

• 论 著 •

胶体金免疫层析法急诊检测 HBsAg 漏检风险评价^{*}姜宏兵, 蒋 菲, 董清清, 张 新[△]

(新疆生产建设兵团医院/石河子大学医学院第二附属医院检验科, 乌鲁木齐 830002)

摘要:目的 评价胶体金免疫层析法(简称胶体金法)急诊检测乙型肝炎表面抗原(HBsAg)的漏检风险。方法 新疆生产建设兵团医院 2014 年急诊手术前或急诊侵入性检查前胶体金法检测 HBsAg 患者 3 887 例,检测结果经酶联免疫吸附试验(ELISA)验证。采用胶体金法和 ELISA 检测 4 个浓度水平 HBsAg 质控品,评价检测方法灵敏度。以 ELISA 检测结果为参照,评价胶体金法的漏检风险。结果 胶体金法检测 HBsAg 的灵敏度为 2~4 IU/mL,ELISA 检测灵敏度小于或等于 0.5 IU/mL。患者标本胶体金法和 ELISA 检测结果比较差异有统计学意义($P<0.05$)。ELISA 结果阳性而胶体金法检测结果为阴性的相对风险为 0.003 91(95%CI:0.002 318~0.006 597)。ELISA 检测的标本光密度与临界值的比值(S/CO)为 15.314~21.210 时,可初步估计胶体金法检测结果。结论 在急诊手术前或急诊侵入性检查前采用胶体金法检测 HBsAg 存在漏检风险,应引起实验室和临床的关注。

关键词:胶体金免疫层析法; 酶联免疫吸附法; 乙型肝炎表面抗原; 漏检

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.13.003 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)13-1750-03

Risk assessment of false-negative results for HBsAg in emergency patients by colloid gold-immunochromatography assay^{*}JIANG Hongbing, JIANG Fei, DONG Qingqing, ZHANG Xin[△]

(Department of Clinical Laboratory, Hospital of Xinjiang Production and Construction Corps/the Second Affiliated Hospital of Medical School of Shihezi University, Urumqi, Xinjiang 830002, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the risk of false-negative results for HBsAg in emergency patients by colloid gold-immunochromatography assay(GICA). **Methods** HBsAg detected results by GICA in 3 887 patients before emergency operation or invasive examination were collected from Hospital of Xinjiang Production and Construction Corps in 2014, and were also verified by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). Four concentration levels of HBsAg control materials were detected by GICA and ELISA to evaluate detection sensitivity. The risk of false-negative results for HBsAg by GICA was evaluated in comparison with ELISA. **Results** Detection sensitivities of GICA and ELISA for HBsAg were 2~4 IU/mL and lower than 0.5 IU/mL, respectively. There was significant difference of the HBsAg results by GICA and ELISA($P<0.05$). When ELISA was regarded as control assay, the relative risk of negative HBsAg results by GICA but positive results by ELISA was 0.003 91(95%CI:0.002 318~0.006 597). The range of S/CO value between 15.314 and 21.210 could be used to estimate the negative or positive results by GICA. **Conclusion** The risk of false-negative HBsAg results by GICA before emergency operation or emergency invasive examination should be paid attention in clinical laboratories and medical staffs.

Key words: colloid gold-immunochromatography assay; enzyme-linked immunosorbent assay; HBsAg; missed detection

乙型肝炎表面抗原(HBsAg)是世界卫生组织(WHO)指定的判断乙型肝炎病毒(HBV)感染的关键指标^[1]。常用的 HBsAg 免疫学检测方法包括胶体金免疫层析法(简称胶体金法)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、化学发光免疫分析法(CLIA)等,且具有不同的灵敏度^[2-4]。胶体金法检测操作简便,耗时短,广泛用于急诊手术前或急诊侵入性检查前 HBsAg 检测^[5-6]。但是,胶体金法检测 HBsAg 灵敏度相对较低,存在一定的漏检风险,增加了医源性感染风险。本研究分析了本院患者急诊手术前或急诊侵入性检查前胶体金法 HBsAg 检测结果,并与 ELISA 检测结果进行比较,旨在评价胶体金法的漏检风险。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年于新疆生产建设兵团医院接受急诊手术前或急诊侵入性检查前胶体金法 HBsAg 检测的患者 3 887 例。

1.2 仪器与试剂 瑞士 TECAN 公司全自动酶免疫分析仪,厦门英科新创公司 ELISA 法及胶体金法 HBsAg 检测试剂盒,北京康彻思坦公司 HBsAg 质控品 1(0.5 IU/mL)、质控品 2(1 IU/mL)、质控品 3(2 IU/mL)和质控品 4(4 IU/mL)。

1.3 方法 采用含分离胶的真空采血管采集患者肘静脉血 5 mL,3 500 r/min 离心 10 min,分离血清标本,按试剂盒说明书的要求进行胶体金法 HBsAg 检测,加样后 10 min 观察并记录结果,结果判断参照试剂盒说明书。胶体金法检测后 24 h 内采用 ELISA 进行验证。ELISA 检测操作按试剂盒说明书要求进行。ELISA 结果判断标准:标本光密度与临界值的比值(S/CO)≥1 判为阳性,S/CO<1 判为阴性。在每批次标本进行 ELISA 检测时,随机检测 HBsAg 质控品 1 进行室内质量控制。胶体金法检测结果仅作为防范急诊手术或急诊侵入性检查医源性感染的参考,不作为最终报告结果。所有标本均经 ELISA 检测验证后发出最终报告。为验证 2 种方法的检测灵

^{*} 基金项目:新疆生产建设兵团医院院级课题项目(YJ2014001)。

作者简介:姜宏兵,男,主管技师,主要从事临床免疫学研究工作。 [△] 通讯作者,E-mail:xjzhangxin108@126.com。

敏度,每日同时采用 2 种方法对 4 个水平的 HBsAg 质控品进行检测,连续检测 30 个工作日。

1.4 统计学处理 应用 Microsoft Excel2007 及 SAS9.0 软件进行数据分析。计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验的精确概率法,并计算相对风险。以 ELISA 检测结果(S/CO)为横坐标,胶体金法检测结果为纵坐标,进行 Logistic 拟合分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

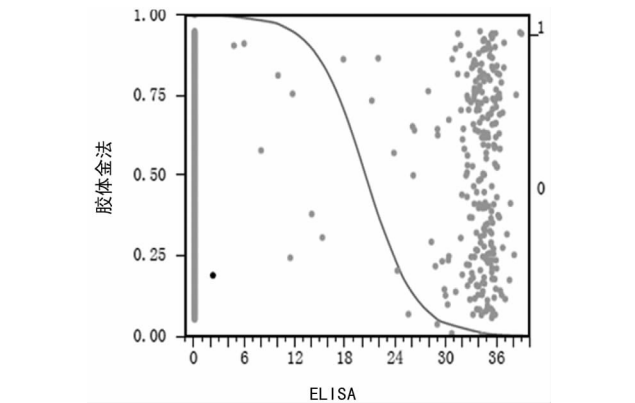
2 结 果

2.1 质控品检测结果 2 种方法对不同浓度 HBsAg 质控品检测结果见表 1。4 IU/mL HBsAg 质控品胶体金法检测结果为阳性,其余浓度质控品检测结果为阴性,初步判断胶体金法检测灵敏度为 2~4 IU/mL。各浓度 HBsAg 质控品 ELISA 检测结果 S/CO 值均超过 1.0,故 ELISA 检测灵敏度为小于 0.5 IU/mL。

表 1 不同浓度 HBsAg 质控品检测结果(n=30)		
HBsAg 质控品	胶体金法	ELISA(S/CO, $\bar{x}\pm s$)
质控品 1(0.5 IU/mL)	阴性	2.80±0.389
质控品 2(1 IU/mL)	阴性	9.01±1.045
质控品 3(2 IU/mL)	阴性	13.31±1.273
质控品 4(4 IU/mL)	阳性	23.97±1.869

2.2 患者标本检测结果比较 2 种方法对患者标本的检测结果比较见表 2。Fisher 精确检验显示 $P<0.05$,说明 2 种方法检测结果比较差异有统计学意义($P<0.05$)。以 ELISA 为参照,ELISA 检测结果为阳性而胶体金法检测结果为阴性的相对风险为 0.003 91(95%CI:0.002 318~0.006 597),即每 1 000 例标本用 2 种方法进行 HBsAg 检测时,可能有 3.91 个 ELISA 检测阳性标本在用胶体金法检测时发生漏检。

表 2 患者标本 HBsAg 检测结果比较(n)			
方法	ELISA 阴性	ELISA 阳性	合计
胶体金法阴性	3 625	14	3 639
胶体金法阳性	4	244	248
合计	3 629	258	3 887



注:横坐标为 ELISA 测定的 S/CO 值;纵坐标 1 和 0 分别代表胶体金法阳性和阴性。

图 1 胶体金法和 ELISA 检测 HBsAg 结果的拟合曲线

2.3 Logistic 拟合分析结果 3 887 例患者标本 ELISA 和胶体金法 HBsAg 检测结果的 Logistic 拟合曲线见图 1。经数据叠加后形成的受试者工作特征曲线(ROC 曲线)显示,ELISA

检测 S/CO 值为 17.819 时,胶体金法检测结果为阳性的概率为 29.16%,此时胶体金法的特异度为 98.25%;ELISA 检测 S/CO 值为 21.210(处于 ROC 曲线 17.819 的上一个值)时,胶体金法检测结果为阳性的概率为 56.13%,此时胶体金法的特异度为 97.85%;ELISA 检测 S/CO 值为 15.314(处于 ROC 曲线 17.819 的下一个值)时,胶体金法检测结果为阳性的概率为 15.11%,此时胶体金法的特异度 98.22%。因此,ELISA 检测 S/CO 值为 15.314~21.210 时,可用于估计胶体金法检测结果,S/CO>21.210 时,胶体金法出现阳性结果的概率较高,S/CO<15.314 时,胶体金法出现阳性结果的概率较低。

3 讨 论

医院是各种疾病患者的聚集地,因此住院患者经血液途径罹患传染性疾病的风险高于自然人群^[7]。血源性职业暴露引发医源性感染则是医务人员面临的高危职业风险,最常见的暴露源为 HBsAg 阳性患者^[8-9]。未对患者进行有效分诊是发生医源性感染的最重要原因^[10-11]。因此,临床实验室有必要选择合适的方法对患者进行 HBsAg 检测,从而为患者分诊提供依据。

目前,常用的 HBsAg 免疫学检测方法包括 ELISA、CLIA 和胶体金法。ELISA 检测灵敏度高,特异性强,检测成本较低,是最为常用的 HBsAg 检测方法,不足之处在于操作繁琐,耗时长,不适宜急诊检测 HBsAg。CLIA 可定量检测 HBsAg,灵敏度和特异度较高,且检测速度快、重复性好,已成为国际上主流的 HBsAg 全定量检测方法^[2]。CLIA 主要有 2 种检测原理:化学微粒子免疫检测法(CMIA)和电化学发光免疫检测法(ECLIA),二者检测 HBsAg 的灵敏度均高于 ELISA^[12-13]。因此,多数大型医院已经将 CLIA 作为常规和急诊检测 HBsAg 的首选方法。然而,CLIA 检测成本高,尚不能在中小型医院广泛应用。目前,多数医院仍选择胶体金法进行急诊手术前或急诊侵入性检查前 HBsAg 检测。大多数常用胶体金法试剂盒对 HBsAg 的检测灵敏度为 2 IU/mL^[2]。本研究采用的胶体金法试剂盒说明书显示其 HBsAg 最低检测限不高于 2.5 IU/mL。灵敏度验证结果表明,HBsAg 浓度为 2 IU/mL 时,胶体金法检测结果为阴性,浓度为 4 IU/mL 时,检测结果为阳性,因此可初步估计其检测灵敏度范围为 2~4 IU/mL,远远低于 ELISA 检测灵敏度。有研究显示,胶体金法检测灵敏度为 4 IU/mL^[14]。因此,在急诊手术前或急诊侵入性检查前使用胶体金法检测 HBsAg,有可能发生漏检,从而无法对患者进行有效分诊,增加了引发医源性感染的风险。实验室在使用胶体金法急诊检测 HBsAg 时,应对胶体金法进行评价,并告知临床医务人员胶体金法可能存在的漏检风险。

本研究比较了胶体金法和 ELISA 对 3 887 例患者标本的检测结果,发现每 1 000 例标本用 2 种方法检测 HBsAg 时,可能有 3.91 例 ELISA 阳性标本胶体金法检测结果为阴性。以 ELISA 为参照,定量评价胶体金法检测 HBsAg 的漏检概率,更加有利于临床医务人员了解胶体金法检测存在的漏检风险。本研究评价了 ELISA 检测患者标本的 S/CO 值与胶体金法检测结果之间的关系。ELISA 检测 HBsAg 的 S/CO 值在较高的范围(S/CO:15.314~21.210)时,胶体金法检测为阳性结果的概率较大,此范围可用于估计胶体金法的检测结果,也进一步说明胶体金法灵敏度低于 ELISA。浓度为 2 IU/mL 的 HBsAg 质控品,胶体金法检测结果为阴性,ELISA 检测 S/CO 值为 13.31±1.273,该值小于 15.314。浓度为 4 IU/mL 的 HBsAg 质控品,胶体金法检测结果为阳性,ELISA(下转第 1754 页)

HLA-B 型别, 呈现丰富的基因多态性。HLA-A * 02、A * 11、A * 24、A * 30、A * 33、B * 13、B * 40、B * 15、B * 52、B * 51、B * 48 和 B * 35 的频率高于 5%, 与我国汉族人群的分布相似^[8-9]。A 和 B 位点在理论上可以组成 741 种单倍型, 但实际观察到 128 种, 呈明显的连锁不平衡。频率最高的三条单倍型是 A * 11-B * 13、A * 02-B * 15 和 A * 02-B * 40, 它们在上海 4 082 例汉族人群的研究中也高于 1%^[10]。

事实证明, 利用 Arlequin 软件能够快速简便地对 HLA 单倍型进行分析。本文以具体数据作为实例, 从软件安装直至数据分析详细阐述了软件的应用, 为使用者提供了一定的借鉴参考。

参考文献

[1] Grimaldi V, Sommesse L, Picascia A, et al. Association between human leukocyte antigen class I and II alleles and hepatitis C virus infection in high-risk hemodialysis patients awaiting kidney transplantation[J]. Hum Immunol, 2013, 74(12):1629-1632.

[2] Miao F, Sun H, Pan N, et al. Association of human leukocyte antigen class I polymorphism with spontaneous clearance of hepatitis B surface antigen in Qidong Han population[J]. Clin Dev Immunol, 2013, 2013(12):145725.

[3] Pithukpakorn M, Roothumnong E, Angkasekwinai N, et al. HLA-DRB1 and HLA-DQB1 are associated with adult-onset immunodeficiency with acquired anti-interferon-gamma autoantibodies [J]. PLoS One, 2015, 10 (5):

e0128481.

[4] Amanzadeh A, Amirzargar AA, Mohseni N, et al. Association of HLA-DRB1, DQA1 and DQB1 alleles and haplotypes with common variable immunodeficiency in iranian patients[J]. Avicenna J Med Biotechnol, 2012, 4(2):103-112.

[5] Jafarzadeh A, Bagheri-Jamebozorgi M, Nemati M, et al. Human leukocyte antigens influence the antibody response to hepatitis B vaccine[J]. Iran J Allergy Asthma Immunol, 2015, 14(3):233-245.

[6] 李婧, 潘玉春, 李亦学, 等. 人类基因组单核苷酸多态性和单体型分析及应用[J]. 遗传学报, 2005, 32(8):879-889.

[7] 郭晋. 医学遗传资料统计分析方法的研究与 SAS 实现 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2010.

[8] 冯云飞, 宿军, 杨春晴, 等. 潍坊地区血小板捐献汉族人群 HLA-A、B 和 HPA1-17 系统基因多态性研究[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(1):59-62.

[9] 王芳, 廖群, 黄霞, 等. 重庆汉族人群 HLA-A、B、DRB1 高分辨等位基因多态性研究[J]. 重庆医学, 2014, 43(26):3455-3460.

[10] 杨剑豪, 刘嫵, 郑皆炜, 等. 4 082 名上海骨髓库汉族无关供者 HLA-A、B、DRB1 高分辨等位基因及单体型多态性研究[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(12):1262-1267.

(收稿日期:2016-02-10 修回日期:2016-04-14)

(上接第 1751 页)

检测 S/CO 值为 23.97±1.869, 该值高于 21.210。通过对定值质控品的检测, 证实 ELISA 检测 S/CO 值为 15.314~21.210 时, 可估计胶体金法检测结果。

综上所述, 在急诊手术前或急诊侵入性检查前采用胶体金法进行 HBsAg 检测, 存在一定程度的漏检风险, 应引起实验室和临床的关注。

参考文献

[1] Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2000, 64(1):51-68.

[2] 刘杨, 彭道荣. 乙肝表面抗原实验室检测方法的进展[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(17):2546-2548.

[3] 马连学, 李艳菊, 魏巍. 化学发光微粒免疫法和酶联免疫吸附法检测乙肝表面抗原的结果对比分析[J]. 中国实用医药, 2014, 3(9):89-90.

[4] Sonneveld MJ, Rijckborst V, Boucher CA, et al. A comparison of two assays for quantification of Hepatitis B surface Antigen in patients with chronic hepatitis B[J]. J Clin Virol, 2011, 51(3):175-178.

[5] 周迎春, 陈辉, 关平, 等. 3 种方法测定低浓度乙型肝炎病毒表面抗原效果评价[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(11):1070-1071.

[6] 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.

[7] 陈远林, 秦立新, 张仁生, 等. 住院患者血液传染性相关指标检测的意义[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(4):388-390.

[8] 龚光明, 周红芳, 李桃, 等. 医护人员血源性职业暴露监测分析与预防策略[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(15):3303-3305.

[9] 马春华, 赵跃, 李艳萍, 等. 某院工作人员血源性职业暴露基线调查及分析[J]. 重庆医学, 2013, 42(10):1139-1141.

[10] 姜永梅, 许永进, 商玲, 等. 急诊护士血源性职业暴露状况及风险防范[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(11):2714-2716.

[11] 厉挺, 强明珠, 陶爱女, 等. 消化内镜医源性感染的危险因素及控制对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(19):4761-4762.

[12] 马连学, 李艳菊, 魏巍. 化学发光微粒免疫法和酶联免疫吸附法检测乙肝表面抗原的结果对比分析[J]. 中国实用医药, 2014, 9(9):89-90.

[13] 何宗忠, 裴宇容, 魏东, 等. 电化学发光测定低浓度乙肝病毒表面抗原的临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(11):2056-2058.

[14] 朱宇清. 乙型肝炎表面抗原胶体金免疫层析法血清快速测定的性能评估[D]. 上海: 复旦大学, 2012.

(收稿日期:2016-03-04 修回日期:2016-05-07)