

• 检验仪器与试剂评价 •

4 种检测系统检测 HBsAg 分析灵敏度比较

卢 培,黄秋芳,卫晓青
(上海市第八人民医院检验科 200235)

摘 要:目的 评价 4 种不同的检测系统检测乙型肝炎表面抗原(HBsAg)的分析灵敏度。方法 用雅培化学发光免疫分析系统(A)、罗氏电化学发光免疫分析系统(B)、博阳光激化学发光免疫分析系统(C)、科华酶联免疫吸附试验试剂(D)和 BioTek 酶标仪(ELX-800)等 4 种检测系统分别测定用健康人血清配制的 WHO HBsAg 系列浓度标准品和 140 例临床弱阳性样本,分析比较各检测系统的分析灵敏度,并对结果进行分析。结果 A、B、C、D 4 种检测系统 cutoff 值所对应的 WHO 参考品的浓度值分别为 0.028、0.044、0.187、0.485 IU/mL。结论 4 种检测系统的分析灵敏度排序为 A>B>C>D。
关键词:肝炎表面抗原,乙型; 化学发光测定法; 酶联免疫吸附测定
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.01.033 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2014)01-0080-03

Comparison on hepatitis B surface antigen sensitivity determined by four immunoassay systems

Lu Pei, Huang Qiu fang, Wei Xiaoqing

(Department of Clinical Laboratory, the Eighth People's Hospital, Shanghai 200235, China)

Abstract: **Objective** To compare the analytical sensitivities of hepatitis B surface antigen(HBsAg) determined by four different immunoassay systems. **Methods** WHO HBsAg series concentration standard preparations prepared by healthy human serum 140 HBsAg weakly positive samples were measured by four immunoassay systems(a direct chemiluminescence assay-Abbott, system B for electrochemiluminescence assay-Roche, system C light initiated chemiluminescence assay-beyond, D enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) reader-BioTek ELX-800 and reagent based ELISA-KHB). The analytical sensitivities of each detection system were analysed and compared. **Results** The corresponding WHO standard preparations concentration values of the cutoff values determined with A、B、C and D detection systems were 0.028, 0.044, 0.187 and 0.485 IU/mL respectively. **Conclusion** The order of the analytical sensitivities determined by four immunoassay systems as follows: A>B>C>D.

Key words: hepatitis B surface antigens; chemiluminescent measurements; enzyme-linked immunosorbent assay

乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)是乙型肝炎病毒感染^[1]的最主要病原标志和直接证据之一,也是乙型肝炎的筛查及治疗中最重要的血清标志物之一^[2-5]。低水平 HBsAg 的漏检会给临床输血及手术安全带来隐患,并会影响到这些乙型肝炎病毒感染者的及时诊治。本文采用 4 种不同的检测系统:(A)直接化学发光(雅培);(B)电化学发光(罗氏);(C)光激化学发光(博阳);(D)酶联免疫(科华)分别测定 HBsAg WHO 参考品(NIBSC 00/588)及 140 例弱阳性样本,分析比较进口和国产检测系统的分析灵敏度。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2011 年 3 月 2 日至 2012 年 7 月 31 日,上海市第八人民医院门诊及住院患者中筛选出的弱阳性 HBsAg 血清(雅培测值小于或等于 5 IU/mL),并经中和试验确认的血清样本共 140 例,其中男 84 例,女 56 例,年龄 21~76 岁,待测标本放置-70℃保存。

1.2 仪器 Abbott Architect i2000 化学发光免疫分析仪,使用 Architect HBsAg 校准品和质控品; Roche cobas e601 电化学发光免疫分析仪,使用 Elecsys HBsAg II quant Cal1、Cal2 进行定标,质控使用 Elecsys PreciControl HBsAg II; 博阳 LI-CA HT 和 SP 化学发光免疫分析仪,使用博阳 HBsAg 校准品和质控品; BioTek 酶标仪 ELX-80 和科华酶联免疫吸附试验试剂,使用上海市临床检验中心提供的室内质控品。各仪器均处于正常工作状态。

1.3 试剂 各检测试剂盒的批号及阳性判定标准见表 1。

表 1 4 种检测试剂盒的批号阳性判定标准

项目	雅培定量	罗氏定量	博阳定量	科华定性
试剂批号	13408LF00	166903	A1018	201206031
阳性判定标准	≥0.05 IU/mL	≥0.05 IU/mL	≥0.2 ng/mL	S/CO≥1

1.4 方法

1.4.1 WHO HBsAg 系列浓度参考品配制 采用健康人血清配制 WHO HBsAg 冻干粉 33.00 IU/mL(NIBSC 00/588),稀释系列浓度参考品:0、0.05、0.11、0.54、2.11、8.14 和 33.41 IU/mL。本研究依据 ISO15189《医学实验室质量和能力认可》的要求^[6],参考美国临床和实验室标准化协会(CLSI)发布的 EP6-A 文件^[7],采用倍比稀释,在已知线性范围内选择 7 个浓度水平,每个浓度测 3 次。以 WHO 浓度为 X 轴,各检测系统的测定浓度为 Y 轴,作图进行回归分析。

1.4.2 检测方法 各检测系统处于正常工作状态和质控在控的情况下,参考各检测系统试剂盒的说明书进行检测操作,分别测定 WHO HBsAg 系列浓度参考品及 140 例弱阳性血清样本。

2 结 果

2.1 4 种检测系统测定 WHO HBsAg 系列参考品结果 A、B、C、D 4 种检测系统测定 WHO HBsAg(NIBSC 00/588)系列浓度参考品,以 WHO 浓度为 X 轴,各检测系统试剂的测定浓

度为 Y 轴,曲线回归作图,见图 1~4。

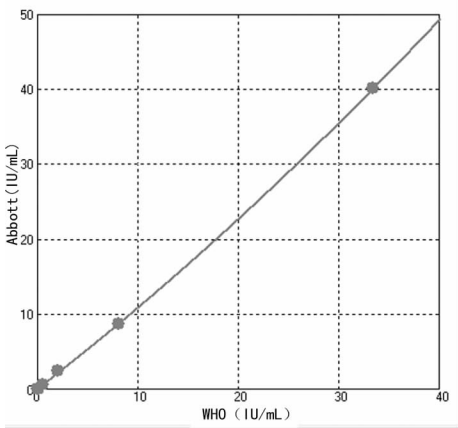


图 1 雅培测定 WHO 参考品曲线回归图

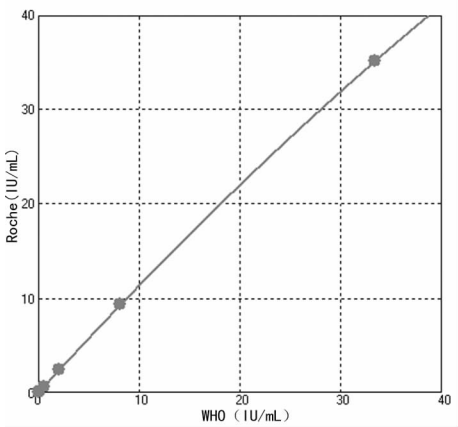


图 2 罗氏测定 WHO 参考品曲线回归图

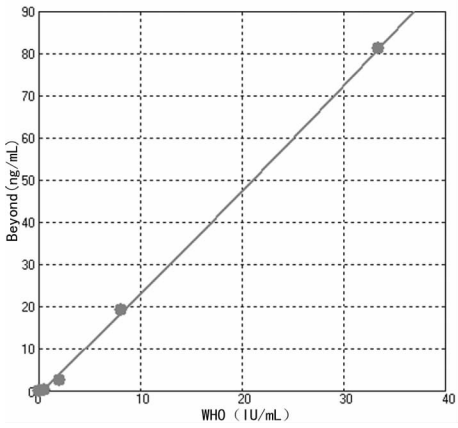


图 3 博阳测定 WHO 参考品曲线回归图

根据各检测系统测定 WHO 参考品的结果做曲线回归分析,分析计算得到 A、B、C、D 4 种检测系统 cutoff 值所对应的 WHO 参考浓度值,结果见表 2。

表 2 4 种检测系统 cutoff 值对应的 WHO 参考浓度值				
项目	A	B	C	D
cutoff 点值	0.05 IU/mL	0.05 IU/mL	0.2 ng/mL	S/CO=1
对应 WHO 值	0.028 IU/mL	0.044 IU/mL	0.187 IU/mL	0.485 IU/mL

4 种检测系统 cutoff 值所对应的 WHO 参考值依次升高,即各检测系统的灵敏度排序依次为:A>B>C>D;所涉及的 2

种进口检测系统的灵敏度高于所涉及的 2 种国产检测系统的灵敏度,国产 HBsAg 光激化学发光检测系统的灵敏度介于进口电化学发光检测系统与国产酶联免疫检测系统之间。

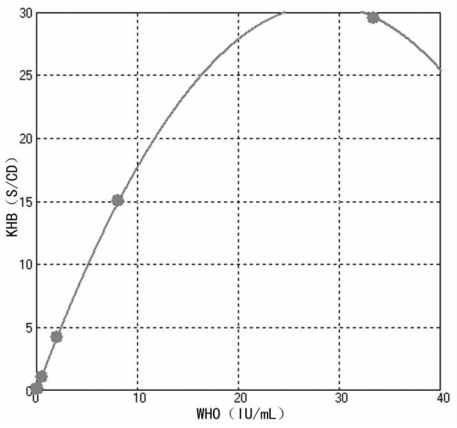


图 4 科华测定 WHO 参考品曲线回归图

2.2 4 种检测系统测定 140 例弱阳性样本结果 140 例经 HBsAg 确认试剂盒确认的弱阳性样本于一 70 ℃ 取出,4 种检测系统分别测定弱阳性样本,以冻前雅培测定值对弱阳样本进行分组,比较样本解冻后 4 种检测系统检出阳性样本的数量,结果见图 5。

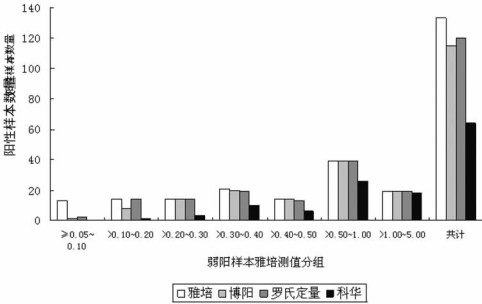


图 5 4 种检测系统测定不同区段弱阳样本的阳性检出数

由图 5 可看出,随着弱阳性样本的浓度升高,4 种检测系统阳性检出数趋于一致;在低浓度范围,进口检测系统的阳性检出数明显多于国产检测系统的阳性检出数,但是在极低浓度 $\geq 0.05 \sim 0.1$ IU/mL,雅培定量和罗氏定量阳性检出数也有很大差异;在大于 0.1~1.0 IU/mL 范围内,国产检测系统阳性检出数在逐渐升高,尤其是博阳光激化学发光定量检测系统,在大于 0.2~1 IU/mL,同雅培定量和罗氏定量阳性检出数接近。

同时对 4 种检测系统的阳性检出率进行列表统计,结果见表 3。根据表 3 可看出,博阳光激化学发光定量检测系统在大于 0.2 IU/mL 的样本的阳性检出率上同进口检测系统相当。

冻前雅培测定 (IU/mL)	冻前 阳性数 (n)	解冻后阳性检出率(%)			
		A	B	C	D
		雅培定量	罗氏定量	博阳定量	科华定性
$\geq 0.05 \sim 0.10$	16	81.25	12.50	6.25	0.00
$> 0.10 \sim 0.20$	16	87.50	87.50	50.00	6.25
$> 0.20 \sim 0.30$	14	100.00	100.00	100.00	21.43
$> 0.30 \sim 0.40$	22	95.45	86.36	90.91	45.45

续表 3 4 种检测系统试剂测定不同区段弱阳样本阳性率

冻前雅培测值 (IU/mL)	冻前 阳性数 (n)	解冻后阳性检出率(%)			
		A	B	C	D
		雅培定量	罗氏定量	博阳定量	科华定性
>0.40~0.50	14	100.00	92.86	100.00	42.86
>0.50~1.00	39	100.00	100.00	100.00	66.67
>1.00~5.00	19	100.00	100.00	100.00	94.74
共计	140	95.71	85.71	82.14	45.71

3 讨 论

我国的 HBV 感染者和肝癌患者约占全球的四分之一^[8]。因此, HBsAg 检测系统的性能在样本初筛及抗病毒治疗过程中显得尤为重要。本次研究分别采用 WHO 参考品及临床弱阳性样本考察了 4 种检测系统的 HBsAg 灵敏度,并对国产及进口检测系统的 HBsAg 灵敏度差异进行了评价。

本次研究的 4 种检测系统分别为:直接化学发光、电化学发光、光激化学发光和酶联免疫吸附试验。4 种分析系统以酶联免疫吸附试验最为常见,该法为 20 世纪 60、70 年代发展的一种以酶为标记物的免疫分析法。其余 3 种为化学发光分析,产生于 20 世纪的 90 年代:直接化学发光免疫分析^[9-10]是以吖啶酯为发光标记物,磁珠进行分离的免疫分析法,以雅培为代表,其生产的乙型肝炎检测系统(HBV-M)被公认为业界的金标准;电化学发光免疫分析^[11-13]是以三联吡啶钌为发光标记物,将电极表面引发的特异性化学发光反应同免疫测定相结合的分析方法,以罗氏为代表;光激化学发光是继发光通道免疫分析技术^[14-18](luminescent oxygen channeling immunoassay, LOCI)问世之后,在国内建立、发展并应用于临床检测的一种新型检测技术。该技术以其独特的检测方法,实现了均相、一步、免洗和高通量检测,在保持高灵敏度、高特异性的同时彻底避免了清洗和分离所带来的误差。

根据 WHO 参考品及临床弱阳性样本的检测结果,可以看出本文所涉及的进口检测系统的灵敏度普遍高于国产检测系统的灵敏度。但是两个进口检测系统在极低浓度范围(0.05~0.10 IU/mL)检测弱阳性样本也有差异,即使是业界的金标准试剂在极低浓度范围(0.05~0.10 IU/mL)检测同一份样本,在冻前检测和解冻后检测也会出现差异,虽然这差异可能是由于冻融造成了低浓度样本中 HBsAg 的降解或构象改变,但是也说明了在极低浓度范围的样本检测本身就会存在较大误差。而浓度大于 0.2 IU/mL 的样本,国产光激化学发光检测系统的灵敏度同进口检测系统相当。因此,通过本次对国产发光和酶标检测系统同进口发光检测系统的一个对比评估,看到了国产检测系统同进口检测系统的异同:酶标检测系统灵敏度远低于发光检测系统,国产的光激化学发光检测系统的灵敏度比进口检测系统低些,但是又远优于国产酶标检测系统,可以广泛用于临床。建议广大临床工作者应该根据临床需要选择合适的检测系统。

参考文献

[1] 王蕾,刘华,王雯静.低水平乙型肝炎表面抗原的检测及其临床价值评估[J].微生物与感染,2009,3(1):9-12.
[2] Perrillo RP. Hepatitis B surface antigen quantification as a cur-

rent-day paradox;obtaining the gold in the face of diminishing returns[J]. Hepatology,2009,49(4):1063-1065.
[3] Brunetto MR, Moriconi F, Bonino F, et al. Hepatitis B virus surface antigen levels;a guide to sustained response to peginterferon alfa-2a in HBeAg-negative chronic hepatitis B[J]. Hepatology, 2009,49(4):1141-1150.
[4] Chan HL, Wong VW, Tse AM, et al. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response[J]. Clin Gastroenterol Hepatol,2007, 5(12):1462-1468.
[5] Gish RG, Lau DT, Schmid P, et al. A pilot study of extended duration peginterferon alfa-2a for patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B[J]. Am J Gastroenterology, 2007, 102(12):2718-2723.
[6] 中国国家实验室国家认可委员会. ISO15189 医学实验室质量和能力认可的要求[S]. 北京:中国国家实验室国家认可委员会, 2007.
[7] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP6-A evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures;a statistical approach;approved guideline[S]. Wayne,PA:CLSI,2004.
[8] 薄磊. 乙肝五项定量与 HBV-DNA 检测对乙型肝炎患者治疗后病情监控的相关性分析[J]. 中国医学检验杂志,2009,10(4):222-223.
[9] Wilson DH, Groskoof W, Hsu S, et al. Rapid, automated assay for progesterone on the ABBOTT AXSYM™ analyzer[J]. Clin Chem,2008,44(1):86-91.
[10] 陈文虎,楼滨. 化学发光微粒子免疫分析技术测定 HBsAg 浓度及与抗-HBs、HBeAg 和 HBV DNA 的关系[J]. 中华临床感染病杂志,2009,2(3):143-146.
[11] Hoyle NR, Eckert B, Kraiss S. Electrochemiluminescence;leading edge technology for automated immunoassay analysis detection[J]. Clin Chem,2006,42(8):1575-1578.
[12] Shultz LL, Nieman TA. Stopped-flow analysis of Ru(bpy)3(3+) chemiluminescence reactions[J]. J Biol Chem,2007, 282(2):85-90.
[13] 郭俭,陈家旭. 电化学发光免疫分析方法及其应用[J]. 国际医学寄生虫病杂志,2011,38(2):85-88.
[14] Ullman EF, Kirakossian H, Singh S, et al. Luminescent oxygen channeling immunoassay;Measurement of particle binding kinetics by chemiluminescence [J]. Proc Natl Acad Sci USA,2004, 91(6):5426-5430.
[15] Dafforn A, Kirakossian H, Lao K. Miniaturization of the luminescent oxygen channeling immunoassay(LOCI™) for use in multiplex array formats and other biochips[J]. Clin Chem, 2000, 46(9):1495-1497.
[16] Poulsen F, Jensen KB. A luminescent oxygen channeling immunoassay for the determination of insulin in human plasma[J]. J Biomol Screen,2007,12(2):240-247.
[17] Szekeres PG, Leong K, Day TA, et al. Development of homogeneous 384-well high-throughput screening assays for Abeta1-40 and Abeta 1-42 using alpha screen technology[J]. J Biomol Screen, 2008,13(2):101-111.
[18] 高云朝. 光激化学发光技术研究进展及应用[J]. 中华检验医学杂志,2009,32(4):474-476.