluation of the linearity of quantative analytical methods [S]. CLSI,2003:1-47.

[3] Shepard CW, Finellil L, Alter MJ. Global epiemiology of hepatitis C virus infection[J]. Lancet Infect Dis, 2005, 5 (3):558-567.

[4] Akahoshi H, Taura N, Ichikawa T, et al. Differences in prognostic factors according to viral status in patients with hepatocellular carcinoma [J]. Oncol Rep, 2010, 23 (5):1317-1323.

[5] 朱勇喆,戚中田.丙型肝炎病毒复制的研究进展[J].中华实验和临床感染杂志,2008,2(4):57-59.

[6] Clinical and Laboratory Standards Institute. Assessment of the clinical accuracy of laboratory tests using receiver operating characteristic (ROC) plots [S]. CLSI,2002.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典三部 [M]. 2010 版. 北京:中国医药科技出版社,2010:335.

[8] 吕世静,陈育民. 免疫学检验 [M]. 北京:人民卫生出版社,2006:219.