

**2.7 检测下限试验** 稀释后 FIB 结果分别为 0.34、0.31、0.31、0.33、0.30、0.31、0.34、0.35、0.31、0.35 g/L。均值  $\bar{x}$  为 0.325, 标准差  $s$  为 0.019, CV 为 5.8%, 在仪器允许 CV 的范围内, 表明仪器对 FIB 的检测下限低, 灵敏度好, 通过验证。

**2.8 参考范围验证试验** 对本室推荐的参考值区间进行验证, 见表 5。R 均在 0.95 以上, 通过验证。

### 3 讨论

临床工作中许多疾病的凝血异常诊断, 止血、抗凝和溶栓药物的临床应用均依赖实验室检查, 其临床重要性与日俱增, 检验内容不断扩大, 工作量也日益增多; 不断出现的方法革新和自动化, 改变了以往单靠手工操作, 自配试剂, 工作效率低的局面。与此同时, 要求方法标准化和实行质量控制的呼声也愈来愈高。虽然目前全自动凝血仪在装机时仪器厂商已提供了仪器性能的初步参数, 但由于各实验室之间外界环境, 被检人群, 检验人员技术等存在着差异, 因此实验室在仪器使用前必须对性能参数重新评估, 国内也出现越来越多关于凝血仪性能评价的报道<sup>[8]</sup>。作者根据《临床检验方法确认与性能验证》, 国际血液学标准化委员会 (ICSH) 和《医学实验室质量与能力认可准则》的相关规定, 对新引进的 SYSMEX CS5100 全自动凝血分析仪从精密度、准确度、检测限、携带污染率、线性范围、可比性、可报告范围、检测下限、参考范围等方面进行验证性能验证。其中精密度实验中批内 CV < 规定 1/4 允许误差, 批间 CV < 规定的 1/3 允许误差, 说明该仪器具有良好的重复性和稳定性。准确度实验表明偏差在允许范围内, 提示仪器具有较高的准确度。线性实验和携带污染实验也表明仪器具有良好的检测线性关系和自洁努力系统, 比对实验中与 CA7000 比对结果可以知道相关性良好, 可以保证实验室结果的一致性。可报告范围实验 CS5100 系统自动稀释在最大倍数 (FIB 和 D-二聚体分别按 1/2 和 1/8 稀释) 下, 结果仍在规定的范围内, 表明可报告范围宽。检测下限实验中 FIB 在 0.30 g/L 前后 CV 仍在厂家规定的范围内 (CV < 20.00%), 表明仪器的检测下限低。参考值范围验证实验中 R 值均在 0.95 以上, 表明本室推

• 临床研究 •

荐的参考值区间仍适用。

通过对 SYSMEX CS5100 全自动凝血仪的全面的性能验证, 作者认为该仪器操作简便, 检测速度快, 自动化程度高, 精密度好、准确度高, 携带污染率低, 相关系数好, 可比性好, 检测范围宽的检测系统。特别适合工作量大或是现代化的大型实验室工作的需要, 可以满足临床工作的需求, 能更好地服务医患工作。

### 参考文献

- [1] 王治国. 临床检验方法确认与性能评价[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009.
- [2] 陈渊博, 郑文婷, 尹志军, 等. CA7000 全自动凝血仪性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(2): 209-211.
- [3] 杨有业, 张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [4] National Committee for Clinical Laboratory. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.
- [5] National Committee for Clinical Laboratory. EP15-A2 User demonstration of performance for precision and accuracy[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2004.
- [6] National Committee for Clinical Laboratory. EP6-A2 Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [7] National Committee for Clinical Laboratory. C28-A2 How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2000.
- [8] 黄彬, 陈茶, 钟武平. Sys mex CA6000 全自动凝血仪实验性能评价[J]. 临床检验杂志, 2003, 21(S1): 82-83.

(收稿日期: 2016-03-12 修回日期: 2016-04-15)

## 时间分辨荧光技术及酶联免疫吸附试验检测 乙型肝炎两对半指标的比对分析

江培涛, 杨 健, 杨正南

(南京鼓楼医院集团仪征医院检验科, 江苏扬州 211900)

**摘要:**目的 通过比对时间分辨荧光技术 (TRFIA) 及酶联免疫吸附试验 (ELISA) 对血清标本中乙型肝炎两对半指标的检测结果, 验证这两种方法是否具有等效性。**方法** 分别用 TRFIA 及 ELISA 检测 160 份临床标本的两对半指标, 记录检验结果并对检验结果进行统计学分析。**结果** 经过配对资料  $\chi^2$  检验分析, 两种方法测定乙型肝炎表面抗原 (HBsAg)、乙型肝炎表面抗体 (HBsAb)、乙型肝炎 e 抗原 (HBeAg)、乙型肝炎 e 抗体 (HBeAb)、乙型肝炎核心抗体 (HBcAb) 时结果差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。**结论** 两种检测方法均可用于临床乙型肝炎两对半指标的检测, 但 TRFIA 优于 ELISA 的灵敏度和特异度。

**关键词:** 时间分辨荧光技术; 酶联免疫吸附试验; 乙型肝炎两对半

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.13.059

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)13-1877-03

乙型肝炎两对半是目前国内医院最常用的乙型肝炎病毒 (HBV) 感染检测血清标志物, 两对半检查项目包括: 乙型肝炎表面抗原 (HBsAg)、乙型肝炎表面抗体 (HBsAb)、乙型肝炎 e 抗原 (HBeAg)、乙型肝炎 e 抗体 (HBeAb)、乙型肝炎核心抗体 (HBcAb)。因为核心抗原的检测方法较复杂, 临床上通常不

做, 所以在“乙型肝炎五项”检查中, 前四项是两对, 核心抗体是半对, 因此被称为乙型肝炎两对半。两对半的检测对于乙型肝炎患者的诊断和治疗以及健康人群病毒携带的筛查和预防免疫接种都具有重要意义。目前, 用于检测乙型肝炎两对半的方法主要是酶联免疫吸附试验 (ELISA), 该方法具有灵敏度高、

特异度强、操作简便等特点,但该法主要用于定性检测<sup>[1]</sup>。随着免疫分析技术的不断进步以及临床对实验室要求的不断提高,荧光免疫自动化分析技术已被逐渐应用于临床,时间分辨荧光免疫技术(TRFIA)就是以抗原抗体反应与荧光物质发光和时间分辨技术相结合的近代荧光光谱技术。由于该方法具有灵敏度高、特异度好、检测范围宽、环境污染小等特点,是目前最具有发展前途的超微量分析技术,其检测下限可达 $5\times 10^{-14}$  mol/L<sup>[2]</sup>,能用于临床定量检测乙型肝炎两对半指标。本研究通过比较 TRFIA 及 ELISA 的检测结果,评价时间分辨荧光技术用于乙型肝炎两对半检测的价值。

### 1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2013 年 1 月至 2014 年 12 月门诊及住院乙型肝炎患者和健康体检者共 160 例血清,其中健康体检人员 46 例。标本无脂血、黄疸、溶血。

1.2 仪器与试剂 ANYTEST 时间分辨荧光免疫分析仪、EFFICUTA 全自动标本前处理系统及相关定量检测试剂盒由苏州新波生物技术有限公司生产;PW-960Plus 全自动酶标洗板机由深圳汇松科技发展有限公司生产;乙型肝炎两对半 ELISA 检测试剂盒由上海科华生物工程股份有限公司生产;BIO-RAD Model680 酶标仪由美国伯乐公司生产。

#### 1.3 方法

1.3.1 TRFIA 检测两对半指标 准备好洗涤液及铕标记物等试剂并将试剂与相应数量的微孔反应条室温中平衡;吸取 100  $\mu$ L 样品及校准品按相应顺序加入微孔反应条中;室温条件下震荡孵育 40 min;孵育结束后每孔注入洗涤液 400  $\mu$ L,重复洗涤 4 次;每孔加入 100  $\mu$ L 铕标记物,室温条件下震荡孵育 40 min;结束后同上重复洗涤 6 次;每孔中加入增强液 100  $\mu$ L,室温条件下震荡孵育 5 min;上述步骤均由 EFFICUTA 全自动标本前处理系统自动完成。之后将微孔反应板条插入 ANYTEST 时间分辨荧光分析仪进行检测分析。

1.3.2 ELISA 检测两对半指标 准备好洗涤液及相应数量的微孔反应板条,核心抗体的检测标本用生理盐水作 1:30 稀释;加入 50  $\mu$ L 待测标本和阴、阳性对照于反应微孔中,预留空白对照;在待测标本及阴阳性对照孔中加入酶结合物 50  $\mu$ L;将反应板条用封板纸覆盖并在振荡器上震荡混匀 10 s 后置 37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min;取出反应板撕去封板纸,洗涤反应板 5 次;洗涤结束后每孔加入显色剂 A 液、显色剂 B 液各 50  $\mu$ L,充分混匀,封板后置 37  $^{\circ}$ C 孵育 15 min;每孔加入终止液 50  $\mu$ L,混匀;用酶标仪读数,取波长 450 nm,先用空白孔校零,然后读取各孔 OD 值。

1.3.3 两种方法的线性范围及最低检测浓度的比较 将 1 例 HBsAg 强阳性血清进行倍比稀释后分别用两种方法检测并记录结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

2.1 TRFIA 及 ELISA 检测结果 采用 TRFIA 及 ELISA 检测 160 份标本乙型肝炎两对半指标,见表 1。TRFIA 和 ELISA 对 160 份标本中 HBsAg 的阳性检出率分别为 58.75% 和 56.88%,对 HBsAb 的阳性检出率为 52.50% 和 46.25%,对 HBeAg 的阳性检出率为 35.00% 和 30.00%,对 HBeAb 的

阳性检出率为 46.88% 和 43.75%,对 HBcAb 的阳性检出率为 70.00% 和 63.13%,两种方法的结果差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

2.2 两种方法检测 HBsAg 的线性范围及最低浓度 将 1 份 HBsAg 强阳性血清进行倍比稀释后分别用两种方法检测 HBsAg 的线性范围及检测最低浓度,见表 2。

表 1 TRFIA 及 ELISA 检测结果(n)					
两对半指标	TRFIA	ELISA		P	$\chi^2$
		+	-		
HBsAg	+	88	6	<0.05	5.07
	-	3	63		
HBsAb	+	71	13	<0.05	4.23
	-	3	73		
HBeAg	+	45	11	<0.05	7.91
	-	3	101		
HBeAb	+	69	6	<0.05	4.02
	-	1	84		
HBcAb	+	99	13	<0.05	4.16
	-	2	46		

表 2 两种方法检测 HBsAg 的线性范围及最低浓度		
稀释倍数	TRFIA(ng/mL)	ELISA(OD 值)
原倍	160.00	3.182
1:1	155.00	3.275
1:2	78.23	2.753
1:4	41.25	1.614
1:8	20.97	1.325
1:16	10.35	1.008
1:32	5.37	0.853
1:64	2.76	0.709
1:128	1.89	0.483
1:256	0.96	0.312
1:512	0.49	0.145
1:1 024	0.24	阴性
1:2 048	0.13	阴性
1:4 096	阴性	阴性
1:8 192	阴性	阴性

### 3 讨论

有资料表明,我国大约有 0.93 亿 HBV 携带者<sup>[3]</sup>,乙型肝炎血清抗原抗体检测是临床诊断 HBV 感染及判断预后的传统指标。(1)HBsAg 主要在感染 HBV 后 1~2 个月在血清中出现,阳性常见于乙型肝炎潜伏期和急性期,慢性迁延性肝炎、活动性肝炎、肝硬化、肝癌及慢性 HBsAg 携带者。(2)HBsAb 是针对 HBsAg 产生的中和抗体,表明机体具有一定的免疫力,一般在 HBsAg 转阴后出现,是疾病恢复的开始,阳性提示机体曾感染过 HBV 或接种过乙型肝炎疫苗,可持续多年,其滴度与特异性保护作用相平行。(3)HBeAg 阳性表明患有乙型肝炎,是病毒复制活跃传染性强的标志,常在 HBsAg 阳性

的血清中检出,其持续阳性者易转变为慢性肝炎。(4)HBeAb 出现于急性感染的恢复期,阳性多见于 HBeAg 转阴的患者,意味着 HBV 被部分清除,传染性减低,部分慢性肝炎,肝硬化,肝癌患者可持续阳性。(5)HBcAb 是反映肝细胞受到 HBV 侵害的一种指标,抗 HBc-IgG 在机体感染 HBV 后 1 个月左右开始升高,高滴度的抗 HBc-IgG 表明患有乙型肝炎<sup>[4-6]</sup>。

本研究表 1 结果显示,TRFIA 和 LEISA 对乙型肝炎两对半指标的检测结果差异有统计学意义( $P<0.05$ )。本研究表 2 结果显示,TRFIA 对 HBsAg 的最低检出浓度为 0.13 ng/mL,与国内报道一致<sup>[7]</sup>。而 ELISA 则为 0.49 ng/mL。这表明 ELISA 对低浓度的标本存在假阴性的问题,这是由于 ELISA 双抗体夹心法检测小分子半抗原的过程中,若待测抗原浓度过高则易产生钩状效应<sup>[1]</sup>,使最终测定结果低于实际浓度。另有文献[8]报道,低浓度的 HBsAg 可能与 S 基因的变异和自身免疫状况有关。临床实验室在遇到超过检测下限的可疑标本时,应进一步用其他方法测定。

TRFIA 是以抗原抗体反应与铜系元素螯合物被激发后产生特异荧光相结合的近代荧光技术,具有高特异度,高敏感度,不污染环境等优点。ELISA 方法中,HBeAb 和 HBcAb 采用竞争一步法测定,其方法上的局限性和人为因素的干扰相对较多,而 TRFIA 方法操作自动化,避免了孵育时间、温度及手工加样等因素的干扰,因而测定结果相对更为客观、准确<sup>[9]</sup>。但由于标记物易受环境中粉尘污染而造成假阳性的可能,因而也需要进一步完善和优化。

参考文献

[1] 祝继华,严立,陈瀑,等. ELISA 法在检测乙肝标志物中的  
• 临床研究 •

应用和评价[J]. 重庆医科大学学报,2009,34(10):1397-1399.  
[2] 王兰兰,柳永和,李双庆,等. 临床免疫学和免疫检验[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2003:248-250.  
[3] 李先莉. 时间分辨免疫荧光技术在乙型肝炎病毒标志物测定中的应用[J]. 检验医学与临床,2012,9(5):602-603.  
[4] 王鸿利,仲人前,陈丽梅,等. 实验诊断学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:226-227.  
[5] 骆抗先. 乙型肝炎的基础与临床[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2012:228-231.  
[6] 胡晓燕,吴明辉. 重视血清乙肝标志物少见模式的临床意义[J]. 临床和实验医学杂志,2009,8(8):127-128.  
[7] 秦雯,胡大春,肖利华. 时间分辨荧光法检测乙型肝炎病毒血清标志物的检出限探讨[J]. 检验医学与临床,2015,12(1):34-36.  
[8] 成军,孙长贵,陈瑜,等. 时间分辨荧光免疫技术检测乙肝两对半的临床应用价值[J]. 中国卫生检验杂志,2009,19(5):1081-1084.  
[9] 张立营,陈朴,彭宇生,等. 时间分辨荧光免疫技术在检测 HBV 血清学标志物中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(21):2939-2940.

(收稿日期:2016-03-15 修回日期:2016-04-18)

妊娠早期女性甲状腺功能检测的临床意义

黄碧云,黄伟刚,石 胜,陈荣策  
(广东省江门市人民医院检验科 529051)

**摘 要:**目的 检测妊娠早期女性甲状腺功能,探讨妊娠早期甲状腺疾病的发生和对妊娠结局的影响。方法 选择 656 例妊娠早期女性作为妊娠组,100 例非妊娠女性作为对照组,使用电化学发光法检测两组女性血清三碘甲状腺原氨酸(T3)、甲状腺素(T4)、游离三碘甲状腺氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)以及促甲状腺素(TSH)的水平,比较两组间的差异。结果 妊娠组甲状腺疾病发生率高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );无甲状腺功能紊乱的妊娠组,T4、FT4 水平显著低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),其他 3 项指标比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 妊娠早期甲状腺疾病患病率高于非妊娠期健康育龄女性,妊娠并发甲状腺功能异常严重影响母婴健康,对孕妇进行定期甲状腺功能筛查对于改善母儿结局,提高人口素质具有重要意义。

**关键词:**妊娠早期; 甲状腺功能; 甲状腺激素  
**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2016.13.060

**文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)13-1879-02

育龄女性是甲状腺疾病的高发人群。有报道认为,妊娠期女性若出现甲状腺功能异常,极易引起胎儿在母体发育不良,造成胎儿生长受限、脑重量减少、脑皮质变薄、流产、宫内缺氧、死胎等现象,同时还会造成新生儿智力低下、发育不良、神经发育障碍等,严重者甚至出现新生儿甲状腺功能亢进(甲亢)等<sup>[1-2]</sup>。因此,孕妇应在妊娠 8 周前,甚至计划妊娠前检查甲状腺功能<sup>[3]</sup>,以早期诊断早期治疗,降低母婴不良后果发生。本

研究通过对妊娠早期女性甲状腺功能检测,了解妊娠早期女性甲状腺功能状况,探讨妊娠早期甲状腺疾病的患病率,以及对妊娠结局的影响,现报道如下。

1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2014 年 1 月至 2015 年 12 月于本院就诊的 656 例妊娠早期女性作为妊娠组,年龄 22~39 岁,平均(25.5±2.6)岁,孕周小于或等于 12 周,排除甲状腺疾病史和