

血清与血浆中 HBsAg 在全自动酶免分析检测结果比较

李小溪 李筱涵 郭晓东 李 波 孙志强[△]

(解放军第 302 医院 北京 100039)

摘要 目的 探讨血浆取代血清检测乙肝标志物的检测结果以及临床意义。方法 选取我科检测乙肝标志物的血样 30 份,分别放在抗凝剂管和普通干燥试管,采用全自动酶免疫分析仪检测 HBsAg,将检测结果进行 OD 及 S/CO 值统计处理,并进行比较分析。结果:血清与二种血浆检测结果相关系数均 0.99,二种血浆与血清结果相关关系良好($P>0.05$),无显著性差异。结论:血浆代替血清完全可以用于全自动酶标分析仪进行检测,既可以节省预处理时间,又可以减少标本在分离吸移血清过程中出现差错,值得临床推广和应用。

关键词 血清 血浆 HBsAg 全自动酶免分析 检测结果

中图分类号 R446.6 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)12-2345-02

Comparison of Test Results of HBsAg in Serum and Plasma by Automatic ELISA Analysis

LI Xiao-xi, LI Xiao-han, GUO Xiao-dong, LI Bo, SUN Zhi-qiang[△]

(302 Hospital of P.L.A., 100039, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the clinical significance of the plasma instead of the serum in the detection of HBV markers.

Methods: A total of 30 blood samples were selected and detected HbsAg by automatic enzyme immunoassay analyzer, The test results were statistically treated and comparatively analyzed. **Results:** Serum and plasma results of two correlation coefficients were 0.99, two kinds of relationship between plasma and serum results well ($P>0.05$), no significant difference. **Conclusion:** Plasma instead of serum enzyme fully automated analyzer can be used to detect both pre-save time and reduce the serum specimens in the process of separation pipette errors and is worthy of promotion and application.

Key words: Serum; plasma; HBsAg; Automatic enzyme immunoassay analysis; Test results

Chinese Library Classification(CLC): R446.6 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)12-2345-02

我国乙型肝炎的发病近年呈上升趋势,HBsAg 携带者是乙型肝炎的重要传染源,检测 HBsAg 是乙型肝炎的重要指标,传统的 HBsAg 检测常用血清来检测^[1],随着医学科技的进步,检测仪器现代化设备的发展,全自动酶免疫分析仪已广泛应用于临床,为探讨标本预处理快速准确的问题,我科对检测乙肝标志物的血样 30 份,分别放在两种抗凝剂管和普通干燥试管,采用全自动酶免疫分析仪检测 HBsAg,对检测结果进行分析对比,现将结果报告如下。

1 资料和方法

1.1 标本

选择我科健康体检者 10 名、乙肝复查患者 20 名,各抽取空腹血液 2 毫升,分别放入普通干燥试管和两种抗凝剂管即 K3-EDTA、50U 肝素钠,采用全自动酶免疫分析仪检测 HBsAg,等到血液收缩 1 小时后,将普通干燥试管和两种抗凝剂管以 3000r/min,分离血清 500 μ L,离心 10 min 待用。

1.2 仪器和设备

作者简介 李小溪(1986),初级技师 研究方向 临检生化、免疫等方面。

△通讯作者 孙志强(1963),主治医师 研究方向 临床检验、化学、微生物及实验室方面。

(收稿日期 2011-03-06 接受日期 2011-03-28)

采用全自动酶免疫分析仪检测 HBsAg,观察血浆取代血清检测乙肝标志物的检测结果,试剂盒使用厦门英科新创科技有限公司提供的速显 HBsAg“批批检”诊断试剂,产品批号 2002126121 所用酶标仪来自美国宝特 800 型全自动酶免疫分析仪。

1.3 方法

把操作要求的各个条件按照试剂盒附带使用说明书,严格置于酶标仪上,微孔板设“二阴二阳一对照一质控”,将检测乙肝标志物的血样 30 份的血清以及血浆在同一块微孔板进行操作,使用 620nm 和 450nm 双波长扫描,然后读取 OD 及 S/CO 值,并进行分析比较。

1.4 统计学处理

数据处理用微软 Excel,采用 SPSS13.0 软件包进行分析,OD 及 S/CO 以 $\bar{x} \pm s$ 表示,平均值的两样本分析及相关性分析,采用 t 检验。

2 结果

2.1 血清与血浆中 HBsAg 在全自动酶免分析检测结果

本组研究标本血清检测结果最小 OD 值为 0.016,最大 OD 值为 4.626,S/CO 值分别为 0.14 和 44.16,阴性对照平均值为 0.023,本酶免分析仪只报 S/CO $\geq$ 28.6。

2.2 两种血浆及血清 HBsAg 的 OD 回归方程以及相关性的

表 1 血清与血浆中 HBsAg 在全自动酶免分析检测结果(± s)

Table 1 The results of HBsAg in the serum and blood plasm by using automatic enzyme immunoassay analysis

	血清 Serum	肝素钠 Heparin sodium	K3 -EDTA
OD	1.14± 1.09	1.14± 1.12	1.18± 1.13
S/CO	10.78± 11.09	10.93± 10.77	10.08± 10.93
t		2.084	2.081
P		0.274	0.764

本组研究结果显示,血清与二种血浆检测结果相关系数均>0.99,二种血浆与血清结果相关关系良好(P>0.05),无显著性差异,完全可以代替血清用于全自动酶免疫分析仪对 HBsAg 的检测。具体见表 2。

表 2 血清及两种血浆 HBsAg 的 OD 回归方程以及相关性的

Table 2 The OD regression equation and correlation analysis about the HBsAg in serum and two kinds of blood plasm

回归方程 Regression equation	K3 -EDTA (Y1)	肝素钠 (Y2) Heparin sodium
血清 Serum (X)	Y1=1.001± 0.016	Y2=0.967± 0.048
血清 r 值 The value of r in serum	0.996	0.991

3 讨论

近年来,全自动酶免分析系统用于酶联免疫吸附试验(ELISA)检测,全自动酶免检测设备在过程处理的准确性、速度以及精密度和重复性方面均优于手工操作^[2]。酶联免疫吸附试验(ELISA)为检测乙肝血清标志物常用的检测方法,随着检验技术的发展,酶免疫分析仪全自动化,给临床检验提供了很大方便,使临床检验技术得到了很大程度的提高^[3]。酶免疫法(EIA)检测技术进行检测 HBsAg,具有操作简单、条件要求低、不需要特殊设备、消耗血量量少、检测速度快、检测结果较准确等优点,已在临床免疫学检验中得到了广泛应用^[4]。在临床检验工作中,采用全自动化酶免疫法检测 HBsAg,样品上机前的预处理是检验的重要环节,高凝状态患者的血清的分离常常反复几次才可以把纤维蛋白原分离干净,这样标本上机后极易造成吸样针堵塞,严重影响检测结果的准确性,以致导致整块微孔反应板受到污染而作废,同时由于反复剥离容易造成标本溶血,使结果的准确性受到影响^[5]。

乙型肝炎目前属病情比较严重,HBsAg 是唯一对 HBV 具抵抗力的抗体,是感染 HBV 后康复及评价疫苗接种效果的重要依据准确,无特效治疗药物,假阳性结果会对患者心理造成极大的损害。据报道^[6],抗凝血标本采用枸橼酸钠做抗凝剂,可以使 ELISA 的背景着色加深,有正向干扰作用,为了最大限度的避免检测受到多种因素的影响,我科对检测乙肝标志物的血样 30 份,分别放在抗凝剂管和普通干燥试管,采用全自动酶免疫分析仪检测 HBsAg,将检测结果进行 OD 及 S/CO 值统计处理,并进行比较分析,结果显示抗凝血标本采用 K3 -EDTA 做抗凝剂,检测结果可靠,使用抗凝血代替血清具有准确积极作用,血清与二种血浆检测结果相关系数均>0.99,二种血浆与血清结果相关关系良好(P>0.05),没有显著性差异,完全可以代替血清,但是,在抗凝剂的应用中要注意肝素抗凝剂的抗凝作用一定要完全,否则会造成标本由于不完全抗凝导致纤维蛋白原的干扰,出现拖尾现象造成假阳性。据文献建议^[7-8]抗凝血标本要做到充分离心,离心后血球层呈平面,可以直接放在酶标治

疗仪上,可以减少标本在分离吸附血清过程中出现差错,从而使上机检测的批数增加,节省预处理的时间。本组资料显示血浆代替血清完全可以用于全自动酶标分析仪进行检测,既可以节省预处理时间,又可以减少标本在分离吸移血清过程中出现差错,值得临床推广和应用。

参考文献(References)

[1] 陶义训.快速斑点免疫结合试验在医学中的应用评估[J].中华医学检验杂志,2004,17(4):197-199
Tao Yi training. Rapid dot immunobinding assay in the assessment of medical applications [J]. Journal of Medical Laboratory Technology, 2004,17 (4) :197-199

[2] 苏学良,罗·盖伦.临床生物化学实验数据处理[M].天津:天津科学技术出版社出版,2003 200-201
Su Xueliang, Romania o Galen. Clinical Biochemistry, data processing [M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Publishing House,2003:200-201

[3] 李玉笑,郑优荣,肖韶英,等. FAME 酶标分析系统在安全输血中的应用[J]. 广东医学,2004,23(5) 461-463
Li laugh, Cheng Yu Rong, Xiao Shao-ying, et al. FAME ELISA analysis system in a safe transfusion of [J]. Guangdong Medicine, 2004,23 (5) :461-463

[4] Beggs M,Novotny M,Sampedro S, et al. A self-performing chromatographic immunoassay for the qualitative determination of human chorionic gonadotrophic (HCG) in wine and serum [J].Clin chem., 2004,36(12):1084-1085

[5] 葛红卫,王鸿捷,张爱红,等. FAME 全自动酶标分析系统的应用[J]. 中国输血杂志,2005,11(3) :122-124
Ge Hongwei, Wang Hongjie, Ai-hong, et al. FAME Analysis System automatic ELISA [J]. Transfusion, 2005, 11 (3) :122-124

[6] 许斌,朱虎定. EI ISA 检测 HBsAg 影响因素的探讨[J]. 临床检验杂志,2005,18(04) 232-233
Xu Bin, Zhu Hu set. EI ISA factors of HBsAg detection [J]. Clinical Laboratory Science, 2005,18 (04) :232-233 (下转第 2206 页)

imine-PEI 的转染活性能达到甚至高于阳性对照 PEI25kDa 和市售转染试剂 Lipofectamine2000。细胞毒性实验结果证实质量比为 1-200 的范围内, Polyimine-PEI 细胞毒性显著低于 PEI25kDa, 甚至细胞存活率高于市售的转染试剂 Lipofectamine2000。Polyimine-PEI 的毒性可能与连接剂的选择, 形成的可降解碳氮双键有关(碳氮双键能够在酸性环境下降解产生小分子 PEI 从而降低细胞毒性)。

本研究给出了一种新型具有亚胺结构的聚乙烯亚胺衍生物, 其中亚胺结构使得复合物在内吞小泡遇到酸性环境快速降解从而降低了细胞毒性。进一步的研究可以进行 Polyimine-PEI 的结构优化(PEG 化降低表面正电荷^[11]), 也可以通过表面修饰兼顾体内循环和细胞靶向而提高体内细胞的摄取^[12,13]。此外我们载体也可以做为 siRNA 或 miRNA 的输送^[14-16], 同时也希望本研究能够为基因载体的构建提供新的思路和方法。

致谢

本研究受到国家自然科学基金项目 (200801198) 资助。

参考文献 (References)

- [1] Anderson WF. Prospects of Human Gene Therapy [J]. Science, 1984, 226(4673) 401-409
- [2] Chuah MK. Cutting through the obstacles and resurrecting the promise of gene therapy[J]. IDrugs, 2005.8(10): 818-821
- [3] Kaneda.Y. Gene therapy: current status and promise [J]. Nippon Yakurigaku Zasshi, 2001,117(4): 299-306
- [4] Meyer F, Finer M. Gene therapy: progress and challenges[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2001, 47(8): 1277-1294
- [5] Morille M, Passirani C, Vonarbourg A, et al. Progress in developing cationic vector for non-viral systemic gene therapy against cancer[J]. Biomaterials, 2008, 29: 3477-3496

- [6] Luten J, van Nostruin CF, De Smedt SC, et al. Biodegradable polymers as non-viral carriers for plasmids DNA delivery [J]. J Controlled release,2008, 126: 97-110
- [7] Thomas M, Ge Q, Lu JJ, et al., Cross-linked small poly (ethylene-imines): while still nontoxic, deliver DNA efficiently to mammalian cells in vitro and in vivo[J]. Pharm. Res, 2005,22:373-380
- [8] Kim YH, Park JH, Lee M, et al. Polyethylenimine with acid-labile linkage as a biodegradable gene carrier [J]. J Controlled release,2005, 103: 209-219
- [9] Kircheis R, Wightman L, Wagner E, et al. Design and gene delivery activity of modified polyethylenimines [J]. Advanced Drug Delivery Reviews,2001, 53: 341-358
- [10] Wolff JA, Rozema DB. Breaking the bonds: non-viral vectors become chemically dynamic[J], Mol. Therapy, 2008,16:8-15
- [11] Katayose S, Kataoka K. Water-soluble polycation complex associates of DNA and Poly (ethylene glycol)-poly (L-lysine) block copolymer [J]. Bioconjug Chem, 1997, 8(5):702-707
- [12] Li SD, Huang L. Gene therapy progress and prospect: non-viral gene therapy by systemic delivery [J]. Gene Ther, 2006, 13(18): 1313-1319
- [13] Dobson J. Gene therapy progress and prospects: magnetic nanoparticles-based gene delivery[J]. Gene Ther, 2006,13(4):283-287
- [14] Fire AZ. Gene silencing by double -stranded RNA (Nobel Lecture) [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2007,46:6966-6984
- [15] Lewis DL, Wolff JA. Systemic siRNA delivery via hydrodynamic intravascular injection[J]. Advance Drug Delivery Reviews,2007,59 : 115-123
- [16] Jere D, Kim JE, Arote R, et al. Akt1 silencing efficiencies in lung cancer cells by sh/siRNA transfection using a reductable polyspermine carrier[J]. J Controlled release,2008, 126: 97-110

(上接第 2346 页)

- [7] 王昕. ELISA 法检测 HBsAg 的影响因素分析[J]. 临床输血与检验,2001,3(2) 43-44
Wang Xin. HBsAg was detected by ELISA analysis of influencing factors [J]. Clinical Transfusion and Laboratory Medicine, 2001,3 (2) :43-44
- [8] 李天君,张印则. 影响 ELISA 检测结果的因素[J]. 中国输血杂志,2000,13(4) 250-251
Li Tianjun, plates are. Factors that affect the ELISA test results [J]. Transfusion Medicine, 2000,13 (4) :250-251
- [9] 郭慧芳,张文红,温冬青,等. 基于可重复利用免疫磁珠的抗体检测方法建立[J].免疫学杂志,2006(05):276-277.
Guo Huifang, Zhang Hong, Wen Dongqing, et al. Immunomagnetic bead-based reusable antibody detection of [J]. Journal of Immunology, 2006 (05) :276-277
- [10] 吕岳峰. 对 HBV 标志物的现场测试与常规室内质量评价的结果比较[J].国际检验医学杂志,2006(02):108-109
Lv Yuefeng. Of HBV markers and conventional field test chamber compared the results of quality assessment [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2006 (02) :108-109
- [11] 朱远雁,余俊平,刘涛. 加样时差对献血者 HBsAg ELISA 结果的影响[J].中国输血杂志,2002(04):321-322

- Zhuyuan Yan, Yu Junping, Liu Tao. Plus HBsAg ELISA-like time difference on the results of blood donors [J]. Transfusion, 2002 (04) : 321-322
- [12] 范恩勇,孙海英. 标本的保存温度和时间对血清抗 -HIV ELISA 检测结果的影响[J].中国输血杂志,2004(01):347-348
Fan Enyong, Sun Haiying. Specimen storage temperature and time on the serum anti-HIV ELISA test results of [J]. Transfusion, 2004 (01) : 347-348
- [13] 邵彬. 血清学诊断肝纤维化新指标 -TIMP-1 试剂盒的研制、优化及临床应用 [D].第四军医大学,2006(02):297-298
Shao Bin. Serological diagnosis of liver fibrosis, a new index-TIMP-1 kit for the development, optimization and clinical application of [D]. Fourth Military Medical University, 2006 (02) :297-298
- [14] 邓永福.ELISA 实验影响因素探讨[J].四川省卫生管理干部学院学报,2004(03):159-160
Deng Yongfu. ELISA test of factors [J]. Sichuan Institute of Health Management, 2004 (03) :159-160
- [15] 杨勇毅,王军,罗蓉.全自动酶免分析系统工作流程的优化[J].中国输血杂志,2007(02):326-327
Yang Yongyi, Wang Jun, LUO Rong. Automatic enzyme immunoassay optimization workflow analysis system [J]. Transfusion, 2007 (02) :326-327