

化学发光酶免疫分析法及 ELISA 检测抗-HCV 的结果比较*

张 利¹, 于冬男² (1. 内蒙古自治区赤峰市赤峰学院附属医院检验科 024005; 2. 广东省人民医院, 广州 510080)

【摘要】 目的 对比化学发光酶免疫分析法及酶联免疫吸附试验(ELISA)用于丙型肝炎抗体检测的效果。**方法** 选取丙型肝炎患者 140 例, 抽取血液标本后分别进行丙型肝炎病毒(HCV)相关抗体的化学发光酶免疫分析法及 ELISA 法检测。**结果** 化学发光酶免疫分析法检出抗-HCV 阳性的检出率为 98.6%, 高于 ELISA 法的检出率(94.3%), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。化学发光酶免疫分析法对于抗 AMA-M2 抗体、抗 3E 抗体、抗 SP100 抗体、抗 PML 抗体、抗 GP210 抗体的检测阳性率分别为 80.0%、73.6%、37.9%、55.7% 和 47.9%, 而 ELISA 法检测结果分别为 12.9%、12.9%、13.6%、10.7% 和 6.4%, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 相对于 ELISA 法, 化学发光酶免疫分析法在丙型肝炎中的应用有较高的检出阳性率, 对于相关抗体检测有较高的敏感性, 值得推广应用。

【关键词】 化学发光酶免疫分析法; 酶联免疫吸附试验; 丙型肝炎病毒; 抗体

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.01.008 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)01-0018-03

Comparison analysis of effects of chemiluminescent enzyme immunoassay and ELISA for detection of hepatitis C antibodies* ZHANG Li¹, YU Dong-nan² (1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Chifeng College, Chifeng, Neimenggu 024005, China; 2. Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

【Abstract】 Objective To compare the effects of chemiluminescent enzyme immunoassay and ELISA method for the detection of hepatitis C antibodies. **Methods** 140 inpatients with hepatitis C in our hospital were selected and the blood samples were collected for detecting hepatitis C antibodies by adopting the chemiluminescence immunoassay and ELISA method. **Results** The positive detection rate of anti-hepatitis C virus(HCV) antibody detected by the chemiluminescent enzyme immunoassay was 98.6%, which was higher than 94.3% detected by the ELISA method, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The positive rates of chemiluminescent enzyme immunoassay for detecting anti-AMA-M2 antibody, anti-3E antibody, anti-SP100 antibody, anti-PML antibody and anti-GP210 antibody were 80.0%, 73.6%, 37.9%, 55.7% and 47.9% respectively, while which detected by the ELISA method were 12.9%, 12.9%, 13.6%, 10.7% and 6.4% respectively, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Compared with the ELISA method, the chemiluminescent enzyme immunoassay has very good positive detection rate in hepatitis C, has better sensitivity for the relevant antibody detection, at the same time has higher detection sensitivity and is worthy of being promoted and applied.

【Key words】 chemiluminescence enzyme immunoassay; ELISA; hepatitis C virus; antibody

丙型肝炎病毒(HCV)感染在临床上比较常见, 是一种传染范围比较广的疾病^[1-2]。流行病学调查显示, 我国的 HCV 感染者大约在 4 500 万, 其中大约 50.0% 可向慢性肝炎转化, 更有甚者可能成为肝硬化或是肝细胞性肝癌^[3]。丙型肝炎患者具有一定的传染性, 但目前并无合适的治疗方法, 也无有效的疫苗预防, 只能依靠早期检测与诊断。HCV 感染的检测方法有酶联免疫吸附试验(ELISA)、核酸扩增试验法、化学发光法等^[4]。迄今为止, 效果最好的是 ELISA 试剂盒, 其诊断有很好的特异性与敏感性, 具有高于 99.0% 抗-HCV 检出率, 且窗口期只有 70 d, 临床检测多用到该试剂盒^[5-6]。目前新的诊断技术, 化学发光酶免疫分析法也在广泛应用, 它具有更高的灵敏度, 但是该方法需要配套的全自动分析仪和试剂, 其价格十

分昂贵, 因此临床上没有被广泛应用^[7]。本研究对比了化学发光酶免疫分析法及 ELISA 法用于抗-HCV 检测的效果, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 3 月至 2014 年 11 月于本院住院的丙型肝炎患者 140 例, 其中男 78 例, 女 62 例; 年龄 25~79 岁, 平均(54.22±3.19)岁。纳入标准: 病理确诊为丙型肝炎; 年龄 20~80 岁; 无严重心肾并发症; 临床资料完整; 血清标本采集都符合要求; 均知情同意。抗-HCV 阳性对照是混合各试剂盒阳性对照血清制成, 混合各阳性对照血清后进行稀释得到抗-HCV 临界值血清。

1.2 仪器与试剂 化学发光底物来自郑州安图绿科生物工程

* 基金项目: 广东省医学科研基金立项课题(A2014054)。

作者简介: 张利, 男, 本科, 副主任技师, 研究方向为免疫学肝炎病毒。

有限公司(批号 344322009),ELISA 试剂盒为武汉三鹰公司(批号 520013007),化学发光酶免疫分析检验试剂盒为德国欧蒙医学诊断股份公司(批号 219914845)。

1.3 方法 ELISA 法:采集所有患者的空腹静脉血,保证标本不溶血。4 h 内低温离心分离血清,进行直接 ELISA 法检测血清相关指标,严格按照试剂盒说明书操作,每 1 个测试微孔板均设置空白对照、阴性对照、阳性对照等。所测血清值≥临界值判定为阳性,临界值=阴性样品平均吸光度值+2 倍标准差。化学发光酶免疫分析:根据前期已经采集的血清进行化学发光酶免疫分析,严格按照试剂盒进行操作与阳性判定。

1.4 观察指标 抗-HCV 阳性情况:观察与记录两种方法检测抗-HCV 阳性情况,并且记录与分析非阳性结果。相关抗体阳性情况:观察与记录两种方法对抗 3E 抗体、抗 SP100 抗体、抗线粒体抗体 M2 亚型(抗 AMA-M2 抗体)、抗 GP210 抗体、抗早幼粒细胞性白血病(PML)抗体的检出情况。检测效果判定:对两种方法检测的阳性与阴性情况进行比较,判断检测的差异性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 2 两种方法对相关抗体检出情况对比[n(%)]

方法	<i>n</i>	抗 AMA-M2 抗体	抗 3E 抗体	抗 SP100 抗体	抗 PML 抗体	抗 GP210 抗体
化学发光酶免疫分析法	140	112(80.0)*	103(73.6)*	53(37.9)*	78(55.7)*	67(47.9)*
ELISA 法	140	18(12.9)	18(12.9)	19(13.6)	15(10.7)	9(6.4)

注:与 ELISA 法比较,* $P < 0.05$ 。

3 讨 论

当前丙型肝炎呈全球性流行,是许多国家终末期肝病的主要原因^[8]。流行病学调查显示我国每年新发丙型肝炎病例约 3.5 万例,同时北方的发病率高于南方。同时抗-HCV 阳性率随年龄增长而逐渐上升,男女间无明显差异^[9]。HCV 具有明显异源性和高度可变性,不同 HCV 株的核酸和氨基酸序列存在较大差异。

HCV 感染后临床症状并不明显,容易发展成为慢性,有很大的可能发展成为肝硬化或是肝癌^[10]。在此种情况下一些 HCV 携带者因为没有明显症状可能会延误治疗,在不知情的情况下以手术、输血等方式继续传播,为此需要进行早期发现与诊断。目前临床诊断丙型肝炎主要依据急性期病毒抗-HCV 水平检测,其检测比较耗时费力,临床上应用不多^[11]。随着医学技术的发展,ELISA 法的对于免疫功能正常的 HCV-RNA 阳性感染者,抗-HCV 检出率也高于 99.0%,但是任何形式的污染均易产生假阳性结果。目前抗-HCV 相关片段的 ELISA 诊断试剂盒均采用基因工程或合成多肽抗原包被固相,以间接法测定,使得测定结果有较大的差异性^[12-13]。HCV 基因序列的高度变异引起所编码氨基酸序列的明显改变,而我国很多患者感染的 HCV 有多种基因型,并有一定比例的混合感染,导致诊断效果不好。

化学发光酶免疫分析法具有标记物来源丰富、无放射性污染、检测灵敏度高、价格低廉、检测方便、标记物有效期长等优点,当前应用比较多。酶标记物质量的好坏直接关系到免疫酶技术的成功与否,其也取决于纯度好、活性强及亲和力高的酶

2 结 果

2.1 两种方法检测抗-HCV 的结果比较 140 例患者中,化学发光酶免疫分析法检出抗-HCV 阳性 138 例(98.6%);而 ELISA 法检出抗-HCV 阳性 132 例(94.3%)。两种方法总体符合率为 94.3%。化学发光酶免疫分析法检出阳性率高于 ELISA 法,差异有统计学意义($\chi^2 = 0.334, P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两种方法检测抗-HCV 的结果比较(*n*)

化学发光酶免疫分析法	ELISA 法		合计
	阳性	阴性	
阳性	131	7	138
阴性	1	1	2
合计	132	8	140

2.2 两种方法对相关抗体检出情况 化学发光酶免疫分析法对于抗 AMA-M2 抗体、抗 3E 抗体、抗 SP100 抗体、抗 PML 抗体、抗 GP210 抗体的检测阳性率均高于 ELISA 法,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

和抗体或抗原^[14-15]。发光信号的强度可通过增强剂提高,发光时间可以进一步延长,对检测的灵敏度也是一定的提升。相关研究也表明与常规的酶免疫分析相比,其灵敏度提高了 3~5 个数量级,可使发光强度增加并延长发光时间^[15]。

人体免疫细胞在受到刺激后会与抗原结合,形成免疫球蛋白抗体。在方法不断的改进后,对相关抗体检测的方法变得更加灵敏,具有更高的特异性。抗 AMA 抗体是无种属和器官特异性的自身抗体,该抗体的线粒体为靶抗原,其中 M2 抗体是抗 AMA 亚型抗体,该抗体的线粒体内膜上的 2-酮酸脱氢酶复合物为靶抗原的,在自身免疫性肝病的诊断率能够有效提升。抗 SP100 抗体与抗 PML 抗体的模型都是核点型荧光染色模型,联合应用该模型进行检测,对相关肝病的诊断率有极大的提升^[16]。抗 GP210 抗体对相关肝病诊断的特异性极高,其诊断肝病的特异性在 95.0%以上。本研究采用化学发光酶免疫分析法对于抗 3E 抗体、抗 SP100 抗体、抗 AMA-M2 抗体、抗 GP210 抗体、抗 PML 抗体检测阳性率,均高于 ELISA 法($P < 0.05$)。

目前,仍然没有明确丙型肝炎发病机制,在肝细胞内,HCV 会不断复制,在此作用下改变了肝细胞结构和功能同时也对肝细胞蛋白合成有一定的干扰。化学发光免疫分析法快速、方便,有害的试剂不在测试中使用,所以非放射性免疫分析法将在今后被大量使用^[17]。本研究结果显示,化学发光酶免疫分析法检出抗-HCV 阳性率高于 ELISA 法($P < 0.05$)。作为一种新的诊断技术,化学发光免疫分析法正被广泛应用。

综上所述,相对于 ELISA 法,化学发光酶免疫分析法在丙

型肝炎中的应用有很好的检出阳性率,对于相关抗体检测的敏感性高,值得推广应用。

参考文献

- [1] 王英莉. 酶联免疫检测抗-HCV 方法的探讨与试剂的评价[J]. 中国现代药物应用, 2015, 3(11): 244-245.
- [2] 朱兆生. 不同检验方法应用于丙型肝炎检验中的临床对比分析[J]. 中国实用医药, 2015, 4(12): 58-59.
- [3] Korkmaz H, Kesli R, Onder PB, et al. Assessment of evidence for positive association and seroprevalence of hepatitis B and C in diabetic patients in a developing country [J]. J Invest Med, 2015, 63(2): 251-257.
- [4] 谢秋南. 对比分析酶联免疫法和胶体金法检测病毒性丙型肝炎的效果[J]. 吉林医学, 2015, 2(13): 277-278.
- [5] 李彩东, 吴斌, 段正军, 等. 慢性乙型肝炎患者乙型肝炎病毒外膜大蛋白与病毒复制的相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 20(6): 4976-4978.
- [6] 颜丙玉, 吕静静, 刘甲野, 等. 成年人乙型肝炎疫苗低应答者加强免疫后 24 个月免疫持久性研究[J]. 中华预防医学杂志, 2014, 12(8): 1043-1047.
- [7] Turhanoglu M, Onur A, Bilman FB, et al. Eight-year seroprevalence of HBV, HCV and HIV in diyarbakir training and research hospital[J]. Int J Med Sci, 2013, 10(11): 1595-1601.
- [8] 黄庆华, 周燕, 吕迎霞, 等. 化学发光法在感染性指标定量检测中的应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(5): 1293-1295.
- [9] 邵芳. HCV 抗原、HCV 抗体及 HCV-RNA 联合检测与 ALT 的相关性及其临床意义[J]. 中国中西医结合消化杂

志, 2014, 22(2): 80-82.

- [10] 王政. ELISA 法和化学发光法对脐血中 HIV-1/HIV-2 抗体、梅毒抗体和丙肝抗体的检测比较[J]. 中国社区医师, 2014, 36(7): 144-145.
- [11] 冯胜虎, 鞠威, 全敏, 等. 丙型肝炎病毒不同基因型核心蛋白对肝母细胞瘤细胞凋亡影响的比较[J/CD]. 中国肝脏病杂志: 电子版, 2014, 6(1): 1-4.
- [12] Hongo BL, Jespersen S, Medina C, et al. Hepatitis C prevalence among HIV-infected patients in Guinea-Bissau: a descriptive cross-sectional study [J]. Int J Infect Dis, 2014, 28(12): 35-40.
- [13] 巫文勋, 程利, 梁可, 等. 化学发光免疫测定法检测 HBV、抗 HCV、抗 HIV 和 TP-Ab 结果分析[J]. 重庆医学, 2014, 43(6): 77-78.
- [14] 周红星, 江应安. 乙型肝炎病毒表面抗原在慢性乙型肝炎病毒感染后不同临床阶段的定量检测及临床意义[J]. 中国医师进修杂志, 2014, 37(24): 15-18.
- [15] Krawczyk A, Hintze C, Ackermann J, et al. Clinical performance of the novel DiaSorin LIAISON XL murex: HBsAg Quant, HCV-Ab, HIV-Ab/Ag assays[J]. J Clin Virol, 2014, 59(1): 44-49.
- [16] 吴瑞珊, 苏运钦, 余广超, 等. Taqman 探针实时荧光定量 PCR 检测肝脏疾病患者血清中 miR-122 的表达水平及其临床意义[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(2): 99-101.
- [17] 陈飞群, 颜展. 慢性乙型肝炎病毒感染者中血清乙型肝炎病毒表面抗原定量检测的临床价值[J]. 现代实用医学, 2014, 26(2): 197-199.

(收稿日期: 2015-02-14 修回日期: 2015-09-07)

(上接第 17 页)

与国内耐药监测数据相符^[10], 检出 2 株万古霉素耐药的屎肠球菌。

骨科感染主要由于内源性正常菌群或周围环境中细菌侵犯抵抗力低下的宿主而引发, 合理选择抗菌药物治疗是预防控制骨科感染的关键。本次调查研究分析了 3 年来本院骨科革兰阳性球菌感染的分布特点及对抗菌药物敏感性的监测结果, 为骨科感染的治疗提供参考依据。另外, 规范合理的骨科标本取材与送检对感染的诊断与治疗也具有重要意义, 应引起广大骨科医师的重视。

参考文献

- [1] Waseem M, Lakdawala V, Patel R, et al. Is there a relationship between wound infections and laceration closure time? [J]. Int J Emerg Med, 2012, 5(1): 32.
- [2] 朱慧锋, 王珠美, 王维佳. 骨科感染研究进展[J]. 实用医学杂志, 2008, 24(6): 885-887.
- [3] 徐修礼, 张鹏亮, 樊新, 等. Mohnarin 2008 年度报告: 葡萄球菌和肠球菌耐药监测[J]. 中国抗生素杂志, 2010, 35(7): 536-542.
- [4] 刘颖, 张会英, 葛艳玲, 等. 1 006 例创伤感染患者伤口 1 257 株细菌耐药监测[J]. 中华创伤杂志, 2013, 29(11):

1094-1098.

- [5] 郑波, 吕媛. 卫生部全国细菌耐药监测网 2011 年革兰阳性菌耐药监测[J]. 中国临床药理学杂志, 2012, 158(12): 888-892.
- [6] 尚玮, 杨雅琼, 王学民, 等. 创伤患者凝固酶阴性葡萄球菌的分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(5): 1030-1033.
- [7] Piette A, Verschraegen G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease[J]. Vet Microbiol, 2009, 134(1/2): 45-54.
- [8] 张蓓, 赵和平, 白晓. 2010~2012 年发生在骨科的医院感染病原菌分布及耐药性[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(9): 1254-1255.
- [9] 李耕, 吕媛, 薛峰. 我国 2009 年至 2010 年 MOHNARIN 项目临床分离常见病原菌的耐药监测[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(1): 67-87.
- [10] 谢其扬, 叶君健, 杨滨, 等. 骨科病区医院感染的细菌谱及耐药分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2009, 4(12): 922-925.

(收稿日期: 2015-04-20 修回日期: 2015-07-10)