

两种方法检测戊型肝炎病毒 IgM 抗体的临床验证

杨 燕, 韩红星, 李小勇, 刘厚明[△], 单万水(广东医学院附属深圳市第三人民医院检验科, 深圳 518020)

【摘要】 目的 对 MP 生物医学亚太私人有限公司(简称 MP 公司)生产的戊型肝炎病毒 IgM 抗体快速检测试剂(胶体金法)和戊型肝炎病毒 IgM 抗体检测试剂(酶联免疫吸附试验, ELISA)进行临床验证, 评价其与参比试剂的等效性。**方法** 采用 SFDA 注册的试剂(北京万泰生物药业股份有限公司生产, ELISA)为参比试剂, 与 MP 公司生产的上述两种试剂, 同时对 250 例标本进行比对试验; 如 MP 公司试剂与万泰试剂检测结果不一致, 用 SFDA 注册的第三方试剂(上海科华生物工程股份有限公司生产, 戊型肝炎病毒 IgM 抗体, ELISA)进行复核。**结果** MP 公司的胶体金法和 ELISA 试剂与万泰 ELISA 试剂检测戊型肝炎病毒 IgM 抗体阴性符合率分别为 96.9% 和 94.9%, 阳性符合率分别为 94.5% 和 92.7%, 总符合率分别为 96.4% 和 94.4%。两公司试剂检测结果比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** MP 公司胶体金法和 ELISA 检测戊型肝炎病毒 IgM 抗体试剂, 与参比试剂(万泰试剂)具有等效性, 可以在临床诊断中应用。

【关键词】 戊型肝炎病毒; IgM 抗体; 酶联免疫吸附试验; 胶体金法

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.22.041 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)22-3183-02

戊型肝炎是一种经粪-口传播的急性传染病, 潜伏期为 2~11 周, 平均 6 周, 临床患者多为轻、中型肝炎, 常为自限性, 儿童感染表现亚临床型较多, 成人病死率高于甲型肝炎, 尤其孕妇患戊型肝炎病情严重, 在妊娠的后 3 个月发生感染的病死率达 20%。目前对戊型肝炎临床检测多采用检测患者体内戊型肝炎病毒 IgM 抗体, MP 公司针对戊型肝炎病毒第 2 开放阅读框编码的高度保守构象表位序列重组抗原, 研制出胶体金法和酶联免疫试验(ELISA)两种试剂盒, 为验证其各项性能参数, 特在本院进行临床试验验证, 选择批准上市的同品类试剂盒, 万泰公司生产的 ELISA 试剂作为对比试剂, 如 MP 公司试剂与万泰试剂检测结果不一致, 用 SFDA 注册的第三方试剂(上海科华生物工程股份有限公司生产, 戊型肝炎病毒 IgM 抗体, ELISA)进行复核。现将临床试验结果和评价报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009 年 12 月至 2010 年 7 月本院住院或门诊收治的戊型肝炎患者及其他患者和健康体检者 250 例, 年龄 2~68 岁, 平均 38 岁。

1.2 仪器与试剂 爱康全自动酶联免疫仪 Ureanase-150。对比试剂: 戊型肝炎病毒 IgM 抗体 ELISA 诊断试剂由万泰公司提供, 第三方试剂戊型肝炎病毒 IgM 抗体由科华公司提供, 被考核试剂是 MP 公司生产的戊型肝炎病毒 IgM 抗体快速检测试剂(胶体金法)和戊型肝炎病毒 IgM 抗体检测试剂(ELISA)。所有试剂均按照要求保存, 在有效期内按要求使用。

1.3 方法 所有研究对象(包括临床诊断戊型肝炎, 乙型肝炎, 丙型肝炎, 其他疾病以及健康者)空腹采血 4 mL, 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清, 分别用万泰 ELISA、MP 公司胶体金法、ELISA 进行戊型肝炎病毒 IgM 抗体检测, 结果不一致的标本再用第三方试剂科华 ELISA 进行复核, 均严格按照试剂盒内说明书严格操作和判读结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析, 计算

MP 公司胶体金法和酶联免疫吸附试验检测戊型肝炎病毒 IgM 抗体结果与万泰酶联免疫试剂检测结果的阴性符合率、阳性符合率、总符合率。采用计数资料的配对设计四格表进行 χ^2 检验, 并计算一致性系数即 Kappa(K) 值。 $K > 0.8$, 则表明两种检测方法有等效性; 若 $K < 0.8$, 则表明两种检测方法测定数据没有等效性。

2 结 果

2.1 以 MP 公司研制生产的戊型肝炎病毒 IgM 抗体诊断试剂盒胶体金法作为被验证试剂, 以万泰公司生产的戊型肝炎病毒 IgM 抗体诊断试剂盒 ELISA 作为对比试剂, 对 250 例血清标本进行平行试验, 见表 1。

表 1 MP 公司胶体金法和万泰公司 ELISA 检测戊型肝炎-IgM 结果(n)

被验证试剂(MP 胶体金法)	万泰试剂 ELISA		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
阳性(+)	52	6	58
阴性(-)	3	189	192
合计	55	195	250

根据表 1 可计算出, 阴性符合率为 96.92%, 阳性符合率为 94.55%, 总符合率为 96.40%, 两种试剂盒的检测结果差异无统计学意义($\chi^2 = 0.44, P > 0.05$); 一致性系数 K 值为 0.897 8, 可认为两种方法检测结果具有高度一致性。对 9 例 MP 公司胶体金法和万泰公司 ELISA 检测结果不一致标本采用科华公司生产的同类试剂进行复检, 3 例万泰阳性而 MP 阴性标本用科华试剂检测均为阳性, 表明 MP 公司胶体金法灵敏度尚待提高, 6 例万泰阴性而 MP 阳性标本用科华试剂检测, 其中有 3 例阳性和 3 例阴性, 表明 MP 公司胶体金法特异度介于万泰和科华公司之间, 特异度良好。

2.2 以 MP 公司研制生产的戊型肝炎病毒 IgM 抗体诊断试

[△] 通讯作者, E-mail: eric120@126.com。

剂盒 ELISA 作为被验证试剂,以万泰公司生产的戊型肝炎病毒 IgM 抗体诊断试剂盒 ELISA 作为对比试剂,对 250 例血清标本进行平行测试,见表 2。

表 2 MP 公司 ELISA 法和万泰公司 ELISA 法检测戊型肝炎-IgM 结果(n)

被验证试剂(MP 试剂 ELISA)	万泰试剂 ELISA		合计
	阳性(+)	阴性(-)	
阳性(+)	51	10	61
阴性(-)	4	185	189
合计	55	195	250

根据表 2 可计算出,阴性符合率为 94.87%,阳性符合率为 92.73%,总符合率为 94.40%,表明两种试剂盒的检测结果显示差异无统计学意义($\chi^2 = 1.79, P > 0.05$);一致性系数 K 值为 0.843 0,可认为两种方法检测结果具有高度一致性。对 14 例 MP 公司和万泰公司 ELISA 检测结果不一致标本采用科华公司生产的同类试剂进行复检,4 例万泰阳性而 MP 阴性标本用科华试剂检测均为阳性,表明 MP 公司 ELISA 灵敏度尚待提高,10 例万泰阴性而 MP 阳性标本用科华试剂检测,其中有 7 例阳性和 3 例阴性,表明 MP 公司胶体金法特异度介于万泰和科华公司之间,特异度良好。

3 讨论

文献[1]报道我国戊型肝炎病毒流行率为 17.2%,各省市分布不均,均有散发性戊型肝炎病例发生,约占急性散发性病毒性肝炎的 8.6%。戊型肝炎临床表现与甲型肝炎类似,但重型肝炎发病率高,病死率为 1%~3%,较甲型肝炎高(约 0.5%),尤其孕妇感染病情较重,病死率可高达 20%。戊型肝炎病毒 DNA 检测是临床戊型肝炎诊断的金标准,但尚难以在临床上普遍应用,常规试验诊断仍主要依靠血清学检测。戊型肝炎病毒 IgM 抗体仅在急性期存在,因此最适合于临床急性戊型肝炎的诊断。由于戊型肝炎病毒的体外培养尚未成功,目前商业化的戊型肝炎病毒抗体检测试剂所用抗原多为重组蛋白或合成肽^[2-5]。这些重组蛋白或合成肽来源于不同基因型或不同地区的戊型肝炎病毒株,其结构区一般是 ORF2 和 ORF3 区域。有研究表明,ORF2 大片段抗原在检测 IgM 和 IgG 中要优于 ORF2 小片段和 ORF3 多肽抗原,而且很多实验室对所用抗原的表达和纯化方法也不尽相同,并且检测系统本身也存在差异^[6]。上述诸多不同均会影响检测试剂的灵敏度和特异度。

目前研究表明,人体感染戊型肝炎病毒后,机体引发多阶段的反应。在急性感染期的早期,伴随着临床症状的发生,机体开始产生抗戊型肝炎病毒 IgM 抗体,一般可持续 2~3 个月^[7-8]。IgG 抗体的出现要晚于 IgM,在急性期内持续上升,直至恢复期,并可持续维持高水平 1~4.5 年,甚至更长时间^[2,9]。因此,对 IgM 和 IgG 抗体的检测成为临床诊断戊型肝炎和研究戊型肝炎流行情况的重要手段,而 ELISA 和胶体金法成为戊型肝炎病毒抗体检测最常用的方法。

本研究结果显示,MP 公司胶体金法和 ELISA 检测戊型

型肝炎病毒 IgM 抗体均具有较高的敏感性和特异度,与对比试剂万泰公司 ELISA 检测结果比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),且一致性系数都大于 0.80,表明 MP 公司胶体金法和 ELISA 检测戊型肝炎病毒 IgM 抗体与万泰公司 ELISA 检测结果具有等效性。本次验证的 MP 公司胶体金法和 ELISA 检测戊型肝炎病毒 IgM 抗体试剂的灵敏度较万泰公司和科华公司 ELISA 略低,表明尚需要提高试剂的灵敏度,特异度介于万泰公司和科华公司 ELISA 之间,表明 MP 公司试剂的特异度良好。

参考文献

- [1] 朱光泽,屈勇刚,孙中峰,等. HEV 国内外研究现状及目前所面临的问题[J]. 中国实验诊断学,2006,10(8):937-939.
- [2] Favorov MO, Khudyakov YE, Mast EE, et al. IgM and IgG antibodies to hepatitis E virus(HEV)detected by an enzyme immunoassay based on an HEV-specific artificial recombinant Mosaic protein[J]. J Med Virol, 1996, 50(1):50-58.
- [3] Lin CC, Wu JC, Chang TT, et al. Diagnostic value of immunoglobulin G (IgG) and IgM anti-hepatitis E virus (HEV)tests based on HEV RNA in an area where hepatitis E is not endemic[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(11): 3915-3918.
- [4] Chen HY, Lu Y, Howard T, et al. Comparison of a new immunochromatographic test to enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of immunoglobulin m antibodies to hepatitis e virus in human sera[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2005, 12(5):593-598.
- [5] Hu WP, Lu Y, Precioso NA, et al. Double-antigen enzyme-linked immunosorbent assay for detection of hepatitis E virus-specific antibodies in human or swine sera[J]. Clin Vaccine Immunol, 2008, 15(8):1151-1157.
- [6] Herremans M, Bakker J, Duizer E, et al. Use of serological assays for diagnosis of hepatitis E virus genotype 1 and 3 infections in a setting of low endemicity[J]. Clin Vaccine Immunol, 2007, 14(5):562-568.
- [7] Chauhan A, Jameel S, Dilawari JB, et al. Hepatitis E virus transmission to a volunteer[J]. Lancet, 1993, 341(8838): 149-150.
- [8] Emerson SU, Purcell RH. Hepatitis E virus[J]. Rev Med Virol, 2003, 13(3):145-154.
- [9] Seriwatana J, Shrestha MP, Scott RM, et al. Clinical and epidemiological relevance of quantitating hepatitis E virus-specific immunoglobulin M[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2002, 9(5):1072-1078.