

· 论 著 ·

HbcAb 单项或 HbcAb 与 HbeAb 二项阳性时 HbsAg 定量检测分析

黄启强, 周 青, 赵春平, 张子茵, 林思强
(遵义医学院第五附属(珠海)医院, 广东珠海 519100)

摘要:目的 用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测乙型肝炎病毒(HBV)标志物,若乙型肝炎病毒核心抗体(HbcAb)单项或 HbcAb 与乙型肝炎病毒 e 抗体(HbeAb)二项阳性,再进行 HbsAg 定量和 HBV 载量测定,了解 HBV 携带及病毒复制情况。方法 ELISA 检测 HBV 标志物 HbsAg、HbsAb、HbeAg、HbeAb、HbcAb,选取 1 098 例 HbcAb 阳性、966 例 HbeAb 和 HbcAb 二项阳性样本及 832 例 HBV 标志物全阴性标本为对照,用化学发光法定量复检 HbsAg,并用 PCR 的方法检测 HBV 载量。结果 1 098 例 HbcAb 单项阳性检测出 HbsAg 定量 436 例(39.7%)、PCR-DNA 230 例(20.9%);966 例 HbeAb、HbcAb 二项阳性的标本分别定量检测出 HbsAg 定量 387 例(40.1%)、PCR-DNA 212 例(21.9%),HBV 标志物全阴性的 HbsAg 定量和 PCR-DNA 比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 ELISA 法检测 HBV 标志物时,若只 HbcAb 阳性或或 HbcAb 与 HbeAb 二项阳性,仍可检出表面抗原和病毒的复制,需做进一步的检测,以免漏检,造成医疗风险。

关键词:ELISA 法; HbeAb 阳性; HbcAb 阳性; HbsAg 定量

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.01.021

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)01-0051-02

Analysis of HbsAg quantitative detection in single HbcAb positive or both HbcAb and HbeAb positive

Huang Qiqiang, Zhou Qing, Zhao Chunping, Zhang Ziyin, Lin Siqiang

(Fifth Affiliated Hospital(Zhuhai) of Zunyi Medical College, Zhuhai, Guangdong 519000, China)

Abstract:Objective To use the enzyme linked immunosorbent (ELISA) to detect the hepatitis B virus (HBV) markers, and to perform the HbsAg quantitation and the HBV load detection for understanding the HBV carrying and viral replication situation when single HbcAb positive or both HbcAb and HbeAb positive. **Methods** The HBV markers HbsAg, HbsAb, HbeAg, HbeAb and HbcAb were detected with ELISA. 1 098 cases of HbcAb positive, 966 cases of both HbeAb and HbcAb positive and 832 cases of all HBV markers negative as control were selected and quantitatively re-detected HbsAg by using the chemiluminescence method. The HBV load was detected by using the PCR method. **Results** Among 1098 cases of single HbcAb positive, 436 cases (39.7%) of HbsAg quantitation and 230 cases (20.9%) of PCR-DNA were detected out respectively; among 966 cases of both HbeAb and HbcAb positive, 387 cases (40.1%) of HbsAg quantitation and 212 cases (21.9%) of PCR-DNA were detected out respectively; among 832 cases of all HBV markers negative, 6 case (0.7%) of HbsAg quantitation and 4 case (0.5%) of PCR-DNA were detected out respectively, there were statistically significantly differences among them ($P<0.05$). **Conclusion** Adopting ELISA for detecting HBV markers, when single HbeAb positive or both HbcAb and HbeAb positive, HbsAg and the viral replication are still be detected out, which needs to conduct further detection in order to avoid the medical risk due to the missed detection.

Key words:ELISA; HbeAb positive; HbcAb positive; HbsAg quantitation

乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)诊断人体感染乙型肝炎病毒(HBV)已成常识,但由于其受限于方法学或所用试剂检测灵敏度低等原因,在日常工作中难免出现漏检,导致部分隐匿性 HBV 感染^[1]。虽然目前免疫检测已经出现了微粒子酶免发光、电化学发光等方法,但在中国临床实验室仍广泛采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测 HBV 标志物,因其有设备简易,操作简便、快速,成本低的优势。但 ELISA 法灵敏度低,高水平易出现钩状效应(HOOK),影响检测结果,导致检测结果的解读有影响。乙型肝炎病毒表面抗原(HbsAg)会出现假阴性而造成漏检现象,这样势必增加医疗风险,严重威胁医疗安全。为了准确了解乙型肝炎病毒核心抗体(HbcAb)单项或 HbcAb 与乙型肝炎病毒 e 抗体(HbeAb)二项阳性时患者所处疾病的真实情况,本文对 ELISA 法检出只 HbcAb 单项或 HbcAb 与 HbeAb 二项阳性情况进一步用化学发光法定量 HbsAg 检测或 PCR 法进行 HBV 载量的定量分析研究,进一步了

解 HBV 的携带情况,提高检测结果实验诊断的准确性,对减少误诊、漏诊的发生具有重要的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 10 月至 2014 年 3 月来本院体检、门诊人群中的血清,采用 ELISA 法检测 HBV,并用不同厂家的 ELISA 试剂复检 HbsAg。HbcAb 阳性 1 298 例, HbeAb、HbcAb 二项阳性 1 136 例,其中男性 1 232 例,女性 1 202 例,共 2 434 例,年龄 5~73 岁。选择 1032 例 HBV 标志物全阴性为对照。

1.2 仪器与试剂 仪器为美国 ABI 型 PCR 扩增仪、Labstem MK3 酶标仪,罗氏化学发光仪、HBV 标志物试剂由上海科华生物工程有限公司提供,ELISA 法试剂盒及复检试剂由上海荣盛生物有限公司提供,按标准化操作程序操作。HBV-DNA 试剂盒由中山医科大学达安基因股份有限公司提供,HBV-DNA 试验的室内质控品由中山医科大学达安基因股份有限公

司提供。

1.3 方法 由电脑自动分析计算 HBV-DNA 定量结果,结果以拷贝/毫升(copy/mL)表示。ELISA 检测 HBsAg 室内质控品水平为 2 IU/mL,ELISA 检测 HbcAb 室内质控品水平为 0.5 IU/mL。

1.4 统计学处理 应用 SPSS16.0 统计学软件进行统计分析,计数资料采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

不同方法检测 1 098 例 HbcAb 阳性、966 例 HbeAb 和 HbAb 二项阳性及 832 例 HBV 标志物全阴性标本结果为用

ELSIA 法进行 HbsAg 复检时结果分别是 3 例(0.3%)、2 例(0.2%)及 1(0.1%),差异无统计学意义($P>0.05$)。用化学发光法检测 HbsAg 定量结果分别为 436 例(39.7%)、387 例(40.1%)及 6 例(0.7%),差异有统计学意义($P<0.05$)。PCR-DNA($>10^3$ copy/mL)结果分别为 230 例(20.9%)、212 例(21.9%)及 4 例(0.5%),差异有统计学意义($P<0.05$)。PCR-DNA($>10^3$ copy/mL)及 HbsAg 定量(>1 col)结果分别为 227 例(20.7%)、207 例(21.4%)与 1 例(0.1%),差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 HbcAb 单项或 HbcAb 与 HbeAb 二项阳性时 HbsAg 复检及定量检测的结果					
分组	<i>n</i>	ELSIA 法 <i>n</i> (%)	化学发光法 <i>n</i> (%)	PCR-DNA <i>n</i> (%)	化学发光法与 PCR-DNA <i>n</i> (%)
HBcAb 阳性	1 098	3(0.3)	436(39.7)	230(20.9)	227(20.7)
HBeAb、HBcAb 二项阳性	966	2(0.2)	387(40.1)	212(21.9)	207(21.4)
HBV 标志物全阴性	832	1(0.1)	6(0.7)	4(0.5)	1(0.1)

3 讨 论

国内临床实验室常用的 HBV 感染的血清学标志物主要是采用 ELISA 法来判断^[2],受方法学本身的限制,此方法只作阴阳性的判断,不能定量,且该方法敏感度仅为 82%,无法检测到低水平 HBV 感染标志物,高水平的 HbsAg 会出现 HOOK,且该方法是定性分析,无法动态观察 HBV 感染状态^[3],故检测结果与临床诊断、治疗存在一定的差距,给临床和治疗带来诸多不便^[4],易造成低水平 HBsAg 表达人群的漏检和高水平及类风湿因子等因素引起的误诊^[5]。

HBcAg 作为肝细胞核内的一种靶抗原,富含碱性氨基酸,免疫原性强,刺激机体免疫系统产生抗-HBc 抗体。抗-HBc 抗体随 HbsAg 产生而产生,且其存在的时间长。另外抗-HBc 抗体还不因 S 基因突变引起的 HbsAg 变化而变化,因此当机体感染 HBV 后,典型性感染时抗-HBc 抗体保持阳性,而未感染 HBV 者抗-HBc 抗体为阴性,且单独 HbsAg 出现的时间很短及频率也很小,当机体被 HBV 感染后产生的 HBcAb 不是保护性抗体,可伴随乙肝病毒存在,并且 HBcAb 可以不随乙肝病毒感染的康复而消失,HBcAb 的阳性率达 20%。当机体受微量的 HBV 感染时,刺激机体先产生 HbcAb,而其他蛋白还未能使机体产生相应的抗体或抗体的水平未达到 ELISA 法的检测灵敏度,因此 HbcAb 单阳性是出现在临床学上的常见模式。本文选取 1 098 例 HbcAb 单阳性标本结果是:化学发光法(>1 col)检测 HbsAg 定量(>1 col)有 436 例(39.7%)阳性标本检出,PCR-DNA 法(>103 copy/mL)检测中仍有 230 例阳性标本检出(20.9%),与邱跃华等^[6]的报道不符。可能与 HBV 病毒不能被目前的 ELISA 法试剂识别或 HbsAg 变异而导致 ELISA 法阴性有关。

出现 HBeAb 阳性,往往伴随着 HBeAg 的转阴出现,与 HBsAb 不同,它不是保护性抗体,其出现通常和一些明显的免疫状态改变相关联,并伴随着血清中 HBV 病毒的低复制,表明传染性弱,病情趋向稳定和恢复。

综上所述,HbsAg 诊断人体 HBV 感染的指标已成常规,但因测定技术不够灵敏,导致呈现低水平,不能检出,故检测结果与临床诊断、治疗存在一定差距。呈现低水平可能原因包括以下两方面^[7]:(1)HBV S 基因的变异导致 HBsAg 结构或抗原性发生了变化,从而引起抗原抗体的结合出现了异常现象,反应信号下降,而在检测上呈现假阴性或者弱阳性,而实际上体内 HBsAg 仍处于高水平表达。(2)因抗病毒治疗或个体的免疫应答水平低下等原因,使 S 基因表达较为低下,而出现实际的低水平。由此可见,ELISA 法定性 HBsAg 出现低水平或不能检出是不可避免的,故对 HbcAb 单阳或 HbeAb 和 Hb-cAb 二项阳性时的患者要重视用灵敏度较强的其它方法进行复检,防止漏检,才能保证为临床提供准确、有效的数据,有效减少 HBV 通过手术、输血等传播,避免医疗纠纷发生。

参考文献

[1] 张振华,叶珺,杨东亮. 隐匿性乙型肝炎病毒感染的研究进展[J]. 实用肝脏病杂志,2008,11(3):200-203.
[2] 梁娜,孙淑艳. 乙型肝炎病毒标志物检测分析[J]. 中国实验诊断学,2006,10(2):161-162.
[3] 乐惠荣. 时间分辨荧光免疫法定量检测 HBV 标志物的临床价值[J]. 中西医结合肝病杂志,2007,17(4):235-236.
[4] 凌小强,李永来,姚春娴,等. 时间分辨荧光免疫分析法检测血清 HBsAg 的临床价值[J]. 新医学,2007,17(4):235-236.
[5] 黄芬,王茂峰,万汝根. 体检人群乙型肝炎表面抗原检测弱反应的分析与对策[J]. 浙江实用医学,2010,15(3):230-231.
[6] 邱跃华. 化学发光法与 PCR 法检测 HBV 相关性分析及临应用[J]. 临床和实验医学杂志,2007,6(10):43-44.
[7] 王蕾,刘华,王雯静,等. 低水平乙型肝炎表面抗原的检测及其临床价值评估[J]. 微生物与感染,2009,4(1):9-12.