

# 中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 223—2002

---

## 乙型肝炎表面抗原酶免疫 检验方法

**Guidelines for enzyme immuno-assay of  
hepatitis B surface antigen**

2002-04-20 发布

2002-07-01 实施

---

中华人民共和国卫生部 发布

## 前 言

乙型病毒性肝炎(简称乙肝)是由乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus,HBV)引起的传染性疾病,在我国人群中感染率较高,是严重危害人民身体健康的常见传染病之一。对乙肝的诊断主要以实验室检测乙肝表面抗原(Hepatitis B surface antigen,HBsAg)为主,检测方法主要有酶免疫法、反向间接血凝法、放免法、化学发光法、免疫荧光法等,目前应用较广、较普及的是酶免疫法。

本标准所使用的缩略语为 HBV、HBsAg。

本标准从 2002 年 7 月 1 日起实施。

本标准由卫生部医政司提出。

本标准由北京大学医学部人民医院肝病研究所负责起草。

本标准主要起草人:陶其敏、全文斌。

本标准由卫生部委托卫生部临床检验中心负责解释。

乙型肝炎表面抗原酶免疫  
检验方法

WS/T 223—2002

Guidelines for enzyme immuno-assay of  
hepatitis B surface antigen

## 1 范围

本标准规定了血清 HBsAg 酶免疫检验方法(两步法)中相关的技术要求。

本标准适用于各基础、临床实验室和流行病学研究中血清 HBsAg 测定。

## 2 方法选择

### 2.1 常用方法

HBsAg 的酶免疫检验方法根据反应模式可分为“一步法”和“两步法”两种方法。“一步法”是将待测样品和酶标记抗体同时加入到反应孔中进行反应,从而达到快速的目的;“两步法”则是先将样品加入到反应孔中,待反应结束后再加入酶标记抗体,从而使待测样品的“捕获反应”和酶标记抗体的“酶联反应”分开进行,因而反应更加稳定、重复性也更好。

### 2.2 推荐方法

由于“一步法”存在产生“前带现象”的可能,故在本标准中不列为推荐方法;本标准推荐使用酶免疫“两步法”。

### 2.3 方法原理

本标准推荐使用酶免疫“两步法”检测 HBsAg:将抗-HBs 的单克隆抗体(简称单抗)或多克隆抗体(简称多抗)包被于聚苯乙烯微孔板等固相载体上,加入待测血清,如其中含有 HBsAg,则可与固相上的包被抗体结合;洗板去除不参加反应的无关蛋白成分后,加入酶(如辣根过氧化物酶)标记的第二株抗体使之与血清中 HBsAg 反应,在固相载体上形成包被抗体-血清中 HBsAg-酶标记抗体的复合物(即双抗体夹心);再加入底物后,酶催化底物,产生显色反应,根据显色反应颜色的深浅可判定血清样品中 HBsAg 的有无及相对含量。

## 3 试剂和材料

国内目前已有成套的试剂盒供应。

显色反应底物液可选用邻苯二胺(o-phenylenediamine, OPD)-过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)溶液(简称 OPD)或 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine, TMB)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液(简称 TMB)。使用 OPD 时,可选用 2 mol/L 的硫酸(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)作为终止液,比色时选用 492 nm 作为测定波长;使用 TMB 时,可选用 2 mol/L 的盐酸或 2 mol/L 的硫酸溶液作为终止液,比色时选用 450 nm 作为测定波长。

注:国内市场目前亦有 HBsAg 检测的快速酶免疫试剂盒供应,该试剂盒系加有标本加速剂和酶标记抗体加速剂,可达到快速反应的目的,具体操作方法详见各生产厂家的试剂盒说明书。