

• 论 著 •

HBsAg 弱阳性及 HBsAg 和 HBsAb 同时阳性的结果分析

黄 芳¹, 刘亚东², 郑彩霞³, 季尔丽⁴, 赵丽丽⁵

(1. 西安交通大学第二附属医院检验科, 陕西西安 710048; 2. 西安交通大学口腔医院检验科, 陕西西安 710048; 3. 西安交通大学第二附属医院妇产科, 陕西西安 710048; 4. 西安交通大学第二附属医院普外科, 陕西西安 710048; 5. 陕西中医学院 2010 级医学技术系医学检验专业学生, 陕西咸阳 712000)

摘要:目的 对 ELISA 法检测乙肝五项结果中的 HBsAg 弱阳性结果及乙型肝炎 HBsAg 和 HBsAb 同时阳性的结果进行分析。方法 从 35 280 例乙肝五项 ELISA 法检测结果中筛出 HBsAg 弱阳性 115 例, HBsAg 和 HBsAb 双阳性结果 95 例, 对筛出的 210 例标本再进行电化学发光(ECLIA)定量检测。结果 115 例 HBsAg 弱阳性结果用 ECLIA 检测, 结果一致为 90 例。符合率为 78.3%。HBsAg 和 HBsAb 双阳性结果 95 例用 ECLIA 检测, 结果一致为 11 例。符合率为 11.6%。结论 ELISA 法检测乙肝五项对 HBsAg 弱阳性及 HBsAg 和 HBsAb 双阳性结果要慎重。HBsAg 弱阳性结果中以 HBsAg、HBeAb、HBcAb 阳性和 HBsAg、HBcAb 阳性标本占大多数。HBsAg 和 HBsAb 同时阳性的结果可靠性差, 要慎重发出报告。

关键词: 乙肝; 酶联免疫吸附; 电化学发光

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.07.028

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)07-0930-03

Analysis on results of HBsAg weakly positive and both HBsAg and HBsAb simultaneously positive

Huang Fang¹, Liu Yadong², Zheng Caixia³, Ji Erli⁴, Zhao Lili⁵

(1. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University Xi'an, Shaanxi 710048, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Stomatological Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710048, China; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University Xi'an, Shaanxi 710048, China; 4. Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University Xi'an, Shaanxi 710048, China; 5. Students of Grade 2010, Medical Laboratory Specialty, Department of Medical Technology, Shaanxi College of Traditional Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712000 China)

Abstract: **Objective** To analyze the results of HBsAg weakly positive and both HBsAg and HBsAb simultaneously positive in 5 items of hepatitis B detected by ELISA. **Methods** 115 cases of HBsAg weakly positive and 95 cases of both HBsAg and HBsAb simultaneously positive were screened out from 35 280 cases of 5 items detection results of hepatitis B. 210 screened samples were performed the electrochemiluminescence immunoassay(ECLIA) quantitation. **Results** 115 cases of HBsAg weakly positive were re-detected by using ECLIA, 90 cases had the consistent results with the coincidence rate of 78.3%. After ECLIA re-detection in 95 cases of HBsAg and HBsAb double positive results, 11 cases had the consistent results with the coincidence rate of 11.6%. **Conclusion** The results of HBsAg weakly positive and both HBsAg and HBsAb double positive in 5 items of hepatitis B detected by ELISA must be cautious. In the detection results of HBsAg weakly positive, the majority are the samples of HBsAg, HBeAb and HBcAb positive and HBsAg and HBcAb positive. The results of HBsAg and HBsAb simultaneously positive have poor reliability, which should be careful to issue the detection reports.

Key words: hepatitis B; enzyme-linked immunosorbent assay; electrochemiluminescence immunoassay

采用酶联免疫吸附试验(ELISA 法)检测乙肝五项目前是我国各种医院及医疗机构进行乙肝筛查的一种常用的检测方法, 该法简单快捷, 灵敏度和重复性较好, 而且价格便宜, 适宜大批标本检测等优点, 但它同时也存在检测时间长, 有些弱阳性结果难以判断等不足, 而电化学发光法(electro chemiluminescence immunoassay, ECLIA 法)由于其检测周期短, 节省人力、物力。所有检测项目定量或高度定性, 因此对于传染病筛检, 疾病监测、疗效观察有显著的临床意义。据文献[1-2]报道, 它灵敏度更高, 准确性更好, 本文试图用 ECLIA 法对 ELISA 法检测乙肝五项 HBsAg 弱阳性结果及 HBsAg 和 HBsAb 双阳性结果进行比对并分析, 从而为临床实验室提供更为可靠的数据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 根据研究目的收集西安交通大学医学院第二附属医院 2013 年 3 月 1 日至 2014 年 3 月 31 日门诊和住院以及体检检测的患者结果 35 280 例, 选出弱阳性结果和 HBsAg 和 HBsAb 双阳性结果共计 210 例进行分析, 包括 HBsAg 弱阳性 115 例、HBsAg 和 HBsAb 双阳性结果 95 例。

1.2 仪器与试剂 采用 Rayto-RT-6100 Microplate Reader 酶标仪, 370C 恒温水浴箱; 高速台式离心机, TECAN EVO clinical 全自动 ELISA 前处理, FAME 全自动 ELISA 后处理, 雅培 ARCHITECT PLUS 电化学发光仪, 万泰生物药业 96 人份 ELISA 乙肝五项检测试剂盒; 雅培 ARCHITECT PLUS 电化学发光配套检测试剂盒。

1.3 方法 采用 ELISA 法检测乙肝五项,共统计结果 35 280 例,严格按实验的操作要求认真完成。对包括 HBsAg 弱阳性、HBsAg 和 HbsAb 双阳性结果认真记录并留取标本,当天下午进行定量检测并分析记录结果。HbsAg、HBsAb、HbeAg 试剂采用双抗体夹心法酶联免疫吸附实验。HbeAb、HbcAb 采用竞争法酶联免疫吸附实验测定。雅培 ARCHITECT PLUS 电化学发光仪结果判读:HBsAg 阳性大于等于 1 IU/L、HBsAb 阳性大于等于 10 IU/L, HBeAg 阳性大于等于 1 IU/L, HBeAb、HBcAb 阳性小于 1 COI。

2 结 果

2.1 115 例 HBsAg 弱阳性标本 ELISA 法和 ECLIA 法检测对比 35 280 例标本中 ELISA 法测定 HBsAg 弱阳性标本 115 例(OD 值 0.12~0.35 之间)。用雅培 ARCHITECT PLUS 电化学发光仪(ECLIA 法)定量检测这 115 例标本,HBsAg 依然阳性 90 例,符合率 78.3%。以 HBsAg、HBeAb、HBcAb 阳性和 HBsAg、HBcAb 阳性标本占大多数,共 88 例。与罗氏电化学发光法定量检测的符合率分别为 90.0% 和 72.2%。此外,115 例 HBsAg 弱阳性结果(ELISA 法)中,单独测得 HBsAg 阳性的标本有 24 例,与罗氏电化学发光法定量检测的符合率为 50.0%。另外有 3 例 ELISA 法测得 HBsAg 阴性而罗氏电化学发光法定量检测阳性的标本,见表 1。

表 1 115 例 HBsAg 弱阳性标本 ELISA 法和 ECLIA 法检测对比

| 指标* | ELISA 法 (n) | ECLA 法 (n) | 符合率 (%) |
|------------------------|----------------|---------------|------------|
| HBsAg、HBeAb、HBcAb(+++) | 70 | 63 | 90.0 |
| HBsAg、HBcAb(++) | 18 | 13 | 72.2 |
| HBsAg(+) | 24 | 12 | 50.0 |
| HBsAg、HBeAb、HBcAb(-++) | 3(-) | 3(+) | 0.0 |
| 合计 | 115 | 90 | 78.3 |

*:HBsAg 的 OD 值在 0.12~0.35 之间。

2.2 HBsAg 和 HBsAb 同时阳性的标本 ELISA 法和 ECLIA 法检测对比 35 280 例标本中 ELISA 法共分离出 HBsAg 和 HBsAb 同时阳性有 95 例,其中最多例数的是 HBsAg、HBsAb、HBcAb 阳性标本和 HBsAg、HBsAb、HBeAb、HBcAb 阳性,分别为 33 例和 28 例。与罗氏电化学发光法(ECLIA 法)定量检测的符合率分别为 18.2% 和 10.7%。总符合率为 11.6%,见表 2。

表 2 HBsAg 和 HBsAb 同时阳性的标本 ELISA 法和 ECLIA 法检测对比

| 指标 | ELISA 法 (n) | ECLA 法 (n) | 符合率 (%) |
|-------------------------------|----------------|---------------|------------|
| HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBcAb(++++) | 18 | 1 | 5.6 |
| HBsAg、HBsAb、HBeAb、HBcAb(++++) | 28 | 3 | 10.7 |
| HBsAg、HBsAb、HBcAb(++++) | 33 | 6 | 18.2 |
| HBsAg、HBsAb(++) | 16 | 1 | 6.3 |
| 合计 | 95 | 11 | 11.6 |

3 讨 论

乙肝两对半是检查人体是否感染乙肝病毒的乙肝病毒血清学标志物,由于 ELISA 方法价格便宜,操作方便等原因,我国检测乙肝多用酶联免疫吸附实验(ELISA 法),乙肝两对半定性检测对乙肝疾病的诊断,病情监测,疗效观察起到了一定的作用。但随着临床医学的发展,乙肝两对半定性检测已经远远不能满足临床及患者的要求,特别是在疗效观察以及乙肝疫苗注射后抗体产生情况的观察上有明显的不足,检测中经常出现多种不好与患者和医生解释的结果。

乙肝表面抗原是乙肝病毒的外壳蛋白,主要以 22 纳米的小球型颗粒形式存在^[3],本身不具有传染性,但它的出现伴随乙肝病毒的存在,所以它是已感染乙肝病毒的标志。

在乙肝两对半检查中,乙肝表面抗原弱阳性表示感染了乙肝但是乙肝病毒数量少,病毒复制慢,传染能力较弱。通常出现在两种情况:一是乙肝表面抗原弱阳性对于正在进行治疗的乙肝患者来说,是一种好的现象,它表明乙肝表面抗原正在进行血清转化,说明患者的病情正在好转,应该坚持积极的治疗。二是乙肝表面抗原弱阳性是代表人体感染了乙肝,但是病毒复制比较慢,传染性较弱,这种情况应该及时地进行治疗,否则会是病情进一步的加重,最后演变成肝硬化或者是肝癌。

我国有多个试剂厂家可进行 HBsAg 的 ELISA 法定性检测,检测灵敏度多为 0.5 ng/mL。据田拥军等报道目前国内主要 8 种试剂盒检测变异的 HBsAg 总体漏检率为 16.7%~44.4%^[4]。HBV 突变^[5]可导致常规试剂检测 HBsAg 值降低,是造成检测能力下降的原因之一。

本院 115 例乙肝表面抗原弱阳性结果(ELISA 法)再用电化学发光法(ECLIA 法)定量检测,结果一致为 90 例,符合率为 78.3%,据文献报道、电化学发光法定量试剂检测灵敏度为 0.05 ng/mL^[6]。为什么会出现检测灵敏度低的方法检出的阳性率高,究其原因,可能主要是与试剂本身质量和检验操作流程有关。导致用定性试剂(ELISA 法)检测 HBsAg,出现假阳性结果几率大于定量试剂(ECLIA 法)^[7-8]。

一般情况下,当乙型肝炎病毒侵入人体后,刺激人的免疫系统产生免疫反应,人体免疫系统中的 B 淋巴细胞分泌出一种特异的免疫球蛋白 G,就是表面抗体,它可以和表面抗原异地结合,然后在体内与人体的其他免疫功能共同作用下,可以把病毒清除掉,保护人体不再受乙肝病毒的感染,故称表面抗体为保护性抗体。人自然感染后或注射乙肝疫苗后,均可产生乙型肝炎表面抗体;但不是所有的人都能产生表面抗体。所以人群感染乙肝病毒后,临床症状出现前 6~8 周可检出 HBsAg,症状初期 HBsAg 浓度最高。如果无并发症出现,HBV 感染后 3~4 月将检测不出 HBsAg。只有占感染患者的 5%~10% 的人 6 个月后 HBsAg 仍为阳性,表明感染已转为慢性,成为乙肝患者。

本研究检测到有 95 例 HBsAg 和 HBsAb 共同阳性标本,再用电化学发光法(ECLIA 法)检测 HBsAg 和 HBsAb 结果一致的是 11 例,符合率仅为 11.6%,可以看出 HBsAg 和 HBsAb 同时阳性的结果很少见。定性检测结果出现 HBsAg 和 HBsAb 同时阳性的结果往往不可信,需要复查。因此,在酶联免疫吸附实验(ELISA 法)检测乙肝五项的实验结果中,双阳模式的阳性报告多为假阳性。同时阳性可能的原因有:(1)患者在乙肝病毒感染的恢复期。(2)HBsAg 的携带者。(3)患者感染了两个不同亚型的乙肝病毒。(下转第 933 页)

2.3 75 例疑似患者标本中,共检出甲型流感病毒 13 例,其中 H1N1 亚型 9 例,其中女 2 例,男 7 例,平均年龄>50 岁,2013 年 3 月份 3 例、4 月份 1 例;2014 年 1 月份 7 例、2 月份 2 例;未检测出 H7N9 亚型,见表 1。

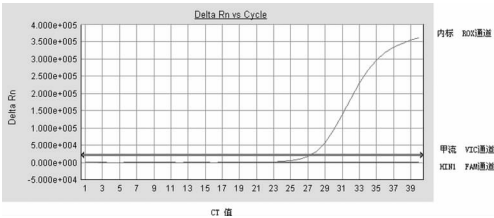


图 1 甲型流感病毒和 H1N1 亚型病毒阴性样本

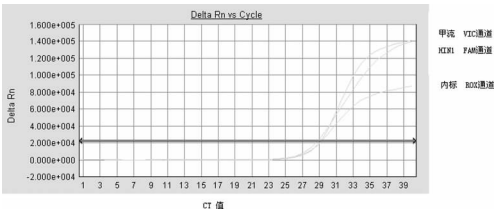


图 2 甲型流感病毒和 H1N1 亚型病毒阳性样本

表 1 75 例疑似甲型流感患者标本检测结果
(阳性标本/检测标本)

| 流感分类 | | 2013 年 2~12 月 | 2014 年 1~2 月 | 合计 |
|---------|-----|---------------|--------------|----|
| 甲型流感病毒 | 阳性数 | 4 | 9 | 13 |
| | 标本数 | 37 | 38 | 75 |
| H1N1 亚型 | 阳性数 | 0 | 9 | 13 |
| | 标本数 | 37 | 38 | 75 |
| H7N9 亚型 | 阳性数 | 0 | 0 | 0 |
| | 标本数 | 37 | 38 | 75 |

3 讨 论

禽流感是由 A 型流感病毒引起的一种禽类烈性传染病,导致此病的病毒属于正黏病毒科, RNA 病毒形态近似球形,直径 80~120 nm,病毒外有包膜,包膜内部为螺旋对称的核衣壳甲型流感病毒的基因组由 8 个片段组成病毒表面的糖蛋白抗

原分为 16 个血细胞凝集素(HA 亚型)和 9 个神经氨酸酶(NA 亚型),不同亚型病毒之间的基因可杂交,形成一个庞大而复杂的病毒家族^[3]。荧光定量 PCR 方法因其具有准确性高重现性好等特点,已广泛应用于基因表达、病原体检测等诸多研究领域^[4-6]。

75 例疑似甲型流感标本检测结果显示,2013 年 2~12 月期间共检测 37 例样本,其中甲型流感病毒阳性数为 4 例;未检测出 H1N1 亚型,表明本市疾病检测及时,防控合理;H7N9 亚型为 2013 年 4 月新发现的亚型,因此于 2013 年 6 月份开始检测,未检测出该亚型。2014 年 1~2 月期间共检测 38 例样本,其中甲型流感病毒阳性数为 9 例,H1N1 亚型阳性数为 9 例,其中 1 月份 7 例、2 月份 2 例,平均年龄>50 岁,表明冬季为流感高发季节,且老年患者由于基础疾病较多,身体免疫力低下,成为流感易感人群,实时荧光定量 PCR 方法检测具有快速、准确率高的特点,对于疾病早期诊断具有重要价值;未检测出 H7N9 亚型。甲型流感是一种暴发性疾病,本院作为定点医院,必须严格做好实验室检测,及时统计检测结果,早发现、早诊断疾病。

参考文献

[1] 冯来强,李洪权. 2009 年北京市甲型 H1N1 流感疫情流行病学特征[J]. 首都公共卫生杂志,2010,5(2):224-225.
[2] 董晓毅,孙长贵. H7N9 禽流感病毒感染及实验室诊断[J]. 实验与检验医学,2013,31(2):105-114.
[3] 宋蕊,成军. 认识甲型 H7N9 禽流感[J]. 首都医科大学学报,2013,34(3):475-478.
[4] Fend R, Geddes R, Livak K J, et al. Use of an electronic nose to diagnose Mycobacterium bovis infection in badgers and cattle[J]. J Clin Microbio, 2005, 43(16):1745-1751.
[5] 陈旭,齐凤坤,康立功,等. 实时荧光定量 PCR 技术研究进展及其应用[J]. 东北农业大学学报,2010,41(1),148-155.
[6] 郝秀静. 荧光定量 PCR 在医学诊断中的应用[J]. 中国医疗前沿,2008,3(1):93.

(收稿日期:2014-11-18)

(上接第 931 页)

ELISA 法在检测过程中要时刻注意由于抗原抗体过量而引起的假阴性,即免疫学中的勾带效应。患者血清中如存在大量的大分子免疫球蛋白如 RF 因子,也可引起假阳性结果。有文献报道采用 ELISA 二步法可消除勾带效应^[9]。

总之,ELISA 方法检测乙肝五项的影响因素有许多,在出现 HBsAg 弱阳性和 HBsAg 和 HBsAb 同时阳性的情况时,应首先检查试剂及操作有无不妥,必要时复查。然后结合临床患者资料,给予临床医生恰当的解释和建议。

参考文献

[1] 朱平安,郭奕明,徐汉平,等. 电化学发光免疫分析法定量测定乙肝表面抗原的初步评价[J]. 中华现代中西医杂志,2003,1(6):487.
[2] 何应中,郑国波,邹焰,等. ECLIA 和 ELISA 检测乙肝病毒血清标志物对比探讨[J]. 遵义医学院学报,2010,33(5):439-442.
[3] Hsu HY, Chang MH, Ni YH, et al. Survey of hepatitis B surface

variant infection in children 15 years after a nationwide vaccination programme in taiwan[J]. Gut, 2004, 53(10):1449-1503.
[4] 田拥军,覃莉,刘慎沛,等. 8 种国产 HbsAg 试剂盒检测变异 HBsAg 的效果评价[J]. 临床检验杂志,2007,25(4):250-252.
[5] 张爱民,王慧芬,李桂英,等. HBV 突变与 HBV 相关慢加急性肝衰竭相关性研究[J]. 传染病信息,2014,27(2):74-77.
[6] 彭静,管青,王斌,等. HbsAg 检测结果弱反应的分析与处置[J]. 临床检验杂志,2008,26(4):284-285.
[7] 周艳萍,倪诗强,黄勇进. 酶联免疫吸附试验“灰区”结果探讨[J]. 检验医学与临床,2008,5(14):876-877.
[8] 刘晓华,林月好,李纯,等. ELISA 与 ECLIA 对 HBsAg 弱反应性标本检测的比较[J]. 临床医学工程,2011,10(18):1544-1546.
[9] 陶洪群,叶剑彪. ECLIA 和 ELISA 检测血清 HBsAg 的结果比较[J]. 江西医学检验,2002,20(3):323-324.

(收稿日期:2014-11-16)