

## • 检验技术与方法 •

## 不同方法检测乙型肝炎病毒表面抗原的结果分析

贺江

(泸州市中医医院检验科,四川泸州 646000)

**摘要:**目的 分析金标免疫层析检测技术(GICA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)和时间分辨免疫荧光分析(TRFIA)检测乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)的结果。方法 采用 GICA、ELISA 及 TRFIA 对 11 058 例标本进行 HBsAg 检测。结果 GICA、ELISA 及 TRFIA 法检测 11 058 例标本 HBsAg 的阳性率分别为 15.52%、15.64% 及 15.95%，两两比较，差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。TRFIA 定量检测为 0.2~<2.0 ng/mL 时，GICA、ELISA 的诊断符合率分别为 25.0%、75.0%。结论 检测 HBsAg 低浓度样本时，GICA 和 ELISA 的诊断符合率降低。

**关键词:**肝炎表面抗原,乙型; 酶联免疫吸附测定; 金标免疫层析检测技术; 时间分辨免疫荧光分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.09.032

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)09-1164-02

## An analysis on results of different detection methods for hepatitis B virus surface antigen

He Jiang

(Department of Clinical Laboratory, Luzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Luzhou, Sichuan 646000, China)

**Abstract: Objective** To analyze the results of gold labeled immunochromatographic assay(GICA), enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) and time resolved fluoroimmunoassay(TRFIA) detection for hepatitis B virus surface antigen(HBsAg).

**Methods** GICA, ELISA and TRFIA were employed to conduct the HBsAg testing in 11 058 specimens. **Results** The HBsAg positive rates of GICA, ELISA and TRFIA detection in 11,058 specimens were 15.52%, 15.64% and 15.95%, respectively, with no statistically significant difference when pairwise comparison performed( $P > 0.05$ ). In specimens which results of TRFIA quantitative detection was 0.2~<2.0 ng/mL, the diagnostic compliance rates of GICA, ELISA were 25.0% and 75.0%, respectively. **Conclusion** The diagnostic compliance rates of GICA, ELISA detection in specimens with low concentration HBsAg are deceased.

**Key words:** hepatitis B surface antigens; enzyme-linked immunosorbent assay; gold labeled immunochromatographic assay; time resolved fluoroimmunoassay

目前国内常用于检测乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)血清标志物的免疫学方法主要有金标免疫层析检测技术(gold labeled immunochromatographic assay, GICA)、酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)和时间分辨免疫荧光分析(time resolved fluoroimmunoassay, TRFIA)。TRFIA 法检测 HBV 表面抗原(HBV surface antigen, HBsAg)因方法敏感性高于 ELISA 法而被越来越多的医院所采用, GICA 法则因操作简便在基层医院较普遍使用。由于试剂的敏感性、特异性差异,使不同方法检测 HBsAg 滴度较低的标本结果亦有所差异,可能造成误诊和漏诊<sup>[1]</sup>。本研究采用这 3 种方法对 HBV 血清标志物进行检测,并对 HBsAg 检测结果进行分析比较,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2012 年 1 月至 2013 年 4 月于本院接受 HBV 血清标志物检测的门诊及住院患者的标本 11 058 例,采血当天即进行 TRFIA 和 GICA 检测,1 周内完成 ELISA 检测;标本无黄疸、脂血、溶血现象,分离血清的标本于 2~8 ℃ 保存。

**1.2 主要试剂与仪器** ELISA 系统包括酶标仪、HBV 诊断试剂盒(5 项)、洗板机、操作程序及数据处理软件,购自上海科华生物工程股份有限公司;TRFIA 系统包括 EFFICUTA 型全自动样本前处理系统、ANYTEST 时间分辨荧光检测仪、HBsAg 诊断试剂盒(配套)及数据处理软件,购自苏州新波生物技

术有限公司;GICA 试纸条为广州万孚生物技术股份有限公司产品;质控品购自卫生部临床检验中心。所有的仪器和检测项目操作均按本室制定标准操作程序(standard operational procedure, SOP)文件执行,所有检测项目室内质控在控。

**1.3 检测方法** 所有血清样本均按制定的 SOP 文件分别用 GICA、ELISA 及 TRFIA 检测,标准曲线制作和结果判定均按说明书进行,每批样本检测同时检测质控品。HBsAg 定量以大于 0.2 ng/mL 为判断阳性的标准,<0.2 ng/mL 为阴性;ELISA 法的临界(cut off, CO)值按试剂盒操作说明书设置并进行验证。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,计数资料用率表示,率的比较采用  $\chi^2$  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

GICA、ELISA 及 TRFIA 检测 11 058 例标本 HBsAg 的阳性率分别为 15.52%、15.64% 及 15.95%,两两比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 GICA、ELISA 及 TRFIA 检测 11 058 例标本 HBsAg 的结果比较

检测方法	阳性[n(%)]	阴性[n(%)]
GICA	1 716(15.52)	9 342(84.48)

续表 1 GICA、ELISA 及 TRFIA 检测 11 058 例标本 HBsAg 的结果比较

检测方法	阳性[n(%)]	阴性[n(%)]
ELISA	1 729(15.64)	9 329(88.36)
TRFIA	1 764(15.95)	9 294(84.05)

GICA、ELISA 及 TRFIA 检测不同 HBsAg 浓度的结果,见表 2。TRFIA 定量检测为  $0.2 \sim < 2.0 \text{ ng/mL}$  时,比较 GICA 和 ELISA 方法的检测结果,见表 3。

表 2 GICA、ELISA 及 TRFIA 检测不同 HBsAg 浓度的检测结果

检测方法	$<0.2 \text{ ng/mL}$	$0.2 \sim <2.0 \text{ ng/mL}$	$\geq 2.0 \text{ ng/mL}$
GICA	9 342(84.48)	16(0.15)*	1 700(15.37)
ELISA	9 329(84.36)	48(0.44)*	1 681(15.20)
TRFIA	9 294(84.05)	64(0.58)	1 700(15.37)

\*:  $P < 0.05$ , 与 TRFIA 法检测的相应浓度比较。

表 3 GICA、ELISA 对低浓度 HBsAg 标本的检测结果

检测方法	阳性(n)	阴性(n)	敏感性(%)	符合率(%)	$\chi^2$	P
GICA	16	48	25.0	25.0	31.750	$<0.001$
ELISA	48	16	75.0	75.0		

### 3 讨 论

HBV 感染是中国最常见的感染性疾病之一,应用免疫技术测定 HBV 特异性抗原、抗体是 HBV 感染诊断的主要手段。HBV 低水平感染是急性乙肝恢复后、慢性乙肝自然阴转或经有效抗病毒治疗后,HBsAg 消失,甚至已产生抗 HBV 表面抗体(anti-HBV surface antibody, HBsAb),但血液和肝组织中仍可检出 HBV DNA 的情况,又称 HBsAg 阴性的 HBV 感染<sup>[2]</sup>。随着免疫学技术的不断发展,抗原、抗体检测敏感性明显提高,使低水平 HBV 感染的检出成为可能,这对临床诊断及流行病学研究具有重要意义。目前临床常用的 3 种免疫学技术包括 GICA、ELISA 及 TRFIA,它们在临床应用上各有优、缺点,GICA 是用胶体金代替酶标记,特异性强、敏感性高、简便快速,无需特殊仪器设备,可单份标本进行操作,在临床广泛应用,能满足急诊检验的需要,但由于其敏感性低于 ELISA 法,加上成本高,其应用受到一定的限制;ELISA 的优点在于它的操作简单,适用于大批量标本的检测,且成本低廉,其敏感性较好;TRFIA 是一个敏感性高、特异性强的免疫检测技术,它的基本原理是延迟检测寿命较长的特异性激发荧光,以排除非特异性及背景荧光的干扰,其敏感性、特异性均较好,检测结果可以保存较长时间,由于可进行定量分析,这对药物疗效观察和病情监测具有重要意义。

本研究运用 GICA、ELISA 及 TRFIA 法同时检测 11 058 例标本,它们检测 HBsAg 的阳性率分别为 15.52%、15.64% 及 15.95%,3 种方法间的差异无统计学意义。TRFIA 定量检测为  $0.2 \sim < 2.0 \text{ ng/mL}$  时,GICA、ELISA 的符合率分别为 25.0%、75.0%,引起这种差异的原因主要是由于 3 种方法的

敏感性不同,GICA 敏感性较 ELISA 低,据文献报道,HBsAg 浓度低于  $10.0 \text{ ng/mL}$  时,其阳性率仅为 25.8%,敏感性仅为 5.1%<sup>[3]</sup>;进口 ELISA 试剂盒的敏感性为  $0.15 \text{ ng/mL}$ ,国产试剂盒为  $0.5 \text{ ng/mL}$ <sup>[4]</sup>,其敏感性较 TRFIA 低,不能完全满足临床的检测需要;TRFIA 敏感性与特异度均较高,能够检出低水平的 HBsAg。

总之,3 种方法检测低浓度 HBsAg 标本有着明显的差异,主要有下 2 种情况<sup>[5]</sup>:(1)GICA 检测 HBsAg 弱阳性样本时造成假阴性或假阳性;(2)GICA 和 ELISA 检测结果为阴性而 TRFIA 检测结果为阳性。GICA 敏感性低,对于低浓度 HBsAg 感染者极易造成漏检,经 GICA 测定 HBsAg 为阴性或可疑的标本,最好用 ELISA 进行复检,必要时需要用 TRFIA 复查;ELISA 是目前最常用的方法,可满足临床的基本需求<sup>[6]</sup>,但由于方法学上的某些限制,还是会有一些低浓度 HBsAg 患者得不到准确检测或漏检,当检测乙肝 5 项结果为少见模式或单独出现 HBeAb 和 HBcAb 阳性时,最好使用 TRFIA 复查,以免造成低浓度 HBsAg 的漏检;TRFIA 敏感性与特异性较高,有助于临床低浓度 HBsAg 的检出,但由于仪器、试剂成本较高,其在国内的普及应用受到限制。随着试剂成本的降低和检测技术的不断发展,检测 HBsAg 的方法必将被 TRFIA 或化学发光等敏感性更高的检测方法所替代<sup>[7]</sup>。为确保检验结果的准确及医疗安全,经 GICA 初筛测定为 HBsAg 阴性或可疑的标本,仍需用 ELISA 进行复检<sup>[8-10]</sup>,尤其是可疑标本,必要时需用 TRFIA 复查,以免造成漏检。

### 参考文献

- [1] 郝丽萍.乙型肝炎表面抗原弱阳性样本的三种测定方法比较[J].山西医药杂志,2010,39(19):989-990.
- [2] 卫晓青,黄秋芳,戴悦,等.低水平 HBsAg3 种方法检测结果比较[J].检验医学与临床,2013,10(3):283-284.
- [3] 潘丽.金标法与时间分辨法检测乙肝表面抗原结果分析[J].现代诊断与治疗,2012,23(10):1747-1748.
- [4] 庄岳鹏,庄慧萍,吴双,等.影响乙肝表面抗原检测结果的因素及对策[J].标记免疫分析与临床,2012,19(6):380-381.
- [5] 迟婉利,孔祥民.ELISA 检测乙肝病毒表面抗原假阳性原因分析[J].中国误诊学杂志,2011,11(9):2050.
- [6] 康炜,辛娜,尤涛,等.ROC 曲线对 ELISA 法检测 HBsAg 阳性判断值的确定及应用评价[J].现代检验医学杂志,2010,25(6):54-55.
- [7] 董剑.不同方法检测乙型肝炎血清标志物结果评价分析[J].国际检验医学杂志,2012,33(19):2365-2366.
- [8] 李琴,孙桂珍,魏玉香,等.前 S1 蛋白与病毒 DNA 和核心抗原对乙型肝炎病毒复制诊断的对比[J].中华肝脏病杂志,2004,12(3):134-136.
- [9] 吴键民.免疫学检验理论与临床[M].北京:人民卫生出版社,2003.
- [10] 李秀梅,刘秋霞,阎泽君,等.ELISA 法检测乙肝表面抗原出现假阳性结果分析[J].慢性病学杂志,2010,12(9):1037-1038.

(收稿日期:2014-01-04)