

两种免疫学方法检测 HBV 感染血清标志物与慢性乙型肝炎 HBV-DNA 定量相关性研究

焦何青, 杨艳萍*, 李莎, 蔡鹏虎, 李翔

(新疆生产建设兵团第十三师红星医院, 哈密 839000)

摘要: **目的** 研究化学发光免疫分析 (CLIA) 与酶联免疫吸附试验 (ELISA) 在 HBV 感染患者血清标志物检测中的准确性, 并分析血清标志物与乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸 (HBV-DNA) 的定量相关性。 **方法** 将本院 2023 年 1 月—2024 年 1 月期间收治的 86 例乙型肝炎患者作为研究对象, 采用两种免疫学检测方法检测患者的 HBV 血清标志物, 分析两种检测方法的准确性, 并采用实时荧光聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 检测进行 HBV-DNA 载量定量分析。采用 McNemar's 检验对血清标志物与 HBV-DNA 的定量相关性进行分析。 **结果** 两种检测方式在 HBsAg、HBsAb 和 HBeAg 阳性率检测中的一致性为中等, 在 HBeAb 和 HBcAb 阳性率检测中的一致性为较强; 以 ELISA 作为金标准, CLIA 检测的灵敏度为 97.30%, 特异度为 75.00%, 以 CLIA 作为金标准, ELISA 检测的灵敏度为 96.00%, 特异度为 81.82%; 6 种血清模式中, 乙肝大三阳患者的 HBV-DNA 阳性率为 95.65%, HBV-DNA 定量平均值 1.12×10^8 copies/mL, 显著高于其他 5 种模式; 小三阳的 HBV-DNA 阳性检出率也相对较高 (65.63%)。 **结论** 两种检测方式在 HBV 感染血清标志物检测中具有较强的一致性, 但是 CLIA 检测的灵敏度高于 ELISA 检测。不同血清模式患者 HBV-DNA 的阳性率和 HBV-DNA 定量结果都存在较大差异性。

关键词: 慢性乙型肝炎; 化学发光免疫分析; 酶联免疫吸附试验; 检测; 乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸; 相关性

Correlation between two immunological methods for detecting serum markers of HBV infection and quantification of HBV-DNA in chronic hepatitis B

JIAO He-Qing, YANG Yan-Ping*, LI Sha, CAI Peng-Hu, LI Xiang

(Hongxing Hospital of the 13th Division of Xinjiang Production and Construction Corps, Hami 839000, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the accuracy of chemiluminescence immunoassay (CLIA) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the detection of serum markers in patients with HBV infection, and to analyze the quantitative correlation between serum markers and hepatitis B virus deoxyribonucleic acid (HBV-DNA). **Methods** A total of 86 patients with hepatitis B admitted to our hospital from January 2023 to January 2024 were selected as subjects. Two immunological detection methods were used to detect HBV serum markers, and the accuracy of the two detection methods was analyzed. Real-time fluorescent polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used for quantitative analysis of HBV-DNA load. McNemar's test was used to analyze the quantitative correlation between serum markers and HBV-DNA. **Results** The positive rates of HBsAg, HBsAb and HBeAg were moderate, but the positive rates of HBeAb and HBcAb were strong. With ELISA as the gold standard, the sensitivity and specificity of CLIA assay were 97.30% and 75.00%, while with CLIA as the gold standard, the sensitivity and specificity of ELISA assay were 96.00% and 81.82%. Among the 6 serum models, the positive rate of HBV-DNA was 95.65%, and the mean quantity of HBV-DNA was 1.12×10^8 copies/mL, which was significantly higher than that of the other 5 models. The positive rate of HBV-DNA in Xiaosanyang was also relatively high (65.63%). **Conclusion** The two methods have strong consistency in detecting serum markers of HBV infection, but the

基金项目: 课题名称: 本文系 2024 年新疆生产建设兵团十三师新星市科学技术局规划课题“两种免疫学方法检测 HBV 感染血清标志物与慢性乙型肝炎 HBV-DNA 定量相关性研究”(课题批准号: 2024E9)的研究成果

Fund: Project Name: This Paper is the Research Result of the Project “Quantitative Correlation between Serum Markers of HBV Infection and HBV DNA of Chronic Hepatitis B by Two Immunological Methods” Planned by Xinxing City Science and Technology Bureau of the 13th Division of Xinjiang Production and Construction Corps in 2024 (Project Approval Number: 2024E9)

*通信作者: 杨艳萍, 主管检验师, 研究方向: 分子诊断。E-mail: 327489263@qq.com

*Corresponding author: YANG Yan-Ping, Chief Inspector, Hongxing Hospital of the 13th Division of Xinjiang Production and Construction Corps, Hami 839000, China. E-mail: 327489263@qq.com

sensitivity of CLIA is higher than that of ELISA. The positive rate of HBV-DNA and the quantitative results of HBV-DNA in patients with different serum patterns were significantly different.

KEY WORDS: chronic hepatitis B; chemiluminescence immunoassay; enzyme-linked immunosorbent assay; detection; hepatitis B virus deoxyribonucleic acid; correlation

0 引言

乙型肝炎病毒 (HBV) 感染是威胁人们身体健康的重要因素, 可导致患者发生慢性乙型肝炎, 如果不采取有效的治疗措施, 可能会进展为晚期纤维化、肝硬化、肝衰竭以及肝癌等, 持续抑制严重威胁人们的生命安全^[1]。临床治疗中主要采用抗病毒治疗抑制 HBV 病毒的复制, 并在一定情况下可以持续响应获得性血清学应答。但是实现根除 HBV 病毒依然是治疗 HBV 感染最理想的病程结局^[2]。相关研究表明, HBV 病毒的 DNA 发生突变能够使病毒产生更强的耐药性, 100 例接受 HBV 疫苗的健康人中, 会存在 5 人未获得血清免疫学保护的情况^[3], 所以, 精准诊断 HBV 对指导患者管理和控制感染源向易感染人群传播具有非常重要的意义。血清标志物检测是 HBV 病毒检测最常用的检测方法, 通过血清标志物检测可以判断是否发生 HBV 感染。临床主要采用化学发光免疫分析 (CLIA) 和酶联免疫吸附试验 (ELISA) 两种检测方法来进行 HBV 血清标志物的检测^[4]。HNV-DNA 定量分析是对患者体内 HBV-DNA 的含量进行测定, 通过患者 HBV-DNA 含量可以直接判断患者体内的病毒复制水平和传染性强弱, 该方法是 HBV 检测的金标准^[5]。为了保证 HBV 感染诊断的准确性, 本文将对两种检测方法在 HBV 感染血清标志物检测中的准确性进行分析, 并对血清标志物与 HBV-DNA 定量相关性进行研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本次研究以我院 2023 年 1 月—2024 年 1 月期间收治的 86 例慢性乙型肝炎患者作为研究对象。患者年龄为 18~72 岁, 平均年龄 (47.35±7.25) 岁, 其中男性患者 54 例, 女性患者 32 例。

纳入标准: (1) 患者均通过临床检查和实验室检查确诊为 HBV 感染; (2) 患者在 6 个月内未进行抗病毒治疗; (3) 患者均无中枢神经系统疾病。排除标准: (1) 合并感染 HIV 患者; (2) 合并免疫性肝炎患者; (3) 合并脂肪肝患者^[6]。

1.2 检测方法

CLIA 检测: 采集患者 3 mL 空腹静脉血, 在 3000r/min 的离心转速下离心处理 10 min, 进行血清分离。然后采用全自动化学发光免疫分析仪 (美国雅培生产的 ALinity 免疫发光分析系统) 结合 HBV 血清标志物试剂盒进行检测。定量检测乙肝表面抗原 (HBsAg) 的量 (IU/mL), >0.05 IU/mL 为阳性; 定量检测乙肝表面抗体 (HBsAb) 的量 (mIU/mL) ≥10 mIU/mL 为阳性, 定性检测乙肝 e 抗原 (HBeAg)、乙肝 e 抗体 (HBeAb) 和乙肝核心抗体 (HBcAb) 的值, 结果用 COI 表示。COI 值 ≥1 为 HBsAb 和 HBeAg 检测为阳性, COI 值 <1 为 HBeAb 和 HBcAb 检测为阳性。(2) ELISA 检测: 采集患者 3 mL 空腹静脉血, 并进行离心处理获取血清。然后采用全自动酶标仪 (艾德康 Addcare1100 全自动酶联免疫工作站) 进行检测, 所有试验结果均表示为 S/CO (样品吸光度/终末吸光度), 当 S/CO 值 ≥1 时, HBsAg、HBsAb 和 HBeAg 检测为阳性; 当 S/CO 值 <1 时, HBeAb 和 HBcAb 检测为阳性。(3) HBV-DNA 定量分析: 采集患者 3 mL 空腹静脉血, 通过离心处理方式进行血清分离, 然后采用天隆全自动医用 PCR 分析仪 (Gentier96E) 进行 HBV-DNA 检测。

1.3 观察指标

两种检测方法的一致性分析: 分别统计 CLIA 和 ELISA 两种检测方法检测结果 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 和 HBcAb 的阳性率情况, 分析两种检测方法的符合率 (Kappa 值), 判断两种检测方法在 HBV 感染血清标志物检测中的一致性。(2) 两种检测方法的准确性分析: 分别将 CLIA 和 ELISA 作为 HBV 感染血清标志物检测的金标准, 来进行两种检测方法的一致性、灵敏度以及特异性分析。(3) 根据免疫学检测结果将患者的血清模式分为 A[HBsAg(+), HBsAb(-), HBeAg(+), HBeAb(-), HBc(+)], B[HBsAg(+), HBsAb(-), HBeAg(-), HBeAb(+), HBc(+)], C[HBsAg(+), HBsAb(+), HBeAg(+), HBeAb(-), HBc(+)], D[HBsAg(+), HBsAb(+), HBeAg(-), HBeAb(+), HBc(+)], E[HBsAg(+), HBsAb(-), HBeAg(+), HBeAb(+), HBc(+)] 和 F[HBsAg(+), HBsAb(-), HBeAg(+), HBeAb(-), HBc(-)] 6 种模式, 分析不同血清模式下患者 HBV-DNA 定量结果的差异性。

1.4 统计学处理

本次研究采用 EXCEL 对各项数据进行整理, 并通过 SPSS22.0 软件进行统计学分析; 计数资料采用 $n(\%)$ 表示, 进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 CLIA 和 ELISA 两种检测方法一致性分析结果

如表 1 所示, 两种检测方式在 HBsAg、HBsAb 和 HBeAg 阳性率检测中的一致性为中等, 在 HBeAb 和 HBcAb 阳性率检测中的一致性为较强, 说明采用两种检测方式具有较高的一致性。

表 1 CLIA 和 ELISA 检测阳性率、符合率和 κ 值表

Table 1 Table of CLIA and ELISA test positivity, compliance and κ -values

检测结果	CLIA 阳性率	ELISA 阳性率	符合率(%)	κ -值	一致性
HBsAg	57(66.28)	47(54.65)	88.37	0.760	中等
HBsAb	69(80.23)	52(60.47)	84.88	0.672	中等
HBeAg	56(65.12)	55(63.95)	82.56	0.619	中等
HBeAb	51(59.30)	54(62.79)	96.51	0.927	较强
HBcAb	42(48.84)	45(52.33)	96.51	0.930	较强

2.2 CLIA 和 ELISA 两种检测方法准确性分析结果

如表 2 所示, 以 ELISA 作为金标准时, CLIA 检测的敏感度为 97.30%, 特异度为 75.00%, 以 CLIA 作为金标准时, ELISA 检测的敏感度为 96.00%, 特异度为 81.82%, 结果表明, CLIA 比 ELISA 具有更高的敏感度, 而 ELISA 比 CLIA 具有更高的特异度。

2.3 HBV 感染血清标志物与 HBV-DNA 定量相关性分析

如表 3 所示, 6 种血清模式中, 乙肝大三阳患者的 HBV-DNA 阳性率为 95.65%, HBV-DNA 定量平均值 1.12×10^8 copies/mL, 显著高于其他 5 种模式, 同时, 小三阳的 HBV-DNA 阳性检出率也相对较高, 为 65.63%, 其他四种血清类型的病例数相对较小, HBV-DNA 检测结果的统计学意义较低。

表2 CLIA和ELISA两种检测方法准确性分析表

Table 2 Table analysing the accuracy of the two assays CLIA and ELISA

检查项目	结果	ELISA		合计	敏感度	特异度
		阳性	阴性			
CLIA	阳性	72	3	75	97.30	75.00
	阴性	2	9	11		
合计		74	12	86		
检查项目	结果	CLIA		合计	敏感度	特异度
		阳性	阴性			
ELISA	阳性	72	2	74	96.00	81.82
	阴性	3	9	12		
合计		75	11	86		

表3 HBV感染血清标志物与HBV-DNA定量相关性分析表

Table 3 Table of quantitative correlation analysis between serum markers of HBV infection and HBV-DNA

血清模式	例数	HBV-DNA阳性例数	阳性率(%)	HBV-DNA定量平均值(copies/mL)
A	46	44	95.65	1.12×10^8
B	32	21	65.63	5.3×10^7
C	3	2	66.67	1.3×10^4
D	2	1	50.00	$<5.0 \times 10^2$
E	2	1	50.00	$<5.0 \times 10^2$
F	1	1	100.00	5.8×10^7

3 讨论与结论

慢性乙型肝炎是常见的传染性疾病,传播较为广泛,存在较大的危害性。HBV病毒感染是导致患者发生慢性乙型肝炎的主要因素,病毒进入人体的肝脏后,会发生自我繁殖和复制,导致人体肝脏的正常细胞受到破坏,从而使人体的肝功能受到较为严重的影响。随着HBV感染病情的进展,人体的肝脏会受到更加严重的损害,很可能导致肝硬化、肝脏衰竭以及肝癌等疾病^[7]。患者发生HBV感染后,其血清标志物会包含多种HBV相关指标,对患者的疾病诊断以及病情进展评估有非常重要的参考作用^[8]。临床诊断中主要采用CLIA和ELISA来进行HBV感染血清标志物的检测,能够有效判断患者的病因状况,为患者的治疗提供相应的参考^[9]。而HBV-DNA是判断HBV病毒复制活动最直接可靠的依据,通过HBV-DNA定量检测能够更好地了解慢性乙型肝炎患者的传染性大小和治疗效果,为患者的临床治疗提供相应的参考^[10]。

本研究结果表明,两种检测方式具有较高的一致性。同时,CLIA比ELISA具有更高的敏感度,而ELISA比CLIA具有更高的特异度。说明采用两种检测方法都能够有效分析患者的HBV感染血清标志物,但CLIA检测方法具有更高的检测准确性。这是因为ELISA检测方法在临床应用过程中会因为保存温度、操作方法等因素的影响,导致检测结果存在一定的误差^[11],而CLIA检测方法全程采用了自动化的检测方式,有效避免了检测过程中人为因素等对检测结果的干扰,所以具有较高的检测准确性^[12]。本次研究表明,6种血清模式中,乙肝大三阳患者的HBV-DNA阳性检出率显著高于其他5种模式,小三阳的HBV-DNA阳性检出率为65.63%。说明不同血清模式患者的HBV-DNA检测结果存在较大的差异性。这是因为HBV病毒的基因存在S区、前C区等部X发生变异的情况^[13],会降低HBV的复制水平,从而导致HBsAg不能准确检出,或者HBsAb无法有效将血清中的HBV进行清除^[14]。从而导致患者体内的HBV-DNA载量相对较低,造成患者在检测过程中存在血清标志物检测与HBV-DNA定量检测结果不一致的情况。

两种检测方式在HBV感染血清标志物检测中具有较好的

一致性,但CLIA检测方法具有更高的灵敏度,能够更加准确地进行HBV感染血清标志物的检测。同时,HBV感染血清标志物与HBV-DNA定量具有较强的相关性。所以在HBV临床检查中建议采用CLIA检测方法进行血清标志物检测。本次研究中,样本数量相对较少,可能会对两种检测方法的准确性产生一定的影响,同时在进行HBV-DNA与不同血清模式的相关性分析中,存在C、D、E、F四种血清模式样本数量较小的问题,可能会影响相关性的准确性。所以在后续的研究中,还需要进一步增加研究的样本数量,来提升研究的准确性。

参考文献

- [1] BENGSCHE B, CHANG KM. Evolution in Our Understanding of Hepatitis B Virus Virology and Immunology [J]. Clin Liver Dis, 2016, 20(04): 629-644.
- [2] BOTTERO J, BOYD A, LEMOINE M, et al. Current state of and needs for hepatitis B screening: results of a large screening study in a low-prevalent, metropolitan region [J]. PLoS One, 2014, 9(03): e92266.
- [3] NICOLINI LA, ORSI A, TATARELLI P, et al. A Global View to HBV Chronic Infection: Evolving Strategies for Diagnosis, Treatment and Prevention in Immunocompetent Individuals. Int J Environ Res Public Health, 2019, 16(18): 3307.
- [4] 史桂芳. 乙型肝炎病毒感染血清学标志物采用两种不同免疫检验方法检测的临床比较研究[J]. 饮食保健, 2019, 6(47): 234.
- [5] 吴红梅. 两种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研究[J]. 中国农村卫生, 2020, 12(14): 53.
- [6] 叶晓云, 黄明珠, 黄丽霞, 等. 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分析[J]. 现代诊断与治疗, 2016, 27(22): 4348-4349.
- [7] 邓超, 郝潇. 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分析[J]. 临床研究, 2018, 26(12): 135-136.
- [8] 马莉, 夏岁华. 两种方法检测乙型肝炎病毒血清学标志物的比较[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(10): 945-946.
- [9] 郭妮娜. 两种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研究[J]. 世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊), 2019, 19(46): 224.
- [10] 阮月芹, 韩兆东, 陈佳荣, 等. 两种方法检测HBV标志物阳性患者血清HBVDNA载量结果[J]. 现代医药卫生, 2006, 22(21): 3265-3266.
- [11] 毛庆民, 毛鑫. HBV感染者血清标志物与HBV-DNA定量对比分析[J]. 解放军预防医学杂志, 2011, 29(05): 382.
- [12] 程苗, 袁果, 郭宾, 等. HBV-DNA病毒载量在不同HBV感染产妇产后血清、唾液、乳汁中的变化及与肝功能的相关性研究[J]. 临床医学工程, 2024, 31(02): 203-204.
- [13] 黄国珍. HBV感染者HBsAg阳性的血清学标志物少见模式与HBV-DNA、肝功能的相关性[J]. 中国医药导刊, 2014, (04): 720-721, 723.
- [14] 陈琼, 陈蓉, 曾艺馨, 等. 乙型肝炎病毒感染患者HBV-DNA载量与血清及肝纤维化标志物的关系[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(15): 3487-3489, 3509.

作者信息

焦何青, 主管检验师, 研究方向: 微生物、分子诊断。
 杨艳萍, 主管检验师, 研究方向: 分子诊断。
 李莎, 主管检验师, 研究方向: 分子诊断。
 蔡鹏虎, 初级检验师, 研究方向: 分子诊断。
 李翔, 硕士, 副主任检验师, 研究方向: 临床化学。