

三种国产抗-HCV 酶联免疫诊断试剂检测结果与电化学发光法比较

吴军 蒋理 谢而付 张巧娣 倪芳

【摘要】 目的 探讨 A、B 和 C 三种不同国产酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂检测丙型肝炎病毒抗体 (抗-HCV) 结果的差异性, 并将检测结果与电化学发光法检测结果进行比较。方法 随机挑选临床检测样本 94 例。所有样本再使用 B、C 和 Roche 电化学发光法试剂盒进行检测。ELISA 试剂都使用各自的试剂盒 S/CO 值进行阴阳性判断, 电化学发光检测结果判断以仪器的 COI 作为判断标准, 结果 >1 为检测有反应性。结果 A、B、C 和电化学发光检测的阳性率分别为 84.04% (79/94)、35.11% (33/94)、25.53% (24/94) 和 39.36% (37/94), A 试剂显著高于电化学发光法, 而 C 试剂显著低于电化学发光法。A、B、C 和电化学发光检测的结果一致性分别为 55.32% (52/94)、95.74% (90/94) 和 86.17% (81/94)。将 A 试剂盒检测的结果分为阴性组 (<1)、弱阳性组 (1~8)、阳性组 (>8) 三个组, 阴性和阳性组四种试剂检测结果符合率较好, 而弱阳性组符合率较低。结论 3 种国产试剂对阴性和阳性标本与 Roche 电化学发光法检测符合率很高, 弱阳性标本符合率则存在差异, 对于弱阳性标本建议使用确诊试验。

【关键词】 肝炎抗体, 丙型; 酶联免疫吸附测定; 化学发光测定法

Evaluation and comparison of three different hepatitis C virus antibody tests based on enzyme-linked immunosorbent assay and chemiluminescence methods WU Jun, JIANG Li, XIE Er-fu, ZHANG Qiao-di, NI Fang. Laboratory Department of Jintan People's Hospital in Jiangsu Province, Jintan 213200, China
Corresponding author: JIANG Li, Email: joy232295@sohu.com

【Abstract】 Objective To investigate the difference of results based three commercially anti-HCV antibody ELISA kits(A, B and C) used in routine laboratory in China. We also compare the results with the results based chemiluminescence immune assay(CIA) methods. **Methods** Ninety four samples of sera were collected from inpatients. All sera were analysed using three different ELISA kits and Cobas e 601 anti-HCV CIA systems. All of the assays were performed and S/CO or COI were gained according to the manufacturers' instructions. If the S/CO or COI>1 the results were considered reactive. **Results** Total anti-HCV positive rate for the 94 serum samples to the three different ELISA tests and CIA systems were 84.04 % (79/94), 35.11% (33/94), 25.53% (24/94) and 39.36% (37/94). The positive rate of A ELISA test kits was statistically higher than the rate of CIA systems, but C ELISA test kits was lower than CIA systems. No difference was between B ELISA test kits and CIA systems. The total coincidence rates between three ELISA kits and CIA systems were 55.32% (52/94), 95.74% (90/94) and 86.17% (81/94). According to the results based A ELISA kits, the samples were divided into three groups: negative group (<1), weak positive group (1-8) and positive group (>8). In the negative group and positive group, the results had good coincidence rate based four reagents, but weakly positive group, the coincidence rate was low. **Conclusion** In the negative group and positive group, the results have good coincidence rate based three ELISA kits, but weakly positive group, the coincidence rate is low, so the confirm tests is recommended.

【Key words】 Hepatitis C antibodies; Enzyme-linked immunosorbent assay; Chemiluminescent measurements

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.20.012

基金项目: 国家自然科学基金 (81101322); 江苏省实验诊断学重点实验室基金 (XK201114)

作者单位: 213200 江苏省, 金坛市人民医院检验科 (吴军); 南京医科大学第一附属医院检验学部 (蒋理、谢而付、张巧娣、倪芳)

通讯作者: 蒋理, Email: joy232295@sohu.com

丙型肝炎病毒(HCV)感染引起,其感染后发病几乎无症状或症状非常轻微,但病程容易形成慢性化,最终导致肝纤维化^[1]。丙型肝炎通常通过输血、血液透析和性传播等途径传播。据世界卫生组织估计,全世界约有1.3~1.7亿慢性丙型肝炎患者^[2]。

目前,临床上对于HCV感染的诊断主要有检测核酸、HCV抗原和抗体检测^[3]。其中HCV抗体检测是判断临床HCV感染的常用指标,目前常使用ELISA方法来进行该指标检测。抗HCV检测试剂盒均采用HCV的基因工程或合成多肽抗原包被固相,以间接法进行检测。由于不同厂家所使用的HCV抗原片段不同,当抗-HCV滴度很低时,例如检测HCV感染早期的患者,其结果差别可能会更大,会存在一定的假阳性和假阴性,给临床解释带来困惑^[4]。为此,我们对3种不同厂家生产的ELISA检测抗-HCV试剂盒的检测结果进行比较。同时,因为电化学发光检测结果具有较高的准确性和灵敏度,我们将三种试剂检测结果与电化学发光检测结果进行比较。

资料与方法

一、一般资料

1. 标本来源:94例临床样本来自2012年11月至2013年1月在南京医科大学第一附属医院住院患者标本,所有标本均空腹采集静脉血。3000 r/min离心5 min后,及时分离血清,置-70℃以下冻存。

2. 试剂与仪器:ELISA法检测抗-HCV试剂盒分别为A、B和C三家公司生产,化学发光检测抗-HCV试剂盒为德国Roche公司生产。酶标仪为BIO-RAD 550型酶标仪,化学发光检测采用德国Roche Cobas e 601型电化学发光仪。

二、方法

所有患者的临床样本均采用A、B、C和Roche电化学发光法试剂盒进行检测,ELISA方法都使用各自的试剂盒S/CO值进行阴阳性判断,电化学发光检测结果判断以仪器的COI作为判断标准,结果>1为检测有反应性,判断为阳性。抗-HCV质控品购买自北京康彻思坦生物技术有限公司,每次检测均带质控品,并且质控品均在控。

三、统计学方法

采用STATA 10.0统计软件,符合率的比较采用卡方检验,检测结果的一致性比较采用率的比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 不同试剂检测抗HCV结果比较:94例血清分别采用不同厂家ELISA和电化学发光抗HCV试剂检测,A、B、C和化学发光的检测结果的阳性数分别为79、33、24和37例,分别将ELISA检测结果与电化学发光结果阳性率比较,其中A试剂的检测阳性率显著高于电化学发光检测方法,而C试剂的检测阳性率显著低于电化学发光检测方法,差别有统计学意义,结果见表1。

表1 4种试剂检测结果

试剂名称	例数	阳性例数	阳性率(%)	χ^2 值	P值
A	94	79	84.04	39.71	0.000
B	94	33	35.11	0.36	0.546
C	94	24	25.53	4.10	0.043
电化学发光	94	37	39.36		

注: χ^2 值和P值分别为A、B、C三种方法与电化学发光比较结果

2. 不同试剂检测抗HCV结果与电化学发光符合性比较:A、B、C和化学发光的检测结果一致性分别为55.32%(52/94)、95.74%(90/94)、86.17%(81/94),结果见表2,对3种不同ELISA试剂与电化学的符合率进行比较,发现A组的符合率和B、C组均有差异,而B和C组之间没有差异。

表2 电化学发光结果与A、B和C试剂一致性结果

ELISA试剂	电化学发光(例)		一致性标本数(例)	符合率(%)
	阳性	阴性		
A试剂	阳性	37	52	55.32(52/94)
	阴性	0		
B试剂	阳性	33	90	95.74(90/94)
	阴性	4		
C试剂	阳性	24	81	86.17(81/94)
	阴性	13		

注:符合率比较,A与B比较的P值为0.00,A与C比较的P值为0.00,B与C比较的P值为0.989

3. 不同抗-HCV结果组的符合率比较:4种试剂的阴性、弱阳性和阳性数值判断标准相同,将94例使用A试剂盒检测的结果分为3个组,其中<1区段为阴性结果组, ≥ 1 且<8为弱阳性组,而 ≥ 8 为强阳性组,分别比较在不同组内4种不同检测试剂的符合率。与A试剂检测结果的符合情况见表3。

讨论

HCV属于黄病毒科RNA病毒,实验室的主要诊断手段是检测其抗体和病毒RNA,因为RNA检测价格昂贵,且RNA易受RNA酶降解,因此,抗体检测在临床应用中最普遍。目前,抗HCV试剂已从第一

表3 不同结果组 B、C 和电化学发光检测试剂与 A 试剂检测结果的符合

A 试剂检测结果分布	标本数	B 试剂检测结果		C 试剂检测结果		电化学发光检测结果	
		标本数(例)	符合率(%)	标本数(例)	符合率(%)	标本数(例)	符合率(%)
阴性(<1)	15	15	100	15	100	15	100
弱阳性(≥ 1 且<8)	58	5	8.62	9	15.52	16	27.59
阳性(≥ 8)	21	19	90.48	20	95.24	20	95.24

代发展到今天的第三代,随着 HCV 研究的发展,ELISA 抗 HCV 试剂盒质量在不断提高。ELISA 检测抗 HCV 试剂盒通常会采用双抗原夹心法,不同试剂盒采用的包被抗原表位不同,可能会得出不同的结果。对于一些 HCV 感染早期的患者,因产生的抗 HCV 滴度很低,其结果差别可能会更大。近年来,电化学发光在临床检验工作中得到广泛的应用,电化学发光检测抗 HCV,其使用磁珠包被抗原然后对抗 HCV 进行检测,可以使用不同抗原片段的混合 HCV 抗原进行包被,大大提高了与抗 HCV 结合的概率,同时使用后续的电化学方法进行检测,提高了检测敏感性^[5]。但电化学发光法检测试剂昂贵,难以在基层开展。

在本次实验中,我们使用 3 种不同厂家的 ELISA 试剂和 1 种电化学发光检测试剂盒,将 ELISA 检测的结果与电化学发光检测结果比较,发现部分试剂检测阳性率高于电化学发光,而部分检测结果低于电化学发光,这说明不同的 ELISA 试剂具有不同的敏感性和特异性,与张璇等^[6]结果相似。三种不同的 ELISA 试剂虽然都是第三代检测试剂盒,均包被有 NS3、NS4 和 NS5,但不同厂家所使用的纯化和包被技术的差别,对后续的临床检测的敏感性和特异性都会产生差异。

电化学发光标记技术是近年来产生的一种新的免疫标记技术,检测结果灵敏度高,结果可靠^[7],比 ELISA 具有更高的准确性,因此,本研究中将三种 ELISA 的检测分别结果与电化学发光的检测结果进行一致性比较,其一致性分别为 55.32% (52/94)、95.74% (90/94)、86.17% (81/94),B 试剂一致性最好,这说明 B 试剂在检测敏感性和特异性方面很接近电化学发光检测结

果。

使用 A 试剂盒检测的 94 例患者血清结果分为 3 个组,其中 <1 区段为阴性结果组, ≥ 1 且<8 为弱阳性组,而 ≥ 8 为强阳性组,分别比较在不同组内 4 种不同检测试剂的符合率。结果显示在阴性组和强阳性组,四种检测试剂的一致性很好,而弱阳性组,一致性很差。这也说明不同试剂检测的结果差异较大。因此,对于处于弱阳性区域的临床标本应该建议使用两种或者两种以上的试剂进行检测,或者采用灵敏度更高的电化学发光方法进行检测。

参 考 文 献

- [1] Diepolder HM. New insights into the immunopathogenesis of chronic hepatitis C. *Antiviral Res*, 2009, 82: 103-109.
- [2] Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, 2001, 345: 41-52.
- [3] Chevaliez S, Pawlotsky JM. Diagnosis and management of chronic viral hepatitis: antigens, antibodies and viral genomes. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2008, 22: 1031-1048.
- [4] Kesli R, Ozdemir M, Kurtoglu MG, et al. Evaluation and comparison of three different anti-hepatitis C virus antibody tests based on chemiluminescence and enzyme-linked immunosorbent assay methods used in the diagnosis of hepatitis C infections in Turkey. *J Int Med Res*, 2009, 37: 1420-1429.
- [5] Dufour DR, Talastas M, Fernandez MD, et al. Chemiluminescence assay improves specificity of hepatitis C antibody detection. *Clin Chem*, 2003, 49: 940-944.
- [6] 张璇,裴元元,宋世军,等. 4 种国产丙型肝炎病毒抗体酶联免疫诊断试剂的检测分析. *检验医学与临床*, 2012, 9: 2869-2870.
- [7] 丁海明,周华友,潘婉仪. 电化学发光法检测 HCV 抗体可靠性分析. *中国输血杂志*, 2012, 25: 649-651.

(收稿日期: 2013-10-07)

(本文编辑: 戚红丹)