

• 论 著 •

两种方法验证乙型肝炎病毒标志物室间质量控制结果分析

吴 飞

(兰陵县中医医院检验科, 山东临沂 277700)

摘 要:目的 对比酶联免疫吸附法(ELISA)和胶体金免疫层析法(GIGA)检测乙肝五项指标的结果差异,验证 HBV 标志物室间质量控制的方法选择。方法 使用 ELISA 检测试剂和 GIGA 试条对 420 份标本检测乙肝五项指标,并对两种方法检测均阳性的标本做 1:256 倍稀释后检测相关抗原抗体,对结果进行统计学分析。结果 两种方法结果除乙肝表面抗原结果无显著差异外,其他指标均有显著差异,稀释后结果差异更加明显。结论 GIGA 法检测乙肝五项指标较 ELISA 法灵敏度低,有一定的漏检率,不适用于室间质量控制检测,应用 ELISA 法加以确证。

关键词:酶联免疫吸附法; 胶体金免疫层析法; 乙肝五项; 质量控制
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.01.020 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2016)01-0047-02

Analysis of external quality control results of two methods for verifying HBV markers

Wu Fei

(Department of Clinical Laboratory, Lanling County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Linyi, Shandong 277700, China)

Abstract: Objective To compare the difference of hepatitis B 5-index results detected by the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and colloidal gold immunochromatographic assay (GIGA) for verifying the method selection of HBV markers inter-laboratory quality control. **Methods** The ELISA reagent and GIGA strip were used to detect five indexes in 420 samples. The positive samples detected by both two methods were diluted by 1:256 times were performed the related antigen and antibody detection. The detection results were analyzed statistically. **Results** Except the result of hepatitis B surface antigen had no significant difference, other indexes all had significant differences, the result differences were more significant after dilution. **Conclusion** The GIGA method for detecting hepatitis B 5 indexes has lower sensitivity than the ELISA method and has certain missed diagnosis rate, and is unsuitable for the detection of the external quality control, the ELISA method should be used to confirm.

Key words: enzyme linked immuno sorbent assay; colloidal gold immunochromatographic; hepatitis B five indexes; quality control

乙型肝炎病毒(HBV)是严重危害人类健康的常见传染病之一,我国又是乙型肝炎(以下简称“乙肝”)乙肝大国,官方报导感染率约 10%,全国将近 1 亿人感染乙肝病毒^[1]。乙肝五项指标的检查是现在普遍应用的确诊和疗效观察指标,也是室间质量控制的基本检测项目。目前,用于乙肝五项检测的方法主要有凝集试验、放射免疫测定(RIA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、免疫层析测定以及化学发光免疫测定(TR-FLA)等,其中又以胶体金免疫层析法(GIGA)和 ELISA 应用最为广泛^[2],特别是一些基础条件较差的实验室,这两种方法的应用较有普遍性。在检测灵敏度和特异度方面,ELISA 已被临床所公认是较可靠且可以信赖的方法^[3],而 GIGA 法因具有操作简便、结果快速、特异度较高、试剂保存方便有效期长和无需特殊仪器等优点,被临床检验科室广泛应用^[4]。本院在乙肝五项检测中,曾长时间应用 GIGA 法,但是在参加室间质量控制后,成绩一直不理想,经常会质控不达标。后应用 ELISA 法参加室间质控活动,获得了满意的效果,由此可以看出 GIGA 法在检测乙肝五项的过程中存在一定的偏差,GIGA 法不能单独应用于 HBV 标志物的室间质量控制^[5]。本研究用 ELISA 法和 GIGA 法联合检测乙肝五项,以验证 GIGA 法检测乙肝五项的可靠性,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 血清标本 420 份,来自本院 2014 年门诊及住院患者,部分为乙肝患者及乙肝病毒携带者,部分为常规体检者,均检测了乙肝五项指标。其中男 286 例,占 68.1%,女 134 例,占 31.9%,年龄 8~52 岁。

1.2 仪器与试剂 胶体金测试卡采用厦门英科新创科技有限公司生产,ELISA 试剂采用北京万泰生物药业股份有限公司产品,两种试剂均在有效期内,且包装完好。仪器采用上海科华 ST-360 酶标仪。

1.3 方法 两种方法均严格按照试剂使用说明书操作,420 份血清标本两种方法平行测定,考虑到室间质控品制备时会有不同程度稀释,特将两种方法检测都为阳性的标本用无菌生理盐水做了稀释,早期 1:10 和 1:20 倍稀释后,差异无统计学意义($P>0.05$),为减少工作量增加同时增加操作的可比性,后统一做 1:256 倍比稀释,再次用两种方法检测,分别统计比较分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理及统计分析,组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

两种方法检测不稀释血清 420 份,检测结果见表 1。

GIGA 法检测乙肝五项阳性率均小于 ELISA 法,与 ELISA 阳性符合率分别为:HBsAg 98.1%、HbsAb 85.7%、HbeAg 86.4%、HbeAb 92.1%和 HbcAb 87.1%,除 HBsAg 阳性率差别无统计学意义外($P>0.05$),其他各项指标差异均有统计学

意义($P<0.05$)。
对上述两种方法检测均为阳性的标本做 1:256 倍稀释,检测结果见表 2。

表 1 两种方法检测结果比较(原倍血清)

项目 方法	HBsAg 阳性数		HBsAb 阳性数		HBeAg 阳性数		HBeAb 阳性数		HBcAb 阳性数	
	ELISA	GIGA	ELISA	GIGA	ELISA	GIGA	ELISA	GIGA	ELISA	GIGA
阳性数	212	208	98	84	96	83	102	94	162	141
阳性率	50.5%	49.5%	23.3%	20.0%	22.8%	19.7%	24.2%	22.4%	38.5%	33.6%

表 2 两种方法检测结果比较(1:256 稀释)

项目 方法	HBsAg 阳性数		HBsAb 阳性数		HBeAg 阳性数		HBeAb 阳性数		HBcAb 阳性数	
	ELISA	GIGA	ELISA	GIGA	ELISA	GIGA	ELISA	GIGA	ELISA	GIGA
阳性数	204	168	79	52	78	61	82	49	118	89
阳性率	98.1%	80.1%	94.0%	61.9%	93.4%	73.5%	87.2%	52.1%	83.7%	63.1%

由表 2 看出,经过稀释的血清标本,GIGA 法检测乙肝五项各指标阳性率均大幅度下降,与 ELSIA 法阳性符合率降为:HBsAg 82.4%、HbsAb 65.8%、HbeAg 78.2%、HbeAb 59.7%和 HbcAb 75.4%,各指标差异均有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨 论

HBV 是威胁人类健康的重要病原体,我国的 HBV 感染情况尤为严重,在临床实践中,各科均对 HBV 的检测有较高的要求希望快速准确地得到 HBV 检测结果。乙肝五项作为临床常用的诊断治疗 HBV 的检测指标,具有重要的应用价值^[6-7],目前,各级实验室都有开展^[8]。在室间质量控制中,条件较好的实验室已应用放射免疫和化学发光等更敏感的实验方法,但以 ELISA 应用较普遍,部分实验室依然应用 GIGA 法检测。GIGA 法检测乙肝五项,以其快速、简便、不需特殊仪器、可单人份检测、便于保存、特异度和准确度较高等优点,广泛应用于临床对乙型肝炎的初筛、急诊和无偿献血等场所,为各级实验室,特别是实验条件较差的初级实验室所广泛采用。但是由于方法学和制造工艺等因素,GIGA 法又有其自身的缺点,如检测底限为 1 ng/mL,较 ELISA 法底限的 0.1 ng/mL 检测灵敏度差,特别是对一些抗原抗体滴度不高的标本,容易造成漏检^[9]。在室间质评活动中,因质控品的制备方法和使用基质等问题,各抗原抗体的滴度都会有不同程度的稀释,更易造成结果的假阴性,测定中应与普通血清标本相区别,实践证明,用 GIGA 法做室间质控不能得到满意结果^[10]。ELISA 法以其成熟的技术,超高的检测灵敏度等优点,弥补了 GIGA 法的不足,建议在临床试验过程中,不应单纯以 GIGA 法结果判定患

者感染情况,应以 ELISA 法或更灵敏的如化学发光等方法加以验证,为临床提供更确切的诊断依据。

参考文献

[1] 丁善龙,王杰,鲁凤民.乙型肝炎研究及我国防治现状[J]. 传染病信息,2013,26(6):369-372.
[2] 余大孝,李佩.对检测乙型肝炎方法的研究[J]. 医学信息(上旬刊),2010,6(6):1964.
[3] 田昌银.ELISA 法检测乙肝五项的影响因素初探[J]. 中国中医药咨讯,2011,3(7):281-282.
[4] 陈佑明,黄敬,刘京平,等.两种方法检测乙型肝炎病毒表面抗原的比较[J]. 检验医学与临床,2010,6(4):495-496.
[5] 张小丽,王贝晗,张景,等.胶体金检测乙肝病毒血清标志物的实验研究[J]. 武警医学,2011,22(5):404-405.
[6] 刘运周,胡卫红,张薇.三种检测乙肝两对半常用方法的比较[J]. 中国医师进修杂志,2012,35(4):452-453.
[7] 丁邦盛,潘建.金标法和 ELISA 法检测乙型肝炎病毒血清标志物的比较[J]. 临床输血与检验,2012,3(3):225-228.
[8] 郭鑫.关于乙肝五项检测临床意义的探讨[J]. 中国中医药咨讯,2011,10(1):99-100.
[9] 周积满.金标快速法与 ELISA 法检测 HBV 的对比分析[J]. 中外医疗,2012,1(1):174-175.
[10] 周玲,吕定.金标法检测乙肝表面抗原漏检原因分析[J]. 检验医学与临床,2014,17(2):268-269.

(收稿日期:2015-07-25)

(上接第 46 页)

diagnosis and treatment follow-up of human Brucellosis by a novel quantitative taqMan real-time PCR assay: a human clinical survey [J]. J Clin Microb, 2014, 52(12):4239-4243.
[10] Radhika G, Patrick DG, Samuel JB, et al. B lymphocytes provide an infection niche for intracellular Bacterium Brucella abortus[J]. J Infect Dis, 2012, 206(1):91-98.
[11] Turhan. T, Ozgur C, Hale N, et al. Could there be an association

between chronic brucellosis and endothelial damage[J]. J Infect Dev Ctries, 2015, 9(1):48-54.
[12] Anna M, Kristine VB, Vilma AG, et al. In vivo identification and characterization of CD4+ cytotoxic T cells induced by virulent Brucella abortus infection[J]. PLoS One, 2013, 8(12):e82508.

(收稿日期:2015-08-18)