

乙肝病毒血清学检验中化学发光免疫分析技术、酶联免疫吸附试验价值分析

王冠

北京大学第六医院 北京 100191

摘要:目的: 在肝病病毒血清学检验中分别应用CLIA、ELISA,并分析其应用价值。方法: 选取2019年10月-2021年10月, 在我院治疗的109例疑似乙肝患者。采集血液标本, 分别进行CLIA、ELISA检测及实时荧光定量PCR检验。以实时荧光定量PCR为金标准, 分析CLIA、ELISA检测结果, 比较两者对5项乙肝病毒指标的阳性检出率。结果: ELISA诊断灵敏度、特异度、准确度分别为94.03%、95.24%、94.50%, CLIA分别为95.52%、97.62%、96.33%, 组间对比无明显差异 ($P > 0.05$); 与实时荧光定量PCR相比, ELISA、CLIA检验均一致性良好。CLIA对HBsAg、HBsAb、HBeAg阳性检出率95.52%、97.01%、95.52%明显高于ELISA的83.58%、82.58%、83.58%, 差异明显 ($P < 0.05$)。结论: CLIA、ELISA在乙肝病毒检测中均具有较高的诊断效能, 但CLIA在HBsAg、HBsAb、HBeAg检测方面具有一定优势。

关键词: 酶联免疫吸附试验; 化学发光免疫分析; 肝病病毒; 血清学

乙型肝炎是一种常见的肝炎类型, 传染性较高, 主要表现为黄疸、肝功能异常、恶心等症状。由于乙肝病毒具有较强的外界抵抗力, 对高温耐受力较好, 因此极易经输血、生活接触、母婴喂养传播^[1]。研究发现^[2], 在乙型肝炎患者中, 发展至肝硬化或肝细胞癌比例约为25%~40%。因此, 早期发现并治疗对患者具有重要意义。目前, 常用的乙肝诊断及预后评估方法主要包括乙肝病毒DNA检测和血清学检测, 前者需要分子生物学实验室条件, 限制了其临床应用^[3]。因此, 血清学检测仍是目前常用的诊断技术, 例如, 化学发光免疫分析技术 (CLIA)、酶联免疫吸附试验 (ELISA), 在临床应用中均显示出较高的价值。因此, 本文将在肝病病毒血清学检验中分别应用CLIA、ELISA, 并分析其应用价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2019年10月-2021年10月, 在我院治疗的109例疑似乙肝患者。所有患者均表现为畏食、恶心、乏力、腹胀、肝区疼痛等症状, 有慢性肝病面容, 可见肝掌、蜘蛛痣、脾大等表现, 肝功能检测异常, 肝大, 硬度中等, 有轻压痛。患者临床资料完整, 对本次研究知情同意。排除标准: (1) 血液系统疾病患者; (2) 其他急

性重症疾病患者; (3) 肾、肝功能障碍患者; (4) 入组前使用可能影响检测结果的药物患者等。男57例, 女性52例, 年龄21~67岁, 平均(46.56±4.67)岁。

1.2 方法

检测前晚20:00后指导患者禁食, 检测日, 采集空腹静脉血, 5ml, 分离血清, 3000r/min, 离心10min, 将样本分为3份, 分别进行CLIA、ELISA检测及实时荧光定量PCR检验。(1) ELISA检测: 测定试剂盒由北京万泰生物公司提供, 所有操作均严格按照说明书完成。试剂盒应在室温中留置30min。分别设置阴性、阳性、空白对照孔, 按照说明书, 在阳性、阴性对照孔中加入标准液, 在对照孔中加入特异酶。加入特异酶前, 应使用37°C水浴箱保存乙肝表面抗原。孵育60min, 混匀、封膜。避光孵育30min, 置于37°C水浴箱。观察洗板显色后, 加入终止液。使用酶标仪比色, 包括乙肝表面抗体 (HBsAb)、乙肝表面抗原 (HBsAg)、乙肝核心抗体 (HBcAb)、乙肝e抗体 (HBeAb)、乙肝e抗原 (HBeAg), 对结果进行详细记录。(2) CLIA检测: 检测仪器: 雅培i2000全自动化学发光免疫分析仪和配套试剂, 吸头、洗液、反应杯均为配套, 严格按照说明书操作。对5项乙肝病毒指标进行检测。(3) 实时荧光定量PCR检测: 应用ABI4800实时荧光定量PCR仪, 上海科华生物公司提供试剂, 质控品为HBsAg1.0ng/mL的定值参比血清, 由卫生部临检中心提供。

1.3 评价标准

作者简介: 王冠, 男1989.01.出生于北京, 就职单位北京大学第六医院, 职员初级检验师, 大学本科, 邮箱: jykwangguan@126.com

(1) 以实时荧光定量PCR为金标准, 分析CLIA、ELISA检测结果, 对其检测灵敏度、特异性、准确率进行分析, 分析两者与金标准的一致性情况。(2) 比较两者对5项乙肝病毒指标的阳性检出率。HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb正常参考值上限: 0.05IU/mL、10.0mIU/mL、0.1PEI U/mL、2.0NCU/mL、0.7PEI U/mL, 超过正常参考值上限可判断为阳性。

1.4 统计学方法

数据录入SPSS22.0处理, 计数资料应用(%)表示, 采用 χ^2 检验。采用Kappa监测进行一致性分析,

Kappa > 0.7为一致性良好, 0.4~0.7为中等, < 0.4为较差。 $P < 0.05$ 表示差异, 有统计学意义。

2 结果

2.1 诊断结果分析

ELISA诊断灵敏度、特异度、准确度分别为94.03%、95.24%、94.50%, CLIA分别为95.52%、97.62%、96.33%, 组间对比无明显差异($P > 0.05$); 与实时荧光定量PCR相比, ELISA、CLIA检验均一致性良好(Kappa = 0.708、0.736), 见表1。

表1 不同检验方法的诊断结果分析[n, (%)]

组别	例数	实时荧光定量PCR (n)		灵敏度 (%)	特异度 (%)	准确度 (%)
		阳性	阴性			
ELISA	阳性	63	2	94.03 ^a	95.24 ^a	94.50 ^a
	阴性	4	40			
CLIA	阳性	64	1	95.52	97.62	96.33
	阴性	3	41			
	合计	67	42			

与CLIA对比: ^a $P < 0.05$;

2.2 血清学指标阳性检出率对比

CLIA对HBsAg、HBsAb、HBeAg阳性检出率

95.52%、97.01%、95.52%明显高于ELISA的83.58%、82.58%、83.58%, 差异明显($P < 0.05$), 见表2。

表2 两者血清学指标阳性检出率对比[n = 67, n(%)]

项目	ELISA	CLIA	χ^2	P
HBsAg	56 (83.58)	64 (95.52)	5.10	< 0.05
HBsAb	55 (82.58)	65 (97.01)	7.98	< 0.05
HBeAg	56 (83.58)	64 (95.52)	5.10	< 0.05
HBeAb	62 (92.54)	63 (94.03)	0.12	> 0.05
HBcAb	63 (94.03)	64 (95.52)	0.15	> 0.05

3 讨论

乙肝是一种因乙肝病毒感染引起的慢性传染性疾病, 可经血液、体液等途径传播。近年来, 虽然乙型肝炎的防控力度明显增加, 但总体上看发病基数仍然较大, 且形势不容乐观。据调查显示, 我国感染率约4.02%, 感染人数约4000万^[4]。患者出现乙肝病毒感染后, 会经一系列肝脏病理损害过程, 引起肝细胞损害及功能障碍, 临床表现为腹胀、恶心、肝区疼痛、食欲减退等症状, 对患者生活质量影响较大。由于该病长期迁延不愈, 若不能给予早期有效控制, 可进展为肝硬化、肝癌, 威胁患者生命安全。因此, 一般建议在婚孕前检查时进行乙肝病毒检验, 可降低配偶及子女感染率, 改善母婴结局。在临床诊断方面, 由于患者早期发生乙肝病毒感染后往往无典型症状, 因此误诊、漏诊率较高, 可能延误治疗时机。因此需要借助其他检验指标。血清

学检验是临床上常用的检验技术, 而ELISA、CLIA则是代表性的检测技术^[5]。

ELISA是一种利用显色技术检测抗原抗体阳性的技术, 其原理为特异性抗原与固相载体结合, 产生固相抗原, 同时将未结合的抗原清除。CLIA同样为临床上常用的血清学检测技术, 具有高灵敏度, 在抗体、抗原、激素检测中均有较高价值, 被认为是酶联免疫、放免分析、荧光免疫分析后最重要的免疫测定技术。从整体上看, 两者均操作简单, 成本较低, 且具有较高的诊断效能。但有研究指出^[6], 在病毒血清学指标检测中, ELISA对乙肝病毒感染肤质、感染程度均无法有效判断。而CLIA由于诊断范围宽, 诊断时间较短, 因此被认为是理想的乙型肝炎病毒诊断手段。同时, 该检测方法基于雅培分析仪操作, 根据抗原浓度、化学反光强度并基于特定条件, 形成线性定量关系, 可检测抗体、抗

原含量,防止混淆。以往与研究显示^[7],与ELISA相比(62.22%),CLIA阳性检出率更高(84.44%)。分析其原因,主要是由于CLIA能够利用全自动生化分析仪检测,标准化、自动化程度更高,可降低操作、检测误差,降低假阴性率。而ELISA在检测过程中可能出现标本污染,影响其灵敏度、准确度。在本次研究中,ELISA诊断灵敏度、特异度、准确度分别为94.03%、95.24%、94.50%,CLIA分别为95.52%、97.62%、96.33%,组间对比无明显差异($P > 0.05$);与实时荧光定量PCR相比,ELISA、CLIA检验均一致性良好。CLIA对HBsAg、HBsAb、HBeAg阳性检出率95.52%、97.01%、95.52%明显高于ELISA的83.58%、82.58%、83.58%,差异明显($P < 0.05$),可见ELISA、CLIA的总体诊断效能相当,但CLIA对部分血清标志物的阳性检出率更高。从以往的相关研究成果上看,CLIA对乙肝病毒表面抗原抗体能够精准检出,乙肝表面抗原为一种病毒外壳蛋白,不具有传染性,但在判断乙肝病毒感染时是重要的标志物,在感染患者生殖器官分泌物、血液中均能够检出,且感染后6个月左右其抗原可显示阳性。而乙肝e抗体非保护性抗体,当该抗体出现时,提示病毒复制减少或停止。从本次研究可见,CLIA对表面抗原、e抗体的阳性检出率均高于ELISA,推测可能是由于其操作误差更少,可进行定性定量分析,能够减少游离抗体导致的假阴性,提高检测的特异性。而ELISA因无法定量分析,因此对病毒感染情况也无法进行动态监测,因此相对假阴性、假阳性偏高,灵敏度偏低^[8]。考虑到CLIA具有易储存、稳定性好、消耗量低等特点,因此是一种更为理想的检测方法。

综上所述,CLIA、ELISA在乙肝病毒检测中均具有

较高的诊断效能,但CLIA在HBsAg、HBsAb、HBeAg检测方面具有一定优势。

参考文献

[1]杭蕾蕾.化学发光免疫分析技术与酶联免疫吸附试验在乙肝病毒血清学检验中的应用价值比较[J].临床合理用药杂志,2020,13(35):174-175.

[2]Panraksa Yosita, Apilux Amara, Jampasa Sakda et al. A facile one-step gold nanoparticles enhancement based on sequential patterned lateral flow immunoassay device for C-reactive protein detection[J] Sensors and Actuators: B. Chemical, 2021, 329

[3]马敏,颜秉翔.探究化学发光免疫分析技术(CLIA)与酶联免疫吸附试验(ELISA)在乙肝病毒血清学检验中的实践效果[J].中西医结合心血管病电子杂志,2020,8(20):198.

[4]刘洪源.乙肝病毒血清学检验中化学发光免疫分析技术酶联免疫吸附试验价值分析[J].人人健康,2020(13):94.

[5]左雪灿,丁庆和,李占平.化学发光免疫分析技术和酶联免疫吸附试验在乙肝病毒血清学检验中的应用效果[J].中国民康医学,2020,32(05):123-125.

[6]马吉芳,杨晓桦,孙澜,王镜达,宋明慧.化学发光免疫分析技术和酶联免疫吸附试验在乙肝病毒血清学检验中的应用[J].中国医药指南,2019,17(27):161-162.

[7]He Wanghong, You Minli, Li Zedong et al. Upconversion nanoparticles-based lateral flow immunoassay for point-of-care diagnosis of periodontitis[J] Sensors and Actuators: B. Chemical, 2021, 334

[8]谢春燕.化学发光免疫分析技术和酶联免疫吸附试验在乙型肝炎病毒血清学检验中的应用比较分析[J].中国社区医师,2019,35(15):122.