

• 检验技术与方法 •

3 种方式检测乙型肝炎病毒前 S1 抗原的比较研究

付 杰, 蒋栋能, 蒲晓允[△]

(第三军医大学新桥医院检验科, 重庆 400037)

摘 要:目的 探讨 3 种方式检测乙型肝炎病毒前 S1(PreS1)抗原的异同,为检测方法的合理选用提供依据。方法 用全自动酶免分析仪、时间分辨荧光分析法、手工酶联免疫吸附测定(ELISA)3 种方式对乙型肝炎患者血清进行 PreS1 抗原检测;选择 PreS1 抗原强阳性血清和弱阳性血清分别用 3 种方式检测 15 次,对重复性进行比较;升高和降低反应孵育温度 $\pm 3^{\circ}\text{C}$ 检测,对阳性率进行比较。结果 3 种方式阳性检出率分别为 93.53%,92.81%,92.81%;重复性自动酶免分析仪检测强阳性和弱阳性标本的变异系数(CV)分别为 3.62%和 13.42%;时间分辨荧光分析法检测强阳性和弱阳性标本的 CV 分别为 5.10%和 7.92%,手工 ELISA 检测强阳性和弱阳性标本的 CV 分别为 11.10%和 29.88%。改变反应孵育温度 3°C ,全自动酶免分析仪测得的所有检测标本 S/CO 值下降,增大了假阴性的概率,手工 ELISA 和时间分辨荧光分析法所有检测标本的 S/CO 值升高,增大了假阳性几率。结论 全自动酶免分析仪的检出率和重复性较好,时间分辨荧光分析法次之,手工方法较差。

关键词:全自动酶联免疫吸附测定分析仪; 时间分辨荧光分析法; 酶联免疫吸附测定; 乙型肝炎病毒前 S1 抗原

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.18.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)18-2519-02

Comparison of 3 methods in the detection for hepatitis B virus PreS1 antigen

Fu Jie, Jiang Dongneng, Pu Xiaoyun[△]

(Department of Clinical Laboratory, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract:Objective To investigate the similarities and differences of 3 methods for detecting hepatitis B virus S1(PreS1), and select the appropriate method for detecting clinical samples. **Methods** The PreS1 of the serum samples from chronic hepatitis B patients were tested with enzyme immunoassay analyzer, time-resolved method and the manual method. To compare the repetition rate, select PreS1 antigen strongly positive serum and weak positive serum were detected 15 times by three methods; To compare the explicit rate, the reaction temperature was raised or lowered by 3°C . **Results** The positive rate of three methods was 93.53%, 92.81%, 92.81%. Automated ELISA reproducibility CV strong positive CV3.62%, weakly positive CV was 13.42%, CV of time-resolved method for the 2 kinds of samples were 5.10%, 7.92%, manual methods CV 11.10% 29.88%; changing the reaction incubation temperature 3°C , automatic detection ELISA all specimens S/CO value decreased, increasing the chance of a false negative. The manual methods and time-resolved detection method for all specimens S/CO values increased, increasing the chance of a false positive. **Conclusion** The detection rate and repeatability of automated ELISA were better. The time-resolved method followed and the manual methods were poor.

Key words: automatic enzyme immunoassay analyzer; time-resolved fluorescence analysis; enzyme linked immunosorbent assay; hepatitis B virus PreS1 antigen

PreS1 抗原主要存在于具有传染性的完整的乙型肝炎病毒颗粒上,在 HBV 复制时表达最多,可作为 HBV 复制的标志,对指导抗病毒治疗具有重要的临床意义^[1]。当前 PreS1 抗原检测主要有全自动酶免工作站、时间分辨荧光分析仪和手工 3 种方式^[2-4]。全自动酶免工作站是较好的检测方法,检出率高,重复性较好,检测周期短,操作自动化和标准化,减少了一系列可能人为影响因素,增加了结果的准确性;时间分辨法次之,但仪器较昂贵,试剂为配套的 2 步法检测试剂,耗时较长,不可随意更换试剂,对少量标本检测,成本较大,且对反应温度模糊,室温可为 $20\sim 25^{\circ}\text{C}$;手工方法价格低廉,但增加了工作强度,所需操作人数较其他多,而且存在加样、孵育时间等一系列人为影响因素,检测结果精确度较差^[5-9]。各医院自身条件不同,选择相对适合的检验方法开展工作就更显重要,本文就 PreS1 抗原 3 种常用检测方式进行比较,报道如下。

1 材料与方法

1.1 样本来源 血清均来自第三军医大学第二附属医院的患者,用美国雅培 I2000SR 化学发光检测仪检测乙型肝炎病毒表

面抗原 HbsAg 阳性血清 139 例,其中男性 81 例,15~88 岁,女性 58 例,18~91 岁。

1.2 仪器与试剂 Addcare Elisa800 全自动酶免分析仪:烟台艾德康公司生产;EFFICUTA;苏州新波公司生产;MB580 酶标仪:上海汇松生产,洗板机:苏州新波公司生产;PreS1 抗原检测试剂盒:武汉康珠公司生产;PreS1 抗原时间分辨法检测试剂盒:苏州新波公司生产。

1.3 方法 用 3 种方式对乙型肝炎患者血清进行 PreS1 抗原检测;选择 PreS1 抗原强阳性血清和弱阳性血清用 3 种方法检测 15 次,得出检测吸光度值与临界值的比值(S/CO 值),变异系数(CV),对重复性进行比较;改变反应孵育温度 $\pm 3^{\circ}\text{C}$,得出 S/CO 值的平均值,阴阳性个数。手工法实验过程严格按试剂盒说明书进行,手工完成加样、加试剂,洗板、读板过程分别由洗板机、酶标仪完成。全自动酶免工作站、时间分辨荧光分析仪严格按试剂盒说明书进行编程,加样、加试剂、孵育、洗板、判读结果等所有检测过程均由仪器完成。

1.4 统计学处理 所有数据经 Excel2003 统计处理,组间比

较采用配对资料 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 种方法检测 PreS1 阳性率结果比较 用全自动酶免、时间分辨法、手工方法 3 种方法分别对 139 例乙型肝炎患者血清进行 PreS1 抗原检测 3 种方式阳性检出率分别为 93.53%、92.81%、92.81%,全自动酶免分析仪的检出率较高。见表 1。

表 1 3 种方法检测 PreS1 抗原阳性检出率的比较

检测方法	阴性(n)	阳性(n)	检出率(%)
全自动酶免分析仪	9	130	93.53
时间分辨法	10	129	92.81
手工 ELISA	10	129	92.81

2.2 3 种方法检测 PreS1 重复性结果比较 时间分辨法重复性最稳定,均 $CV<8\%$;全自动酶免分析较稳定;手工方法较

差,均 $CV>10\%$,见表 2。

表 2 3 种方法检测 PreS1 重复性结果比较

检测方法	Pres1 抗原强阳性重复性		Pres1 抗原弱阳性重复性	
	S/CO($\bar{x}\pm s$)	CV(%)	S/CO($\bar{x}\pm s$)	CV(%)
全自动酶免分析	26.80 $\pm$ 0.97	3.62	2.88 $\pm$ 0.39	13.42
时间分辨法	69.92 $\pm$ 3.57	5.10	5.70 $\pm$ 0.45	7.92
手工 ELISA	23.79 $\pm$ 2.65	11.10	1.85 $\pm$ 0.55	29.88

2.3 改变反应孵育温度后 3 种方法检测 PreS1 结果比较 全自动酶免所测标本 S/CO 值均下降,增大了假阴性概率。手工方法和时间分辨法所测标本 S/CO 值均上升,增大了假阳性概率。见表 3。

表 3 3 种方法改变反应温度 3℃ 后的检测

检测方法	正常反应温度				正常反应温度+3℃				正常反应温度-3℃			
	S/CO($\bar{X}$)	阳性(n)	弱阳性(n)	阴性(n)	S/CO($\bar{X}$)	阳性(n)	弱阳性(n)	阴性(n)	S/CO($\bar{X}$)	阳性(n)	弱阳性(n)	阴性(n)
全自动酶免	20.81	53	2	0	18.68	52	1	2	17.77	53	1	1
时间分辨法	60.13	51	1	3	72.43	52	0	3	—	—	—	—
手工 ELISA	17.56	53	1	1	18.07	54	0	1	18.55	54	0	1

—:无数据。

3 讨 论

HBV 外膜蛋白包括 S、前 S2 和前 S1 3 种成分,前 S1 蛋白在病毒侵入肝细胞中起重要作用。含有前 S1 蛋白主要存在于 Dane 颗粒和管型颗粒上,前 S1 蛋白在病毒感染、装配和刺激机体产生免疫反应等方面起十分重要的作用。检测 PreS1 对了解 HBV 在乙型肝炎患者体内的感染、复制情况以及乙型肝炎病例诊断、疗效观察方面的重要作用逐渐被证实,PreS1 的持续存在表明有病毒复制和病毒颗粒存在,对指导抗病毒治疗具有重要的临床意义。

通过全自动酶、时间分辨法、手工方法 3 种方法对 139 例 HBsAg 阳性患者血清 PreS1 检测结果分析,阳性检出率分别为 93.53%、92.81%、92.81%,全自动酶免检测率较高;通过对 1 例 PreS1 抗原强阳性和 1 例 PreS1 抗原弱阳性标本进行连续 15 次检测结果分析,发现 3 种方法重复性有较大差异。全自动酶免强阳性 CV 为 3.62%,弱阳性 CV 为 13.42%;时间分辨法强阳性 CV 为 5.10%,弱阳性 CV 为 7.92%,手工方法强阳性和弱阳性 CV 分别为 11.10%、29.88%,重复性较差。通过实验可发现升高反应孵育温度 3℃,全自动酶免所有检测标本 S/CO 值均下降, $\bar{X}$ 降低 10.2%,手工方法和时间分辨法所有 S/CO 值均升高, $\bar{X}$ 分别增加 2.9% 20.4%,降低反应孵育温度 3℃,全自动酶免检测 S/CO 值均下降, $\bar{X}$ 降低 14.6%,手工方法检测 S/CO 值均升高, $\bar{X}$ 增加 5.6%,时间分辨法反应孵育条件为室温,未能做降温比对。

综上实验,可得出在 PreS1 抗原的检测中,全自动酶免工作站是较好的检测方法,检出率高,重复性较好,检测周期短,操作自动化和标准化,减少了一系列可能人为影响因素,增加了结果的准确性;时间分辨法次之,但仪器较昂贵,试剂为配套的 2 步法检测试剂,耗时较长,不可随意更换试剂,对少量标本检测,成本较大,且对反应温度模糊,室温可为 20~25℃,由实验可知温度相差 3℃ 结果就已产生较大差异;手工方法虽存在

标本采量、反应时间、反应温度掌握等方面的人为因素对实验结果有较大影响,但由于所需硬件要求较低,价格低廉,仍为许多医院使用。

总之,全自动酶免检验周期和检测率较好,但也存在仪器成本较高的劣势,时间分辨法在检出率和重复性上有较大优势,但检验周期较长和成本较高,反应温度要求模糊,对结果影响较大,手工方法在准确度和重复性上存在劣势,但成本低廉。在检测结果能够满足需要的前提下,各医院自身条件不同,选择相对适合的检验方法开展工作就更显重要。

参考文献

- [1] 丁晓琳,张伦军,刘蕴霞,等.乙型肝炎病毒前 S1 抗原检测在临床中的应用[J].中华全科医学,2012,10(1):109-110.
- [2] 王新波,魏哲.FAME 全自动酶免分析系统的应用[J].临床输血与检验,2010,12(2):187-189.
- [3] 胡妮娅,董志宁,周卓龙,等.乙肝病毒前 S1 抗原时间分辨荧光免疫分析试剂盒的研制[J].热带医学杂志,2009,9(5):471-473.
- [4] 刘伟平,殷明刚,阮艳秋,等.ELISA 手工法检测 HBsAg 的“灰区”标本复检结果分析[J].西部医学,2012,24(2):387-388.
- [5] 杨娜.酶联免疫吸附试验检测影响因素探讨[J].检验医学与临床,2010,7(22):2558-2559.
- [6] 严康峰,谢敬文.不同保存条件对 ELISA 检测结果影响的观察[J].实验与检验医学,2009,27(3):319.
- [7] 曹青梅,乔飞飞.探讨标本与固相抗体反应时间对 ELISA 法检测 HBsAg 结果的影响[J].吉林医学,2013,34(3):403-404.
- [8] 罗保红,刘振北,周仲民,等.不同预孵时间对 ELISA 检测抗-HIV、抗-HCV 的实验结果[J].柳州医学,2012,25(1):2-3.
- [9] 陈怀霞.温度对 ELISA 检测法的影响[J].中国社区医师:医学专业,2009,11(21):138.