

• 检验仪器与试剂评价 •

两种丁型肝炎病毒检测试剂盒的对比分析

黄欣延¹, 李玲玲²

(1. 天津市第二人民医院检验科, 天津 300192; 2. 天津市大港油田职工总医院检验科, 天津 300280)

摘要:目的 对国外丁型肝炎病毒(HDV)检测试剂盒的性能进行研究和对比分析。方法 对采集的 1 000 份血清样本分别用考核试剂、参比试剂和第三方试剂进行检测后使用统计学方法进行结果处理, 并依据 S/Co 值来判断。结果 Kappa 分析显示 Kappa 值为 0.950($P < 0.01$)。特异性 100%, 敏感性 97.73%, ROC 曲线下面积 0.986。结论 该检测试剂盒的准确性比较高, 与目前国内使用比较广泛的诊断试剂盒相比有较高的一致性, 通过提高丁型肝炎的临床检出率, 对疾病的预防、早期诊断及治疗起到一定的辅助作用。

关键词: 丁型肝炎病毒; 抗体; 酶联免疫吸附试验

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.049

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2014)15-2080-02

Comparative analysis of two kinds of hepatitis D virus antibody test kits

Huang Xinyan¹, Li Lingling²

(1. Department of Clinical Laboratory, Tianjin Municipal Second People's Hospital, Tianjin 300192, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Workers General Hospital, Tianjin Municipal Dagang Oilfield, Tianjin 300280, China)

Abstract: Objective To conduct the study and comparative analysis on the performance of foreign hepatitis D virus(HDV) antibody test kits. **Methods** The collected 1 000 serum samples were tested by 3 kinds of different reagent: test reagent, reference reagent and third party reagent. The detection results were processed by the statistical method and the judgement was performed base on the S/Co value. **Results** The Kappa analysis showed that the Kappa value was 0.950($P < 0.01$). The specificity was 100%, the sensitivity was 97.73% and the area under ROC was 0.986. **Conclusion** The test kit has a relatively high accuracy and high consistency compared with the diagnostic reagent kits now widely used in domestic. Increasing the clinical detection rate of HDV can play a helping role on prevention, early diagnosis and treatment of the disease.

Key words: hepatitis D virus; antibody; enzyme-linked immunosorbent assay

丁型肝炎是由丁型肝炎病毒(HDV)引起的病毒性肝炎, 世界各地均有分布, 部分地区呈地方性流行^[1]。丁型肝炎患者感染早期, 血清中常可检出 HDVAg, 是丁型肝炎早期诊断的最佳指标, 但这个时期往往很难被捕捉到, 容易出现漏诊或误诊。在疾病感染中后期, 患者血清中出现 HDV IgM、HDV IgG, 在临幊上, 通过对 HDV IgM、IgG 的检测, 协助疾病的诊断和治疗。

1 材料与方法

1.1 标本采集 标本采用本院 1 000 份血清样本, 由静脉穿刺无菌采集, 每份血清样本均符合临幊实验室分析标准, 丢弃明显高脂或溶血的样本。

1.2 仪器与试剂 酶标仪(安图酶标仪 2.6, 安图实验仪器郑州有限公司), 恒温水浴箱, Ortho-Clinical Diagnostics 系统。考核试剂为意大利 Dia. Pro Diagnostic Bioprobe S. r. l. 生产 HDV 抗体检测试剂盒(以下简称为考核试剂, 批号: 0907), 参比试剂为意大利 Radim 公司生产的 HDV 抗体酶联免疫诊断试剂盒(双抗原夹心法)(以下简称为参比试剂, 批号: ES20080402), 第三方试剂为意大利 Adaltis 公司生产的 HDV IgM 抗体诊断试剂盒(酶联免疫法, 批号: 200711005, 注册证号: 国药准字 S20063144)。

1.3 统计学处理 对本实验的实验结果使用 SPSS13.0 软件进行统计学处理后行 Kappa 分析。由 Ortho-Clinical Diagnos-

tics 系统软件对实验结果进行判定。检测结果根据待测样品信号/临界阈值(S/Co)值来判断。

2 结 果

2.1 临幊研究结果及分析 通过对 1 000 份样本的检测, 40 份样本为阳性, 956 份样本为阴性; 剩余 4 份样本检测结果不相符, 1 份样本考核试剂为阴性, 参比试剂为阳性; 其他 3 份样本考核试剂为阳性, 参比试剂为阴性。结果显示考核试剂与参比试剂的阳性符合率 97.56%, 阴性符合率 99.69%, 总符合率 99.60%。用 SPSS13.0 对实验结果进行 Kappa 分析, Kappa 值为 0.950($P < 0.01$), 说明考核试剂和参比试剂之间有很好的一致性, 见表 1。

表 1 考核试剂和参比试剂测定结果(*n*)

考核试剂	参比试剂		合计
	阳性	阴性	
阳性	40	3	43
阴性	1	956	957
合计	41	959	1 000

2.2 诊断的敏感性和特异性分析 对于检测结果不相符的 4 份样本, 使用第三方试剂进行重新检测后其中 1 份为假阴性, 这样的结果与参比试剂一致。特异性 100%, 敏感性 97.73%,

ROC 曲线下面积 0.986, 说明该检测试剂盒的准确性比较高见图 1。

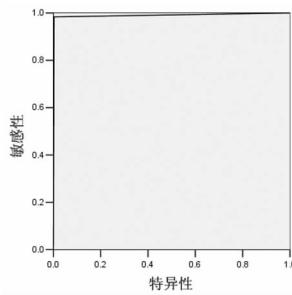


图 1 考核试剂检测 ROC 曲线

3 讨 论

1977 年有研究者发现一种新的病毒抗原, 他们将其命名为 δ 因子, 即现在的 HDV 抗原。这种抗原虽然存在于慢性乙肝患者的肝细胞核内, 但是经过分子实验证明两者毫无同源性而且与宿主细胞的 RNA 也无任何关系。由于 HDV-RNA 分子量很小, 使其独立复制增殖的能力产生缺陷, 它必须在 HBV 或其他嗜肝 DNA 病毒的辅助下才能复制增殖。HDV 通过 HBsAg 外壳进入宿主肝细胞, 并在 HBsAg 辅助下包装, 释放和再感染^[2-5]。这种再感染暴发后很可能发展成肝硬化或肝癌^[6]。

HDV 侵入人体后, 和乙型肝炎病毒共同作用, 其中慢性乙肝和肝纤维化病例的 HDV 感染显著增高, 提示 HDV 感染与肝病的严重程度相关^[7-8]。部分患者会引发肝细胞的大量溶解, 而发生暴发性肝衰竭, HDV 在其中起着重要的作用。暴发性肝衰竭病死率高, 如早期积极内科治疗或配合血液净化等手段, 能提高患者的生存率和生存时间, 所以, 对于丁型肝炎的早期正确诊断就显得尤为重要。目前对于 HDV 的检测有 PCR 法、分子杂交法和 ELISA 法, 前两种方法主要是检测 HDV-RNA, 受各实验室专业仪器限制, 并且目前对此尚无统一检测的标准^[9]。用 ELISA 法检测抗原、抗体操作简单, 实验设备也比较常见, 一般检验实验室开展起来比较方便。

用 ELISA 法检测血清中的 HDVAg, 有助于丁型肝炎的早期诊断, 但病毒血症时间很短, 血清中的 HDVAg 在感染 1~2 周后就很难检测到^[10]。因此早期快速准确的检测到 HDV 的抗体就显得尤为重要。考核一种新的体外诊断试剂盒, 特异性、灵敏性、重复性、准确性、精密性、可靠性等是必须参考的指标^[11]。考察试剂盒的临床实际性, 通过对临床标本的检测, 将结果与同类产品(或方法) 比较和分析, 是评价新研发产品特异性和灵敏度的重要资料^[12]。

通过对本院的 1 000 份样本进行总结研究发现, 考核试剂和参比试剂的阳性符合率 97.56, 阴性符合率 99.69%, 总符合率 99.60%, 特异性为 100%, 敏感性为 97.73%。通过 Kappa 和 ROC 分析, 反映该考核试剂检测性能优越, 有较高的准确性。该试剂通过检测患者血清中的 HDV 抗体(IgM), 可以有效提高丁型肝炎的临床检出率, 对疾病的预防、诊断、治疗起到一定的作用。

参考文献

- [1] 谢立, 黄德庄. 用基因重组丁型肝炎病毒抗原检测丁肝病毒 IgM 抗体及其初步应用[J]. 天津医药, 2004, 7(7): 423.
- [2] Chen PJ, Kalpana G, Goldberg J, et al. Structure and replication of the genome of hepatitis 8 virus[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83(22): 8774-8778.
- [3] Chao YC, Lee CM, Tang HS, et al. Molecular cloning and characterization of an isolate of hepatitis delta virus from Taiwan[J]. Hepatology, 1991, 13(2): 345-352.
- [4] Bonino F, Hoyer B, Shih JW, et al. Delta hepatitis agent: structural and antigenic properties of the delta-associated particle[J]. Infect Immun, 1984, 43(3): 1000-1005.
- [5] Moraleda G, Dingle K, Biswas P, et al. Interaction between hepatitis delta virus proteins[J]. J Virol, 2000, 74 (12): 5509-5515.
- [6] Su CW, Huang YH, Hugo TI, et al. Genotypes and viremia of hepatitis B and D viruses are associated with outcomes of chronic hepatitis D patients[J]. Gastroenterology, 2006, 130(1): 1625-1635.
- [7] 许泼实, 韩双印, 孙长义, 等. 乙型肝炎病毒感染者血清中丁型肝炎病毒标志物检测分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2012, 26(4): 307-309.
- [8] Shen L, Gu Y, Sun L, et al. Development of a hepatitis delta virus antibody assay for study of the prevalence of HDV among individuals infected with hepatitis B virus in China[J]. J Med Virol, 2012, 84(3): 445-449.
- [9] 王云龙, 王娟. 丁型肝炎病毒 ORF5 基因片段的原核表达及在 ELISA 中的初步应用[J]. 动物医学进展, 2012, 33(5): 31-34.
- [10] 邵惠训. 一种缺陷病毒——丁型肝炎病毒[J]. 首都公共卫生, 2011, 5(3): 115-119.
- [11] 张庆生. 分析方法的验证[J]. 中国新药与临床药理, 1999, 10(6): 376.
- [12] 王瑞莲. 新药临床研究实用手册 2 设计、执行和分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.

(收稿日期: 2014-03-12)

医学统计工作的基本内容

按工作性质及其先后顺序, 可将医学统计工作分为实验设计、收集资料、整理资料、分析资料。实验设计是开展某项医学研究工作的关键, 包括医学专业设计和统计学设计, 医学专业设计的内容包括研究对象纳入和排除标准、样本含量、获取样本的方法、分组原则、观察(检测)指标、统计方法等。收集资料的方法包括各种试验、检测或调查, 要求资料完整、准确、及时、有足够的数量、具有代表性和可比性等。整理资料包括原始资料的检查与核对、对资料进行分组与汇总等。分析资料即对资料进行统计学分析, 包括进行统计描述和统计推断。