

三种方法检测乙型肝炎表面抗原的临床应用及评价

孙蜀勇, 廖 蓉, 龚弘局(武警四川总队成都医院检验科, 四川成都 610041)

【摘要】 目的 对 3 种不同检测方法即时间分辨荧光免疫分析法(TRFIA)、酶联免疫吸附法(ELISA)、胶体金法(ACON)就检测乙型肝炎表面抗原(HBsAg)的结果进行分析。**方法** 198 例乙型肝炎患者为试验组, 126 例非乙型肝炎患者为对照组, 分别用以上 3 种方法同时检测 HBsAg 并对检测结果进行分析。**结果** 3 种检验方法的灵敏度及特异性由高到低依次是: TRFIA、ELISA、ACON。**结论** ACON 成本低廉, 时效快但灵敏度偏低, 可作为一般性初筛, 不能作为确诊依据。ELISA 成本低, 操作简便、灵敏度高、能基本满足临床需要, 可作为定性检测 HBsAg 为临床诊断和基础研究提供可靠的实验依据。TRFIA 成本高、试剂稳定性好、灵敏度高、特异性好, 能定量检测血样中 HBsAg 的浓度, 常被用作乙型肝炎病毒感染的确诊实验。

【关键词】 乙型肝炎表面抗原; 时间分辨荧光免疫分析法; 酶联免疫吸附法; 胶体金法

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.04.026 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)04-0437-02

Clinical application and evaluation of three methods of detection on hepatitis B surface antigen SUN Shu-yong, LIAO Rong, GONG Hong-ju (Department of Clinical Laboratory, Chengdu Hospital of Sichuan Armed Police Contingents, Chengdu, Sichuan 610041, China)

【Abstract】 **Objective** To analyze results of HBV surface antigen(HBsAg) tested by three different detection methods which are time-resolved fluorescence immunoassay (TRFIA), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), colloidal gold (ACON) detection. **Methods** 198 cases of hepatitis B patients were collected for the test group, 126 patients with non-B hepatitis patients as a control group, and we detected the HBsAg by using the above three methods and the results were analyzed. **Results** The sensitivity and specificity were in descending order of the three test methods: TRFIA, ELISA, ACON. **Conclusion** ACON cost, but its sensitivity is low, which can be used as a general screening, but can not be used to the diagnosis. ELISA costs low, with simple operation, high sensitivity, and can basically meet the clinical needs which can provide reliable experimental basis for clinical diagnosis and basic research as a qualitative detection of HBsAg. TRFIA costs high, with reagent stability, high sensitivity, specificity, which can quantitatively detect the concentration of HBsAg in the blood sample, and it was used as the definitive test for HBV infection.

【Key words】 hepatitis B surface antigen; Time-resolved fluorescence immunoassay; enzyme-linked immunosorbent assay; colloidal gold method

我国是乙型肝炎病毒(HBV)感染的高发区, 其传染性强、传播途径多、流行面广、发病率高。其感染会导致血浆中出现特异性的乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)及其他系列特性的血清标志物。因此, 血清中检出 HBsAg 是乙型肝炎的早期诊断指标之一^[1]。但由于试剂、仪器、方法学等存在差异, 在 HBV 感染初期, 血浆中 HBsAg 的浓度较低, 不同方法在检测结果方面存在差异, 会造成一定程度的误诊或漏诊, 甚至引发一系列医疗纠纷。本文对 324 例患者标本利用不同检测方法进行测定, 并对检测结果进行分析比较。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本选择 随机选择 2010 年 1~10 月本院住院部 324 例患者血清, 其中 198 例乙型肝炎患者为试验组, 126 例非乙型肝炎患者为对照组。

1.2 试剂与仪器 时间分辨荧光免疫分析法(TRFIA)检测试剂为上海新波生物技术有限公司生产的 HBsAg 定量检测试剂盒, 仪器为上海新波生物技术有限公司提供的 SYM-810。酶联免疫吸附法(ELISA)检测试剂为北京万泰生物药业股份有限公司生产的 ELISA 法定性试剂盒, 仪器为深圳雷杜 RT-6000 酶标仪。胶体金法(ACON)法采用的试剂由艾康生物技术(杭州)有限公司提供。

1.3 方法 324 份血清标本分别以 TRFIA、ELISA、ACON 同时测定 HBsAg。其中 ACON 按照试剂盒内说明书进行操作, TRFIA 和 ELISA 除了按照试剂盒内说明书和作业指导书的要求进行操作^[2]外, 这两种方法同时加做各自的质控品。

1.4 结果判定 ACON 参照说明书中判定方法并于实验后 10~20 min 内判读结果; ELISA 则用酶标仪进行测定并记录试验结果; TRFIA 则根据试剂盒内提供的不同浓度的标准品制作标准曲线同时测定样本浓度并记录结果。

1.5 统计学方法 所得数据采用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 统计学分析 本实验结果利用 SPSS 分析, 3 种检测方法, 样本例数大于 40 例, 所以只看 Pearson 结果, $P < 0.05$, 按 $\alpha = 0.05$ 的水准拒绝 H_0 接受 H_1 , 差别有统计学意义。

2.2 实验结果分析 TRFIA、ELISA、ACON 3 种方法检测 198 例乙型肝炎患者血清和 126 例非乙型肝炎患者血清样本, 其灵敏度分别是 98.0%、97.6%、91.4%; 特异性分别是 98.4%、97.6%、94.4%。可见, 3 种 HBsAg 检测方法的灵敏度和特异性: TRFIA > ELISA > ACON。所引起的假阳性或假阴性均是 ACON 明显高于 TRFIA 和 ELISA(见表 1 和表 2)。

表 1 三种方法检测 324 例血清 HBsAg 结果(n)

组别	n	ACON		ELISA		TRFIA	
		+	-	+	-	+	-
试验组	198	181	17	189	9	194	4
对照组	126	7	119	3	123	2	124

表 2 三种检测方法的灵敏度、特异性、假阳性、假阴性比较(%)

方法	灵敏度	特异性	假阳性率	假阴性率
ACON	91.4	94.4	5.6	8.6
ELISA	95.5	97.6	2.4	4.5
TRFIA	98.0	98.4	1.6	2.0

注:灵敏度=实验组实际检出阳性数/理论检出阴性数;特异性=对照组实际检出阴性数/全部受检的未患病者总数;假阴性率=1-灵敏度;假阳性率=1-特异性。

3 讨论

ACON 检测 HBsAg 时,采用高度特异性抗体抗原反应及免疫层析分析技术,试剂含有被预先固定于膜测试(T)的抗 HBsAg 抗体和包被在金标垫上的抗 HBsAg 抗体金标联结物,利用双抗体夹心法快速检测样本中是否含有 HBsAg。具有操作简便、快捷以及操作人员不需技术培训,无需特殊仪器设备,试剂稳定、便于保存等特点、可批量或单个测定样本,不易受系统误差的影响,可达到快速早期诊断的目的^[3]。

ELISA 具有操作简便、快速、敏感性高、特异性强、实验设备要求简便、无放射性核素污染等优点,可对 HBsAg 进行定性分析,目前已成为临床上应用最为广泛的免疫学检测技术之一。2010 年,王靖等^[4]提出血样中内源性物质的干扰、外源性物质的影响均可导致 ELISA 检测 HBsAg 的准确度降低。当血样中 HBsAg 浓度过高时,易引起钩状效应,造成假阴性结果。

TRFIA 是近年发展的应用于定量检测 HBsAg 浓度的新标记免疫测定技术^[5]。是使用三价稀土离子作为示踪物,与具有双功能结构的螯合剂以及抗原形成稀土离子-螯合剂-抗原螯合物。当标记抗原、待测抗原共同竞争抗体,形成复合物,利用时间分辨荧光分析仪,测定复合物中稀土发射的荧光强度,从而确定待测抗原的量。提高了检测的灵敏度及特异性,

有利于临床上分析患者病情同时指导治疗方案。而定量分析 HbsAg 的浓度变化,可预见急性乙型肝炎是否处于恢复期,对乙型肝炎的动态观察和病情监视、治疗具有积极的意义^[6]。

3 种方法在检测 HBsAg 于实际工作中各有优缺点,ACON 简便快速,可进行个别检测,能满足急诊检验和“床旁检验”的需要但其灵敏度不高,在临床应用中应引起高度重视。ELISA 比 ACON 灵敏度高、特异性强、实验设备要求简便、无放射核素污染,且成本低于 TRFIA 适用于临床初筛实验或流行病学的调查研究。TRFIA 方法特异性强,灵敏度高(可达到 0.2~1 ng/mL),标准曲线范围宽,分析速度快,标记物制备简便,有效使用期长,无放射性污染,是当前检验专业公认的乙肝定量的很好方法,较传统方法更准确和更可靠,值得临床推广应用^[7]。

参考文献

- [1] 王静霞,肖飞,王娅琳,等. 儿童乙型肝炎血清标准物的检测分析[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2009, 29(3): 281-281.
- [2] 杨凡,单咏梅,周宏,等. 不同方法学检测乙型肝炎血清标志物结果的评价分析[J]. 检验医学, 2010, 25(9): 723-726.
- [3] 赵春燕,黄连贵,任力,等. 胶体金免疫层析法在 HBsAg 检测中的应用评价[J]. 中国医学检验杂志, 2008, 9(4): 214-215.
- [4] 王靖,高书钰,张娜. 探讨改变酶联免疫吸附实验条件对 ELISA 室内质控的影响[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(8): 329-730.
- [5] 徐晓玲,陈芳. 乙型肝炎两对半定量检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 4(8): 902-904.
- [6] 欧翠华,熊符,陈健文. 时间分辨免疫荧光法和电化学发光法检测 HbsAg 的对比分析[J]. 江西医学检验, 2007, 25(2): 99-101.
- [7] 崔曼曼,龚连生. 两种方法测定乙型肝炎血清学标志物的结果分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(8): 1750-1751.

(收稿日期:2012-08-22 修回日期:2012-10-25)

(上接第 436 页)

指导。学龄前儿童和学龄儿童,应多注意环境卫生,改善居住环境,注意减少对螨虫的暴露^[6]。

综上所述,应用 AllergyScreen 过敏原检测系统,对过敏性疾病患者可以一次进行 14 种血清过敏原特异性 IgE 的检测,这种检测系统既可明确过敏原介导的疾病病因和可能采取的特异性免疫治疗提供确切的过敏原种类,又可提示患者在日常生活中避免接触导致自身过敏的致病因素。因此,对患儿进行过敏原检测对防治过敏性疾病具有重要的临床意义和指导作用。

参考文献

- [1] Beasley R. The burden of asthma with specific reference to the United States[J]. J Allergy Clin Immunol, 2002, 109(5 S): S482-S489.

- [2] Downs SH, Marks GB, Sporik R, et al. Continued increase in the prevalence of asthma and atopy[J]. Arch Dis Child, 2001, 84(1): 20-23.
- [3] 罗茂红,来则民. 家庭环境因素与儿童哮喘关系的病例对照研究[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(6): 662-663.
- [4] 皮蕾,刘海英,刘云锋,等. 广州地区 1136 例过敏患儿常见过敏原分布及尘螨交叉反应分析[J]. 临床儿科杂志, 2011, 29(1): 51-54.
- [5] Bischoff SC. Food allergies[J]. Curr Treat Options Gastroenterol, 2007, 10(1): 34-43.
- [6] 程航,成焕吉. 儿童支气管哮喘过敏原分析[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(23): 3569-3570.

(收稿日期:2012-08-03 修回日期:2012-10-11)