

能为 $20 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 。但长期氧疗及非长期氧疗肺心病患者对 NO 反应有何不同? LTOT 的肺心病患者吸入 NO 的最小浓度为何? 长期 NO 吸入其疗效及毒副作用如何? 有待进一步观察

参考文献

- [1] Fröstel C, Fratacci MD, Wain JC *et al*. Inhaled nitric oxide: A selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction[J]. *Circulation*, 1991; 83(6): 2038- 2047.
- [2] Adnot S, Kouyoumdjian C, Defouilloy C *et al*. Hemodynamic and gas exchange responses to infusion of acetylcholine and inhalation of nitric oxide in patients with chronic obstructive lung disease and pulmonary hypertension[J]. *Am Rev Respir Dis*, 1993; 148

(2): 310- 316

- [3] Stewart AG, Howard P. Indications for long-term oxygen therapy[J]. *Respiration*, 1992; 59 (Suppl 2): 8- 13
- [4] Sitbon O, Brenot F, Denjean A *et al*. Inhaled nitric oxide as a screening vasodilator agent in primary pulmonary hypertension[J]. *Am J Respir Crit Med*, 1995; 151(2): 384- 389
- [5] 何建国, 程显声, 熊长明 *et al*. 吸入一氧化氮治疗肺动脉高压的剂量关系[J]. *中华医学杂志*, 1998; 78(2): 105- 106
- [6] Barbera JA, Roger N, Roca *et al*. Worsening of pulmonary gas exchange with nitric oxide inhalation in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Lancet*, 1996; 347(8999): 436- 440
- [7] Yoshida M, Taguchi O, Gabazza EC *et al*. Combined inhalation of nitric oxide and oxygen in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997; 155(3): 526- 529

编辑 许昌泰

· 技术方法 · 文章编号: 1000-2790(2000)02-0195-01

胶体金免疫层析试验快速检测 HBsAg

侯瑜, 闫小君, 郭晏海, 韩锋产, 李陕区, 冯永强, 肖乐义 (第四军医大学基因诊断技术研究所, 陕西 西安 710033)

关键词: 乙型肝炎病毒表面抗原; 胶体金; 免疫层析试验
中图分类号: R466.6 文献标识码: A

0 引言 胶体金免疫层析试验是 20 世纪 90 年代初在免疫渗滤技术^[1]的基础上建立的一种快速简便的免疫检测技术。我国有 40% 左右的人感染过乙型肝炎病毒, 其中约有 10% 的人携带 HBsAg, 因而快速准确地检测和普查 HBsAg, 对于乙型肝炎的预防、诊断和治疗, 具有极大的实用价值。为此, 我们研究建立了快速检测 HBsAg 的胶体金免疫层析试验(GICA), 取得了较为满意的结果。

1 材料和方法

1.1 材料 氯金酸购于上海试剂一厂; 免疫层析的材料由吸水玻璃纤维、吸附胶体金的玻璃纤维纸、硝酸纤维素薄膜和塑料支持物四部分构成; 抗-HBs 购于北京 302 医院; 检测 HBsAg 诊断试剂国家参比品, 购于中国药品生物制品检定所; HBsAg 酶免疫诊断试剂盒, 购于南京军事医科所; 血清标本由西京医院检验科提供(经上海科华 ELISA 乙肝 5 项试剂检测为乙肝患者)。

1.2 方法 胶体金的制备与抗-HBs 的标记参照 Dar 等^[2]方法制备。免疫层析检测卡的制备是用点膜器将 $1 \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 单克隆抗-HBs 点成线状或带状, 固相在硝酸纤维素膜上, 制成免疫层析条。试验方法是将检测卡的下端插入被检标本内约 35 s 后取出, 观察结果。结果判定: 在硝酸纤维素膜上出现两条红线(检测线和对照线)者为阳性, 仅出现一条线(对照线)为阴性, 如无红色线条出现判为试剂有质量问题。中和试验: 取患者血清 $200 \mu\text{L}$, 加入单克隆抗-HBs $15 \mu\text{g}$, 37 $^{\circ}\text{C}$ 2 h, 8000 g 离心 5 min, 将检测卡插入血清中, 15 min 内观察结果。重复

性实验随机选择 HBsAg 阳性血清 30 份和 HBsAg 阴性 20 份, 重复检测 3 次, 结果完全相符。观察时间设定 3, 5, 10, 15 和 30 min, 分析条带出现时间与乙肝 5 项指标的关系。

2 结果 用免疫层析法与 ELISA 法对比检测血清标本 280 份, 结果与 ELISA 比较, 本法的特异性 97%, 灵敏度 98%, 总符合率 97.5%。用卫生部检测 HBsAg 血清 panel 国家参考品考核本方法的准确性, 灵敏度达 $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中特异性血清 20 份, 除 1 份略显弱阳性外, 全部为阴性, 3 份阳性参比血清本法检测均为阳性。从而表明本法的特异性和阳性检出率是准确可靠的。中和试验: 随机抽取 15 份血清做中和试验, 结果 HBsAg 阳性结果全部转阴, 无 1 例出现阳性条带。

ELISA 阴性(HBsAg)而本法阳性的 10 份血清, 有 8 份做中和试验后转为阴性, 表明本法检测的结果准确, 且 ELISA 法也存在有漏检的问题。随机抽取阳性血清 30 份和阴性血清 20 份做重复性试验, 重复检测 3 次, 结果完全相符。乙型肝炎(HBsAg+, HBeAg+, 抗HBc+)血清 39 份有 35 份在 3 min 出现阳性结果, 5 min 时全部阳性。全部血清的结果观察在 15 min 时与 ELISA 结果最相符, 30 min 时有极少阴性标本判读较困难。因而判定结果以 15 min 内为准, 不能延长时间。

3 讨论 目前检测 HBsAg 多采用 ELISA。ELISA 虽具有特异性强、灵敏度高等优点, 但操作较为复杂, 时间相对较长, 一般不做单份检测, 并且需要检测仪器。这对大型医院的门诊及县级以下医疗单位的实验检测是有困难的。用胶体金免疫层析法检测 HBsAg, 该法集免疫反应与色谱层析之特点, 使待测样品的 HBsAg 与吸水纤维上的金标抗-HBs 不断结合, 形成 HBsAg-金标抗体复合物, 再与硝酸纤维素膜作毛细泳动与膜上固相抗-HBs 结合。实际上对被测的物质起到了浓缩、聚集作用。从而加快了反应速度, 整个操作时间仅需 3~15 min, 其特性和敏感性不亚于 ELISA, 并具有操作简便, 不需任何仪器和实验工具, 可在任何地方及任何医疗单位包括个体诊所、家庭甚至自我检查都可应用的特点。

参考文献

- [1] 周继文, 戎广亚, 杨守纯 *et al*. 胶体金免疫层析法检测乙型肝炎病毒表面抗原[J]. *中华医学检验杂志*, 1998; 21(1): 30- 32
- [2] Dar VS, Ghosh S, Broom S. Rapid detection of rotavirus by colloidal gold particles labeled with monoclonal antibody[J]. *J Virol Methods*, 1994; 47(1): 5- 58

编辑 许昌泰

收稿日期: 1999-08-24 修回日期: 1999-11-01

作者简介: 侯瑜(1964-), 女(汉族), 陕西省汉中市人, 助理实验师
Tel (029) 3374771