

• 经验交流 •

类风湿因子对 ELISA 检测乙型肝炎表面抗原的影响

穆海霞

(湖北省孝感市中心医院检验科 432000)

摘要:目的 研究类风湿因子(RF)对酶联免疫法(ELISA)检测乙型肝炎表面抗原(HBsAg)的影响,为临床检测中出现假阳性结果的分析提供依据。方法 RF 采用速率散射免疫比浊法,HBsAg 先后采用 ELISA 法和微粒子酶免疫分析法(MEIA)。结果 RF 阳性血清经 ELISA 法检测 HBsAg 阳性率为 43.3%。通过 ELISA 法检测出 HBsAg 阳性的血清经 MEIA 检测 HBsAg 阳性率为 0;RF 浓度与 ELISA 法测定 HBsAg 的 OD 值间无显著相关性($0.1 < P < 0.2$)。结论 高浓度 RF(> 500 IU/mL)干扰 ELISA 法检测 HBsAg,产生较明显假阳性,但 RF 浓度与是否产生假阳性并无显著相关性。

关键词:类风湿因子; 酶联免疫吸附试验; 微粒子酶免疫分析; 肝炎表面抗原,乙型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.04.050

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)04-0483-02

酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)是临床上检测 HBsAg 的常用方法,且灵敏度高,简便快捷,但在日常工作中发现,部分类风湿因子阳性(或浓度较高)的患者,用此方法检测乙肝两对半时有表面抗原假阳性的出现,为此选择部分类风湿因子阳性(或浓度较高)的患者血清进行 ELISA 法检测 HBsAg 以评价 RF 对检测的影响,为临床诊断提供客观依据。

1 资料与方法

1.1 血清标本采集 标本采集于本院门诊和风湿科住院患者(用速率散射免疫比浊法测定 RF > 500 IU/mL)血清 30 例。其中男 12 例,女 18 例,年龄为(52.3 \pm 7.9)岁,所有患者均于清晨空腹抽取静脉血 5.0 mL,分离出血清后于-20℃保存至同批测定。

1.2 试验仪器和试剂 RF 采用速率散射免疫比浊法定量检测,仪器为美国 DADE BEHRING 公司生产的 BN prospec 型特种蛋白测定仪,美国进口原装试剂盒;HBsAg 分别采用 ELISA 法和 MEIA 法检测,仪器分别为美国 BIO-RAD Model-3550-UV 酶标仪和美国雅培公司生产的 AXSYM 检测仪,洗板机为 DNX-9620 电脑洗板机。试剂盒分别为英科新创(厦门)科技有限公司生产和 Abbott AXSYM 原装配套试剂。3 种检测均按仪器操作规程和试剂盒说明操作。

1.3 血清检测 血清先用 ELISA 检测乙肝两对半除 HBsAg 和 HBsAb 阳性外无任何一项阳性。根据试剂盒说明设定参考范围:HBsAg-OD > 0.105 为阳性。

1.4 统计学处理 RF 浓度与 HBsAg 光密度之间采用直线回归分析。

2 结果

2.1 30 例 RF 阳性血清经 ELISA 法检测 HBsAg 阳性率为 43.3%(14/30),其 OD 值为 0.34 \pm 0.22(S/CO 值为 0.105)。

2.2 将 30 例 RF 阳性血清中 HBsAg 阳性的血清(14 例)用微粒子酶免疫法检测 HBsAg,阳性率为 0(0/14)。

2.3 用相关系数的假设检验统计,RF 浓度与 ELISA 法测定 HBsAg 的 OD 值间无显著相关性($r = 0.437\ 796, 0.1 < P < 0.2$)。

3 讨论

类风湿因子是机体对变性免疫球蛋白 IgG 所产生的自身抗体,属多株系的自身抗体^[1]。能与人或动物 IgG 分子 Fc 片段抗原决定簇结合,常见的 RF 有 IgM 型、IgG 型、IgA 型和 IgE 型,IgM 型 RF 被认为是 RF 的主要类型,也是临床免疫检

验中常规方法所测定的类型。国内外学者先后注意到 RF 在某些情况下可干扰部分病毒性肝炎免疫指标的检测^[2]。有文献报道,RF 阳性可以造成 ELISA 法测定 HBeAb 的假阳性^[3]。而在日常工作中发现,RF 浓度较高的血清对 ELISA 法测定 HBsAg 同样会造成一定的干扰,出现假阳性。在我们的实验中,30 例血清 RF 浓度高于 500 IU/mL 的患者有 14 例 HBsAg 呈现阳性反应,其阳性率为 43.3%,OD 值为 0.34 \pm 0.22(S/CO 值为 0.105),并且随着 RF 浓度的升高,HBsAg 的 OD 值也呈一定的升高趋势。同时,将这 14 例 HBsAg 阳性的血清用微粒子酶免疫法检测,无一例阳性,其阳性率为 0。这说明,高浓度的 RF 对用 ELISA 法检测 HBsAg 有一定的影响,会出现假阳性,而对微粒子酶免疫法检测没有干扰。其原因推测为 MEIA 检测 HBsAg 是采用双抗体夹心法,待测样本中的 HBsAg 与包被于微粒子的鼠抗 HBs-IgM 结合,再与生物素标记的羊抗 HBs-IgG 结合,形成微粒子复合物^[4]。而在 ELISA 法检测 HBsAg 的试剂盒中,固相包被的是表面抗体,RF 作为抗自身变性 IgG 的抗体,可以与包被的抗 α -IgG 的 Fc 段结合,再与酶标记物中的免疫球蛋白结合^[5],如果标记抗体没有通过木瓜酶分解为 Fab 段和 Fc 段,那么与固相包被抗体结合的 RF 就会与酶标记物发生非特异性的结合,产生呈色反应,出现假阳性结果。

ELISA 法影响因素较多,出现假阳性的概率也较高,而 MEIA 法具有较高的灵敏度,其检测低限可达 0.1 μ g/L,灵敏度高于 ELISA 法,且重复性好,为安全封闭式操作,操作时不易被污染,但成本较高^[6]。

以往有研究表明,ELISA 法检测肝炎病毒抗原、抗体出现假阳性与 RF 滴度有关,随着 RF 滴度增高引起吸光度也随之增高^[7],但并不是低浓度的 RF 对检测影响的就小,而高浓度的 RF 对检测的影响就大,只是存在相关性。本试验就提示高滴度的 RF 对 HBsAg 检测的干扰影响并无规律可循,其原因可能是 RF 具有自身特异性和同系特异性^[8],一种 RF 并不能与所有 IgG 分子上的 Fc 段抗原决定簇结合,只有当 RF 抗原决定簇与 IgG 分子上的 Fc 段在空间结构上具互补性才能结合,即只有当标本中血清存在能与 IgG 结合的 RF,同时 RF 必须达到一定浓度,才能有效地与抗 α 链结合,造成假阳性。为克服 RF 对检测的影响,应尽早使用重组抗原或合成肽作为固相抗原。

最近的研究势在解决如何去除 RF,目前国内外同类产品都使用了吸附剂,如用 2-巯基乙醇、二巯苏糖醇^[9]、G 蛋白、羊

抗人 IgM 血清或是用变性 IgG 去中和 RF 等方法,但都不能完全消除干扰,这些方法的可行性还有待权威论证^[10]。

综上所述,在临床实际工作中,如果 ELISA 法检测乙肝两对半时,仅有 HBsAg 阳性,或者出现少见的组合时,应该结合患者的临床病史或者其他方法排除 RF 的干扰,慎重报告结果。

参考文献

[1] Giéco MH. Immunodiagnosis for clinicians; interpretation of immunoassays [M]. Year Book medical Publishers. inc. Chicago. Lodon, 1983:129-130.

[2] 张正,陶其敏. 乙肝病毒感染中类风湿因子的研究[J]. 临床肝病杂志, 2009, 9(2): 173-175.

[3] 苏春力,郑丹,张亚楠. 类风湿因子阳性对酶法检测乙型肝炎 e 抗体的影响[J]. 检验医学, 2006, 21(1): 40.

[4] 谢顺鸿. ELISA 结合微粒子酶免疫测定法检测低水平 HBsAg 结果分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2005, 10(1): 21.

[5] 周晔,张莉. 分析及处理用 ELISA 法检测乙肝表面抗原产生“假阳性”[J]. 医学期刊, 2011, 20(1): 12.

[6] 李万金,李钰,戴盛明. 内源性干扰对免疫分析的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 10(1): 31.

[7] 王红梅,赵红. 类风湿因子与甲型肝炎病毒抗体 IgM 假阳性关系的实验研究[J]. 锦州医学院学报, 2004, 25(1): 25-26.

[8] 侯馨岳,郭贤华. ELISA 检测乙型肝炎免疫标志物中类风湿因子干扰问题的探讨[J]. 上海免疫学杂志, 1988, 8(1): 51-53.

[9] 贾保祥,刘宏,张玉海,等. 二硫苏糖醇处理淋巴细胞毒高敏感肾移植透析患者抗体的研究[J]. Chin Organ Transplant, 1997, 18(2): 120-122.

[10] 黄镇华,况二胜,温淑娟,等. 抗 TORCH-IgM 型抗体检测中类风湿因子 RF 清除的实验研究[J]. 第一军医大学学报, 2000, 20(2): 185-186.

(收稿日期:2011-08-01)

• 经验交流 •

126 例成年男性肥胖相关指数与超敏 C 反应蛋白关系的探讨

杨 楷¹, 刘慧玲², 马 杰^{1△}

(1. 湖北省新华医院检验科, 武汉 430015; 2. 湖北省医学体格检查中心, 武汉 430010)

摘要:目的 通过检测健康人群和肥胖人群的超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)水平比较,探讨成年男性肥胖相关指数中体质量指数(BMI)和腹型肥胖指数腰围(WC)或腰臀比(WHR)与 hs-CRP 的关系。方法 成年男性体检人群物理检测 BMI、WC、血压,采用全自动生化分析仪和化学发光仪检测受试者血 hs-CRP、血糖、血脂、胰岛素等相关生化指标,比较 BMI 和 WHR 与 hs-CRP 的关系。结果 BMI \geq 25 组和 BMI $<$ 25 组的临床和实验室指标显示,两组间 hs-CRP、SBP、TG、FBG、HOMA-IR 差异有统计学意义($P < 0.01$, WHR \geq 0.90 和 WHR $<$ 0.90 两组间比较,与 BMI 组基本相同;回归分析显示, BMI 和 WHR 与 hs-CRP(r 值分别为 0.382、0.314),有良好的正相关性。结论 hs-CRP 同成年男性肥胖相关指数 BMI 和 WHR 一样与代谢综合征(MS)关系密切,炎症反应可能在 MS 的发病机制中起重要作用。

关键词:肥胖症; C 反应蛋白质; 体质量指数; 腰围; 腰臀比

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.04.051

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)04-0484-02

根据“中国居民营养与健康现状”调查结果^[1],我国成人的超重率为 22.2%,肥胖率达到 7.1%,估计人数分别为 2 亿和 7 000 多万,并还在继续增长。肥胖已被列为世界上第 6 位影响人类疾病负担的危险因素^[2]。

近年来,大量研究发现肥胖常伴有高血压、高血糖、血脂代谢紊乱、胰岛素抵抗(IR)等代谢综合征症状(MS)。2005 年第一届国际糖尿病联盟(IDF)给出的 MS 的新定义将中心性肥胖作为诊断 MS 的必要条件,同时该定义被认为适用于任何国家确诊心血管疾病(CVD)的高危人群^[3]。

超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)是一种急性时相蛋白,被公认为炎症敏感性反应指标之一。大量研究资料表明 hs-CRP 也直接参与了动脉粥样硬化的过程,与冠心病的发生发展密切相关。本研究旨在探讨与 MS 关系密切的成年男性的 hs-CRP 与肥胖相关指数中体质量指数(BMI)和腰臀比(WHR)的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 9 月至 2011 年 2 月湖北省体检中心体检男性 126 例,年龄 35~58 岁,根据物理测量指标 BMI

和腰围(WC)将其分为 2 组, BMI \geq 25 者 68 例,为异常组 1; WC \geq 25 者 58 例,为异常组 2。另选取体检正常 148 人作为对照组。BMI 和 WHR 的计算及诊断标准:根据 BMI=[体质量(kg)/身高(cm)²]、WHR=腰围(cm)/臀围(cm)计算,采用简化的亚洲成人 BMI 标准^[4]:以 23.25 为切点标准,23~24.9 为超重, \geq 25 为肥胖;男性 WHR \geq 0.90 为肥胖。

1.2 方法

1.2.1 物理检查 采集完整病史。身高与体重:脱鞋帽,穿单衣测量。腰围(WC):穿薄内衣,测量肋弓下缘与髂骨嵴连线中点的水平周径(cm)。臀围(HC):臀部最大周径(cm)。血压:休息 10 min,间隔 2 min 测定 2 次收缩压(SBP)和舒张压(DBP)取平均值(mm Hg)。

1.2.2 生化指标测定 清晨采集受检者禁食 12 h 空腹静脉血。仪器为奥林巴斯 AU2700 全自动生化分析仪,采用 RAN-DOX 高、低值校准品和质控物,所用试剂均为奥林巴斯原装试剂,检测指标包括空腹血糖(FBG)、胆固醇(TC)、三酰甘油(TG),均为酶法测定。hs-CRP 采用西门子公司 BN ProSpec 全自动蛋白分析仪测定,胰岛素(Fins)采用西门子公司 AD-

△ 通讯作者, E-mail: majie588@126.com.