

therapeutic monitoring of tacrolimus (FK506) [J]. Ther Drug Morit, 1995, 17(6): 606-614.

[2] Undre NA, Stevenson P, Schäfer A. Pharmacokinetics of tacrolimus: clinically relevant aspects [J]. Transplant Proc, 1999, 31(7A): S21-24.

[3] 赵友林. 提高药物临床试验安全性检验的质量探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 889-890.

[4] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP10-A Preliminary evaluation of quantitative clinical laboratory methods [S]. Wayne PA, NCCLS, 1998.

[5] Vinod PS, Kamal KM, Shrikant D, et al. Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies [J]. Pharm Res, 1992, 9(4): 588-591.

[6] 周永恒, 石磊, 唐镜波. 影响他克莫司血药浓度的因素[J]. 中国药房, 2005, 16(24): 1909-1911.

[7] 王立明, 闵志廉, 朱有华, 等. 肾移植受者应用他克莫司治疗窗浓度的探讨[J]. 中华器官移植杂志, 2000, 21(3): 145-146.

[8] 马嵘, 胡翠华, 谢洁红, 等. 多元分析模板图在监测肝移植受者 FK506 治疗窗浓度的应用[J]. 微循环杂志, 2010, 20(3): 41-43.

[9] 叶伟民, 陆慧琦, 朱烨, 等. 他克莫司在临床检测中的方法学比较[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(2): 85-87.

[10] 李启欣, 李炜焯, 陈斌鸿, 等. 不同化学发光检测系统 FT3、FT4、TSH 结果的可比性和偏倚评估[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(8): 790-791.

(收稿日期: 2011-03-01)

• 检验技术与方法 •

时间分辨荧光免疫分析和酶联免疫吸附实验检测 乙型肝炎病毒血清标志物结果分析

李艳霞

(河南省安阳市人民医院检验科 455000)

摘要:目的 探讨时间分辨荧光免疫分析 (TRFIA) 检测乙肝病毒血清标志物 (HBV-M) 的临床价值。方法 采用酶联免疫吸附实验 (ELISA) 和 TRFIA 对 272 例血清标本的 HBV-M 进行平行检测, 对两种方法检测结果进行比较分析。结果 ELISA 和 TRFIA 检测血清 HBV-M 各指标阳性率差异无统计学意义 ($P>0.05$), HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 和 HBcAb 检测结果阳性符合率分别为 96.9%、86.5%、94.6%、98.2% 和 96.8%。结论 两种方法检测 HBV-M 阳性符合率除 HBsAb 外均高于 90%, 表明两种方法均适合应用于乙肝病毒的临床检测; ELISA 易出现假阳性和假阴性结果; TRFIA 检测 HBV-M 不仅特异性强、敏感性高, 而且能够定量, 值得临床推广应用。

关键词: 酶联免疫吸附测定; 时间分辨荧光免疫法; 乙肝病毒标志物

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.11.035

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)11-1218-02

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染在中国属高流行性疾病^[1]。以酶联免疫吸附实验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测 HBV 血清标志物 (HBV serological marker, HBV-M), 即“两对半”检测, 其具有简单、方便、快速的优点, 在临床广泛应用。时间分辨荧光分析法 (time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA) 是用于检测 HBV-M 的新方法^[2]。笔者采用 TRFIA 和 ELISA 平行检测了 272 例血清标本的 HBV-M, 并对检测结果进行了分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 272 例血清标本采集自 2009 年 1 月至 2010 年 9 月于本院检测 HBV-M 定量检测乙肝患者及其家属, 其中男 171 例, 女 101 例。

1.2 仪器与试剂 HBV-M ELISA 检测试剂盒 (上海科华生物技术有限公司)、RMP-150 全自动酶免仪 (瑞士帝肯公司); TRFIA 检测采用 EFFICUTA 全自动标本前处理系统、ANY-TEST 时间分辨荧光检测仪及配套试剂 (上海新波生物技术有限公司)。

1.3 方法 以无抗凝剂或含促凝分离胶真空管抽取受试者早晨空腹静脉血 3~5 mL, 37℃ 放置, 待凝血后离心分离血清, 1~2 h 内检测。ELISA 与 TRFIA 均严格按试剂盒和仪器说明书操作。ELISA 为定性检测, 按酶标仪结果判读阴、阳性, HBV-M 任一指标为弱阳性的标本及“表面抗原、表面抗体”、“e 抗原、e 抗体”双阳性标本均设置 2 个平行孔复查, 仍为阳性者判为阳性。TRFIA 为定量检测, 结果正常参考范围为 HBsAg 0.0~0.2 ng/mL、HBsAb 0~10 mIU/mL、HBeAg 0.0~

0.5 PEIU/mL、HBeAb 0.0~0.2 PEIU/mL、HBcAb 0.0~0.9 PEIU/mL, 超过正常参考范围上限判为阳性, 反之为阴性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 12.0 统计分析软件对检测结果进行分析, $P<0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

272 例血清标本 ELISA 定性检测, HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 和 HBcAb 阳性例数分别为 220、32、89、112 和 218 例; TRFIA 定量检测, 上述各指标阳性例数依次为 227、37、94、110 和 211 例。经统计学处理, ELISA 定性检测, HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 和 HBcAb 阳性率分别为 80.9%、11.8%、32.7%、41.2% 和 80.1%, TRFIA 定量检测上述各指标的阳性率分别为 83.5%、13.6%、34.6%、40.4% 和 81.2%, 两种检测方法上述各指标阳性率差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 各指标的阳性符合率依次为 96.9%、86.5%、94.6%、98.2% 和 96.8%。

3 讨论

本研究显示, ELISA 和 TRFIA 检测血清标本 HBV-M 各指标阳性率差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 两种方法检测结果阳性符合率除 HBsAb 外均高于 90%, 和相关报道基本一致^[3], 表明两种方法均适合应用于 HBV-M 的临床检测。但两种方法之间仍存在一定的“灰区”检测范围, ELISA 检测结果中出现了部分假阳性和假阴性, 提示 TRFIA 检测乙肝病毒血清标志物 (HBV-M) 的灵敏度高于 ELISA 法。

ELISA 是用于检测血清 HBV-M 的传统标记免疫检测方法, 具有快速、简便、价廉等优点, 在 HBV 感染所致疾病的病

情监测和疗效观察方面具有一定的作用,但该法仅为定性实验,不能判断 HBV-M 各指标的具体含量,不能实现 HBV 感染的动态观察,也不能对需要进行预防接种的高危人群和需要接受肝移植、血液透析及免疫抑制剂治疗的患者等进行表面抗体浓度值的定期、动态检测,因此难以判断 HBV 感染病情和病毒复制水平^[4-5]。TRFIA 是继放射标记、酶标记、化学发光、电化学发光等方法后的新兴的标记免疫检测方法,该技术灵敏度可高达 10~18 mol/L,HBsAg 最低检出限可达 0.2 ng/mL,而 ELISA 检测 HBsAg 的最低检出限为 0.5 ng/mL^[6];TRFIA 的高灵敏度主要受益于所用标记物(稀土离子)具有的物理性质及化学性质,稀土离子体积很小(为原子标记),不影响被标记物的空间立体结构,不影响被标记物与待测物结合所形成复合物的稳定性(对蛋白质的影响更小),因此具备高稳定性、干扰因素少等优点^[7-9]。本研究显示,TRFIA 检测结果中 HBsAg、HBsAb 和 HBeAg 的阳性率均高于 ELISA 检测,而 HBeAb 和 HBcAb 的阳性率低于 ELISA 检测,可能与干扰 ELISA 检测 HBeAb 和 HBcAb 的因素较多,容易出现假阳性结果有关^[10]。总之,TRFIA 检测 HBV-M 灵敏度高于 ELISA,更适合用于弱阳性标本的检测;TRFIA 的定量检测能够为判断 HBV 感染病情进展、病毒复制水平和治疗效果,以及疫苗注射效果等方面提供可靠依据,值得临床推广应用。

参考文献

[1] 吴正林,何英,叶军,等. 电化学发光法和 ELISA 法检测乙肝血清标志物结果对比分析[J]. 现代检验医学杂志,2010,25(4):103-

(上接第 1212 页)

nlm. nih. gov/pmc/articles/PMC3038964/? tool=pubmed.
[12] Shoji T, Hatsuda S, Tsuchikura S, et al. Small dense low-density lipoprotein cholesterol concentration and carotid atherosclerosis [J]. Atherosclerosis, 2009, 202(2): 582-588.
[13] Zeljkovic A, Vekic J, Spasojevic-Kalimanovska V, et al. LDL and HDL subclasses in acute ischemic stroke: prediction of risk and short-term mortality[J]. Atherosclerosis, 2010, 210(2): 548-554.
[14] Jarauta E, Mateo-Gallego R, Gilabert R, et al. Carotid atherosclerosis and lipoprotein particle subclasses in familial hypercholesterolaemia and familial combined hyperlipidaemia [J/OL]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2010, <http://beta.docguide.com/carotid-atherosclerosis-and-lipoprotein-particle-subclasses-familial-hypercholesterolaemia-and-famil? tsid=5>.
[15] Hirano T, Nohtomi K, Sato Y, et al. Small dense LDL-cholesterol determined by a simple precipitation assay for screening familial combined hyperlipidemia[J]. Atherosclerosis, 2009, 205(2): 603-607.
[16] Davies IG, Graham JM, Griffin BA. Rapid separation of LDL subclasses by iodixanol gradient ultracentrifugation[J]. Clin Chem, 2003, 49(11): 1865-1872.
[17] Singh Y, Lakshmy R, Gupta R, et al. A rapid 3% polyacrylamide slab gel electrophoresis method for high through put screening of LDL phenotype[J/OL]. Lipids Health Dis, 2008, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2607270/? tool=pubmed>

104.
[2] 胡晓燕,吴明辉. 重视血清乙肝标志物少见模式的临床意义[J]. 临床和医药实践杂志, 2009, 8(8): 127-128.
[3] 徐杰,段正军,田鹏飞. 时间分辨荧光免疫测定技术在乙肝两对半定量检测中的临床意义以及酶联免疫法与时间分辨法的比较分析[J]. 中国中西医结合临床杂志, 2007, 2(6): 1024.
[4] 段正军,徐杰,田鹏飞. 两种方法对比检测乙型肝炎病毒血清标志物[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(7): 636-637.
[5] 孙宝苓,王静霞,付莉,等. 儿科乙型肝炎病毒性肝炎血清五项标志物常见模式和不常见模式分析[J]. 中国医学检验杂志, 2006, 7(5): 322-323.
[6] 崔清潭,陈静波,李泽仙. 免疫电化学发光分析技术检测乙肝两对半结果的模式分析[J]. 中国临床医药研究杂志, 2006, 12(3): 79-80.
[7] 龙波,陈铁奇,徐金平. 时间分辨荧光免疫分析与酶联免疫吸附分析检测血清甲胎蛋白的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(11): 1041-1042.
[8] 杭建峰,吴英松,李明. 时间分辨荧光免疫分析的研究进展及应用[J]. 热带医学杂志, 2004, 4(3): 340-342.
[9] 宁明哲,童明庆. 稀土元素铕标记技术的应用研究[J]. 临床检验杂志, 2004, 22(4): 313-315.
[10] 文家远. 酶联免疫吸附试验检测抗-HBe 与抗-HBc 假阳性分析[J]. 医学信息, 2009, 22(8): 1602-1603.

(收稿日期:2010-10-09)

[18] Otvos JD. Measurement of lipoprotein subclass profiles by nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. Clin Lab, 2002, 48(3/4): 171-180.
[19] Yamaguchi Y, Kunitomo M, Haginaka J. Assay methods of modified lipoproteins in plasma[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2002, 781(1/2): 313-330.
[20] Sakurai T, Trirongjitmoah S, Nishibata Y, et al. Measurement of lipoprotein particle sizes using dynamic light scattering[J]. Ann Clin Biochem, 2010, 47(5): 476-481.
[21] 汪骅,金庆辉,王惠民. 小而密低密度脂蛋白的检测方法[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(10): 908-910.
[22] Hirano T, Ito Y, Saegusa H, et al. A novel and simple method for quantification of small, dense LDL[J]. Journal of Lipid Research, 2003, 44(11): 2193-2201.
[23] Albers JJ, Kennedy H, Marcovina SM. Evaluation of a new homogenous method for detection of small dense LDL cholesterol: comparison with the LDL cholesterol profile obtained by density gradient ultracentrifugation[J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(7/8): 556-561.
[24] Hirano T, Ito Y, Yoshino G. Measurement of small dense low-density lipoprotein particles[J]. J Atheroscler Thromb, 2005, 12(2): 67-72.

(收稿日期:2011-01-17)