

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.10.011

电化学发光法检测新生儿血清乙肝表面抗原的影响因素分析

张梦莹,周 军,张晓洁[△]

南京医科大学第一附属医院检验学部,江苏南京 210029

摘 要:**目的** 探讨电化学发光法检测新生儿乙肝表面抗原(HBsAg)弱阳性的影响因素。**方法** 选取 2019 年 2—8 月在该院妇幼分院住院并进行 HBsAg 检测的 516 例新生儿作为研究对象,检测其血清 HBsAg。初测阳性的血清分别进行 12 000 r/min,10 min 高速离心后,蓝光照射 8 h 消除高胆红素的影响,3~7 d 后再次采集静脉血复检,对 HBsAg 检测结果进行分析。**结果** 516 例新生儿中有 65 例(12.60%)血清 HBsAg 检测结果为阳性。回顾 HBsAg 阳性新生儿母亲血清 HBsAg 检测结果,63 例为阴性,2 例为阳性,排除了母婴垂直传播的干扰。对 63 例母亲血清 HBsAg 阴性的新生儿标本进行高速离心,离心后 82.54% 的标本 HBsAg 检测结果有不同程度的降低,14.29%(9/63)的标本 HBsAg 结果转阴。蓝光照射后有 42.86%(27/63)的标本血清 HBsAg 检测值降低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。仅有 2 例标本血清 HBsAg 转阴。98.41%(62/63)的血清 HBsAg 均在 3~7 d 后转阴。**结论** 临床工作中 HBsAg 阳性的新生儿标本,尤其是 COI 值 <1.2 的标本,应首先考虑离心力和离心时间不够导致的小颗粒物质干扰,应提高转速,延长离心时间,消除干扰后复检,仍然阳性者考虑乙肝疫苗接种后阳性,3~7 d 后复查或进一步检测病毒核酸。目前尚无足够证据证明新生儿血清高胆红素血症对 HBsAg 检测结果的影响。

关键词:新生儿; 高胆红素血症; 乙肝表面抗原; 电化学发光法

中图法分类号:R446.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)10-1385-05

Analysis of influence factors of serum hepatitis B surface antigen by electrochemiluminescence in neonates

ZHANG Mengying, ZHOU Jun, ZHANG Xiaojie[△]

Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing

Medical University, Nanjing, Jiangsu 210029, China

Abstract:**Objective** To analyze the factors influencing the detection of hepatitis B surface antigen (HBsAg) by electrochemiluminescence immunoassay. **Methods** Serum HBsAg was detected by electrochemiluminescence in a total of 516 neonates who were hospitalized in women's and children's branch of the hospital from February 2019 to August 2019. Specimens showed positive was centrifugated at 12 000 r/min for 10 min, the effect of hyperbilirubin was eliminated by blue light irradiation for 8 h. Venous blood was collected again after 3—7 days for re examination. The retest results of HBsAg were recorded and analyzed. **Results** Among 516 neonates, 65(12.60%) were HBsAg positive. The serum HBsAg test results of mothers of HBsAg positive neonates were reviewed, among which 63 cases were negative and 2 cases were positive. The interference of mother infant vertical transmission was excluded. High speed centrifugation was performed on 63 neonates whose mothers were HBsAg negative. After high speed centrifugation, the results of HBsAg of 82.54% of the samples decreased to varying degrees, and the results of HBsAg of 14.29% (9/63) of the samples turned negative. After blue light irradiation, the results of HBsAg of 42.86% (27/63) of samples decreased, but the difference was not statistically significant ($P>0.05$). Only the results of HBsAg of two samples turned negative. The results of HBsAg of 98.41% (62/63) of samples turned negative after 3—7 days. **Conclusion** In clinical work, the interference of small particles caused by insufficient centrifugal force and centrifugal time should be considered first for HBsAg positive neonatal specimens, especially those with COI value <1.2 . The rotating speed should be increased and the centrifugation time should be prolonged, and when the interference is eliminated the samples should be rechecked. Those who are still positive are considered to be positive after hepatitis B vaccination, and are reexamined or further tested for viral nucleic acid 3—7 days later. At present,

作者简介:张梦莹,女,主管技师,主要从事肿瘤免疫学方面的研究。 [△] **通信作者,** E-mail: njzhangxj@163.com。

本文引用格式:张梦莹,周军,张晓洁. 电化学发光法检测新生儿血清乙肝表面抗原的影响因素分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(10): 1385-

there is not enough evidence to prove the influence of neonatal serum hyperbilirubinemia on HBsAg detection results.

Key words: neonates; hyperbilirubinemia; Hepatitis B surface antigen; electrochemiluminescence

乙肝是由乙肝病毒(HBV)引起的一种全球性疾病。感染 HBV 可以诱发一系列肝脏疾病,以慢性型和亚临床型多见。因其严重危害公共健康,我国从 1992 年开始为新生儿接种乙肝疫苗,2007 年开始在全国范围内推广接种^[1-2]。目前,本院妇幼分院采用罗氏电化学发光法(ECL)检测乙肝表面抗原(HBsAg),检测工作中经常发现母亲 HBsAg 阴性而新生儿 HBsAg 弱阳性的病例。RYSGAARD 等^[3]报道新生儿接种疫苗后会出现短暂的 HBsAg 阳性。但近来有研究报道,新生儿高胆红素血症会对 HBsAg 的检测结果产生干扰^[4]。本文对 ECL 检测新生儿 HBsAg 弱阳性的影响因素进行进一步分析发现了不同的结果,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 2—8 月在本院妇幼分院住院并进行 HBsAg 检测的 516 例新生儿作为研究对象,其中男 315 例(61.05%),女 201 例(38.95%);年龄 1~7 d,中位年龄 3 d;1~3 d 449 例(87.02%),4~7 d 67 例(12.98%)。所有新生儿均在出生 24 h 内接种乙肝疫苗,其中 349 例(67.64%)新生儿血清总胆红素超过 200.0 $\mu\text{mol/L}$,中位数水平 230.5 $\mu\text{mol/L}$,以间接胆红素(中位数水平 209.8 $\mu\text{mol/L}$)升高为主。初次 65 例(12.60%)新生儿血清 HBsAg 检测呈阳性,排除 2 例(3.08%,2/65)母亲 HBsAg 阳性的新生儿病例,其余 63 例纳入本研究。阳性标本高速离心后 HBsAg 结果转阴 9 例(14.29%,9/63),阳性标本蓝光照射后 HBsAg 结果转阴 2 例(3.17%,2/63),阳性标本 7~14 d 后 HBsAg 复检结果转阴 62 例(98.41%,62/63)。

1.2 仪器与试剂 HBsAg 检测采用 ECL,在 Cobas e601 罗氏免疫分析仪上按照检测试剂说明书进行。Cobas e601 仪器会自动根据每次定标时标准品的检测信号计算 cut off 值,每份标本的结果以该标本的检测信号 cut off 的形式(COI)报道。检测结果 >1.0 COI 判定为阳性。血清胆红素(包括总胆红素和直接胆红素)检测采用钒酸氧化法,在贝克曼库尔特 AU5800 全自动生化分析仪上进行,使用试剂为宁波美康生物公司生产的总胆红素和直接胆红素试剂。成人总胆红素参考区间为 5.1~19.0 $\mu\text{mol/L}$,直接胆红素参考区间为 0.0~6.8 $\mu\text{mol/L}$,间接胆红素参考区间为 0.0~20.0 $\mu\text{mol/L}$ 。新生儿血清胆红素目前尚无公认的参考区间,有研究发现,66.7%的足月儿

和 80.0%的早产儿出生后 1 周内由于生理、病理原因,会有肉眼可见的黄疸和不同程度的血清胆红素升高^[5-8]。

1.3 检测流程 抽取受试者静脉血 2 mL,置于真空采血管中,以 3 500 r/min 离心 10 min 后上机检测 HBsAg。HBsAg 结果阳性的血清标本收集于冻存管中保存于 -80°C 。同时追溯 HBsAg 阳性新生儿母亲的 HBsAg 检测结果 63 例均为阴性,排除了母婴垂直传播的可能性。所有收集的血清标本分为 2 份:第 1 份进一步以 12 000 r/min 离心 10 min 后上机检测 HBsAg,以排除纤维蛋白干扰或小颗粒物质干扰的可能性;第 2 份血清标本在贝克曼库尔特 AU5800 全自动生化分析仪上检测血清胆红素(包括总胆红素和直接胆红素),对血清总胆红素高于 200 $\mu\text{mol/L}$ 的血清标本进行蓝光照射,照射时将血清装于透明的 EP 管中,在婴儿光疗箱中以 450 nm 蓝光照射 8 h。照射后的血清再分为 2 份,一份用来检测胆红素,另一份用来检测 HBsAg。对血清 HBsAg 检测阳性的新生儿,3~7 d 后再次采集静脉血分离血清检测 HBsAg。

1.4 统计学处理 采用 Graphpad Prism 7 对数据进行统计分析。因患者年龄、HBsAg COI 值、血清胆红素检测值均呈偏态分布,故统计描述用中位数表示。

2 结果

2.1 高速离心后 HBsAg 结果 对母亲 HBsAg 阴性的 63 例标本经 12 000 r/min 高速离心 10 min 后,82.54%(52/63)的血清 HBsAg 结果有不同程度降低,其中 9 例(14.29%)血清 HBsAg 转阴,且转阴的标本 HBsAg 初次检测结果 COI 值多集中在 1.0~1.2。见表 1。

2.2 蓝光照射后 HBsAg 结果 63 例新生儿标本总胆红素水平(230.5 $\mu\text{mol/L}$)均远远高于正常参考范围,79.37%(50/63)的标本胆红素 $>200 \mu\text{mol/L}$,经蓝光照射 8 h 后血清总胆红素水平均小于检测下限。蓝光照射后有 42.86%(27/63)的标本血清 HBsAg 检测水平降低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。仅有 2 例标本血清 HBsAg 转阴,见表 1。

2.3 3~7 d 后复检 HBsAg 结果 对 63 例血清 HBsAg 检测结果阳性的新生儿,收集其 3~7 d 后的静脉血血清检测 HBsAg。结果发现 63 例标本中的 62 例(98.41%)血清 HBsAg 均在 3~7 d 后转阴,只有 1 例新生儿 6 d 后检测 HBsAg 未转阴,但后续结果失访。见表 1。

表 1 不同条件处理对新生儿血清 HBsAg 的影响

序号	年龄(d)	总胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	间接胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	HBsAg(COI)			
				血清复检后	12 000 r/min 离心 10 min 后	蓝光照射 8 h 后	3~7 d 后
1	5	378.7	361.7	1.41	0.81	1.45	0.52
2	4	256.4	242.7	1.08	0.87	1.07	0.39
3	3	249.7	236.3	1.56	1.50	1.88	0.71
4	4	237.7	213.6	1.96	1.95	1.43	0.61
5	4	327.6	309.5	1.08	0.99	1.03	0.85
6	2	320.7	309.0	3.48	2.64	2.40	0.55
7	5	342.7	324.7	1.69	1.52	1.60	0.53
8	2	111.6	102.3	2.15	1.94	2.01	0.89
9	5	303.0	280.8	1.65	1.50	1.58	0.72
10	4	270.3	256.4	1.81	1.69	1.75	0.66
11	2	140.7	131.5	6.70	5.70	5.40	0.50
12	4	323.3	302.5	1.02	0.83	1.03	0.43
13	6	285.1	262.8	1.03	0.79	1.04	0.46
14	3	204.1	185.4	4.27	4.27	4.46	0.62
15	1	206.9	195.6	2.51	2.22	2.19	0.54
16	3	355.0	339.0	1.04	0.86	1.05	0.44
17	3	133.8	121.0	3.23	3.19	3.01	0.89
18	1	110.2	100.3	6.59	6.57	7.42	0.58
19	3	252.0	240.4	1.05	0.99	1.06	0.58
20	2	100.3	90.2	1.95	1.22	0.81	0.67
21	3	322.4	301.5	1.66	1.65	1.68	0.62
22	2	201.6	186.9	3.12	3.37	3.21	0.66
23	2	203.3	193.4	2.38	2.24	2.40	0.67
24	2	143.6	131.3	8.82	7.72	7.59	0.59
25	5	188.8	173.6	1.04	0.95	1.05	0.58
26	4	128.1	113.5	3.59	3.83	3.88	0.87
27	3	96.4	80.9	2.99	2.89	2.97	0.82
28	1	89.9	79.5	7.87	7.91	7.61	0.78
29	1	93.2	83.3	1.54	1.15	1.17	0.62
30	4	197.4	173.9	1.24	1.12	1.14	0.56
31	5	278.7	259.3	1.25	1.25	1.29	0.86
32	1	98.0	89.6	5.36	5.31	5.45	0.67
33	4	243.8	223.1	2.20	2.19	2.36	0.83
34	2	278.1	260.6	4.54	3.83	3.61	0.78
35	2	296.1	283.3	3.58	3.44	3.16	1.38
36	3	124.8	115.9	3.14	3.10	2.97	0.50
37	2	215.9	191.7	1.04	1.01	0.89	0.43
38	2	260.4	239.9	3.29	3.19	3.20	0.89
39	1	129.1	118.2	1.43	1.50	1.57	0.89
40	2	246.0	229.3	2.26	2.23	2.49	0.44
41	2	225.7	209.8	1.07	0.93	1.06	0.45
42	4	226.3	205.1	2.70	2.45	2.79	0.63

续表 1 不同条件处理对新生儿血清 HBsAg 的影响

序号	年龄(d)	总胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	间接胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	HBsAg(COI)			
				血清复检后	12 000 r/min 离心 10 min 后	蓝光照射 8 h 后	3~7 d 后
43	4	190.7	170.1	1.52	1.69	1.66	0.43
44	5	279.5	257.4	1.45	1.31	1.36	0.53
45	3	158.4	141.8	2.72	2.87	2.89	0.62
46	3	249.9	226.9	2.16	2.27	2.28	0.74
47	2	177.1	164.7	1.62	1.22	1.26	0.47
48	2	200.8	182.4	1.49	1.45	1.56	0.51
49	4	289.7	274.2	2.06	1.91	2.10	0.53
50	1	259.5	239.6	1.37	1.33	1.42	0.76
51	3	243.6	231.6	3.83	3.77	3.76	0.62
52	4	271.1	157.5	2.25	2.30	2.41	0.66
53	1	99.1	89.5	3.13	2.98	3.09	0.64
54	4	366.5	336.1	1.43	1.39	1.58	0.57
55	1	41.1	25.9	1.58	1.50	1.93	0.31
56	6	241.4	216.2	1.50	1.50	1.66	0.36
57	2	246.2	224.0	2.12	2.14	2.22	0.63
58	3	226.8	201.5	1.94	1.92	2.19	0.49
59	1	230.5	217.1	4.28	4.42	4.41	0.66
60	1	77.5	68.9	1.22	1.11	1.28	0.98
61	2	148.6	139.1	3.97	3.88	3.94	0.98
62	4	304.2	285.0	3.67	3.57	3.68	0.46
63	1	132.1	120.6	4.05	2.18	1.44	0.61

3 讨 论

HBsAg 是体内存在 HBV 感染的重要标志之一, 感染后最先出现, 具有免疫原性, 可激发机体产生相应的抗体^[9]。HBV 传播方式有 3 种: 血液传播、性接触传播和母婴垂直传播, 我国乙肝高发的主要原因是家族性传播, 其中以母婴垂直传播为主。检验工作中经常发现母亲 HBsAg 阴性而新生儿 HBsAg 弱阳性的病例。有研究表明, 接种乙肝疫苗会导致血清 HBsAg 检测呈弱阳性反应^[10]。史晓敏等^[4]发现, 新生儿高胆红素血症影响其血清 HBsAg 的检测结果, 是造成新生儿血清 HBsAg 检测假阳性的主要原因之一。本研究对新生儿高胆红素血症对 HBsAg 检测结果的影响进行探究, 并对其他影响因素进行分析。

516 例新生儿中有 65 例血清 HBsAg 检测结果为阳性, 回顾 HBsAg 阳性的新生儿母亲血清 HBsAg 检测结果, 其中 63 例阴性, 2 例阳性。排除母婴垂直传播的干扰, 对这 63 例母亲血清 HBsAg 阴性的新生儿标本进行高速离心, 高速离心后 82.50% 的标本 HBsAg 检测结果有不同程度的降低, 14.29% 的标本 HBsAg 结果转阴, 转阴的标本 HBsAg 初次检测 COI 值多集中在 1.0~1.2。这种假阳性可能是由于离心

力不足, 血清中残留有纤维蛋白或细胞碎片等其他小颗粒物质与试剂中的顺磁微粒结合造成的, 可以通过增加离心力, 延长离心时间消除。

史晓敏等^[4]认为, 新生儿体内高水平的间接胆红素会引起清蛋白之间交联形成微小的颗粒物质, 无法通过高速离心去除时会导致血清 HBsAg 检测结果呈假阳性。蓝光照射可以破坏胆红素分子的氢键, 增加间接胆红素的水溶性, 使其通过胆汁和尿液迅速排泄, 从而达到降低体内胆红素水平。因而临床上对于新生儿黄疸一般采用蓝光照射治疗^[11]。本研究对血清 HBsAg 阳性的新生儿标本进行蓝光照射, 照射后检测血清胆红素水平均低于检测下限, 排除了胆红素的干扰。复检后仅有 2 例 HBsAg 转阴, 42.86% (27/63) 的标本血清 HBsAg 检测水平有不同程度的降低, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。不足以证实新生儿高血清胆红素血症的干扰造成 HBsAg 检测呈假阳性的观点。

有研究报道, 新生儿接种乙肝疫苗后 HBsAg 阳性主要发生于接种后 0~7 d^[12-13]。由于本研究入选的新生儿标本采集时间均小于 7 d, 所以在 3~7 d 后再次采集静脉血检测血清 HBsAg, 结果有 53 例转

阴,有 1 例新生儿 HBsAg 未转阴,但多种原因造成结果失访。进一步佐证乙肝疫苗接种会引起 HBsAg 一过性阳性的推论^[3]。

因此,临床工作中对于新生儿 HBsAg 阳性,尤其是 COI 值<1.2 的标本,应首先考虑离心力和离心时间不够导致的小颗粒物质干扰。经提高转速,延长离心时间消除干扰后复检,仍然阳性者考虑乙肝疫苗接种后阳性,2 周后复检或进一步检测病毒核酸,尚无足够证据证明新生儿血清高胆红素血症对 HBsAg 检测结果的影响。

参考文献

[1] 崔富强,庄辉.我国新生儿乙型肝炎母婴阻断成就和展望[J].中国病毒病杂志,2019,9(5):321-326.

[2] 朱玉霞,樊尚荣.妊娠期艾滋病和梅毒及乙型肝炎的实验室诊断与母婴传播阻断[J].中华检验医学杂志,2018,41(4):259-262.

[3] RYSGAARD C D, MORRIS C S, DREES D, et al. Positive hepatitis B surface antigen tests due to recent vaccination: a persistent problem[J]. BMC Clin Pathol, 2012, 12:15.

[4] 史晓敏,任娜,孙悦,等.新生儿高胆红素血症对血清乙肝病毒表面抗原化学发光法检测的影响及消除方法初探[J].中华检验医学杂志,2019,42(1):51-56.

[5] 苏月群,张飞.高胆红素血症对新生儿心肌的影响[J].中国妇幼健康研究,2014,25(2):287-288.

[6] 邵肖梅,叶鸿瑁,丘小汕.实用新生儿学[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2011:273.

[7] 郑爱华,王丹.换血治疗新生儿高胆红素血症对机体内环境的影响分析[J].安徽医学,2015,36(5):587-589.

[8] BOLAJOKO O O, KAPLAN M, HANSEN T R. Neonatal hyperbilirubinaemia: a global perspective[J]. Lancet Child Adolesc Health, 2018, 2(8):610-620.

[9] 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.

[10] LIANG X, BI S, YANG W, et al. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China: declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination[J]. Vaccine, 2009, 27(47): 6550-6557.

[11] 李俊武,张婷.新生儿黄疸蓝光治疗效果与临床不良反应分析[J].当代医学,2017,23(25):88-89.

[12] 刘华,王颖智,沈云岳,等.乙肝疫苗接种后新生儿乙型肝炎表面抗原一过性阳性的研究[J].检验医学,2015,30(11):1107-1112.

[13] ANJUM Q. False positive hepatitis B surface antigen due to recent vaccination[J]. Int J Health Sci(Qassim), 2014, 8(2):189-193.

(收稿日期:2020-08-19 修回日期:2021-01-10)

(上接第 1384 页)

参考文献

[1] VAULOUP-FELLOUS C, BOUTHRY E, GRANGEOT-KEROS L. Infections transmitted from the mother to the fetus: diagnostic issues and management of pregnancy[J]. Ann Biol Clin (Paris), 2013, 71:5-18.

[2] RASTI S, GHASEMI F S, ABDOLI A, et al. TORCH "co-infections" are associated with increased risk of abortion in pregnant women[J]. Congenit Anom (Kyoto), 2016, 56(2):73-78.

[3] WANG Y, LI S, MA N, et al. The association of TORCH infection and congenital malformations: a prospective study in China[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2019, 240:336-340.

[4] SILASI M, CARDENAS I, KWON J Y, et al. Viral infections during pregnancy[J]. Am J Reprod Immunol, 2015, 73(3):199-213.

[5] 汪筱谢,黄筱玄,徐彬,等.妊娠期不良妊娠结局和不同孕期弓形虫和风疹病毒及巨细胞病毒和单纯疱疹病毒感染的关系[J].中华医院感染学杂志,2017,27(7):1539-1542.

[6] ZHANG X, YU Y, YANG H, et al. Surveillance of maternal syphilis in China: pregnancy outcomes and determinants of congenital syphilis[J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 7727-7735.

[7] 王芳,龚梦露,郭丽芳,等.杭州市余杭区 2015—2017 年

预防艾滋病、梅毒、乙肝母婴传播效果分析[J].中国妇幼保健,2019,34(21):4875-4877.

[8] CHEN S, LI J, WANG D, et al. The hepatitis B epidemic in China should receive more attention[J]. Lancet, 2018, 391(10130):1572.

[9] 郭夏,胡睿,李智超,等.2016—2018 年武汉某医院孕妇传染性病原体检测结果分析[J].公共卫生与预防医学,2019,30(5):92-94.

[10] 鲍雪琴,单美香,路滢,等.深圳市 2011—2014 年孕妇乙型肝炎病毒感染状况分析[J].中华疾病控制杂志,2017,21(4):336-339.

[11] 王兰芳,蔡娟,何刘媛,等.乙肝病毒携带产妇感染状态与新生儿发生宫内感染的相关性分析[J].中华疾病控制杂志,2014,18(5):391-393.

[12] RAC M W, REVELL P A, EPPES C S. Syphilis during pregnancy: a preventable threat to maternal-fetal health [J]. Am J Obstet Gynecol, 2017, 216(4):352-363.

[13] 陈宗良,申涛,吴国辉,等.2011—2015 年重庆市主城 9 区艾滋病流行特征分析[J].现代预防医学,2017,44(22): 4042-4045.

[14] 黎科,周海兰. TORCH 感染与孕妇妊娠结局的相关性研究[J].中国优生与遗传杂志,2018,26(5):65-66.

[15] 谭严,冉波,吴萍.重庆万州区育龄妇女 TORCH 感染的调查研究[J].中国病原生物学杂志,2019,14(3):334-337.

(收稿日期:2020-08-23 修回日期:2021-01-16)