免疫胶体金技术在临床检验中的应用研究进展

况兆忠
(天津市滨海新区塘沽妇产医院检验科,天津 300451)

摘要:免疫胶体金技术是当前常用标记技术,该技术可通过胶体金与蛋白质等大分子物质结合,利用抗原抗体反应达到检测目的,具有操作简单、快捷直观、敏感度高等优点,现已在生物医学等领域获得广泛应用。近年来,随着免疫胶体金技术的不断发展与完善,其在各领域中的应用研究也逐渐成熟。本文对免疫胶体金技术在临床检验中的应用进展作一综述,供临床参考。

关键词:免疫胶体金技术;定性检测;定量检测;斑点免疫金渗滤;胶体金免疫层析法
中图分类号:R446.61 **文献标识码**:A **DOI**:10.3969/j.issn.1006-1959.2022.10.023
文章编号:1006-1959(2022)10-0095-03

Advances in Application of Immunogold Technique in Clinical Laboratory

KUANG Zhao-zhong
(Department of Laboratory,Tianjin Binhai New Area Tanggu Maternity Hospital,Tianjin 300451,China)

Abstract:Immune colloidal gold technology is a commonly used marker technology. This technology can combine colloidal gold with macromolecules such as proteins, and achieve the detection purpose by antigen-antibody reaction. It has the advantages of simple operation, fast and intuitive, high sensitivity, and has been widely used in biomedicine and other fields. In recent years, with the continuous development and improvement of immune colloidal gold technology, its application research in various fields has gradually matured. In this paper, the application progress of immune colloidal gold technology in clinical test is reviewed for clinical reference.

Key words:Immune colloidal gold technique;Qualitative detection;Quantitative detection;Speckle immunogold filtration;Colloidal gold immunochromatographic assay

免疫胶体金技术(immune colloidal gold technique,ICG)是以胶体金为示踪标志物的免疫标记技术,该技术是将示踪物放于硝酸纤维素膜载体中,借助滤膜微孔的滤过特性,促使被标记抗原或抗体与特异性配体相结合,进而获得相应的阳性信号[1]。目前,免疫胶体金技术已从传统的定性检测发展至定量、半定量检测,其应用优势显著,适用范围广,可有效提高部分病原体的检出效率,为临床疾病的诊治提供更为便捷、有效的参考依据[2,3]。自 1971 年 Faulk 与 Taytor 将胶体金引入免疫化学以来,免疫胶体金技术已逐渐成为继荧光标记、酶标记、放射标记之后的又一重要免疫标记技术[4]。本文现就免疫胶体金技术在临床检验中的应用研究做如下综述,旨在阐述该技术在医学领域的应用现状与发展进程。

1 免疫胶体金技术的基本原理

胶体金是由氯金酸(HAuCl4)还原析出的金颗粒,其还原剂包括白磷、抗坏血酸、枸橼酸钠、鞣酸等,在静电作用下可形成稳定的胶体状态,故称胶体金[5]。胶体金标记技术(immunogold labeling technique)则是利用其表面负电荷吸引蛋白质正电荷基团的吸附包被过程,该过程实质为静电结合,不影响蛋白质的生物特性,且吸附能力强,可与葡萄球菌 A 蛋白、糖蛋白、免疫球蛋白、酶、抗生素、激素等多种非共价结合,在检验检疫及医学领域均具有重要作用[6,7]。此外,免疫胶体金颗粒具有较高的电子密度,于显微镜下金标蛋白结合处可见黑褐色颗粒,当此类标记物于配体处大量聚集,即可肉眼观察到红色或粉红色斑点,用于定性或半定量的快速免疫检测[8]。

2 免疫胶体金定性检测

免疫胶体金定性检测具有操作简单、检测快速、灵敏度高、特异性强等应用优势,适用于临床疾病的基层筛查,其检测方式主要为斑点免疫金渗滤法(DIGFA)和胶体金免疫层析法(GICA)两种。

2.1 DIGFA DIGFA 是于固相酶免疫测定技术(ELISA)基础上发展而来的定性检测技术,其原理是以硝酸纤维素膜为载体,利用微孔滤膜的可滤过性,通过渗滤过膜形式,促使抗原抗体反应的快速完成,样本中抗原被膜上抗体捕获,而其余无关蛋白则可滤出膜片[9,10]。DIGFA 以胶体金为标记物,通过其在渗滤中与膜上抗原的结合,进行定性检测。胶体金本身呈红色,阳性则显示膜上呈红色斑点,全过程可于数分钟内完成,快速便捷[11,12]。ELISA 与 DIGFA 进行了包虫病检测,结果显示 DIGFA 法与 ELISA 法在包虫病临床诊断中的敏感度与特异性均较高,差异无统计学意义,但 DIGFA 对检测时间、操作技能及设备的要求相对较低。由此可知,DIGFA 在当前医学检测中具有较高的敏感度与特异性,且操作简单、快速便捷,适合于现场流调等应用。

2.2 GICA GICA 是胶体金标记技术、免疫检测技术与层析分析技术等结合形成的固相标记免疫检测技术[14];其原理是将特异性抗原或抗体以条带状固定于膜上,并采用胶体金标记试剂吸附于结合垫上,样品在层析作用下往前移动,当样本中存在特异性病毒抗原时,可与结合垫处金标抗体相结合,并聚集于检测带上,大量积聚后可肉眼观察到显色结果,具有

作者简介:况兆忠(1980.1-),男,河北沧县人,本科,主管技师,主要从事医学检验诊断工作

方便、快捷等应用优势[15-17]。彭孝斌等[18]研究显示，在新型冠状病毒 IgM 及 IgG 的检测结果中，ELISA 未表现出优于 GICA 的性能，而 GICA 较 ELISA 操作更为简便快捷，是基层实验室的良好选择。可见 GICA 具有积极的筛查检测价值，其操作便捷，应用范围广泛，在疫情筛查及外科手术应用中均具有积极作用。

3 胶体金半定量、定量检测

基于胶体金本身的颜色属性，可通过光学传感器对检测线颜色深浅的判定，进行定量或半定量分析，并以此作为检测依据。

3.1 半定量检测 研究指出[19]，硝酸纤维素膜上显色面积与其抗体浓度呈正相关，可建立相应的半定量测定方式，通过定量质控点的设定，获取半定量检测结果。近年来，已有多篇报道[20,21]证实，胶体金半定量快速检测在科学实验及医学领域据具有重要价值。

3.2 定量检测 胶体金免疫定量检测的应用原理主要为硝酸纤维素膜上检测线色彩深浅程度与待检物浓度间的比例关系，通过光学传感器扫描试剂条，随后取标准曲线进行比较，以此获取定量分析的检测结果[22-24]。孙宇等[25]对胶体金免疫比色法定量检测血清 h-FABP 水平的应用效果进行了初步研究，结果显示 h-FABP 胶体金免疫比色法与成熟的免疫比浊法检测结果一致，可为临床应用提供有利依据。范妙璇等[26]研究指出，胶体金定量检查可准确、定量、快速检测中药饮片中黄曲霉毒素含量，并达到临床检验的基本要求。综上所述，胶体金免疫定量检测在临床检验中具有确切的应用价值。

4 免疫胶体金在病原体检测中的应用

4.1 细菌 葡萄球菌、沙门菌、大肠杆菌、幽门螺杆菌等为常见细菌病原体，而常规细菌分离培养检测大多费时费力，不利于基层的大量推广[27]。刘晶等[28]采用胶体金标记双特异性抗金黄色葡萄球菌肠毒素 A(SEA)/金黄色葡萄球菌肠毒素 B(SEB)的单克隆抗体，建立 GICA 用于 SEA 与 SEB 的快速检测，结果显示测试卡可在 10 min 内完成定性和半定量检测，且灵敏度高、特异性较强，稳定性及重复性良好，适用于现场快速筛查检测。侯巧华等[29]建立了快速、灵敏检测沙门菌的免疫层析试纸方法，其研究结果显示该方式检测沙门菌的最低浓度为 10^2 cfu/ml，而检测除沙门菌外的其他 7 种细菌时，均显示阴性，可见该方案检测沙门菌具有较高的灵敏度及特异性。此外，相关研究证实[30]，GICA 技术在大肠杆菌 O157:H7 的检测中具有较高价值，其检测限为 500 个细菌，且特异性好、检测快速、应用方便。黄佳斯等[31]研究对 3 种非侵袭性幽门螺杆菌检测方法的临床诊断应用价值进行了比较与评价，结果显示以 ^{13}C 尿素呼气试验为金标准，免疫胶体金法的检测灵敏度及特异性低于血清抗幽门螺杆菌抗体与 HpSA 免疫快检卡检测，但免疫胶体金法更为方便、快捷，且有利于临床的规模性检测。可见胶体金技术对细菌病原体具有较高的检测价值。

4.2 病毒 免疫胶体金技术在乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)及禽流感病毒(AIV)的检测中均具有一定价值。祁亚宁等[32]对酶联免疫吸附法与胶体金法在乙肝表面抗原检验中的作用及价值进行了比较，其研究认为二者对乙肝表面抗原均有较高的阳性检测率，其中酶联免疫法的敏感度及特异度更高，但胶体金法检测方式更为简便、直观，检测过程更加快捷，且不需要特殊仪器设备，在感染者初筛及紧急状态下更为适用。在 HCV 筛查中，有研究证实，ELISA 法与 GICA 法检测 HCV 抗体均具有较高检出率，其中 GICA 法方便、快捷，可优先作为临床初次筛查方法。董莉[33]对 ELISA 法与 GICA 在疑似艾滋病血清 HIV 检测中的检测效果进行了分析，研究显示，胶体金法在疑似艾滋病血清 HIV 检测中的敏感性及特异性更高，可为 HIV 诊断结果提供更为真实有效的依据。李维等[34]研发并生产用于 H9 亚型禽流感病毒早期感染现场诊断的胶体金检测试剂卡，该技术可实现现场对 H9 亚型禽病毒的快速筛查工作，有利于 H9 亚型禽流感综合防控效果的提升。以上结果表明，免疫胶体金技术对病毒病原体的检测具有重要意义。

4.3 其他 胶体金技术在梅毒螺旋体、衣原体、旋毛形线虫等病原体的检测中具有重要作用，据王缚鲲等[35]报道显示，以梅毒螺旋体抗体明胶颗粒凝集试验(TPPA)结果为金标准，GICA 检测梅毒螺旋体的准确度、灵敏度、特异度显著高于 ELISA，可快速、准确诊断梅毒螺旋体的感染。而何诺等[36]研究显示，胶体金法对女性生殖道沙眼衣原体感染具有较高检测价值。

5 总结与展望

近年来，免疫胶体金技术已成为发展较快的复合型免疫技术之一，其适用范围广，较传统检验方式具有更高效、快速的应用优势，是急诊标本及疫情现场筛查的主要方式。但目前免疫胶体金技术在应用中也存在一定不足，其试纸条结果判定易受到环境、标本加样量及观察时间等因素的影响，此外，当病原体检测存在交叉反应时，易导致假阳性和假阴性反应的出现，在病原多项目联合检测方面尚需提高与加强。基于此，针对以上弊端，可从提高试剂盒质量、拓宽新型标记材料、实现多项联合检测等方面进行改进，进一步提高免疫胶体金检测的敏感性、特异性，促使多元检测及直接定量检测的早日实现。

参考文献：

[1]曹德康,苏建忠,张瑛,等.胶体金免疫层析技术快速检测谷物中3种真菌毒素的研究[J].中国食品卫生杂志,2017,29(3):306-312.

[2]李霜君,张治国,余琴,等.胶体金免疫层析法检测结核分枝杆菌特异性IgG/IgM抗体对结核病诊断的应用价值[J].中国人兽共患病学报,2018,34(2):139-143,149.

[3]李芳彩,戴志辉,贺子翔,等.ELISA法与胶体金法在检测新型冠状病毒血清抗体中的应用探讨[J].实用预防医学,2020,27(7):780-783.

[4]Rui X,Feng J,Yang H,et al.A novel colloidal gold immunochromatography assay strip for the diagnosis of schistosomiasis japonica in domestic animals[J].Infect Dis Poverty,2017,6(1):84.

[5]唐鹏,赵自武,刘颖娟,等.化学发光和胶体金法检测新型冠状病毒特异性抗体比较及其临床意义[J].武汉大学学报(医学版),2020,41(4):517-520.

[6]李耀磊,刘丽娜,姚云,等.基于胶体金免疫层析技术对中药材中黄曲霉毒素 B_1 的定量检测研究 [J]. 中国药学杂志,2019,54(17):1432-1437.

[7]Ren YG,Liu MC,Ji MZ,et al.Rapid detection of human heart-type fatty acid-binding protein in human plasma and blood using a colloidal gold-based lateral flow immunoassay[J].Exp Ther Med,2021,22(5):1238.

[8]施海燕,盛恩泽,马明,等.氯噻咪胶体金增强免疫层析分析方法的建立[J].分析化学,2017,45(3):403-408.

[9]Wu Y,Zhang JY,Yang XL,et al.Early Diagnosis of Occult Blood of Colorectal Cancer Based on Nano-Colloidal Gold Sandwich Immunochromatography [J].J Biomed Nanotechnol,2021,17(8):1525-1534.

[10]房彬彬,齐新伟,王黎,等.点免疫金渗滤法筛选胶体金标记抗人IgG的研究 [J]. 中国免疫学杂志,2016,32 (12):1790-1792,1796.

[11]Eamsobhana P,Tungtrongchitr A,Yong HS,et al.Sandwich dot-immunogold filtration assay (DIGFA) for specific immunodiagnosis of active neuroangiostrongyliasis [J].Parasitology,2021,148(2):234-239.

[12]王勤,汪宗强,谢作荣.不同检验法在血吸虫病中的诊断应用[J].中国继续医学教育,2019,11(13):74-76.

[13]贾兴旺,刘青,陈泽衍.胶体金法检测血清2019新型冠状病毒IgM和IgG抗体的临床应用及干扰因素分析[J].标记免疫分析与临床,2020,25(5):432-433.

[14]方素芳,张宏英,黄明翔.胶体金免疫层析法对非HIV感染肺隐球菌病患者疗效的评估价值 [J]. 结核病与肺部健康杂志,2019,8(3):218-224.

[15]张稳健,吕欣,黄驰,等.胶体金免疫层析法检测新型冠状病毒IgM/IgG抗体的临床评价与应用 [J]. 病毒学报,2020,36(3):348-354.

[16]应昊骏.时间分辨免疫试纸条快速检测真菌毒素和IL-6的实验研究[D].重庆:陆军军医大学,2019.

[17]刘军,刘晓静,沈丰,等.胶体金免疫层析法快速测定甲状旁腺激素在甲状腺癌手术中的应用价值研究[J].中华普通外科杂志,2021,36(9):704-706.

[18]彭孝斌,代学,沈燕.ELISA与GICA法检测新型冠状病毒IgM及IgG的比较[J].寄生虫病与感染性疾病,2020,18(4):234-237.

[19]任刘丽,赵营莉,高贝贝,等.半定量快速检测拉莫三嗪血药浓度胶体金试纸条的研制及应用 [J]. 中国临床药学杂志,2019,28(4):269-273.

[20]谢礼,李云琴,洪健.胶体金标记法半定量比较植物韧皮部和叶肉组织中细胞壁的纤维素含量[J].电子显微学报,2019,38(2):165-170.

[21]Badawy SM.Semi-quantitative analysis of drugs of abuse in human urine by end-point dilution flow immunochromatographic assay [J].JPC - Journal of Planar Chromatography - Modern TLC,2020,33(4):41-47.

[22]崔宁,明亮,王云龙,等.D-二聚体胶体金免疫层析定量检测方法的初步建立[J].河南医学研究,2017,26(2):193-197.

[23]张燚,郝良文,沈轩昂,等.新型"磁包金"金磁纳米粒子免疫层析试纸条定量检测血清中的人绒毛膜促性腺激素[J].分析化学,2020,48(12):1666-1673.

[24]李金丽.胶体金免疫层析法快速检测B族链球菌的临床评估[J].检验医学,2017,32(8):747-748.

[25]孙宇,王茹,顾李霖,等.胶体金免疫比色法测定血清h-FABP水平的初步研究[J].国际检验医学杂志,2019,40(1):48-51.

[26]范妙璇,傅欣彤,陈奕菲,等.三线定量胶体金免疫亲和试纸法定量中药饮片中黄曲霉毒素B1及 B_1、B_2、G_1、G_2 总量的研究[J].中草药,2021,52(17):5275-5286.

[27]Wu Y,Wu M,Liu C,et al.Colloidal gold immunochromatographic test strips for broad-spectrum detection of Salmonella[J].Food Control,2021,126(9):108052.

[28]刘晶,李珊珊,李树玲,等.胶体金免疫层析法快速检测金黄色葡萄球菌肠毒素A和B[J].中国热带医学,2017,17(2):185-187.

[29]侯巧华,孟轲音,李忠义,等.胶体金免疫层析试纸快速灵敏检测沙门菌[J].中国卫生检验杂志,2015,25(24):4216-4218.

[30]Brunt J,Webb MD,Peck MW.Rapid affinity immunochromatography column-based tests for sensitive detection of Clostridium botulinum neurotoxins and Escherichia coli O157[J].Appl Environ Microbiol,2010,76(13):4143-4150.

[31]黄佳斯,石磊,唐爱国,等.胶体金免疫层析法检测血清隐球菌抗原在肺隐球菌病诊断中的应用价值 [J]. 临床检验杂志,2017,28(7):193-195.

[32]祁亚宁,马佑平,李刚,等.酶联免疫法和胶体金法在胃镜检查前检测乙肝表面抗原的结果观察 [J]. 现代生物医学进展,2021,21(5):903-906.

[33]董莉.在临床疑似艾滋病血清HIV检测中ELISA法与胶体金免疫层析试验法的检测效果分析[J].黑龙江中医药,2021,50(3):440-441.

[34]李维,张婷,王飞,等.H9亚型禽流感病毒胶体金检测卡的研制[J].韶关学院学报,2020,41(3):39-45.

[35]王缚鲲,冉向阳,陈晶,等.检测抗白色念珠菌烯醇化酶IgG抗体免疫胶体金层析试纸的制备[J].解放军医药杂志,2018,28(11):242-243.

[36]何诺,谢林森,董丽,等.不同检验方法对女性生殖道沙眼衣原体感染的临床研究[J].实用医技杂志,2020,27(6):730-731.

收稿日期:2021-10-08;修回日期:2021-10-20
编辑/肖婷婷