

电化学发光免疫法与 ELISA 法检验性能比较

韩骏飞¹ 姜宇¹ 宋发谷¹

[摘要] 目的:比较电化学发光免疫分析仪(HISCL-5000)与酶联免疫吸附试验(ELISA)的检验性能,为临床检验工作提供参考。方法:用 HISCL-5000 与 ELISA 法 2 种方法同时检测 HISCL-5000 配套的 HBsAg 校准品、质控品、临床样本以及 2017 年省免疫学 HBsAg 室间质评质控品,比较 2 种方法的线性范围、精密度和准确度。结果:HISCL-5000 线性范围远大于 ELISA 法,HISCL-5000 精密度和准确度均高于 ELISA 法,2 种方法的差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:ELISA 法线性范围较窄、精密度和准确度在手工操作过程中较差,易产生漏诊和误诊;而 HISCL-5000 具有高精密度、高准确度及良好线性范围的优点,可以替代 ELISA 法。

[关键词] 校准品;质控品;线性范围;精密度;准确度

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.02.022

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Test performance comparison of HISCL-5000 and ELISA

HAN Junfei JIANG Yu SONG Fagu

(Department of Clinical Laboratory, Zigui County People's Hospital, Zigui, 443600, China)

Abstract Objective: To compare the test performance of electrochemiluminescence immunoassay (HISCL-5000) and ELISA, so as to provide reference for clinical laboratory work. **Method:** Two methods of HISCL-5000 and ELISA were used to detect the HBsAg calibration materials, quality control materials, clinical samples and the quality control materials of province immunology EQA (external quality assessment) of 2017, and the linear range, precision and accuracy of the two methods were compared. **Result:** The linear range of HISCL-5000 was far greater than that of ELISA, and the precision and accuracy of HISCL-5000 were both higher than those of ELISA, and the differences of the two methods were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** The linear range of ELISA was narrow, and its precision and accuracy were poor in manual operation, so it was easy to produce miss diagnosis and misdiagnosis. The electrochemiluminescence immunoanalyzer (HISCL-5000) might have the advantages of high precision, high accuracy and good linear range, which could completely replace ELISA.

Key words calibrator; control material; linearity range; precision; accuracy

乙型肝炎病毒是一种世界范围内的慢性传染性疾病^[1],而中国是乙型肝炎的高发区,严重危害人民的身体健康。目前,由于乙型肝炎不可治愈,疫苗接种是控制其传播的有效途径^[2]。乙型肝炎的防治过程中,快速、安全、高效的检测手段至关重要。近年来,随着科技的发展,酶联免疫吸附试验、电化学发光免疫分析法、化学发光微粒子免疫分析法、化学发光酶免疫分析等技术兴起并广泛应用于临床检验。尽管这些技术先进,但不同仪器或分析方法检测结果存在一些差异,因此,不同仪器或分析方法的检验性能需要作出比较才能更好服务临床^[3]。

本文将通过电化学发光免疫分析仪(HISCL-5000)与酶联免疫吸附试验(ELISA法)2种方法同时检测乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg),从线性范围、精密度及准确度3方面作出比较,以分析2种方法的检验性能的优劣,为临床检验工作提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象

临床样本自我科实验当天筛选出 HBsAg 阳性的 15 例乙型病毒性肝炎患者,其中男 8 例,女 7 例;年龄 20~60 岁;HBsAg 浓度范围 0.15~25.00 IU/ml,所选患者均符合《乙型病毒性肝炎诊断标准》(WS299-2008)。

HISCL-5000 校准品、质控品均购自日本 Sysmex 公司,其中 HBsAg 校准品 6 个浓度水平(0,0.25,2.50,25,250,2 500 IU/ml,批号:ZS7001),质控品高低 2 个浓度水平(3.330,21.173 IU/ml,批号:BGCN-109/209)

2017 年湖北省免疫学 HBsAg 第一次室间质评质控品由湖北省临检中心发放,批号:201711~201715。

1.2 仪器与试剂

电化学发光免疫分析仪购自日本 Sysmex 公司,型号 HISCL-5000,HBsAg 配套的检测试剂购自日本 Sysmex 公司;HBsAg 酶联免疫诊断试剂盒购自厦门英科新创有限公司,批号:2016115128。酶标仪购自上海热电仪器有限公司,型号

¹ 秭归县人民医院检验科(湖北秭归,443600)

MK3;恒温箱购自上海跃进医疗器械有限公司,型号:LRHS-200-II;洗板机购自深圳汇松科技发展有限公司,型号:PW-812。

1.3 试验方法

用 HISCL-5000 与 ELISA 法 2 种方法同时检测 HISCL-5000 配套的 HBsAg 校准品、质控品、实验样本以及 2017 年湖北省免疫学 HBsAg 第一次室间质评质控品,比较 2 种方法的线性范围、精密度和准确度。

1.4 统计学处理

运用 SPSS 18.0 软件对实验数据进行统计学分析,所有数据均进行方差齐性检验和正态分布检验,非正态数据经数据转换成正态分布后进行统计分析。

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用成组 t 检验;计数资料以百分比表示,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

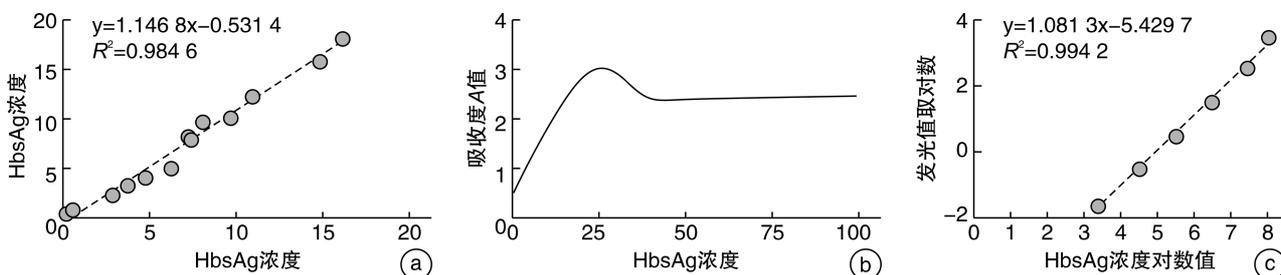
2.1 线性范围比较

2 种方法同时检测 HBsAg 校准品及 15 份实验样本,ELISA 用 OD 值对 HBsAg 校准品浓度值

取双对数拟合标准曲线得到计算公式,通过计算公式计算得到 ELISA 检测 HBsAg 浓度值。将 2 种方法检测 15 份样本的结果进行线性分析。结果显示,HBsAg 0~25 IU/ml 范围内 2 种方法检测结果差异无统计学意义($P > 0.05$),相关系数 $r = 0.992 2$,直线回归方程 $y = 1.146 8x - 0.531 4$,2 种方法检测结果相关性良好,如图 1a 所示;当 HBsAg > 25 IU/ml,ELISA 测试结果呈阳性,但是测试曲线呈现后带现象,即达到 HBsAg 检测上限,吸收度 A 值不再随 HBsAg 浓度值升高而升高,反而降低,如图 1b 所示;而 HISCL-5000 在 HBsAg 浓度范围 0~2 500 IU/ml 线性表现良好,如图 1c 所示。

2.2 精密度比较

2 种方法同时检测 HBsAg 高、低水平质控品及校准品,连续检测 20 次。ELISA 通过 2.1 所述方法计算得到 HBsAg 浓度值。比较 2 种方法高低水平所有检测结果的均值 \bar{x} 、标准差 s 及变异系数 Cv 值,结果显示 HISCL-5000 精密度高于 ELISA,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。



a: HISCL-5000 与 ELISA 在 HBsAg 0~25 IU/ml 范围内线性关系;b: ELISA 测试曲线;c: HISCL-5000 标准曲线

图 1 HISCL-5000 与 ELISA 线性范围比较

表 1 HISCL-5000 与 ELISA 精密度比较

分组	ELISA		HISCL-5000		t
	$\bar{x} \pm s / (\text{IU} \cdot \text{ml}^{-1})$	$Cv / \%$	$\bar{x} \pm s / (\text{IU} \cdot \text{ml}^{-1})$	$Cv / \%$	
低值质控	3.689 ± 0.453	12.28	3.393 ± 0.226	6.66	2.448
高值质控	19.675 ± 3.521	17.89	21.413 ± 1.251	5.84	2.707

2.3 准确度比较

2 种方法同时检测 2017 年湖北省免疫学 HBsAg 第一次室间质评质控品,每份样本检测 5 次。据 2017 年湖北省免疫学 HBsAg 第一次室间质评反馈结果显示,HBsAg 201711-201715 分别为 +、-、+、-、+。HISCL-5000 检测结果 > 0.03 IU/ml 即判断为阳性;ELISA 结果判断严格按照说明书进行。检测结果与室间质评反馈结果逐一比对,并做出统计分析。统计结果显示,ELISA 准确率为 92%,HISCL-5000 准确率为 100%,差异有统计

学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 2017 年湖北省免疫学 HBsAg 第一次室间质评检测结果

分组	检测结果			准确率/%
	正确	错误	合计	
ELISA	23	2	25	92
HISCL-5000	25	0	25	100

3 讨论

ELISA 检测方法简便、快捷、结果准确而且检

查费用较低,一直被视为传染病 5 项的主要检测手段。但是随着医学科技水平的进步和临床检验要求的提高,检测结果由定性、半定量逐步发展到定量^[4],ELISA 缺陷也逐步凸显。笔者发现用 ELISA 作定量检测,每次实验必须做出一条标准曲线,否则会增加误差。分析原因,笔者认为实验过程中,加样、孵育、洗板、显色等诸多环节影响因素较多,难以实现标准化。虽然整个实验过程都采取了质量控制,但是每一环节均存在一定的偶然误差,使得 ELISA 精密度不高、重复性较差^[5]。在线性比较试验中,笔者发现 HISCL-5000 线性范围远大于 ELISA。当 HBsAg 浓度值 > 25 IU/ml 时,ELISA 出现后带现象,吸收度 A 值不再随 HBsAg 浓度值升高而升高,不能反映患者疾病的发生、发展及转归,不利于对患者病情的监测^[6]。准确度试验中,ELISA 有 2 个测试结果与真实结果不符。这可能是因为 ELISA 方法学的局限性,当质控物中 HBsAg 浓度较低,吸收度 A 值位于 cut off 值附近,结果可能发生误判。这也说明在疾病发生早期或病原体浓度很低的时候,ELISA 很有可能漏检^[7]。

电化学免疫分析法是继酶免疫、荧光免疫及化学发光免疫分析法以后的新一代标记免疫检测技术,其原理是由一种在电极表面由电化学引发的特异性化学发光反应^[8],包含电化学和化学发光两个过程,具有易控制性等优点。HISCL-5000 是目前比较先进的电化学发光免疫分析仪^[9]。相比 ELISA,其标准化的检测系统减少了很多影响因素引起的误差,其精密度得到很大程度的提高。其特有的脱磁清洗技术使结合态的待测物和游离态的杂质高效分离,可以有效降低非特异性反应,提高检测灵敏度^[10]。发光底物则采用了 CDP-STAR,是目前最快速、最灵敏的化学发光底物,具有发光速度快、半衰期长等优点^[9]。在测量部分,加入了滤光片,通过转换滤镜实现更宽的线性范围,确保了在高浓度和低浓度都有很好的检测效果^[11]。

总之,ELISA 线性范围较窄、精密度和准确度在手工操作过程中较差,易产生漏诊和误诊;而 HISCL-5000 具有高精密度、高准确度及良好线性范围的优点,可以完全替代 ELISA。

参考文献

- [1] Wu CC, Chen YS, Cao L, et al. Hepatitis B virus infection; Defective surface antigen expression and pathogenesis[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24: 3488—3499.
- [2] Akbar SM, Al-Mahtab M, Khan SI, et al. Current trends in hepatitis B vaccination[J]. *Future Virol*, 2016, 11: 369—378.
- [3] Liu C, Chen T, Lin J, et al. Evaluation of the performance of four methods for detection of hepatitis B surface antigen and their application for testing 116,455 specimens[J]. *J Virol Methods*, 2014, 196: 174—178.
- [4] Gish RG, Chang TT, Lai CL. Quantitative hepatitis B surface antigen analysis in hepatitis B e antigen-positive nucleoside-naïve patients treated with entecavir[J]. *Antiviral therapy*, 2013, 18: 691—698.
- [5] Li L, Cai B, Tao C, et al. Performance Evaluation of CLIA for *Treponema Pallidum* Specific Antibodies Detection in Comparison with ELISA[J/OL]. *J Clin Lab Anal*, 2016, 30: 216—222.
- [6] Long A, Call DR, Cain KD. Comparison of quantitative PCR and ELISA for detection and quantification of *Flavobacterium psychrophilum* in salmonid broodstock[J]. *Dis Aquat Organ*, 2015, 115: 139—146.
- [7] Liu C, Chen T, Lin J, et al. Evaluation of the performance of four methods for detection of hepatitis B surface antigen and their application for testing 116455 specimens[J]. *J Virol Methods*, 2014, 196: 174—178.
- [8] Zhang X, Zhou D, Sheng S, et al. Electrochemical immunoassay for the cancer marker LMP-1 (Epstein-Barr virus-derived latent membrane protein 1) using a glassy carbon electrode modified with Pd@Pt nanoparticles and a nanocomposite consisting of graphene sheets and MWCNTs[J]. *Microchimica Acta*, 2016, 183: 2055—2062.
- [9] Feng S, Wei B, Rao C, et al. Clinical Evaluation of the Newly Developed HISCL-5000 Analyzer on Detection of Hepatitis B Virus Markers in West China Hospital[J]. *Clin Lab*, 2016, 62: 1053—1060.
- [10] Ohne K, Kani S, Ohashi M, et al. Clinical evaluation of a newly developed high-sensitive detection of hepatitis B virus surface antigen by a semi-automated immune complex transfer chemiluminescent enzyme immunoassay[J]. *Rinsho Byori*, 2013, 61: 787—794.
- [11] Nakamura E, Kakuda H, Matsuura K, et al. Quantitative analysis of hepatitis B surface antigen as a clinical marker[J]. *Rinsho Byori*, 2011, 59: 838—843.

(收稿日期:2018-07-10)