

致的溶血、发热和过敏反应，是保证稀有血型 and 疑难配血患者得到合适的手术用血的方法之一。故目前较多医学领域开展了自体输血以应对异体输血可能出现的情况^[5-6]。从本研究结果来看，贮存式自体输血方法简单，无需特殊设备，是一种科学、经济、有效、安全的输血方式，值得在广大医疗机构推广应用。

参考文献

[1] Borghi B, Borghi R. Blood-saving techniques[J]. Transplant Proc, 2011, 43(1): 333-337.
[2] 高华. 贮存式自体输血的临床应用[J]. 北京医学, 2006, 28(2):

117.
[3] 安海莲. 多次输血致配血不合 1 例报告[J]. 山东医药, 2011, 51(2): 107.
[4] 祝丽丽, 曾小菁, 谢江. 白血病患者多次输血后产生抗-E 抗体致配血不合 1 例报告[J]. 贵州医学院学报, 2010, 35(3): 329-330.
[5] 周柏发, 孙波, 肖玉, 等. 贮存式自体输血在颅内血管瘤患者中的应用[J]. 中国医学, 2007, 42(7): 47-48.
[6] 周柏发, 杜雪冰, 肖玉, 等. 贮存式自体输血在老年患者中的应用[J]. 北京医学, 2005, 27(12): 740-741. [J].

(收稿日期: 2014-05-18)

• 经验交流 •

ECLIA 法定量检测乙肝血清标志物的临床应用

姚家奎, 韩东升, 周 林, 成红霞[△]

(苏北人民医院医学检验科, 江苏扬州 225001)

摘 要:目的 探讨采用电化学发光免疫分析(ECLIA)法检测某院医务人员乙型肝炎(乙肝)血清标志物(HBV-M)及 HBsAg 临界或弱反应标本进行 Elecsys HBsAg 确证试验的临床应用价值。方法 对 1 847 例血清标本经 Roche Modular E170 进行 HBV-M 半定量分析, 并对所有 HBsAg 处于临界或低浓度的标本进行了确证试验分析。结果 检出 HBsAg 阳性标本共 52 例, 其中 HBsAg、HBeAg、HBcAb 结果有反应性 3 例, 检出率 0.16%; HBsAg、HBeAb、HBcAb 结果有反应性 47 例, 检出率 2.54%; HBsAg、HBsAb、HBeAb、HBcAb 结果有反应性 1 例, 检出率 0.05%; HBsAg、HBcAb 结果有反应性 1 例, 检出率 0.05%。HBsAg 阴性标本共 1 795 例, 其中单 HBsAb 结果有反应性 538 例, 检出率 29.13%; HBsAb、HBeAb、HBcAb 结果有反应性 330 例, 检出率 17.87%; HBsAb、HBcAb 结果有反应性 276 例, 检出率 14.94%; HBsAb、HBeAb 结果有反应性 2 例, 检出率 0.11%; HBeAb、HBcAb 结果有反应性 14 例, 检出率 0.76%; 单 HBcAb 结果有反应性 60 例, 检出率 3.25%; HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 结果均无反应性 575 例占受检人数的 31.13%。将 HBsAg 处于临界或低浓度的标本进行了确证试验, 半定量试验 COI 结果为 0.80~0.99 的 8 例标本, 经 Elecsys HBsAg 确证试验结果均为无反应性; 1 例半定量试验 COI 结果为 3.81 的标本, 经 Elecsys HBsAg 确证试验结果为阳性; 5 例半定量试验 COI 结果分别为 9.13、10.86、11.15、11.11、10.42 的标本, 经 Elecsys HBsAg 确证试验结果均为阳性。HBV-M 半定量检测与 Elecsys HBsAg 确证试验的符合率为 100%。结论 ECLIA 法在 HBV-M 半定量检测及确证试验过程中具有重要临床应用价值, 为乙型肝炎临床诊断及病情的治疗监测提供了科学的实验室依据。

关键词: HBV; 乙型肝炎; 血清标志物; 酶联免疫吸附测定; 电化学发光免疫分析; HBsAg; 确证试验
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.22.052 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2014)22-3122-02

乙型肝炎(乙肝)血清标志物(HBV-M), 包括 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb, 是临床诊断 HBV 感染的血清学常用指标, HBV-M 模式检测已成为临床常规检查项目, 目前实验室对其定性检测主要采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法, 由于检验医学的快速发展, 检验方法不断更新, 近年来电化学发光免疫分析(ECLIA)法已应用于临床, 其操作简单, 亦可对 HBV-M 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有重要意义。ECLIA 在一些医院已经应用于 HBV-M 的检测, 是一种灵敏度和可信度较高的分析技术^[1]。本研究采用 ECLIA 法定量检测了某院医务人员 HBV-M 并对 HBsAg 处于临界及弱反应标本进行了 Elecsys HBsAg 确证试验分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所有被检血清标本均来自 2013 年 8~9 月本院职工参加体检的医务人员, 其中男 499 例, 女 1 348 例。
1.2 仪器与试剂 德国 Roche Modular E170 全自动免疫分析仪; Roche RSA 样品前处理系统; 北京智方 LIS 系统及 cabas IT3000 solution 软件系统。Roche Modular E170 全自动电化

学发光分析仪(ECLIA 法)配套 HBV-M 半定量试剂、定标液 1、定标液 2 等均由德国罗氏诊断公司生产; HBsAg 确证试剂及 HBsAg II 质控品均由德国罗氏诊断公司生产。所有试剂均在有效期内使用。

1.3 方法 所有被检测医务人员抽取空腹静脉血 3 mL, 经 Roche RSA 前处理系统签收、离心、去除试管盖后采用 Roche Modular E170 全自动免疫分析仪进行 HBV-M 半定量分析, 并对 HBsAg 处于临界及弱反应性标本进行 Elecsys HBsAg 确证试验。为使血清标本与确认试剂、质控试剂反应过程条件一致, 确证过程 Roche Modular E170 采取只留 1 个检测池, 封闭其他 2 个检测池。

2 结 果

2.1 所有 1 847 例血清标本经 Roche Modular E170 进行 HBV-M 半定量分析, 检出 HBsAg 阳性标本共 52 例, 其中 HBsAg、HBeAg、HBcAb 结果有反应性 3 例, 检出率 0.16%; HBsAg、HBeAb、HBcAb 结果有反应性 47 例, 检出率 2.54%; HBsAg、HBsAb、HBeAb、HBcAb 结果有反应性 1 例, 检出率 0.05%; HBsAg、HBcAb 结果有反应性 1 例, 检出率 0.05%。

[△] 通讯作者, E-mail: 2460672142@qq.com.

HBsAg 阴性标本共 1 795 例,其中单 HBsAb 结果有反应性 538 例,检出率 29.13%;HBsAb、HBeAb、HBcAb 结果有反应性 330 例,检出率 17.87%;HBsAb、HBcAb 结果有反应性 276 例,检出率 14.94%;HBsAb、HBeAb 结果有反应性 2 例,检出率 0.11%;HBeAb、HBcAb 结果有反应性 14 例,检出率 0.76%;,单 HBcAb 结果有反应性 60 例,检出率 3.25%。HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 结果均无反应性 575 例占受检人数的 31.13%。

2.2 8 例 HBsAg 半定量 COI 结果为 0.80~0.99 的标本,经 Elecsys HBsAg 确证试验结果均为无反应性;1 例 HBsAg 半定量 COI 结果为 3.81 的标本,经 Elecsys HBsAg 确证试验结果为阳性;5 例 HBsAg 半定量 COI 结果分别为 9.13、10.86、11.15、11.11、10.42 的标本,经 Elecsys HBsAg 确证试验结果均为阳性。HBV-M 半定量检测与 Elecsys HBsAg 确证试验的符合率为 100%。

3 讨 论

ELISA 法检测 HBV-M 具有操作简单、特异性好、成本低、灵敏度较高等优点,但在应用过程中仍然存在着许多难点,必须严格控制才能保证其检测的质量^[2]。多年来在临床实际检测应用过程中 HBV-M 定性测定有时出现的非常见模式,既让检验人员不知所措,也让临床医师感到困惑,不知如何向患者解释,甚至被认为实验室检测不准确;而 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,半定量检测具有操作简便,试剂贮存有效期长、检测速度快,灵敏度高(最低检测限可达 0.05 ng/mL),线性范围宽,应用范围广等特点^[3]。HBV-M 的 ECLIA 检测是近年来发展起来的一种高灵敏度检测方法,具有良好发展前景,可作为临床 HBV 感染的主要血清学诊断指标和免疫监测。抗病毒治疗的理想结果是达到 HBsAg 转阴或出现 HBsAb,由此可见 HBV-M 半定量结果的准确性直接影响抗病毒治疗方案。HBV-M 检测过程中常遇一些患者携带低水平的抗原及抗病毒治疗过程中血清学转换、检测方法所限等原因易造成 HBsAg 的漏检及假阳性,致使一些 HBV-M 少见、罕见模式的出现。本研究应用 ECLIA 法经 Roche Modular E170 进行 HBV-M 进行半定量分析,共检出 11 种 HBV-M 模式,其中少见模式 1 例,即 HBsAg、HBsAb、HBeAb、HBcAb 结果有反应性,COI 分别为 99.45、12.29、0.005、0.004。据李金明等^[4]研究报道,可能的解释为其 pre-S₂ 基因的突变,使得突变型 HBsAg 和针对野生型 HBsAg 的抗体同时,产生亚型特异的 HBsAb,被新的 HBV 病毒株感染。近年又有研究结果表明,血清 HBsAg 半定量测定值与患者血清 HBV-DNA 水平有一定的正相关性,血清 HBsAg 滴度在一定程度上可以反映慢性乙型肝炎(CHB)患者病毒复制的水平^[5]。HBsAg 动力学变化能预测 HBV-DNA 的变化,认为血清 HBsAg 半定量检测水平能作为 HBV-DNA 的替代指标。

在本研究所检的 1 847 例血清标本中,HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 结果均无反应性者共 575 例,占受检总人数的 31.13%;HBsAg 半定量试验 COI 结果为 0.80~0.99 的临界标本共 8 例,经 Elecsys HBsAg 确证试验结果均为无反应性;HBsAg 阳性标本 52 例,其中 HBsAg 半定量试验低浓度标本 6 例,1 例标本半定量试验 COI 结果为 3.81;5 例标本半定量试验 COI 结果分别为 9.13、10.86、11.15、11.11、

10.42 经 Elecsys HBsAg 确证试验结果均为阳性。HBsAg COI 临界及弱反应标本已被临床医生及检验人员高度关注,经 Elecsys HBsAg II 确证试验检测后结果成为临床医生评价病情、治疗效果重要参考依据。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 突变株有良好的识别能力,半定量检测与 Elecsys HBsAg 确证试验采用的就是多克隆抗体,避免 HBsAg 突变株引起的假阴性。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 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 HBsAg 的特异度、灵敏度更高,线性范围更宽^[2,6-7]。

HBsAb 半定量检测的意义在于评价疫苗免疫效果,机体经过乙肝疫苗免疫注射后,通常在 1 个月后抗体浓度达到高峰,HBsAb>10 mIU/mL 为阳性,提示机体对 HBV 感染有免疫力,其持续存在意味着 HBV 的清除和乙肝的恢复,是唯一指示乙肝疫苗免疫效果的血清学标志物,滴度越高免疫力越强,持续时间亦越长。本研究共检出 HBsAb>10 mIU/mL 者 1 144 例,其中 HBsAb 低浓度者(<30 mIU/mL)158 例,30~100 mIU/mL 者 183 例。一般临床上认为 HBsAb>30 mIU/mL 时,对乙肝有一定的保护作用。但欧洲一些国家如荷兰、瑞士、比利时等建议 HBsAb 在 10~100 mIU/mL 时需加强免疫,>100 mIU/mL 则不需加强,才可确定具有抵抗 HBV 入侵的作用^[4]。

综上所述,Roche Modular 170 全自动免疫分析仪检测系统具有卓越的分析灵敏度和特异度,HBV-M 半定量检测与确证为临床诊断、病情的治疗监测提供了科学的实验室依据。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 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,2013,26(6):106-109.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] Su TH, Hsu CS, Chen CL, et al. Serum hepatitis B surface antigen concentration correlates with HBV DNA level in patients with chronic hepatitis B[J]. Antivir Ther, 2010, 15(8):1133-1139.
- [6] Moerman B, Moons V, Sommer H, et al. Evaluation of sensitivity for wild type and mutant forms of hepatitis B surface antigen by four commercial HBsAg assays[J]. Clin Lab, 2004, 50(3/4):116-159.
- [7] Jia JD, Hong M, Wei L, et al. Multicentre evaluation of the Elecsys(A (R)) hepatitis B surface antigen II assay for detection of HBsAg in comparison with other commercially available assays [J]. Med Microbiol Immunol, 2009, 198(4):263-269.