

- [8] 黄小燕,李宇雄,戴小波. 苜蓿素氯胺比浊法测定脑脊液蛋白质的方法学评价[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(15): 902-903.
- [9] 徐国宾,蒋琳. 临床生物化学常规定量方法的分析性能评价[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(6): 718-720.
- [10] 罗梅,贺岩,张晓宇. 全自动生化分析仪参数设置与应用[J]. 国

际检验医学杂志, 2012, 33(2): 222-223.

- [11] 肖玉鹏,吴卫平. 自动生化分析仪定量测定脑脊液总蛋白[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(2): 116-117.

(收稿日期: 2015-07-09)

• 经验交流 •

Elecsys HBsAg COI 灰区标本再分析探讨

姚家奎,印晓静,钱小丽,成红霞[△]

(江苏省苏北人民医院医学检验科,江苏扬州 225001)

摘要:目的 探讨电化学发光免疫分析(ECLIA)法乙型肝炎病毒(HBV)表面抗原(HBsAg)cut off 指数(COI)灰区标本再次进行确证分析的临床价值。方法 被检血清标本均来自 2014 年 1 月至 2015 年 3 月该院就诊的门诊和住院患者,应用 Elecsys HBsAg 确证试验对 213 例 ECLIA 法检出 HBsAg COI 灰区标本进行再分析并对受检标本 HBV 血清标志物两对半(以下简称乙肝两对半)模式进行回顾性分析。结果 213 份标本中 ECLIA 法检测 HBsAg COI 结果为 0.80~0.99 31 例,经 Elecsys HBsAg 确证试验阳性 2 例[6.45%(2/31)];HBsAg COI 结果为 1.0~1.99 弱反应性标本 93 例,经 Elecsys HBsAg 确证试验阳性 92 例[98.92%(92/93)];HBsAg COI 结果为 2.0~6.99 89 例,经 Elecsys HBsAg 确证试验均为阳性,阳性率为 100.00%(89/89);213 例 ECLIA 法检出 HBsAg COI 灰区标本经 Elecsys HBsAg 确证试验阳性 183 例,检出 6 种乙肝两对半模式,其中 HBsAg、HBV e 抗体(HBeAb)、HBV 核心抗体(HBcAb)阳性模式 155 例,占大多数[72.77%(155/213)];经 Elecsys HBsAg 确证试验阴性 30 份标本中检出 7 种乙肝两对半模式,其中 HBeAb、HBcAb 阳性模式 16 例,检出率为 7.51%(16/213)。结论 ECLIA 法乙肝两对半定量检测 HBsAg 临界或较低水平的弱反应性标本、乙型肝炎感染模式不常见的标本时需经 Elecsys HBsAg 确证试验再分析以防止假阴性或假阳性结果的出现。

关键词:肝炎病毒,乙型; 肝炎表面抗原,乙型; 电化学; 免疫测定; 乙型肝炎病毒表面抗原定量试验; 乙型肝炎病毒表面抗原确证试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.02.064

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2016)02-0277-02

乙型肝炎病毒(HBV)血清标志物(以下简称乙肝两对半)定量检测是用来评估人体自身免疫系统对抗 HBV 能力的简单、可靠的方法,其能帮助医生监测和评估患者抗病毒治疗的应答情况,早期预测治疗是否有效^[1]。然而在具体操作过程中由于一些 HBV 低浓度携带者的低抗原量及检测方法学所限等原因造成了 HBV 表面抗原(HBsAg)的漏检和假阳性,不得不起临床和检验医生的关注。近年来随着检验技术的不断发展,根据临床需要及各自检测方法优势来选择经济、适用、结果可靠的检验方法,制定标准规范操作程序已成为必然。由于电化学发光免疫分析(ECLIA)法为定量检测、操作简单,亦可对乙肝两对半模式进行确证试验,且在乙型肝炎患者病情的动态观察和药物疗效考核方面具有重要意义,已在临床逐步推广应用^[2-3]。本研究探讨了 ECLIA 法在乙肝两对半定量试验中 HBsAg cut off 指数(COI)灰区标本的主要模式及再次进行确证分析的临床价值。

1 材料与与方法

1.1 标本来源 所有被检血清标本均来自 2014 年 1 月至 2015 年 3 月本院就诊的门诊和住院患者。

1.2 仪器及信息系统 德国 Roche cobas 6000 全自动生化分析仪、Roche RSA 样品前处理系统、北京智方 LIS 系统及 cabas IT3000 solution 软件系统。

1.3 试剂 Roche cobas 6000 全自动生化分析仪(ECLIA 法)配套乙肝两对半定量试剂、定标液 1、定标液 2、HBsAg 确证试剂及 HBsAg II 质控品等均由德国罗氏诊断公司生产,所有试剂均在有效期内使用。

1.4 方法 采集被检者空腹静脉血 3 mL,经 Roche RSA 样品前处理系统签收、离心、去除试管盖后采用 Roche cobas 6000 全自动生化分析仪分别对相应标本进行检测分析并对 HBsAg 临界及弱反应性标本进行 Elecsys HBsAg 确证试验再分析。为确保受检血清标本与确认试剂、质控试剂反应过程条件一致,确证试验检测前将 Roche cobas 6000 封闭 3 个检测池,只保留 1 个检测池。

1.5 检测结果判定 乙肝两对半定量检测采用 ECLIA 法由 Elecsys 软件自动通过比较样本的反应产物产生的光电信号和定标液得出 cut off 值进行结果判定。HBsAg \geq 1.0 COI 为有反应性,<1.0 COI 为无反应性。Elecsys HBsAg 确证试验的样本和阳性 II 质控品同时经确认试剂、质控试剂预处理 30 min 后经 Roche Modular cobas 6000 全自动生化分析仪检测 COI,在审核检测的有效性条件下(在确证试剂检测中 Elecsys Preci Control HBsAg II 的 COI 必须小于质控试剂检测的 COI 50%),若质控试剂检测的标本 COI 为 100%,确证试剂检测的标本 COI 为 X%,则结果解释为 X>50%,且质控试剂检测的 COI \geq 0.9 确证试验结果为无反应性;X<50%且质控试剂检测的 COI \geq 0.9 确证试验结果为阳性。

2 结果

2.1 ECLIA 法与 Elecsys HBsAg 确证试验检测 HBsAg 结果比较 213 例 ECLIA 法检出 HBsAg COI 临界及弱反应性标本再次进行 Elecsys HBsAg 确证试验结果比较见表 1。

2.2 Elecsys HBsAg 确证试验阴、阳性标本乙肝两对半模式分析 213 例 ECLIA 法检出 HBsAg COI 灰区标本经 Elecsys

[△] 通讯作者,E-mail:2460672142@qq.com.

HBsAg 确证试验阳性 183 例, 检出 6 种乙肝两对半模式, 其中 HBsAg、HBV e 抗体 (HBeAb)、HBV 核心抗体 (HBcAb) 阳性模式 155 例占大多数, 检出率为 72.77% (155/213); 经 Elecsys HBsAg 确证试验阴性 30 例, 检出 7 种乙肝两对半模式, 其中 HBeAb、HBcAb 阳性模式 16 例, 检出率为 7.51% (16/213)。

表 1 ECLIA 法与 Elecsys HBsAg 确证试验检测 HBsAg 结果比较

ECLIA 法 (COI 值)	n	Elecsys HBsAg 确证试验	
		阳性 (n)	阴性 (n)
0.8~0.99	31	2	29
1.0~1.99	93	92	1
2.0~2.99	41	41	0
3.0~3.99	30	30	0
4.0~4.99	14	14	0
5.0~6.99	4	4	0
合计	213	183	30

3 讨 论

ECLIA 法是将发光系统与免疫相结合以检测抗原或抗体的方法, 是继放射免疫、酶免疫、荧光免疫、化学发光免疫之后的新一代标记免疫技术, 其具有操作简便、试剂贮存有效期长、检测速度快、灵敏度高 (可达 0.05 ng/mL)、线性范围宽、应用范围广等特点^[4]。有研究证实, 单克隆捕捉抗体技术的测定方法不能检测到 HBsAg 突变的重组株和自然突变株, 而多克隆捕捉抗体的检测技术对 HBsAg 突变株具有良好的识别能力, 为避免 HBsAg 突变株引起的假阴性, Elecsys HBsAg II 定量试验与确证试验采用的是多克隆抗体。该检测方法根据在选择性压力 (由抗病毒治疗或免疫系统本身引起) 下, 病毒可表达多种不同的 HBsAg 突变株, 而一些 HBsAg 检测试剂可能无法检测到, Roche coche cobas 6000 全自动生化分析仪的 ECLIA 法 Elecsys HBsAg II 检测试剂是特别针对检测这些突变株而研发的, 其检测的特异性、灵敏度更高, 线性范围更宽^[5-6]。本研究 213 份标本中 ECLIA 法检测 HBsAg COI 结果为 0.80~0.99 31 例, 经 Elecsys HBsAg 确证试验阳性 2 例, COI 值分别为 0.924、0.890, 占 6.45% (2/31); HBsAg COI 结果为 1.0~1.99 93 例, 经 Elecsys HBsAg 确证试验阳性 92 例 [98.92% (92/93)]; HBsAg COI 结果 2.0~6.99 89 例, 经 Elecsys HBsAg 确证试验均为阳性, 阳性率为 100.00% (89/89), 表明 ECLIA 法检出 HBsAg COI < 2.0 标本应经 Elecsys HBsAg II 确证试验再次分析, 由于 Roche coche cobas 6000 全自动生化分析仪的 Elecsys HBsAg II 检测试剂具有上述优势, 因而 HBsAg COI > 2.0 标本可以结合其他 HBV 标志物不必再次进行 HBsAg 确证试验分析。所以对采用 ECLIA 法检测的灰区样本再用确诊的方法进行确认分析, 获得的结果对临床工作中试剂的选择及乙型肝炎的诊治具有指导价值。

近年来 ECLIA 法在一些医院已经被用于 HBV 血清标志物的检测, 是一种灵敏度和可信度较高的分析技术^[7-8]。尤其 HBsAg COI 临界及弱反应标本已被临床和检验医生高度关注, 经 Elecsys HBsAg II 确证试验检测后结果将成为临床医生

评价病情及疗效的重要参考依据。本研究低浓度 HBsAg 标本中 HBsAg、HBeAb、HBcAb 结果有反应性, 该模式标本共 155 例, 检出率最为多见 [72.77% (155/213)], 在临床绝大多数情况下, HBsAg 和 HBcAb 同时存在, 单独存在的情况并不多见, 本研究所有经确证 HBsAg 低浓度弱反应性标本 HBcAb 均同时阳性, 经 Elecsys HBsAg 确证试验阴性标本 30 例, 以模式 HBeAb、HBcAb 结果有反应性较多 16 例, 检出率为 7.51% (16/213)。因而日常检验过程中由于方法学等因素不能检测到低浓度 HBsAg 时若同时检测 HBcAb, 结合 HBV-DNA 和前 S 蛋白等检测作为 HBV 感染的佐证相关指标, 完善各种模式的意义解释, 对于上述人群的流行病学筛查和临床诊断会有较大帮助, 特别是在保证输血安全和控制医院感染方面具有重要价值。另值得关注的是 HBsAg 与 HBsAb 同时存在的模式也占一定数量, 共 16 例 [7.51% (16/213)], 有研究表明, 二者同时存在的内在机制可能是 HBV 发生变异, 但也说明在极少部分 HBsAb 阳性人群中仍存在较低水平的 HBsAg 不易检出。李金明等^[9]和徐克等^[10]等研究表明, 可能的解释为其前 S、S 基因的突变, 使得突变型 HBsAg 和针对野生型 HBsAg 的抗体同时产生不同亚型特异的 HBsAb 或新的 HBV 病毒株感染。因此, 作者认为必须执行乙肝两对半检测标准操作程序, 对 HBsAg 灰区标本、可疑或乙肝两对半模式不常见的标本需再次用灵敏度更高的 ECLIA 等方法复检, 甚至送到有条件的实验室对检测结果再次确证分析以防假阴性或假阳性出现。

参考文献

- [1] 盛欢, 胡晓波, 许洁. 两种方法检测 HBsAg 定量结果的临床互认研究[J]. 检验医学, 2013, 28(9): 828-834.
- [2] 姚家奎, 韩东升, 周林, 等. ECLIA 法定量检测乙肝血清标志物的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(22): 3122-3123.
- [3] Brunetto MR, Moriconi F, Bonino F, et al. Hepatitis B virus surface antigen levels: a guide to sustained response to peginterferon alfa-2a in HBeAg-negative chronic hepatitis B[J]. Hepatology, 2009, 49(4): 1141-1150.
- [4] 马红霞, 周运恒, 杨茜, 等. ELISA 法和电化学发光免疫法检测血清 HBsAg 结果比较分析[J]. 检验医学, 2010, 25(6): 473-474.
- [5] 姚家奎, 丁德坤, 张素华, 等. Elecsys HBsAg 确证试验在灰区及弱反应性标本检测中的应用[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(6): 106-109.
- [6] Jia JD, Hong M, Wei L, et al. Multicentre evaluation of the Elecsys hepatitis B surface antigen II assay for detection of HBsAg in comparison with other commercially available assays[J]. Med Microbiol Immunol, 2009, 198(4): 265-269.
- [7] 刘佳, 陈霖, 徐军, 等. HBsAg 和 HBsAb 双阳性乙肝患者血清中 HBsAb 确认方法的建立[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2011, 25(6): 492-494.
- [8] 谷娅楠, 程艳杰, 朱鸿, 等. HBsAg 弱阳性标本 4 种检测方法敏感性的比较[J]. 医学与哲学, 2013, 34(8B): 31-33.
- [9] 李金明, 张瑞. 常用乙型肝炎病毒血清学标志物检测结果报告解释及临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(4): 296-300.
- [10] 徐克, 池胜英, 吴丽英, 等. 电化学发光法测定 10 409 例乙型肝炎病毒标志物的结果分析[J]. 检验医学, 2011, 26(10): 700-702.