

实验结果的准确性,做到检测方法的标准化是一个不容忽视的问题。只有建立全面质量控制体系,制定相关制度和管理措施,并严格实施,采取其他积极有效的措施加强分析前质量控制^[13],才能有效地保证检验质量,更好地服务于临床和广大患者。

参考文献

[1] 许俊堂,丛玉隆. 抗栓与溶栓药物的血液学监测[J]. 中华检验医学杂志,2001,24(1):53-55.
 [2] Wallin O, Soderberg J, Van Guelpen B, et al. Preanalytical venous blood sampling practices demand improvement; a survey of test-request management, test-tube labelling and information search procedures[J]. Clin Chim Acta, 2008, 391(1/2): 91-97.
 [3] 孙良起, 马丽, 王秀丽. 临床检验不合格标本原因分析及对策[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(3): 281-282.
 [4] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 121-122.
 [5] 任定玉. 规范化血标本采集送检流程的运用及效果[J]. 护理管理杂志, 2009, 9(7): 27-28.
 [6] 李春伟, 杨艳, 李雪. 凝血指标检测影响因素分析及不合格标本的分布和控制[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(8): 814.
 [7] 程红革, 李金万, 韦卉, 等. 凝血试验分析前影响因素及其标准化

[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3): 298-301.
 [8] 丛玉隆, 吴丽媛, 殷宗健. 凝血试验真空管“死腔”所致 APTT、PF4 偏差探讨[J]. 临床检验杂志, 2002, 20(5): 263-264.
 [9] Gosselin RC, Janatpourk, Larkin EC, et al. Comparison of samples obtained from 3.2% sodium citrate glass and two 3.2% sodium citrate plastic blood collection tubes used in coagulation testing [J]. Am J Clin Pathol, 2004, 122(6): 843-848.
 [10] Tripodi A, Chantarangkul V, Bressi C, et al. How to evaluate sensitivity index. Protocol applied to two new evacuated tubes and eight coagulometer/thromboplastin combinations [J]. Thromb Res, 2002, 108(1): 855-859.
 [11] 马雅静, 谷场, 张蕾. 不同采血管对 PT、APTT 及 FIB 检测的影响[J]. 农垦医学, 2004, 6(3): 203-204.
 [12] 焦连亭, 耿杰. 真空采血器的技术特点及应用[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(6): 376-378.
 [13] Dana MG, Shahram S, Anne MP, et al. A summary of deliberations on strategic planning for continuous quality improvement in laboratory medicine. [J]. Am J Clin Pathol, 2009, 131(3): 315-320.

(收稿日期: 2012-01-10)

• 检验仪器与试剂评价 •

两种定量方法检测乙型肝炎 5 项指标结果比较

高继兵¹, 陈继中¹, 汪亚勤¹, 宋有良², 金正胜², 黄义泽²

(安徽省铜陵市人民医院: 1. 临床检验中心; 2. 感染科 244000)

摘要:目的 比较两种定量检测乙型肝炎 5 项指标, 观察其检测的临床应用价值。方法 分别取 65 例样本用化学发光法和时间分辨法同时进行乙肝 5 项指标检测。结果 两者阳性率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 化学发光法灵敏度更高, 对 HBV 感染的诊断、治疗方案的选择及疗效判定有更重要的临床意义, 时间分辨法更适合临床住院患者的常规筛选。

关键词: 肝炎, 乙型; 血清标志物; 荧光免疫分析; 化学发光测定法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.14.037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)14-1739-02

乙肝在中国有较高的发病率, 目前国内外的检测方法有酶联免疫法、放射免疫法、时间分辨法、化学发光法、聚合酶链反应等, 乙肝两对半是最常用的血清学指标, 传统的检测方法只能提供定性结果, 最多也只能进行滴度的分析, 在临床使用上有一定的局限性, 特别是在疗效观察以及乙肝疫苗注射后抗体产生情况的观察上有明显的不足。而定量检测乙肝两对半能提供乙肝病毒标志物的精确含量^[1]。这不仅是方法学上的进步, 对临床检测水平的提高也有较大的发展。本科自 2007 年以来先后建立了化学发光法和时间分辨法定量检测乙肝 5 项指标, 现就两者乙肝 5 项定量检测结果对比报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 65 例乙肝检测患者均为本院住院或门诊患者, 男 36 例, 女 29 例; 年龄 12~68 岁, 平均年龄 38.3 岁。

1.2 仪器与试剂 时间分辨法全自动样本前处理系统 EFF-ICUTA2710, Anytest 时间分辨荧光免疫分析仪均由上海新波生物技术有限公司提供, i2000SR 化学发光分析仪由美国雅培公司提供, 试剂为配套产品。

1.3 方法 抽取患者清晨空腹静脉血 4.5 mL, 3 000 r/min 离心, 吸取血清分别做化学发光法和时间分辨法定测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS12.0 统计学软件进行数据分

析, 通过 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

化学发光法和时间分辨法定量检测乙肝 5 项指标结果比较, 见表 1。

表 1 化学发光法和时间分辨法定量检测乙肝 5 项指标结果比较

组别	化学发光法		时间分辨法	
	$\bar{x} \pm s$	阳性[n(%)]	$\bar{x} \pm s$	阳性[n(%)]
HBsAg	138.48 ± 118.51	45(69.2)	115.33 ± 98.06	42(64.6)
抗-HBs	218.02 ± 114.18	22(33.8)	425.24 ± 224.36	25(38.5)
HBeAg	31.07 ± 21.76	13(20.0)	16.63 ± 14.18	12(18.5)
抗-HBe	0.46 ± 0.33	43(66.2)	1.48 ± 0.84	42(64.6)
抗-HBc	5.16 ± 3.33	48(73.8)	4.30 ± 3.46	47(72.3)

$P > 0.05$ 。

3 讨论

HBV 是一种 DNA 病毒, 病毒基因中包含四个相互重叠的开放阅读框, 它们分别为核心基因、表面基因、X 基因以及聚合酶表达基因, 表面基因可以编码 HBsAg 蛋白。HBsAg 含有

226 个氨基酸,是一个直径 20 nm 球形颗粒的支配蛋白。HBV 表面基因包含中性化抗原决定簇,称为“a”,位于 HBsAg 的“a a 121~149”间,通过接种“a”决定簇疫苗而预防 HBV 感染。在感染初期,病毒必须通过表面抗原蛋白黏附于宿主细胞受体上,HBV 有三种相关的表面蛋白,分别为大 S 蛋白、中 S 蛋白和小 S 蛋白,现在还不清楚其中的哪一种蛋白起黏附作用^[2]。定量分析 HBsAg 和抗-HBs 水平变化,可预见急性乙肝是否处于恢复期。如 HBsAg 水平降低,抗-HBs 水平逐渐升高,可说明病情正往恢复期发展;反之,HBsAg 水平处于较高水平或上升趋势,而抗-HBs 一直处于较低水平,则易发展为慢性乙肝或病毒携带者。从表 1 中可以看出化学发光法的 HBsAg 和抗-HBs 的阳性例数高于时间分辨法的阳性例数,这是由于国产的自动样本前处理系统 EFFICUTA2710 有洗涤不干净、加铺标志物量不足等问题,不能做出检测和报警,导致假阴性的出现。而美国雅培公司的 i2000SR 有完整的监测和报警系统,不论是样品还是试剂的量不足,都能及时发出报警以便处理。抗-HBs 的定量测定能够对抗体是否真正具有“中和”HBV 的免疫力作出正确评价,对乙肝的预防起到监督作用。研究表明,抗-HBs 的水平达到 100 mIU/mL 以上时才可确定具有抵抗 HBV 入侵的作用。作定量检测可根据抗-HBs 水平判断机体对 HBV 的免疫状态及乙肝疫苗的免疫效果。因此,定量测定对乙肝疫苗免疫力的评价和高危人群预防免疫具有重要意义,特别是在少年儿童预防乙肝方面。

完整的 HBV 病毒颗粒为圆形,直径 42 nm,呈双层结构,由外壳蛋白和核心成分组成,HBV DNA 是乙型肝炎病毒基因,HBsAg 是 HBV 基因组前 C/C 区编码的一种可溶性抗原蛋白,是 HBV 核心抗原的裂解产物,其在体内 HBV 生命周期中起重要作用,为非病毒结构蛋白,也不参与病毒复制,但它在感染过程中可缓解宿主免疫应答,作为免疫耐受原,促进疾病慢性化^[3]。本次研究结果表明,对于 HBeAg 的定量检测,两种检测方法定性结果一致性 92.3%。化学发光法与时间分辨法差异无统计学意义($P>0.05$),但有 1 例标本化学发光法结果为阳性,而时间分辨法检测到 HBeAg 在参考范围内。Utama 等^[4]认为,慢性乙型肝炎患者典型表现是 HBeAg 阳性伴有血清 HBV DNA 可检测,通常情况下,HBeAg 阳性转化成抗-HBe 阳性,与肝脏中的 HBV 复制减少和低传染性有关联。然而,在一些患者中,由于免疫压力与血清转换选择相关,乙肝病毒的变异使 HBeAg 的表达很少或根本没有。虽然患者可产生抗-HBe,活跃的 HBV DNA 继续复制引起肝损害。经过研究认为,HBeAg 阴性患者在亚洲所占百分率相对高,大多数患者是 HBeAg 阴转,余下的为没有表达 HBeAg。在前 C 区 A1896 突变是 HBeAg 失去表达的主要原因,T1762/A1764 核心启动子突变与 HBeAg 阳性患者更低的病毒载量有关,却与 HBeAg 阴性患者更高的病毒载量有关。本次两种方法检测 HBsAg、抗-HBc 阳性率均达到 60% 以上,而 HBeAg 只有 10% 以上的阳性率,可能与上述原因有关。

抗-HBc 不是保护性抗体,单项抗-HBc 阳性提示机体既往感染或急性感染的“窗口期”。如果过去是阳性,现在虽然也是阳性,但是滴度比原来低,表示曾经得过乙肝,这就是出现低滴度抗-HBc 阳性的原因。这种阳性差不多要持续几年或数十

年,出现这种模式时应作 PCR 测定 HBV DNA 以确定该患者处于何种状态。另外,血清学检测 HBsAg 阴性不能排除 HBV 感染已经成为共识。早在 1978 年就有报道,HBsAg 阴性、抗-HBc 阳性的供血者可导致受血者感染 HBV。HBsAg 阴性、抗-HBc 阳性的 HBV DNA 阳性血清中,部分 HBV 以免疫复合物形式存在。抗-HBc 指标在确定人群 HBV 感染程度、分析和判断患者病程发挥了重要作用^[5]。本次检查化学发光法与时间分辨法抗-HBc 阳性率分别为 73.8%、72.3%,高于 HBsAg 的阳性率,单项阳性分别为 5 例和 3 例,均为“窗口期”患者。抗-HBc 在几乎所有与 HBV 接触的患者都能检测到,长期接触更为典型。然而,中国的 HBV 感染患者抗-HBc 阴性较多,可能由于在出生或出生后早期获得性感染,这些患者可能长期带病毒而免疫耐受。乙肝病毒核心抗原反应 T 细胞转移与慢性 HBV 感染应答有关联,基于此,抗-HBc 阴性的慢性乙肝患者可能是在病毒免疫耐受的状态,抗-HBc 阳性与 T 淋巴细胞激活有关^[6]。

综上所述,对于乙肝 5 项指标的检测,目前主要是 ELISA 法,但该法酶的纯度和反应过程容易受环境因素影响,导致其稳定性、敏感度、重复性不及放射免疫技术,易造成漏检和假阳性。而应用时间分辨法和化学发光法两种定量检测方法不受样品的自然荧光干扰,具有剪度剪度高、剪异性剪强、剪重复性剪好、剪标准曲线剪范围剪宽、剪无放射性剪污染剪等特点,被认为是当前最剪先进的剪免疫剪分析方法之一。时间分辨法和化学发光法定量检测乙肝差异无统计学意义,但化学发光法剪灵敏度剪更高,且标本处理前和中的剪误差剪小,是定量检测的“剪金标准”,对 HBV 感染的诊断、治疗方案的选择及疗效判定有更重要的剪临床剪意义,但其成本高于时间分辨法,时间分辨法更适合临床住院患者的常规筛选。

参考文献

- [1] 高继兵,蔡善武,朱前.乙型肝炎 5 项指标的定性定量检测比较[J].蚌埠医学院学报,2005,30(6):559-560.
- [2] Yang X, Tang XP, Lei JH, et al. A novel stop codon mutation in HBsAg gene identified in a hepatitis B virus strain associated with cryptogenic cirrhosis[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(7): 1516-1520.
- [3] 易本谊,张一,易冬英.乙型肝炎 e 抗原时间分辨荧光免疫分析法定量测定在慢性乙型肝炎诊断和治疗中的价值[J].临床荟萃,2008,23(22):1064-1066.
- [4] Utama A, Sibirian MD, Purwantomo S, et al. Association of core promoter mutations of hepatitis B virus and viral load is different in HBeAg(+) and HBeAg(-) patients[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(6): 708-716.
- [5] 张汉奎,陈桂山,何结冰,等.抗 HBc 阳性在乙肝 5 项指标中的分布及滴度关系[J].海南医学院学报,2010,16(8):1071-1079.
- [6] Xiao P, Chen QF, Yang YL. Serum soluble interleukin-2 receptor levels in patients with chronic hepatitis B virus infection and its relation with anti-HBc[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(3): 482-484.

(收稿日期:2012-01-10)