

• 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3078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)在我国的发病率很高, 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虽然方便快速, 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3078例患者静脉血清用GICA检测乙肝两对半, 选取其中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, 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≥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	0
阴性	2	2	0	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速、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精贵的仪器,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结果为假阳性。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] 康炜,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

临幊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物抗宿主病(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。