

- [4] Sakoulas G, Gold HS, Venkataraman L, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: comparison of susceptibility testing methods and analysis of *mecA*-positive susceptible strains[J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(11): 3946-3951.
- [5] 陆亚华,时庭文,陈虹,等.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性及耐药基因研究[J].中华检验医学杂志,2005,7(7):744-745.
- [6] Oliveira DC, Wu SW, de Lencastre H. Genetic organization of the downstream region of the *mecA* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying different polymorphisms of this region[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44(7): 1906-1910.
- [7] 陈智鸿,范昕建,吕晓菊. *mecA*、*femA* 基因 PCR 联合扩增法检测

## • 检验技术与方法 •

# 三种检测方法对 HBV 血清标志物的检测比较与质控分析

冯丽珍<sup>1</sup>,石安平<sup>2</sup>,韩宏枫<sup>1</sup>

(武警内蒙古总队医院:1. 检验科;2. 医务科,内蒙古呼和浩特 010031)

**摘要:**目的 探讨酶联免疫吸附测定(ELISA)、化学发光免疫分析(CLIA)及荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)对 HBV 血清标志物的检测效果,为临床提供参考。方法 收集 160 例 HBV 感染患者清晨空腹静脉血,2 h 内采用 ELISA、CLIA 及 FQ-PCR 对 HBV 血清标志物进行检测,采用成本-效果分析(CEA)进行检测符合率及成本的判定。结果 160 例标本 ELISA、CLIA 及 FQ-PCR 检测的总符合率分别为 96.9%(155/160)、93.8%(150/160)及 94.4%(151/160),三者比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。三者检测 1 次的平均成本分别为 425.9、126.3 及 625.6 元。CLIA 检测的成本-效果值低于 ELISA 及 FQ-PCRA 检测( $P < 0.05$ )。结论 CLIA 检测的应用效果优于 ELISA 及 FQ-PCR。

**关键词:**肝炎病毒,乙型; 化学发光测定法; 聚合酶链反应; 酶联免疫吸附测定; 血清标志物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.09.033

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)09-1132-02

由于各种因素的影响,当前国内乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染的发病率日益增加。血清中 HBV 感染标志物的检测受试剂质量和检测方法的影响<sup>[1]</sup>,目前常规的处理方法是通过严格控制检测条件,使实验尽可能达到规范化和标准化<sup>[2]</sup>。在实际操作中多采用快速酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)一步法,即标本、包被的抗体或抗原及相应酶标抗体同时在 30 min 内反应完成<sup>[3]</sup>。荧光定量聚合酶链反应(fluorescent quantitative polymerase chain reaction, FQ-PCR)也广泛用于肝炎病毒的血清标志物检测<sup>[4-5]</sup>。另外,时间分辨荧光技术、化学发光免疫分析(chemiluminescence immunoassay, CLIA)及电化学发光技术也应用于体外诊断<sup>[6]</sup>。现将本院 2009 年 10 月至 2012 年 2 月采用 ELISA、CLIA 及 FQ-PCR 对 160 例患者 HBV 血清标志物检测的效果进行对比,通过成本-效果分析(cost-effectiveness-analysis, CEA)进行质控分析,旨在为临床检测提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2009 年 10 月至 2012 年 2 月本院收治的 HBV 感染患者 160 例,其中,男 99 例,女 61 例;年龄 3 个月至 84 岁,平均(39.51±5.32)岁;患者均于清晨空腹采集肝素锂抗凝静脉血,2 h 内检测完毕。

**1.2 主要仪器与试剂** Elecsys 2010 型全自动电化学发光免疫分析仪购自罗氏公司,FQ-PCR 仪为美国 Promega 公司产品。乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)、抗乙型肝炎病毒表面抗体(anti-hepatitis B surface antibody, HBsAb)、乙型肝炎病毒 e 抗原(hepatitis B virus e antigen, HBeAg)及抗乙型肝炎病毒 e 抗体(anti-hepatitis B virus e antibody, HBeAb)的确证实验试剂由罗氏公司提供;ELISA 诊断

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌[J].四川大学学报:医学版,2003,34(4):663-666.

[8] 孙宏莉,王辉,陈民钧,等.耐糖肽类抗生素的金黄色葡萄球菌研究进展[J].中华检验医学杂志,2004,27(5):70-73.

[9] 李晓芳,范昕建.氧西林金黄色葡萄球菌的耐药基因与耐药性关系[J].中国抗生素杂志,2006,31(3):140-143.

[10] Petinaki E, Arvaniti A, Dimitracopoulos G, et al. Detection of *mecA*, *mecR1* and *mecI* genes among clinical isolates of methicillin-resistant staphylococci by combined polymerase chain reactions[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2001, 47(3):297-304.

(收稿日期:2012-12-05)

试剂为北京万泰生物药业股份有限公司产品;FQ-PCR 试剂盒购自中山医科大学达安基因诊断中心。

**1.3 检测方法、符合率及成本判定** 各指标检测严格按仪器及试剂盒说明书进行操作。总符合率=(真阴性数+真阳性数)/(真阴性数+假阴性数+真阳性数+假阳性数)×100%。统计每组患者入院后 HBV 检测的直接成本。

**1.4 统计学处理** 采用 SAS9.0 软件进行统计学分析,计数资料用  $\chi^2$  检验,以  $\alpha=0.05$  为检验水准,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

160 例血标本 ELISA、CLIA 及 FQ-PCR 检测的总符合率分别为 96.9%(155/160)、93.8%(150/160)及 94.4%(151/160),三者比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。三者检测 1 次的平均成本分别为 425.9、126.3 及 625.6 元。CLIA 检测的成本-效果值低于 ELISA 及 FQ-PCRA( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 ELISA、CLIA 及 FQ-PCR 检测的 CEA

检测方法	n	成本(元)	符合率(%)	成本/效果值
FQ-PCR	160	625.6	96.9	6.46
ELISA	160	425.9	93.8	4.54
CLIA	160	126.3	94.4	1.34

## 3 讨 论

CEA 是较为完备的经济评价形式之一,也是质控分析指标之一,成本/效果比值越小越好。随着大量新技术、新方法应用于临床检验,为临床提供快速、准确、有效的检验数据成为检验医学发展的重大问题。目前 HBV 检测主要采用血清学方

法<sup>[7-8]</sup>。ELISA 检测的应用提高了检测速度,但一步法检测 HBsAg 等项目会因抗原浓度过高产生钩状效应而出现假阴性;二步法则导致检测时间延长,当抗原浓度过低时,会因敏感性低而漏检;溶血、脂血、黄疸会使 ELISA 检测产生灰区而出现假阳性,且钩状效应可引起假阴性或低值灰区。CLIA 采用的固相载体体积小,增大了反应面积,且标记物可循环利用,延长了发光时间,大大提高了敏感性,表面抗原检测敏感性可达到 0.05 ng/mL。故 CLIA 能较早检测出 HBsAg,确证 HBV 感染,缩短“窗口期”,同时 CLIA 减小了加样可能带来的误差,也减少了 ELISA 中酶标板孔不均一性所带来的误差,故 CLIA 提高了方法的可靠性。近年来,随着分子生物学技术迅速发展,采用微生物的基因型特征或基因标志对微生物进行检测及鉴定成为可能。FQ-PCR 作为一种新技术,具有快速、准确、灵敏等优点,能同时平行检测大量样本。但该技术耗时长、制备成本高、过程复杂、使用率低、核酸杂交反应的特异性与检测的敏感性不够理想,难以建立标准化数据库,这在一定程度上使 FQ-PCR 不能为实验室研究或临床普遍采用<sup>[9-10]</sup>。本研究提示,FQ-PCR 检测的总符合率略高于 ELISA 及 CLIA 检测。

CEA 是医院实验部门及临床医师最终选定检验方法应考虑的因素之一,也是重要的质控指标,它的目的不仅是节约检验费用,最重要的是使检验项目得到合理应用。将“合理、经济、有效”融为一体。CEA 得出的最佳检验方案不是简单的降低成本,而是合理应用医学资源。在临床检验、治疗过程中,用经济学方法拟订最佳检验方法,为临床合理选择检验项目提供客观依据。本研究中,CLIA 检测的成本/效果值低于 FQ-PCR 及 ELISA 检测。

总之,虽然 FQ-PCR 检测的符合率比 ELISA 及 CLIA 检

#### • 检验技术与方法 •

## 电化学发光免疫分析法与酶联免疫吸附、胶体金测定低浓度 HBsAg 的效果评价

吕学琴, 马雅静

(新疆兵团农三师图木舒克市中心血站, 新疆图木舒克 843900)

**摘要:** 目的 探讨分别采用增强化学发光酶联免疫分析(ECLIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)及免疫胶体金技术检测低浓度乙型肝炎表面抗原(HBsAg)的效果。方法 利用 ECLIA 法筛选 70 例 HBV DNA 检测阳性的标本, 将 50 例 HBsAg 临界值指数(COI)为 1~50 的临床标本作为观察组, 20 例 HBsAg COI<1 的临床标本作为阴性对照组。将 70 例临床标本分别再次用 ELISA 及免疫胶体金技术进行检测, 将 COI 控制品作为质控标准。结果 HBSAg $\geqslant$ 0.08 ng/mL 时, ECLIA 结果显示阳性(COI>1); HBSAg $\geqslant$ 0.7 ng/mL 时, ELISA 法结果显示阳性( $OD/CO > 2.1$ ); HBSAg $\geqslant$ 1.00 ng/mL 时, 免疫胶体金法结果显示阳性。低浓度 HBsAg 的 ECLIA、ELISA 及免疫胶体金技术的检出率分别为 100.00%、46.00% 及 32.00%, 自备临床 HBsAg 血清和标准质控品批内变异系数(CV)为 1.7%~6.1%, 批间 CV 为 2.4%~9.3%, 符合 ECLIA 检测的精密度要求。结论 检测低浓度 HBsAg 时, ECLIA 法是降低假阳性率的理想方法。

**关键词:** 肝炎表面抗原, 乙型; 酶联免疫吸附测定; 胶体金; 增强化学发光酶联免疫分析; 低浓度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.09.034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)09-1133-03

乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)的酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)结果是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染的重要诊断依据之一,持续性 HBsAg 低浓度状态可预示轻微及早期的肝脏损伤,其测定对乙型肝炎有协助诊断的作用<sup>[1]</sup>。目前,HBsAg 的检测方法有增强化学发光酶联免疫分析(en-hanced chemiluminescence enzyme immunoassay, ECLIA)、ELISA 及免疫胶体金技术等。当临床出现 HBsAg 低浓度标

测高,但是其成本也高,通过质控分析,CLIA 检测应用的效果最好。

#### 参考文献

- 单桂秋, 李秋生, 肖韶英. 检测乙型肝炎表面抗原的一步法试剂的钩状效应分析[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 25(2): 107-108.
- 冯仁丰. 分析灵敏度(检测限)[J]. 上海医学检验杂志, 2002, 17(3): 133-136.
- 周迎春, 陈辉, 关平, 等. 3 种方法测定低浓度乙型肝炎病毒表面抗原效果评价[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(11): 1070-1071.
- 王利娜, 姚智. 电化学发光免疫分析技术检测乙肝标志物的应用[J]. 天津医科大学学报, 2008, 14(1): 48-50.
- 董伟. 新型的电化学发光免疫分析及其临床应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2001, 8(1): 31-33.
- 陶洪群, 叶剑彪. ECLIA 和 ELISA 检测血清 HBsAg 的结果比较[J]. 江西医学检验, 2002, 20(6): 323-324.
- 陈慧英, 张锦锋, 岑小鹅, 等. ELISA 检测乙型肝炎 HBsAg 室内质控血清的试制和使用[J]. 上海医学检验杂志, 2010, 15(4): 203-204.
- Weber B, Bayer A, Kirch P, et al. Improved detection of hepatitis B virus surface antigen by a new rapid automated assay[J]. J Clin Microbiol, 1999, 37(8): 2639-2647.
- 郑晓兰, 王文敏, 王彩. 乙型肝炎产妇乳汁乙型肝炎病毒标志物检测与哺乳探讨[J]. 西南国防医药, 2005, 15(3): 296-297.
- 王利娜. 电化学发光免疫分析技术检测乙肝标志物的方法学评价及临床应用[D]. 天津: 天津医科大学, 2008.

(收稿日期: 2013-01-10)

本时,检测方法的敏感性尤为重要,由于影响检测结果的因素众多,浓度处于灰区附近的标本,其检测结果差异性大,临床重复性差。免疫胶体金技术虽然操作简便,但是结果特异性、敏感性低,临床漏检率居高不下,ECLIA 法具有检测速度快、敏感性高、重复性好、操作简便的优点,对提高临床有关疾病的诊断速率有重要意义。

#### 1 资料与方法

##### 1.1 一般资料 利用 ECLIA 法筛选 HBV DNA 检测阳性的