

- [4] 李志国,周霞,文贵斌.急性脑梗死患者血清同型半胱氨酸水平与炎性因子、神经因子及NO代谢的相关性[J].海南医学院学报,2017,23(10):1431-1433,1437.
- [5] 中华医学会神经病学分会.中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国急性缺血性脑卒中诊治指南2014[J].中华神经科杂志,2015,48(4):246-257.
- [6] BOS D, VAN DER RIJK M J, GEERAEDTS T E, et al. Intracranial carotid artery atherosclerosis: prevalence and risk factors in the general population[J]. Stroke, 2012, 43(7):1878-1884.
- [7] 陈大伟,王建昌.动脉粥样硬化传统危险因素测量方法的研究进展[J].中华保健医学杂志,2013,15(3):282-284.
- [8] VAN DER VALK F M, VAN WIJK D F, STROES E S. Novel anti-inflammatory strategies in atherosclerosis[J]. Curr Opin Lipidol, 2012, 23(6):532-539.
- [9] 王建伟,郭蓉娟,刘雪梅,等.从NOX4与炎性因子角度探讨清热,活血组分联用治疗缺血性脑卒中火毒证大鼠脑组织损伤的机制[J].北京中医药,2017,36(7):594-599.
- [10] FANG P, ZHANG D, CHENG Z, et al. Hyperhomocysteinemia potentiates hyperglycemia-induced inflammatory monocyte differentiation and atherosclerosis[J]. Diabetes, 2014, 63(12):4275-4290.
- [11] 董燕燕,陈光亮.高同型半胱氨酸血症危害及致病机制研究进展[J].中国药理学通报,2014,30(9):1205-1208.
- [12] 卢冠军,杨安宁,蔡欣,等.Hcy对动脉粥样硬化小鼠肝脏·短篇论著·
- [13] 岳伟,吴昊,石志鸿,等.血浆同型半胱氨酸水平与急性缺血性脑卒中患者的卒中复发及死亡关系的研究[J].中华神经医学杂志,2016,15(7):654-659.
- [14] 孔繁亮,陈小艳,陈缙,等.同型半胱氨酸引起血小板聚集率升高对心血管疾病的影响[J].广东医学,2016,37(13):1948-1951.
- [15] 靳宗伟,党福欣,代金占,等.血清尿酸、颈动脉硬化与脑梗死严重程度的相关性探讨[J].湖南师范大学学报:医学版,2016,13(6):14-16.
- [16] 张东平,李淮玉.颈动脉粥样硬化斑块性质、血清hs-CRP水平在脑梗死发病预测及病情判定中的应用[J].山东医药,2013,53(47):53-55.
- [17] 刘君,万云高,孙志媛,等.同型半胱氨酸与心脑血管疾病相关性研究进展[J].中华临床医师杂志:电子版,2012,6(1):116-120.
- [18] 焦艳,金蓉,张宗华,等.缺血性脑卒中患者颈动脉狭窄程度与同型半胱氨酸相关性分析[J].国际生物医学工程杂志,2015,38(2):91-94.
- [19] 薛国华,马惠芳,张守彦.非ST段抬高型急性冠脉综合征患者血清Hcy、hs-CRP与冠状动脉斑块易损性的关系[J].实用医学杂志,2016,32(19):3241-3244.

(收稿日期:2018-01-12 修回日期:2018-04-20)

## 时间分辨免疫分析检测乙型肝炎病毒的临床评价<sup>\*</sup>

岳建云<sup>1</sup>, 谢富佳<sup>2</sup>, 朱平<sup>1</sup>, 张文敬<sup>1</sup>, 李斌<sup>2</sup>, 鲁彦<sup>1△</sup>

(1. 解放军第一医院检验科, 甘肃兰州 730030; 2. 兰州大学第一医院, 甘肃兰州 730000)

**摘要:目的** 与酶联免疫吸附试验(ELISA)法比较,对时间分辨荧光免疫分析技术(TRFIA)定量检测乙型肝炎病毒标志物血清学指标[表面抗原(HBSAg)、表面抗体(HBSAb)、e抗体(HBeAb)和核心抗体(HBcAb)]进行临床评价。**方法** 采用TRFIA法和ELISA对56份临床标本同时测定,比较2种方法测定结果的差异和相关性。**结果** TRFIA检测HBSAg、HBSAb、HBeAb和HBcAb的结果分别为0.80、4.80、0.20、0.90 mIU/mL,ELISA检测结果分别为0.20、0.27、1.00±0.72、0.83。TRFIA检测乙型肝炎病毒(HBV)4项血清学指标的阳性率均为100.0%,ELISA检测HBV相应指标的阳性率分别为96.2%、93.3%、100.0%、100.0%,经配对资料 $\chi^2$ 检验,2种测定方法测定HBsAb时差异有统计学意义( $P<0.05$ )。2种方法检测结果有相关性,Kappa一致性检验表明2种检测方法检测结果具有一致性( $P<0.05$ )。**结论** TRFIA对乙肝的临床诊断和疗效观察提供了可靠的实验依据,是一种理想的定量检测方法。

**关键词:**时间分辨荧光免疫分析; 酶联免疫吸附试验; 乙型肝炎; 病毒标志物; 相关性

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.16.038

**文章编号:**1673-4130(2018)16-2066-03

**中图法分类号:**R446.11+9

**文献标识码:**B

乙型肝炎病毒(HBV)感染是常见的感染性疾病之一,据世界卫生组织报道,全球约20亿人曾感染过

HBV,每年约100万人死于HBV感染所致肝衰竭、肝硬化和原发性肝癌等<sup>[1]</sup>。我国是乙型肝炎高发国,

\* 基金项目:兰州大学中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(lzujbky-2010-146)。

△ 通信作者,E-mail:lu73free@gmail.com。

本文引用格式:岳建云,谢富佳,朱平,等.时间分辨免疫分析检测乙型肝炎病毒的临床评价[J].国际检验医学杂志,2018,39(16):2066-2068.

乙型肝炎发病率居传染病首位<sup>[2]</sup>。乙型肝炎的诊断、治疗和预防有赖于 HBV 血清学指标[表面抗原(HBsAg)、表面抗体(HBSAb)、e 抗原(HBeAg)、e 抗体(HBeAb)、核心抗体(HBcAb)]检测。HBV 血清学指标的早期检测对于乙型肝炎的诊断和预防意义重大。

目前国内检测 HBV 血清学指标物的最常用的方法是酶联免疫吸附试验(ELISA)法和金标法<sup>[3]</sup>。金标法敏感性低,但能灵活、方便检测单个标本,在乡镇卫生院等小的医疗机构使用方便。ELISA 法是目前应用最广泛的检测 HBV 血清学标志物的方法。但 ELISA 法敏感性为 pmol 级别( $10^{-12}$ ),且受到钩状效应影响<sup>[4-5]</sup>,检测窗口期长,易造成 HBV 感染漏诊。这些问题,促进了化学发光法、时间分辨等新的、高灵敏的免疫学技术开始用于 HBV 血清学标志物的检测。化学发光法、时间分辨等方法的使用大大提高了 HBV 血清学标志物的检测灵敏度,缩短了检测窗口期。本科室 2012 年底新进了 1 台新波时间分辨荧光免疫分析(TRFIA)仪器,用于检测 HBV 血清学指标物。本研究以 ELISA 法为对照,收集了 26 份“小三阳”患者和 30 名健康体检者的血清,分别用 2 种方法检测 HBsAg、HBSAb、HBeAb 和 HBcAb,以初步评价 TRFIA 的临床应用价值,报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 为随机选择本院住院或门诊患者 56 例,年龄、性别不限,空腹抽取静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 5 min 分离血清,4 ℃ 储存备用。

**1.2 仪器与试剂** 上海新波品牌 TRFIA 分析仪(ANYTEST NE),使用设备配套试剂。HBsAg(批号:8600010119)、HBSAb(批号:8600009990)、HBeAb(批号:8600009990)和 HBcAb(批号:8600009990)。TRFIA 由经过培训的熟练技师操作。测定前用试剂盒内配套乙型肝炎线性参比品制定标准曲线,并由 Anytest2003 中文软件得出其各标准曲线皆符合工作要求(RESP 的 CV% 与 CONC 的 CV% 均小于 5%)。ELISA 试剂盒为上海科华生物技术有限公司产品,国产 Rayto RT-6100 酶标仪检测。

**1.3 方法** 对 56 份标本同时用 TRFIA 和 ELISA 两种方法进行检测。所有的操作均由操作熟练的专门技术人员严格按照操作规程进行。测定结果 cut-off 值见表 1。

表 1 ELISA 和 TRFIA 检测 HBsAg、HBSAb、HBeAb 和 HBcAb 的临界值

项目	ELISA 阳性	TRFIA 阳性
HBsAg	$\geq 1.0$	$\geq 0.2 \text{ mIU/mL}$
HBSAb	$\geq 1.0$	$\geq 10 \text{ mIU/mL}$
HBeAb	$\leq 0.05$	$\geq 0.2 \text{ mIU/mL}$
HBcAb	$\leq 0.05$	$\geq 0.9 \text{ mIU/mL}$

**1.4 统计学处理** 经 Kolmogorow-Smirnov 检验,除 ELISA 检测 HBeAb 数据外( $Z=2.401, P=0.267$ ),其余数据均不符合正态分布(ELISA 检测 HBsAg、HBSAb、HBeAb 和 HBcAb 的 Z 值分别为 2.380、1.778、1.309; TRFIA 检测 HBsAg、HBSAb、HBeAb 和 HBcAb 的 Z 值分别为 2.280、1.816、2.401、2.373,  $P<0.05$ )。因此,除 ELISA 检测 HBeAb 的结果采用  $\bar{x} \pm s$  表示外,其余数据采用中位数表示。连续数据 2 种方法检测结果比较采用配对比较的秩和检验,阳性率的比较采用配对资料的  $\chi^2$  检验,一致性采用 Kappa 一致性检验,Spearman 和二元变量比较两种方法的相关性,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 TRFIA 及 ELISA 检测 56 例 HBV 血清标志物阳性率的结果** TRFIA 及 ELISA 两种方法检测 56 例 HBV 血清标志物结果,见表 2。TRFIA 检测乙肝血清标志物 HBsAg、HBSAb、HBeAb、HBcAb 的阳性率均为 100.0%,ELISA 检测乙肝血清标志物的阳性率分别为 96.2%、93.3%、100.0%、100.0%。四格表  $\chi^2$  检验结果表明 2 种方法测定 HBsAb 时,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),测定 HBsAg、HBeAb、HBcAb 时 2 种方法差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 3。

表 2 TRFIA 和 ELISA 检测 26 例乙型肝炎患者和 30 例健康人 HBV 血清标志物的结果

指标	ELISA		TRFIA	
	阳性数	阴性数	阳性数	阴性数
HBsAg	0.20		0.80 mIU/mL	
HBSAb	0.27		4.80 mIU/mL	
HBeAb	1.00±0.72		0.20 mIU/mL	
HBcAb	0.83		0.90 mIU/mL	

表 3 TRFIA 和 ELISA 检测 26 例乙型肝炎患者和 30 例健康人 HBV 血清标志物的符合率

指标	TRFIA		ELISA		结果符合率(%)	P
	阳性数 (n)	阴性数 (n)	阳性数 (n)	阴性数 (n)		
HBsAg	26	0	25	1	96.2	0.193
HBSAb	15	15	14	16	93.3	0.000
HBeAb	26	0	26	0	100.0	1.000
HBcAb	26	0	26	0	100.0	1.000

**2.2 TRFIA 和 ELISA 检测结果的相关性分析** 散点图显示 TRFIA 和 ELISA 检测 HBsAg、HBSAb、HBeAb、HBcAb 的结果之间具有相关性,见图 1。Kappa 一致性检验 HBsAg、HBSAb、HBeAb、HBcAb 结果分别为 0.97、0.93、1.00、1.00( $P<0.05$ ),表明 2 种方法检测结果具有一致性。

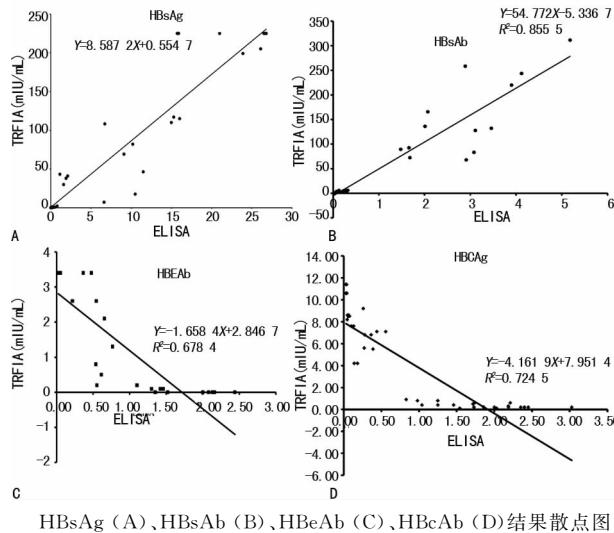


图 1 TRFIA 和 ELISA 检测

### 3 讨 论

ELISA 是以酶标记抗体或抗原的免疫标记技术, 操作简便快速, 在临床检验中使用非常广泛。ELISA 仅凭肉眼就可以直接定性判断结果, 因此非常适合于在基层医院或基层医疗机构。ELISA 定量检测有赖于酶标仪。ELISA 反应体系中, 除了抗原抗体的性能之外, 酶的纯度、活性均对实验的准确性有影响。反应过程中, 反应的时间、温度控制也容易影响检验结果, 导致 ELISA 稳定性欠佳<sup>[6]</sup>。ELISA 最大的缺点在于敏感度只能达到  $10^{-12}$  mol/L, 不利于疾病的早期诊断与治疗。

TRFIA 采用镧系元素铕( $\text{Eu}^{3+}$ )螯合物标记抗体,  $\text{Eu}^{3+}$ 具有较长的荧光寿命, 利用时间分辨荧光分析仪延缓测量时间, 可排除标本中非特异性荧光的干扰, 实现“零”本底测试<sup>[7-10]</sup>。另外, 标记物体积小, 保证了被测物质的稳定性; 标记物可多次激发, 减少了偶然误差, 提高检测准确度; 特有的荧光解离增强技术可使有效荧光增强, 提高了检测灵敏度, 对 HBsAg 的最小检测限可达  $0.05 \text{ ng/mL}$ <sup>[11]</sup>。因此, TRFIA 具有零本底、灵敏度高、线性范围宽、特异性强、可进行定量分析、标准曲线稳定性好、应用范围广等优点<sup>[12-13]</sup>。

本研究中, 通过四格表  $\chi^2$  检验, TRFIA 检出 HBsAg、HBsAb 的阳性率高于 ELISA, 分析原因可能是 TRFIA 的灵敏度高于 ELISA。在实际工作中, 在部分乙型肝炎患者标志物浓度极低时, 低于 ELISA 的检测限, ELISA 检测不出, 易出现比色阳性灰区<sup>[14]</sup>, 但 TRFIA 能较准确定量检出低浓度 HBV 标志物, 给乙型肝炎的临床诊断和疗效观察提供可靠的实验依据。

### 4 结 论

TRFIA 是一种灵敏、可靠的定量检测方法, 与 ELISA 方法高度相关且检测结果具有一致性, 可作为乙肝诊断和筛查的一种常规方法, 能为乙肝治疗的疗效提供科学依据。

### 参考文献

- [1] WHO. World health statistics 2012 [M]. Geneva: World Health Organization, 2012.
- [2] 郭芙蓉, 吐尔地·卡孜, 吴超, 等. 2012—2016年病毒性肝炎发病及死亡趋势分析 [J]. 中国地方病防治杂志, 2017 (6): 672-673.
- [3] 吕荣敏. 时间分辨免疫荧光法检测乙型肝炎病毒血清标志物的研究 [J]. 检验医学与临床, 2014, 11 (22): 3151-3152.
- [4] 单桂秋, 李秋生, 肖韶英. 检测乙型肝炎表面抗原的一步法试剂的钩状效应分析 [J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25 (2): 42-43.
- [5] 崔曼曼, 龚连生. 两种方法测定乙型肝炎血清学标志物的结果分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22 (8): 1750-1751.
- [6] 段正军, 徐杰, 田鹏飞. 时间分辨荧光免疫法测定乙型肝炎病毒标志物 [J]. 检验医学与临床, 2007, 4 (11): 1057-1058.
- [7] 谭玉华, 曾华, 魏绍静, 等. 时间分辨荧光免疫法乙型肝炎病毒 e 抗原定量测定试剂盒的研制与性能评价 [J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33 (18): 2242-2244.
- [8] 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.
- [9] 宁明哲, 童明庆. 稀土元素铕标记技术的应用研究 [J]. 临床检验杂志, 2004, 22 (4): 313-315.
- [10] 王丽萍. 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探究 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36 (7): 994-995.
- [11] 朱艳冰, 李庆阁, 王桂兰, 等. 新型铕络合物用于 HBsAg 的时间分辨荧光免疫检测 [J]. 标记免疫分析与临床, 2002, 9 (3): 157-160.
- [12] REN Z Q, LIU T C, HOU J Y, et al. A rapid and sensitive method based on magnetic beads for the detection of hepatitis B virus surface antigen in human serum [J]. Luminescence, 2014, 29 (6): 591-597.
- [13] 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.
- [14] 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.

(收稿日期: 2018-01-14 修回日期: 2018-04-22)