



ELISA 法和电化学发光免疫法检测血清 HBsAg 的对比分析

黄志敏 (湖南省汨罗市中医院 湖南汨罗 414400)

摘要:目的 对比分析酶联免疫吸附试验(ELISA)和电化学发光免疫法(ECLIA)检测血清乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)结果。方法 选取400例血液样本分别使用ELISA与ECLIA方式检测,将TRFIA检测结果作为金标准,对比、分析检测结果。结果 ECLIA灵敏度、准确度、特异度、阴性预测值均远高于ELISA。结论 ECLIA检测血清HBsAg具有更高的灵敏度、准确度、特异度,具有临床应用价值。

关键词:酶联免疫吸附试验 电化学发光免疫法 血清乙型肝炎病毒表面抗原

中图分类号:R446.62 **文献标识码:**A **文章编号:**1009-5187(2018)09-051-02

乙型肝炎病毒(HBV)感染为世界性健康问题,尤其在亚洲地区,具有更高的发生率^[1]。血清乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)能够反映出机体对乙型肝炎病毒的血清学表现,可指导乙肝临床分型、监测病情与预后效果判断^[2]。统计资料显示,我国HBsAg携带率接近8%,严重威胁国民健康^[3]。本次研究将对酶联免疫吸附试验法(ELISA)和电化学发光免疫法(ECLIA)检测血清HBsAg的结果进行对比。报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源

从2017年1月至2017年6月期间在我院体检中心接受检验的血液标本中抽取400例。血液标本均为在空腹12h以上状态时抽取2~3ml静脉血,在室温下放置30至45min,防止出现溶血问题,离心机离心5min后将血清分离,在-20℃环境下保存。

1.2 方法

分别使用ELISA与ECLIA检测。

ELISA检测:使用ELISA试剂盒(上海格敏生物科技有限公司提供)、酶标仪(anthos2010)检测。

ECLIA检测:使用ECLIA试剂盒(上海恒远试剂盒公司提供)、全自动电化学发光检测仪(RocheE170)检测。

使用时间分辨荧光免疫分析(TRFIA)确认检测结果:使用时间分辨荧光计(上海互幅科学仪器有限公司提供)检测。

1.3 研究指标

TRFIA检测,基于标准曲线对测试样本浓度进行计算,阳性:浓

度 $\geq 0.5\text{ng/ml}$,阴性:浓度 $< 0.5\text{ng/ml}$;ELISA检测时,阳性: $S/CO \geq 1.0$,阴性: $S/CO < 1.0$;ECLIA检测时,阳性: $S/CO \geq 1.0$,阴性: $S/CO < 0.9$ 。分析比较ELISA与ECLIA价值,共包括灵敏度、准确度、特异度、阳性和阴性预测值,灵敏度=真阳性/(真阳性+假阴性);准确度=(真阳性+真阴性)/总例数;特异度=真阴性/(假阳性+真阴性);阳性预测值=真阳性/(真阳性+假阳性);阴性预测值=真阴性/(真阴性+假阳性)。

2 结果

2.1 TRFIA 检测结果

使用TRFIA检测结果显示HBsAg阳性为395例,构成比为98.75%。

2.2 ELISA 与 ECLIA 检测结果

在395例经TRFIA检测为阳性的标本中,ELISA与ECLIA检测为阳性的分别有355例、390例;在5例经TRFIA检测为阴性的标本中,ELISA与ECLIA检测为阴性的分别有4例、1例。不同诊断方法的“四表格”统计结果见表1,诊断价值分析结果见表2,可知ECLIA灵敏度、准确度、特异度、阴性预测值均远高于ELISA。

表1:对比HBsAg不同检测方式结果

诊断方法		TRFIA 检测结果	
		阳性	阴性
ELISA	阳性	355	4
	阴性	40	1
ECLIA	阳性	390	1
	阴性	5	4

表2:不同检测方式价值分析

诊断方法	灵敏度	准确度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
ELISA	89.87 (355/395)	89.00 (356/400)	20.00 (1/5)	98.89 (355/359)	2.43 (1/41)
ECLIA	98.73 (390/395)	98.50 (394/400)	80.00 (4/5)	89.51 (390/391)	44.44 (4/9)

3 讨论

在当前人们对健康逐渐重视的背景下,临床上对乙型肝炎病毒定量检测的重视力度也逐渐加强。现阶段临床上通常使用ELISA检测血清HBsAg,操作简便、价格低廉,能够应用到乙肝病毒大批量筛查中,在诊断乙型肝炎、观察治疗效果中可发挥一定作用。但是该种方式只能进行定性分析,由于被检测抗原抗体定性结果“非阳即阴”的影响,经常出现检测结果假阳性或假阴性问题,不仅会加大临床诊断难度、延误治疗时机,还会给输血、应用血制品的顺利进行造成阻碍。随着检验医学发展速度的逐渐加快,定性检测已经不符合当前临床诊断与治疗的要求,探究新型检测方式具有重要的临床意义。

本次研究中,ECLIA灵敏度、准确度、特异度、阴性预测值均远高于ELISA。提示相较于ELISA检测,ECLIA检测血清HBsAg具有更高的灵敏度、准确度、特异度。临床中使用率较高的ELISA方式虽然能够获取一定检出率,操作简单、经济成本低,特别适用于大批量检测,但是在操作中容易被多种因素影响,主要包括:溶血因素、自身抗体、内源性物质等,检测结果可能出现假阳性问题;该种检测方式还存在钩状效应。例如,若血液检测标本中HBsAg浓度较高,高浓度HBsAg结合固相抗体、酶标抗体,出现显色过浅或不显色,造成漏检,得出假阴性结果;试剂盒平衡时间不足,导致试剂混合不均匀,孵育

标本的时间有所缩短,导致试剂反应不够充分;温育、显色时间不足;边缘效应的发生;ELISA试剂盒本身特点容易出现加样错误、加试剂时不均等、各个孔间发生交叉污染、操作人员熟练度不足、洗板清洁度不足、洗液发生污染、血清未经稀释出现非特异性反应、实验程序设置不合理、仪器出现故障等多方面因素。虽然能够适当稀释标本然后进行重新测定,但是操作性不强,还会浪费检测时间与医疗资源。ECLIA检测方式将发光系统与免疫反应结合起来,对抗原或抗体进行检测,属于新型的标记免疫技术,相较于放射免疫、酶免疫与化学发光免疫等更有明显的优势^[4]。该种检测方式操作方便、试剂有效期更长,并且提升了检测速度、线性范围、应用范围,还能达到 0.05ng/ml 的敏感性,直观了解患者血清标志物水平,有效弥补了ELISA只能实现定性检测的劣势。ELISA检测时,需要超过 0.5ng/ml 酶标才会呈现出阳性。TRFIA检测时将抗原-抗体反应结合荧光物质发光、时间分辨技术,不仅能够提升检测信号的特异性,还能达到 $5 \times 10^{-14}\text{mol/L}$ 的灵敏度^[5]。

综合以上内容,在血清HBsAg检测中,使用ECLIA检测检出率、敏感度更高,具有临床使用价值。

参考文献

(下转第53页)



占 19.42%; III型: 起源于闭孔动脉, 13 例, 12.62%; IV型: 起源于阴部内动脉, 27 例, 占 26.21%; V型: 其他起源, 6 例, 占 5.83%。与邻近脏器动脉有吻合支者共有 57 支 (55.3%, 57/103): 与膀胱下动脉分支吻合 8 支, 与阴部内动脉吻合 25 支, 与直肠动脉吻合 24 支, 与阴部内动脉、直肠动脉均有吻合 6 支, 另在前列腺体内与对侧 PA 吻合 63 支。

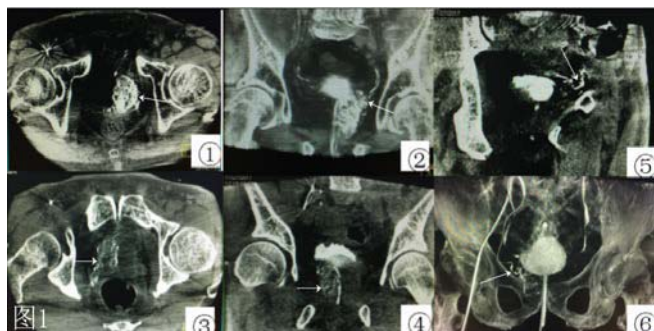


图 1: ①三维重建横断位左侧前列腺组织 (白色箭头所示) 对比剂强化, ②三维重建冠状位左侧前列腺组织 (白色箭头所示) 对比剂强化, ③三维重建横断位右侧前列腺组织 (白色箭头所示) 对比剂强化, ④三维重建冠状位右侧前列腺组织 (白色箭头所示) 对比剂强化, ⑤三维重建后矢状位显示该动脉为膀胱上动脉 (白色箭头所示), ⑥三维重建后冠状位显示该动脉为右侧 PA (白色箭头所示)

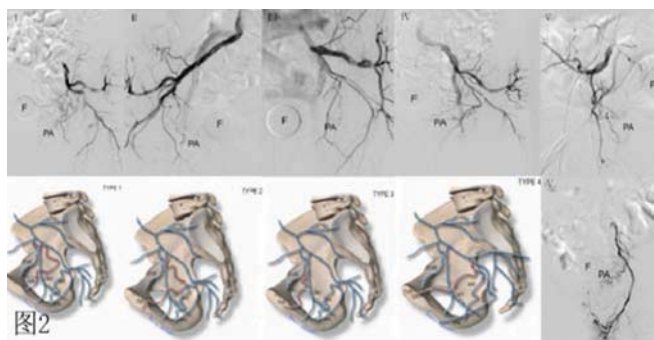


图 2: I 型: 起源于髂内动脉前分支, 与膀胱上动脉共干; II 型: 起源于髂内动脉前分支, 位于膀胱上动脉下并与其平行发出; III型: 起源于闭孔动脉; IV型: 起源于阴部内动脉; V 型: 其他起源如起源于髂上支、两支前列腺动脉供血。其中图片 TYPE1-4 引自文献 3。

3 讨论

已有的研究证实^[4], PAE 是治疗因前列腺增生导致尿道梗阻的一种安全有效的治疗方法, 能显著减少前列腺体积, 尤其能改善重度前列腺增生^[5]导致下尿路梗阻的症状。目前在 PAE 操作技术上最大的挑战就是 PA 的辨认和精准的超选择插管^[6]。PA 主要起源于膀胱上动脉、闭孔动脉、阴部内动脉等, 与邻近器官动脉分支吻合的发生率达 55.3%^[7], 包括与膀胱下动脉、阴部内动脉、直肠动脉、对侧前列腺动脉等吻合。由于 PA 正常解剖变异较复杂, 为准确寻找 PA 导致手术时间明显延长, 患者和术者的辐射暴露剂量明显增多^[8]。笔者的结果显示, 虽然 92 (89.32%) 支 PA 根据常规 DSA 造影结果可识别, 但另 11 (10.68%) 支 PA 经 8sDR 图象后处理三维重建图像排除了常规 DSA 造影结果的误判, 且 8sDR 图象后处理三维重建图像能清晰的显示前列腺邻近器官组织的对比剂强化。因此行 PAE 术前, 为了明确 PA 超选

择是否成功需常规行 8sDR 图象后处理, 可避免周围脏器异位栓塞并发症的发生。术前予前列腺动脉 CTA^[9] 和 MRA^[10] 亦可评估 PA 与周围脏器的吻合, 但此类相关文献报道不多。

目前国内外没有解剖学上关于 PA 的分类, 2015 年 De Assis AM^[3] 根据 PA 的起源于髂内动脉前分支、闭孔动脉、阴部内动脉等相关血管, 将 PA 分为五型: I 型占 28.7%; II 型占 14.7%; III 型占 18.9%; IV 型占 31.1%; V 型占 5.6%。笔者与其结果不一致, 考虑可能与本研究的局限性有关: 本研究是一个单中心回顾性数据分析, 平均年龄较大, 且病例数较少。尽管有这些局限性, 但笔者认为了解正常的 PA 和解剖变异的 PA 对于 PAE 技术非常重要, 因此建议常规 DAS 检查造影初步识别 PA 后, 需行旋转 DSA 和 3D DSA 三维重建技术通过观察前列腺组织对比剂是否有强化而进一步证实 PA 超选择成功, 从而避免了因超选择不当导致非靶血管的异位栓塞或损伤其他血管, 特别对于有合并症的老年患者。同时缩短术者的操作时间, 减少患者和术者的辐射暴露剂量。

综上所述, 旋转 DSA 技术和 3D DSA 三维重建技术对识别 PA 的起源及其与周围脏器动脉的吻合支有很重要的价值, 为 PA 的精准栓塞提供了更多的影像学指导信息。

参考文献

- [1] Bilhim T, Tinto HR, Fernandes L, et al. Radiological anatomy of prostatic arteries[J]. Tech Vase Interv Radiol, 2012, 15(4): 276-285.
- [2] 陶瑞端, 张国栋, 王茂强, 等. C 臂锥形束 CT 成像在前列腺动脉栓塞术中的应用价值[J]. 中华放射学杂志. 2016, 50(3): 209-212.
- [3] De Assis AM, Moreira AM, De Paula Rodrigues VC, et al. Pelvic Arterial Anatomy Relevant to Prostatic Artery Embolisation and Proposal for Angiographic Classification[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2015, 38(4): 855-861.
- [4] Bagla S, Martin CP, Van Breda A, et al. Early results from a United States trial of prostatic artery embolization in the treatment of benign prostatic hyperplasia[J]. J Vasc Interv Radiol, 2014, 25(1): 47-52.
- [5] S. Bhatia, VK Sinha, BR Kava, et al. Efficacy of Prostatic Artery Embolization for Catheter-Dependent Patients with Large Prostate Sizes and High Comorbidity Scores[J]. J Vasc Interv Radiol, 2017, 29(1): 78-84.
- [6] Carnevale FC, Soares GR, de Assis AM, et al. Anatomical Variants in Prostate Artery Embolization: A Pictorial Essay[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2017, 40(9): 1321-1337.
- [7] 张国栋, 王茂强, 段峰, 等. 良性前列腺增生症患者的前列腺动脉解剖特点[J]. 中华放射学杂志. 2014, 48(8): 678-681.
- [8] Laborda A, De Assis AM, Ioakeim I, et al. Radiodermatitis after prostatic artery embolization: case report and review of the literature[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2015, 38(3): 755-759.
- [9] D Maclean, B Maher, M Harris, et al. Planning Prostate Artery Embolisation: Is it Essential to Perform a Pre-procedural CTA[J]? Cardiovasc Intervent Radiol, 2018, 41(4): 628-632.
- [10] Kim AY, Field DH, DeMulder D, et al. Utility of MR Angiography in the Identification of Prostatic Artery Origin Prior to Prostatic Artery Embolization[J]. J Vasc Interv Radiol, 2018 Mar; 29(3): 307-310.

(上接第 51 页)

[1] 蔡丹, 陈建明, 李慧梁, 等. 电化学发光免疫分析法检测低值 HBsAg 与乙肝五项检测结果比较[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(7): 982-983.

[2] 安静娜, 李冬冬, 陈其霞, 等. 电化学发光免疫法与酶联免疫吸附法检测乙型肝炎病毒血清标志物的结果分析[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(4): 374-376.

[3] 李宏杰, 应雄江, 鄢姣, 等. ELISA 测定 HBsAg 血清样本经化

学发光法定量检测与乳胶免疫层析法两对半检测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(6): 856-859.

[4] 荣成智, 杨冬梅, 张小莲, 等. 时间分辨荧光法与化学发光微粒子免疫法检测血清梅毒抗体的应用分析[J]. 广西医科大学学报, 2015, 32(5): 788-790.

[5] 殷琦璐, 黄秋芳. 三种不同免疫检测法对乙肝血清学标志物检测的结果对比分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(6): 682-685.