

作为 HBV 增殖复制的主要检测方法^[4]。

本研究发现的 8 种 HBV 少见模式中出现频率依次为 D>B>C>A>G>E>F>H, HBV DNA 阳性率分别为 E、H: 100%, C: 92.86%, B: 87.50%, F: 50.00%, D: 39.26%, A: 25.00%, G: 20.00%。所有 HBeAg 阳性模式组 HBV DNA 阳性率及含量都相对较高($r=0.722$), 说明 HBeAg 是 HBV 复制和传染的标志^[5], 作为 HBV 内核的主要结构蛋白, 血清 HBV DNA 与 HBeAg 具有明显的相关性^[6]。本文确诊的 77 例乙型肝炎患者中 HBsAg 阳性者 74 例(96.10%), 可见 HBsAg 是筛查 HBV 感染最灵敏的血清学标志物^[7]; HBV DNA 阳性者仅有 46 例(59.74%), 说明其并不是目前最理想的筛查和诊断乙型肝炎的指标, 而作为反映病毒感染后引起机体免疫应答的状况及转归过程的血清标志物 5 项^[8]仍具有不可替代的作用; 在 A、B、D 等 3 种模式中均出现 HBsAg、HBsAb 同时阳性的现象, 可能是随着 HBV 感染的持续, HBsAb 产生越来越多, 当 HBsAb 可有效地中和 HBsAg, 阻止 HBV 进入细胞的同时, HBsAb 可以清除 HBsAg 并超过 HBsAg 含量, 游离 HBsAb 可以被检出, 所以少数慢性乙型肝炎患者可出现 HBsAg 和 HBsAb 同时阳性^[9], HBsAg 是 HBV 感染的特异性标志物, HBsAb 是 HBV 特异的中和与保护性抗体, 尽管有 HBsAb 存在, 但仍可以检测到 HBV DNA, 表明其存在并没有完全阻止病毒复制^[10]。

综上所述, HBV 血清标志物在筛查和诊断 HBV 感染和了解机体免疫应答状况方面性能较高, 而 HBV DNA 在了解血清中病毒载量、有无复制和传染性强弱方面性能较高。本文通过对 8 种 HBV 血清标志物少见模式与 HBV DNA 含量的比对, 结果表明只有将二者有机结合才能准确掌握 HBV 复制

· 经验交流 ·

349 例乙型肝炎病毒血清标志物复检结果分析

江 涛, 王昌富, 李 军

(湖北省荆州市中心医院检验医学部 434020)

摘要: 目的 总结、分析应用全自动酶免疫分析系统检测乙型肝炎病毒血清标志物(HBV M)时出现需复检结果的常见原因和找出相应的处理及预防对策。方法 收集 349 份需复检的临床标本。将初检 HBsAg 吸光度值/临界值(S/CO)0.8~1.2 的“灰区”结果和 S/CO 1.2~2.0 的弱反应性结果统一定义为“可疑”(以“±”表示), S/CO>2.0 者直接判断为有反应性, 即阳性:(1)对于 HBsAg“可疑”标本用 ELISA 法对 HBV M 进行复检, 同时用电化学发光免疫分析(ECLIA)法对 HBsAg 进行定量复检;(2)对于初检 HBV M 模式为少见模式者仅用 ELISA 法对 HBV M 进行复检。所有标本复检前均对其中有、无红细胞或纤维蛋白进行检查并重新 3 500 r/min(离心半径 13.5 cm)离心 5 min, 同时对该份标本所对应的前一份标本的性状及其结果进行分析, 以明确是否有携带污染的可能。结果 HBsAg“可疑”标本 ECLIA 法复检阳性率(56.6%)显著高于 ELISA 法复检阳性率(40.3%), 少见模式标本 ELISA 法复检与初检结果符合率为 38.4%, 由于初检时标本的前处理不合格直接引起的复检与初检结果不符者占所有不符标本的 53.0%。结论 对于 ELISA 法测定的 HBsAg“可疑”结果, ECLIA 法不失为一种方便、准确的复检方法。对于使用全自动酶免疫分析系统检测 HBV M 的实验室, 标本的前处理是影响结果准确性的关键因素, 应建立规范的标本前处理程序。

关键词: 肝炎病毒, 乙型; 血清; 生物学标记; 酶联免疫吸附测定; 电化学; 化学发光测定法; 免疫测定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.10.062

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)10-1269-03

常用的乙型肝炎病毒血清标志物(HBV M)检测方法主要有 ELISA 法、电化学发光免疫分析(ECLIA)法等, 目前 ELISA 法仍是常规方法。本文对本院 2009 年 10 月至 2011 年 2 月经全自动酶免疫分析系统检测 HBV M 后需复检的 349 份标本进行分析, 旨在总结出现需复检结果的常见原因和找出相应的

和人体对其的免疫状态, 才能科学地指导临床诊治乙型肝炎。

参考文献

- [1] 孙南雄, 黄祖瑚, 刘雁雁. 乙型肝炎患者 957 例血清标志分析[J]. 中华医学检验杂志, 1999, 22(5): 296-299.
- [2] 骆抗先. 乙型肝炎基础与临床[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 357.
- [3] 万兵飞. 乙肝两对半定量检测及临床意义[J]. 实用医技杂志, 2006, 13(1): 43.
- [4] 程正江, 付文荣, 曾平凡. 荧光定量聚合酶链反应直接检测血清中乙型肝炎病毒核酸方法的建立及评价[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(2): 102-103.
- [5] 孙慧. HBV DNA 与 HBV 血清标志物和前 S1 抗原的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11): 1319-1320.
- [6] 孟庆华, 梁瑞彬, 刘德恭, 等. 乙型肝炎患者 HBV M 和 HBV DNA 的相关性研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2010, 14(3): 268-269.
- [7] 王晓东, 李秀全, 李凤焕, 等. 慢性乙肝血清标志物与 HBV DNA 水平的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(12): 1070-1072.
- [8] 孙午, 熊莺. 荧光定量 PCR 检测 HBV DNA 和 ELISA 法检测乙肝六项的一致性分析[J]. 实验与检验医学, 2009, 27(3): 253-254, 262.
- [9] 王蕾, 刘华, 章励, 等. 乙型肝炎血清标志物 HBsAg 和抗-HBs 同时阳性模式的相关研究[J]. 检验医学, 2008, 23(5): 530-534.
- [10] 肖倩. 乙型肝炎患者血清 HBV 外膜大蛋白与 HBV-DNA 检测的相关性及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(3): 1673-1675.

(收稿日期:2011-12-18)

处理及预防对策。

1 资料与方法

1.1 研究对象 收集本院 2009 年 10 月至 2011 年 2 月经全自动酶免疫分析系统定性测定 HBV M 后结果需复检的门诊和住院患者标本 349 份。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 使用瑞士 TECAN RSP100 样品分配仪、德国 SIE-MENS BEPⅢ 全自动酶免疫分析仪等, ELISA 法试剂包括北京万泰生物药业有限公司生产的乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)及其抗体(HBsAb)、乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)及其抗体(HBeAb)、乙型肝炎病毒核心抗体(HBcAb)等定性诊断试剂盒。北京康彻斯坦生物科技有限公司生产的 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 质控物。

1.2.2 使用罗氏 Elecsys2010 电化学发光免疫分析仪, 所用试剂为罗氏配套定量诊断试剂盒及其配套质控物。

1.3 方法

1.3.1 复检标本的处理 将初检 HBsAg 吸光度值/临界值(S/CO)0.8~1.2 的“灰区”结果和 S/CO 1.2~2.0 的弱反应性结果统一定义为“可疑”(以“±”表示), S/CO>2.0 者直接判断为有反应性(阳性)。对于 HBsAg“可疑”标本用 ELISA 法对 HBV M 进行复检, 若复检 HBsAg S/CO>1.0 则判断为有反应性, 同时用 ECLIA 法对 HBsAg 进行定量复检, 临界值指数(COI)>1.0 者判断为有反应性。对于初检 HBV M 中 HBsAg 为有反应性但为少见模式的标本仅用 ELISA 法对 HBV M 进行复检。所有 ELISA 法复检均使用 BEPⅢ 全自动酶免疫分析仪检测; 所有 ECLIA 法复检均使用罗氏 Elecsys2010 电化学发光免疫分析仪检测, 操作均按试剂和仪器作

业指导书进行。所有需复检的标本均对血清中有、无红细胞或纤维蛋白进行检查, 复检前重新 3 500 r/min(离心半径 13.5 cm) 离心 5 min, 同时对该份标本所对应的前一份标本及其结果进行分析, 以明确是否有携带污染的可能。

1.3.2 全自动样品分配仪携带污染率 按照测定携带污染率方法^[1], 以 HBsAg 为例对应用全自动样品分配仪处理合格标本时的携带污染率进行测定。取 1 份 HBsAg 高值阳性血清样品, 连续加样 3 次(i1、i2、i3), 随后立即取 1 份 HBsAg 低值阳性血清样品, 连续加样 3 次(j1、j2、j3), 然后用全自动酶免疫分析仪检测 HBsAg, 记录吸光度(A)值, 携带污染率=[j1-j3]/[i3-j3]×100%。

1.3 统计学处理 不同方法对 HBsAg 复检阳性率比较采用 u 检验, 以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 349 份复检标本中, 159 份为 HBsAg S/CO 值处于 0.8~2.0 的“可疑”标本, 用 ELISA 和 ECLIA 法同时对这部分标本的 HBsAg 进行复检, 按不同 HBV M 模式对复查结果进行比较, 见表 1。

2.2 349 份需复检标本中, 190 份标本初检即确定 HBsAg 有反应性但 HBV M 为少见模式, 对这部分标本仅用 ELISA 法复检后与初检结果符合情况见表 2。

表 1 159 份不同 HBV M 模式 HBsAg“可疑”标本复检结果

模式	HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb	n	ELISA 法复检阳性率(%)	ECLIA 法复检阳性率(%)	P
1	±	—	—	+	+	56	57.1	87.5	<0.01
2	±	—	+	—	+	8	75.0	100.0	0.13
3	±	—	—	—	+	24	54.2	83.3	<0.05
4	±	—	—	+	—	6	50.0	83.3	0.22
5	±	—	—	—	—	65	15.4	12.3	0.61
合计						159	40.3	56.6	<0.01

表 2 190 份 HBV M 少见模式标本用 ELISA 法复检与初检结果符合情况

模式	HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb	初检(n)	复检(n)	符合率(%)	
								高值(A)	低值(A)
A	+	+	+	—	+	10	1	10.0	
B	+	+	—	+	+	73	26	35.6	
C	+	+	—	—	+	22	5	22.7	
D	+	+	—	—	—	36	2	5.6	
E	+	—	+	+	+	5	1	20.0	
F	+	—	—	—	—	44	38	86.4	
合计						190	73	38.4	

2.3 所有复检标本中, 有 198 份标本 ELISA 法复检与初检结果不符, 对不符原因进行分析发现, 样品中有红细胞或纤维蛋白 105 例(53.0%), 全自动样品分配仪加样过程中携带污染 43 例(21.7%), 全自动酶免疫分析仪洗板过程中洗板头堵孔导致洗板不彻底 28 例(14.1%), 原因不明 22 例(11.1%)。

2.4 进一步对全自动样品分配仪加样过程中出现携带污染的现象进行分析, 对应用全自动样品分配仪处理合格标本时的携带污染率进行测定, 结果见表 3。

表 3 全自动样品分配仪处理合格标本时的携带污染率

样本	高值(A)			低值(A)			携带污染率(%)
	i1	i2	i3	j1	j2	j3	
合格样品	2.902	2.782	3.200	0.125	0.113	0.128	0.0

3 讨 论

在应用全自动酶免疫分析系统检测 HBV M 时经常会出

现 HBsAg“可疑”结果，其出现原因为样品中 HBsAg 含量低于定性试剂检测限外，标本中有红细胞和纤维蛋白等干扰物质、加样过程中的携带污染等影响因素也是可能的原因^[2-3]。ECLIA 法的分析灵敏度和临床灵敏度均显著好于 ELISA 法，具有更低的检测限和更好的抗干扰能力^[4-5]，本研究结果显示，HBsAg“可疑”标本中 ECLIA 法复检阳性率为 56.6%，显著高于 ELISA 法复检阳性率(40.3%)，差异有统计学意义($P < 0.01$)，可见一部分“可疑”结果是由于 ELISA 法本身的方法学局限性所造成的。而表 1 中模式 5 ECLIA 法和 ECLIA 法复检阳性率分别仅为 15.4%、12.3%，显然此模式中很大一部分“可疑”结果为各种干扰因素所造成。据文献报道 HBcAb 通常伴随 HBsAg 一起出现^[6]，模式 1、3 中 HBcAb 为阳性，HBsAg ECLIA 法复检阳性率(>80.0%)与 ELISA 法复检阳性率(>50.0%)比较，差异有统计学意义($P < 0.05$)，显然 ECLIA 法复检结果与文献更相符。可见应用 ECLIA 法对 ECLIA 法测定可疑结果进行复检不失为一种方便、准确的方法。

在正常情况下血清中同时检测出 HBV 的某种抗原和其相应抗体的现象是很少见的，但并不是不能出现。人体感染 HBV 后，与 HBV 相关的抗原、抗体的出现是一个动态的过程，当抗原和相应的抗体水平在体内处于平衡状态而未形成抗原抗体复合物前是可能在血清中同时检测出抗原和抗体的^[7]。此外少部分慢性乙型肝炎患者血中 HBsAg 由于抗体的免疫压力和抗病毒药物的诱导发生了 S 蛋白主要亲水区的氨基酸变异，血中同时存在抗野生型 HBsAg 的 HBsAb(与突变的 HBsAg 不反应)和野生型与突变型 HBsAg 的混合物^[8]。因此，出现这种结果时复检以确认是否为抗原或抗体的假阳性就变得非常必要。表 2 中所有抗原抗体同时存在模式的复检符合率非常低，其中模式 B 符合率最高(35.6%)，模式 D 符合率最低(5.6%)，可见总体来看抗原及其对应抗体同时被检出的可能性还是比较低的，其大多为各种干扰因素造成的抗原或抗体假阳性。模式 F 为 HBsAg 单项阳性标本，其复检符合率达到 86.4%，可见对于 $S/CO > 2.0$ 的 HBsAg 强反应性标本，其因各种影响而造成假阳性的可能性是很低的。

• 经验交流 •

216 例糖尿病患者血清同型半胱氨酸检测的意义

王美英，董莉

(内蒙古医学院附属医院检验科，呼和浩特 010059)

摘要：目的 探讨糖尿病患者血清同型半胱氨酸检测的临床意义。方法 选择 2009 年 7 月至 2010 年 10 月在该院内分泌科住院的 216 例糖尿病患者(糖尿病组)及同期在该院体检中心健康体检者 40 例(对照组)为研究对象，检测同型半胱氨酸(HCY)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)等，并进行对比和相关性分析。结果 糖尿病组 HCY、TC、TG、LDL-C 明显高于对照组，而 HDL-C 明显低于对照组，差异均有统计学意义($P < 0.01$)，糖尿病患者中高 HCY 血症(HHCY)者 171 例，检出率高达 79.2%。血清 HCY 与 TC、TG 呈正相关($r=0.269, 0.162$)，与 HDL-C 呈负相关($r=-0.106$)。结论 应特别关注糖尿病患者血清 HCY 的检测和监测。

关键词：糖尿病； 半胱氨酸； 实验室技术和方法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.10.063

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)10-1271-02

心血管疾病是糖尿病患者至死的主要原因，约 80% 糖尿病患者死于动脉粥样硬化性心血管并发症^[1]。而高同型半胱氨酸(HCY)是冠心病、动脉粥样硬化的独立危险因素之一^[2]。本研究对糖尿病患者血清 HCY 检测的临床意义进行了探讨，

本研究初检与复检结果不符的原因中由于标本前处理不合格直接造成者占 53.0%，而加样过程中携带污染者占 21.7%。从表 3 可以发现，全自动样品分配仪处理合格标本时携带污染率为 0.0%，但观察发现若前一份样品为强反应性且血清中含有纤维蛋白，则在加下一份样品时若纤维蛋白黏附在加样针上则会导致携带污染，而洗板过程中洗板头堵孔造成洗板不彻底实际上也是由于标本前处理不合格而导致蛋白黏附在洗板头上引起的。因此，对于使用全自动酶免疫分析系统检测 HBV M 的实验室，标本的前处理是影响结果准确性的关键因素，应建立规范的标本前处理程序以保证标本达到全自动检测的要求，从而减少复检量，提高结果的准确性和工作效率。

参考文献

- [1] 熊立凡, 李树仁, 等. 临床检验基础 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 62.
- [2] 马跃飞, 高丽钦, 林晓丽, 等. ELISA 法检测乙型肝炎表面抗原假阳性的影响因素 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(10): 1176-1177.
- [3] 葛君珊, 王丽娜. 影响 ELISA 法检测乙型肝炎病毒血清标志物的因素 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3): 289-290.
- [4] 马红霞, 周运恒, 杨蔺, 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] 吴正林, 何英, 叶军, 等. 电化学发光法和 ELISA 法检测乙肝血清标志物结果对比分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(4): 103-104.
- [6] 陈瑜, 钟步云, 徐根云, 等. 低水平血清乙肝病毒表面抗原测定及其临床意义 [J]. 中华检验医学杂志, 2001, 24(1): 39-41.
- [7] 武建国. 有关 HBV 血清标志物模式的几个问题 [J]. 临床检验杂志, 2007, 25(4): 241-243.
- [8] Lada OF, Benhamou Y, Poynard T, et al. Coexistence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) and anti-HBs antibodies in chronic hepatitis B virus carriers: influence of "a" determinant variants [J]. J Virol, 2006, 80(6): 2968-2975.

(收稿日期:2011-12-17)

现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择 2009 年 7 月至 2010 年 10 月在本院内分泌科住院的 216 例糖尿病患者(糖尿病组)，其中男 111 例，