

[10] 朱一堂, 孙艳, 李福坤, 等. 脂肪肝发生与高脂血症的相关性调查[J]. 检验医学, 2006, 21(4): 165-166.
 [11] 李中南, 张进军, 赵华, 等. 糖尿病患者高尿酸血症的发生及对相关疾病的影响[J]. 中国临床保健杂志, 2010, 13(6): 113-114.

[12] 阮连生, 应圣宝, 彭振荣, 等. 老年人群高尿酸血症与代谢综合征的关系[J]. 中国临床保健杂志, 2008, 11(6): 97-99.

(收稿日期: 2011-05-15)

• 检验技术与方法 •

2 种方法在 HBsAg 检测中的评价

高海锋, 陶焕荣, 胡莉莉

(陕西省宝鸡市中心医院检验科 721008)

摘要:目的 探讨 2 种方法在检测乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)结果中的符合程度, 并查找出现差异性的原因。方法 分别采用胶体金免疫层析法(胶体金法)和酶联免疫吸附试验(ELISA)对 HBsAg 进行检测, 并对结果进行统计学分析。结果 2 种方法检测 HBsAg 阳性率无显著性差异, 阳性符合率为 97.84%。结论 胶体金法具有快速、简便、人为影响因素少等特点, 适合于无偿献血、急诊检验的初筛, 但对 HBsAg 浓度较低的样品易出现假阴性, 造成漏检。

关键词:酶联免疫吸附试验; 肝炎抗原, 乙型; 胶体金免疫层析法; 评价

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.16.036

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)16-1863-02

乙型肝炎是目前流行最广泛、危害最严重的病毒性肝炎之一^[1]。从流行病学角度来看, 要控制乙型肝炎的发病率, 从流行的 3 个环节齐下手是预防乙型肝炎发病的关键, 而切断传染源的前提是对传染源的确认, 因此, 如何早期、准确地确定乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)携带者, 是方法学研究的重点。胶体金免疫层析法(胶体金法)与酶联免疫吸附试验(ELISA)法是目前检测 HBsAg 的常用方法, 为探讨 2 种方法检测 HBsAg 阳性率的符合程度, 笔者对 2 种方法进行了比较, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2008 年 12 月至 2009 年 3 月本院门诊、住院患者及健康体检者共 3 511 例。

1.2 方法 分别采用胶体金法和 ELISA 法对 HBsAg 进行检测。

1.3 仪器与试剂 采用 DEM-3 型自动洗板机(北京拓普分析仪器有限公司), XD-711 型酶标分析仪(上海迅达医疗仪器有限公司); 胶体金免疫层析试纸条(天津中新科炬生物制药有限公司), HBsAg 诊断试剂盒(广东中山生物工程公司)。所用试剂使用均在有效期内, 且严格按照试剂盒说明书操作。

1.4 结果判断 胶体金法在反应线和质控线均出现红色判断为阳性; 仅出现一条红色质控线判断为阴性; 不出现质控线或仅出现一条反应线为红色判断为无效, 需重做。ELISA 法严格按说明书操作, 设阴性、阳性对照及空白各两孔, cut-off 值为 2.1N(阴性对照均值), $N < 0.05$ 时按 0.05 计算; 样品 OD 值小于 cut-off 值为阴性, 样品 OD 值大于或等于 cut-off 值为阳性。

1.5 统计学处理 采用 χ^2 检验对结果进行统计学分析, 以 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 采用 2 种方法同时检测 3 511 例 HBsAg 的结果, 见表 1。胶体金法检测 HBsAg 的阳性率为 5.17%(181/3 511), ELISA 法检测 HBsAg 的阳性率为 5.27%(185/3 511), 2 种方法检测的符合率为 97.84%(181/185)。经 χ^2 检验知 $P > 0.01$, 表明 2 种方法检测 HBsAg 阳性率差异无统计学意义。

2.2 将 11 例 ELISA 法测定结果阳性而胶体金法为阴性的标本重新测定, 结果 ELISA 法测定结果 10 例阳性, 1 例阴性。胶体金法在 20 min 时 5 例显示弱阳性, 反应线红色隐约可见, 延长至 30 min 时另有 4 例显示弱阳性, 2 例自始至终为阴性。

2.3 将 7 例 ELISA 法测定结果阴性而胶体金法为阳性的标

本重新测定, 结果 ELISA 法在阴性对照及空白一定的情况下, 有 4 例为弱阳性, 另有 3 例经稀释后方显示阳性。

表 1 胶体金法与 ELISA 法检测 HBsAg 结果对比 (n)

胶体金法	ELISA 法		合计
	阳性	阴性	
阳性	174	7	181
阴性	11	3 319	3 330
合计	185	3 326	3 511

3 讨论

乙型肝炎病毒(HBV)血清学标志物的检测是目前临床分型和判断患者病程及传染性的重要依据之一。及时发现 HBsAg 携带者并进行救治对控制乙型肝炎病情进展及传播流行具有重要的意义。

目前临床实验室常用检测 HBsAg 的定性方法有胶体金法和 ELISA 法, 二者的原理基本类似, 都是特异性的抗原抗体反应, 不同之处在于胶体金法标记物为胶体金, 而 ELISA 法标记物是过氧化物酶。通过上述试验可知, 胶体金法检测 HBsAg 的阳性率为 5.17%(181/3 511), ELISA 法检测 HBsAg 的阳性率为 5.27%(185/3 511), 2 种方法检测的符合率为 97.84%(181/185), 2 种方法检测 HBsAg 阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.01$)。理论上可任选其一进行检测, 但为了得到更准确的结果, 笔者分析了 2 种方法检测结果在不一致时产生假阴性及假阳性的原因, 结果显示产生不同结果的原因是多方面的。11 例 ELISA 法测定结果阳性而胶体金法为阴性的标本重新测定, 结果 ELISA 法测定结果 10 例阳性, 1 例阴性, 分析产生阴性的原因发现该孔吸光度值与 cut-off 值接近, 产生时阴时阳的结果。胶体金法在 20 min 时 5 例显示弱阳性, 反应线红色隐约可见, 延长至 30 min 时另有 4 例显示弱阳性, 可能与血清中 HBsAg 含量太低有关, 2 例 30 min 后也为阴性, 可能是由于 2 种方法检测的敏感度有差异, 胶体金法的敏感度稍低于 ELISA 法^[2-3]。就本试剂盒而言, ELISA 法检测 HBsAg 的敏感度为 0.5 ng/mL^[4], 胶体金法为 2.5 ng/mL, 胶体金法显色需要较高浓度的标记物, 而且较大直径的金颗粒才能获得较高的敏感度, 故其灵敏度受到一定限制^[5]。7 例 ELISA 法测定结果阴性而胶体金法为阳性的标本重新测定, 结果显示

ELISA 法有 4 例为弱阳性,显色很淡,其吸光度值与 cut-off 值相近。另有 3 例为阴性,吸光度值较低,但经稀释后显示阳性,原因可能是因为 HBsAg 含量过高,与包被的抗体含量相比过剩,造成抗原抗体反应的后带现象,即通常所说的“钩状效应”^[6]。这就表明,采用胶体金法可有效地防止因“钩状效应”造成的 HBsAg 假阴性的现象,与李曼等^[7]的报道相符。导致反应孔吸光度值与 cut-off 值接近而造成结果时阴时阳的因素是多方面的,笔者归纳主要有以下几方面的原因:(1)试剂的预备不够充分。在日常操作中发现,有些实验室操作人员将试剂盒从冰箱中取出来后,还没和室温平衡就直接加样反应,从而导致有效反应时间缩短,出现某些弱阳性标本检测假阴性的结果。为了避免这种因素造成的干扰,笔者建议试剂盒从冰箱中取出后应与室温平衡 30~60 min 再进行测定,以便获得更可靠的结果。(2)标本溶血、被细菌污染、保存时间过长、凝固不全以及血清某些因子过量存在曾被认为是形成这一现象的主要原因^[8-9]。因血红蛋白中含有亚铁血红素有类过氧化物酶的活性,在以辣根过氧化物酶(HRP)为标志的 ELISA 测定中,很容易吸附于固相而与 HRP 底物反应显色造成假阳性。因此,一般血液标本采集后不能用力振荡,以免发生溶血,对于本身溶血的标本应建议重新抽血或在标本备注栏注明“标本溶血”或相关说明性的文字。很多细菌都有类过氧化物酶的活性,若标本被细菌污染,可造成结果假阳性,故建议使用新鲜标本进行检测,若不能及时测定,可将标本收集在无菌试管内,3~5 d 内检测的标本可置于 4 ℃ 冰箱中,1 个月内检测的标本可置于 -20 ℃ 冰箱中,3 个月以上检测的标本则应置于 -70 ℃ 冰箱中。但标本在冰箱中保存过久,血清中 IgG 可聚合成多聚体,在用间接法测定时会致本底过深,甚至造成假阴性;对于反复冻融的标本,因产生机械剪切力而破坏蛋白质分子结构,易引起结果假阴性。标本在凝固不全时血清中含有纤维蛋白原,可使结果出现假阳性,因此,应待血液充分凝固后再离心分离血清或使用含有适当抗凝剂的采血管。(3)操作中的因素,包括加标本、样品稀释液、酶液、底物 A、B 液时滴加液量不够或过多,洗板不彻底造成非特异性反应物残留引起显色假阳性,洗液浓度不够或静置时间不够造成所谓的“花板”,温育时间长短及温育温度高低对反应及显色结果的影响等。(4)结果的判定,按说明书规定结果应在 15 min 内读取,若延长时间读取会

• 检验技术与方法 •

血液标本中葡萄糖稳定性的动态观察

史连义,张继领,谢 卫,刘继勇,杨保昌,徐 伟

(中国石油天然气集团公司中心医院检验科,河北廊坊 065000)

摘要:目的 动态观测血液标本中葡萄糖的稳定性,为葡萄糖测定标本的采集及处理提供实验依据。方法 用 NaF 管、肝素钠管、凝胶促凝管采集血样在室温或 4 ℃ 放置不同时间后分离血浆(清)测定葡萄糖。血清标本在室温放置不同时间后测定葡萄糖,观察其变化规律。结果 室温下肝素钠管中葡萄糖浓度随时间延长不断下降,NaF 管中葡萄糖浓度在前 90 min 下降与肝素钠管中一致,90~180 min 葡萄糖浓度保持稳定。凝胶促凝管中葡萄糖浓度在前 60 min 下降与在肝素管及 NaF 管中一致,但 60~150 min 葡萄糖浓度下降较前两管慢。血清标本在室温下至少保持 3 h 稳定。凝胶促凝管在 4 ℃ 放置葡萄糖浓度至少保持 3 h 不变。结论 防止血液中葡萄糖浓度降低最有效的途径不是使用 NaF 管采血而是将血样低温保存或及时分离血清(浆)。

关键词:葡萄糖; 稳定性; 标本采集

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.16.037

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)16-1864-03

做什么检验项目用什么颜色的真空采血管采血,是每个临床护士及检验人员应该掌握的基本知识。灰色帽的采血管含有 NaF(一种弱效抗凝剂,有良好的防止血糖降解作用,是血糖

检测结果出现异常而干扰结果判定。因此,在日常实际操作中应加强质量管理,增强责任心,尽量避免或减少影响 ELISA 结果的因素,为临床疾病的诊断和预后提供准确、可靠的依据。

总的来看,ELISA 法具有敏感度高、特异性好、操作简便、批量操作等优点,但其步骤繁多,易受人为等诸多因素干扰。胶体金法具有检测快速、操作简便、可单份操作、步骤单一、不需借助仪器设备、不易产生交叉污染等优点^[10],但其敏感度较 ELISA 法低。2 种方法各有其优缺点,各实验室可根据自身情况选用合适的方法,但应注意的是 2 种方法不能交替使用,否则 HBsAg 浓度较低时或因“钩状效应”造成 2 次不同的结果而误导临床,引起医疗纠纷。

参考文献

- [1] 叶维法,钟振义. 肝炎学大典[M]. 天津:天津科学技术出版社,1996:463-515.
- [2] 陈瀑,康红. 胶体金免疫层析法检测乙型肝炎的评价[J]. 临床输血与检验,2003,5(1):30-31.
- [3] 曾章新,刘文星,乐忠勇,等. 胶体金免疫层析法检测乙型肝炎表面抗原的评价[J]. 中华医学检验杂志,1999,22(6):327-329.
- [4] 周继文,戎广亚,杨守纯,等. 胶体金免疫层析法检测乙型肝炎病毒表面抗原[J]. 中华检验医学杂志,1998,21(1):30-32.
- [5] 陶其敏. 如何看待病毒性肝炎的基因诊断[J]. 中华检验医学杂志,2002,25(2):69-70.
- [6] 陈华根,刘冰. 规范使用“带现象”和“钩状效应”概念[J]. 中国输血杂志,2006,19(3):218.
- [7] 李曼,陈正徐,陈玉梅,等. 一步法测 HBsAg 产生钩状效应的原因分析及对策探讨[J]. 齐鲁医学检验,2004,15(6):64.
- [8] 陈保民. 酶免疫技术 HBsAg 中试验操作个体差异及可疑区域的界定[J]. 郑州大学学报:医学版,2007,42(5):904-905.
- [9] 钱厚民,赵江燕,张燕. 应重视 ELISA 检测 HBsAg 灰区范围内样品的复检[J]. 上海医学检验杂志,2002,17(3):156-157.
- [10] Beggs M, Novotny M, Sampedro S, et al. A self-performing chromatographic immunoassay for the qualitative determination of human chorionic gonadotrophic (HCG) in urine and serum[J]. Clin Chem, 1990,36:1084-1085.

(收稿日期:2011-05-20)

检测的优良保存剂),是中华人民共和国卫生部推荐使用的检测血糖的专用采血管^[1]。但在临床工作中如果检验肝功能等生化项目时再单独采一管血用于血糖的检验,一方面增加了护