

胶体金法与酶联免疫法检测丙型肝炎病毒抗体的对照研究^{*}蒋峻峰, 周雪莲[△](重庆市大足区人民医院输血科 402360)

【摘要】 目的 采用胶体金法和酶联免疫法(ELISA)检测丙型肝炎病毒抗体,观察二者的临床有效性。方法选取重庆市大足区人民医院 2011 年 1 月至 2013 年 12 月收治的丙型肝炎患者 210 例为观察组,另选 100 例健康体检者为健康对照组。采用胶体金法和 ELISA 法对其检测,对比两种方法的检测准确性和误测率,分析其有效性。**结果** 观察组胶体金法检测丙型肝炎患者阳性率为 98.10%,ELISA 法为 97.14%;健康对照组胶体金法检测健康体检人群假阳性率 6%,ELISA 法为 10%;上述两组数据差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 胶体金法和 ELISA 法均可有效检测丙型肝炎病毒抗体,有较高的特异性和灵敏度。胶体金法更加简单,因此适用于基层单位和快速检测。

【关键词】 胶体金法; 酶联免疫法; 丙型肝炎病毒抗体; 有效性

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.19.036 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)19-2728-02

丙型肝炎是慢性感染性疾病,它可由输血、针刺和毒品传播感染,危害人类健康,据统计世界丙型肝炎病毒(HCV)感染者约有 2 亿,且呈增加趋势^[1]。此病可导致肝脏纤维化继而发生炎症,严重者肝脏组织会逐渐坏死,病变为肝硬化甚至癌症。HCV 是致病的根本原因,感染初期不易发现^[2],受到外界刺激时,HCV 会加速病情发展。因此,及时检测 HCV 感染有助于预防病情加重。丙型肝炎感染者血液中会大量存在丙型肝炎病毒抗体(HCV-Ab),这是检测丙型肝炎的重要标志^[3-4]。本试验采用胶体金法和酶联免疫法(ELISA 法)检测 HCV-Ab,旨在对比两者的检测效果。具体结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取 2011 年 1 月至 2013 年 12 月本院收治的丙型肝炎患者 210 例为观察组;其中男 150 例,女 60 例,平均年龄(37.6 ± 5.7)岁。另外选择健康体检人员 100 例为健康对照组,其中男 68 例,女 32 例,平均年龄(37.8 ± 5.8)岁。两组间一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),组间具有可比性。

1.2 仪器与试剂 酶标仪(Multiskan MK3)、高精度加样器、PW-960 全自动酶标洗板机等仪器。胶体金试剂盒由艾康生物医药有限公司提供,ELISA 试剂盒由北京万泰生物药业股份有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 患者采集静脉血 3~5 mL 于含凝试管中,经 30 min 凝集^[5],然后将试管置于离心机中离心,吸取血清后置于冷藏室中低温保存^[6]。

1.3.2 胶体金法检测 两组患者均接受胶体金方法检测,首先采用高特异性的抗原抗体反应及免疫层析分析技术。试剂含有被预先固定于膜上测试区(T)的目的重组抗原和包被在金标垫上的丙型肝炎重组抗原胶体金颗粒。使用前将试剂和标本恢复至 20~30 ℃,然后从原包装铝箔中取出试纸条,用塑料吸管吸取 50 μ L 受试者的血清垂直滴入加样区。10~30 min 内试纸条在反应线和质控线位置出现紫红色结果为阳性,仅在质控线位置出现紫红色结果为阴性,质控线位置未出现紫红色结果为无效。

1.3.3 ELISA 法检测 两组患者均接受 ELISA 法检测,将试剂于室温下平衡 30 min 后取出板条,每板设置阴性对照 3 孔,

阳性对照 2 孔^[7],样品对应微孔板按序编号。分别在相应孔中加入稀释液 100 μ L 后,在各孔中加入待测样本血清和阴、阳性对照 10 μ L,用封板膜封板,置于 37 ℃温育 60 min,取出后用洗板机洗板 5 遍,最后一次尽量扣干。每孔加入酶标试剂 100 μ L,用封板膜封板,置于 37 ℃温育 30 min,取出后用洗板机洗板 5 遍,最后一次尽量扣干。每孔加入显色剂 A、B 液各 50 μ L 轻轻震荡混匀,37 ℃避光显色 30 min 后,每孔加入 50 μ L 终止液,轻轻震荡混匀。设定酶标仪波长 450 /630 nm 测定各孔 A 值。吸光度值大于或等于 1 时 HCV-Ab 为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件对数据进行统计学分析,计数资料采用百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检测丙型肝炎患者结果比较 胶体金法检测出阳性者 206 例(98.10%),ELISA 法检测出阳性者 204 例(97.14%),两者间阳性率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.172, P=0.679$)。

2.2 两种方法检测健康体检者结果比较 胶体金法检测出阴性者 94 例(94.00%),有 6 例假阳性;ELISA 法检测出阴性者 90 例(90.00%),有 10 例假阳性。两者间阴性率比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.136, P=0.712$)。

3 讨论

丙型肝炎为临床病死率较高的疾病,其可血液、母婴和性传播等传播。多数 HCV 感染呈亚临床状态,易延误治疗,病情进一步恶化时会发生肝硬化甚至肝癌。及时有效的检测对于临床预防和治疗有十分重要的意义^[8]。HCV 感染者血液会出现 HCV-Ab,临床常用胶体金法、ELISA 法和 FQ-PCR 等方法来检测 HCV 感染情况,但由于 FQ-PCR 法影响因素较多,试验较难控制,故本研究选用胶体金法和 ELISA 法来检测 HCV 感染情况,并比较两者的有效性以此找出更佳检测方法^[9]。

胶体金是氯金酸在还原剂作用下聚合而成的金颗粒,它是稳定的胶体状态,通过胶体金标记,可以检测蛋白质等高分子物质^[10]。胶体金在人体环境下带负电,能够结合蛋白质表面正电荷基团^[11],此过程即可达到标记的作用又不会影响蛋白质的性质。HCV-Ab 即为蛋白质,因此它可与胶体金结合进

而被标记,本试验所用的免疫金标记技术,即利用其高电子密度特性,通过结合反应,标记物大量聚集,进而形成(粉)红色斑点。此方法操作简单,操作人员无需经过专业培训;不存在放射性同位素污染,应用便捷且广泛。ELISA 法是常用的免疫学检测方法之一,其机理为酶复合物与抗体结合并显色,通过显色反应来达到标记和检测的目的。

本项试验结果显示,胶体金法和 ELISA 法均可有效检测出 HCV-Ab,在 210 例丙型肝炎患者中,胶体金法检测出了 206 例,仅漏诊 4 例;ELISA 法亦检测出 204 例,二者差异无统计学意义($P>0.05$)。然而,在健康人群中 ELISA 法误测率略高,出现 10 例假阳性,胶体金法仅出现 6 例假阳性,二者比较 ELISA 法检测灵敏度稍高。胶体金法检测速度更加快捷,且操作更简单,它无需特殊仪器和设备,经济便利,为了提高检测准确性,可以将二者联合使用,这可以减少漏测率和误测率。另有研究表明,采用 ELISA 法和胶体金法准确率分别为 100.0%和 96.0%^[12],与本项研究结果相同。说明本项研究具有高可靠性和临床价值。然而,本研究中 ELISA 法准确率并未达到 100.0%,可能是由于加样、反应温度、反应时间、洗板彻底性等诸多因素的影响。

综上所述,胶体金法和 ELISA 法均可有效检测 HCV 抗体,在检测灵敏度和特异性方面差异不大,但 ELISA 法操作步骤多,实验需要 3 h,需配置酶标仪、洗板机等设备,不适用于基层单位。胶体金法具有操作简便、快捷、可单份检测、便于保存、不需特殊设备、肉眼可直接观察结果等优点,尤其适用于基层单位和快速筛查。

参考文献

- [1] Kant J, Möller B, Heyne R, et al. Evaluation of a rapid on-site anti-HCV test as a screening tool for hepatitis C virus infection[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2013, 25 (4): 416-420.
- [2] 丁华,何维娜,陈望,等. 3 种检测方法在丙型肝炎诊断中的临床评价[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(24): 3387-3387, 封 3.
- [3] Yao RN, Cao FX, Cao L. Apply chemiluminescence immu-

- noassay for HCV antibody detection and compared it with other methods[J]. J Clin Trans Lab Med, 2011, 52(3): 4-10.
- [4] 徐德全. 酶联免疫和胶体金法对丙型肝炎病毒抗体检测的对比分析[J]. 航空航天医学杂志, 2012, 23(5): 556-557.
- [5] Souza IO, Schaer RE, Lima FM, et al. Validation of an immunochromatographic assay for the multiple detection of specific antibodies against HIV, HBV, and HCV[J]. Clin Vaccine Immunol, 2013, 20(1): 128.
- [6] 梁脉,张名均,谢国明. 金标免疫层析法测定唾液中丙型肝炎病毒抗体的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(14): 1789-1791.
- [7] 徐风芹,杨有琴,刘津. 两种丙型肝炎病毒抗体检测方法的临床应用探讨[J]. 医学信息, 2013(28): 108.
- [8] Shimizu YK, Hijikata M, Oshima M, et al. Isolation of human monoclonal antibodies to the envelope e2 protein of hepatitis C virus and their characterization[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e55874.
- [9] 徐先慧,聂磊. 胶体金法与酶联免疫法检测丙型肝炎病毒抗体的比较分析[J]. 中国民族民间医药, 2013, 22(13): 44.
- [10] 王红. 酶联免疫吸附试验检测丙型肝炎病毒抗体在酶标仪应用中的探讨[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(10): 1234-1235.
- [11] Lee SR, Kardos KW, Schiff E, et al. Evaluation of a new, rapid test for detecting HCV infection, suitable for use with blood or oral fluid[J]. J Virol Methods, 2011, 172(1/2): 27-31.
- [12] Yang D, Ma J, Zhang Q, et al. Polyelectrolyte-coated Gold magnetic nanoparticles for immunoassay development: toward point of care diagnostics for syphilis screening[J]. Anal Chem, 2013, 85(14): 6688-6695.

(收稿日期:2014-07-14 修回日期:2014-08-20)

(上接第 2727 页)

- [3] 罗招云,杨立业,翁妙珊,等. 潮州地区人乳头瘤病毒型别分布特征分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2011, 3(3): 177-180.
- [4] 许锴,卢洁,张德亨,等. 温州市 2994 例妇女人乳头瘤病毒感染情况分析[J]. 放射免疫学杂志, 2011, 24(5): 572-573.
- [5] 邱慧玲,王玲玲,沙爱国. 厦门地区女性宫颈人乳头状瘤病毒感染 3155 例检测结果分析[J]. 临床军医杂志, 2010, 38(6): 988-989.
- [6] 梁凌云,杜辉,王纯,等. 深圳人群人乳头瘤病毒感染亚型分布与宫颈上皮内瘤变现况横断面调查[J]. 北京大学学报:医学版, 2013, 45(1): 114-118.
- [7] 周明君. 许昌地区妇女宫颈人乳头瘤病毒感染型别分布特征分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(5): 124-125.
- [8] 刘静,张晓艳,齐宁霞,等. 西安地区人乳头瘤病毒感染型别分析及临床意义[J]. 中外妇儿健康, 2011, 19(4): 42-

- 43.
- [9] 杨华群,张晓平,张玉娟. 中山市万例流动人口人乳头瘤病毒型别分布状况调查[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(1): 52-53.
- [10] 彭永排,林仲秋,陆晓楣,等. 广州市 1285 例志愿者宫颈人乳头瘤病毒感染调查[J]. 国际医药卫生导报, 2010, 16(1): 20-24.
- [11] 方丽娟,袁水斌,王刚,等. 江西地区人乳头瘤病毒感染分型检测的研究[J]. 实验与检验医学, 2013, 31(2): 181-182.
- [12] 陈友军,唐双阳,李乐. 衡阳地区 2749 例女性宫颈人乳头瘤病毒感染情况分析[J]. 中国现代医药杂志, 2013, 15(1): 7-10.
- [13] 涂海健,李励军,谢志勇,等. 高危型及低危型人乳头瘤病毒感染在宫颈病变的分布特征[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2012, 4(2): 100-102.

(收稿日期:2013-12-24 修回日期:2014-05-19)