

## 乙型肝炎患者 HBsAg 时阳时阴问题的解释

张晓宁 刘春彦

血清中检出 HBsAg 是乙型肝炎的早期诊断指标之一。一个乙型肝炎患者检查 HBsAg, 结果有时阳性有时阴性, 这给临床医师、患者、带来不少困惑, 笔者就 HBsAg 时阳时阴这一问题在此进行探讨。

### 一、cut-off 值造成的假阳性或假阴性

目前国内临床实验室进行感染性疾病乙型肝炎血清学检测最为常用的方法是 ELISA, 当特定标本的检测信号如吸光度值超出试剂盒设定的阳性判断值即阈值 (cut-off) 时, 即判为阳性, 反之判为阴性。此判断对于强阳性和明显阴性的标本适用, 但对处于 cut-off 值周围的弱阳性标本不适用, ELISA 测定的弱阳性很可能是假阳性。测定吸光度处于 cut-off 周围的一定区域即 ELISA 测定的“灰区”, 此区域内结果应为可疑。目前国内所应用的传染性病原体抗原或抗体检测的 ELISA 试剂盒基本上都没有涉及到“灰区”问题, 而是以 cut-off 值来判断阴阳性结果。ELISA 测定“灰区”的存在, 使 ELISA 测定试剂盒 cut-off 的设定只是相对准确。如果阴性和阳性人群的测定值非正态分布, 可采用百分位数法单侧 95% 或 99% 来确定阳性和阴性的 cut-off 值, 这样可将假阳性和假阴性降到非常低的比例<sup>[1,2]</sup>。

### 二、HBsAg 测定中的假阳性

患者标本可能含有干扰 ELISA 试验导致假阳性测定的内源性和外源性因素。内源性干扰因素一般包括 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、因使用鼠抗体治疗或诊断诱导的抗鼠 Ig 抗体、交叉反应物质等<sup>[3-10]</sup>。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<sup>[11]</sup>。此外, 组成试剂盒的原材料如不纯、采用多克隆抗体和酶结合物纯度低等均可能造成假阳性结果。

### 三、HBsAg 测定中的假阴性

下述情况血循环中可能检测不出 HBsAg: (1) 病毒变异: S 基因变异所致 HBsAg 假阴性。如: ASP129、ALA145 的置换, S 蛋白的 122、123 或 123、124 间的插入。影响 HBsAg 氨基酸位点 120、123、124、126、129、131、133、141 和 144 的 HBV S 基因突变株, 最相关的突变是 G145R、K141E 和 T131I 以及在 122 与 123 位残基之间 3 个氨基酸的插入, 这种突变明显影响 HBsAg 的抗原结构<sup>[12-14]</sup>。变异的 HBsAg 与单克隆抗体亲和力下降, 从而导致目前试剂难以检测到, 不能被常

作者单位: 061500 南皮县, 河北省南皮县人民医院检验科

通讯作者: 张晓宁 Email: zxnphos@sina.com

规方法测出。X 基因变异抑制 S 基因的转录,血清 HBsAg 阴性,但是 HBV DNA 仍在肝中复制。病毒变异可在自然发生,也可因注射疫苗,更多见的是患者用拉米夫定治疗可导致的病毒变异<sup>[15]</sup>,这种变异用常规方法测定 HBsAg 是阴性,但用抗变异抗体则是阳性;(2)ELISA 方法敏感性减低。目前国内最常用的 HBsAg 免疫测定方法为 ELISA,进口试剂盒测定下限可达 0.15 ng/ml,国产试剂盒测定下限目前多在 0.5 ng/ml 左右。HBsAg 含量低于所用方法的测定下限之下如感染的“窗口期”、急性期后或恢复期、自限性感染末期的携带者等;(3)测定方法所用抗体对 HBV 不同基因型检测敏感性的不同;(4)HCV 与 HDV 重叠感染对 HBV 复制和(或)HBsAg 的表达的抑制作用;(5)HOOK 效应造成的假阴性。

检验结果准确与否与很多因素有关,造成乙型肝炎患者表面抗原时阳时阴除上述原因外,试剂、仪器和操作误差也是不可忽视的问题。人体是一个复杂的有机体,各种反馈机制时刻存在,检测结果只能反映一时水平。乙型肝炎病毒进入人体,机体免疫反应时强时弱,肝细胞损伤时重时轻,释放入血的 HBsAg 时多时少等,所有这些均可使 HBsAg 时阳时阴。

### 参 考 文 献

- 1 Gall D, Nielsen K. Comparison of some methods for determining cutoff values for serological assays: a retrospective study using the fluorescence polarization assay. *J Immunoassay Immunochem*, 2001, 22: 85-98.
- 2 Ridge SE, Vizard AL. Determination of the optimal cutoff value for a serological assay: an example using the John's Absorbed EIA. *J Clin Microbiol*, 1993, 31: 1256-1261.
- 3 Bormer OP. Interference of complement with the binding of carcinoembryonic antigen to solid-phase monoclonal antibodies. *J Immunol Methods*, 1989, 121: 85-93.
- 4 Larsson A, Karlsson-Parra A, Sjöquist J. Use of chicken antibodies in enzyme immunoassays to avoid interference by rheumatoid factors. *Clin Chem*, 1991, 37: 411-414.
- 5 Larsson A, Wejåker PE, Forsberg PO, et al. Chicken antibodies: a tool to avoid interference by complement activation in ELISA. *J Immunol Methods*, 1992, 156: 79-83.
- 6 Hennig C, Rink L, Fagin U, et al. The influence of naturally occurring heterophilic anti-immunoglobulin antibodies on direct measurement of serum proteins using sandwich ELISAs. *J Immunol Methods*, 2000, 235: 71-80.
- 7 Carlander D, Larsson A. Avian antibodies can eliminate interference due to complement activation in ELISA. *Ups J Med Sci*, 2001, 106: 189-195.
- 8 Grebenchtchikov N, Sweep CG, Geurts-Moespot A, et al. An ELISA avoiding interference by heterophilic antibodies in the measurement of components of the plasminogen activation system in blood. *J Immunol Methods*, 2002, 268: 219-231.
- 9 Andersson M, Rönmark J, Åreström I, et al. Inclusion of a non-immunoglobulin binding protein in two-site ELISA for quantification of human serum proteins in two-site ELISA for quantification of human serum by proteins without interference by heterophilic serum antibodies. *J Immunol Methods*, 2003, 283: 225-234.
- 10 Ismail AA. A radical approach is needed to eliminate interference from endogenous antibodies in immunoassays. *Clin Chem*, 2005, 51: 25-26.
- 11 Snyder JA, Rogers MW, King MS, et al. The impact of hemolysis on Ortho-Clinical Diagnostic's ECI and Roche's Elecsys immunoassay systems. *Clin Chim Acta*, 2004, 348: 181-187.
- 12 Seddigh-Tonekaboni S, Waters JA, Jeffers S, et al. Effect of variation in the common 'a' determinant on the antigenicity of hepatitis B surface antigen. *J Med Virol*, 2000, 60: 113-121.
- 13 Chaudhuri V, Tayal R, Nayak B, et al. Occult hepatitis B virus infection in chronic liver disease: full-length genome and analysis of mutant surface promoter. *Gastroenterology*, 2004, 127: 1356-1371.
- 14 Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. *J Clin Virol*, 2005, 32: 102-112.

- 15 Wolters LM, van Nunen AB, Niesters HG, et al. RA. Contrasting patterns of response to lamivudine monotherapy in chronic hepatitis B patients. Scand J Gastroenterol Suppl, 2000, 232: 74-78.

(收稿日期:2008-01-10)

(本文编辑:王丹静)

张晓宁,刘春彦. 乙型肝炎患者 HBsAg 时阳时阴问题的解释[ J/CD ]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2008, 2( 1 ): 78-80.