

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 14. 015

ELISA 检测 HBsAg 结果在临界值附近的体检者感染 HBV 的风险分析

卢春生¹, 谢秀华², 曹文平¹, 陈新春¹, 邬 军¹, 叶宝玉¹, 高以娟¹

1. 中国科学院大学深圳医院(光明)输血科, 广东深圳 518106; 2. 广东省深圳市宝安区中心血站血型研究室, 广东深圳 518100

摘 要:目的 探讨 ELISA 检测血清标本 HBsAg 结果在临界值附近(S/CO 值 0.8~2.5)的体检者感染 HBV 的风险。方法 选用 CLIA 复检结果一致的 127 份血清标本分别进行胶体金法、PCR、ELISA 两种试剂检测。结果 CLIA 检出阳性 106 份, HBsAg ELISA 试剂①(检出阳性 92 份)、试剂②(检出阳性 89 份)阳性率与 CLIA 比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); PCR 检出阳性 109 份, 与 CLIA 比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 胶体金法检出阳性标本 2 份, 与 CLIA 比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 ELISA 检测 HBsAg 结果在临界值的体检者存在 HBV 感染的可能, 对可疑标本应联合应用 PCR 或 CLIA 进一步检测。

关键词:乙型肝炎表面抗原; 聚合酶链反应; 化学发光免疫分析法; 酶联免疫吸附试验; 胶体金法
中图分类号: R446.6 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2019)14-2006-03

The explore of infected HBV risk of objects with HBsAg results near the critical value detecting by ELISA

LU Chunsheng¹, XIE Xiuhua², CAO Wenping¹, CHEN Xinchun¹, WU Jun¹, YE Baoyu¹, GAO Yijuan¹

1. Department of Blood Transfusion, University of Chinese Academy of Sciences-Shenzhen Hospital (Guangming), Shenzhen, Guangdong 518106, China; 2. Blood Type Laboratory of Baoan District Central Blood Station, Shenzhen, Guangdong 518100, China

Abstract: **Objective** To investigate the infection risk of HBV in objects with serum samples HBsAg of ELISA near the critical value (S/CO value 0.8—2.5). **Methods** Colloidal gold assay, PCR and ELISA were used to detect 127 serum samples with the same results of CLIA and ELISA (S/CO value 0.8—2.5). **Results** There were 106 positive cases detected by CLIA, 92 positive cases by HBsAg ELISA reagent①, 89 positive cases by HBsAg ELISA reagent②, these two methods had significant differences with CLIA ($P<0.05$). There were 109 positive cases detected by PCR, there was no significant difference between PCR and CLIA ($P>0.05$). Two positive samples were detected by colloidal gold method, which was significantly different from that of CLIA ($P<0.05$). **Conclusion** HBsAg results of ELISA in the critical value of the sample might infect HBV, suspicious samples should be combined with PCR or CLIA for further detection.

Key words: Hepatitis B surface antigen; polymerase chain reaction; chemiluminescent immunoassay; enzyme-linked immunosorbent assay; colloidal gold method

ELISA 检测 HBsAg 目前被广泛应用于血液筛查, 用于判断患者 HBV 的感染状况。不同试剂厂家之间使用的 HBV 基因重组抗原的质量、检测位点及包被工艺不同, 因而不同试剂的检测特异度和灵敏度不同, 导致了临床上检测结果的不一致。目前, 临床上常用 ELISA、CLIA 和胶体金法检测 HBsAg, 但 HBV 从感染到体内出现可检测的抗体有一定的“窗口期”, “窗口期”患者容易出现漏检。PCR 可直接检测 HBV DNA, 灵敏度高, 使“窗口期”大大缩短, 对进行术前检查的患者、献血人群是否感染了 HBV 能够做出快速准确诊断, 有利于用血安全, 防止医患纠纷。本研究对 128 份 ELISA 检测 HBsAg 结果在临界值的血清标本(S/CO 值 0.8~2.5)分别采用 CLIA、

ELISA、PCR 和胶体金法进行检测, 比较不同方法之间的灵敏度和特异度, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 128 份 ELISA 检测 HBsAg 结果 S/CO 值在 0.8~2.5 的血清标本来源于中国科学院大学深圳(光明)医院 2015 年 1 月至 2018 年 10 月体检者, 血清置 -80℃ 保存。

1.2 仪器与试剂 爱康全自动酶联免疫分析仪(URUNAS AE 200), 雅培化学发光仪(i2000), 罗氏 Cobas z480 扩增仪。HBsAg ELISA 试剂①(珠海丽珠试剂股份有限公司)和试剂②(北京万泰生物药业股份有限公司), HBV CLIA 试剂(雅培公司), HBV 胶体金试纸条[蓝十字生物药业(北京)有限公司],

HBV DNA 检测试剂盒(罗氏诊断,HBV V2.0)。

1.3 方法 128 份 ELISA 检测 HBsAg 结果 S/CO 值在 0.8~2.5 的标本,用 CLIA 重复检测 2 次,选取两次结果一致标本用 HBsAg ELISA 试剂①和试剂②、胶体金法和 PCR 检测,严格按说明书要求进行实验操作,比较不同方法的检测结果。CLIA 检测结果大于或等于 0.05 为阳性,小于 0.05 为阴性;ELISA 检测 S/CO 值大于或等于 1 为阳性,小于 1 为阴性;胶体金法出现肉眼可辨识检测条带为阳性,未出现条带为阴性;PCR 结果大于或等于 100 为阳性,小于 100 为阴性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。计数资料以例数或百分率表示,多组间比较采用 χ^2 检验,多组间两两比较采用 Fisher 确切概率法,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 研究标本的筛选结果 对入选的 128 份标本进行进一步的筛查,用 CLIA 重复检测 2 次,第 1 次检测阴性、阳性分别为 22、106 份,第 2 次检测阴性、阳性分别为 21、107 份,127 份标本两次检测结果一致。其中 1 份标本出现两次检测结果不一致(第 1 次检测结果为阴性,S/CO=0.04;第 2 次检测结果则为弱反应性,S/CO=0.08),本试验拟以 CLIA 为 HBsAg 检测的参考方法,为排除干扰,剔除此标本,对 CLIA 两次检测结果一致的 127 份标本进行下一步研究。

2.2 不同检测方法检测 127 份血清标本的阳性率 对 127 份血清标本采用 ELISA 试剂①和试剂②、胶体金法和 PCR 检测,见表 1。PCR 检测标本阳性份数最多,ELISA 检出阳性份数其次,胶体金法检出阳性份数只有 2 份。PCR 对 106 份 CLIA 结果阳性标本能够全部检出,从 CLIA 结果阴性标本中检测出 3 份阳性标本;ELISA 试剂①、②从 CLIA 检测阳性标本中分别检出阳性标本 90、88 份,从 CLIA 结果阴性标本中分别检出阳性标本 2、1 份,同时,这 3 份标本 PCR 检测结果阳性。胶体金法与其他几种方法检测结果比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。ELISA 试剂①和试剂②之间检测结果比较,差异无统计学意义($P=0.7502$)。

表 1 不同检测方法检测 127 份血清标本的阳性率					
方法	阳性(份)	阴性(份)	阳性率(%)	χ^2 *	P*
CLIA	106	21	83.46		
ELISA 试剂①	92	35	72.44	4.49	<0.05
ELISA 试剂②	89	38	70.08	6.38	<0.05
PCR	109	18	85.83	0.27	>0.05
胶体金法	2	125	1.57	174.23	<0.05

注:* 为与 CLIA 阳性率比较结果

3 讨 论

全球 20 亿人已感染 HBV,其中 3.5 亿至 4.0 亿

人为 HBV 携带者^[1]。慢性乙型肝炎者易发生肝脏萎缩、慢性肝炎、肝硬化和肝细胞性肝癌^[2-4]。血清学标志物 HBsAg 常作为急性或慢性乙型肝炎诊断或者判断预后的指标。乙型肝炎各阶段的血清 HBsAg 水平各不相同,与患者的年龄及 HBV DNA 水平相关^[5]。乙型肝炎主要的传播途径是血液传播(输血和血制品),其次是母婴传播,再次是密切接触传播。另外,还有医源性传播,如消毒不彻底、不安全注射等,包括使用受污染或消毒不严的针管、针头、采血器等。不断地提高 HBV 检测灵敏度,缩短检测“窗口期”,对于 HBV 感染的预防控制和输血安全等有重要意义,也有助于减少医患纠纷,让医患关系更加和谐^[6-7]。

目前,各级医院对 HBsAg 有多种检测方法,不同的方法有不同的检测性能,通常 CLIA 检出限低于 0.1 U/mL,ELISA 检出限低于 0.2 U/mL^[8],而金标法检出限低于 10 U/mL。不同厂家试剂 HBsAg 检测结果不一致,尤其是对 HBsAg 弱阳性标本,不同方法检测灵敏度不同,容易导致漏检^[9-10]。

本研究选用 S/CO 值在 0.8~2.5 的 128 份血清标本,用检测灵敏度较高的 CLIA 复检,选取复检结果一致的 127 份标本进行研究。结果显示,CLIA 检测结果阳性的标本,PCR 全部能够检出,而且有 3 份 CLIA 阴性标本也被检出了 HBV DNA 载量,其原因可能为患者处于血清学检测的“窗口期”,体内 HBsAg 水平低,但体内已经出现了病毒复制,通过 PCR 能够检测出极低量的病毒拷贝。当然,临床上也常见经过药物治疗的乙型肝炎患者,HBsAg 水平较高,但 HBV DNA 阴性的情况^[11]。在本研究中也发现,ELISA 检测灵敏度较高,但与 CLIA 差异仍有统计学意义($P<0.05$),所以建议有条件的实验室尽量采用灵敏度更好的 CLIA 检测。本研究也发现 ELISA 虽然灵敏度较 CLIA 低,两种 ELISA 试剂分别能够从 CLIA 阴性标本中检出 2 份和 1 份阳性标本,而且 PCR 也检出乙型肝炎低拷贝 DNA 含量,可以明确诊断为 HBV 携带者。CLIA 灵敏度高,出现漏检的原因可能是对 HBsAg 的某种亚型不敏感。胶体金法对于 ELISA 检测结果在临界值附近(S/CO 值 0.8~2.5)的血清标本检出能力差,与其他方法差异均有统计学意义($P<0.05$),其检出限高,对于低滴度 HBsAg 患者,漏检率高^[12],建议此方法不用于临床常规检测,但可作为临床实验室乙型肝炎初筛阳性复检的方法。目前,部分实验室未开展 CLIA,为满足临床医生对于手术前检验结果快速回报的要求,尤其是痔疮等小手术,通常会选用操作方便的胶体金法来进行术前乙型肝炎的筛查,对于一些低滴度 HBsAg 的标本存在极大的漏检风险,导致部分患者手术前检测 HBsAg 结果阴性,术后用其他方法检测结果阳性,易发

生医患纠纷。

HBsAg 也是献血人群的常规筛查项目。献血人群是一类特殊的群体,临床上应该选用灵敏度、特异性更高的方法,严格检测标准。HBsAg 在急性感染期或慢性携带状态下均可能呈阳性,献血者筛查并不能区分这两种情况。笔者建议献血人群应至少选用 ELISA 进行筛查,同时由于体内 HBsAg 的感染“窗口期”可能长达 38 d^[13],因此,对于 ELISA 检测结果 S/CO 值在临界值附近的可疑标本,应进一步用 CLIA 和 PCR 等多种方法复检,尽量缩短“窗口期”。若 CLIA 和 PCR 复检阳性则可以确认为 HBsAg 阳性或病毒携带者,若为阴性应建议受检者 1 个月后复查,检验报告须同时备注检测方法,防止可能产生的医疗纠纷。

参考文献

[1] 刘立,刘春云,杜映荣,等. HBV DNA 低水平患者的肝组织炎症活动度及相关因素分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2019,35(1):77-81.

[2] 黄英男,吴昊,沈锡中. 乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗研究进展[J]. 世界临床药物,2012,33(9):519-522.

[3] 刘钦成,刘宁,韩晓玉,等. 乙型肝炎肝硬化患者肝脏体积萎缩率及 LSM、CTP 值与 Laennec 组织病理学分级的关系[J]. 重庆医学,2018,47(14):1870-1873.

[4] 占春玲. 乙型肝炎肝硬化并发原发性肝癌危险因素 logistic 回归分析[J]. 医学临床研究,2016,33(9):1697-

1701.

[5] 邓兰. HBV 感染各阶段血清乙型肝炎表面抗原与 HBV DNA 及年龄的相关性分析[J]. 湖南师范大学学报(医学版),2017,14(3):1-4.

[6] 吴志奇,黄慧青,刘雁雁,等. 331 968 例门诊及住院患者感染性指标检测的结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015,36(15):2133-2134.

[7] 李仲平,王溪,郑优荣,等. 广州地区 HBsAg 阴性无偿献血血液输血传播 HBV 残余风险评估[J]. 广东医学, 2014,35(3):442-445.

[8] 周诚,吴星,黄维金,等. 应用 IU 标准对 HBsAg 检测试剂的分析[J]. 中国生物制品学杂志,2008,21(7):615-617.

[9] 姜宏兵,蒋菲,董清清,等. 胶体金免疫层析法急诊检测 HBsAg 漏检风险评价[J]. 检验医学与临床,2016,13(13):1750-1754.

[10] 胡晓玲,汪新民. 输血前检查 HBsAg 弱阳性结果分析[J]. 临床输血与检验,2016,18(2):180.

[11] 顾生旺,张金荣,赵兵,等. 定量检测 710 例肝病患者 HBsAg 和 HBeAg 临床意义[J]. 中国民康医学,2018,30(7):100-102.

[12] 赵艳争. 4 种方法测定低浓度 HBsAg 效果评价[J]. 河北联合大学学报(医学版),2014,16(1):58-59.

[13] KLEINMAN S H,BUSCH M P. Assessing the impact of HBV NAT on window period reduction and residual risk [J]. J Clin Virol,2006,36(1):S23-S29.

(收稿日期:2019-01-10 修回日期:2019-04-02)

(上接第 2005 页)

analysis[J]. Optics Express,2011,19(14):13565.

[14] REYES-GODDARD J M,BARR H,STONE N. Surface enhanced Raman scattering of herpes simplex virus in tear film[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther,2008,5(1): 42-49.

[15] PICHARDO-MOLINA J L,FRAUSTO-REYES C,GARCIA O B,et al. Raman spectroscopy and multivariate analysis of serum samples from breast cancer patients[J]. Las Med Sci,2007,22(4):229-236.

[16] ZHENG X, LV G, DU G, et al. Rapid and low-cost detection of thyroid dysfunction using raman spectroscopy and an improved support vector machine[J]. IEEE Photonics J,2018,10(6):1-12.

[17] DEPCIUCH J, SOWAKUCMA M, NOWAK G, et al. Phospholipid-protein balance in affective disorders: analysis of human blood serum using Raman and FTIR spectroscopy. A pilot study[J]. J Pharmaceut Biomed,2016, 131:287-296.

[18] ALMEIDA M L D, SAATKAMP C J, FERNANDES A B, et al. Estimating the concentration of urea and creatinine in the human serum of normal and dialysis patients through Raman spectroscopy[J]. Las Med Sci,2016,31

(7):1415-1423.

[19] LI X, YANG T, LI S, et al. Different classification algorithms and serum surface enhanced Raman spectroscopy for noninvasive discrimination of gastric diseases[J]. J Raman Spectrosc,2016,47(8):917-925.

[20] RUI X, ZHANG X, ZHEN R, et al. Non-invasive detection of hepatocellular carcinoma serum metabolic profile through surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Nanomed Nanotechnol Med,2016,12(8):2475-2484.

[21] LIN J, JING W, XU C, et al. Differentiation of digestive system cancers by using serum protein-based surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. J Raman Spectrosc, 2017,48(1):16-21.

[22] CHENG J Y, XU L, LU G D, et al. Study on the echinococcosis blood serum detection based on Raman spectroscopy combined with neural network [J]. Optoelectron Lett,2017,13(1):77-80.

[23] ARTEMYEV D N, ZAKHAROV V P, DAVYDKIN I L, et al. Measurement of human serum albumin concentration using Raman spectroscopy setup[J]. Opt Quant Electron,2016,48(6):1-8.

(收稿日期:2019-01-10 修回日期:2019-04-08)