

• 检验技术与方法 •

乙型肝炎病毒表面抗体两种检测方法的一致性研究

安 哲, 张 妮, 李思鹏, 王香玲, 李妙美

(西安交通大学医学院第二附属医院检验科, 陕西西安 710004)

摘要:目的 研究外周血乙型肝炎病毒表面抗体定量和定性检测结果之间的一致性。方法 采用微粒子酶免疫分析法定量检测, 酶联免疫吸附法定性检测。结果 以 CMIA 为参考实验, ELISA 法检测 anti-HBs 的 Se 、 Sp 、 J 、 $PV+$ 、 $PV-$ 分别为 0.95、0.53、0.48、0.74、0.88, $k=0.51$; 吸光度为 0.400 9 时 Se 、 Sp 、 J 、 $PV+$ 、 $PV-$ 分别为 0.50、0.95、0.45、0.93、0.43; 对吸光度 0.104 3~0.400 9 范围外样本分析, ELISA 定性检测的 Se 、 Sp 、 J 、 $PV+$ 、 $PV-$ 分别为 0.90、0.91、0.81、0.93、0.88, $k=0.81$ 。结论 吸光度值 0.105 为 ELISA 检测结果判定的 Cut-off 值具有良好的检测灵敏度($Se=0.95$)和较好的阴性预测值($PV-=0.88$), ELISA 检测 Anti-HBs 阴性可认为 Anti-HBs 浓度小于 10 mIU/mL 而不具有保护价值; 当样本吸光度大于或等于 0.400 9 时可认为 Anti-HBs 浓度大于或等于 10 mIU/mL, 具有保护意义; ELISA 检测 Anti-HBs 灰区范围主要是吸光度 0.105~0.400 9, 应定量检测以判定 Anti-HBs 真实水平。

关键词: 乙型肝炎病毒表面抗体; 酶联免疫吸附法; 微粒子酶免疫分析法; 灰区

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.038

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)23-3239-03

Study on conformance between two kinds of detection method of anti-HBs antibody

An Zhe, Zhang Ni, Li Sipeng, Wang Xiangling, Li Miaoxian

(Department of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital of Medical College,

Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shanxi 710004, China)

Abstract: **Objective** To analyze the conformance between the quantitative and qualitative tests of hepatitis B surface antibody (anti-HBs). **Methods** The chemiluminescence microparticle enzyme immunoassay (CMIA) was adopted to quantitatively detect anti-HBs and the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was adopted to qualitatively detect anti-HBs. **Results** With the CMIA as the reference experiment, Se , Sp , J , $PV+$ and $PV-$ of anti-HBs detected by ELISA were 0.95, 0.53, 0.48, 0.74 and 0.88 respectively, $k=0.51$; when the absorbance was 0.400 9, Se , Sp , J , $PV+$ and $PV-$ were 0.50, 0.95, 0.45, 0.93 and 0.43 respectively; for the samples exceeding the absorbance range of 0.104 3~0.400 9, Se , Sp , J , $PV+$ and $PV-$ qualitatively detected by ELISA were 0.90, 0.91, 0.81, 0.93 and 0.88 respectively, $k=0.81$. **Conclusion** Determining cutoff value with the absorbance value 0.105 as the ELISA detection result has the good detection sensitivity ($Se=0.95$) and the better negative prediction value ($PV-=0.88$), the negative anti-HBs detected by ELISA may be considered that the anti-HBs concentration was less than 10 mIU/mL without the conservation value; when the sample absorbance $\geq 0.400 9$, the anti-HBs concentration is ≥ 10 mIU/mL, which may be considered to have the conservation value; the gray area range of anti-HBs detected by ELISA is mainly the absorbance of 0.105~0.400 9, the true anti-HBs level should be quantitatively detected.

Key words: hepatitis B surface antibody; enzyme-linked immunosorbent assay; chemiluminescence microparticle enzyme immunoassay; gray area

乙型肝炎病毒表面抗体 (anti-HBs) 是乙型肝炎病毒表面抗原 (HBsAg) 诱导机体发生免疫应答后机体产生的一种保护性抗体^[1]。当前普遍使用的基因重组乙型肝炎疫苗可以诱导机体产生大量表面抗体从而发挥保护性作用以防止乙型肝炎病毒 (Hepatitis B Virus) 感染。外周血 anti-HBs 滴度大于或等于 10 mIU/mL 时提示表面抗体达到了保护性水平^[2-3]。当前临床实验室检测 anti-HBs 有酶联免疫吸附法定性检测 (enzyme-linked immune sorbent assay, ELISA) 和自动化定量检测方法如电化学发光免疫分析技术 (electro-chemi-luminescence immunoassay, ECLIA) 和化学发光微粒子酶免疫测定技术 (chemiluminescence microparticle immunoassay, CMIA)^[4-5]。本研究旨在对 anti-HBs 的定性和定量 2 种检测结果进行比较, 以科学评价 2 种方法间的一致性。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2013 年 9 月至 2013 年 11 月期间本院临床实验室定量检测 anti-HBs 病例 192 例, 其中 anti-HBs ≥ 10 mIU/mL 样本 113 例, anti-HBs < 10 mIU/mL 样本 79 例。所有样本均为空腹采集外周静脉血 2~3 mL, 当日分离血清, 当日完成检测。所有检测均严格按照实际说明书完成, 均在定标通过和质控在控范围内进行。

1.2 试剂 乙型肝炎病毒表面抗体 (HBsAb) 诊断试剂盒 (ELISA) 购自北京万泰生物药业股份有限公司, 乙型肝炎病毒表面抗体定量检测试剂盒 (CMIA) 购自 Abbott Laboratories。

1.3 方法 荷兰 Micro Lab Fame 全自动免疫分析仪、Architect 免疫分析仪。采用 ELISA 法定性检测, 采用 CMIA 法定量检测 anti-HBs。

1.4 结果判定 Anti-HBs 定量检测以样本 Anti-HBs 浓度大于或等于 10 mIU/mL 为阳性, Anti-HBs 定性检测以吸光度(A)大于或等于 0.105 0 判定为定性阳性。

1.5 统计学处理 所有检测结果录入数据库, 通过 SPSS 16.0 软件包进行统计学处理, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。以 CMIA 为参考实验, 评价 ELISA 法检测 anti-HBs 的检测灵敏度、特异度、Youden 指数、阳性预测值及阴性预测值。

2 结 果

2.1 2 种方法检测结果, 见表 1。以 CMIA 为参考实验, ELISA 法检测 anti-HBs 的灵敏度、特异度、Youden 指数、阳性预测值及阴性预测值分别为 0.95、0.53、0.48、0.74、0.88; 2 种方法检测结果一致性为 0.51。

表 1 2 种方法检测结果

CMIA	ELISA		合计
	阳性	阴性	
阳性	107	6	113
阴性	37	42	79

2.2 以 192 例 anti-HBs 定性检测吸光度值作 ROC 曲线, 并计算其曲线下面积(A)为 0.891, 标准误为 0.023, 95% 可信区间为 0.846~0.936 ($P < 0.05$), 见图 1。

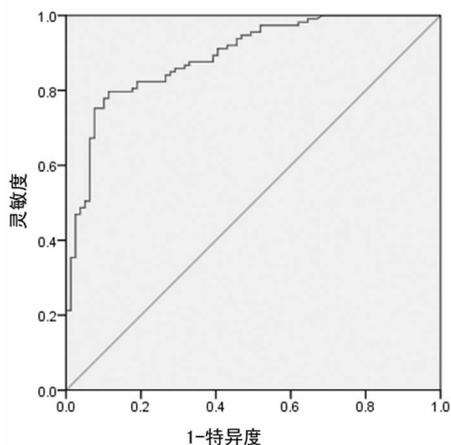


图 1 ROC 曲线

2.3 以 ROC 为依据, 截取不同吸光度值进行统计学分析, 结果见表 2。

表 2 不同检出阈值时的评价指标

检出阈值	Se	Sp	J	PV+	PV-
0.086 35	0.99	0.35	0.34	0.69	0.97
0.104 3	0.95	0.53	0.48	0.74	0.88
0.400 9	0.50	0.95	0.45	0.93	0.43
0.876 75	0.35	0.99	0.34	0.98	0.52

2.4 对吸光度 0.104 3~0.400 9 范围之外样本进行统计学分析 去除吸光度 0.104 3~0.400 9 范围内样本后, 获得样本 109 例, 对其进行统计学分析, 显示 ELISA 定性检测 anti-HBs 的灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值分别为 0.90、0.91、0.93 和 0.88; 2 种方法检测结果一致性为 0.81。

3 讨 论

乙型肝炎病毒是乙型肝炎的病原体, 与肝炎后肝硬化和原发性肝细胞癌密切相关。据统计, 我国约有 1.2 亿人为乙肝病毒携带者, 占全球感染人数的 1/3。HBV 感染的相关疾病成为威胁我国人群健康的重要因素^[6-8]。

乙肝病毒表面抗体是乙型肝炎病毒表面抗原诱导机体发生免疫应答后机体产生的一种保护性抗体。当前普遍使用的基因重组乙肝疫苗可以诱导机体产生大量表面抗体从而发挥保护性作用以防止乙肝病毒感染。外周血表面抗体滴度大于或等于 10 mIU/mL 时提示表面抗体达到了保护性水平^[9-10]。

当前临床实验室检测 anti-HBs 有 ELISA 法定性检测和自动化定量检测方法如 ECLIA 和 CMIA。本研究旨在对 anti-HBs 的定性和定量 2 种检测结果进行比较, 以科学评价 2 种方法间的一致性^[11]。

本研究以 192 例外周血标本同步进行 CMIA 定量和 ELISA 定性检测, 定量检测以样本 Anti-HBs 浓度大于或等于 10 mIU/mL 为阳性, 定性检测以吸光度(A) $\geq 0.105 0$ 判定为定性阳性。以 CMIA 为参考实验, ELISA 的检测灵敏度、特异度、Youden 指数、阳性预测值及阴性预测值分别为 0.95、0.53、0.48、0.74 和 0.88; 2 种方法检测结果一致性为 0.51(结果见表 1)。结果显示 ELISA 定性检测 Anti-HBs 设定吸光度 0.105 为其 Cut-off 值具有良好的检测灵敏度($Se = 0.95$)和较好的阴性预测值($PV- = 0.88$), 但是 2 种检测结果一致性不高($k = 0.51$), 而且检测特异度只有 0.53 提示 ELISA 检测 Anti-HBs 假阳性率比较高。

对吸光度值进一步作 ROC 曲线分析, 显示 ELISA 检测 Anti-HBs 具有较好的诊断价值($A = 0.89$), 截取不同吸光度值作为检测限进行统计学分析显示: 以吸光度 0.083 5 为检测限时, ELISA 检测灵敏度高达 0.99, 阴性预测值相应提高为 0.97; 以吸光度 0.400 9 为检测限时, 灵敏度下降, 同时特异度达到 0.95, 阳性预测值为 0.93; 提高检测限至吸光度 0.876 8 时, 灵敏度进一步下降, 而特异度高达 0.99, 阳性预测值达 0.98(结果见表 2)。提示 ELISA 检测 Anti-HBs 的灰区主要集中在吸光度 0.104 3~0.400 9。对该范围以外的 109 例样本进行统计学分析显示 ELISA 的检测灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值分别为 0.90、0.91、0.48、0.93 和 0.88; 此时 2 种方法检测结果一致性为 0.81, 均有明显提高。

综合以上结果, 本研究显示设定吸光度值 0.105 为 ELISA 检测结果判定的 Cut-off 值具有良好的检测灵敏度($Se = 0.95$)和较好的阴性预测值($PV- = 0.88$), ELISA 检测 Anti-HBs 阴性可认为 Anti-HBs 浓度小于 10 mIU/mL 而不具有保护价值; 当样本吸光度大于或等于 0.400 9 时可认为 Anti-HBs 浓度大于或等于 10 mIU/mL 而具有保护意义; ELISA 检测 Anti-HBs 灰区范围主要是吸光度 0.105~0.400 9, 应定量检测以判定 Anti-HBs 真实水平^[12]。

参考文献

[1] Su FH, Bai CH, Chu FY, et al. Significance and anamnestic response in isolated hepatitis B core antibody-positive individuals 18 years after neonatal hepatitis B virus vaccination(下转第 3243 页)

确,但是在实际临床工作中,仍然会出现 UF1000i 的检测结果与显微镜镜检以及干化学法不一致的情况。当尿液标本中含有酵母样菌、细菌、结晶、精子、上皮细胞等成分时^[3-4],由于这些成分的大小及形态与红细胞相似,UF1000i 全自动尿沉渣分析仪有可能会误判为红细胞,而干化学检测结果为阴性;当尿液中有红细胞碎片或影形红细胞时,由于这些破碎细胞的细胞膜不完整,从而导致其荧光染色敏感度下降,荧光强度减弱而造成尿沉渣分析仪漏检使干化学检测结果为阳性。

干化学法检查尿红细胞的原理是红细胞血红蛋白亚铁血红素过氧化酶法^[5]。红细胞或破碎红细胞释放的血红蛋白亚铁血红素具有过氧化物酶活性,可催化过氧化氢释放新生态氧,使色原氧化而呈色。基于这种原理当患者尿中含有对热不稳定的酶或是肌红蛋白尿、菌尿时,可引起红细胞干化学法检测结果的假阳性,肾病患者的尿红细胞在肾脏或泌尿道的影响下易造成红细胞破坏,使血红蛋白释放入于尿中,也会使红细胞干化学法检测结果表现为阳性^[6];若尿液中含有大量的维生素 C 等还原物质、大量亚硝酸盐或试带失效时,可出现干化学法检测假阴性^[7]。干化学法检测红细胞是检测尿液中的血红蛋白,所以既能测定完整的红细胞又可测定破碎红细胞,而显微镜镜检只能检测完整的红细胞,并且根据红细胞的形态区分肾小球性及非肾小球性血尿。所以镜检法与尿液干化学分析仪的符合率存在着一定的差异。

综上所述,全自动尿沉渣分析仪、干化学分析仪及光学显微镜检查法检测尿液红细胞均可因诸多干扰因素影响从而出现假阳性、假阴性结果。UF1000i 全自动尿沉渣分析仪与 AX-4030 尿干化学分析仪均具有检测速度快、操作简单、重复性好、准确度高优点,适用于大批量标本筛查,与显微镜镜检结果具有很高的符合率和良好的一致性,对尿液中红细胞识别的敏感度和特异性较高,有很大的临床实用价值^[8]。2 种仪器检测原理不同,二者联合检测可以相互补充,大大提高检测结果

的准确性,为临床诊断和治疗提供有价值的信息,但是两者检测红细胞的一致性较弱,不能完全取代传统的化学检查和尿液有形成分显微镜检查,只能起到初筛作用。显微镜检查能真实反映细胞等有形成分形态,判断直观、可靠,是尿液有形成分检查的“金标准”,但也存在一定的误差,如影形红细胞、肾小球性红细胞(G1 细胞)^[9]、离心过程中红细胞的丢失、溶解造成的假阴性等。因此,为了消除各种方法的假阳性和假阴性,3 种检测方法必须有机地结合在一起,交叉互检,才能快速、高效地为临床提供准确的信息。

参考文献

- [1] 丛玉隆,马骏龙,邓新立. 尿液常规分析质量控制及临床应用研究体会[J]. 医学检验杂志,2001,19(4):241-243.
- [2] 胡晓舟,崔艳梅,王小林,等. 三种方法在尿液有形成分分析中的对比观察[J]. 检验医学,2011,26(2):100-104.
- [3] 张倩春,李亚鹏. UF-1000i 尿沉渣分析仪检测尿中红细胞形态的临床意义[J]. 临床医学杂志,2009,29(1):75-77.
- [4] 刘常军,刘婷,董矜,等. UF-1000i 尿沉渣分析仪假阳性结果分析[J]. 首都医科大学学报,2012,33(2):158-160.
- [5] 熊立凡,刘成玉. 临床检验基础[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2010:160.
- [6] 润袁敏. UF-100 尿沉渣分析仪与干化学红细胞检测一致性探讨[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(10):1035-1037.
- [7] 李廷富,万立华,秦艳飞,等. 青霉素对干化学法检测尿红细胞的影响[J]. 现代检验医学杂志,2010,25(1):89-90.
- [8] 张代春,李俊. AVE-763 全自动尿沉渣分析仪临床应用评价[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(2):197-198.
- [9] 王建中. 临床检验诊断学图谱[M]. 人民卫生出版社,2012:581.

(收稿日期:2014-05-21)

(上接第 3240 页)

- in Taiwan[J]. Vaccine,2012,30(40):4034-4039.
- [2] 王强,蔡艳娟,杜琴,等. 30 860 例 HBsAg 阴性人群血清抗 HBs 和抗 HBc 检测结果回顾性分析[J]. 临床检验杂志,2013,4,31(4):317-318.
 - [3] 石鹏辉,李永勤,耿坤静. 乙型肝炎病毒表面抗体定性检测 S/CO 的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2009,01:14-15,19.
 - [4] 谢而付,蒋理,刘雁雁,等. 不同化学发光分析系统对乙型肝炎血清标志物检测的比较[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2012,4,32(4):582-584.
 - [5] 陆捷,吴士及,殷波涛,等. 雅培 i4000 化学发光分析仪肝炎标志物分析性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(1):93-95.
 - [6] 中华医学会肝病学会中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年更新版)[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2011,5(1):79-100.
 - [7] 杨凡,单咏梅,周宏,等. 不同方法学检测乙型肝炎血清标志物的评价分析[J]. 检验医学,2010,25(9):732-734.

- [8] 林小碧,王小梅,留佩宁,等. 3 022 例儿童乙型肝炎表面抗体检测结果分析[J]. 中国当代儿科杂志,2012,14(7):536-538.
- [9] 张守荣,赵建海,张永基,等. 不同民族小学生乙型肝炎疫苗前后抗 HBs 分析[J]. 现代预防医学,2013,40(2):354-355.
- [10] Guillermo Mena, Anna Lluquia, Alberto L. Garcia-Basteiro, et al. Assessing the immunological response to hepatitis B vaccination in HIV-infected patients in clinical practice[J]. Vaccine,2012,28(30):3703-3709.
- [11] Sonneveld MJ, Rijckborst V, Boucher CA, et al. A comparison of two assays for quantification of Hepatitis B surface antigen in patients with chronic hepatitis B[J]. J Clin Virol,2011,51(3):175-178.
- [12] 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.

(收稿日期:2014-05-11)