

2 结 果

2.1 170 份血清标本使用 ELISA 与 ECLIA 两种方法定性检测 HBsAg 结果比较 见表 1。

2.2 170 份血清标本采用 TRFIA 与 ECLIA 两种方法定性检测 HBsAg 结果比较 见表 2。

表 1 170 份血清标本采用两种方法
定性检测 HBsAg 结果

ELISA	ECLIA		合计
	阳性	阴性	
阳性	112	5	117
阴性	8	45	53
合计	120	50	170

注： $\chi^2=2.50, P>0.05$ 。

表 2 170 份血清标本采用两种方法
定性检测 HBsAg 结果

TRFIA	ECLIA		合计
	阳性	阴性	
阳性	120	3	123
阴性	0	47	47
合计	120	50	170

注： $\chi^2=1.33, P>0.05$ 。

3 讨 论

目前在临床最常用的检测 HBsAg 方法是 ELISA,其价格低廉、操作简单、方便、快速,在早期筛查和疾病治疗检测疗效的过程中使用方便,但是重复性比较差,容易受到外界因素的影响导致检测结果的准确性受限^[2]。TRFIA 是 20 世纪 80 年代应用于临床的检测技术^[3],相对灵敏度高,标记物制备也相对简单,稳定性比较好,标准曲线性范围宽,操作也方便简单,即使在低温环境下也能保存多年。ECLIA 检测技术是电化学发光和免疫测定相结合进行测定的一种技术,是现阶段非常先进的免疫标记测定技术,具有高度敏感性、高特异性、测定范围宽广、试剂稳定及有效期长、操作简单、耗时短等其他免疫检测方法不具有的优点^[4]。

本研究中使用了 ECLIA 作为标准的检测对照方法,ELISA 出现了 8 例漏诊的患者,考虑与判断结果时受到检测灰色区域的影响及选择试剂等原因有关,导致出现部分结果的

误读,使用 TRFIA 与 ECLIA 两种方法定性检测 HBsAg 结果对照比较分析显示,50 例健康者血清出现 3 例 ECLIA 检测为阴性而 TRFIA 检测为阳性的情况,考虑与选择国产仪器及试剂出现误差有一定的关系。本研究结果显示,采取 ELISA、TRFIA、ECLIA 3 种不同的检测方法检测 HBsAg,ELISA 与 ECLIA、TRFIA 与 ECLIA 之间差异无统计学意义($\chi^2=2.50, \chi^2=1.33, P>0.05$),显示了 3 种检测方法在检测 HBsAg 上具有高度的一致性,与临床其他学者报道的情况符合。在检测中出现的不一致结果,除了分析和考虑上述原因外,亦应考虑与病毒的低浓度或临界值的样本。有报道实验室弱阳性样本有 10% 的漏检可能性,低浓度 HBsAg 人群占 HBsAg 阳性人群的 23.16%^[5-7],所以容易出现漏检的情况。因此在不同检测方法检测结果不一样的情况下,要采取合适的复检措施,应该尽量选择敏感度高的检测方法及其相应的配套试剂以提高检测结果的准确率,避免出现误诊、漏诊现象。

总体看,ELISA 比较适合临床乙型肝炎的初筛,TRFIA 与 ECLIA 相对检测准确性更好一些,但是在临床上对于 HBsAg 选择何种检测方法,还要结合医院和受检者的实际情况进行选择。

参考文献

[1] 胡品津. 内科学[M]. 北京:中国协和医科大学出版社, 2005:708-716.

[2] 韦平宣. TRFIA 与 ELISA 法检测乙肝病毒血清学标志物的分析与比较[J]. 广西医学, 2006, 28(9): 1173-1175.

[3] 潘利华, 杜继贤, 谢文兵, 等. 时间分辨激光荧光光谱技术在免疫分析中的应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, 20(3): 277-279.

[4] 陈朝霞, 袁冲. 电化学发光免疫分析仪法与 ELISA 法检测乙肝“两对半”少见模式的比较[J]. 中国社区医师: 综合版, 2008, 10(15): 145.

[5] 吴坚敏, 张翎. 4 种方法检测低水平乙型肝炎表面抗原比较[J]. 实验与检验医学, 2008, 26(3): 269-270.

[6] 杨荣征. 两种方法检测低水平 HBsAg 的方法学比较[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(12): 1497-1498.

[7] 岳希全, 石宏, 李迎. ELISA 法检测 HBsAg 影响结果的重要因素分析[J]. 中国实验诊断学, 2007, 11(2): 213-215.

(收稿日期: 2011-12-25)

室内环境温度对酶联免疫吸附试验的影响

颜建华(贵航贵阳医院检验科 550009)

【摘要】 目的 探讨室内环境温度对酶联免疫吸附试验的影响。**方法** 在相同的实验条件下,将实验室环境温度分别调至 18、25℃。在两种温度下按照试剂盒说明书(二步法)进行操作,每份标本双孔检查,用酶标仪读取各孔 A 值。**结果** 60 例乙型肝炎病毒表面抗原阳性标本 25℃检测全阳性,18℃检测则有 17 例阴性,漏检标本的 A 值在 0.105 0~0.300 0 之间,漏检率 28%。**结论** 室内环境温度过低容易造成弱阳性标本的漏检,将室温控制在 (25±1)℃,试剂 30 min 恒温后操作可降低弱阳性标本的漏检率,保证结果的准确性及良好的重复性。

【关键词】 酶联免疫吸附试验; 室内环境温度; 弱阳性标本漏检

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.09.042 文献标志码: B 文章编号:1672-9455(2012)09-1104-02

酶联免疫吸附试验(ELISA)是免疫酶技术中固相酶免疫测定的一种技术,是免疫学检验中最为常用的方法。在临床实

际工作中,由于 ELISA 灵敏度高、特异性强、简便快速、成本低,且不需要昂贵仪器,适合于大批量标本检测,故被普遍使用^[1-2]。ELISA 有诸多影响检测结果的因素,如试剂、标本、操作及温度等。在实际工作中检验人员严格遵守操作规程,对这些因素都能注意防范,但是,很多实验室内环境温度都随着季节的变化而自行升降温度。本文以乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)为例,对比了实验室环境温度的改变对 ELISA 检测结果的影响,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 2011 年本院门诊、病房、体检人群中收集的无溶血、无乳糜颗粒的 HBsAg 阳性血清 60 份,分别用子弹头试管分装于-20℃冰箱保存备用。

1.2 试剂与仪器 北京普朗 DNM-9602 型酶标仪,北京万泰公司的 HBsAg 酶免试剂盒

1.3 方法 在相同的试验条件下,将备用血清恢复至室温,实验室环境温度分别调至 18、25℃,设双孔阳性对照,双孔阴性对照,一孔空白,一孔质控。在不同的温度下按照试剂盒说明书(二步法)进行操作,试剂均在室温下平衡 30 min。每份标本双孔检查,用酶标仪读取各孔 A 值。HBsAg 阳性标本包括可疑阳性(0.105 0≤A<0.210 0)和阳性(A≥0.210 0)。使用省临床检验中心购买的室内质控。

1.4 统计方法 采用临床医师统计学助手 V3.0 软件进行统计。采用配对 t 检验,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

检测结果见表 1。经配对 t 检验,两组之间差异有统计学意义(P<0.05)。25℃时 A 值均值为 0.509 2,18℃时 A 值均值为 0.302 2,25℃时 A 值明显高于 18℃时 A 值。有 17 份标本在 25℃时检测为阳性,A 值在 0.105 0~0.300 0 之间,18℃时检测为阴性,漏检率 28%。质控标本 25℃时 A 值为 0.544,18℃时 A 值为 0.112。

表 1 同一标本两种温度下检测结果(n=60)		
温度	A 均值	S/CO 均值
25℃	0.509 2	4.850
18℃	0.302 2	2.878

3 讨论

ELISA 在检测过程中影响因素很多,如仪器、试剂、标本、

操作及环境等因素。尤其是酶对温度非常敏感,温育过程是 ELISA 测定中影响测定结果最为关键的因素,温度的控制就显得特别重要。酶反应的最佳温度为 37℃,但是在日常实际操作时,却忽略了从室温平衡的温度逐步上升到 37℃需要相对比较长的时间,从 24℃升到 37℃需要大约 17 min^[3],对于一个中型医院的临床免疫检验室(二级生物安全实验室)来说,每一批次的标本量加样大约需要 15~30 min,正好可以缓冲升温的这十几分钟。如果标本量过大,应分批次检测。室温过低,则会使升温时间延长,无法保证设定温度下足够的温育时间,而导致酶反应不完全,使结果偏低,出现假阴性。另外试剂及板条从冰箱内取出恢复到室温需要较长时间。ELISA 以酶催化底物显色判断结果。温度高,显色深,S/CO 值高,温度低;显色浅,S/CO 值低,弱阳性标本很容易变成阴性而导致漏检。

夏季由于温度较高,实验室工作人员还要穿厚重的防护服,很多实验室将室温调至 18℃左右。由对比试验可以看出,室内温度过低对检测结果影响很大,极易造成弱阳性标本的漏检。因此将室温控制在(25±1)℃,试剂室温下恒温 30 min 后操作,同时实验时每板要加入低值弱阳性临界值质控血清作室内质控,以监控 ELISA 的成功与否及试剂的灵敏度,目的是使实验室测定结果趋于稳定^[4],降低弱阳性标本的漏检率,保证结果的准确性及良好的重复性。

参考文献

[1] 孙辉,赵佳强,孙刚,等. 内源性疑似干扰物对 ELISA 检测结果的影响[J]. 检验医学与临床,2011,8(5):543-544.
[2] 贾晓平,黄爱龙. 乙型肝炎病毒标志物胶体金试纸和 ELISA 方法学比较[J]. 重庆医学,2002,31(5):401-402.
[3] 曹庆宏,刘素珍,朱广亮. 孵育设备对 ELISA 检测试验的影响[J]. 中国输血杂志,2005,18(2):128-129.
[4] 郑怀竟. 免疫学检验室间质评与室内质控[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1997:38-61.

(收稿日期:2011-12-19)

乙型肝炎检验的假阴性与假阳性结果原因分析

谭旭明(广东省东莞市黄江医院检验科 523750)

【摘要】 目的 提高检验结果的正确率,避免人为因素导致乙型肝炎(下称乙肝)检验结果假阳性或假阴性现象的出现,为临床诊断提供真实可靠的依据。方法 统计 2009 年 1 月至 2010 年 1 月门诊实验室检验结果假阳性或假阴性乙肝患者的资料,并对检验结果进行分析。结果 造成检验结果出现假阳性或假阴性的因素是多样的,其中最主要的影响因素是实验室操作占 52.00%,试剂占 27.93%、检验方法占 16.05%、其他占 4.02%。结论 为提高乙肝检验结果的真实可靠,需要临床医生、实验室医生、患者及患者家属的密切配合。

【关键词】 乙型肝炎; 假阴性; 假阳性

DOI:10.3969/j. issn. 1672-9455. 2012. 09. 043 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)09-1105-02

乙型肝炎(下称乙肝)病毒表面抗原(HBsAg)的检测通常采用胶体金免疫层析法及酶联免疫吸附试验(ELISA)。ELISA 操作简单、试剂方便易得、技术可靠,自 20 世纪 90 年代以来 ELISA 的特异性及灵敏度得到显著改善,因此,尽管当

前 HBsAg 的检测新技术如化学发光法、聚合酶链反应、时间分辨免疫荧光法及电化学发光法等被不断建立、应用,但 ELISA 作为一项科学、成熟的 HBsAg 检测技术仍有其较大的临床应用价值。在临床工作中,经常有患者患病但检验结果阴