

三种不同方法检测乙型肝炎表面抗原的结果比较

赵风华, 赵子瑜, 李燕妮

(广西玉林市红十字会医院, 右江民族医学院附属玉林医院检验科, 广西 玉林 537000)

E-mail: 40818367@qq.com)

摘要: **目的** 探讨胶体金免疫层析法(GICA)、酶联免疫吸附试验法(ELISA)和化学发光微粒子免疫检测法(CMIA)三种方法检测乙型肝炎表面抗原(HBsAg)敏感度和阳性检出率的差异。**方法** 选取我院 2016 年 3~8 月用安图化学发光法确诊的乙肝患者 465 例, 乙肝阴性健康体检者 150 例, 采用 GICA、ELISA 和 CMIA 进行检测并比较其敏感度。**结果** 在 CMIA 检测结果 HBsAg<0.05 IU/ml 阴性者中, 三种检测方法全部为阴性; 在 CMIA 检出 HBsAg 浓度值 3.001~250.00 IU/ml 时, 三种方法全部检出阳性结果, 检出率一致; 在 HBsAg 处于低水平表达时即 CMIA 检出 HBsAg 0.050~3.000 IU/ml 时, CMIA、ELISA、GICA 三种方法检出阳性标本分别为 310 例(100.00%)、245 例(79.03%)、31 例(10.00%), CMIA 检出率均高于 ELISA($\chi^2=72.613, P<0.001$)和 GICA($\chi^2=507.273, P<0.001$); ELISA 检出率高于 GICA($\chi^2=299.055, P<0.001$), 差异均有统计学意义。**结论** 在检测低浓度 HBsAg 时, 三种方法中以 CMIA 的敏感度最高, 其次为 ELISA, GICA 敏感度最低。当 GICA 检测出阴性结果与临床不符以及 ELISA 遇到灰区时可选择 CMIA 进行复查, 以免漏检。CMIA 可在早期感染及血清转换期患者中检测出低浓度 HBsAg, 为临床及时判断病情和制定治疗方案提供依据, 值得推广使用。

关键词: 乙型肝炎表面抗原; 胶体金免疫层析法; 酶联免疫吸附试验法; 化学发光微粒子免疫检测法

中图分类号: R446.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2017)02-0116-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2017.02.010

乙型肝炎由乙型肝炎病毒(HBV)引起, 世界各国均存在, 我国乙型肝炎表面抗原(HBsAg)慢性携带者高达 10%, 为 HBV 的高流行区, 严重影响和威胁我国居民的身心健康^[1]。HBV 感染可导致精子的质量大幅度下降, 影响生育能力^[2]。规范乙肝诊断标准和乙肝报告制度, 提高乙肝报告的准确度, 可达到控制乙肝流行和发生、降低乙肝发病率的效果^[3]。在检查乙型肝炎血清标志物中 HBsAg 最为重要^[4]。HBsAg 的实验室检测可以定性、半定量、定量进行。各种血清学试验均有其特殊的诊断价值, 方法学的优劣直接关系到结果的准确性, 影响患者的诊断和治疗^[5]。本研究根据临床各种需要使用胶体金免疫层析法(GICA)、酶联免疫吸附试验法(ELISA)、化学发光微粒子免疫检测法(CMIA)三种检测方法检测 HBsAg。通过使用三种方法对 HBsAg 不同浓度值检测结果进行比较, 总结分析如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取我院 2016 年 3~8 月用安图化学发光法确诊的乙肝患者 465 例, 乙肝阴性健康体检者 150 例。分别使用 GICA、ELISA、CMIA 三种检测方法检测 HBsAg, 样本均为血清, 无溶血、脂血。根据 CMIA 测定的不同浓度值结果, 选取相应标本分离血

清后在-70℃条件下保存备用。收集样本后, 同批次分别进行 GICA、ELISA 检测。

1.2 仪器与试剂 GICA: 判读结果由肉眼识别, 试剂由艾博生物医药(杭州)有限公司提供, 批号: 2015120115, 有效期至 2017 年 11 月。ELISA: 仪器使用郑州安图全自动酶标加样仪、安图 iwo-960 全自动洗板机、深圳雷杜 RT6000 酶标仪, 试剂由上海科华生物工程股份有限公司提供, 批号: 201510321, 质控品购买于广西区临床检验中心, 浓度为 0.5 IU/ml, 有效期至 2018 年 02 月 01 日。CMIA: 仪器使用美国雅培公司生产的全自动酶免分析仪 i2000SR 化学发光仪, 配套试剂由美国雅培公司提供, 质控品购买于雅培贸易(上海)有限公司, 质控品 1(0.00 IU/ml), 质控品 2(0.25 IU/ml), 质控品 3(175.00 IU/ml), 批号: 61252FN00, 有效期至 2017 年 03 月 20 日。

1.3 方法

1.3.1 检测方法 三种检测方法严格按照仪器和试剂说明书标准操作规程操作。GICA 法手工操作, 肉眼识别结果, 每根试纸条分为质控区和测试区; ELISA 为二步法, 样本加样、洗板、结果判读由仪器全自动完成, 同批次做阴性、阳性对照及自购低值室内质控品(浓度为 0.5 IU/ml); CMIA 法标本分离血清后全程

由仪器全自动完成,每天做三个水平室内质控品。操作过程遵循《全国临床检验操作规程》相关规范。

1.3.2 结果判读 GICA 按照试剂盒说明书判读,检测后 15~30 min 读取结果,本次试验在 20~25 min 读取结果,测试区与质控区同时出现两条红色条带为阳性;仅在质控区出现一条红色条带,而测试区无红色条带出现为阴性。ELISA 样品吸光度值/临界值(S/CO)≥1 为阳性,S/CO<1 为阴性。CMIA 检测结果 ≥0.05 IU/ml 为阳性,检测结果<0.05 IU/ml 为阴性。GICA 所有试纸条质控区均出现一条红色条带,试纸条有效。ELISA、CMIA 室内质控全部在控,同时期使用相同批号试剂参加广西区临床检验中心、卫生部临床检验中心室间质评活动,结果总成绩均为 100%。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计学软件对三种检测方法所得的结果进行数据处理与统计分析,计数资料用例数或百分率表示,采用 χ^2 检验进行比较分析,以 $\alpha=0.05$ 为水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三种方法检测乙肝表面抗原阴性结果 在 150 例健康体检 HBsAg 阴性者中,即 CMIA 检测 HBsAg<0.05 IU/ml 时,其他两种方法检测结果为 0,全部为阴性。见表 1。

2.2 三种方法检测低浓度 HBsAg 阳性结果比较

2.2.1 在 CMIA 检出 HBsAg 为 0.050~0.500 IU/ml 时,CMIA、ELISA 和 GICA 三种方法检出阳性标本分别为 155 例(100.00%)、90 例(58.06%)、0 例(0.00%),三种方法检出阳性率差异有统计学意义($\chi^2=313.595$, $P<0.001$)。CMIA 检出率均高于 ELISA($\chi^2=82.245$, $P<0.001$)和 GICA($\chi^2=310.00$, $P<0.001$);ELISA 检出率高于 GICA($\chi^2=126.818$, $P<0.001$),差异均有统计学意义。见表 1。

2.2.2 在 CMIA 检出 HBsAg 为 0.501~3.000 IU/ml 时,CMIA、ELISA、GICA 三种方法检出阳性标本分别为 155 例(100.00%)、155 例(100.00%)、31 例(20.00%),三种方法检出阳性率差异有统计学意义($\chi^2=338.182$, $P<0.001$)。CMIA 检出率与 ELISA 相同,两者均高于 GICA($\chi^2=206.667$, $P<0.001$)。见表 1。

2.2.3 在 CMIA 检测 HBsAg 低浓度 0.050~3.000 IU/ml 结果中,CMIA、ELISA、GICA 三种方法检出阳

性标本分别为 310 例(100.00%)、245 例(79.03%)、31 例(10.00%),三种方法检出阳性率差异有统计学意义($\chi^2=589.886$, $P<0.001$)。CMIA 检出率均高于 ELISA($\chi^2=72.613$, $P<0.001$)和 GICA($\chi^2=507.273$, $P<0.001$);ELISA 检出率高于 GICA($\chi^2=299.055$, $P<0.001$)。见表 1。

2.3 三种方法检测高浓度 HBsAg 阳性结果比较 从表 1 可见在 CMIA 检测的 HBsAg 浓度值为 3.001~250.00 IU/ml 时,三种方法都可以全部检出阳性结果,检出率一致。

表 1 CMIA、GICA 和 ELISA 检测 HBsAg 结果比较

HBsAg(IU/ml)	CMIA		GICA		ELISA	
	检出数	检出数(n,%)	检出数(n,%)	检出数(n,%)		
<0.050	150	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)		
0.050~0.500	155	0(0.00)	90(58.06)			
0.501~3.000	155	31(20.00)	155(100.00)			
3.001~250.00	155	155(100.00)	155(100.00)			

3 讨论

GICA 利用免疫层析法结合胶体金显色的特点来诊断特异性的待测物,简单快捷、成本低廉、用途广泛^[6]。姜宏兵等^[7]研究认为 GICA 检测 HBsAg 灵敏度范围为 2~4 IU/ml,ELISA 法的检测灵敏度小于或等于 0.5 IU/ml。本实验结果在 CMIA 检测值 0.050~0.500 IU/ml 时,GICA 检测出阳性标本为 0 例(0.0%);在 CMIA 检测值 0.501~3.000 IU/ml 时,GICA 检测出阳性标本为 31 例(20.0%),在 CMIA 浓度值 3.001~250.00 IU/ml 时 GICA 检出阳性标本为 155 例(100%),可推测 GICA 灵敏度可能在 2.000~3.000 IU/ml。GICA 由于灵敏度低于其他检测方法,且对低浓度标本的检出存在缺陷,容易存在漏检风险。

ELISA 是在放射免疫分析的基础上发展起来的固相酶联免疫测定方法,灵敏度高,特异性强,无放射性污染,检测成本低,可进行定性或半定量检测^[8]。缺点为操作步骤多而繁琐,耗时较长,影响因素多。卫晓青等^[9]研究认为 CMIA 测定值在 0.06~0.50 U/ml 的样本中,第二步法 ELISA 的检出率为 48%,在 0.50 IU/ml 以上者第二步法 ELISA 均能检出。本实验结果在 CMIA 检测值为 0.050~0.500 IU/ml 时,ELISA 检出阳性标本为 90 例(58.06%),在 CMIA 检测值为 0.501~250.000 IU/ml 时,ELISA 可以全部检出。可推测 ELISA 法灵敏度低于 0.5 IU/ml。ELISA 由于检测的局限性,较低浓度标本可能检测不到,容易造成

漏检,延误诊断及治疗。因此在窗口期及低浓度的标本不适宜使用 ELISA 法检测^[10]。

CMIA 是直接化学发光免疫分析的一种方法,以吖啶酯为发光标记物,磁珠进行分离的免疫分析方法^[11]。CMIA 全程仪器自动化检测,能够较好地避免人为误差从而提高测试的精密度,灵敏度和特异性最高。CMIA 在血清转换期以及 HBsAg 突变株检测具有较好的灵敏度。CMIA 因灵敏度高,检测得到的低浓度阳性结果可能为假阳性,需要进一步做确认试验。

如表 1 所示,在 HBsAg 低浓度 CMIA 检测值 0.050~3.000 IU/ml 结果中,CMIA、ELISA、GICA 三种方法检出阳性标本分别为 310 例(100.00%)、245 例(79.03%)、31 例(10.00%),CMIA 检出率均高于 ELISA ($\chi^2 = 72.613, P < 0.001$) 和 GICA ($\chi^2 = 507.273, P < 0.001$);ELISA 检出率高于 GICA ($\chi^2 = 299.055, P < 0.001$),差异均有统计学意义。在检测低浓度 HBsAg 三种方法中以 CMIA 的敏感度最高,其次为 ELISA,GICA 最低。由此可见,当 GICA 无法检测出疑似阳性的结果,ELISA 遇到检测样本吸光度值(OD 值)在对照样本临界值(cut off 值)附近时,均需要复查,可以使用 CMIA 进行复查,避免漏检。CMIA 检测结果的灵敏度最高,可在早期感染及血清转换期患者中检测到低浓度 HBsAg,为临床及时判断病情和制定治疗方案提供依据,检测方法值得推广。由于 CMIA 灵敏度高可能会引起假阳性结果,为了避免误诊,对于 HBsAg 定量值在 0.05~0.12 IU/ml 弱阳性结果时,需做确认试验从而保证检测结果的准确性^[8]。

以上分析可见,实验室可在对各种检测方法的性能进行综合评估的基础上,根据不同检测目的选择最佳方法。GICA 操作简单,能快速检测出结果,适合急诊等紧急情况下的快速检测。当进行大批量样本筛查时,可以选择 ELISA 检测以降低成本,减轻病人负担。当 GICA 检测结果与临床不符或者 ELISA 进行检测

出现灰区结果时,可进行 CMIA 复查。CMIA 虽然成本较高,但其灵敏度最高,可在早期及血清转换期检测出 HBsAg,为临床及时判断病情、制定治疗方案、指导护理提供依据,避免早期 HBV 通过手术、母婴、输血等途径发生传播而带来不良后果。

参考文献:

- [1] 高鲲,王振轩. 酶联免疫技术检测乙型肝炎表面抗原的分析性能评价[J]. 中国医药指南,2013,11(17):554-555.
- [2] 兰贵斌,谢德纯,农正祥,等. 乙型肝炎病毒感染对精子 DNA 完整性影响的研究[J]. 右江民族医学院学报,2016,38(4):368-370.
- [3] 刘慧妮. 2013~2015 年广西百色市乙型肝炎发病状况分析[J]. 右江民族医学院学报,2016,38(4):428-429.
- [4] 王力达,马悦,刘牟林. 不同方法检测乙肝表面抗原的结果分析[J]. 临床输血与检验,2013,15(1):42-44.
- [5] 王碧玉,曾自如. 胶体金法、酶联免疫吸附试验和明胶颗粒凝集试验检测血清梅毒抗体的结果比较[J]. 右江民族医学院学报,2011,33(2):210-211.
- [6] 张润清. 三种方法检测乙肝表面抗原阳性结果的分析[J]. 临床和实验医学杂志,2015,14(4):330-332.
- [7] 姜宏兵,蒋菲,董清清,等. 胶体金免疫层析法急诊检测 HBsAg 漏检风险评估[J]. 检验医学与临床,2016,13(13):1750-1751,1754.
- [8] 刘杨,彭道荣. 乙肝表面抗原实验室检测方法的进展[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(17):2546-2548.
- [9] 卫晓青,黄秋芳,戴月,等. 低水平 HBsAg 3 种方法检测结果比较[J]. 检验医学与临床,2013,10(3):283-284,286.
- [10] 王新莉. 酶联免疫吸附试验与化学发光免疫分析法检测乙型肝炎 5 项血清标志物的对比分析[J]. 国际检验医学杂志,2016,36(6):807-808.
- [11] Wilson DH, Groskoof W, Hsu S, et al. Rapid automated assay for progesterone on the ABBOTT AX-SYMTM analyzer [J]. Clin Chem,2008,44(1):86-91.

收稿日期:2016-12-08;修回日期:2017-02-12