

不同免疫检验方法在乙型肝炎患者血清标志物检测中的应用

李震

作者单位: 252600 山东聊城, 聊城市第二人民医院检验科

通信作者: 李震, Email: lcerlz@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2023.01.003

【摘要】目的 分析不同免疫检验方法在乙型肝炎病毒(HBV)感染患者血清标志物检测中的应用。**方法** 选择 2021 年 10 月—2022 年 10 月聊城市第二人民医院收治的 80 例乙型肝炎(乙肝)患者作为研究对象。采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)和化学发光法(CLIA)检测血清标志物[包括乙肝表面抗原(HBsAg)、乙肝 e 抗体(HBeAb)、乙肝核心抗体(HBcAb)、乙肝表面抗体(HBsAb)、乙肝 e 抗原(HBeAg)], 分别纳入荧光定量 PCR 组和 CLIA 组, 每组各 40 例。比较两组患者各指标的阳性检出率, 分析并比较两组患者的诊断准确率以及乙肝血清标志物水平。**结果** CLIA 组检出 HBV 感染人数 39 例, 准确率为 97.50%, 荧光定量 PCR 组检出感染人数 32 例, 准确率为 80.00%, CLIA 组的诊断准确率明显高于荧光定量 PCR 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。荧光定量 PCR 组的 HBsAb、HBcAb 检出率与 CLIA 组比较差异均无统计学意义[HBsAb: 15.00% (6/40) 比 17.50% (7/40), HBcAb: 65.00% (26/40) 比 70.00% (28/40), 均 $P > 0.05$], CLIA 组的 HBsAg、HBeAb、HBeAg 检出率均明显高于荧光定量 PCR 组, 差异均有统计学意义[HBsAg: 72.50% (29/40) 比 52.50% (21/40), HBeAb: 30.00% (12/40) 比 10.00% (4/40), HBeAg: 30.00% (12/40) 比 10.00% (4/40), 均 $P < 0.05$]。**结论** 对 HBV 感染患者推荐使用 CLIA 法进行检测, 准确率较高, 操作方法简便, 值得在临床推广。

【关键词】 免疫检验; 乙型肝炎; 病毒感染; 血清标志物; 准确率

Application of different immunoassay methods in detection of serum markers in patients with hepatitis B

Li Zhen. Department of Clinical Laboratory, Liaocheng Second People's Hospital, Liaocheng 252600, Shandong, China

Corresponding author: Li Zhen, Email: lcerlz@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the effect of different immunoassay methods on the detection of serum markers in patients with hepatitis B virus (HBV) infection. **Methods** The 80 patients with hepatitis B who visited Liaocheng Second People's Hospital from October 2021 to October 2022 were selected as research objects. The real-time quantitative fluorescent polymerase chain reaction (PCR) and chemiluminescence (CLIA) were used to detect the serum markers [hepatitis B surface antigen (HBsAg), hepatitis B e antibody (HBeAb), hepatitis B core antibody (HBcAb), hepatitis B surface antibody (HBsAb) and hepatitis B e antigen (HBeAg)], which were included in fluorescent quantitative PCR group and CLIA group, with 40 cases in each group. The positive detectable rates of each index were compared between the two groups, and the diagnostic accuracy and levels of hepatitis B serum markers of two groups were analyzed and compared. **Results** The CLIA group detected 39 cases of HBV infection, with an accuracy of 97.50%, while the fluorescence quantitative PCR group detected 32 cases of HBV infection, with an accuracy of 80.00%. The diagnostic accuracy of CLIA group was significantly higher than that of fluorescence quantitative PCR group, with statistically significant difference ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference in the detectable rates of HBsAb and HBcAb between fluorescence quantitative PCR group and CLIA group [HBsAb: 15.00% (6/40) vs. 17.50% (7/40), HBcAb: 65.00% (26/40) vs. 70.00% (28/40), both $P > 0.05$]. The detectable rates of HBsAg, HBeAb and HBeAg in CLIA group were significantly higher than those in fluorescence quantitative PCR group, and the differences were statistically significant [HBsAg: 72.50% (29/40) vs. 52.50% (21/40), HBeAb: 30.00% (12/40) vs. 10.00% (4/40), HBeAg: 30.00% (12/40) vs. 10.00% (4/40), all $P < 0.05$]. **Conclusion** The CLIA method is recommended for detecting HBV infected patients with high accuracy and simple operation, which is worth promoting in clinical practice.

【Key words】 Immunoassay; Hepatitis B; Viral infection; Serum marker; Accuracy

乙型肝炎(乙肝)是临床上常见的一类传染性疾病,以肝区不适、食欲下降、腹胀、乏力、面色发黑、脾脏增大等作为主要的临床症状,也是影响公共卫生安全的一类重大疾病^[1]。若不及时干预,疾病继续发展,可能引发肝硬化、肝癌等病变,对患者的生命安全造成严重影响^[2]。乙肝病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是常见的乙肝发病因素,临床通过对血清标志物进行检验,有助于及时判断是否感染 HBV,对病毒侵袭的严重程度进行全面评估,从而指导疾病诊疗^[3]。目前临床上常见的乙肝血清标志物检测方法有化学发光法(chemiluminescence, CLIA)、实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)等,但目前尚缺乏系统性的临床研究。CLIA 由酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)改良而来,具有操作简便、时效性高、检测准确率高等优势,有助于了解机体内免疫反应活动程度。实时荧光定量 PCR 法较为传统,容易受到内源性和外源性物质的影响,实际进行血清标志物检验时,乙肝表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)可能出现假阴性结果,HBsAg 水平较高可能导致检测结果受到一定影响。为了对上述两种不同免疫检验方法的应用价值进行分析,本研究选择聊城市第二人民医院收治的 80 例乙肝患者作为研究对象,分析不同检验方法的临床应用价值,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象与分组 选择 2021 年 10 月—2022 年 10 月本院收治的 80 例乙肝患者作为研究对象。根据检验方法不同分为实时荧光定量 PCR 组与 CLIA 组,每组 40 例。

1.1.1 纳入标准 ① 临床资料完整者;② 疾病获得明确诊断,确诊为乙肝的患者;③ 对本研究内容知情同意,自愿参与。

1.1.2 排除标准 ① 精神与认知功能异常;② 妊娠期女性;③ 其他严重疾病患者。

1.1.3 伦理学 本研究符合医学伦理学标准,并经本院伦理审批(审批号:2023-1),所有检测均获得过患者或家属的知情同意。

1.2 研究方法

1.2.1 仪器与试剂 乐普 DA7600 PCR 荧光分析仪及原装配套试剂均购自广州达安基因股份有限公司, Autlo 2000 plus 全自动化学发光仪及原装配套试剂均购自郑州安图生物公司。

1.2.2 检测方法 两组患者均于清晨采集空腹静脉血液标本 5 mL,以 3 000 r/min(离心半径为 10 cm)离心 10 min,标本置于 -20 °C 条件下保存。实时荧光定量 PCR 组采用 PCR 荧光分析仪对乙肝血清标志物进行检验,CLIA 组使用全自动化学发光仪对乙肝血清标志物进行检验,所有操作均严格依照试剂操作说明书进行。

1.3 判定标准 乙肝血清标志物正常参考值范围分别为:HBsAg 0 ~ 0.05 kU/L、乙肝 e 抗体(hepatitis B e antibody, HBeAb) ≥ 0.9 PE kU/L、乙肝核心抗体(hepatitis B core antibody, HBcAb) ≥ 1 PE kU/L、乙肝表面抗体(hepatitis B surface antibody, HBsAb) 0 ~ 11 U/L、乙肝 e 抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg) 0 ~ 0.11 PE kU/L。

1.4 观察指标 ① 比较两组患者的乙肝诊断准确率;② 比较两组患者乙肝血清标志物(包括 HBsAg、HBeAb、HBeAg、HBsAb、HBcAb)的检出率。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 23.0 统计软件进行数据处理。计数资料以例(%)表示,采用 χ^2 检验;计量资料符合正态分布以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验。两组数据比较差异具有统计学意义采用 $P < 0.05$ 表示。

2 结果

2.1 一般资料 两组患者的性别、年龄等一般资料比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),有可比性。见表 1。

表 1 实时荧光定量 PCR 组和 CLIA 组的一般资料比较

组别	例数(例)	性别(例)		年龄(岁)	
		男性	女性	范围	均数($\bar{x} \pm s$)
实时荧光定量 PCR 组	40	22	18	22 ~ 69	45.25 \pm 4.76
CLIA 组	40	23	17	21 ~ 68	45.18 \pm 4.52

注:PCR 为聚合酶链反应,CLIA 为化学发光法

2.2 不同检验方法诊断乙肝的准确率比较 CLIA 组诊断乙肝的准确率明显高于实时荧光定量 PCR 组($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 实时荧光定量 PCR 组和 CLIA 组对乙肝的诊断准确率比较

组别	例数(例)	感染例数(例)	诊断准确率(%)
实时荧光定量 PCR 组	40	32	80.00
CLIA 组	40	39	97.50
χ^2 值			6.135
<i>P</i> 值			0.013

注:PCR 为聚合酶链反应,CLIA 为化学发光法

2.3 不同检验方法乙肝血清标志物检出率比较
两组 HBsAb、HBeAb 检出率比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$), CLIA 组 HBsAg、HBeAb、HBeAg 检出率均明显高于实时荧光定量 PCR 组(均 $P < 0.05$)。见表 3。

**表 3 实时荧光定量 PCR 组和 CLIA 组
乙肝血清标志物检出率比较**

组别	例数 (例)	检出率[% (例)]		
		HBsAg	HBeAb	HBeAg
实时荧光定量 PCR 组	40	52.50(21)	10.00(4)	10.00(4)
CLIA 组	40	72.50(29)	30.00(12)	30.00(12)
χ^2 值		4.412	5.000	5.000
P 值		0.036	0.025	0.025

组别	例数 (例)	检出率[% (例)]	
		HBsAb	HBeAb
实时荧光定量 PCR 组	40	15.00(6)	65.00(26)
CLIA 组	40	17.50(7)	70.00(28)
χ^2 值		0.092	3.333
P 值		0.762	0.068

注: PCR 为聚合酶链反应, CLIA 为化学发光法, HBsAg 为乙肝表面抗原, HBeAb 为乙肝 e 抗体, HBeAg 为乙肝核心抗体, HBsAb 为乙肝表面抗体, HBeAg 为乙肝 e 抗原

3 讨论

HBV 具有较高的传染率与反复发作、治疗难度大等特征,传播途径包括母婴传播、血液和体液传播、医源性感染等^[4],会对人体肝脏功能产生严重的影响,因此应及时诊断并给予积极有效的治疗措施。临床研究指出,目前全球约 1/3 的人口感染过 HBV,每年由于 HBV 感染导致的死亡患者数在 65 万例以上,且我国属于 HBV 感染的重灾区^[5-6]。

近年来,随着我国接种乙肝疫苗人数的快速增加,有效控制了该疾病的传播速度,HBV 属于一类 DNA 病毒,相比其他种类的病毒差异较大,病毒适应性极强,导致治疗难度较高^[7]。一旦感染 HBV,病毒将会直接侵袭人体肝脏部位,在短时间内大量繁殖,导致肝细胞受损。临床研究指出,HBV 感染会引发肝硬化等病变,导致乙肝,若不及时对症干预,疾病继续发展,可能会导致肝癌,对患者身体健康与生命安全造成严重的威胁,降低了患者的生存质量^[8]。因此,对于乙肝患者需及时进行相应的临床诊疗,帮助患者早日明确病情,并采取对症干预措施,提升疾病救治效果,改善预后。

目前临床上对 HBV 感染患者主要采用血清标志物检验方法进行诊断,便于全面评估机体的免疫状态,检验方法包括实时荧光定量 PCR、CLIA 法等^[9]。林树林^[10]研究指出,对乙肝患者采用 CLIA

检测法的准确率较高,同时该方法具有较高的特异度与敏感度,值得在临床上推广,但目前关于上述两类检测方法的临床应用仍然存在不同的意见。临床研究指出,HBV 感染在幼年阶段高发,受到病毒感染后,可能伴有肝脏症状,肝脏可能被侵袭,从而导致肝细胞内部结节,导致肝纤维化等一系列病变。实际进行临床干预时,HBV 存在一定的变异性与耐药性,导致治疗难度递增,因此需尽早明确病情,加强对症诊疗,提高疾病救治效果^[11]。

临床研究指出,HBV 是造成乙肝的主要原因,HBV 属于嗜肝 DNA 病毒的范畴,环境适应能力与抗紫外线能力均较强,导致对 HBV 的治疗效果往往不尽如人意^[12]。疾病出现后,肝脏组织结构大量受损,导致乙肝的发作,因此加强早期临床诊断意义重大,目前主要采用血清标志物检验,评估 HBV 侵袭情况,从而了解患者机体的免疫反应水平^[13]。

乙肝具有较高的传染性,一旦患病会对患者生命安全造成较大的影响,且病毒在体内的潜伏期较长,检出 HBV 时患者常处于病情中后期阶段^[14-15]。本研究结果显示,CLIA 组检测的准确率明显高于实时荧光定量 PCR 组。PCR 检测方法在临床上较常用,具有耗时短、效率高、操作简便等优势,但是仅能定性检测,无法实现定量检测,因此,最终检测准确率并不高,容易导致漏诊、误诊等,且不具备较高的检测稳定性,易受到标本保存质量以及外部条件等多种因素的影响,出现一定的假阴性病例。CLIA 法较先进,是在 ELISA 基础上改良后出现的,具有成本低、耗时短、操作简便等优势,且检测准确率较高,便于对检测指标实现定量与定性分析,具有较高的检测特异度与敏感度^[16-17]。此外,CLIA 检测配置全自动仪器,不易受到外部条件等多种因素的影响,从而获得更精确的诊断结果。

对乙肝患者而言,临床上通过检测血清标志物了解病情进展,HBV 感染后,通过肝细胞质对细胞核进行侵袭,转录后形成 HbsAg^[18]。HBsAg 属于 HBV 的一类包膜蛋白,自身无传染性,当机体受到 HBV 感染后, HbsAg 水平明显升高,在早期血清检测中可以检出该类血清标志物,从而评估患者的实际病情与病毒活性^[19]。HBsAg 和 HBeAg 均为 HBV 形成的重要产物,其中后者为一类分泌类蛋白,当受到 HBV 感染后,临床诊断中可检出。HBeAg 具有较特殊的抗原表位,能诱导机体产生一定数量的抗体,抑制 HBV 复制^[20]。

本研究结果显示,两组 HBsAb、HBcAb 的检出率比较差异均无统计学意义,CLIA 组中 HBsAg、HBeAb、HBeAg 的检出率均明显高于实时荧光定量 PCR 组,表明 CLIA 对乙肝血清标志物有较高的检出率,与多数学者的研究结果一致^[21]。有研究指出,CLIA 是现阶段临床上较先进的检测技术,便于定量检测血清标志物,准确检出低复制水平标本,将传统检测方式中无法检出的隐性血清标志物问题妥善解决^[21]。此外,CLIA 法的线性范围较宽,能实现定量与线性分析方式,对患者机体免疫应答情况进行全面分析,从而了解 HBV 的水平变化,及时调整干预措施,改善患者预后。张瑞等^[22]研究表明,在传统的检测方法中,ELISA 主要依据特定的化学反应连接酶与检测物质,进行免疫反应,使固相载体抗原结合被检测的对象,根据底物显色情况对检测结果进行分析,对 HBV 感染人群有一定的检测效果,相比传统的免疫胶体金法准确率更高,便于定性检测。ELISA 法依据显色度评估抗体水平,实际检测时标本无污染,医疗费用较低,且对异常检测结果能够实现再次检测。ELISA 法受到多种因素的影响,容易造成检测结果不准确,存在一定的假阳性率,因此临床应用有一定的局限性^[23]。

综上所述,对 HBV 感染患者推荐采用 CLIA 法进行检测,该方法具有较高的准确率且操作简便,有助于及时了解患者病情变化,为后续临床治疗提供相关的实验室数据,值得在临床推广。

利益冲突 作者声明不存在利益冲突

参考文献

- 李鑫,李志勤,苏彬彬,等.不同免疫检验方法检测乙肝病毒感染血清标志物的效果分析[J].医学食疗与健康,2022,20(17):59-61.
- 赵艳争,陈凯,王学菊.两种免疫检验方法检测乙肝病毒感染血清标志物的对比分析[J].中国医疗器械信息,2022,28(2):4-7. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6586.2022.02.002.
- 段金霞,勾朝阳,刘博,等.电化学发光法和酶联吸附法检测乙肝病毒感染血清标志物的效果[J].临床医学,2022,42(7):72-74. DOI: 10.19528/j.issn.1003-3548.2022.07.026.
- 林敏全,黎丽红,麦伟图,等.化学发光(吡啶酯发光)与 ELISA 在乙肝病毒血清学检验中的应用价值探讨[J].基层医学论坛,2022,26(13):31-33. DOI: 10.19435/j.1672-1721.2022.13.010.
- 李彦黎,袁红霞,刘传丽,等.2527例乙肝患者 HBV-DNA 定量检测与其血清标志物的相关性研究[J].保健医学研究与实践,2022,19(8):83-88. DOI: 10.11986/j.issn.1673-873X.2022.08.019.
- 沙启明.HBV-DNA 载量水平与血清学标志物分组模式及前 S1 抗原的关系[J].临床与病理杂志,2022,42(1):33-38. DOI: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.01.005.
- 次平,陈静瑶,杨强,等.2020年西藏米林县儿童乙型肝炎病毒性肝炎血清标志物调查[J].预防医学情报杂志,2022,38(4):528-532.
- 王广荣.某院孕产妇感染性病原体血清标志物的检测结果分析[J].实用检验医师杂志,2019,11(2):88-90. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.02.008.
- 欧武英,蔡丽云,潘建华,等.红细胞外铁分布在 HBV 感染临床不同阶段的变化及预测再活动期的价值[J].中华医院感染学杂志,2022,32(10):1491-1494. DOI: 10.11816/cn.ni.2022-210981.
- 林树林.全自动化学发光仪用于乙肝病毒血清学检验的临床价值[J].中国医疗器械信息,2021,27(16):54-56. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6586.2021.16.023.
- 王璐.不同免疫检验方法检测乙型肝炎标志物的价值[J].中国卫生工程学,2021,20(6):977-978. DOI: 10.19937/j.issn.1671-4199.2021.06.035.
- 王林,余莉.某院 2019—2020 年住院患者传染性病原体血清标志物检测结果分析[J].国际检验医学杂志,2021,42(12):1525-1527. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.12.027.
- 焦阳,李靖.化学发光免疫分析法与酶联免疫吸附测定法对 HBV 感染者血清乙肝标志物的检测效果比较[J].河南医学研究,2020,29(17):3225-3226. DOI: 10.3969/j.issn.1004-437X.2020.17.074.
- 张玲,郑荣,何三军,等.慢性乙型肝炎患者 HBV-DNA 载量、肝功能指标与免疫学标志物的相关性研究[J].检验医学与临床,2020,17(22):3348-3350. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2020.22.039.
- 李董姣,刘益,陈丽媛,等.乙型肝炎病毒 DNA 检测与电化学免疫发光分析技术结果的相关性研究[J].临床医学研究与实践,2020,5(19):97-99. DOI: 10.19347/j.cnki.2096-1413.202019039.
- 徐建.HISCL-5000 高敏发光全自动免疫分析仪检测感染性指标的临床性能评价研究进展[J].中国医疗器械信息,2020,26(8):22-23. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6586.2020.08.012.
- 朱国勇,章豫,艾艳红,等.襄阳地区乙肝病毒流行状况调查及相关因素分析[J].国际检验医学杂志,2020,41(3):305-309. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.03.013.
- 丁颖.探讨乙型肝炎病毒性肝炎患者的两对半检查结果和 HBV-DNA 检验结果分析[J].糖尿病天地,2020,17(11):127.
- 傅晓春,叶辉铭.HBsAg 新增 N-糖基化突变的研究进展[J].临床检验杂志,2020,38(6):450-453. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2020.06.16.
- 赵小平.两种不同免疫检验方法检测乙型肝炎病毒感染血清学标志物的临床对比探讨[J].中外医学研究,2019,17(3):56-57. DOI: 10.14033/j.cnki.cfmr.2019.03.025.
- 何成山,马晨芸,陆志成.化学发光免疫分析法检测 HBcAb 阳性、HBsAg 阴性血清中隐匿性乙型肝炎病毒感染的分析[J].标记免疫分析与临床,2019,26(1):130-133,172. DOI: 10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2019.01.033.
- 张瑞,吴欣,秦永亮,等.ADVIA Centaur XP 全自动化学发光免疫分析仪检测感染性血清标志物的性能评价[J].医疗卫生装备,2019,40(10):53-56. DOI: 10.19745/j.1003-8868.2019247.
- 苗静,郭丽颖,王丽,等.MELD-Na、CLIF-C OFs、COSSH-ACLFs、NLR 评分体系在乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭患者中的应用价值研究[J].中华危重病急救医学,2020,32(12):1496-1501. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200720-00536.

(收稿日期:2023-02-24)

(本文编辑:邵文)