

• 临床研究 •

7 家 ELISA 法 HBsAg 诊断试剂的质量评价分析

陈云贞

(广西梧州市红十字会医院检验科, 广西梧州 543002)

摘要:目的 对 7 家 ELISA 法 HBsAg 诊断试剂(国产 5 家进口 2 家)进行质量考核和分析,为实验室选择高质量试剂提供参考。**方法** 应用临床科研血清盘、HBsAg 弱阳性定值质控血清,对 7 家 ELISA 法 HBsAg 诊断试剂盒的灵敏度阴阳样总符合率以及亚型最低检出限进行质量评价分析。**结果** 7 家试剂对 HBsAg 弱阳性 0.2 IU/mL 定值质控血清、adr、adw 亚型的最低检测限,检测的 S/CO 比值的差异很大;3 国产试剂对 ay 血清型的出现漏检现象。**结论** 7 家 HBsAg ELISA 诊断试剂的灵敏度总符合率均有较大的差异,实验室在选择试剂时应当进行考核,进口试剂相对质量较好。

关键词:乙型肝炎表面抗原; 诊断试剂; 临床科研血清盘

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.15.052

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)15-2249-02

乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)是乙型肝炎病毒(HBV)感染最重要的血清标志物,其检测结果受到试剂质量和检测方法的影响^[1]。目前检测 HBsAg 是最常用方法采用 ELISA 法。我国 ELISA 法 HBsAg 试剂盒实行国家“批批检”制度,只有批批检合格后才可以出售,但由于 HBsAg 试剂是具有生物活性的试剂,各试剂厂家生产工艺、包被乙肝表面抗体纯度等不同存在一定的差异,国产试剂检测 adw 和 ay 血清型的灵敏度明显低于 adr 血清型^[2]。本文研究对象为目前市场占有率比较高的 7 家 ELISA 法 HBsAg 诊断试剂,其中国产试剂 5 家,进口试剂 2 家,在使用临床科研血清盘和定值质控血清样本进行灵敏度考核,比较 7 试剂的灵敏度、阴阳性样本的总符合率,并对弱阳性样本、亚型样本检测的 S/CO 进行比较,结果发现 7 厂家试剂对亚型的最低检测限以及弱阳性检测的 S/CO 比值有很大差异,灵敏度、总符合率也有较大的不同。现总结如下。

1 材料与方 法

1.1 材料 7 个厂家的试剂分别用 A、B、C、D、E、F、G 表示, A、B、C、D、E 为国产试剂, F、G 为进口试剂,批号为 B20130718、201306031、2013050608、20130613、2013055110、D18810 和 D217110 均为中国药品生物制品检定所批批检合格的产品,且在有效期内使用。临床科研血清盘:由康彻思坦生物公司提供,其中阴性参考品 20 份,阳性参考品 20 份, L1~L5 为梯度稀释血清样本;批号为 201211004,有效期 201510。

0.2 IU/mL 标准物质由康彻思坦生物公司提供。10~50 μL、50~200 μL 微量加样器、50~300 μL 多通道微量加样器、340RT 全自动酶标分析仪、RT-3100 全自动洗板机;37 °C 电热恒温孵育箱。

1.2 方法 用康彻思坦生物公司生产的 HBsAg 临床科研血清盘检测,计算各厂家的阴性、阳性符合率及总符合率;用定值质控血清 0.2 IU/mL 标准物质在批内各做 10 孔,计算各厂家试剂的精密度。应用 HBsAg 临床科研血清盘亚型、弱阳性参考品样本检测的 S/CO 值考察试剂的灵敏度和最低检出限。若出现假阴性或假阳性再用双孔复试。通过统计分析评价各试剂的灵敏度、特异度、精密度、约登指数。

2 结 果

2.1 血清盘检测结果 7 家 HBsAg ELISA 诊断试剂试剂,检测康彻思坦生物公司 HBsAg 临床科研血清盘 20 份阴性参考品、20 份阳性参考品,各试剂的灵敏度、特异度、约登指数以及 HBsAg 临床科研血清盘亚型、弱阳性参考品样本检测的 S/CO 值见表 1 及表 2、3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.2 精密性参考品测定 检测 0.2 IU/mL 标准物质的定值质控血清,每个厂家检测 10 孔测定结果发现 7 个厂家的均值和精密度(CV%)均有比较大的差异,见表 4。

表 1 7 家诊断试剂检测临床科研血清盘参考品结果

厂家	阳性参考品样本		阴性参考品样本		估计灵敏度 (%)	估计特异度 (%)	约登指数
	阳性结果(n)	假阴性结果(n)	假阳性结果(n)	阴性结果(n)			
A	20	0	0	20	100	100	1.0
B	19	1	1	19	95	95	0.9
C	19	1	0	20	95	100	0.95
D	19	1	0	20	95	100	0.95
E	19	1	0	20	95	100	0.95
F	20	0	0	20	100	100	1.0
G	20	0	0	20	100	100	1.0

表 4 7 家诊断试剂检测 0.2 IU/mL 定值质控血清结果

孔数	A 厂家 S/CO	B 厂家 S/CO	C 厂家 S/CO	D 厂家 S/CO	E 厂家 S/CO	F 厂家 S/CO	G 厂家 S/CO
1	3.57	1.89	2.28	3.78	3.02	4.48	9.29
2	3.81	1.94	2.28	4.03	3.35	4.48	8.44

续表 4 7 家诊断试剂检测 0.2 IU/mL 定值质控血清结果

孔数	A 厂家 S/CO	B 厂家 S/CO	C 厂家 S/CO	D 厂家 S/CO	E 厂家 S/CO	F 厂家 S/CO	G 厂家 S/CO
3	3.22	1.74	2.08	3.66	3.57	4.91	8.41
4	3.30	1.77	2.13	3.79	2.93	5.11	8.39
5	3.37	1.90	2.10	4.05	2.90	4.73	9.05
6	4.16	2.09	2.33	3.91	3.26	4.73	9.17
7	4.02	1.89	2.39	3.65	3.27	4.64	8.21
8	4.08	1.89	2.66	3.77	3.09	4.44	8.64
9	4.17	1.80	2.35	3.62	3.02	4.33	8.66
10	3.71	1.86	1.98	3.57	3.11	4.59	8.14

3 讨论

我国是 HBV 感染的高发区, 占总人口 7.18% 的人群感染 HBV^[3] 为更准确地检测 HBsAg, 人们不断开发或引进新的免疫学检测方法。新的方法如化学发光法虽然灵敏度和特异度得到提高, 但其成本高、对仪器设备要求高, 大多依赖进口, 因而 ELISA 试剂盒仍被广泛应用^[4]。

从表 1、3 结果看到 7 家 HBsAg ELISA 诊断试剂检测康彻思坦生物公司 HBsAg 临床科研血清盘 20 份阴性样本, 只有 B 厂家有一份阴性样本出现了假阳性的结果, 特异度为 95%。A、C、D、E、F、G 厂家检测结果为 20/20, 特异度为 100%。特异度: A、C、D、E、F、G 厂家为 100%, B 厂家为 95%; 检测 20 份阳性样本 A、F、G 三个厂家为 20/20, 检出 20 份阳性样本; B 厂家出现了一份阳性样本检测为阴性结果, 两份阳性样本检测结果为 S/CO 接近 1.00 的可疑结果; C、D、E 三个厂家出现了同样一份 ay 亚型阳性样本检测为阴性的结果。灵敏度: A、F、G 厂家 100%, B、C、D、E 厂家为 95%。总符合率: A、F、G 厂家 100%; B 厂家 90%; C、D、E 厂家为 95%。约登指数 A、F、G 三个厂家为 1.0; B 厂家 0.9; C、D、E 厂家为 0.95。

检测的 3 份 1 000 IU/mL 以上浓度强阳性标本结果均为阳性, 7 个厂家试剂无检 (HOOK) 现象; 灵敏度参比品最低检出量 3 种亚型 (adr, adw, ay) 7 个厂家有所不同: A、F、G 厂家对 adr 亚型、adw 亚型 0.2 IU/mL, ay 亚型 0.5 IU/mL 均能有效的检出; B 家对 adr 亚型、adw 亚型 0.2 IU/mL 的样本检出为可疑结果, 对 adr 亚型、adw 亚型 0.5 IU/mL 以上和 ay 亚型 0.5 IU/mL 均能有效的检测; C、E、D 厂家对 adr 亚型、adw 亚型 0.2 IU/mL 能有效的检测, 但对 ay 亚型 0.5 IU/mL 均出现了阴性漏检的结果。有报道^[5] 发现 ay 血清亚型发生变异较 ad 血清亚型变异更难检出, 可能是由于试剂盒中使用的抗体多由 ad 亚型 HBsAg 免疫获得, 对 ad 亚型 HBsAg 有较好的亲和力。结果提示 7 个厂家检测亚型的能力有很大的差异, 因此选用试剂时应当考虑厂家在制备试剂时对不同病原体亚型的检出能力。

从表 2 看出 7 家 HBsAg ELISA 诊断试剂厂家的试剂对同一份梯度稀释样本检测的 S/CO 值与 HBsAg 水平 (IU/mL) 呈正相关, 表明试剂检测样本的 S/CO 反映试剂的灵敏度。从表 4 看出在对精密性参考品的检测中 7 个厂家变异系数小于 10%, 都小于国家“批批检”规定的精密性小于 15% 的检定标准。但从表 2~4 中可以看到 7 个厂家的试剂在检测各个亚型 (adr, adw, ay) 参考品和检测弱阳性样本中 S/CO 比值却差异很大, 有报道主要是不同厂家试剂盒包被抗体成分纯度、生产

工艺等不同造成的^[6]。

综上所述, 我国国产的 HBsAg 试剂经过从“一步法”到“两步法”, 检测的灵敏度和特异度有了很大的提高, 但由于 HBsAg 诊断试剂不同生产厂家使用的包被单克隆抗体不同, 对不同亚型的亲和力不同, 检测 HBsAg 的能力也有所不同。作为血液筛查实验室选择试剂时, 应重点关注其灵敏度, 但也不能忽视其特异度, 只有这样才不会因为灵敏度低造成漏检, 又可避免假阳性较多造成复检率高, 血液报废率高^[7]。在所考核的 7 个厂家试剂中, F、G 进口试剂和国产 A 厂家试剂的灵敏度和特异度均为 100%, 是质量比较好的试剂; B 厂家试剂存在着非特异性反应现象且灵敏度不高, 对小于 0.2 IU/mL 的亚型样本存在着漏检的可能性; C、D、E 厂家的灵敏度不错, 但对 0.5 IU/mL ay 亚型没有检出, 存在漏检的可能。总的来说国产 HBsAg 诊断试剂与进口试剂相比在灵敏度和特异度方面存在一些差异, 但有的国产试剂已达到进口试剂的水平, 因此在选择试剂时应当对试剂进行充分的考核, 根据需要选用合适的 ELISA 试剂。

参考文献

- [1] Jia JD, Hong M, Wei L, et al. Multicentre evaluation of the Elecsys hepatitis B surface antigen II assay for detection of HBsAg in comparison with other commercially available assays[J]. Med Microbiol Immunol, 2009, 198(4): 263-269.
- [2] 辜文洁, 黄维金, 于洋, 等. 不同 HBsAg 酶联免疫检测试剂的血清型灵敏度[J]. 中国生物制品学杂志, 2011, 24(7): 832-834.
- [3] Wang Y, Jia J. Control of hepatitis B in China: prevention and treatment[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2011, 9(1): 21-25.
- [4] 聂华, 郝世勇. 三种国产乙型肝炎病毒表面抗原诊断试剂的比较与评价[J]. 临床血液学杂志: 输血与检验, 2013, 20(1): 126-127.
- [5] 田拥军, 覃莉, 刘慎沛, 等. 8 种国产 HBsAg 试剂盒检测变异 HBsAg 的效果评价[J]. 临床检验杂志, 2007, 2(4): 250-252.
- [6] 孟宪军, 史志旭. ELISA 法 HBsAg 诊断试剂的质量评价[J]. 临床输血与检验, 2010, 12(3): 251-253.
- [7] 赵莉华, 常纓, 杨风霞, 等. 国产乙肝酶免试剂盒的质量评价[J]. 河北医药, 2006, 28(5): 394-395.

(收稿日期: 2015-06-08)

