

金标法检测乙肝表面抗原漏检原因分析

周 玲, 吕 定(重庆市合川中心血站 401520)

【摘要】 目的 分析金标法检测乙肝表面抗原(HBsAg)的漏检原因。方法 采用金标法和酶联免疫吸附法(ELISA)对 10 335 例献血者血液标本进行 HBsAg 检测,计算阳性率、漏检率。采用金标法和 ELISA 检测 HBsAg 质控品,分析检测灵敏度。结果 金标法检测阳性率为 0.33%,ELISA 为 1.14%,金标法检测阳性率低于 ELISA ($\chi^2=46.76, P<0.05$)。金标法漏检率为 71.19%。金标法反应时间为 5、10、15 min 时,漏检率为 94.92%、88.98%、71.19%,比较差异有统计学意义($\chi^2=38.27, P<0.05$)。金标法不能检出浓度为 0.5 ng/mL 的 HBsAg 质控品。结论 金标法检测灵敏度较 ELISA 低,并且受人为因素影响较大,适用于献血前初筛。

【关键词】 金标法; 酶联免疫吸附法; 乙肝表面抗原; 漏检

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.17.025 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)17-2402-02

Analysis of factors causing missing detection of HBsAg by colloidal gold method ZHOU Ling, LV Ding (Blood Centre of Hechuan, Chongqing 401520, China)

【Abstract】 Objective To analyze the factors causing missing detection of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) by using colloidal gold method. **Methods** Colloidal gold method and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) were performed to detect HBsAg in 10 335 blood samples of donors, and quality control materials. Positive rate, missing rate and sensitivity were analyzed. **Results** The positive rate of colloidal gold method was 0.33%, higher than the 1.14% of ELISA ($\chi^2=46.76, P<0.05$). The missing rate of colloidal gold method was 71.19%. When the reaction time of colloidal gold method was 5, 10 and 15 min, the missing rates were 94.92%, 88.98% and 71.19%, with statistical differences ($\chi^2=38.27, P<0.05$). HBsAg could not be detected by colloidal gold method, when the concentration of HBsAg was 0.5 ng/mL. **Conclusion** The sensitivity of colloidal gold method might be lower than ELISA. Many factors could influence the detected results of colloidal gold method, which could only be used for screening.

【Key words】 colloidal gold method; enzyme linked immunosorbent assay; HBsAg; missing detection

乙型病毒性肝炎(简称乙肝)是最常见的血液传染性疾病^[1]。中国人群乙肝表面抗原(HBsAg)携带率为 10% 左右,因此 HBsAg 是无偿献血的必须检测项目之一^[2]。金标法检测 HBsAg 具有操作简单、检测速度快、结果直观、无需特殊仪器、可进行单份标本检测等优点,广泛应用于无偿献血现场采血前的 HBsAg 筛查。有研究表明,在献血者献血前使用金标法进行检测,能够避免采集 HBsAg 阳性血液,有效降低血液报废率,减少发生交叉感染的风险^[3]。然而,金标法灵敏度相对较低,有导致漏检的可能^[4]。为减少 HBsAg 漏检率,本血站自 2011 年起对无偿献血者的血液标本中的 HBsAg 进行金标法和酶联免疫吸附法(ELISA)联合检测,旨在分析导致金标法漏检的原因,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 1 月至 2012 年 12 月于本血站献血的无偿献血者 10 335 例,年龄 18~55 岁。

1.2 仪器与试剂 Neon-150 全自动酶联免疫加样仪、HBsAg 胶体金法检测试剂盒(深圳艾康生物技术公司), FAME-2420 全自动酶免分析系统(瑞士 HAMILTON 公司)。HBsAg ELISA 检测试剂盒[英科新创(厦门)公司]。所有试剂各批次检验均合格,均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 标本检测 (1)金标法:将试纸条平放,将血液标本 60~80 μ L 滴在试纸条的加样端,室温下放置 15 min 后判读结

果。(2)ELISA:室温条件下,以 1 500 r/min 将血液标本离心 10 min,分离血清标本,使用 Neon-150 全自动酶联免疫加样仪加样,采用 FAME-2420 全自动酶免分析系统进行检测。S/CO<1.0 判为阴性。

1.3.2 观察指标 (1)检测阳性率:计算各种方法的检测阳性率,阳性率=阳性标本例数/标本总例数 $\times 100\%$ 。(2)金标法漏检率分析:以 ELISA 检测作为参考方法,计算金标法漏检率,金标法漏检率=ELISA 检测阳性但金标法检测阴性标本例数/ELISA 检测阳性标本例数 $\times 100\%$ 。将 ELISA 检测阳性标本按不同反应时间(5、10、15 min)进行金标法检测,计算不同反应时间金标法检测漏检率,漏检率=阴性标本例数/标本总例数 $\times 100\%$ 。(3)检测灵敏度分析:采用金标法和 ELISA 试剂检测卫计委临床检验中心 HBsAg 质控品(浓度为 0.5、1.0 ng/mL),对灵敏度进行分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以百分率表示,组间比较采用卡方检验。 $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 金标法和 ELISA 检测阳性率比较 共检测标本 10 335 例,金标法检测阳性率为 0.33%(34/10 335),ELISA 检测阳性率为 1.14%(118/10 335),ELISA 检测阳性率高于金标法($\chi^2=46.76, P<0.05$)。

2.2 金标法漏检率分析 以 ELISA 检测作为参考方法,在

118 例 ELISA 检测结果为阳性的标本中, 84 例金标法检测结果为阴性, 金标法检测漏检率为 71. 19% (84/118), 见表 1。

表 1 金标法和 ELISA 检测结果 (n)

金标法	ELISA		合计
	阳性	阴性	
阳性	34	0	34
阴性	84	10 217	10 301
合计	118	10 217	10 335

2.3 金标法不同反应时间漏检率比较 将 ELISA 检测阳性的 118 例标本按不同反应时间进行金标法检测, 不同反应时间金标法漏检率比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 38. 27, P < 0. 05$), 见表 2。

表 2 金标法不同反应时间漏检率比较

时间 (min)	n	阳性 (n)	阴性 (n)	漏检率 (%)
5	118	6	112	94. 92
10	118	13	105	88. 98
15	118	34	84	71. 19

2.4 检测灵敏度分析 卫计委临床检验中心 HBsAg 质控品金标法和 ELISA 试剂检测结果见表 3。

表 3 卫计委 HBsAg 质控品检测结果

方法	0. 5 ng/mL	1. 0 ng/mL
金标法	阴性	阳性
ELISA	阳性	阳性
ELISA 检测 S/CO 值	1. 9	3. 4

3 讨论

金标法是将单克隆抗体以氯金酸在还原剂的作用下聚合成形成的胶体金进行标记, 再以抗原抗体反应的原理进行标本检测, 主要优点包括特异度高、操作简便、快速, 且无需其他设备, 肉眼即可判断结果^[6]。ELISA 检测步骤繁琐, 操作较为复杂, 但与金标法相比, 灵敏度和特异度更高, 也是临床最为常用的乙肝病毒血清标志物检测方法^[7-10]。ELISA 检测的不足之处在于耗时较长, 而且需要专用设备^[11]。本研究结果显示, 与 ELISA 检测结果相比, 金标法对献血者血液标本中的 HBsAg 检测阳性率低、漏检率高, 说明金标法检测 HBsAg 存在漏检的可能, 其原因与如下因素有关。(1)检测原理及方法学差异: 金标法结合了免疫学方法和色谱层析技术, 如果层析速度过快, HBsAg 与单克隆抗体形成的复合物尚未与二抗结合就超过了检测线, 导致假阴性结果^[12]。层析速度过快还可导致对照线很快清晰显色, 而弱阳性标本可能还未显色, 进而造成误判。(2)胶体金试剂检测灵敏度有限: 胶体金显色需要较高浓度的标记物, 而且直径较大的金颗粒才能获得较高的灵敏度, 使其检测灵敏度受到一定限制^[13]。本研究中的灵敏度分析结果显示, 金标法检测灵敏度仅达 1 ng/mL, 而 ELISA 检测灵敏度可达 0. 5 ng/mL。因此, 当 HBsAg 浓度较低时, 金标法易出现漏检。(3)操作方法不当: 采血时过度挤压采血部位, 导致组织液混入血液标本或血细胞破裂, 影响结果判断; 加样量不足导致通过滤膜的血清量不足, 无法达到检测线 and 对照线, 造成无法判读结果; 加样量过多一方面造成外溢, 另一方面由于滤膜无法有效阻挡血细胞, 导致血细胞和血清同时向检测线移动, 造成检测区模糊, 影响结果判断。(4)反应时间过短: 操作

人员未严格按照试剂说明书要求的反应时间进行标本检测, 造成弱阳性标本的漏检^[14]。本研究也证实, 反应时间越短, 漏检率越高。(5)标本因素: HBsAg 快速检测通常采用全血标本, 但有研究证实, 以血清作为检测标本时, 胶体金层析法检测 HBsAg 的灵敏度相对更高, 漏检率更低^[15]。

综上所述, 金标法检测虽然存在漏检的可能, 但与 ELISA 检测相比, 其操作更为简便快速, 且无需特殊仪器, 可有效缩短检测所需时间, 在快速初筛方面的应用价值更大。为了降低漏检, 一方面应选择灵敏度高、特异度较高的优质试剂, 并按规定保存和使用, 另一方面应加强对工作人员的培训, 提高工作人员的质量意识, 以降低漏检率。

参考文献

- [1] 殷勤, 盛磊. 乙型肝炎患者病毒血清标志物的检测结果分析[J]. 现代预防医学, 2012, 39(23): 6254-6255.
- [2] 石洁, 祝宏, 吴亚玲, 等. 献血人群 HBsAg 抗-HCV 抗-HIV 和抗-TP 两次检测情况分析[J]. 浙江预防医学, 2011, 23(5): 94-96.
- [3] 徐祥莲, 杨南, 张晓丽. 用胶体金法快速筛查无偿献血者 HBSAg 结果分析[J]. 实验与检验医学, 2011, 29(5): 558.
- [4] 葛高霞, 张晓洁, 邱胜丰, 等. 金标法与 ELISA 在检测脐血 HBsAg 中的应用[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(23): 4003-4004.
- [5] 栾雪静. 金标法对 ELISA 法检测 HBSAg 弱阳性标本复查的意义[J]. 现代预防医学, 2012, 39(15): 3941.
- [6] 杨莹, 宋飞峰. HBsAg 金标法检测在无偿献血中的应用效果分析[J]. 内蒙古中医药, 2012, 31(24): 56.
- [7] Ocana S, Casas ML, Buhigas I, et al. Diagnostic strategy for occult hepatitis B virus infection[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(12): 1553-1557.
- [8] 刘荣静, 林秀珍, 吴晓蔓. HBsAg 阴性及弱反应性标本的检测及临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(4): 676-678.
- [9] 邓晓琴, 杨茂, 周翼, 等. 脂血标本对 HBsAg 检测结果的影响[J]. 中国输血杂志, 2011, 24(9): 798-799.
- [10] 黎学东. 带血球的标本对 ELISA 一步法检测 HBsAg 的影响[J]. 中国实用医药, 2012, 07(11): 116-117.
- [11] 刘学政, 张家均, 雷选斌, 等. ELISA 一步法和二步法检测 HBsAg 结果的对比分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(4): 456-457.
- [12] Takeda K, Maruki M, Yamagaito T, et al. Highly sensitive detection of hepatitis B virus surface antigen by use of a semiautomated immune complex transfer chemiluminescence enzyme immunoassay [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(7): 2238-2244.
- [13] 尤金兰. HBsAg 胶体金法与 ELISA 法对比分析[J]. 中国误诊学杂志, 2012, 12(4): 827.
- [14] 马晓旭, 任忠国. 血清金标法快速检测漏检原因分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(16): 1933.
- [15] 王林. 胶体金免疫层析法检测 HBsAg 在无偿献血中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(9): 2113-2114.