

• 检验技术与方法 •

3 种 HBsAg 检测方法的比较

王海刚¹, 丁磊¹, 潘航¹, 韩娟¹, 任传路¹, 韩佳^{2△}
(1. 中国人民解放军第一〇〇医院检验科, 江苏苏州 215007;
2. 苏州工业园区菱葑医院斜塘分院检验科, 江苏苏州 215009)

摘要:目的 通过金标法、酶联免疫吸附测定(ELISA)法和光激化学发光(LiCA)法 3 种方法检测 HBsAg, 评价 3 种检测方法在临床上的适用性。**方法** 选取 1 000 例标本, 每一例标本都采用 3 种方法进行检测, 筛查可疑的 HBsAg 阳性标本进行复检, 鉴别假阴性、假阳性。**结果** 3 种检测方法中, LiCA 法最为敏感和特异, 其次是 ELISA 法, 金标法的灵敏度虽然略低于两者, 但金标法最大的特点就是简单、快速, 其灵敏度可达 1 ng/mL, 适合急诊或术前患者的初步筛查, 能满足临床快速检测的需求。ELISA 法由于操作步骤多易造成假阴性、假阳性, 但是其灵敏度高、特异性强、价格低廉, 更易被大众所接受, 适合大批量样本检测。LiCA 法虽然价格贵, 但其特有的高稳定性、高准确性、易操作性能更好地反映患者体内 HBV 复制状况以及抗病毒药物的疗效。**结论** 临床应根据需求选择适宜的 HBsAg 检测方法。

关键词: 乙肝表面抗原; 胶体金免疫层析法; 酶联免疫吸附测定; 光激化学发光法
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 12. 039 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2014)12-1614-02

Comparison of three methods for HBsAg detection

Wang Haigang¹, Ding Lei¹, Pan Hang¹, Han Juan¹, Ren Chuanlu¹, Han Jia^{2△}
(1. Department of Clinical Laboratory, the 100th Hospital of PLA, Suzhou, Jiangsu 215007, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Xietang Branch, Loufeng Hospital of Suzhou Industrial Park, Suzhou, Jiangsu 215009, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the clinical applicability of Gold Lebel, ELISA and LiCA, through detecting HBsAg by all the three methods. **Methods** A total of 1 000 samples were selected, and each sample was detected HBsAg by using three methods. Each positive sample was detected repeatedly to identify false negative and false positive. **Results** In all the three methods, the most sensitive and specific method was LiCA, next was ELISA, and the last was Gold Lebel. But Gold Lebel method was more simple and rapid for preliminary screening for emergency or preoperative patients with its sensibility of 1 ng/mL. ELISA had too many operating steps to bring false negative and false positive, while its high sensitivity and specificity and low price might be accepted by commonage and fit for mass samples. LiCA's especially high stability, accuracy, easily operating could better reflex HBV replication and therapy effects of antiviral drugs in spite of its slight cost. **Conclusion** The suitable HBsAg detection method should be chosen according to clinical demands.

Key words: HBsAg; colloidal gold immunochromatography assay; ELISA; LiCA

乙型肝炎(简称乙肝)在我国的发病率很高,是当前严重危害人们身体健康的传染病之一。乙型肝炎表面抗原(HBsAg)是 HBV 的感染指标之一,因此,HBsAg 检查往往是体检的项目之一,对乙肝的预防和治疗具有重要的意义^[1]。目前检测乙肝 HBsAg 的方法有很多,有化学发光微粒子免疫分析法(CMIA)、放射免疫法(RIA)、微粒子酶免疫分析法(MEIA)、聚合酶链反应法(PCR)、荧光定量聚合酶链反应法(FQ-PCR)等。本院检测乙肝 HBsAg 采用了金标法、ELISA 法和光激化学发光法(LiCA)法 3 种方法,酶联免疫吸附试验(ELISA)法是目前我国检测乙肝 HBsAg 最普及的方法之一^[2],ELISA 法在临床应用的时间较早,金标法是近年建立起来的免疫学检测方法^[3],LiCA 法是以纳米级高分子微粒为基础的新一代化学发光技术^[4],本文就对这 3 种检测 HBsAg 的方法进行灵敏度的比对及方法学的评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 1 000 例检测 HBsAg 的患者,各采集无溶血、无脂浊的静脉血标本 3~5 mL,室温静置 30 min 后,4 000 r/min 离心 5 min,充分分离血清待检。

1.2 仪器与试剂 乙型肝炎五项胶体金快速检测板由厦门市波生生物技术由限公司提供,HBsAg 试纸条由杭州艾康生物

有限公司提供;ELISA 法检测试剂由厦门英科新创科技有限公司提供;LiCA SP 全自动加样器和 LiCA HT 高通量分析仪及配套乙肝两对半检测试剂盒由上海博阳生物科技上海有限公司提供;KDC-1044 低速离心机, PW-812 全自动酶标洗板机, KHB ST-360 酶标仪。

1.3 方法 所有标本同时用金标法、ELISA 法和 LiCA 光激化学发光法 3 种方法对 HBsAg 进行测定,对任何 1 种方法筛查出的阳性标本均进行复检,确定真阳性标本,操作过程和结果判断均严格按照操作规程及试验说明进行。

2 结果

2.1 采用金标法检出 77 例 HBsAg 阳性标本,ELISA 法检出 79 例 HBsAg 阳性标本,而 LiCA 法检出 81 例 HBsAg 阳性标本,3 种不同的方法检测均为阳性者 75 例,见表 1。

表 1 3 种方法检测 HBsAg 的结果

方法	阳性例数	假阳性例数	假阴性例数	真阳性率(%)
	(n)	(n)	(n)	
金标法	77	0	4	95.06
ELISA 法	79	1	3	96.30
LiCA 法	81	0	0	100.00

作者简介:王海刚,男,检验技师,主要从事免疫学研究。△ 通讯作者,E-mail:396140823@qq.com。

2.2 在所检标本中,有 1 例标本采用金标法检测为强阳性, LiCA 法检测为阳性,但 ELISA 法检测为阴性,用乙肝五项胶体金快速检测板复查显示 HBsAg 强阳性、HBeAg 阳性、HBcAb 阳性,为传染性强的“大三阳”标本,后采用 ELISA 法双孔复检,经 10 倍稀释血清的吸光度(A)值均超过 1.000,分析导致 ELISA 法初检假阴性的可能是因为标本血清中抗原量较大,远远超过抗原抗体反应的最适浓度范围,考虑为钩状(HOOK)效应所致。

2.3 有 1 例标本,经金标法、LiCA 法检测均为阴性,但 ELISA 法检测为弱阳性(A 值为 0.1~0.4),后经 ELISA 法双孔复检为阴性。分析导致 ELISA 法初检阳性的原因可能是操作过程中:(1)加样污染,将阳性标本溅到其周围微孔中造成假阳性;(2)加酶污染,将酶滴到微孔之间的板架上,洗板、扣板时未能完全去除,加显色剂时再将其带入微孔中形成阳性反应;(3)微孔中存在纤维蛋白块可能使洗板机吸针孔堵塞,致使无法将酶洗净,严重时污染周围微孔^[5]。

2.4 有 2 例标本经 ELISA 法检测为弱阳性(A 值为 0.1~0.4)、LiCA 法检测为弱阳性(检测值介于 0.5~1 ng/mL 之间),而金标法检测为阴性。分析导致金标法阴性的主要原因是由于金标法灵敏度低,当 HBsAg $\geq$ 1 ng/mL 时才可能检出,而 ELISA 试剂对于 HBsAg $\leq$ 1 ng/mL 的部分样本也可以检出^[6],博阳试剂商提供的 HBsAg 的检测下限为 0.2 ng/mL,两者的灵敏度都比金标法要高。

2.5 有 2 例标本经金标法和 ELISA 法检测均为阴性,而 LiCA 法检测为弱阳性,后经 LiCA 法双孔复检仍显示弱阳性,检出值均介于 0.2~0.5 ng/mL 之间。分析主要原因是由于 LiCA 法的灵敏度要比金标法、ELISA 法高。

3 讨 论

金标法具有简便、快速、特异性高、试剂稳定,无需检测仪器的特点,对抗原量过大的标本未出现“钩状效应”现象等优点,为了缩短患者的等待时间,减少术中交叉感染的概率,满足急诊、内窥镜检查、术前患者 HBsAg 的初步筛查,金标法快速筛查无疑是目前最好的选择,但其灵敏度低于 ELISA 法和 LiCA 法,易造成低浓度 HBsAg 标本的漏检,不适合大批量标本的检测^[7]。

ELISA 法是临床上传统的 HBV 感染诊断方法,由于其操作步骤多受人为因素的影响常有假阳性、假阴性出现,酶标仪检测的数值也不能客观反映 HBsAg 的真实浓度,不适合 HBsAg 的定量检测^[8],但该方法操作简单、灵敏度高且成本低廉,只要严格把控操作的每一个环节,还是非常适合大批量样本的

检测的^[9]。

LiCA 法为全自动系统,由于使用了全自动仪器及配套试剂,使人为影响因素减至最低,提高了方法的稳定性和结果的可重复性,使批内差异与批间差异都较小。LiCA 技术采用了纳米级颗粒,这不仅大大增加了生物分子的包被面积,同时借助于链霉亲和素-生物素分子连接放大系统,使单位体积反应体系中含有更高浓度的生物分子,为实现超高灵敏度、减少样本和试剂用量奠定了基础^[10],并且这种纳米颗粒在液相中保持稳定的悬浮状态,实现了均相、免清洗检测^[11]。LiCA 法具有高灵敏度、高通量、高稳定性等特点,重复性好、结果可靠,适合 HBsAg 的定量检测,能够较好地满足临床需求^[12]。

参考文献

- [1] 施纪文,徐简华,温惠萍. ELISA 法和胶体金免疫层析法检测乙肝表面抗原的比较[J]. 现代检验医学杂志,2005,20(5):48-49.
- [2] 罗俊,廖德君. 全血金标法检测 HBsAg 52 例漏检原因分析[J]. 临床和实验医学杂志,2006,4(4):243-243.
- [3] 庄严,李绪黎. 胶体金免疫层析法与酶联免疫吸附法结合使用在乙型肝炎检测中的应用[J]. 中国实验诊断学,2004,8(2):197-198.
- [4] 涂少华,朱敏,沈江帆. 光激化学发光法检测乙型肝炎病毒感染血清学标志的性能评价[J]. 检验医学,2011,26(7):452-456.
- [5] 栾雪静. 金标法对 ELISA 法检测 HBsAg 弱阳性标本复查的意义[J]. 现代预防医学,2011,38(23):4951-4952.
- [6] 陈向阳. 胶体金免疫层析法与 ELISA 检测 HBsAg 的比较[J]. 上海医学检验杂志,2001,16(5):305.
- [7] 李永祥,顾大光,李和群. ELISA 一步法检测 HBsAg 的“前带效应”[J]. 江西医学检验,2004,22(6):581-585.
- [8] 杨侠宇. 金标法检测乙型肝炎表面抗原漏检原因分析[J]. 检验医学与临床,2011,8(10):1279-1280.
- [9] 葛高霞,张晓洁,邱胜丰,等. 金标法与 ELISA 在检测脐血 HBsAg 中的应用[J]. 实用医学杂志,2013,28(23):4003-4004.
- [10] Kricka LJ. Clinical applications of chemiluminescence[J]. Anal Chim Acta,2003,500(1):279-286.
- [11] Ullman EF, Kirakossian H, Switchenko AC, et al. Luminescent oxygen channeling assay (LOCI): sensitive, broadly applicable homogeneous immunoassay method[J]. Clin Chem,1996,42(9):1518-1526.
- [12] 张阳根,胡桂华,黄林江. Lica 光激化学发光免疫分析系统检测乙肝两对半的性能评价[J]. 2011,32(19):2250-2251.

(收稿日期:2014-02-05)

(上接第 1613 页)

- [2] 中华医学会结核病学分会. 中国结核病分类法[J]. 中华结核和呼吸杂志,1998,46(12):716-717.
- [3] 周正华,刘锦宏. 血清及胸水结核抗体联合检测对结核性胸膜炎的诊断价值[J]. 临床肺科杂志,2012,17(4):674-675.
- [4] 叶任高,陆再英. 内科学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社,2004:104-110.
- [5] 王甦民,朱建华,张立兴. 结核病诊断实验室检验规程[M]. 北京:中国教育文化出版社,2006.
- [6] Sutherland JS, Garba D, Fombah AE, et al. Highly accurate diagnosis of pleural tuberculosis by immunological analysis of the pleural effusion[J]. PLoS One,2012,7(1):e30324.
- [7] 黄景彬,严舒俊,谢胜华,等. 123 例初治涂阳肺结核患者抗结核抗体阳性率分析[J]. 医学信息,2006,19(9):1599-1602.

- [8] 鲍丽娟. CEA 铁蛋白 ADA 及抗结核抗体联合检测在胸腔积液诊断中的意义[J]. 工企医刊,2012,25(1):1-3.
- [9] 蔡智群,邝小佳,林兆原. ATA、ADA 和 PCR 在结核性腹膜炎的应用探讨[J]. 临床肺科杂志,2010,15(2):265-265.
- [10] 郭明日,吴敏,张立,等. 实时荧光 PCR 技术在不同类型结核病诊断中的应用价值[J]. 临床肺科杂志,2012,17(1):82-83.
- [11] 李晓月,安军,李琦. 痰聚合酶链反应和血清结核抗体检测等指标在菌阴肺结核诊断中的临床意义[J]. 临床肺科杂志,2012,17(3):543-544.
- [12] 崔海燕,张青,栗波,等. 结核性胸膜炎患者 Th1/Th2 及前炎症细胞因子的变化[J]. 中华临床医师杂志,2012,14(6):4109-4109.

(收稿日期:2014-01-28)