

• 临床研究 •

胶体金免疫层析试验检测乙肝两对半时 HBsAg 假阴性结果的处置*

王洪珍¹, 陈小芳¹, 钱粉红^{2△}

(1. 江苏省镇江市第四人民医院生殖中心 212001; 2. 江苏大学附属医院呼吸科, 江苏镇江 212001)

摘要:目的 胶体金免疫层析试验(GICA)检测乙肝两对半时,对乙型肝炎表面抗原(HBsAg)结果疑似假阴性的标本分别用酶联免疫吸附试验(ELISA)和时间分辨荧光分析法(TRFIA)定量试验进行 HBsAg 检测,并用抗体中和确认试验进行确认,以获得一个处理 GICA 检测 HBsAg 产生假阴性结果的可靠方法。方法 2014 年 1 月至 2015 年 2 月用 GICA 检测乙肝两对半的标本 3 078 例,选取其中结果为单乙型肝炎核心抗体(抗-HBc),或单乙型肝炎 e 抗体(抗-HBe)为阳性,或抗-HBc 和抗-HBe 同为阳性,而 HBsAg、乙型肝炎表面抗体(抗-HBs)、乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)均为阴性的标本 86 例,分别用 ELISA 和 TRFIA 检测其 HBsAg,对检测为阳性的标本进行抗体中和确认试验确认。结果 86 例标本经抗体中和确认试验确认阳性的为 35 例;ELISA 检出阳性标本 28 例,其中 2 例为假阳性;TRFIA 检出阳性标本 35 例与抗体中和确认试验符合率 100%。结论 GICA 检测乙肝两对半时,对 HBsAg 结果疑似假阴性的标本可选用 TRFIA 进行复查确认。

关键词:乙型肝炎表面抗原; 胶体金免疫层析试验; 酶联免疫吸附试验; 时间分辨免疫荧光分析试验; 抗体中和确认试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)23-3333-02

乙型肝炎(简称乙肝)在我国的发生率很高,乙肝表面抗原(HBsAg)是诊断 HBV 感染的重要标志物,HBsAg 检查对乙肝的预防和治疗有重要意义^[1]。目前检测 HBV 标志物的方法较多,镇江市第四人民医院门急诊患者常用胶体金免疫层析试验(GICA)检测乙肝两对半,GICA 虽然方便快捷,但该方法灵敏度不高,对低浓度的 HBsAg 会出现假阴性结果。为获得一个处理 GICA 检测 HBsAg 产生假阴性结果的可靠方法,本文对 GICA 检测乙肝两对半时,HBsAg 结果疑似假阴性的标本分别用酶联免疫吸附试验(ELISA)和时间分辨荧光分析法(TRFIA)定量试验进行 HBsAg 检测,并用抗体中和确认试验进行确认,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 2014 年 1 月至 2015 年 2 月镇江市第四人民医院共有 3 078 例患者静脉血清用 GIA 检测乙肝两对半,选取其中单乙肝核心抗体(抗-HBc),或单乙肝 e 抗体(抗-HBe)为阳性,或抗-HBc 和抗-HBe 同为阳性,而 HBsAg、乙肝表面抗体(抗-HBs)、乙肝 e 抗原(HBeAg)均为阴性的标本,其中单抗-HBc 阳性标本 44 例,单抗-HBe 阳性标本 3 例,抗-HBc 和抗-HBe 同为阳性标本 39 例,共计 86 例。

1.2 仪器与试剂 全自动时间分辨免疫荧光仪 EasyCuta, BIO-RAD model 550 酶标仪,洗板机。GICA 乙肝两对半测试卡为爱博生物医药(杭州)有限公司提供,ELISA)试剂盒由北京万泰生物药业股份有限公司提供,TRFIA 定量检测试剂为苏州新波生物技术有限公司提供,HBsAg 抗体中和确认试剂盒由珠海丽珠试剂股份有限公司提供。

1.3 方法 各方法严格按照操作说明书进行操作。GICA 在 10 min 和 30 min 各观测一次结果,以后者报告结果,30 min 后判定无效。ELISA 测定时,用洗板机洗板,用酶标仪测定各 A 值,按盒内说明书计算 Cutoff 值;每板设空白 1 孔,阴、阳性对照血清各两孔;阴性对照孔 A 值 ≤ 0.10 ,阳性对照孔 A 值 ≥ 0.80 ,否则实验无效;阴性对照孔 A 值 < 0.05 按 0.05 计算。TRFIA 操作前按要求做好标准曲线,并作室内质量控制。HBsAg 最终结果以 HBsAg 抗体中和确认试验结果为判断标

准,HBsAg 抑制率 $\geq 50\%$ 为阳性。检测流程:首先进行 GICA 乳胶板检测乙肝血清学标志物,筛选其单抗-HBc,或单抗-HBe 为阳性,或抗-HBc 和抗-HBe 同为阳性,而 HBsAg、抗-HBs、HBeAg 均为阴性的标本,再用 ELISA 和 TRFIA 定量试验进行 HBsAg 检测,并对检测为阳性的标本进行 HBsAg 抗体中和确认试验确认。

2 结果

2.1 HBsAg 确认试验对 ELISA 和 TRFIA 检测 HBsAg 阳性结果的确认 入选的 86 例标本中,GICA 结果为抗-HBc 和抗-HBe 同为阳性标本 39 例,经 ELISA 检测 HBsAg 为阳性的 17 例,经 TRFIA 检测 HBsAg 为阳性的 20 例;GICA 结果为单抗-HBc 阳性标本 44 例,经 ELISA 检测 HBsAg 为阳性的 8 例,经 TRFIA 检测 HBsAg 为阳性的 12 例;GICA 结果为单抗-HBe 阳性标本 3 例,经 ELISA 检测 HBsAg 为阳性的 3 例,经 TRFIA 检测 HBsAg 为阳性的 3 例。ELISA 检测为阳性的合计 28 例占 32.56%(28/86),TRFIA 检测为阳性的合计为 35 例占 40.70%(35/86),两种方法共检测出 HBsAg 阳性标本 37 例,经 HBsAg 抗体中和确认试验确认为阳性的为 35 例,见表 1。

表 1 HBsAg 确认试验对 ELISA 和 TRFIA 检测 HBsAg 阳性结果的确认(n)

| HBsAg 确认试验 | ELISA | | TRFIA | |
|------------|-------|----|-------|----|
| | 阳性 | 阴性 | 阳性 | 阴性 |
| 阳性 | 35 | 26 | 9 | 35 |
| 阴性 | 2 | 2 | 0 | 2 |

2.2 HBsAg TRFIA 定量试验阴性的标本进一步检测分析结果 对 51 例 TRFIA HBsAg 定量试验阴性标本进一步检测分析,发现有 29 例抗-HBs 阳性,占 33.72%(29/86)。

3 讨论

GICA 检测乙肝两对半具有方便快捷、干扰因素少,可单个标本操作等优点,能满足急诊检验的需要,为门诊、急诊患者

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81370119)。

△ 通讯作者,E-mail:zhaoqian604@126.com。

和无偿献血现场采血前检测乙肝标志物提供了便利条件。但是该方法灵敏度不高,HBsAg 的检测限一般为 1 ng/mL,对于 HBsAg 弱阳性标本的检出率不高,容易出现假阴性。本实验结果显示,入选的 86 例疑似 HBsAg 假阴性标本,最终确认有 35 例为 HBsAg 弱阳性,占 40.70%(35/86),对 51 例 HBsAg 阴性标本进一步检测分析,发现还有 29 例抗-HBs 弱阳性,占 33.72%(29/86),因此 GICA 检测乙肝两对半,只能作为筛查方法,对于疑似 HBsAg 假阴性标本需要用更准确的方法进行复查后方能发出报告。

ELISA 灵敏度较高、特异性较好,操作方便且不需要很昂贵的仪器,各诊断指标都比较理想且成本较低,基本满足了临床需求,是目前国内基层医院检测 HBsAg 最常用的方法。但该方法的操作步骤较多,整个实验过程持续时间长,而且国产 ELISA 试剂盒的灵敏度一般在 0.5 ng/mL,对 HBsAg 临界标本检测的正确率并不理想,对一些低水平的 HBsAg 检出能力有限,仍有漏检,会产生一定的假阴性。在本实验中,最终确认的 35 例 HBsAg 弱阳性标本,ELISA 仅检出 26 例阳性。标本溶血、标本污染、标本放置过久、标本凝集不全、操作中的因素(孵育时间、洗板、加样量等)都有可能造成 ELISA 结果为假阴性。在本实验中,ELISA 检出的 28 例 HBsAg 弱阳性标本,有 2 例为假阳性。

TRFIA HBsAg 定量试验 HBsAg 检测的灵敏度、特异性明显提高,使 HBsAg 滴度表达很低的标本得以检出,灵敏度一般在 0.2 ng/mL,并能检测变异的 HBsAg,对临床诊断及流行病学调查有着重要意义。全自动时间分辨免疫荧光仪 EasyCuta 从标本加样到结果全部由仪器自动化完成,从而避免了人为误差产生,做到了自动、准确、快速。有研究者提出,对于低浓度的 HBsAg 应引起足够的重视^[2-5]。本实验中,HBsAg 水平低的标本,GICA 和 ELISA 灵敏度不够而漏检的,经 TRFIA 检测后均被检出,并经 HBsAg 抗体中和确认试验最终确认,符合率 100%。李金明^[3]提出应重视对弱反应性标本的

• 临床研究 •

确认,排除假阳性,得出一个正确的结果,对患者负责。ELISA 不仅因灵敏度的原因会出现假阴性结果,且存在一定程度的假阳性,在操作中需要注意防范,对弱阳性标本也需要进一步复查确认,确保结果准确可靠。曹树正等^[6]曾以微粒子酶免发光法(MEIA)来确认 ELISA 检测 HBsAg 产生假阴性的标本,经抗体中和确认试验确认,MEIA 也存在一定的假阳性,其低反应标本仍要经过抗体中和确认试验来验证。而 TRFIA 结果准确、灵敏度高、特异性好,对 HBsAg 弱阳性标本有较好的检出率,检测变异的 HBsAg 能力也强。因此,GICA 对乙肝两对半检测时,对其中单抗-HBc 阳性,或单抗-HBe 为阳性,或抗-HBc 和抗-HBe 同为阳性,而 HBsAg、抗-HBs、HBeAg 均为阴性的疑似 HBsAg 假阴性标本可用 TRFIA HBsAg 定量试验进一步检测确认,核定结果后再发正式报告。

参考文献

[1] 王海刚,丁磊,潘航,等. 3 种 HBsAg 检测方法的比较[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(12):1614-1615.
[2] 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.
[3] 王文武,曹树正,杨杰,等. 对乙型肝炎表面抗原弱阳性结果进行确认试验的应用研究[J]. 检验医学,2010,25(4):301-303.
[4] 李金明. 感染性疾病血清学检验中应重视对弱反应性标本的确认[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(7):577-580.
[5] 康伟,辛娜,尤涛,等. ROC 曲线对 ELISA 检测 HBsAg 阳性判断值的确定及应用评价[J]. 现代检验医学杂志,2010,25(6):49-50.
[6] 曹树正,王文武. 乙型肝炎表面抗原 ELISA 检测假阴性样本的分析[J]. 现代检验医学杂志,2012,27(1):9-10.

(收稿日期:2016-06-12 修回日期:2016-09-02)

血液温度和贮存时间对去白细胞血液质量效果分析*

鲁国勇,朱荣华[△],李维锦,陈兆庆,谢函凌,段志燕
(云南省保山市中心血站 678000)

摘要:目的 了解血液的温度、采血后贮存时间对去白细胞血液制备的影响,寻找白细胞滤除的最佳温度和贮存时间,为临床提供更加优质的血液制品,让更多患者受益。方法 按照血液温度、采血后贮存时间,对滤后白细胞残存量、红细胞回收率效果进行统计分析。结果 (1)血液温度的影响,通过 397 份标本的观察,血液温度在 10℃及以下 172 份,合格率 86.62%(149/172);10℃以上 225 份,合格率 61.77%(139/225)。2 组白细胞滤过合格率经 χ^2 检验,差异有统计学意义($\chi^2=30.22, P<0.05$)。(2)采血后贮存时间的影响,通过 545 份标本的观察,采血后贮存时间 4 h 内滤除 208 份,合格率 59.13%(123/208);4~12 h 内滤出 189 份,合格率 87.30%(165/189);12~48 h 内滤除 148 份,合格率 86.48%(128/148);3 组白细胞滤过率经过 χ^2 检验,差异有统计学意义($\chi^2=18.16, P<0.05$)。结论 结合当地实际,云南保山无偿献血血液白细胞去除工作最佳滤出温度,血液温度控制在 2~10℃。兼顾到冷沉淀的制备时效(8 h 内),血液贮存 4~8 h 内进行白细胞滤出工作为最佳过滤时间。

关键词:白细胞; 时间; 温度; 分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.23.037 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2016)23-3334-03

临床上由输血引发的各种疾病越来越引起人们的重视,输注过滤去除白细胞血液避免因输入献血者的白细胞而引起的非溶血性发热性输血反应(FNHTR)和同种免疫反应,防止输血相关性移植病抗宿主病(TA-GVHD)的发生预防巨细胞病

* 基金项目:云南省保山市科技立项项目(保科字[2016]19号)。

[△] 通讯作者, E-mail:77531164@qq.com。