

# 化学发光法检测乙肝血清学标志物的模式分析

曾智杰 孙艳虹 姜锐 欧阳文婷 张金玲

作者单位:510080 广州市,中山大学附属第一医院检验医学部

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)是导致急、慢性肝炎、肝硬化、肝癌等一系列严重危及人类健康疾病的主要病原体。目前,HBV 血清学标志物的检查仍是临床诊断、治疗、分析和判断 HBV 感染者病程及传染性的重要依据之一。而 HBV 血清学模式较为复杂,在感染和转归的不同时期,血清学标志物会表现不同的模式。换言之,根据检测出的感染模式,可判定机体感染 HBV 的状态。随着检测技术的发展,灵敏度高、特异性强的化学免疫分析法已逐渐补充甚至取代传统的酶联免疫法在临床的应用。因此,极有必要了解化学免疫分析法对 HBV 血清学标志物表现模式的影响及各模式在人群中的分布特征和变化规律,从而对乙型肝炎的临床分型、病程观察及预后评估提供实际的指导和参考,以提高乙型肝炎的诊断水平,并为临床医生治疗提供准确的科学依据。本文采取回顾性分析,比较了 32261 例采用化学发光微粒子免疫分析法(chemiluminescence microparticle immuno assay, CMIA)检测乙型肝炎血清学标志物五项的定量及半定量结果,得出乙型肝炎血清学标志物五项的模式分布,以及每种模式的分布比率,现报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 选择 2009 年 5 月至 2010 年 8 月我院病房及门诊患者和健康体检者共 32261 例,其中男 16368 例,女 15893 例,年龄为 1 个月~99 岁,平均年龄为 45±16 岁。标本来自病房 59%,门诊 35.6%,体检中心 0.5%,其他 4.9%。

## 1.2 方法

**1.2.1 仪器及试剂** 采用美国雅培全自动免疫分析仪 ARCHITECT-i2000,试剂为美国雅培制药有限公司生产的 CMIA 试剂盒。严格按照仪器及试剂说明书操作,且每批次检测均带配套质控品。

**1.2.2 资料分析及统计** 所有乙型肝炎血清学标志物五项的检测结果输入 Excel 表格,应用函数方法进行统计分析得出各种模式的例数及百分比。为表述方便,将乙肝标志物检测项目的第 1~5 项(HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb),依次用 1、2、3、4、5 作为模式的代码,0 为五项全阴性。

**1.3 结果判断** CMIA 检测结果根据美国雅培试剂使用说明书上的相关判断标准如下:HBsAg 与 HBsAb 检测为定量法,用标本相对光强度(relative light units, RLU)与标准曲线比较计算出浓度,HBsAg $\geq 0.05$  IU/mL 为阳性,HBsAb $\geq 10.0$  IU/mL 为阳性;HBeAg、HBeAb、HBcAb 检测为半定量法,HBeAg、HBcAb 以标本 RLU 与临界值 RLU 的比值(S/CO) $\geq 1.00$  为阳性,HBeAb 测定则相反,以 $\leq 1.00$  为阳性。

## 2 结果

32261 例血清标本采用 CMIA 检测的五项乙型肝炎血清学标志物定量结果得出 24 种表现模式。分布情况见表 1。

## 3 讨论

过去对采用 ELISA 法检测乙肝两对半的模式分析报道较多<sup>[1,2]</sup>。本文采用 CMIA 检测 32261 例血清标本,共得出 24 种乙肝两对半的组合模式,较崔富强等<sup>[3]</sup>及陈惜贞<sup>[4]</sup>研究报道的 16 种模式多。24 种组合模式中,常见的 9 种模式“2”、“25”、“245”、“0”、“145”、“5”、“45”、“135”、“15”占 98.44%,其余 15 种不常见模式共占 1.56%。

本文研究中 HBsAg 阳性的各种模式在所分析人群中所占的比例为 15.55%,其中主要模式为“145”占 10.99%、“135”占 3.07%,远高于 HBsAg 阳性约占 5% 的文献<sup>[5]</sup>报道。主要原因可能是本文研究对象为我院病房、门诊患者及健康体检者的全部乙型肝炎血清学标志物五项结果,并非实行全国各地随机抽样调查方法的检测结果,因此 HBsAg 阳性相对较高。全阴性的患者占 12.45%,这部分患者可能是没有感染过 HBV 或者是进行疫苗注射后没有相应的抗体产生。本文研究所得的单项 HBsAb 阳性模式出现率为 21.76%,该模式出现多数是由于接种乙肝疫苗后获得免疫的结果,部分是 HBV 感染后获得的特异性免疫。近年来人们越来越重视乙肝的预防,接种乙肝疫苗的人数增多,新生儿都已经进行免费的乙肝疫苗接种,因此人群中单项 HBsAb 阳性率较以往升高。郭占元等<sup>[6]</sup>的研究也证明此趋势。另外,本文研究中单项 HBcAb 阳性占 5.78%,这部分患者可能是急性 HBV 感染的“窗口期”,HBcAb 阳性为母婴垂直传播,或者为曾经感染 HBV 者。

表 1 32261 例 HBV 血清学标志物模式分布

模式	HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb	例数	百分比(%)
2	-	+	-	-	-	7020	21.76
25	-	+	-	-	+	6630	20.55
245	-	+	-	+	+	6414	19.88
0	-	-	-	-	-	4016	12.45
145	+	-	-	+	+	3547	10.99
5	-	-	-	-	+	1865	5.78
45	-	-	-	+	+	1152	3.57
135	+	-	+	-	+	990	3.07
15	+	-	-	-	+	125	0.39
1245	+	+	-	+	+	115	0.36
24	-	+	-	+	-	101	0.31
1345	+	-	+	+	+	96	0.30
1235	+	+	+	-	+	53	0.16
4	-	-	-	+	-	26	0.08
1	+	-	-	-	-	25	0.08
125	+	+	-	-	+	23	0.07
12	+	+	-	-	-	20	0.06
13	+	-	+	-	-	17	0.05
235	-	+	+	-	+	13	0.04
35	-	-	+	-	+	4	0.01
12345	+	+	+	+	+	3	0.01
2345	-	+	+	+	+	3	0.01
134	+	-	+	+	-	2	0.01
345	-	-	+	+	+	1	0.00
合计						32261	100.00

由于 HBcAb 比 HBsAb 在体内存在的时间长,因此 HBsAb 已消失或在可检测水平以下时,HBcAb 仍存在。还有部分是注射乙肝疫苗后 HBsAb 没有产生,只产生了 HBeAb。

一般情况下 HBV 感染人体后,早期血清中出现 HBsAg、HBeAg、HBcAb-IgM、HBcAb-IgG,患者表现为“135”阳性,俗称“大三阳”。随着病情的恢复,HBeAg 先于 HBsAg 消失而出现 HBeAb,患者表现“145”阳性,俗称“小三阳”,随着病情进一步恢复,HBsAg 逐步消失,而 HBsAb 逐渐产生,这时患者就逐步从“145”转成“245”阳性模式。HBsAb 和 HBcAb-IgG 可持续达数年,而 HBeAb 消失较早<sup>[4]</sup>,进而产生了“25”阳性模式,又因为 HBcAb 在体内存在的时间比 HBsAb 长,所以最后可形成单项“5”的阳性模式。随着上述自然转归过程的进行,e 系统和 s 系统的转换,HBsAg 与 HBsAb、HBeAg 与 HBeAb 可同时出现<sup>[5]</sup>,也就形成“1345”、“1245”的少见模式。而不同亚型病毒的双重感染或单一亚型病毒感染后 HBV-DNA 发生点突变,也可以出现 HBsAg 与 HBsAb 同时阳性的少见模式<sup>[6]</sup>,如本文研究中所得的“1235”、“125”、“12”、“12345”等模式。亚临床型或非典型性感染则可出现“235”,以上这些少见模式在以往的 ELISA 法检测中也偶有报道,但是因为 ELISA

方法学具有局限性,灵敏度不足以检测 e 系统和 s 系统转换过程,从而影响了临床医生对患者的治疗情况的了解。CMIA 的检测结果可以让临床医生更好的掌握并灵活运用乙肝的治疗方案。

近年来,检验医学的检测技术有了长足的进步,一些全自动分析仪系统的检测灵敏度、速度和准确性较手工试剂操作明显提高<sup>[7]</sup>。从方法学角度看,CMIA 用顺磁性微粒作为固相载体,由于颗粒体积小,表面积大,扩大了反应面积,大大提高了检测灵敏度,所以可检出血清中低浓度 HBV 血清学标志物<sup>[8]</sup>。CMIA 由于使用全自动分析仪器及其配套试剂,使影响实验结果检测的人为因素减至最低,提高了方法的稳定性和结果的重复性,使批内差异与批间差异都较小,且在 HBsAg、HBsAb 的检测上,CMIA 为定量结果。

随着临床医学的发展,传统的 ELISA 分析乙型肝炎血清标志物的方法已经远远不能满足临床及患者的需求,特别是在疗效观察以及乙肝疫苗注射后抗体产生情况的观察上有明显的不足。乙型肝炎血清学标志物五项定量测定大大地弥补了乙肝两对半定性检测的不足。定量的 HBsAb 结果能够对机体是否真正具有抵抗 HBV 的免疫力做出正确评价,避免原 ELISA 法检测出现误差而误导临床治疗。如 HBsAb 定量在 10~100 IU/L 之间的标本,ELISA 结果为阳性,CMIA 法>10 IU/L 也报告为阳性,但此时抗体对 HBV 并无中和作用,仍有感染 HBV 的危险,只有定量在 100 IU/L 以上时才具有抵抗 HBV 入侵的作用<sup>[9]</sup>。因此,CMIA 对乙肝疫苗免疫力的评价和高危人群预防免疫也具有重要意义。综上所述,CMIA 在检测乙肝血清学标志物上具有重要的临床应用价值,随着化学发光免疫分析法的广泛应用,临床和实验室均应有必要了解、掌握乙型肝炎血清标志物的变化模式、变化规律及临床意义。

#### 4 结论

HBV 血清学标志物的检出模式较为复杂,本文采用 CMIA 分析 32261 例患者及健康体检者血清标本,共得出 24 种乙肝两对半组合模式,较传统的 ELISA 分析所得模式多。CMIA 因其有较高的灵敏度、准确度和较好的重复性等优点,能检测出在 e 系统和 s 系统转换过程中出现低滴度的乙肝血清学标志物,能够检测出在转换过程中出现的少见模式,而且 CMIA 为定量检测乙肝血清学标志物,从而对乙型肝炎的临床分型、病程观察及判断预后提供更为明确的指导和参考价值,提高了临床对乙型肝炎的诊断水平并给临床医生的治疗提供了可靠的科学依据。

#### 5 参考文献

- 崔富强,毕胜利,张勇,等.中国人群大样本调查乙型肝炎病毒感染血清学标志物检出模式分析.中国疫苗和免疫,2009,15:294-299.

(下接第 55 页)

不能排除,确诊有待病理结果。

胸外科医师:CT 示右侧胸膜多发占位,右肺下叶结节,痰结核杆菌抗酸染色阴性,PPD 试验弱阳性,肿瘤首先有待排除,开胸肺活检病理可确诊。

**3.3 检验医师分析** PPD 试验是目前唯一被广泛应用的结核筛选方法,但其结果可能受卡介苗(bacille calmette-guerin, BCG)接种史、既往结核病史、其他非结核分支杆菌、人工操作方法、应用免疫抑制剂等的影响,结核感染 T SPOT.TB 技术是利用结核杆菌感染者外周血单核细胞中存在结核特异性 T 细胞,这些淋巴细胞在受到结核杆菌特异抗原(ESAT-6 和 CFP-10)刺激后分泌 IFN- $\gamma$  而设计的 T 细胞免疫斑点试验。该试验仅需简单实验室血液检查,第 2 天可得检验结果,操作过程中不受技术因素,如孵育时间、内毒素污染和抗原类型等干扰<sup>[1]</sup>,结果判定依靠计数有反应性的斑点数,排除了主观误差。研究<sup>[2-4]</sup>报道 T SPOT.TB 诊断肺结核敏感性达 94.1%,阴性预测值达 87%;在肺外结核的诊断中 T SPOT.TB 的敏感性和特异性均较高,分别达 94% 和 88%。T SPOT.TB 检测的阳性率不受 CIM 细胞计数水平的影响,在免疫受抑制的患者中仍有较高的灵敏度<sup>[5]</sup>。裘曼曼等<sup>[6]</sup>提出 BCG 接种影响风湿性疾病患者 PPD 试验的结果,但对 T SPOT.TB 检测结果未造成影响。我们在上一个课题后提出一月内接受免疫抑制治疗 T SPOT.TB 阳性率显著低于未接受免疫治疗者,而有无接受免疫治疗 T SPOT.TB 阳性率差异无统计学意义<sup>[7]</sup>。

#### 4 小结

本病例:①临床症状不典型:发热时间短,无咳嗽、咯血、胸痛等表现。②CT 表现:右肺下叶孤立的结节及胸膜结节样增生,开始着重于肿瘤方面的排查,但应考虑到肺下叶背段也为结核好发部位。以上几点给临床诊断造成了困难。

T SPOT.TB 技术对风湿性疾病患者活动性结核高危人群

有独特的应用价值,2007 年在瑞士颁布的开始接受抗 TNF- $\alpha$  治疗前筛选潜伏结核感染的指南中已指出:将 IFN- $\gamma$  分泌检测替代 PPD 试验作为筛选潜伏结核感染的标准,并建议对结果阳性的患者在使用抗 TNF- $\alpha$  治疗前进行预防性抗结核治疗。在我国,大部分风湿科专科医师已对这项技术有了一定的认识并已进行临床应用。

#### 5 参考文献

- Dheda K, Pooran A, Pai M, et al. Interpretation of Mycobacterium tuberculosis antigen-specific IFN- $\gamma$  release assays (T-SPOT.TB) and factors that may modulate test results. *J Infect*, 2007, 55: 169-173.
- Chee CB, Gan SH, Khinmar KW, et al. Comparison of sensitivities of two commercial gamma interferon release assays for pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol*, 2008, 46: 1935-1940.
- Kang YA, Lee HW, Hwang SS, et al. Usefulness of whole-blood interferon- $\gamma$  assay and interferon- $\gamma$  enzyme-linked immunospot assay in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Chest*, 2007, 132: 959-965.
- Kim SH, Choi SJ, Kim HB, et al. Diagnostic usefulness of a T-cell based assay for extrapulmonary tuberculosis. *Arch Intern Med*, 2007, 167: 2255-2259.
- 张舒,金嘉琳,张文宏,等.应用 T 细胞酶联免疫斑点法诊断人类免疫缺陷病毒感染合并结核潜伏感染的试验研究.微生物与感染,2007,2;132-135.
- 裘曼曼,金嘉琳,张舒,等.T 细胞酶联免疫斑点法对风湿性疾病患者潜伏性结核感染诊断价值的初步研究.中国风湿病学杂志,2009,13:313-315.
- 胥魏,高恺言,袁风红,等.结核感染 T 细胞斑点试验在风湿性疾病潜伏性结核筛选中的应用.中外医学研究,2010,8:28-30.

(收稿日期:2010-12-30)

(本文编辑:陈淑莲)

(上接第 57 页)

- 2 陈惜贞.乙型肝炎患者 957 例血清学标记物分析.基层医学论坛,2007,11:612-614.
- 3 郭占元,孙燕,韩红玉,等.焦作地区乙肝六项模式在各个年龄组的分布及结果分析.实用临床医学,2002,3:103-105.
- 4 李霞,廖自文,张伟丽,等.1562 例乙型肝炎血清标志物的检测及结果分析.蚌埠医学院学报,2004,29:469-471.
- 5 曾智杰,王小妹,廖慧芳,等.MEIA 法定量检测乙肝病毒表面抗体的临床意义.现代医学仪器与应用,2004,16,7-8.
- 6 陈远林,秦立新,张仁生.乙肝病毒血清学标志物检出模式及其临

床报告.实用预防医学,2005,12:834-836.

- 7 黄波,张国元.ELISA 检测乙肝两对半中两种结果的探讨.川北医学院学报,2003,18:112-113.
- 8 谭璐.化学发光微粒子免疫分析法与酶联免疫法测定乙肝标志物的比较.实用医技杂志,2008,15:294-295.
- 9 Heijtink RA, Schneeberger PM, Postma B, et al. Anti-HBs levels after hepatitis B immunisation depend on test reagents: routinely determined 10 and 100 IU/L seroprotection levels unreliable. *Vaccine*, 2002, 20: 2899-2905.

(收稿日期:2011-01-10)

(本文编辑:李霖)