

ELISA 法检测 HBsAg(CMIA)低值血清样本的结果分析*

邓安彦¹,蔡艳娟²,周守容¹,王强^{2,3},王东升²,张国元²,凡瞿明²,郭晓兰^{2,3}(1. 南充市中心医院输血科,四川南充 637000;2. 川北医学院附属医院检验科,四川南充 637000;
3. 川北医学院医学检验系,四川南充 637000)

摘要:目的 通过对 HBsAg 低值血清样本的检测,评价 ELISA 方法的检测性能。方法 收集化学发光法(CMIA)检测结果为 0.05~9.99 IU/ml 的 HBsAg 低值血清样本 305 份,采用 ELISA 方法进行复孔检测。结果 HBsAg 低值样本占 HBsAg 阳性样本的 18.12%,主要分布于中老年人群。ELISA 方法的总检出率为 87.87%,其中 0.05~0.11,0.12~0.20,0.21~0.50,0.51~1.00,1.01~5.00 IU/ml 和 5.01~9.99 IU/ml 水平的检出率分别为 36.00%,61.11%,78.38%,84.62%,99.11%和 100.00%,各水平检出率之间差异有明显统计学意义($\chi^2=99.84, P=0.000$)。ELISA 方法检测 HBsAg 低值样本的 S/CO 结果与 CMIA 方法检测结果存在较高的相关性($r=0.874, P=0.000$)。结论 ELISA 方法检测 HBsAg 低值血清存在漏检的情况,临床实验室应根据实验目的合理选择实验方法。

关键词:酶联免疫吸附试验;化学发光法;乙肝表面抗原;低值

中图分类号:R446.61;R512.62 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2015)02-123-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2015.02.038

Analysis of the Results of ELISA by Detecting Low Quantitative HBsAg(CMIA) in Serums

DENG An-yan¹, CAI Yan-juan², ZHOU Shou-rong¹, WANG Qiang^{2,3},
WANG Dong-sheng², ZHANG Guo-yuan², FAN Qu-ming², GUO Xiao-lan^{2,3}(1. Department of Clinical Transfusion, Nanchong Central Hospital,
Sichuan Nanchong 637000, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Affiliated Hospital
of North Sichuan Medical College, Sichuan Nanchong 637000, China; 3. Faculty of
Laboratory Medicine, North Sichuan Medical College, Sichuan Nanchong 637000, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the performance of ELISA by detecting low quantitative HBsAg in serums. **Methods** 305 serum samples that the quantitation range was from 0.05 IU/ml to 9.99 IU/ml were collected, and then detected by ELISA. **Results** The rate of patients with low quantitation of HBsAg was 18.12% in patients with positive HBsAg. The total detected rate of ELISA was 87.87%, and the rate of 0.05~0.11, 0.12~0.20, 0.21~0.50, 0.51~1.00, 1.01~5.00 IU/ml and 5.01~9.99 IU/ml were 36.00%, 61.11%, 78.38%, 84.62%, 99.11% and 100.00%, respectively. The differences were statistically significant between the detected rates of each group ($\chi^2=99.84, P=0.000$). There was high correlation coefficient between the results detected by ELISA and by CMIA ($r=0.874, P=0.000$). **Conclusion** The clinical laboratory should be careful to apply the method of ELISA to detect HBsAg for its missing detection in samples with low quantitation of HBsAg.

Keywords: ELISA; chemiluminescent immunoassay; hepatitis B virus surface antigen; low quantitation

临床常使用 HBsAg 的定量结果变化情况来看评价 HBV 疗效和转归^[1,2],因此作为乙型肝炎病毒感染最为重要的血清标志物,HBsAg 检测的准确性对于受检者来说至关重要。对于 HBsAg 的检测,ELISA 方法具有简便、快速以及成本低的优点而被广泛运用,但因该方法的灵敏度不高,可能会造成一些低值样本的漏检^[3,4]。本研究通过收集经化学发光法(CMIA)检测的 HBsAg 低值样本 305 份,运用 ELISA 方法再次进行检测及结果分析,从而了解 ELISA 方法检测 HBsAg 低值血清

样本的检测能力,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集自 2012 年 11 月~2013 年 4 月期间,南充市中心医院住院病人需输血进行 HBsAg 常规检测的低值血清样本 305 份(CMIA 法检测 HBsAg 定量结果为 0.05~9.99 IU/ml)。男性 177 份,女性 128 份,年龄 1~92 岁,平均年龄 49 岁。

1.2 仪器与试剂 Abbott Architect i2000 免疫分析仪以及配套的 HBsAg 试剂盒(美国雅培公司

* 作者简介:邓安彦(1972-),男,学士学位,副主任技师,主要从事临床输血检验与相关检验、技术教学与管理工
作,E-mail:331401181@qq.com。
通讯作者:郭晓兰,女,教授,主要从事临床免疫学检验与研究,E-mail:alan5200@hotmail.com。

产品), HBsAg ELISA 试剂盒(北京万泰生物药业股份有限公司产品), 酶标仪和洗板机(郑州安图实验仪器有限公司产品)。

1.3 检测方法 所有收集的血清样本均保存于一80℃低温冰箱中直至分析。取出待检样本置于37℃水浴箱中至完全融化混匀, 运用 ELISA 方法进行样本 HBsAg 检测, 检测过程中严格按照试剂盒说明书进行, 每份样本均进行复孔检测, 计算每份样本的 S/CO 均值, 以 S/CO 均值>1 时判断为样本 HBsAg 阳性。当样本复孔的 S/CO 结果不相符时, 则进行复检, 结果判断以复检为准。

1.4 统计学分析 运用 SPSS13.0 统计软件进行统计学处理。多组间的阳性率比较采用 R×C 表卡方检验, 两种方法检测结果的相关性采用 Spearman 秩相关分析, $P<0.01$ 为差异有统计学显著性意义。

2 结果

2.1 HBsAg 低值血清样本的分布特征 住院需输血的病人检测的 HBsAg 总阳性率约为 8.49% (1 683/19 830), HBsAg 低值样本占 HBsAg 阳性样本的 18.12% (305/1 683), 不同水平和不同年龄阶段分布特征见表 1。

表 1 HBsAg 不同低值水平与不同年龄阶段的分布情况[n(%)]

HBsAg(IU/ml)	比例	年龄(岁)	比例
0.05~0.10	25(8.20)	1~20	12(3.93)
0.12~0.20	18(5.90)	21~40	86(28.20)
0.21~0.50	37(12.12)	41~60	128(41.97)
0.51~1.00	39(12.79)	≥61	79(25.90)
1.01~5.00	112(36.72)		
5.01~9.99	74(24.26)		

2.2 ELISA 法检测 HBsAg 不同低值水平的检出率比较 见表 2。ELISA 方法检测 HBsAg 低值样本的总检出率为 87.87%, HBsAg 不同低值水平的检出率之间比较, 差异有统计学意义($\chi^2=99.84, P=0.000$)。

表 2 ELISA 方法检测 HBsAg 不同低值水平的检出率比较

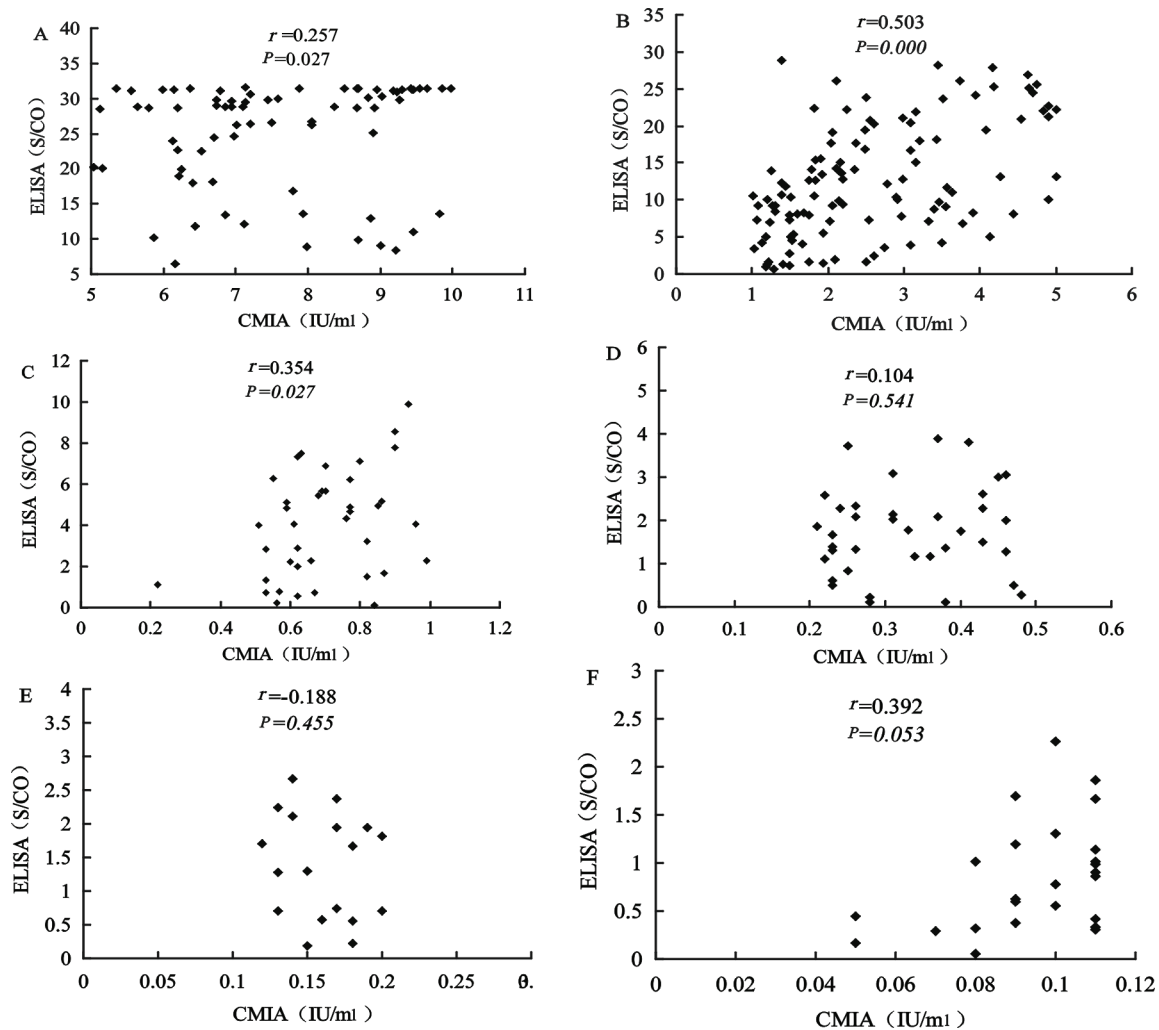
HBsAg(IU/ml)	n	检出率[n(%)]
0.05~0.10	25	9(36.00)
0.12~0.20	18	11(61.11)
0.21~0.50	37	29(78.38)
0.51~1.00	39	34(87.18)
1.01~5.00	112	111(99.11)
5.01~9.99	74	74(100.00)

2.3 ELISA 与 CMIA 检测 HBsAg 低值结果相关性分析 CMIA 法检测 HBsAg 结果在 0.05~9.99 IU/ml 范围内时, ELISA 方法检测 HBsAg 的 S/CO 值与 CMIA 方法检测结果呈高度相关(r

$=0.874, P<0.001$), 其中 HBsAg 相关性最好的水平为 1.01~5.00 IU/ml ($P<0.001$), 而当 CMIA 方法检测 HBsAg 的结果<0.51 IU/ml 时, 两种方法的检测结果基本不存在相关性, 见图 1。

3 讨论 ELISA 是检测 HBsAg 非常重要的方法之一, 然而随着国家对血液制品安全要求越来越严格, 同时临床通常将 HBsAg 的血清学转换作为抗乙型肝炎病毒治疗的最根本目标^[1,5], 受灵敏度和重复性方面的局限, ELISA 方法越来越不能满足实验室的要求。但由于该方法具有简便、快速以及成本低的优点, 许多临床实验室仍然采用该方法进行 HBsAg 的检测。因此有必要了解 ELISA 的检测性能, 从而给实验室工作人员提供数据参考。

化学发光法的灵敏度相对来说较 ELISA 法高, 而雅培试剂盒说明书给定的 HBsAg 阳性判断标准为 ≥ 0.05 IU/ml, 因此, 本实验直接收集 HBsAg 定量检测结果为 0.05~9.99 IU/ml 的低值血清样本作为实验对象以评价 ELISA 方法对于 HBsAg 低值样本的检测性能。本次实验所有样本的乙肝血清学模式均为 HBsAg, HBeAg 和 HBcAb 阳性或 HBsAg, HBeAb 和 HBcAb 阳性, 同时对经雅培化学发光法检测 HBsAg 结果为 0.05~0.50 IU/ml 的 80 份病例均进行了流行病学调查, 该范围人群均单独或同时存在 HBV 感染史和输血史, 保证了纳入实验人群的可靠性。本次实验得出在我院进行输血免疫检测人群 HBsAg 的阳性率为 8.49%, 略高于 2008 年卫生部公布的我国 1~59 岁人群 HBsAg 携带率 7.18%^[6], 该差异可能与地区差异和纳入人群的年龄范围不同有关。通过实验发现 ELISA 方法在血清 HBsAg 含量较低的情况下存在较高的漏检率, 而随着 HBsAg 含量的不断增高, ELISA 方法的漏检率逐渐降低, 当 HBsAg ≥ 5.01 IU/ml 时, ELISA 方法基本不存在漏检的情况, 由此结合 HBsAg 低值样本在 HBsAg 阳性样本中所占比例, 可以得出 ELISA 方法检测 HBsAg 阳性样本的漏检率大约为 2.20%。通过相关性分析发现, 当 HBsAg 含量范围为 1.01~5.00 IU/ml 时, 两种方法检测低值样本 HBsAg 相关性较好, 在该浓度范围两端, 随着浓度的增加或降低, 相关性逐渐降低, 同时 HBsAg 含量在 5.01~9.99 IU/ml 范围时, 有 16.22% 的样本吸光度值超出常规酶标仪的测量范围, 间接表明 ELISA 方法用于半定量检测时测量范围较窄, 仅适用于对常规体检人群的定性检查, 而不适用于 HBV 治疗效果的评估。因此, 临床实验室在检测 HBsAg 时, 应根据不同的实验目的合理选择实验方法。



B 图为 1.01~5.00 IU/ml 水平两种方法的相关性分析;C 图为 0.51~1.00 IU/ml 水平两种方法的相关性分析;D 图为 0.21~0.50 IU/ml 水平两种方法的相关性分析;E 图为 0.12~0.20 IU/ml 水平两种方法的相关性分析;F 图为 0.05~0.11 IU/ml 水平两种方法的相关性分析。

图 1 不同水平两种方法的相关性分析

参考文献:

- [1] Ruan P, Xu SY, Zhou BP, et al. Hepatitis B surface antigen seroclearance in patients with chronic hepatitis B infection; a clinical study[J]. J Int Med Res, 2013, 41(5):1732-1739.
- [2] Weng M, Zeng WZ, Wu XL, et al. Quantification of serum hepatitis B surface antigen in predicting the response of pegylated interferon alfa-2a in HBeAg-positive chronic hepatitis B with prior lamivudine exposure[J]. Virol J, 2013, 10(1):277-281.
- [3] 任丽民, 邓芳, 余明杰, 等. 化学发光对 ELISA 检测 HBsAg“灰区”标本的再分析探讨[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(5):434-435.
Ren LM, Deng F, Yu MJ, et al. Reanalysis of the results of hepatitis B surface antigen by the method of chemiluminescent immunoassay[J]. Lab Med Clin, 2010, 7(5):434-435.
- [4] 王力达, 马悦, 刘牟林, 等. 不同方法检测乙肝表面抗原的结果分析[J]. 临床输血与检验, 2013, 15(1):42-44.
- [5] Wang LD, Ma Y, Liu ML, et al. Analysis of the results of Hepatitis B surface antigen detected by different methods[J]. Journal of Clinical Transfusion and Laboratory Medicine, 2013, 15(1):42-44.
- [6] Hsu CW, Yeh CT. Emergence of hepatitis B virus S gene mutants in patients experiencing hepatitis B surface antigen seroconversion after peginterferon therapy[J]. Hepatology, 2011, 54(1):101-108.
- [7] 叶波, 杨大干, 郑书发, 等. 住院患者 HBV 血清标志物筛查 70 582 例结果回顾性分析[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(10):918-923.
- [8] Ye B, Yang DG, Zheng SF, et al. Retrospective analysis of hepatitis B virus serological markers in 70 582 inpatients[J]. Clin J Lab Med, 2010, 33(10):918-923.

收稿日期:2014-04-09

修回日期:2015-01-11