

降,甚至为零。以常规铁染色法判断细胞外铁水平极为准确,较少受检验人员水平及染液的影响,但在对细胞内铁水平的判断受方法学和检验人员水平影响较大,常有偏差,与核固红复染液主要对胞核着色,胞浆着色能力差有关。细胞内铁的报告方式是计算铁粒幼红细胞在 100 个中幼红细胞和晚幼红细胞中所占百分比,即细胞内铁阳性率^[9]。正确鉴别中、晚幼红细胞和其他有核细胞,是保证细胞内铁阳性率计算结果准确性的关键。IDA 患者骨髓中的幼红细胞存在“核老浆幼”的现象,尤其是中、重度患者,幼红细胞胞浆减少更为明显,难以与淋巴细胞相区别。传统铁染色法易将有核细胞胞浆染为淡红色,易导致将淋巴细胞误认为晚幼红细胞,也易导致将体积变小、胞浆减少的晚幼红细胞误认为淋巴细胞,两者分别造成细胞内铁阳性率检测结果假性降低或假性增高。经甲基绿复染后,幼红细胞胞浆呈淡黄色,而其他系统的有核细胞,如粒系和淋巴系细胞胞浆均为淡蓝色,且胞核与胞浆较易分辨,因此,在正确鉴别幼红细胞与淋巴细胞方面优于常规的核固红复染。因此,本研究以甲基绿复染代替常规染色法中的核固红复染。试验证明,骨髓涂片经甲基绿或核固红复染后,所计算获得的细胞内铁结果差异没有统计学意义($P>0.05$),且改良染色法可缩短计数时间,提高了工作效率。本研究中的染色结果显示,骨髓涂片经复染后,在骨髓小粒处有不同程度的残留复染液,尤其是甲基绿,因其本身是蓝绿色,复染后残留在骨髓小粒中的残渣颜色与铁染色阳性蓝绿色颗粒颜色接近,严重干扰细胞外铁阳性及阳性程度的判断。因此,笔者对细胞外铁染色方法进行了简化,只用酸性亚铁氰化钾对骨髓片进行染色,经冲洗、干燥后立即进行观察,结果显示该方法即可达到常规染色方法的染色效果,又节约了时间,且不受残余染液的干扰。

虽然多数情况下骨髓细胞内、外铁的改变是一致的,如 IDA 患者骨髓细胞外铁消失,细胞内铁减少,而铁粒幼细胞贫

血患者细胞外铁增加,细胞内铁也明显增加。但在某些情况下,如骨髓网状内皮系统清除铁功能过强时,可见细胞外铁消失而细胞内铁正常或减少^[10],故骨髓铁染色能较准确地反映骨髓铁的储备、利用、清除状况。本研究提出的改良铁染色方法即保证了细胞内、外铁检测结果的准确性,对铁代谢性疾病的辅助诊断有重要意义,又可缩短检测耗时,提高工作效率,适合临床实验室常规应用。

参考文献

- [1] 杨晴英,方立环.不同固定剂对铁染色效果的影响[J].诊断病理学杂志,2002,9(5):313-314.
- [2] 周建中.快速铁染色法的有效性研究[J].实用临床医学,2006,7(9):20.
- [3] 王宏梅,李福德,姜永芳.骨髓铁染色简化操作步骤的研究[J].临床血液学杂志,2008,21(7):377-378.
- [4] 田露,郑文宏,汤萌,等.两种骨髓铁染色方法的比较[J].实验与检验医学,2010,24(4):422.
- [5] 周建中.骨髓铁染色沉淀形成原因[J].中国误诊学杂志,2011,11(1):247.
- [6] 张姝.骨髓铁染色三种复染剂的方法学比较[J].护士进修杂志,2010,25(2):164-165.
- [7] 余晓红.骨髓铁染色方法的改进[J].临床军医杂志,2000,28(4):77.
- [8] 许文荣,王建中.临床血液学与检验[M].4版.北京:人民卫生出版社,2007:75.
- [9] 张之南.血液病诊断及疗效标准[M].2版.北京:科学出版社,1998:10-16.
- [10] 叶任高.内科学[M].北京:人民卫生出版社,2005:593-594.

(收稿日期:2011-12-11)

• 检验技术与方法 •

HBV 血清标志物不同方法检测结果分析

郑卫东[△],方伟,王 熾,周 晖,李 明,肖云珍,石艳杰

(广东省医学科学院/广东省人民医院病理医学部检验科,广州 510080)

摘要:目的 探讨酶联免疫吸附法(ELISA)和电化学发光法(ECLIA)检测乙型肝炎病毒血清标志物(HBsAg、抗 HBs、HBeAg、抗 HBe、抗 HBc)的模式特征及差异。**方法** 回顾性分析 2010 年 3~5 月以 ELISA 检测的 11 923 例标本及 2011 年同期以 ECLIA 检测的 8 786 例标本的乙型肝炎血清标志物结果。应用 SPSS17.0 软件对上述检测数据进行统计分析。**结果** 在 ELISA 检测的 11 923 例患者及 ECLIA 检测的 8 786 例患者中,男性患者 HBsAg 阳性率分别为 10.75%和 13.60%,女性患者分别为 9.36%和 10.81%,男性阳性率均高于女性。与 ELISA 相比,ECLIA 可检出 4 种新模式,即 345、1235、1345、12345 阳性模式,5 种 ELISA 模式 ECLIA 未能检出。不同月份间,ECLIA 检测 2、25 及 245 模式阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。ECLIA 及 ELISA 对 HBsAg 与抗 HBs 双阳性标本的检出率分别为 0.88%和 0.09%,差异有统计学意义($P<0.05$)。2、25、245 阳性模式组抗 HBs 定量中位数分别为 167.9、136.8、245.3 IU/L,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** ECLIA 与 ELISA 可检出 HBV 血清标志物不同模式结果,在审核和解释检测结果时需加以注意。抗 HBs 浓度水平可能与是否存在抗 HBe 和(或)抗 HBc 有一定关系。

关键词: 肝炎病毒,乙型; 血清学标志物; 酶联免疫吸附测定; 电化学发光法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.031

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)05-0578-03

乙型肝炎病毒(HBV)血清标志物(HBsAg、抗 HBs、HBeAg、抗 HBe、抗 HBc)检测是诊断 HBV 感染和判断病毒复

制的重要指标^[1]。酶联免疫吸附法(ELISA)是 HBV 血清标志物检测的主要方法,但电化学发光法(ECLIA)的应用日益广

[△] 通讯作者,E-mail:zwdin@126.com。

泛^[2-3]。ECLIA 与 ELISA 检测原理和特性不同,HBV 血清标志物检测结果存在差异。本实验室对 ECLIA 与 ELISA 检测 HBV 血清标志物有可能出现的各种模式进行了综合分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院住院患者 20 709 例,年龄 1 d 至 97 岁,男 11 292 例、女 9 417 例;11 923 例为 2010 年 3~5 月住院患者,另外 8 786 例为 2011 年 3~5 月住院患者。

1.2 方法 2010 年 3~5 月住院患者外周血标本以 ELISA 检测 HBV 血清标志物,试剂来自中山生物工程公司。2011 年 3~5 月标本采用 ECLIA 检测,试剂购自罗氏诊断公司。均严格按照说明书进行操作。

1.3 统计学处理 组间率的比较采用 χ^2 检验;抗 HBs 定量数据组间比较采用 Kruskal-Wallis *H* 检验。统计分析均使用 SPSS17.0 统计软件完成。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBsAg 阳性患者性别分布 ELISA 检测的 11 923 例患者中,6 548 例男性和 5 375 例女性 HBsAg 阳性率分别为 10.75% 和 9.36%,前者高于后者 ($\chi^2 = 6.298, P < 0.05$)。ECLIA 检测的 8 786 例患者中,4 744 例男性和 4 042 例女性 HBsAg 阳性率分别为 13.60% 和 10.81%,前者高于后者 ($\chi^2 = 15.196, P < 0.05$)。

表 1 11 923 例患者 HBV 血清标志物检测结果(ELISA)

模式描述 [#]	例数(<i>n</i>)	阳性率(%)
全阴性	2 085	17.49
1	3	0.03
2	6 666	55.91
3	2	0.02
4	2	0.02
5	89	0.75
12	1	0.01
13	19	0.16
14	3	0.03
15	79	0.66
24	716	6.01
25	248	2.08
35	4	0.03
45	242	2.03
125	2	0.02
235	3	0.03
245	659	5.53
1245	8	0.07
135	129	1.08
145	963	8.08
合计	11 923	100.00

[#]:模式描述中全阴性表示 5 项血清学标志物均为阴性,1 表示 HBsAg 阳性,2 表示抗 HBs 阳性,3 表示 HBeAg 阳性,4 表示抗 HBe 阳性,5 表示抗 HBc 阳性。(下同)

2.2 两种不同方法检测 HBV 血清标志物模式分析 ELISA 检测 11 923 例患者 HBV 血清标志物表现为 20 种不同模式,ECLIA 检测 8 786 例患者表现为 19 种不同模式。ECLIA 检测 HBV 血清标志物 4 种新模式,即 345、1235、1345、12345 阳性模式;ELISA 可检出的 5 种模式未能重现,即 3、12、13、14、125 阳性模式。详见表 1、2。

表 2 8 786 例患者 HBV 血清标志物检测结果(ECLIA)

模式描述	例数(<i>n</i>)	阳性率(%)
全阴性	1 008	11.47
1	2	0.02
2	1 611	18.34
4	9	0.10
5	429	4.88
15	17	0.19
24	15	0.17
25	1 938	22.06
35	3	0.03
45	435	4.95
235	3	0.03
245	2 250	25.61
345	3	0.03
1235	18	0.20
1245	56	0.64
1345	45	0.51
12345	3	0.03
135	134	1.53
145	807	9.19
合计	8 786	100.00

2.3 2、25、245 阳性模式阳性率比较 2010 年 3、4、5 月以 ELISA 分别检测 4 357、3 768 和 3 798 例标本,3 个月间 2、25 和 245 阳性率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。2011 年 3、4 和 5 月以 ECLIA 分别检测 2 990、2 791 和 3 005 例标本,3 个月间 2、25、245 阳性率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。2010 年 3 个月 11 923 例标本和 2011 年 3 个月 8 786 例标本 2、25 和 245 阳性率比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。详见表 3。

表 3 2、25、245 阳性模式阳性率比较 [%(*n*/*n*)]

检测月份	2 阳性	25 阳性	245 阳性
2010.3	54.51(2 375/4 357)	2.62(114/4 357)	5.16(225/4 357)
2010.4	57.62(2 171/3 768)	1.38(52/3 768)	4.96(187/3 768)
2010.5	55.82(2 120/3 798)	2.16(82/3 798)	6.50(247/3 798)
合计	55.91(6 666/11 923)	2.08(248/11 923)	5.53(659/11 923)
2011.3	19.10(571/2 990)	22.94(686/2 990)	25.12(751/2 990)
2011.4	18.38(513/2 791)	21.03(587/2 791)	25.94(724/2 791)
2011.5	17.54(527/3 005)	22.13(665/3 005)	25.79(775/3 005)
合计	18.34(1 611/8 786)	21.83(1 938/8 786)	25.61(2 250/8 786)

2.4 抗 HBs 定量结果比较 ECLIA 测定抗 HBs 浓度大于参考区间上限的 3 组间(2、25、245 阳性模式组)抗 HBs 定量结果比较差异有统计学意义($\chi^2=86.24, P<0.05$)。详见图 1。

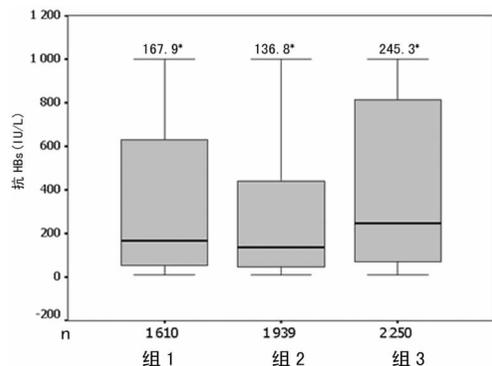


图 1: 2 阳性; 组 2: 25 阳性; 组 3: 245 阳性; *: 抗 HBs 定量检测结果中位数, 单位 IU/L。

图 1 不同抗 HBs 阳性模式组抗 HBs 定量结果比较

2.5 HBsAg 和抗 HBs 同时阳性的比例 以 ECLIA 检测 8 786 例标本, 检出 HBsAg 和抗 HBs 同时阳性 77 例, 阳性率为 0.88%; 以 ELISA 从 11 923 例标本中检出 11 例双阳性标本, 阳性率为 0.09%。Fisher 精确概率检验证实两组间双阳性标本检出率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

HBsAg 是 HBV S 基因编码的包膜蛋白, 是机体感染 HBV 后最早出现的血清标志物之一^[4]。抗 HBs 是 HBsAg 刺激机体产生的保护性中和抗体, 有清除 HBV、防止再感染的作用。但抗 HBs 滴度较低时, 不能阻止或全部阻止 HBV DNA 在体内复制。HBeAg 和 HBcAg 是 HBV C 基因前 C 区和 C 区翻译产物, 大部分氨基酸序列相同, 但前者是分泌型蛋白, 由感染后的肝细胞分泌^[4-5]。HBeAg 和 HBcAg 均有特异性抗原表位, 可分别诱导产生抗 HBe 和抗 HBc。抗 HBe 一般存在于无症状 HBV 携带者及非活动期慢性肝炎患者中, 一般在 HBeAg 消失后出现, 表示病毒复制减少或终止, 传染性减弱或消失, 病情开始恢复^[4]。抗 HBc 是感染 HBV 后最早出现的抗体。

乙型肝炎病毒血清学标志物检测可以出现不同的结果模式^[4,6]。本文资料证实 ELISA 检测 11 923 例标本, 可检出 20 种不同模式; ECLIA 检测 8 786 例标本, 可检出 19 种不同模式; 提示 ELISA 和 ECLIA 检测可出现不同的结果模式。两种方法均可检出的模式有 15 种, 即全阴性及 1、2、4、5、15、24、25、35、45、235、245、135、145、1245 阳性模式。与 ELISA 相比, ECLIA 可检出 4 种新模式, 即 345、1235、1345、12345 阳性模式, 而 ELISA 可检出的 5 种模式未能检出, 即 3、12、13、14、125 阳性模式。在 ELISA 检出的 20 种结果模式中, 阳性率大于 1.00% 的模式包括全阴性及 2、24、25、45、245、135、145 阳性模式; 在 ECLIA 检出的 19 种结果模式中, 阳性率大于 1.00% 的模式包括全阴性及 2、5、25、45、245、135、145 阳性模式。因此全阴性模式及 2、25、45、245、135、145 阳性模式是 HBV 血清标志物检测相对较常见的结果模式。叶倩等^[7]研究发现 188 例原发性肝癌患者中“小三阳”(145 阳性)所占比例为 64.36%, 高于“大三阳”(135 阳性)所占比例(16.1%), 提示肝癌患者以“小三阳”更为常见。对于 ECLIA 检出的 4 种新模式(345、1235、1345、12345 阳性模式), 可能的解释如下: 345 阳性模式若能排除 HBsAg 的带现象, 则提示患者感染 HBV 后体内

HBeAg 和抗 HBe 处于转换过程中的动态平衡状态^[8]; 1235 阳性模式提示患者体内存在抗 HBs, 但不足以完全中和 HBsAg, 可能因为不同 HBV 亚型感染或 HBV S 区基因突变导致 HBsAg 和抗 HBs 共同存在; 1345 阳性模式提示患者感染 HBV 后处于“大三阳”和“小三阳”转换期, 体内 HBeAg 和抗 HBe 处于转换过程中的动态平衡状态, 或者 HBV C 区发生变异; 12345 阳性模式较为罕见, 可能是因为在抗病毒药物治疗过程中, HBV S 区或 C 区基因发生变异^[9-10]。ECLIA 检出的 HBsAg 和抗 HBs 双阳性模式的总阳性率高于 ELISA, 除了患者因素以外, 检测方法学可能也是造成此种差异的重要原因。

对 2010 年和 2011 年 3、4、5 月住院患者 2、25、245 阳性模式的阳性率分别进行比较, 结果发现 ECLIA 检出的 2、25、245 阳性模式阳性率在 2011 年 3 个月间无显著差异, 而 ELISA 检出的 3 种模式阳性率在 3 个月间有显著差异。2010 年 3 个月 11 923 例标本和 2011 年 3 个月 8 786 例标本间, 3 种模式阳性率比较均有显著差异。上述结果提示, 对于仅采用 ECLIA 检测或既开展 ECLIA 又保留 ELISA 检测的实验室而言, 在审核和解释 HBV 血清标志物检测结果时需注意这些差异性。

本研究对抗 HBs 阳性模式进行分组(2、25、245 阳性模式), 对 3 组间抗 HBs 浓度水平进行比较, 245 阳性模式组抗体浓度水平高于其他 2 组, 提示机体抗 HBs 浓度水平可能与是否存在抗 HBe 和(或)抗 HBc 有一定关系。

参考文献

- [1] 中华医学会肝病学分会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13(12): 881-891.
- [2] Hadziyannis E, Manesis E, Vassilopoulos D, et al. Performance characteristics of microparticle enzyme and chemiluminescence immunoassays for measurement of anti-HBc immunoglobulin M in sera of patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection [J]. Clin Vaccine Immunol, 2008, 15(2): 385-387.
- [3] Huzly D, Schenk T, Jilg W, et al. Comparison of nine commercially available assays for quantification of antibody response to hepatitis B virus surface antigen [J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(4): 1298-1306.
- [4] 何卫平, 赵军. 乙型肝炎病毒血清学标志物临床意义解读[J]. 中华全科医师杂志, 2010, 9(8): 516-518.
- [5] 黄文林. 分子病毒学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 519-521.
- [6] 刘媛媛, 辛武, 韩忠学. 乙型肝炎血清学标志物特殊模式的分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(4): 516-517.
- [7] 叶倩, 陈燕, 李筱莉. 原发性肝癌患者乙型肝炎病毒标志物模式与病毒 DNA 载量分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 185-186.
- [8] 邱振华, 黄金波, 曾在祥. 乙肝血清学标志物 HBeAg 与抗 HBe 共存模式分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(12): 895-896.
- [9] 徐兆珍, 关伟, 张淑静, 等. 乙型肝炎表面抗原抗体同时存在的血清学模式与病毒血症的关系[J]. 临床输血与检验, 2010, 12(3): 216-218.
- [10] 梁盼盼, 郭进军, 李青岭, 等. 慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗中的病毒准种演变[J]. 中华肝脏病杂志, 2011, 19(7): 516-520.

(收稿日期: 2011-12-13)