

体检人群乙型肝炎表面抗原检测弱反应的临床研究

林 国 (浙江省玉环县人民医院检验科 317600)

【摘要】 目的 探讨体检人群乙型肝炎表面抗原检测中弱反应的原因与应对措施。**方法** 采集 2008 年 12 月至 2009 年 5 月来本院健康体检人群血清 1 052 例,应用酶联免疫法检测乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg),吸光度值(A)在 0.07 至 0.2 之间判读为弱反应,对弱反应样本作双份复检,复检双孔阴性报阴性,复检双孔阳性报阳性,复检双孔一阴一阳加做确认试验,同时对全部弱反应样本进行 HBV-DNA 检测。**结果** 体检人群 1 052 例血清标本中有 41 例标本为弱反应,复检双孔为阴性有 15 例,复检双孔阳性有 17 例,需加做确认试验有 9 例,其中有 5 例确认试验抑制率大于 50% 确认为阳性,其余 4 例抑制率小于 50% 确认为阴性。复检阳性和确认试验阳性的 22 例标本 HBV-DNA 检测中有 18 例其拷贝数大于 10^3 copy/mL,且均在 $10^3 \sim 10^4$ copy/mL 之间,其余 4 例拷贝数小于 10^3 copy/mL。复检阴性和确认试验阴性的 19 例标本 HBV-DNA 检测其拷贝数均小于 10^3 copy/mL。**结论** 影响 HBsAg 检测因素众多,当 HBsAg 检测为弱反应时,应进行复查和确认试验排除内外源性干扰因素,临床实验室应重视对 HBsAg 检验中弱反应性标本的确认及报告,尤其是关系到献血、征兵体检时。

【关键词】 乙型肝炎表面抗原; 体检人群; 弱反应; 确认试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.22.018

中图分类号:R446.62

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2010)22-2470-02

Clinical analysis on weak reaction of hepatitis B surface antigen detection in health examination group LIN Guo. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Yuhuan, Zhejiang 317600, China

【Abstract】 Objective To study the causes and countermeasures of weak reaction of hepatitis B surface antigen detection in the health examination group. **Methods** Serum samples were obtained from 1 052 health examination cases from December 2008 to May 2009, and the serum samples were analyzed by using EIA commercial HBsAg kits. At the same time, OD between 0.07 and 0.2 was identified as weak reaction. And weak reactive samples were taken for double test, with the double negative test being identified as negative and double positive test being identified as positive. While one negative and one positive retest was added with confirmative tests, HBV-DNA of all the weak reactive samples was detected. **Results** 41 cases within 1 052 health examination persons were weak reactive samples, in which 15 samples were double negative retest, 17 samples of double positive retest, and 9 samples need confirmative test, among which 5 cases were identified as positive, with the inhibition rate being more than 50%. The other 4 cases showed negative, with the inhibition rate being less than 50%. The HBV-DNA copies of 18 within 22 positive samples of the retest or confirmative test were more than 10^3 copy/mL, all between $10^3 - 10^4$ copy/mL, and the HBV-DNA copies of other 4 samples were lower than 10^3 copy/mL. At the same time, HBV-DNA copies of 19 negative samples of retests or confirmative test was lower than 10^3 copy/mL. **Conclusion** There are many factors that affect the detection of HbsAg. When HBsAg samples were identified as weak reactive, so we should do retest or confirmative test to exclude the interference factors of exogenous and endogenous. And clinical laboratory should pay more attention to verifying and reporting HBsAg samples which was weak reactive, especially those relating to the blood donation and recruitment examination.

【Key words】 hepatitis B surface antigen; HBsAg; health examination group; weak reaction; confirmative tests

目前,随着人们对自身的健康状况越来越重视,到医院体检的人数和体检的项目也不断增加。HBsAg 检测是最常规的体检项目之一,其结果的准确性显得尤为重要。国内大多数临床检验实验室进行 HBsAg 血清学检测最为常用的方法是酶联免疫法,按照试剂盒说明当检测信号吸光度值(A)超出试剂盒设定的阳性判断值时,即判为阳性,反之则判为阴性。由于影响酶联免疫测定的因素有很多,这样报告对于强反应性和明显阴性的标本,造成错误结果的可能性较小,但对处于阳性判断值周围的弱反应性标本则可能影响较大,就可能会产生假阳

性或假阴性的结果,这些结果可能会影响体检人群身心健康,还可能引发不必要的医疗纠纷。因此,临床实验室要重视对感染性疾病血清学标志物检验中弱反应性标本的确认及报告解释。笔者对 2008 年 12 月至 2009 年 5 月来本院体检的 HBsAg 检测弱反应的标本进行相关分析和处理,现报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料 采集 2008 年 12 月至 2009 年 5 月来本院体检人群血清 1 052 例,对 HBsAg 检测为弱反应的体检人群询问相关病史。

1.2 方法

1.2.1 HBsAg 检测 采用乙型肝炎病毒表面抗原诊断试剂盒(酶联免疫法),仪器为 Thermo 酶标仪,试剂由上海科华生物公司提供,按仪器和试剂说明书操作。本文参照陈慧英^[1]的研究,酶标仪测得吸光度值(A)小于 0.07 为阴性,大于 0.2 为阳性,在 0.07~0.2 之间判读为弱反应,对弱反应样本作双例复检,复检双孔阴性报阴性,复检双孔阳性报阳性,复检双孔一阴一阳加做确认试验。

1.2.2 确认试验 确认试验参照方筠等^[2]的研究方法,确认试验抑制率大于 50%确认为阳性,抑制率小于 50%确认为阴性,确认试剂由珠海丽珠公司提供,按说明书操作。

1.2.3 HBV-DNA 检测 全部弱反应样本进行 HBV-DNA 检测,采用荧光定量聚合酶链反应(PCR),仪器为 ROCHE Lightcycler 荧光定量 PCR 仪,试剂由上海复星长征医学科学有限公司提供,按试剂和仪器说明操作。

1.4 统计学方法 采用 SPSS11.5 统计软件,率的比较采用卡方检验,检验水准取 $\alpha=0.05$ (双侧检验)。

2 结 果

2.1 HBsAg 检测弱反应率 在 1 052 例血清样本中有 41 例(3.9%)为弱反应标本,其吸光度值(A)在 0.07~0.1 之间有 11 例,0.1~0.13 之间有 8 例,0.13~0.16 之间有 12 例,0.16~0.20 之间有 10 例。弱反应标本中有 9 例复检双孔一阴一阳需加做确认试验(见表 1),其中有 5 例确认试验抑制率大于 50%确认为阳性,有 4 例确认试验抑制率小于 50%确认为阴性。

表 1 弱反应标本复检及确认试验结果(n)

吸光度值 (A)	复检 双阴性	复检 双阳性	确认 试验阴性	确认 试验阳性
0.07~0.10	9	0	2	0
0.10~0.13	4	1	1	2
0.13~0.16	1	8	1	2
0.16~0.20	1	8	0	1
总计	15	17	4	5

2.2 HBV-DNA 检测 所有弱反应标本均采用 PCR 进行 HBV-DNA 检测,检测结果有 19 例 HBsAg 检测阴性的标本其 HBV-DNA 检测拷贝数均小于 10^3 copy/mL,HBsAg 检测阳性的 22 例标本 HBV-DNA 检测中有 18 例其拷贝数均大于 10^3 copy/mL,且均在 $10^3 \sim 10^4$ copy/mL 之间,其余 4 例拷贝数均小于 10^3 copy/mL,结果见表 2。

表 2 HBsAg 与 HBV-DNA 检测结果比较(n)

HBV-DNA 拷贝数 (copy/mL)	复检 双阴性	复检 双阳性	确认 试验阴性	确认 试验阳性
$<10^3$	15	2	4	2
$10^3 \sim 10^4$	0	15	0	3
总计	15	17	4	5

3 讨 论

HBsAg 的检测结果对于献血、征兵、临床诊断都具有重要

意义,其结果的准确性显得尤为重要。对于体检人群 HBsAg 的报告更应谨慎,弱反应标本产生的假阳性结果造成的误诊,可能会影响体检人群身心健康。因此,对这些弱反应标本的处理和报告必须引起检验工作者的重视。

本研究采集 2008 年 12 月至 2009 年 5 月来本院健康体检人群血清 1 052 例,应用酶联免疫法检测 HBsAg,其中有 41 例(3.9%)为弱反应标本,吸光度值(A)在 0.07~0.2 之间。能导致弱反应的原因有多种:(1)确实有一部分血清 HBsAg 存在低水平表达状态^[3-4];(2)一些内源性干扰因素包括类风湿因子(RF)、补体、高浓度的非特异免疫球蛋白、异嗜性抗体、某些自身抗体等和一些外源性干扰因素包括标本溶血、标本被细菌污染、标本贮存时间过长和标本凝固不全等,这些因素可以使阴性的标本成为弱反应标本甚至阳性标本^[5];(3)由于试剂材料纯度和来源不同,以及定性试剂检测存在变异系数大等因素均会造成结果差异,也影响到弱反应结果的报告。本研究对弱反应标本的双份复检可以减少报告的误诊和漏诊,但是仍有一些标本需要确认试验才能确认。本研究中由于 HBsAg 存在低水平表达导致的弱反应有 22 例,通过确认试验把 5 例低水平 HBsAg 表达的标本确认为阳性,减少了漏诊。进一步研究弱反应标本传染性强弱,有 18 例 HBV-DNA 检测拷贝数为 $10^3 \sim 10^4$ copy/mL,其中 5 例确认为阳性标本中有 3 例 HBV-DNA 检测拷贝数为 $10^3 \sim 10^4$ copy/mL,另外 2 例小于 10^3 copy/mL,表明弱反应标本有一定的传染性,应加以重视;通过确认试验把 4 例确认阴性,其中一女性由于系统性红斑狼疮含有高浓度的类风湿因子和自身抗体导致的弱反应,其余弱反应标本未调查出具体原因。

忽视弱反应结果尤其是阳性判断值附近的结果,易造成低浓度 HBsAg 表达人群的漏检和高浓度类风湿因子等因素引起的误诊。当前,临床检验对临界结果的确认除《全国艾滋病检测技术规范》中明文规定:抗人类免疫缺陷病毒(HIV)复测呈阳性反应的标本均需送确认试验室确认后才能发阳性报告外,其他项目在临床检测中对临界结果的进一步确认还没有一个统一的标准。国外酶联免疫试剂通常定义一段“灰区”的检测范围,即弱反应区,结果报告“可疑”,而国内无一厂家对 HBsAg 的灰区进行设定,各医疗机构对灰区的理解也未达成共识^[6]。在目前尚没有统一规则之前,除选择质量较好的试剂,对定性检测过程进行标准化以减小实验误差外,还应根据实验结果设立合适灰区和弱反应标准,对弱反应样本进行严格复检和确认试验。笔者建议 HBsAg 测定结果为弱反应的样本,应通过双份复检或确认试验来确定到底是阳性还是阴性,复检可以减少外源性干扰,复检结果不一致的再做确认试验,其目的是要排除内源性的干扰因素,有条件的单位可采用 HBsAg 定量或者 HBV-DNA 检测来综合分析报告。总之,“健康”人群体检时,检验工作者应必须对弱反应标本加以重视,减少漏诊误诊,尤其是关系到献血、征兵体检。

参考文献

[1] 陈慧英.对应用酶联免疫吸附试验检测肝炎病毒血清标志物临界结果报告的探讨[J].检验医学,2006,21(10):54-56.

[2] 方筠,张久春,陈健,等.乙型肝炎病(下转第 2473 页)