

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.14.014

基于拉曼光谱技术对丙型肝炎患者血清的检测*

秦 洁¹, 张朝霞^{1△}, 潘琨琨¹, 刘 杰²

1. 新疆医科大学第一附属医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830054;

2. 新疆大学信息科学与工程学院, 新疆乌鲁木齐 830054

摘 要:目的 利用血清拉曼光谱建立快速诊断 HCV 感染的诊断模型。方法 将 HCV 感染者血清(374 例)与非 HCV 感染者血清(707 例)吸至毛细管内于拉曼光谱仪进行点测量, 获得拉曼光谱原始数据后, 使用自适应迭代重加权惩罚最小二乘法扣除荧光背景, 并采用 origin2018 软件寻找拉曼光谱数据之间的差异, 构建 airPLS-PLS-SVM 统计模型。结果 HCV 感染者血清与非 HCV 感染者拉曼光谱数据于 442、509、621、643、755、828、853、876、925、1 002、1 031、1 047、1 210、1 330、1 449、1 555、1 670 cm^{-1} 位移上存在差异, 于 1 002、1 157、1 515 cm^{-1} 位移处强度差异明显, 绘制受试者工作特征曲线评估模型效果, 得到特异度为 97.424 9%, 灵敏度为 93.406 6%, 正确率为 96.296 3%。结论 血清拉曼光谱技术结合 airPLS-PLS-SVM 统计模型能够很好地区分 HCV 感染与非 HCV 感染血清, 有望成为一种快捷、简便的 HCV 感染诊断工具。

关键词:拉曼光谱; 丙型肝炎; 乙型肝炎; 感染

中图法分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)14-2001-06

Detection of serum in patients with hepatitis C based on Raman spectroscopy*

QIN Jie¹, ZHANG Zhaoxia^{1△}, PAN Kunkun¹, LIU Jie²

1. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical

University, Urumqi, Xinjiang 830054, China; 2. School of Information Science and

Engineering, Xinjiang University, Urumqi, Xinjiang 830054, China

Abstract: Objective To analyze the serum Raman spectra of the subjects and to establish a diagnostic model for the rapid diagnosis of HCV infection in the serum. **Methods** The serum of persons infected HCV ($n=374$) and the serum ($n=707$) of persons without HCV were sucked into capillary tube for point measurement in Raman spectrometer, and the original data of Raman spectroscopy were obtained, and the fluorescence background was deducted by using adaptive iterative weight weighted penalty least squares method. The origin2018 software was used to find the difference between Raman spectral data, and the statistical model of air-PLS-PLS-SVM was constructed. **Results** Raman spectroscopy data of serum between non-HCV infected persons and HCV infected persons were different at 442, 509, 621, 643, 755, 828, 853, 876, 925, 1 002, 1 031, 1 047, 1 210, 1 330, 1 449, 1 555, 1 670 cm^{-1} displacement, the intensity difference was obvious at 1 002, 1 157, 1 515 cm^{-1} displacement, and the effect of receiver operator characteristics analysis curve evaluation model was obtained and showed that specificity was 97.424 9%, sensitivity was 93.406 6%, correct rate was 96.296 3%. **Conclusion** Serum Raman spectroscopy combined with airPLS-PLS-SVM statistical model can be a good distinction between HCV patients and non-HCV infected persons, which is expected to be a quick and easy diagnostic tool for HCV infection.

Key words: Raman spectroscopy; hepatitis C; hepatitis B; infection

HCV 感染影响全球 1.5 亿人, 其中约 1 000 万是中国患者^[1]。HCV 感染后慢性转化率为 55%~85%, 由急性期转入慢性期的过程中, 有 50%~80% 的患者并不知道自己已被感染, 由此加大了继续感染他人的可能^[2-3]。若未及时治疗, 患者可能发展为 HCV 相关性肝硬化, 并以每年 1%~4% 的速度发展至肝癌^[4]。早期筛查 HCV 的感染情况可指导临床尽快给予患者有效治疗^[5-6]。现有的 HCV 检测手段包

* 基金项目: 国家高技术研究发展计划子课题(2015AA021107)。

作者简介: 秦洁, 女, 在读硕士研究生, 主要从事临床检验相关研究。△ 通信作者, E-mail: 285715300@qq.com。

括 HCV 的抗体、抗原检测,以及针对 HCV RNA 的检测。HCV 抗体检测受感染时间及患者自身免疫情况影响。HCV 抗原检测可用于慢性丙型肝炎患者的诊断。HCV RNA 的检测作为目前最可靠的 HCV 检测手段,因试验条件所限无法在经济欠发达地区普遍开展。故本研究试图以拉曼光谱检测手段分析丙型肝炎患者血清以帮助诊断。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将新疆医科大学第一附属医院就诊的 374 例丙型肝炎患者纳入研究组,患者血清均已通过反转录聚合酶链反应(RT-PCR)法完成对 HCV RNA 定量检测,结果提示 HCV RNA 大于最低检测限(5×10^2)。707 例非 HCV 感染者纳入对照组,其中包含 500 例健康人(健康对照组),135 例 HBV 感染者(乙型肝炎对照组),72 例细菌感染者(细菌感染对照组)。500 例健康人血清均采用酶联免疫胶体金法完成 HCV、HBV、HIV 抗体筛查及梅毒血清学检测,且结果显示均为阴性。135 例 HBV 感染者均进行 HBV DNA 定量检测,并完成对 HCV、HIV 抗体及梅毒血清学筛查,且结果提示阴性。健康对照组及乙型肝炎对照组患者无其他特殊全身性疾病或药物滥用史,所有血常规和生化检测结果未见异常。72 例细菌感染者为一般细菌感染,且降钙素原(PCT)均 >0.5 ng/mL,并完成 HCV、HBV、HIV 抗体筛查及梅毒血清学检测,且结果提示阴性。关于受试者的更详细信息见表 1。本研究经过本院伦理委员会批准后进行。

表 1 各组研究对象一般资料比较

组别	n	年龄(岁)		性别(n)	
		分布范围	平均值	男	女
研究组	374	22~89	46	187	187
对照组	707				
健康对照组	500	19~86	51	276	224
乙型肝炎对照组	135	20~79	43	64	71
细菌感染对照组	72	18~83	47	40	32

1.2 仪器与试剂 本试验采用的激光拉曼光谱仪为 HORIBA Scientific 公司产品,其最低波数 10 cm^{-1} ,光谱分辨率 $\leq 0.35\text{ cm}^{-1}$,光谱范围 $50\sim 9\,000\text{ cm}^{-1}$,并配备有开放式显微镜(LabRAM)。

1.3 标本收集 受试者于禁食过夜至少 8 h 后,每人采集 5 mL 外周血标本至没有任何抗凝血剂的采血管中。待血液充分凝固后,以 $3\,000\text{ r/min}$ ($1\,730\text{ g}$)转速充分离心 10 min,除去血细胞、纤维蛋白原等成分获得血清。收集 $500\text{ }\mu\text{L}$ 于 EP 管中并储存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下待检测。检测时将冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境中的 EP 管待测标本于 $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境下静置 30 min,待充分溶解

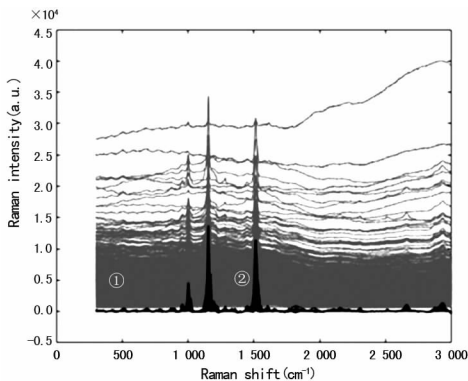
后,用毛细玻璃管($0.3\text{ mm}\times 100\text{ 支}$;上海申立玻璃仪器厂)吸取 $30\text{ }\mu\text{L}$ 血清,随后进行测量。

1.4 检测方法 测量开始前,采用质控品于 532 nm 处激光下,记录在 $300\sim 3\,000\text{ cm}^{-1}$ 拉曼位移范围内的光谱数据,以进行仪器的校准,随后进行标本检测。使用激光拉曼光谱仪在 532 nm 处产生激光。光谱记录在 $300\sim 3\,000\text{ cm}^{-1}$ 拉曼位移范围内,光谱分辨率为 5 cm^{-1} ,记录时间 1.0 s 。每份毛细管标本在不同位置分别测量 3 次,于 50 倍物镜下观察并记录拉曼光谱。获得图谱使用 HORIBA Scientific 的新版光谱分析软件包 LabSpec 6 进行光谱记录分析并转换为数据,取均值后为进行下一步处理做准备。

1.5 统计学处理 将研究组血清(374 例)与对照组血清(707 例)吸至毛细管内于拉曼光谱仪进行点测量,获得拉曼光谱数据原始数据,使用自适应迭代加权惩罚最小二乘法(airPLS)扣除荧光背景,并采用 origin2018 软件寻找拉曼光谱数据之间存在的差异。再提取主成分进行分析,验证两组血清之间存在的差异,并结合 airPLS-PLS-SVM 统计模型进行诊断。绘制受试者工作特征(ROC)曲线评估诊断模型效果。

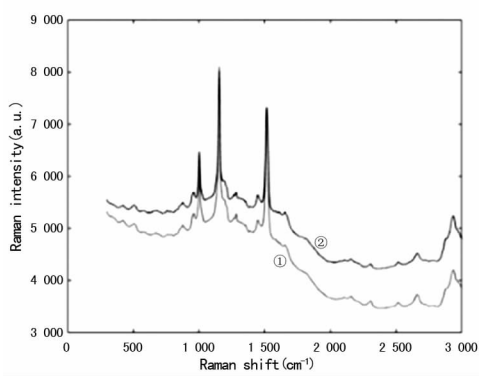
2 结果

本试验在数据统计分析开始前,先将原始图像利用 LabSpec 6 软件进行处理分析获得原始数据并展开预处理。利用 Matlab 软件进行光谱绘制分析得到未扣除荧光背景也未求平均值的所有原始图像,见图 1。尽管研究组与对照组的血清测试条件完全相同,但可见每个标本间拉曼光谱图像分布强度不均,影响结果分析判断。故将原始数据取均值,绘制图 2。如图 2 所示,HCV 感染者血清拉曼光谱平均数据与非 HCV 感染者血清拉曼光谱平均数据的形态接近,但光谱强度不同。为了减少不同标本之间荧光背景造成的差异干扰结果分析,再将所有测量的谱线进行拟合,对原始数据求均值后的图像使用 airPLS 扣除荧光背景获得图 3。



注:①部分为未扣除背景所有拉曼数据谱图;②部分为扣除背景后数据图谱

图 1 原始图像



注:曲线①代表 HCV 感染者血清拉曼光谱平均数据;曲线②代表非 HCV 感染者血清拉曼光谱平均数据

图 2 原始数据取均值未扣除背景时所有拉曼数据平均数据

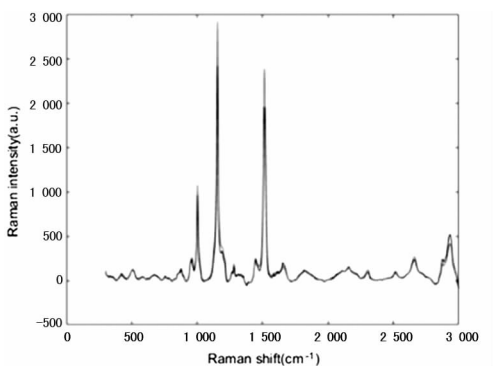
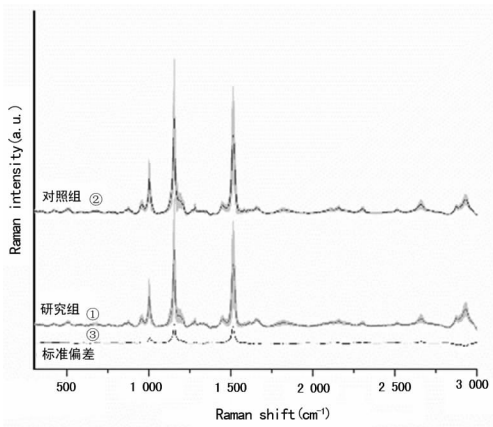


图 3 扣除背景后所有拉曼数据的平均谱图

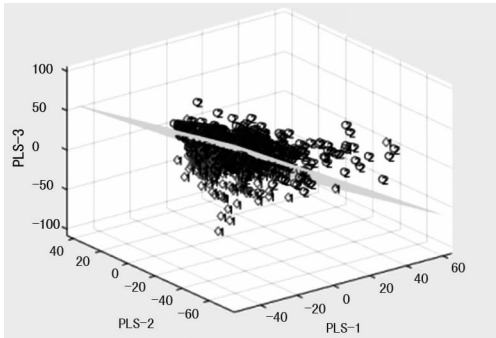


注:线条①代表归一化 HCV 感染者血清拉曼光谱;线条②代表归一化非 HCV 感染者血清拉曼光谱;区域③表示标准偏差

图 4 origin2018 软件对拉曼光谱进行比对获得差异图

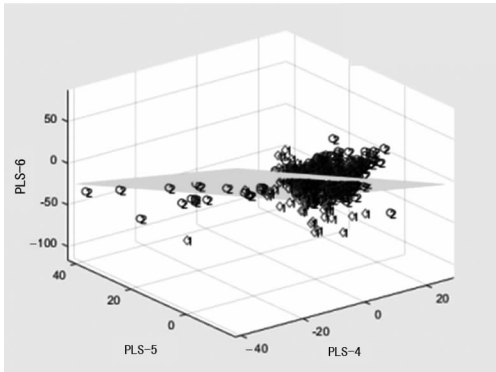
可见两组研究对象的光谱形态上具有高度相似性,较大部分光谱存在重叠,仍无法明确地体现差异。为能够更精确进行光谱的对比分析,把所有在 $300\sim3\,000\text{ cm}^{-1}$ 的谱线进行归一化处理,并采用 origin2018 软件对拉曼光谱进行比对获得差异,得到图 4。根据底部黑线部分差异图谱,可见在 $300\sim3\,000\text{ cm}^{-1}$ 拉曼位移范围内,HCV 感染者与非 HCV 感染者血清拉曼光谱虽图像形态相似,但于部分位移处可较为清晰地观察到二者拉曼光谱之间存在强度差异。

比较归一化后的拉曼光谱数据,非 HCV 感染者拉曼光谱强度高于 HCV 感染者,具体位移分布于 $442、509、621、643、755、828、853、876、925、1\,002、1\,031、1\,047、1\,210、1\,330、1\,449、1\,555、1\,670\text{ cm}^{-1}$,于 $1\,002、1\,157、1\,515\text{ cm}^{-1}$ 位移处强度差异明显,见图 5。



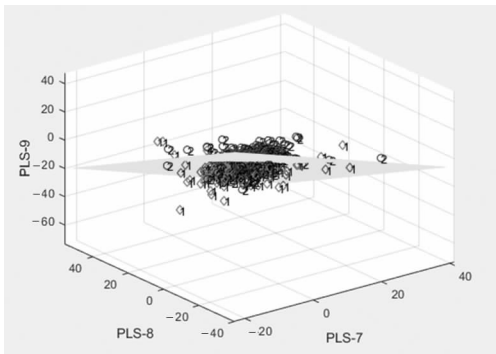
注:菱形代表非 HCV 感染者血清拉曼光谱数据;圆形代表 HCV 感染者血清拉曼光谱数据

图 5 PLS-1、PLS-2、PLS-3 得分散点图



注:菱形代表非 HCV 感染者血清拉曼光谱数据;圆形代表 HCV 感染者血清拉曼光谱数据

图 6 PLS-4、PLS-5、PLS-6 得分散点图



注:菱形代表非 HCV 感染者血清拉曼光谱数据;圆形代表 HCV 感染者血清拉曼光谱数据

图 7 PLS-7、PLS-8 和 PLS-9 得分散点图

将复杂的多维数据进行简化、降维处理,提取出具有明显差异,并且能够较好地解释两组数据之间差异的主成分。但为能够证实本试验的理论基础及可行性,故提取 9 个主成分并降维,获得 9 个主成分数据绘制散点图,见图 5~7。

根据主要 9 个成分得分散点图可以看出,它们分布在不同的空间区域,尽管它们之间也有部分重叠。利用支持向量机(SVM)算法进行判别分析,选取训练集及测试集。其中训练集的标本包含 757 份(来自健康人 474 例、HCV 感染者 283 例),测试集包括 324 例(来自健康人 233 例、HCV 感染者 91 例)。再使用基于联合 X-Y 距离的标本集划分法函数(spxy)算法带入训练集及测试集进行分析。最后使用网格寻优法对 SVM 中相关参数惩罚因子(c)、核函数参数(g)进行寻优,其寻优结果分别为等高线图和 3D 视图,见图 8、9。根据等高线图和 3D 视图结果,可见 PLS 算法结合 SVM 对 HCV 的分类可以很好地区分 HCV 感染者与非 HCV 感染者血清拉曼光谱数据。

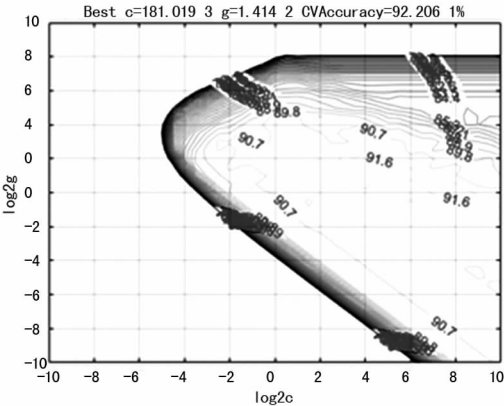


图 8 等高线图

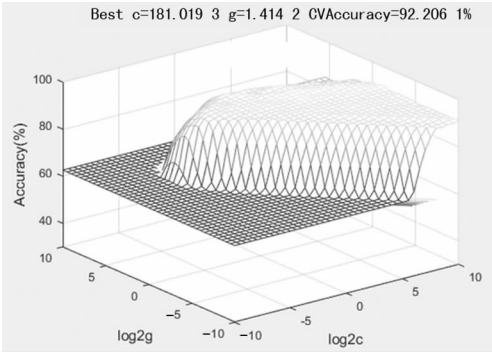


图 9 3D 视图

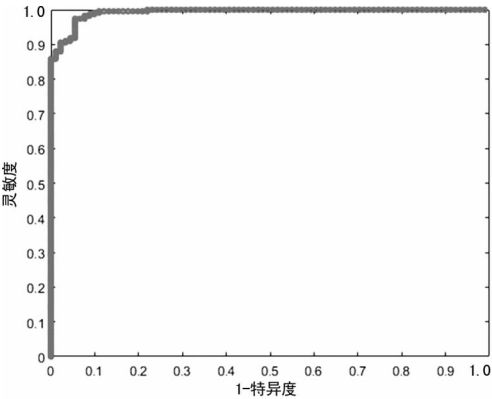


图 10 ROC 曲线

针对 PLS 算法及 SVM 对数据的分类统计分析得出的结果,绘制 ROC 曲线进行评价,曲线下面积(AUC)为 0.981 7,表明统计方法具有较高的可靠性。采用 PLS 算法结合 SVM 对 HCV 数据具有较好的分类效果,其中特异度为 97.424 9%,灵敏度为 93.406 6%,总判别正确率为 96.296 3%。见图 10。

3 讨 论

拉曼光谱作为散射光谱,自 1982 年被发现以来,一直被探索用于对物质成分的检测。激光入射到待测的标本中,其能量使其转动能级和振动能级发生了变化,从而发出非弹性散射光。散射光谱不同于入射光谱,其经历的波长变化,称为“拉曼位移”^[7]。最终,待测物质所有成分的“拉曼位移”共同构成其特有的拉曼光谱。这让拉曼光谱被视为物质的“指纹”,可用于确定待测物质的性质及成分^[8-9]。既往在测量时发现待测物质的拉曼光可能被其自身发出的强烈荧光所覆盖^[10]。这一现象曾经限制了拉曼光谱在物质检测领域的应用,但经过十几年的发展,拉曼光谱检测技术与红外线、先进的电子光学及计算机技术相结合,使拉曼光谱检技术逐步得到提升,并因其操作简单(不需要复杂的前期处理)快速,以及可检测微量物质等优点在医学领域被广泛应用^[11]。

有学者通过应用金纳米粒子的表面增强拉曼光谱及统计分析,实现了对结肠癌患者的无创诊断分析^[12-13]。REYES-GODDARD 等^[14]实现了表面增强拉曼散射对泪膜中单纯疱疹病毒的检测。目前,关于非增强型拉曼光谱的应用文献较少,但血清的常规拉曼光谱检测的潜力仍不可忽视。例如 PICHARDO-MOLINA 等^[15]已经证明,血清拉曼光谱结合主成分分析和线性判别分析可以区分乳腺癌患者和健康者标本。因此,本研究将拉曼光谱技术与先进的统计学方法相结合,探寻 HCV 感染者血清与非 HCV 感染者血清之间的差异,帮助临床建立简单、低成本的 HCV 感染筛查诊断工具。

由于光谱中的信息主要来自各谱峰相对强度和光谱形状,而谱峰的绝对强度与激光功率涨落、聚集情况等具体数据及试验条件有关,通过图像归一化等预处理可以消除由于试验条件的微小差异对试验结果的影响。本研究中将原始数据进行预处理后发现,HCV 感染者血清与非 HCV 感染者拉曼光谱峰仍类似,只是存在强度差异。分析原因,由于人体被 HCV 感染后,血清中出现 HCV 抗原及 HCV 抗体,研究组与对照组待测血清之间在病理生理上仍存在一定关联。其中,对照组中包含的部分乙型肝炎患者在 HBV 感染后也可能出现对应的 HBV 抗原及抗体,且与 HCV 感染患者一样,可能因慢性病毒感染演变为

慢性肝炎或肝硬化,因而两者血清拉曼光谱特点可能存在交叉。但 HCV 感染后肝细胞会随着病情的发展发生变化,产生的抗原及对应的抗体,以及人体的蛋白质、脂肪及核酸分子的数量或结构也可能随着人体感染 HCV 发生某种变化。例如,在重症监护病房内的全身炎症反应综合征(SIRS)及败血症患者中就观察到疾病的发生及进展导致拉曼光谱结果差异的类似现象^[16]。人体血清中的成分相当复杂,对于健康人,由于其处于正常的生理状态,血清中的各种成分含量相对比较稳定^[17-23]。所以,如果未对数据进行预处理,可能会使试验诊断能力降低,特别是会降低诊断的特异度。但本试验中通过对数据预处理,发现与对照组相比,研究组血清拉曼光谱在图像形态及波峰强度上都发生变化。特别是在 1 002、1 157、1 515 cm^{-1} 位移处存在较为明显的强度差异。针对这种差异,提取 9 个主成分分析,并绘制降维后散点图后进一步发现,虽各成分之间于三维立体空间内分布较为密集,但差异明显。使用 SVM 算法对 9 个主成分数据进行判别分析,选取训练集及测试集。再使用 spxy 算法带入训练集及测试集分析。最后使用网格寻优法对 SVM 中相关参数 c 、 g 进行寻优,寻优后得到的等高线图和 3D 视图结果发现研究组血清相比对照组血清,不仅存在差异,且差异可被 airPLS-PLS-SVM 统计模型鉴别分类。最终利用 ROC 曲线来评估检验效能,对应的灵敏度与特异度分别为 93.406 6% 和 97.424 9%。AUC 为 0.981 7。表明 airPLS-PLS-SVM 统计模型具有较高的诊断灵敏度和特异度,也证明了该诊断差异模型具有可靠性。

本文通过对大量 HCV 感染者血清与非 HCV 感染者血清进行拉曼光谱检测,结合统计分析方法来构建针对丙型肝炎患者的诊断筛查模型。与表面增强拉曼光谱相比,非增强型拉曼光谱可以以低价的试验耗材,简便的步骤完成试验,不需要复杂的预处理即可检测获得相应的拉曼光谱。本试验通过对 HCV 感染者血清与非 HCV 感染者血清两者间拉曼光谱的数据比较,以及对 9 个主成分进行分析,发现 HCV 感染者血清与非 HCV 感染者血清的拉曼光谱确实存在强度上的差异,但具体差异内容可能与病毒感染后血清中出现对应的抗原、抗体,或疾病发生、发展后导致血清介质内容发生改变有关。导致差异的具体物质在本研究中尚未明确,可于未来行进一步研究或探讨。但结合 airPLS-PLS-SVM 统计模型,已可实现对 HCV 感染者血清的检测与诊断,且诊断的特异度与灵敏度较高。

综上所述,利用拉曼光谱结合 airPLS-PLS-SVM

统计模型,能够较好地对 HCV 感染者与非 HCV 感染者血清进行区分,此技术有希望发展成为 HCV 感染的有效诊断工具。

参考文献

[1] WANG F S,FAN J G,ZHANG Z,et al. The global burden of liver disease;the major impact of China[J]. Hepatology,2014,60(6):2099-2108.

[2] 中华医学会肝病学会. 丙型肝炎防治指南(2015 年更新版)[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2015,29(5):1-19.

[3] LIN M S,CHUNG C M,CHANG M L,et al. The unraveled link between antiviral therapy and heart failure hospitalization in chronic hepatitis c virus infection[J]. Circ J,2018;1623-1631.

[4] YIN Z,SHANG L,LIN K. Resistance mutations against hcv protease inhibitors and antiviral drug design[J]. Curr Pharm Des,2014,20(5):694-703.

[5] LAWITZ E,MANGIA A,WYLES D,et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis c infection[J]. New Engl J Med,2013,368(20):1878-1887.

[6] LEVERENCE R R,WILLIAMS R L,PACE W,et al. Context of clinical care: the case of hepatitis c in underserved communities—a report from the primary care multiethnic network (prime net) consortium[J]. J Am Board Fam M,2009,22(6):638-646.

[7] ROBERT B. The electronic structure, stereochemistry and resonance Raman spectroscopy of carotenoids[M]. Springer: The Photochemistry of Carotenoids,1999;213-219.

[8] NAMAN C B,GUPTA G,VARIKUTI S,et al. Bioequivalence study of two formulations of simvastatin tablets in healthy thai volunteers[J]. Arzneimittelforschung,2004,54(1):31-34.

[9] XUE L,SUN P,OU D,et al. Diagnosis of pathological minor salivary glands in primary Sjogren's syndrome by using Raman spectroscopy[J]. Las Med Sci,2013,29(2):723-728.

[10] SAHU A,NANDAKUMAR N,SAWANT S,et al. Recurrence prediction in oral cancers;a serum Raman spectroscopy study[J]. Analyst,2015,140(7):2294-2301.

[11] CALS F L J,SCHUT B T C,KOLJENOVI S,et al. Method development: raman spectroscopy-based histopathology of oral mucosa[J]. J Ram Spect,2013,44(7):963-972.

[12] YAN B,LI B,WEN Z,et al. Label-free blood serum detection by using surface-enhanced Raman spectroscopy and support vector machine for the preoperative diagnosis of parotid gland tumors[J]. BMC Cancer,2015,15(1):1-9.

[13] LIN D,FENG S,PAN J,et al. Colorectal cancer detection by gold nanoparticle based surface-enhanced Raman spectroscopy of blood serum and statistical (下转第 2008 页)

生医患纠纷。

HBsAg 也是献血人群的常规筛查项目。献血人群是一类特殊的群体,临床上应该选用灵敏度、特异性更高的方法,严格检测标准。HBsAg 在急性感染期或慢性携带状态下均可能呈阳性,献血者筛查并不能区分这两种情况。笔者建议献血人群应至少选用 ELISA 进行筛查,同时由于体内 HBsAg 的感染“窗口期”可能长达 38 d^[13],因此,对于 ELISA 检测结果 S/CO 值在临界值附近的可疑标本,应进一步用 CLIA 和 PCR 等多种方法复检,尽量缩短“窗口期”。若 CLIA 和 PCR 复检阳性则可以确认为 HBsAg 阳性或病毒携带者,若为阴性应建议受检者 1 个月后复查,检验报告须同时备注检测方法,防止可能产生的医疗纠纷。

参考文献

[1] 刘立,刘春云,杜映荣,等. HBV DNA 低水平患者的肝组织炎症活动度及相关因素分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2019,35(1):77-81.

[2] 黄英男,吴昊,沈锡中. 乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗研究进展[J]. 世界临床药物,2012,33(9):519-522.

[3] 刘钦成,刘宁,韩晓玉,等. 乙型肝炎肝硬化患者肝脏体积萎缩率及 LSM、CTP 值与 Laennec 组织病理学分级的关系[J]. 重庆医学,2018,47(14):1870-1873.

[4] 占春玲. 乙型肝炎肝硬化并发原发性肝癌危险因素 logistic 回归分析[J]. 医学临床研究,2016,33(9):1697-

1701.

[5] 邓兰. HBV 感染各阶段血清乙型肝炎表面抗原与 HBV DNA 及年龄的相关性分析[J]. 湖南师范大学学报(医学版),2017,14(3):1-4.

[6] 吴志奇,黄慧青,刘雁雁,等. 331 968 例门诊及住院患者感染性指标检测的结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015,36(15):2133-2134.

[7] 李仲平,王溪,郑优荣,等. 广州地区 HBsAg 阴性无偿献血血液输血传播 HBV 残余风险评估[J]. 广东医学, 2014,35(3):442-445.

[8] 周诚,吴星,黄维金,等. 应用 IU 标准对 HBsAg 检测试剂的分析[J]. 中国生物制品学杂志,2008,21(7):615-617.

[9] 姜宏兵,蒋菲,董清清,等. 胶体金免疫层析法急诊检测 HBsAg 漏检风险评价[J]. 检验医学与临床,2016,13(13):1750-1754.

[10] 胡晓玲,汪新民. 输血前检查 HBsAg 弱阳性结果分析[J]. 临床输血与检验,2016,18(2):180.

[11] 顾生旺,张金荣,赵兵,等. 定量检测 710 例肝病患者 HBsAg 和 HBeAg 临床意义[J]. 中国民康医学,2018,30(7):100-102.

[12] 赵艳争. 4 种方法测定低浓度 HBsAg 效果评价[J]. 河北联合大学学报(医学版),2014,16(1):58-59.

[13] KLEINMAN S H,BUSCH M P. Assessing the impact of HBV NAT on window period reduction and residual risk [J]. J Clin Virol,2006,36(1):S23-S29.

(收稿日期:2019-01-10 修回日期:2019-04-02)

(上接第 2005 页)

analysis[J]. Optics Express,2011,19(14):13565.

[14] REYES-GODDARD J M,BARR H,STONE N. Surface enhanced Raman scattering of herpes simplex virus in tear film[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther,2008,5(1):42-49.

[15] PICHARDO-MOLINA J L,FRAUSTO-REYES C,GARCIA O B,et al. Raman spectroscopy and multivariate analysis of serum samples from breast cancer patients[J]. Las Med Sci,2007,22(4):229-236.

[16] ZHENG X, LV G, DU G, et al. Rapid and low-cost detection of thyroid dysfunction using raman spectroscopy and an improved support vector machine[J]. IEEE Photonics J,2018,10(6):1-12.

[17] DEPCIUCH J, SOWAKUCMA M, NOWAK G, et al. Phospholipid-protein balance in affective disorders: analysis of human blood serum using Raman and FTIR spectroscopy. A pilot study[J]. J Pharmaceut Biomed,2016,131:287-296.

[18] ALMEIDA M L D, SAATKAMP C J, FERNANDES A B, et al. Estimating the concentration of urea and creatinine in the human serum of normal and dialysis patients through Raman spectroscopy[J]. Las Med Sci,2016,31

(7):1415-1423.

[19] LI X, YANG T, LI S, et al. Different classification algorithms and serum surface enhanced Raman spectroscopy for noninvasive discrimination of gastric diseases[J]. J Raman Spectrosc,2016,47(8):917-925.

[20] RUI X, ZHANG X, ZHEN R, et al. Non-invasive detection of hepatocellular carcinoma serum metabolic profile through surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Nanomed Nanotechnol Med,2016,12(8):2475-2484.

[21] LIN J, JING W, XU C, et al. Differentiation of digestive system cancers by using serum protein-based surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. J Raman Spectrosc, 2017,48(1):16-21.

[22] CHENG J Y, XU L, LU G D, et al. Study on the echinococcosis blood serum detection based on Raman spectroscopy combined with neural network [J]. Optoelectron Lett,2017,13(1):77-80.

[23] ARTEMYEV D N, ZAKHAROV V P, DAVYDKIN I L, et al. Measurement of human serum albumin concentration using Raman spectroscopy setup[J]. Opt Quant Electron,2016,48(6):1-8.

(收稿日期:2019-01-10 修回日期:2019-04-08)