

• 检验技术与方法 •

化学发光微粒子免疫分析法与酶联免疫吸附法检测感染性疾病抗原抗体的比较

李 琦,尚晓泓[△]

(中国中医科学院西苑医院检验科,北京 100091)

摘要:目的 对化学发光微粒子免疫分析(CMIA)法检测感染性疾病的抗原抗体进行评价。方法 采用 CMIA 法和酶联免疫吸附试验(ELISA)法分别对 2006~2010 年度卫生部临床检验中心及北京市临床检验中心感染性疾病抗原抗体室间质评品进行检测,以室间质评品靶值作为参考,计算两种方法检测结果的准确率,并分析两种方法检测结果的一致率。结果 CMIA 法检测感染性疾病抗原抗体具有较高灵敏度,有较好的重复性和特异性,但同时也存在乙型肝炎表面抗原假阳性率高的检测结果。结论 CMIA 法对提高感染性疾病抗原抗体准确率具有重要意义。

关键词:化学发光微粒子免疫分析; 酶联免疫吸附测定; 肝炎病毒,乙型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.07.034 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)07-0846-02

我国是感染性疾病的高发区,以乙型肝炎病毒(hepatitis b virus,HBV)为例,人群感染率约 10%^[1]。目前临床实验室对感染性疾病抗原抗体血清标志物的检测普遍采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)法,而化学发光微粒子免疫分析(chemiluminescent microparticle immunoassay,CMIA)技术更具有高灵敏度、宽线性、操作简单、结果准确等优点。现就 ELISA 法和 CMIA 法检测感染性疾病抗原抗体的一致性各自的优缺点进行比较,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2006~2010 年度卫生部临床检验中心及北京市临床检验中心感染性疾病抗原抗体室间质评品。

1.2 仪器与试剂 Architect i2000 SR 全自动化学发光免疫分析仪(美国雅培公司);Alisei 全自动酶标仪(意大利 SEAC 公司)。CMIA 法试剂盒由美国雅培公司提供;ELISA 法试剂盒由北京万泰公司提供。

1.3 方法 所有样本检测前均经 3 800 r/min 离心 15min,立即上机测定。采用 CMIA 法和 ELISA 法分别对 150 份样本各进行两次检测,检测包括 HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc 和抗-HCV,取平均值结果与卫生部临床检验中心及北京市临床检验中心反馈结果进行分析比较,检测结果与室间质评品靶值相符时视为检测结果准确。

2 结 果

2.1 两种方法检测结果的一致率及准确率比较,见表 1。

表 1 两种方法检测结果一致率和准确率结果比较[n=150,n(%)]

项目	一致率	CMIA 法准确率	ELISA 法准确率
HBsAg	140(93.3)	143(95.3)	147(98.0)
抗-HBs	150(100.0)	150(100.0)	150(100.0)
HBeAg	150(100.0)	150(100.0)	150(100.0)
抗-HBe	133(88.7)	150(100.0)	133(88.7)
抗-HBc	131(87.3)	150(100.0)	131(87.3)
抗-HCV	150(100.0)	150(100.0)	150(100.0)

2.2 对与反馈结果不一致的样本进行分析,CMIA 法检测 HBsAg 假阳性结果 100%,占总样本的 4.7%,且测定值 S/CO 均在 0.2 以下;ELISA 法检测的假阴性结果 100%,占总样本的 2%;抗-HBe 检测中 ELISA 法造成的错误结果 100%是假阴性,占 11.3%,且测定值 S/CO 均在 1.0~1.5 之间;抗-HBc 检测中 ELISA 法造成的错误结果 74%是假阴性,占 9.3%,且测定值 S/CO 均在 1.0~1.5 之间,26%是假阳性结果,占 3.3%,且测定值 S/CO 在 0.8~1.0 之间。

3 讨 论

ELISA 法和 CMIA 法检测感染性疾病抗原抗体各有优缺点,一般认为,ELISA 检测结果的可靠性比较容易受检测过程中操作误差的影响^[2-3]。但两者结合能够互相弥补各自缺点,发挥特长。本实验中 150 份样本的所有检测项目结果中凡是两种方法结果一致的均与反馈结果一致,准确率为 100%,所有的错误结果均出现在两种结果有分歧时。

抗-HBs、HBeAg 和抗-HCV 3 个项目使用两种方法检测结果均完全一致,说明两种方法结果一致。HBsAg、抗-HBe 和抗-HBc 3 个项目的两种方法检测结果均有分歧,分歧主要出现在 CMIA 法检测 HBsAg 的假阳性率偏高和 ELISA 法检测抗-HBe 和抗-HBc 的假阴性率偏高。HBsAg 的假阳性率偏高主要由于两种方法的灵敏度不同,且两种方法均由各自灰度区间所造成^[4-7]。所以 CMIA 法检测 HBsAg 时测定值 S/CO 在 0.05~0.2 之间的弱阳性结果应警惕假阳性的出现,并用 ELISA 法进行核实。ELISA 法检测抗-HBe 和抗-HBc 的假阴性率偏高主要由于抗原及酶结合物浓度低,最后吸光度值太小^[8]。所以 ELISA 法检测抗-HBe 和抗-HBc 时测定值 S/CO 在 1.0~1.5 之间的弱阴性结果应警惕假阴性的出现,最好能用 CMIA 法进行核实,以提高结果的准确性。

总之,目前检测感染性疾病抗原抗体多数医院采用 ELISA 法,其成本低廉,不需专门仪器,但操作较为复杂,实验室尚不能作为急诊检测项目,人为影响因素较多,同时抗-HBe 和抗-HBc 检测假阴性率偏高;而 CMIA 法灵敏度高于 ELISA 法,重复性好,操作简便^[2]。本实验表明 CMIA 法准确率也较高,但其成本高,且对于 HBsAg 的检测假阳性率偏高,应值得注意。所以建议在实际工作中最好能保留两种方法,取长补短。

[△] 通讯作者,E-mail:shangxh2056@sina.com。

短,发挥各自优点。有条件的实验室可以 CMIA 法检测为主,但对 HBsAg 测定值 S/CO 在 0.05~0.2 之间的弱阳性结果应予以复检(相同方法或 ELISA 法),并且建议 1~3 个月后复查该结果^[9-10]。不能以 CMIA 法检测为主的实验室,可以 ELISA 法为主,对于可疑结果或少见模型(尤其涉及抗-HBe 和抗-HBc)再使用 CMIA 法复核其结果。

参考文献

- [1] 刘崇柏.我国乙型病毒性肝炎的流行现状及预防[J].中华预防医学杂志,1996,30(增刊):61.
- [2] 谭凌卉.ELISA 法检测 HBV 血清标志物影响因素的分析[J].湖南师范大学学报(医学版),2009,6(2):20-23.
- [3] 葛君琰,王丽娜.影响 ELISA 法检测乙型肝炎病毒血清标志物的因素[J].国际检验医学杂志,2010,31(3):289-290.
- [4] 张国元,胡彦,瞿明凡,等.1 010 例乙型肝炎病毒血清标志物检测[J].国际检验医学杂志,2007,28(2):119-121.

• 检验技术与方法 •

两种抗酸染色法对麻风分枝杆菌和结核分枝杆菌染色结果分析

蒙在杨¹,黄培胜²

(1.广西壮族自治区亭凉医院检验科,南宁 530022;
2.广西壮族自治区崇左市人民医院检验科 532200)

摘要:目的 比较 Ziehl-Neelsen 加热抗酸染色法和快速抗酸染色法(TAAS)在麻风分枝杆菌和结核分枝杆菌染色的应用结果。方法 用加热抗酸染色法和 TAAS 法同时检测 17 例现症多菌型(MB)麻风病患者和 157 例肺结核初诊阳性患者标本,对检测结果进行分析。结果 两种染色方法在结核痰检中符合率为 100%;加热法和 TAAS 法在麻风分枝杆菌中阳性率分别为 100%和 71.36%,加热法阳性率高于 TAAS 法,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 两种染色方法在结核痰检中符合率一致;加热法在麻风分枝杆菌中阳性率高于 TAAS 法。

关键词:麻风分枝杆菌; 结核分枝杆菌; 萘尼抗酸染色

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.07.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)07-0847-02

麻风分枝杆菌(*Mycobacterium leprae*)是麻风病的病原体,称麻风菌(*leprosy bacillus*);结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)是结核病的病原体,称结核菌(*tubercle bacillus*)。这两种细菌是抗酸性细菌中主要的致病菌,菌体内均含有大量脂质,一般染色难以着色,而且能抵抗酸性物质脱色,是实验室进行重点检查的致病性抗酸菌类^[1-2]。现采用 Ziehl-Neelsen 加热抗酸染色法(传统抗酸染色法)和快速抗酸染色法(TAAS)对 1998~2009 年该院现症多菌型(MB)麻风病患者组织液涂片标本和由外医院提供的已确诊的肺结核患者痰涂片标本进行检测,比较两种抗酸染色法对两种抗酸性细菌的染色结果,并对临床资料作回顾性分析,以期为实验室选择更为有效、准确的抗酸染色方法提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 MB 麻风病 17 例全部来自该院住院患者,其中男 16 例,女 1 例,年龄 19~70 岁,入院时已确诊为 MB 麻风病患者。157 例肺结核初诊阳性患者,年龄 6~77 岁,其中男 87 例,女 70 例。

1.2 仪器与试剂 (1)仪器:OLYMPUS XTF-1 调制反差显微镜,型号: CX21FS1-5。(2)试剂:传统抗酸染色液的配制,第 1 液为 5%的石炭酸复红染液,首先配制饱和液,配方为:碱性复红 4 g,加少量 95%酒精研磨后加至 100 mL,然后取 10 mL 饱和液+5%石炭酸溶液(苯酚 5 g 溶于 100 mL 蒸馏水中)成为应用液。第 2 液为脱色剂,7%稀硫酸液(浓硫酸 7 mL 溶于

- [5] 李金明.血液感染性疾病标志物筛选中应重视的若干问题[J].中华检验医学杂志,2006,29(7):577-580.
- [6] 李金明.感染性疾病血清学检验中应重视对弱反应性标本的确认[J].中华检验医学杂志,2006,29(5):385-389.
- [7] 李琦,尚晓泓.浅析乙型肝炎病毒免疫检测弱反应性标本的产生原因及报告处理[J].中国医学检验杂志,2005,7(6):454-456.
- [8] 谢云琴,方军,周莺莺,等.探讨酶联免疫吸附试验检测乙型肝炎核心抗体假阴性的问题[J].中国卫生检验杂志,2005,15(5):610-612.
- [9] 马跃飞,高丽钦,林晓丽,等.ELISA 法检测乙型肝炎表面抗原假阳性的影响因素[J].国际检验医学杂志,2010,31(10):616-617.
- [10] 王晓蓉,胡爱玲,张中伟,等.减少 ELISA 检测 HBV 血清标志物假阳性方法的探讨[J].现代检验医学杂志,2008,23(5):103-105.

(收稿日期:2011-12-27)

蒸馏水然后加蒸馏水至 100 mL)。第 3 液为复染液,配方为美兰(次甲基兰)0.3 g 加少量 95%酒精研磨后加酒精至 30 mL,然后再加蒸馏水至 100 mL,配制好后加 10%KOH 溶液 0.1 mL。传统染色液试剂的检查,第 3 液滴加 1 滴在干净载玻片上,液滴张力好,边缘不散则可;每一次染色前均要检查,如液滴散开则在溶液中滴加 10%KOH 溶液到检查液滴不散为止。如果试剂检查有下列情况则弃去不用:(1)第 3 液滴加 10% KOH 溶液检查依然不合格;(2)3 种染色液中出现絮状沉淀;(3)试剂配制超过 6 个月。TAAS 试剂盒由四川省迈克科技有限责任公司提供。

1.3 方法 17 例 MB 麻风患者取材部位、方法和日期主要参照文献[1]进行,部分检查根据临床医师的临床需要进行,共取材检查 136 次,每次取材均要同时涂片两张,共涂片 272 张。157 例肺结核初诊阳性患者,每一标本涂片两张,共涂片 314 张(由崇左市人民医院检验科提供)。每位患者同时制备的两张涂片,分别采用传统抗酸染色法和 TAAS 法进行染色检测。

传统染色方法:(1)所有涂片经火焰固定,加第 1 染液徐徐加热至微冒蒸汽然后放置 1~3 min(夏天染色时间较短,冬天较长),然后水洗;(2)加脱色剂约 3 min 至无红色脱落为止,水洗;滴加复染液,0.5~1 min,然后水洗;自然干燥/吹风筒吹干。TAAS 按操作说明书进行。干燥后置于油镜下对整张涂片检测,发现检测菌记录为阳性,未检测到为阴性;传统抗酸染色麻风杆菌标本还要按 Ridley 对数分级法计数菌数并记录,