

## • 临床研究 •

# 时间分辨荧光免疫法与酶联免疫吸附法检测乙型肝炎病毒感染血清学标志物的对照研究

王丽萍

(张家港广和中西医结合医院检验科, 江苏张家港 215633)

**摘要:**目的 对照研究时间分辨荧光免疫法与酶联免疫吸附法检测乙型肝炎病毒感染血清学标志物的临床效果。方法 将该院肝胆专科门诊于 2012 年 1 月至 2013 年 12 月间收治的 298 例乙肝患者作为研究对象, 分别采用时间分辨荧光免疫法与酶联免疫吸附法检测乙型肝炎病毒感染血清学标志物统计检测数据, 评价不同检测方法对于诊断乙肝的有效性。结果 时间分辨荧光免疫法检测乙肝病毒表面抗原的阳性率为 26.17%, 乙肝 e 抗原的阳性率为 7.38%, 乙肝表面抗体的阳性率为 52.01%, 乙型肝炎病毒 e 抗体的阳性率为 29.17%, 乙肝核心抗体的阳性率为 35.23%, 诊断符合率达到 97.98%; 酶联免疫吸附法检测乙肝病毒表面抗原的阳性率为 24.49%, 乙肝 e 抗原的阳性率为 6.37%, 乙肝表面抗体的阳性率为 46.31%, 乙型肝炎病毒 e 抗体的阳性率为 23.82%, 乙肝核心抗体的阳性率为 28.18%, 诊断符合率为 78.52%, 两种检测方法比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 时间分辨荧光免疫法检测乙型肝炎病毒感染血清学标志物相较于酶联免疫吸附法更加敏感准确, 具有较高的临床推广和应用价值。

**关键词:**时间分辨荧光免疫法; 酶联免疫吸附法; 乙肝病毒血清标志物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.07.057

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2015)07-0994-02

乙型肝炎病毒简称乙肝病毒, 也称丹氏颗粒, 属嗜肝 DNA 病毒科(hepadnavividae), 是引起各类急慢性肝炎的致病因素。据不完全资料统计, 我国乙肝病毒的感染率超过 50%, 乙肝病毒携带者近 1 亿人, 乙肝患者也有近 3 000 万。如何选择一种操作简单、经济适用、便于推广而敏感度又相对较高的乙肝病毒检测法, 对如此大的人群进行乙肝病毒筛查一直是临床研究的热点。目前常用的乙肝病毒检测法主要有时间分辨荧光分析法(time resolved fluoroenzyme immunoassay, TRFIA)、微粒子酶免测定法(microparticle enzyme immunoassay, MEI)和酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)等, 其中时间分辨荧光分析法敏感度和准确性相对较高, 操作简便且无污染<sup>[1-3]</sup>。本文研究了时间分辨荧光免疫法与酶联免疫吸附法检测乙型肝炎病毒感染血清学标志物的临床效果, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 随机选取 2012 年 1 月至 2013 年 12 月在本院肝胆专科门诊治疗的 298 例乙肝患者作为研究对象, 其中男 164 例, 女 134 例, 年龄最小 20 岁, 最大 45 岁, 平均年龄(38.2±6.1)岁。患者入院后取空腹静脉血 5 mL, 分离血清后低温冷藏备检。所有患者的基本资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 不具有可比性。

**1.2 研究设备** 本次观察使用的设备及主要试剂包括: 伯乐 iMark 酶标仪和伯乐 1 575 洗板机, 郑州安图生物工程股份有限公司生产的乙型肝炎病毒表面抗原诊断试剂盒、乙型肝炎病毒表面抗体检测试剂盒、乙型肝炎病毒 e 抗原检测试剂盒、乙

型肝炎病毒 e 抗体检测试剂盒、乙型肝炎病毒核心抗体检测试剂盒。苏州新波生物技术有限公司生产的 YZB/苏 0257-2013 荧光分析仪等。

**1.3 研究方法** 将所取血液样本分别采用时间分辨荧光分析法和酶联免疫吸附测定法进行检测, 时间分辨荧光分析法的操作流程为将试剂盒复温, 稀释标记物, 加入血液样本后再加入标记物工作液, 振荡孵育后洗涤反应板, 加入增强液后使用检测仪检测。酶联免疫法的操作流程为准备去离子水和洗涤液, 将试剂复温至室温; 于板孔底部用微量加样器加血样, 每次加样应注意更换吸嘴, 避免污染; 加入稀释液, 于振荡器上混合, 然后送检测仪检测<sup>[4-5]</sup>。

**1.4 评价标准** 酶联免疫吸附法: 乙肝病毒表面抗原、表面抗体、e 抗原的检测以样本光密度大于或等于临界值为阳性; 乙肝病毒 e 抗体、核心抗体的检测以样本光密度小于临界值为阳性。时间分辨荧光分析法利用计算机测定血液样本的标准曲线, 转换为被测定物含量后进行阴性阳性鉴别<sup>[6]</sup>。

**1.5 统计学处理** 观察期结束后, 将观察统计数据录入数据库进行对比分析。应用 SPSS11.0 软件进行统计学整理和分析, 进行卡方检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 检测结果统计** 从表 1 的统计结果不难看出, 时间分辨荧光免疫法与酶联免疫吸附法在检测乙型肝炎病毒感染血清学标志物的敏感度和准确性上具有显著差异, 时间分辨荧光免疫法的敏感度和准确性更高, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ), 具体见表 1。

表 1 乙肝病毒感染血清学标志物检测结果比较

检测指标	n	时间分辨荧光分析法			酶联免疫吸附测定法			符合率(%)
		阳性	阴性	阳性率(%)	阳性	阴性	阳性率(%)	
乙肝病毒表面抗原(HsBAg)	298	78	220	26.17	73	225	24.49	94
乙肝 e 抗原(HBeAg)	298	22	276	7.38	19	279	6.37	90
乙肝表面抗体(抗-HBs)	298	155	143	52.01	138	160	46.31	88
乙型肝炎病毒 e 抗体(HBeAb)	298	87	211	29.19	71	227	23.82	82

续表 1 乙肝病毒感染血清学标志物检测结果比较

检测指标	n	时间分辨荧光分析法			酶联免疫吸附测定法			符合率(%)
		阳性	阴性	阳性率(%)	阳性	阴性	阳性率(%)	
乙肝核心抗体(抗-HBc)	298	105	193	35.23	84	214	28.18	80
$\chi^2$			9.172			9.324		
P			0.013			0.010		

**2.2 检测准确率统计** 观察人员还根据 2 种检测方法对所有患者进行乙肝诊断, 统计数据显示, 时间分辨荧光分析法在诊断准确率上显著高于酶联免疫吸附测定法, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ), 具体统计数据见表 2。

表 2 两种检测方法诊断结果统计表[n(%)]

类别	n	诊断符合数	误诊数	漏诊数
时间分辨荧光分析法	298	292(97.98)	5(1.67)	1(0.33)
酶联免疫吸附测定法	298	234(78.52)	43(14.42)	21(7.04)
$\chi^2$		10.625	9.648	9.186
P		0.009	0.014	0.023

### 3 讨论

乙肝是全世界广泛流行的肝脏病症, 其由乙肝病毒引起, 主要表现为肝脏的炎症器质性病变, 如未加以有效治疗, 极有可能演变为肝硬化甚至是肝癌, 后果极其严重。目前对于乙肝的诊断主要依靠特异性血清病原学检查, 即对 HBsAg、抗-HBs、HBsAg、抗-HBe、抗-HBc 和抗-HBcIgM 等进行筛查。但由于我国乙肝病毒携带者和乙肝患者的人数都非常多, 临床承担的乙肝病毒携带者筛查和乙肝诊断的任务比较重, 如何遴选出一种准确率和敏感度都比较高, 而且经济适用易于推广的乙肝病毒血清标志物检测方法就显得尤为关键<sup>[7-9]</sup>。

本次观察利用了时间分辨荧光分析法和酶联免疫吸附法进行乙肝血清标志物检测的对比研究。酶联免疫吸附法是乙肝病毒血清标志物检测的传统方法, 其临床应用始于上世纪 60 年代。主要原理是通过将抗体与某些固定载体相结合从而保持活性, 而后与酶连接成酶标抗体, 加入底物后通过酶的催化反应使底物变色得出检验结果。酶联免疫吸附法具有操作简单和经济适用等优势, 易于推广使用, 是我国广大基层医疗机构最为常见的乙肝病毒检测方法。但酶联免疫吸附法也存在较为显著的缺陷, 例如, 该方法对于操作要求较高, 容易受到污染和操作等因素影响, 假阳性和误诊漏诊的概率较高; 该方法仅能对乙肝作定性研究, 无法动态监测标志物浓度, 对于一些低浓度患者的检验敏感度和准确率比较低<sup>[10-11]</sup>。

时间分辨荧光分析法则是近年来刚刚兴起的一种非同位素免疫分析技术。该检测方法最大的优势就是灵敏度高, 据不完全资料统计, 时间分辨荧光分析法在检测乙肝病毒血清标志物上敏感度相较于酶联免疫吸附法等传统检测方法要高出 3 个数量级, 可达 10~12 g/mL<sup>[12]</sup>。由于其灵敏度高, 检验结果可靠, 已经逐渐取代了放射免疫技术成为了乙肝病毒临床检测的首选方法。本次观察统计结果也显示, 时间分辨荧光分析法检测乙肝病毒血清标志物对于乙肝患者的诊断准确率能够达到 97.98%, 误诊和漏诊的概率都比较低, 相较于酶联免疫吸附法具有显著优势。从具体的检测指标上看, 时间分辨荧光分

析法对于乙肝表面抗原、乙肝 e 抗原、乙肝表面抗体、乙型肝炎病毒 e 抗体和乙肝核心抗体的阳性率均高于酶联免疫吸附法, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

总之, 时间分辨荧光分析法检测乙肝病毒血清标志物相较于酶联免疫吸附法等传统方法灵敏度更高, 能够有效避免误诊漏诊, 值得推广借鉴。

### 参考文献

- [1] 黄静. 乙型肝炎病毒前 S1 抗原与相关血清标志物联合检测的临床价值探讨[J]. 检验医学与临床, 2010, 8(7): 706-707.
- [2] Bernth-Jensen JM, Mller BK, Jensenius JC, et al. Biological variation of anti- $\alpha$ Gal-antibodies studied by a novel Time-Resolved ImmunoFluorometric Assay[J]. J Immunol Methods, 2011, 373(1): 26-35.
- [3] 唐芳玲. 乙型肝炎病毒 DNA 与血清标志物的关系[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(1): 28-29.
- [4] Wang Z, Huang Y, Li S, et al. Hydrophilic modification of polystyrene with hydrophobin for time-resolved immunofluorometric assay[J]. Biosens Bioelectron, 2010, 26(10): 1074-1079.
- [5] 吴阿阳, 陈忠进. 酶联免疫吸附法和时间分辨荧光免疫法在检测乙型病毒性肝炎中的效果比较[J]. 中国现代药物应用, 2012, 6(1): 34-35.
- [6] Escribano D, Soler L, Gutiérrez AM, et al. Measurement of chymogranin A in porcine saliva: validation of a time-resolved immunofluorometric assay and evaluation of its application as a marker of acute stress[J]. Animal, 2013, 7(4): 640-647.
- [7] 李新玲, 黄怀宇, 吴俊渊, 等. 时间分辨荧光免疫法检测脑脊液结核分枝杆菌特异性抗原的诊断价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(1): 132-134.
- [8] Hagan AK, Zuchner T. Lanthanide-based time-resolved luminescence immunoassays[J]. Analytical and bioanalytical chemistry, 2011, 400(28): 2847-2864.
- [9] 雷荔荔, 马兴璇. 时间分辨荧光免疫法检测乙型肝炎病毒标志物的效果评价[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(3): 337-338.
- [10] Martínez-Subiela S, Caldin M, Parra MD, et al. Canine C-reactive protein measurements in cerebrospinal fluid by a time-resolved immunofluorimetric assay[J]. J Veterin Diagnos Investigation, 2011, 23(1): 63-67.
- [11] 吴福清. 两种方法检测乙型病毒性肝炎敏感性和费用的比较[J]. 中国医药指南, 2012, 10(4): 486-487.
- [12] Niu CG, Liu J, Qin PZ, et al. A novel bifunctional europium chelate applied in quantitative determination of human immunoglobulin G using time-resolved fluoroimmunoassay [J]. Analytical biochemistry, 2011, 409(2): 244-248.

(收稿日期: 2014-10-29)