

不同检测方法对低水平乙型肝炎表面抗原的测定及其临床评估

费春荣,叶爱青,张 钧

(浙江大学医学院 附属邵逸夫医院检验科,浙江 杭州 310016)

[摘要] **目的:**探讨免疫发光、电化学免疫发光、ELISA 三种方法对检测低水平乙型肝炎表面抗原的价值。**方法:**以免疫发光测试系统 Architect i2000 检测结果为参考,把 70 例 < 50 IU/ml 的标本分成三个级别: < 1 ng/ml、 $1 \sim 5$ ng/ml、 ≥ 5 ng/ml 三组,用电化学免疫发光 MODULAR<E>170、ELISA 检测,对三种方法测定的结果进行比较。**结果:**免疫发光 Architect i2000 与电化学免疫发光 MODULAR<E>170 比较, < 1 ng/ml 组符合率 79.2% ($P > 0.05$), $1 \sim 5$ ng/ml 组符合率 100%, ≥ 5 ng/ml 组符合率 100%。免疫发光 Architect i2000 与 ELISA 比较, < 1 ng/ml 组符合率 0%, $1 \sim 5$ ng/ml 组符合率 45.5% ($P < 0.05$), ≥ 5 ng/ml 组符合率 100%。**结论:**免疫发光 Architect i2000 与电化学免疫发光 MODULAR<E>170 对低水平 HBsAg 的检测效能基本一致,结果相对可靠,常规 ELISA 法对 ≥ 5 ng/ml 的 HBsAg 检测结果可靠,但对低水平 HBsAg 漏检率高,特别是 < 1 ng/ml HBsAg 很难检出。

[关键词] 肝炎表面抗原,乙型/分析;酶联免疫吸附测定/方法;乙型肝炎表面抗原;免疫发光测定;电化学免疫发光测定;ELISA

[中图分类号] R 512.62 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2011)04-0436-04

Evaluation of different methods in determination of low level HBsAg

FEI Chun-rong, YE Ai-qing, ZHANG Jun (Department of Clinical Laboratory, Sir Run Run Shaw Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate chemiluminescent immunoassay (CLIA), electrochemiluminescent immunoassay (ECLIA) and ELISA in determination of low level HBsAg. **Methods:** According to the standard of CLIA Architect i2000, 70 samples were divided into three groups by HBsAg concentration: < 1 ng/ml, $1 \sim 5$ ng/ml and ≥ 5 ng/ml. The samples were also determined by ECLIA MODULAR <E> 170 and ELISA, and the results were compared with those measured by CLIA Architect i2000. **Results:** The concordance rates of ECLIA MODULAR <E> 170 with Architect i2000 was 79.2% for < 1 ng/ml group, 100% for $1 \sim 5$ ng/ml group, 100% for ≥ 5 ng/ml group. And the concordance rates of ELISA with Architect i2000 was 0% for < 1 ng/ml group, 45.5% for $1 \sim 5$ ng/ml group and 100% for ≥ 5 ng/ml group. **Conclusion:** For determination of low level HBsAg, CLIA Architect i2000 and ECLIA MODULAR <E> 170 have high credibility. ELISA is also credible when HBsAg ≥ 5 ng/ml, but not for low level HBsAg, especially for HBsAg < 1 ng/ml.

收稿日期:2010-05-07 修回日期:2010-08-25

作者简介:费春荣(1976-),男,学士,主管检验师,从事检验医学。

通讯作者:张钧(1974-),男,博士,副主任检验师,从事检验医学;E-mail:jameszhang2000@163.com

[**Key words**] Hepatitis B surface antigens/anal; Enzyme-linked immunosorbent assay/methods; Hepatitis B surface antigen (HBsAg); Chemiluminescent immunoassay (CLIA); Electrochemiluminescent immunoassay(ECLIA); ELISA

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2011,40(4):436-439.]

乙型肝炎是一种严重危害人类健康的世界性传染病,部分患者可转为慢性感染,甚至发展为肝硬化或肝癌,其危害远远大于其他类型肝癌。HBsAg 是乙型肝炎病毒感染和疗效观察的主要标志物之一。有资料显示,低水平 HBsAg 携带者在人群中占有不小的比例,正常人群 HBsAg 水平在 5 ng/ml 以下者占 2.34%^[1]。有人进一步对 HBsAg 阳性人群进行研究发现,HBsAg 质量浓度在 5 ng/ml 以下者占阳性人群的 13.5%,其中 HBsAg 质量浓度在 1 ng/ml 以下者占阳性人群的 8.4%,占低水平感染者的 61.9%^[2]。因此,对低水平的 HBsAg 有效检测,在临床诊断、治疗以及流行病学调查中具有重要意义。也因为如此,选择合适的方法来检测 HBsAg 显得十分重要。我们选择已在国内应用较多的三种方法:①美国雅培公司 Architect i2000 自动化免疫发光分析仪(CMIA 法),②德国罗氏公司模块电化学发光免疫分析系统 MODULAR(E)170 (ECLIA 法),③ELISA 法,对临床 70 例标本进行测定,并进行比较和评价。

1 材料和方法

1.1 标本来源 收集 2009 年 5 月 - 2009 年 12 月本院门诊和病房患者血清标本,检测 0.05 IU/ml < HBsAg < 50 IU/ml 病例共 70 例,分离血清, - 20℃ 冷冻保存待检。此 70 例标本的测定值均为雅培 Architect i2000 的测定结果,且重复测定两次值均 0.05 IU/ml < HBsAg < 50 IU/ml。同时收集 HBsAg < 0.05 IU/ml 血清标本 50 例,即雅培 Architect i2000 测定为阴性的标本 50 例,分离血清, - 20℃ 冷冻保存待检。

1.2 试剂

1.2.1 Architect i2000 检测血清 HBsAg 试剂为美国雅培 Architect i2000 自动化免疫发光分析仪随机试剂及标准品和质控品。

1.2.2 MODULAR(E)170 检测血清 HBsAg 试剂 为德国罗氏公司模块电化学发光免疫分析系统 MODULAR(E)170 随机试剂及标准品和质控品。

1.2.3 ELISA 检测方法试剂 由上海科华实业技术有限公司生产。

1.2.4 1 ng/ml、5 ng/ml HBsAg 定值参比血清 由卫生部临检中心提供,批号为 0912。

1.3 仪器 Architect i2000 自动化免疫发光分析仪(美国 ABBOTT 公司),MODULAR(E)170 模块电化学发光免疫分析系统(德国罗氏公司),酶标仪(Elx 800),洗板机(Elx 50)。

1.4 方法

1.4.1 Architect i2000 采用化学发光微粒子免疫分析(CMIA)技术,测定血清中 HBsAg。结果报告方式:HBsAg 为定量分析,并以浓度 ≥ 0.05 IU/ml 为阳性。所有阳性标本用中和试验证实。

1.4.2 MODULAR(E)170 采用电化学发光免疫分析(ECLIA)技术,测定血清中 HBsAg。结果报告方式:HBsAg 以标本相对光强度单位(RLU)与临界质控相对光强度单位之比(S/CO) ≥ 1.0 为阳性。

1.4.3 ELISA 法检测血清 HBsAg,采用双抗体夹心法。结果报告方式:HBsAg 以样本 OD 值与阴性对照 OD 值之比 ≥ 2.1 为阳性。

以上三种方法的详细操作方法和原理参照各自的说明书。

1.5 结果比较和数据处理 我们在实验中以雅培 Architect i2000 测定结果为参照,并设置 1 ng/ml、5 ng/ml 定值血清的对照,分别测定三次,取平均值。在 Architect i2000 上 1 ng/ml 定值血清测定平均值为 0.72 IU/ml,5 ng/ml 定值血清测定平均值为 4.77 IU/ml。我们将低水平 HBsAg 分为两个级别,第一级别为 < 1 ng/ml,第二级别为 1 ng/ml 到 5 ng/ml 之间。因此,70 例 Architect i2000 测定结果为 0.05 IU/ml <

HBsAg < 50 IU/ml 的标本被分成三组,低水平的两组以及 >5 ng/ml 的一组,再用 MODULAR〈E〉170 和 ELISA 法进行测定。同样,Architect i2000 测定为阴性(即 HBsAg < 0.05 IU/ml)的 50 例标本,也用 MODULAR〈E〉170 和 ELISA 法进行测定。统计分析采用 SPSS 13.0 统计软件进行配对 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 以雅培 Architect i2000 测定结果为参照,

MODULAR〈E〉170 测定各组结果见表 1。
2.2 以雅培 Architect i2000 测定结果为参照,ELISA 方法测定各组结果如表 2。
2.3 鉴于表 1、2,有必要对 Architect i2000 和 MODULAR〈E〉170 在总 120 例标本与 <1 ng/ml 组 24 例标本两种方法测定结果做四格表配对 χ^2 检验。同样,对 Architect i2000 和 ELISA 方法在总 120 例标本与 1~5 ng/ml 组 22 例标本两种方法测定结果作四格表配对 χ^2 检验。结果见表 3。

表 1 MODULAR〈E〉170 测定各组结果

i2000 组别	i2000 各组测定例数	〈E〉170 测定		符合率/%
		阴性数	阳性数	
阴性组	50	49	1	98
<1 ng/ml 组	24	5	19	79.2
1~5 ng/ml 组	22	0	22	100
≥5 ng/ml 组	24	0	24	100

表 2 ELISA 方法测定各组结果

i2000 组别	i2000 各组测定例数	ELISA 测定		符合率/%
		阴性数	阳性数	
阴性组	50	48	2	96
<1 ng/ml 组	24	24	0	0
1~5 ng/ml 组	22	12	10	45.5
≥5 ng/ml 组	24	0	24	100

表 3 三种不同检测方法的配对 χ^2 检验结果

方 法	χ^2 检验的组别	χ^2	$\chi^2_{0.05,1}$	P	χ^2 检验结果
i2000/〈E〉170	总 120 例标本	1.5	3.84	>0.05	无显著差别
	<1 ng/ml 组	1.5	3.84	>0.05	无显著差别
i2000/ELISA	总 120 例标本	28.7	3.84	<0.05	有显著差别
	1~5 ng/ml 组	5.8	3.84	<0.05	有显著差别

3 讨 论

目前,对 HBsAg 弱阳性的研究报道较少,

这应引起临床的重视^[3-4]。有报道^[5-7]认为,HBsAg 低值弱阳性的 HBV 感染,可能与 HBsAg 低水平表达、HBV 的整合、含 HBV 循环免疫复

合物的形成等有关,并与来自宿主方面的诸多因素有关。低浓度的 HBsAg 的出现,可作为乙肝的早期感染的标志。因此,检测并报告低浓度的 HBsAg,具有重要的流行病学和临床意义。

我们以美国雅培 Architect i2000 自动化免疫发光分析仪的测定结果(≥ 0.05 IU/ml 的血清标本经中和试验证实)为参考,与电化学免疫发光测定 Roche MODULAR $\langle E \rangle$ 170 和 ELISA 方法进行比较分析。结果显示免疫发光测定 Architect i2000 与电化学免疫发光 MODULAR $\langle E \rangle$ 170 在测定低水平 HBsAg 上无显著差别,在 < 1 ng/ml 组,两者符合率为 79.2% ($P > 0.05$); $1 \sim 5$ ng/ml 组和 ≥ 5 ng/ml 组符合率都为 100%。Architect i2000 与 ELISA 法在测定低水平 HBsAg 有显著差别 ($P < 0.05$),两种方法在 < 1 ng/ml 组符合率为 0%, $1 \sim 5$ ng/ml 组符合率为 45.5%; ≥ 5 ng/ml 组符合率为 100%。研究初步表明,在高浓度 HBsAg,即 ≥ 5 ng/ml 时,这三种方法有很高的符合率,结果一致。而在低水平 HBsAg 检测时,Architect i2000 与 MODULAR $\langle E \rangle$ 170 显示了很高的灵敏度,且两种方法之间的符合率也很高。ELISA 方法检测灵敏度相对较低,在 HBsAg < 1 ng/ml 时,很难检出, $1 \sim 5$ ng/ml 之间的 HbsAg 也有 54.5% 的漏检率。

筛选试验是传染病(例如艾滋病、乙肝等)控制的重要措施,特别强调灵敏度。乙肝是我国第一大传染病,提高筛选灵敏度,对有效切断通过输血、手术等途径传播、蔓延意义重大。最近国家权威部门调查显示,我国成年人群乙肝感染率下降不明显,主要原因是对传播途径控制不严所致。我们认为,临床对 HBsAg 的筛选,特别是低水平 HBsAg 检测,采用免疫发光测定或者电化学免疫发光定量方法为佳。

References:

[1] CHEN Yu,ZHONG Bu-yun,XU Geng-yun,et al(陈瑜,钟步云,徐根云,等). Determination of low level HBsAg in serum by MEIA [J]. **Chinese Journal of Laboratory Medicine** (中华检验医学杂志),2001,24(1):39-41. (in Chinese)

[2] LI Jun,ZANG Gui-zheng,LI He-lin,et al(李君,臧桂珍,李鹤林,等). Clinical evaluation of low level HBsAg and HBeAg in serum [J]. **Journal of Southeast University: Medical Science Edition** (东南大学学报:医学版),2003,22(1):41-43. (in Chinese)

[3] COURSAGET P,YVONNET B,BOURDIL C,et al. HBsAg positive reactivity in man not due to hepatitis B virus [J]. **Lancet**,1987,2(8572):1354-1358.

[4] LI Jin-ming(李金明). Attention to the confirmative tests of weak reactive samples should be paid in serological testing for infectious diseases [J]. **Chinese Journal of Laboratory Medicine** (中华检验医学杂志),2006,29(7):577-580. (in Chinese)

[5] HU K Q. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications [J]. **J Viral Hepat**,2002,9(4):243-257.

[6] HOU J,WANG I,CHENG J,et al. Prevalence of naturally occurring surface gene variants of hepatitis B virus in nonimmunized surface antigen negative Chinese carriers [J]. **Hepatology**,2001,34(5):1027-1034.

[7] CHEN Jun,SUN Chang-gui,CHEN Yu,et al(成军,孙长贵,陈瑜,等). Relationship between the quantitative results of HBV DNA and HBV Markers (HBV M) in population with low-level HBsAg [J]. **Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology** (细胞与分子免疫学杂志),2009,25(7):631-636. (in Chinese)

[责任编辑 张荣连]