

• 经验交流 •

时间分辨荧光免疫分析法与 ELISA 检测丙型肝炎病毒抗体的比较

王江南^{1,2}, 刘伟², 张起²

(1. 宜春职业技术学院医学院, 江西宜春 336000; 2. 江西省宜春市第二人民医院检验科 336000)

摘要:目的 探讨时间分辨荧光免疫分析法(TRFIA)与酶联免疫吸附试验(ELISA)检测丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)的临床应用价值。方法 对 189 例 HCV 疑似感染者血清标本,同时采用 TRFIA 和 ELISA 进行抗-HCV 检测。结果 在 189 例标本中,TRFIA 检测抗-HCV 阳性 53 例,ELISA 阳性 45 例,两种方法差异无统计意义($P>0.05$),符合率为 95.77%。当标本中抗-HCV 的 S/CO ≥ 2 时,两种方法差异无统计学意义($P>0.05$),但当 $1 \leq S/CO < 2$ 时,两种方法阳性检出率差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 TRFIA 检测抗-HCV 与 ELISA 相比,特异性好、灵敏度高,提高了临床检测水平,具有较高的临床应用价值。

关键词:丙型肝炎; 时间分辨荧光免疫分析法; 酶联免疫吸附试验; 丙型肝炎病毒抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.11.060

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2016)11-1579-02

丙型肝炎病毒(HCV)是丙型病毒性肝炎的病原体,常引起肝炎慢性化。据 WHO 报道:全球有 1.3~1.7 亿慢性 HCV 感染者,每年新发感染者达 300~400 万,有超过 35 万人死于 HCV 相关肝脏疾病^[1]。HCV 感染呈世界性分布,我国属丙型肝炎高发区,平均感染率约为 3.2%^[2-3]。目前,临床上常以 HCV 抗体(抗-HCV)检测作为判断患者是否为 HCV 感染的重要依据。因此,临床实验室发展特异性好、灵敏度高的检测抗-HCV 方法,对于控制 HCV 感染具有重要意义。本研究比较时间分辨荧光免疫分析法(TRFIA)和酶联免疫吸附试验(ELISA)检测抗-HCV 在 HCV 感染中的临床应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取宜春市第二人民医院 2014 年 4 月至 2015 年 10 月收治的 189 例 HCV 疑似感染者血清作为研究标本,年龄 24~75 岁,其中男 110 例,女 79 例。

1.2 仪器与试剂 TRFIA 所使用的试剂盒和时间分辨荧光分析仪(Anytest2000)均为苏州新波生物技术有限公司产品,该试验所需的纯净水由杭州天创检验分析用纯水设备(TCHS-05RO/40F)提供;ELISA 使用的试剂盒为北京万泰生物药业股份有限公司产品,酶标分析仪(DNM-9602G)为北京普朗新技术有限公司产品。

1.3 方法 对待测的血清标本分别采用 TRFIA 和 ELISA 进行抗-HCV 检测,全部检测均严格参照试剂盒说明书进行操作。当 TRFIA 测得标本中抗-HCV 荧光计数值(S)/cut off (S/CO) ≥ 1 ,ELISA 测得标本中抗-HCV OD 值/cut off ≥ 1 时,抗-HCV 结果判定为阳性;反之,结果判定为阴性。

1.4 统计学处理 数据采用 SPSS18.0 软件进行统计学处理,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检测抗-HCV 结果比较 见表 1。在 189 例待测血清标本中,TRFIA 检测结果为阳性 53 例,ELISA 检测结果为阳性 45 例,两种方法检测结果同时为阳性 45 例,TRFIA 为阳性而 ELISA 为阴性有 8 例。经 χ^2 检验分析,两种检测方法阳性结果差异无统计意义($P > 0.05$),检测结果符合率为 95.77%。

2.2 两种方法不同 S/CO 值检测抗-HCV 阳性结果比较 见表 2。将 TRFIA 测得标本中抗-HCV 的 S/CO 划分为 3 个区间。当标本中抗-HCV 的 S/CO ≥ 2 时,两种检测方法差异无

统计学意义($P > 0.05$);当 $1 \leq S/CO < 2$ 时,由于标本中抗-HCV 水平接近 ELISA 的最低检出限,ELISA 阳性检出率下降至 50%,两种检测方法阳性检出结果差异有统计学意义($P < 0.05$)。由表 2 可以看出,ELISA 阳性检出结果随标本中抗-HCV 的 S/CO 值增高而升高。

表 1 两种方法检测抗-HCV 抗体检测结果的比较

检测方法	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)
TRFIA	53	136	28
ELISA	45	144	24

表 2 不同区间两种方法检测抗-HCV 结果比较

检测方法	S/CO ≥ 10	$2 \leq S/CO < 10$	$1 \leq S/CO < 2$	
TRFIA	阳性	18	21	14
	阴性	0	0	0
ELISA	阳性	18	20	7
	阴性	0	1	7
P	>0.05	>0.05	<0.05	

3 讨论

抗-HCV 是机体感染 HCV 后出现的非中和性特异抗体,抗-HCV 呈阳性是 HCV 感染的重要辅助诊断指标,但抗-HCV 呈阴性者也不能完全排除 HCV 感染,可能是由于患者免疫功能低下或是机体内 HCV 复制不活跃,未能产生足够检出量的抗体^[4]。因此,发展一种在低水平就能检测出抗-HCV 的方法,对临床上丙型肝炎的早期诊断、早期治疗尤为重要。

ELISA 作为传统的抗-HCV 检测技术,因其具有简单、快速、方便、成本低、易于大批量检测等特点,已被广泛使用。但由于 ELISA 对“灰区”结果判读的可靠性通常较差,当机体内抗-HCV 水平较低时,容易发生漏检^[5]。本研究结果显示,采用 TRFIA 和 ELISA 检测抗-HCV 的结果符合率为 95.77%,由此说明这两种检测方法检测抗-HCV 具有较高的一致性,但当血清中抗-HCV 水平较低($1 \leq S/CO < 2$)时,ELISA 的阳性检出率仅为 50%,说明在此条件下,ELISA 的灵敏度明显不如 TRFIA,这可能是因为 ELISA 在操作中的影响因素较多,如抗体的包被质量、试剂失效、反应温度、时间及钩状效应等,造成了检测结果的假阴性。

本文采用 TRFIA 是基于双抗原夹心的非竞争性免疫分

析,检测的是血清中的抗-HCV(包括 IgG 类和 IgM 类),不受不同患者对 HCV 反应时所产生不同 IgG 亚型的限制^[6]。抗-HCV-IgG 阳性是 HCV 感染的重要指标,但其出现较晚。抗-HCV-IgM 出现较早,但主要作为丙型肝炎急性感染的辅助诊断,故同时检测 IgG 类和 IgM 类抗体有利于提高检出率,缩短 HCV 感染检出的“窗口期”^[7]。

TRFIA 使用镧系稀土元素 Eu 作为示踪物,其荧光寿命长(10~1 000 μs)且荧光强度高,而血清中的蛋白质、胆红素等发射出的非特异性荧光寿命短(一般在 1~10 ns,最长不超过 20 ns),利用这一时间差的特性,待短寿命背景荧光完全衰变后再测定镧系稀土元素螯合物的特异性荧光信号,可有效降低本底荧光的干扰;同时由于镧系稀土元素发光稳定,荧光光谱 Stokes 位移较大,很容易利用简单的滤光片把激发光和发射光分开,消除激发光的散射(由样品池、溶剂分子等引起)引起的干扰,显著提高了检测的灵敏度和特异性^[8]。另外,TRFIA 引入了生物素-亲和素信号放大系统(试剂中包含了 Eu 标记的链亲和素、生物素标记的 HCV 抗原),一个完整的链亲和素上有 4 个亚基,均能结合 1 个生物素分子,明显提高了检测的灵敏度。同时 TRFIA 分析技术属全自动检测,能够提供稳定、均一、可靠的试验条件,有效避免了由于人为因素所引起的操作误差^[9]。

综上所述,与 ELISA 相比,TRFIA 有灵敏度高,特异性强,易于自动化分析等优点,能为临床提供更准确的结果,有利于 HCV 感染的早期诊断和早期治疗,具有较高的临床应用价值。TRFIA 作为近年来发展起来的一种新的免疫检测技术,已被认为是最有发展前途的新的超微量分析技术^[10]。

参考文献

[1] 倪语星,尚红.临床微生物学检验[M].5 版.北京:人民卫

生出版社,2012;362-364.

[2] 王燕,尹秋霞,窦恒利.化学发光法和酶联免疫法作为筛选试验测定丙肝抗体的评价[J].标记免疫分析与临床,2013,20(4):246-250.
 [3] 黄秀琼,吴英.110 例丙肝患者 HCV-RNA 载量及抗-HCV 与肝功能指标的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2013,33(15):1809-1810.
 [4] 丁华,何维娜,陈望,等.3 种检测方法在丙型肝炎诊断中的临床评价[J].国际检验医学杂志,2013,34(24):3387.
 [5] 尹秀华.丙型肝炎检测方法的研究进展[J].医学理论与实践,2013,26(2):171-173.
 [6] 李保昌,孙萍,杨淑华,等.生物素化 HCV 多抗原表位融合基因的克隆及可溶性表达[J].中国实验血液学杂志,2004,12(3):359-362.
 [7] 谭玉华,孙勇,吴道贫,等.丙型肝炎病毒抗体桥式双抗原夹心时间分辨荧光免疫分析法的建立[J].中华临床医师杂志,2013,7(9):3814-3819.
 [8] 王兰兰,许化溪.临床免疫学检验[M].5 版.北京:人民卫生出版社,2012:68-69.
 [9] 王雄.时间分辨荧光免疫分析法在乙型肝炎病毒表面抗原检测中的应用[J].海南医学,2013,24(18):2693-2695.
 [10] 吴健民.临床化学自动化免疫分析[M].武汉:湖北科学技术出版社,2000:92.

(收稿日期:2016-01-23 修回日期:2016-03-26)

• 经验交流 •

肇庆地区生殖器疱疹高危人群血清学流行病学调查

帅春海¹,陈少南²

(1. 广州康都临床检验所 511442;2. 广东省肇庆市皮肤病医院检验科 526020)

摘要:目的 了解肇庆地区生殖器疱疹高危人群的血清中单纯疱疹病毒(HSV)-2 型 IgG 和 IgM 感染情况,为肇庆地区生殖器疱疹的预防和控制提供依据。**方法** 选取娱乐场所高危人群 257 例作为高危组,选取 126 例健康志愿者作为健康对照组,采集血标本采用酶联免疫吸附试验进行血清 HSV-2 型 IgG 和 IgM 检测。**结果** 高危组 IgG 阳性 62 例,IgM 阳性 13 例;正常组 IgG 阳性 4 例,IgM 阳性 0 例。**结论** 高危组 HSV-2 型 IgG 和 IgM 感染情况均较高,应对高危人群进行合适的健康教育,并且建议临床医生注意筛查,这对减少生殖器疱疹的发生及传播有十分重要的意义。

关键词:生殖器疱疹; 血清学; 流行病学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.11.061

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2016)11-1580-03

生殖器疱疹是由单纯疱疹病毒(HSV)感染泌尿生殖器及肛门部位皮肤、黏膜而引起的一种慢性、易复发、难治愈的性传播疾病,其病原体为 HSV-2 型。生殖器疱疹已成为全球最常见的性病之一,目前在欧美发达国家,生殖器疱疹是发病率位居第 3 位的性传播疾病,也是最常见的性传播生殖器溃疡性疾病^[1]。由于目前尚不能将体内潜伏感染的 HSV 彻底清除,因而该病迁延易复发。因此生殖器疱疹的感染、复发及其所产生的并发症严重危害了人们的身体健康。国内有报道生殖器疱疹对孕妇、儿童的危害日益加强,这更应该引起大家的足够重视^[2]。为了减少生殖器疱疹在肇庆地区的传染,本研究对肇庆

地区的高危人群进行了普查,现将其感染情况报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以肇庆市城区内的娱乐场所包括 KTV、桑拿、宾馆等人员血样 257 例作为高危组,其中男 55 例,女 202 例,年龄 17~45 岁。另选取 126 例健康志愿者作为健康对照组。

1.2 仪器与试剂 HSV-2 型 IgG 和 IgM 检测采用德国欧盟公司生产的 ELISA 试剂盒,严格按照试剂盒要求进行操作。酶标仪为日本 BIO-RAD Model550 酶标仪。

1.3 方法