

两种方法具有较好的相关性和可比性。

综上所述,对于蛋白和血脂正常的标本,离子选择电极间接法和直接法有很好的相关性,且在很大范围内的偏倚可被临床所接受。

参考文献

- [1] Clinic and Laboratory Standards Institute. Ep9-A2, Method comparison and bias estimation using patient samples, approved guideline, 2nd ed[S]. PA, USA: CLSI, 2002.
 - [2] Centers for Disease Control and Prevention. Medicare, Medicaid and CLIA programs; regulations implementing the clinical laboratory improvement Amendments of 1988 (CLIA)-HCFA. Final rule with comment period[J]. Fed Regist, 1992, 57(40): 7002-7186.
 - [3] 沈学耕. 如何排除不同批号参比液对 Vitros350 干化学分析仪电解质测定的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(4): 478-479.
 - [4] 林国跃, 张和平, 王秋慧, 等. Vitros350 干化学分析仪参比液使用对血清离子测定的影响研究[J]. 西北国防医学, 2010, 3(1): 89-90.
 - [5] 张旭, 顾光熠, 黄爱军. Vitros250 全自动干化学分析仪的维护与
- 检验技术与方法 •

- 质量保证[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(4): 562.
- [6] 程明刚, 曹国磊. OLYMPUS AU2700 生化分析仪电解质单元维修保养和故障排除方法[J]. 医疗卫生装备, 2010, 31(9): 127-129.
 - [7] 蒋明栋, 张扬丽. OLYMPUS AU2700 ISE 单元定标失败的原因分析与处理[J]. 中国医疗装备, 2011, 26(8): 120-121.
 - [8] 刘海燕. 溶血现象对临床生化检验项目影响的观察及预防对策[J]. 当代医学, 2011, 17(27): 33-34.
 - [9] 龙跃兵, 朱伟斌, 章美燕. 溶血对生化检验结果准确性的影响及校正方法的探讨[J]. 广东医学, 2011, 32(12): 1562-1563.
 - [10] 唐清. 溶血现象对临床生化检验项目影响的观察[J]. 中国当代医药, 2011, 17(27): 86-91.
 - [11] 王景顺, 田浩. 萃取法去除脂血对 ISE 间接测定的影响[J]. 医学信息, 2006, 19(1): 129-130.
 - [12] 王志勇, 肖鹿聘. 血浆蛋白水平对间接离子选择电极法检测钾钠氯离子的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(19): 2198-2200.

(收稿日期: 2012-09-12)

时间分辨免疫荧光法在低浓度范围 HBsAg 检测中的应用价值

安宏亮[△], 钟婉婷, 周 静

(佛山市中医院检验科, 广东佛山 528000)

摘要:目的 探讨时间分辨免疫荧光法(TRFIA)检测低浓度 HBsAg 的最佳阈值和诊断性能, 及其与电化学发光法(ECL)定性结果的一致性。方法 选择 TRFIA 检测结果为 HBsAg 低浓度(0.16~5.0 $\mu\text{g/L}$)的标本 499 例, 以 ECL 检测结果为乙型肝炎病毒(HBV)感染诊断依据, 应用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 TRFIA 检测低浓度 HBsAg 的最佳阈值和诊断性能, 以 Kappa 检验分析 TRFIA 与 ECL 定性结果的一致性。结果 TRFIA 诊断低浓度 HBsAg 的 ROC 曲线下面积为 0.587; 取最大 Youden 指数、最大阳性似然比、最低检出浓度对应的阈值及实际工作中使用的阈值时(分别为 0.397、2.610、0.200、0.500 $\mu\text{g/L}$), 诊断灵敏度分别是 61.1%、9.1%、88.6%、45.7%, 特异度分别是 60.1%、96.7%、10.3%、66.7%, 漏诊率分别是 38.9%、90.9%、11.4%、54.3%, 误诊率分别是 39.9%、3.3%、89.7%、33.3%。以 0.500 $\mu\text{g/L}$ 作为阈值时, TRFIA 与 ECL 检测结果比较 Kappa 值为 0.120, $P < 0.05$; 以 0.397 $\mu\text{g/L}$ 作为阈值时, Kappa 值为 0.202, $P < 0.05$ 。经 ECL 确认的 176 例(39.2%)低浓度 HBsAg 标本中, HBsAg $< 0.2 \mu\text{g/L}$ 者占 11.9%(21/176)、0.2~0.5 $\mu\text{g/L}$ 者占 42.6%(75/176)、0.5~1.0 $\mu\text{g/L}$ 者占 19.9%(35/176)、1.0~5.0 $\mu\text{g/L}$ 者占 25.6%(45/176)。结论 应用 TRFIA 检测低浓度 HBsAg 标本时, 各实验室应建立合适的诊断阈值; 其与 ECL 检测结果的一致性一般, 准确性低, 需采用更灵敏的方法进行结果确认。

关键词: 荧光免疫测定; 肝炎病毒, 乙型; 肝炎表面抗原, 乙型; 电化学发光法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.01.036

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)01-0079-02

中国部分乙型肝炎病毒(HBV)感染患者血清 HBsAg 呈低水平状态^[1-3]。HBsAg 是诊断 HBV 感染的直接证据, 有效检测血清低水平 HBsAg 对流行病学筛查和临床诊断具有重要意义^[1,3]。常用的酶联免疫试验灵敏度、特异度、准确度均较低^[4]。时间分辨荧光免疫法(TRFIA)具有比酶联免疫法敏感性高、重复性好、特异性强、标记物稳定等优点, 但对其检测低浓度范围 HBsAg 的方法学评价和应用分析较少见^[5]。本研究通过回顾性分析 TRFIA 检测并经电化学发光法(ECL)最终确认的低浓度 HBsAg 标本检测结果, 探讨了 TRFIA 对低浓度 HBsAg 标本的方法学性能和应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 经 TRFIA 检测并经 ECL 最终确认的 HBsAg 浓度范围为 0.16~5.00 $\mu\text{g/L}$ 的患者 449 例, 男 289 例、女 160 例, 年龄(29.31 $\pm$ 4.76)岁, HBsAg 检测结果为(0.759 $\pm$ 0.925) $\mu\text{g/L}$ 。

1.2 仪器与试剂 Anytest2000 型荧光检测仪和配套 HBsAg

检测试剂(苏州新波), Modular E170 电化学发光分析仪和配套 HBsAg II 型检测试剂(瑞士罗氏)。

1.3 方法 采集患者静脉血标本, 常规分离血清后采用 TRFIA 及 ECL 进行 HBsAg 浓度监测, 检测步骤及结果判断参照仪器及试剂盒说明书。Modular E170 电化学发光分析系统由配套的仪器、试剂、标准品构成, 灵敏度高(0.05 $\mu\text{g/L}$)、特异性强、重复性好, 结果具有溯源性^[6], 因此以 ECL 检测结果为诊断依据, 阳性者诊断为 HBV 感染。卫生部临检中心低值质控血清 HBsAg 浓度分别为 0.50、1.00、2.00、5.00 $\mu\text{g/L}$, 故将 5.00 $\mu\text{g/L}$ 确定为低浓度 HBsAg 的上限; 试剂盒说明书中建议阳性结果判断阈值为 0.20~0.50 $\mu\text{g/L}$, 最低检出浓度为 0.20 $\mu\text{g/L}$, 故以(0.20-0.20 $\times$ 0.2) $\mu\text{g/L}$, 即 0.16 $\mu\text{g/L}$ 作为低浓度 HBsAg 的下限。

1.4 统计学处理 采用 Excel2003 软件记录、整理患者资料; 应用 SPSS19.0 软件进行数据统计分析; TRFIA 与 ECL 定性结果一致性分析采用 Kappa 检验; TRFIA 检测低浓度 HBsAg

[△] 通讯作者, Tel: 13923123529; E-mail: ahlzbb@gmail.com。

的诊断性能评价和最佳阈值计算采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析;显著性检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 TRFIA 检测结果 ROC 曲线分析 ROC 曲线下面积为 0.587,95%置信区间(CI)为 0.533~0.642,0.5<AUC<0.7 ($P<0.05$),见图 1。依据 ROC 曲线的结果,分别选取不同情况下的阈值,进行诊断性能评价,结果见表 1。

表 1 取不同阈值时 TRFIA 诊断性能评价

阈值 ($\mu\text{g/L}$)	灵敏度	特异度	漏诊率	误诊率	Youden 指数	阳性 似然比
0.397*	0.611	0.601	0.389	0.399	0.212	1.531
2.610 [#]	0.091	0.967	0.909	0.033	0.058	2.773
0.200 Δ	0.886	0.103	0.114	0.897	-0.012	0.987
0.502 ∇	0.457	0.667	0.543	0.333	0.124	1.371

*:正确诊断指数(Youden 指数)最大时;[#]:阳性似然比最大时; Δ :TRFIA 最低检出浓度; ∇ :实际工作中的阈值。

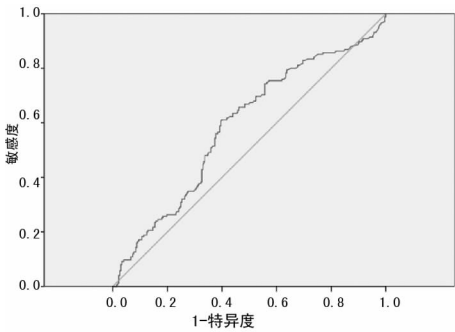


图 1 TRFIA 检测低浓度 HBsAg 标本结果 ROC 曲线

2.3 TRFIA 与 ECL 检测结果的一致性分析 选择实际工作中使用的阈值时,Kappa 值为 0.120, $P<0.05$,结果见表 2。选择 Youden 指数最大时的阈值时,Kappa 值为 0.202, $P<0.05$,结果见表 3。

表 2 TRFIA 与 ECL 定性结果一致性分析[n 或 n(%)]*

TRFIA	ECL		合计
	阳性	阴性	
阳性	81(18.0)	93(20.7)	174
阴性	95(21.2)	180(40.1)	275
合计	176(39.2)	273(60.8)	449

*:TRFIA 阈值为 0.502 $\mu\text{g/L}$ 。

表 3 TRFIA 与 ECL 定性结果一致性分析[n 或 n(%)]*

TRFIA	ECL		合计
	阳性	阴性	
阳性	108(24.1)	110(24.5)	218
阴性	68(15.1)	163(36.3)	231
合计	176(39.2)	273(60.8)	449

*:TRFIA 阈值为 0.397 $\mu\text{g/L}$ 。

2.4 经 ECL 确认的 176 例阳性结果的浓度分布规律 TRFIA 检测结果为低浓度的 449 例标本,经 ECL 确认为阳性的 176 例(39.2%),其中 HBsAg<0.2 $\mu\text{g/L}$ 者占 11.9%(21/176)、0.2~0.5 $\mu\text{g/L}$ 者占 42.6%(75/176)、0.5~1.0 $\mu\text{g/L}$ 者占 19.9%(35/176)、1.0~5.0 $\mu\text{g/L}$ 者占 25.6%(45/176)。

3 讨 论

HBsAg 是诊断乙型病毒性肝炎最主要、最直接的免疫学标志物,检测结果准确可靠在疗效判断与个体化治疗方案的制定、用药安全、检验结果互认、避免医疗纠纷等方面意义重

大^[1]。在所有人群中,HBsAg<5.0 $\mu\text{g/L}$ 者占 2.3%,而在 HBV 感染者中占 23.2%,且 HBsAg<5.0 $\mu\text{g/L}$ 的人群中,HBsAg<1 $\mu\text{g/L}$ 者占 44.4%、1~2 $\mu\text{g/L}$ 者占 17.5%、2~5 $\mu\text{g/L}$ 者占 38.1%,与本研究经 ECL 验证为阳性的 176 例低浓度 HBsAg 标本分布规律(HBsAg<1 $\mu\text{g/L}$ 者占 74.4%)有较大差别。这可能与标本来源及检测方法灵敏度不同有关。目前普遍采用的检测方法对低浓度 HBsAg 感染者极易造成漏诊和误诊,因此进一步提高低浓度 HBsAg 检测灵敏度和准确度具有重要的临床和流行病学意义。HBsAg 呈低浓度状态有多种原因^[1-3,6-10]:(1)感染者免疫耐受状态,如免疫力增强,HBV 逐渐被清除,或年龄增大,免疫反应性下降,HBsAg 滴度下降;(2)HBV 与宿主细胞整合,基因型改变,或重复感染不同的亚型;(3)检测系统方法学性能(如线性范围)、试剂及仪器质量、操作规范化程度及标本质量等。

本研究显示,TRFIA 对低浓度 HBsAg 标本检测结果的 ROC 曲线下面积仅为 0.587,最大 Youden 指数为 21.2%,最适合的阈值为 0.397 $\mu\text{g/L}$,此时的灵敏度为 61.1%,特异度为 60.1%,显示 TRFIA 对低浓度 HBsAg 的诊断准确性低。如果以说明书推荐的 0.500 $\mu\text{g/L}$ 为阈值,其诊断准确性更低,最大 Youden 指数降为 12.4%,与 ECL 检测结果的一致性也由一般(Kappa 值 0.213)降为差(Kappa 值 0.137)。因此,各实验室应建立自己的阈值,并对低浓度 HBsAg 标本采用更先进的方法进行复查,以防漏诊、误诊。

目前对 HBsAg 低浓度范围的判定和处理还没有多中心研究结果的标准程序,理论上对低浓度 HBsAg 的确认为定性的中和抗原试验,但在实际工作中因存在多种原因(如没有国产确认试剂、结果不能定量、试验时间长、低浓度阳性标本多、中和抗原试验本身也有弱反应性)而很难有效开展^[2-3]。罗氏 ECL 分析系统灵敏度高(约为 0.05 $\mu\text{g/L}$),重复性好,能检测 13 种基因突变的 HBsAg,操作简便快捷,虽费用较高但在实际工作中更易有效实行。

参考文献

[1] 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.
[2] 李金明.感染性疾病血清学检验应重视弱阳性标本的确认[J].中华检验医学杂志,2006,29(7):577-580.
[3] 李金明.乙型肝炎病毒血清标志物测定及结果解释的若干问题[J].中华检验医学杂志,2006,29(5):385-389.
[4] 李艳霞.时间分辨荧光免疫分析和酶联免疫吸附实验检测乙型肝炎病毒血清标志物结果分析[J].国际检验医学杂志,2011,32(11):1218-1219.
[5] 黄永富,黄介飞,丛辉,等.时间分辨荧光免疫分析法检测乙型肝炎血清标志物的分析方法性能验证[J].国际检验医学杂志,2011,32(5):543-547.
[6] 王利娜,姚智.电化学发光免疫分析技术检测乙肝标志物的应用[J].天津医科大学学报,2008,149(10):48-50.
[7] 白玉,夏国良,詹美云.乙型肝炎病毒表面抗原基因变异研究现状[J].中国预防医学杂志,2001,2(3):176-178.
[8] 张孝丰.电化学法确认低浓度乙肝表面抗原的初步应用[J].全科医学临床与教育,2011,9(6):649-650,655.
[9] 唐友芬,李俊如.胃癌肝肾转移伴 HBV 低浓度 HBsAg 感染 1 例的相关报道[J].国际检验医学杂志,2011,32(11):1269.
[10] 杨瑞生,张素芳,杨文新,等.低浓度 HBsAg 感染者血清乙肝标志物及 HBVDNA 定量检测结果分析[J].中国医学创新,2010,7(29):166-167.