

时间分辨免疫荧光法检测乙型肝炎病毒血清标志物的研究

吕荣敏(广西壮族自治区贺州市钟山县人民医院 542600)

【摘要】 目的 探讨时间分辨免疫荧光法(TRFIA)检测乙型肝炎病毒(HBV)血清标志物的准确性及意义。**方法** 选取 2011 年 1 月至 2013 年 1 月在该院就诊的乙型肝炎(乙肝)或疑似乙肝患者 180 例,分别采用 TRFIA 定量和酶联免疫吸附试验(ELISA)定性两种方法检测患者的临床血清标本的乙型肝炎病毒表面抗体(HBsAb)、乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)、乙型肝炎病毒核心抗体(HBcAb)、乙型肝炎病毒 e 抗体(HBeAb)5 个指标,将 TRFIA 设为治疗组,ELISA 设为对照组,通过 κ 检验对两种方法间的一致程度进行评价。**结果** 采用 TRFIA 检测 HBV 血清标志物 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 的阳性率分别为 47.1%、41.1%、44.4%、58.9%、48.9%,采用 ELISA 检测的阳性率分别为 48.3%、42.2%、42.2%、57.8%、52.2%,两组阳性率差异无统计学意义($P>0.05$);两种方法检测 5 个指标的效率均表现高度的一致,其中 HBsAb 指标表现为极强的一致性,其他指标表现为高度一致。**结论** 在检测 HBV 血清标志物方面,传统的 ELISA 可靠性也较高,与 TRFIA 一致性较高,都具有很高的应用价值。

【关键词】 乙型肝炎病毒; 时间分辨免疫荧光法; 酶联免疫吸附试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.22.026 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)22-3151-02

Comparative study of detection of HBV serum markers by time-resolved fluoroimmunoassay LV Rong-min(Zhongshan County Hospital, Hezhou, Guangxi 542600, China)

【Abstract】 Objective To investigate the accuracy and significance of the time-resolved fluoroimmunoassay (TRFIA) in detecting hepatitis B virus serum markers. **Methods** 180 patients with hepatitis B or suspected hepatitis B in our hospital from January 2011 to January 2013 were selected. The TRFIA and the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) were adopted to quantitatively and qualitatively detect 5 serum indexes of hepatitis B surface antibody (HBsAb), hepatitis B virus surface antigen (HBsAg), hepatitis B virus e antigen (HBeAg), hepatitis B core antibody (HBcAb) and hepatitis B virus e antibody (HBeAb) respectively. TRFIA was taken as the treatment group and ELISA as the control group. The consistency of the two kinds of method was evaluated by the κ -test. **Results** The serum positive rates of HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb detected by TRFIA were 47.1%, 41.1%, 44.4%, 58.9% and 48.9% respectively; which detected by ELISA were 48.3%, 42.2%, 42.2%, 57.8% and 52.2% respectively, the differences between the two group had no statistical significance ($P>0.05$); the efficiency of two methods for detecting these 5 indexes was highly consistent, in which the HBsAb index showed extremely strong consistent and other indicators showed high consistency. **Conclusion** In the detection of HBV serum markers, the traditional ELISA has higher reliability and higher consistency with TRFIA. The two kinds of method have very high application value.

【Key words】 hepatitis B virus; time resolved fluoroimmunoassay; immunosorbent assay

乙型肝炎(乙肝)属于感染类疾病,是由乙型肝炎病毒(HBV)感染所引起的,是目前临床危害最严重、流行最广泛的病毒性肝炎类疾病之一^[1]。有关报道称,就我国 2005~2010 年乙肝流行病学特征,发现乙肝的发病率呈整体上升趋势,2010 年后呈下降趋势,报道中以慢性乙肝为主,占 92% 左右。HBV 感染后可造成多种临床后果,其中包括非活动性 HBV 携带状态、自限性感染、慢性乙肝及肝硬化等^[2],所以对于乙肝的早期诊断、治疗很重要,诊断乙肝的传统方法要参照血清免疫学的 HBV 检测,现代医学诊断中运用聚合酶链反应(PCR)等一类高敏感性方法并结合免疫组织化学法进一步检测血清中病毒 DNA,虽然如此,利用血清标志物检测仍是目前重要的临床诊断、判断病毒感染性传染性及病程的方法^[3]。传统上临床实验室主要采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 HBV 血清标志物,近年来,时间分辨免疫荧光法(TRFIA)也逐渐应用于临床,本文通过收集 180 例乙肝或疑似乙肝的临床血清标

本,分别采用 TRFIA 和 ELISA 检测乙型肝炎病毒表面抗体(HBsAb)、乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)、和乙型肝炎病毒核心抗体(HBcAb)、乙型肝炎病毒 e 抗体(HBeAb)5 项指标,比较两种方法检测结果差异。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 1 月至 2013 年 1 月在本院就诊的乙肝或疑似乙肝患者 180 例,其中男 92 例,女 88 例;年龄 19~76 岁,平均 48.5 岁。

1.2 方法 所有患者采血前均 6 h 禁食禁水,空腹抽取 5 mL 静脉血,3 000 r/min 离心 10 min 将血清分离,保存于一 80 ℃ 的冰箱内待检^[4]。分别采用 ELISA 和 TRFIA 两种方法检测 180 例患者的临床血清标本的 HBsAb、HBsAg、HBeAg、HBcAb、HBeAb 5 个指标。按照本院及科室标准的操作程序规定利用 AT2000 时间分辨免疫荧光分析仪进行 TRFIA 检测;利

用新波生物 AT2000 时间分辨免疫荧光分析仪及配套原厂试剂盒进行 ELISA 检测^[5]。

1.3 检测结果判定 ELISA 判断标准为 HBsAb、HBsAg、HBeAg 的结果均为患者的血清标本 A 值/阴性对照,平均 A 值小于 2.1 可判断为阴性,平均 A 值大于或等于 2.1 可判断为阳性;HBeAb(COV)=(阳性对照平均 OD 值+阴性对照平均 A 值)/2,COV≤A 值为阴性,COV>A 值为阳性。HBcAb 判定按照 1:20 的比例将血清稀释,COV=0.5×阴性对照平均 A 值,标本 COV≤A 值为阴性,标本 COV>A 值为阳性。TRFIA 法判断标准为 HBsAb 参考值 0~10 mIU/nd,HBsAg 的参考值为 0~0.5 ng/mL,HBeAg 参考值 0~0.03 ncu/mL,HBcAb 参考值 0~0.1 ncu/mL,HBeAb 参考值 0~1.5 ncu/mL,超过以上参考值即可诊断为阳性。一致性的强弱程度按照 Koch 和 Landis 以 κ 系数的大小划分区段来判断,极差为 κ<0,微弱为 0≤κ≤0.2;弱为 0.2<κ≤0.4;中度为 0.4<κ≤0.6;高度为 0.6<κ≤0.8;极强为 0.8<κ≤1.0。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行处理,计数资料以率表示,比较采用 χ² 检验,用 μ 检验排除抽样误差的影响。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

采用 TRFIA 方法检测 HBV 血清标志物 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 的阳性率为 47.1%、41.1%、44.4%、58.9%、48.9%,采用 ELISA 法检测的阳性率分别为 48.3%、42.2%、42.2%、57.8%、52.2%,两组阳性率差异无统计学意义(P>0.05);κ 值范围为 0.68~0.83,其中 HBsAb 最高而 HBeAb 最低,μ 值范围为 8.97~17.98,其中 HBsAb 最高而 HBeAb 最低。两种方法检测 5 个指标的效率表现出极强或高度一致性,差异无统计学意义(P>0.05)。见表 1。

表 1 ELISA 和 TRFIA 两种方法检测 HBV 血清标志物的结果比较情况

HBV 血清标志物	TRFIA	ELISA		κ	μ	一致性
		阳性	阴性			
HBsAb	阳性	68	6	0.83	17.98	极强
	阴性	8	98			
HBsAg	阳性	78	4	0.69	14.18	高度
	阴性	6	86			
HBeAg	阳性	68	12	0.76	14.89	高度
	阴性	8	92			
HBcAb	阳性	84	4	0.72	12.86	高度
	阴性	10	82			
HBeAb	阳性	96	10	0.68	8.97	高度
	阴性	8	66			

3 讨 论

有关资料表明,全球现在已有约 3 亿人患有乙肝,我国大约有 0.93 亿人携带 HBV^[6]。慢性肝炎患者主要表现为疲乏、肝区不适、肝大、食欲减退、面色暗黄、蜘蛛痣等;重症肝炎的主要临床表现为黄疸迅速加深、肝脏进行性缩小、患者计算能力下降、精神异常、嗜睡,出现少尿、无尿、血尿等现象。

临床实验室检测 HBV 血清标志物的方法很多,其中以 ELISA 最为常见,TRFIA 也逐渐应用与临床,本研究采用 ELISA 和 TRFIA 两种方法检测 HBsAb、HBsAg、HBeAg、HBcAb、HBeAb 5 项指标,通过检测结果可发现 TRFIA 和 ELISA 两种方法检测 5 种 HBV 血清标志物的结果阳性率表现出极强或高度一致性,其中两种方法检测血清 HBsAb 指标表现为极强一致性,其他 4 项指标表现为高度一致。虽然两种方法间未发现明显差异,但 ELISA 在检测 HBsAg 指标上出现 6 例漏检,说明此方法的敏感性稍低,所以临床在诊断可能发生病毒变异或处于病毒复制期的患者应结合 DNA、HBV 和 YMDD 的基因检测结果进行综合分析,以利于明确诊断^[7-8]。

总之,在应用 TRFIA、ELISA 对乙肝血清标志物进行检测时,其结果会保持高度的一致性,这便于结果互认。

参考文献

[1] 崔凡,邵晓敏.时间分辨免疫荧光法检测 HBV 血清标志物的对比分析[J].医学检验与临床,2012,23(3):18-20.

[2] 刘涛,王彦朝.不同方法学检测乙型肝炎肝炎血清标志物结果评价[J].中国医药指南,2013,11(8):121-122.

[3] 朱丽坤.不同方法学检测乙型肝炎血清标志物结果的评价分析[J].按摩与康复医学:中旬刊,2011,2(10):22.

[4] 张登灿.时间分辨免疫荧光技术检测 3 项血清指标的临床应用[J].检验医学与临床,2011,8(14):1769-1771.

[5] 吉飞跃,钱开成.确证 TRFIA 检测乙肝病毒表面抗体结果的研究[J].标记免疫分析与临床,2011,18(1):33-35.

[6] 李先莉.时间分辨免疫荧光技术在乙型肝炎病毒标志物测定中的应用[J].检验医学与临床,2012,9(5):602-603.

[7] Thompson AJ, Nguyen T, Iser D. Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers; disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. [J]. Hepatology, 2010, 51(6): 1933-1944.

[8] 陈兴文.前 S2 抗原、HBV 血清标志物与 HBV-DNA 检测结果的相关性探讨[J].检验医学与临床,2009,6(12): 959-960.

(收稿日期:2013-11-25 修回日期:2014-04-12)

(上接第 3150 页)

Mahmoudi M, et al. Evaluation of human papilloma virus infection in patients with esophageal squamous cell carcinoma from the Caspian Sea area, north of Iran[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(4): 1261-1266.

[8] Abdirad A, Eram N, Behzadi AH, et al. Human papillomavirus detected in esophageal squamous cell carcinoma in Iran[J]. Eur J Intern Med, 2012, 23(2): 59-62.

[9] Antonsson A, Nancarrow DJ, Brown IS, et al. High-risk

human papillomavirus in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010, 19(8): 2080-2087.

[10] Chen MH, Chang PM, Li WY, et al. High incidence of oral squamous cell carcinoma independent of HPV infection after allogeneic hematopoietic SCT in Taiwan[J]. Bone Marrow Transplant, 2011, 46(4): 567-572.

(收稿日期:2014-02-10 修回日期:2014-05-16)