

时间分辨荧光免疫法定量检测乙肝病毒血清标志物的临床价值

嵇开封

盐城市亭湖区人民医院检验科 江苏盐城 224001

【摘要】目的：分析应用时间分辨荧光免疫法对乙肝病毒血清标志物进行定量检测的价值。方法：随机选择医院接诊病人在 2017 年 1 月-2019 年 1 月接待的患者 138 例，分别使用 ELISA 和 TRFIA 方法进行检测，检测项目为 HBsAg、HBeAg、抗 HBs、抗 HBe、抗 HBc，最后对比两种方法的检测结果。结果：TRFIA 和 ELISA 两种方法对于 HBsAg、HBeAg 的检测符合率较高，但对比不存在显著差异 ($P>0.05$)；而两种方法对于抗 HBs、抗 HBe、抗 HBc 的检测符合率分别为 88.89%，80.49%，81.25%，对比存在显著差异 ($P<0.05$)。结论：使用 TRFIA 法定量检测乙肝病毒血清学标志物，阳性检测率更高，灵敏度也更高，临床应用价值比较突出。

【关键词】时间分辨荧光免疫法；乙肝病毒；血清标志物；定量检测

1 引言

乙肝即乙型肝炎，是临床常见的传染性疾病，是由乙型肝炎病毒 (HBV) 感染导致，而且已成为世界性的卫生问题。随着计划免疫工作的逐渐落实，乙肝疫苗接种率不断提高，乙肝感染率也逐渐降低。HBV 有一定的潜伏期，即使经过对症治疗，病毒也不会完全消失，而是在体内维持很多年，这也是导致抗病毒治疗后 HBV 反弹的根本原因。所以对 HBV 进行检测，是评估其是否患病以及病情严重程度还有治疗方法有效性的关键举措。而对这方面，临床上选择检测 HBV 的血清标志物，包括 HBsAg 等成分，这是反应 HBV 是否复制、复制程度、传染性强弱的主要指标之一。一般来说，HBsAg 在感染 HBV 后两周内就会表现为阳性，阳性反应提出个体存在 HBV 感染。因此，检测 HBsAg 对于诊断乙肝以及进行治疗干预和效果评估等方面有积极意义。此次研究就以 ELISA 方法作为对比，探讨时间分辨荧光免疫法 (TRFIA) 对于 HBV 血清标志物的检测价值。

2 资料与方法

2.1 材料

随机选择医院在 2017 年 1 月-2019 年 1 月接待的患者 138 例，其中男性 81 例，女性 57 例，年龄 21-68 岁，平均 (46.24 ± 3.58) 岁。此次研究经过医院伦理委员会的批准，所有患者均签署了知情同意书。

2.2 方法

样本准备：所有血液标本都是患者在空腹状态下采集的静脉血，当天送往实验室分离血清，并且在 24h 内检测完毕。

仪器和试剂选择：ADFYC-F2100 全自动荧光免疫分析仪，HM-SY96S 型酶标仪。室内质控品选择卫生部临床检验中心提供的 HBsAg 定值质控品，浓度 1IU/mL ($\approx 0.5\text{ng/mL}$)。试剂分别来自于专业公司提供的标准试剂，分别进行检验。

检测方法选择：对上述血清标本分别进行 TRFIA 以及 ELISA 检测。检测参数包括 HBsAg、HBeAg、抗 HBs、抗 HBe、抗 HBc。检测后选择系列浓度的标准品制定标准曲线，然后设定标本曲线为参考曲线，将样品按照参考曲线的线性范围进行测定。检测过程中严格遵守试剂盒的使用说明，禁止擅自更改参数。

2.3 观察指标

对比两种检测方法的阳性结果以及灵敏度情况。评定指标如下：

ELISA 法：HBsAg、HBeAg、抗 HBs 都是样本吸光度 A 值/阴性对照 B 值，平均 A 值 ≥ 21 列为阳性，反之就为阴性；抗 HBe、为 $\text{COV} = (\text{阴性对照平均 A 值} + \text{阳性对照平均 A 值}) / 2$ ，标本 A 值 $< \text{COV}$ 列为阳性，反之则为阴性；抗 HBc 是 1:30 稀释的血清， $\text{COV} = \text{阴性对照平均 A 值} \times 0.5$ ，标本 A 值 $< \text{COV}$ 列为阳性，反之则为阴性。

TRFIA 法：HBsAg $\geq 0.2\text{ng/mL}$ 列为阳性，反之则为阴性；HBeAg $\geq 0.5\text{PEIU/mL}$ 列为阳性，反之则为阴性；抗 HBs $\geq 10\text{mU/mL}$ 列为阳性，反之则为阴性；抗 HBe $\geq 0.2\text{PEIU/mL}$ 列为阳性，反之则为阴性；抗 HBc $\geq 0.09\text{PEIU/mL}$ 列为阳性，反之则为阴性。

2.4 统计学处理

使用 SPSS 25.0 分析数据，并分别使用 $\%$ 和 $\bar{x} \pm s$ 表示，然后开展 χ^2 和 t 检验，以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

TRFIA 法检测到 HBsAg 阳性 34 例，阳性率 24.64%；HBeAg 阳性率 10.14%，抗 HBs 阳性率 46.38%，抗 HBe 阳性率 23.91%，抗 HBc 阳性率 28.26%。ELISA 法检测到 HBsAg 阳性率 26.09%，HBeAg 阳性率 10.87%，抗 HBs 阳性率 52.17%，抗 HBe 阳性率 29.71%，抗 HBc 阳性率 34.78%。从上述可以分析得出，两种方法对于 HBsAg、HBeAg 的检测符合率较高，但对比不存在显著差异 ($P>0.05$)；抗 HBs、抗 HBe、抗 HBc 在两种方法之间的检测符合率分别为 88.89%，80.49%，81.25%，对比存在显著差异 ($P<0.05$)。TRFIA 法检测的阳性率显著高于 ELISA 法，说明检测的准确率更高。具体数据见表 1。

表 1 TRFIA 和 ELISA 检测结果对比 (n, %)

检测指标	TRFIA 法 (n=138)		ELISA 法 (n=138)		符合率
	阳性	阴性	阳性	阴性	
HBsAg	34	104	36	102	94.44
HBeAg	14	124	15	123	93.33
抗 HBs	64	74	72	66	88.89
抗 HBe	33	105	41	97	80.49
抗 HBc	39	99	48	90	81.25

4 讨论

肝炎在临床上十分常见,是由于细菌、病毒、寄生虫、药物、酒精等因素造成的肝脏部位病变,可以出现在儿童和成人,其中乙型肝炎更为常见。此病是由乙型肝炎病毒感染造成的疾病,主要在肝脏出现损害,但属于一种全身性传染病,也是国家规定的乙类法定传染病。我国属于此病的高发区域,其中乙型肝炎携带者的数量超过1亿。此病的发生机制是机体感染肝炎病毒之后,个体以及病毒携带者都具备传染性,并可以通过血液、消化道、母婴等途径进行传播。因为此病可能传染,具有较大的危险性,如果不能及时发现和治疗,患者长时期处于病毒活跃状态,还会累及多个器官,带来其他并发症等,威胁到人身安全。具体的并发症可以分为肝内和肝外并发症,前者有肝硬化、肝衰竭、肝细胞癌等,后者有肝性脑病、上消化道出血等,其中上消化道出血是肝炎患者尤其是肝硬化患者最常见的并发症,这类患者表现出门静脉高压,血流、血压以及血液中的凝血物质异常,因此往往会出现大出血情况,威胁生命安全。因此,临床要加强对此病的诊断,具体检查时需要询问患者的详细病史,进行体格检查,主要是观察肝脏是否存在异常,然后结合实验室检查、影像学检查等,进行确诊。需要注意的是,此病不仅需要确定病因,也需要确定临床类型,这样才能保证为临床治疗提供科学指导。而病原学诊断需要进行实验室检查,主要是血常规、尿常规、病原血清学检查、肝功能检查这四个方面。而影像学检查一般选择超声、CT、MRI这几种方式,可以观察到肝脏部位是否出现病变。病理学检查则是对肝脏组织进行活检,对于确诊以及判断肝炎的发展程度和纤维化程度有积极意义。在上述方法中,病原血清学检查对于疾病的确诊存在不可替代的作用,而具体的检查方法众多,主要是对血清标志物进行检测。临床常用的方法有ELISA、TRFIA等,本次主要是评估TRFIA的检测价值。

TRFIA即时间分辨荧光免疫分析法,是一种非同位素的免疫分析技术。该方法的原理是借助镧系元素可以标记抗原或抗体,然后利用镧系元素整合物的发光特性,通过时间分辨技术进行荧光测定,对其波长和时间参数进行信号分辨,这样可以排除非荧光信号的干扰,从而提高检测灵敏度。在正常情况下,生物流体以及血清中的很多复合物和蛋白都可以发出荧光,所以如果进行传统的检测方法就会造成检测错误;同时,部分荧光信号是短时间存在的,所以使用长衰减寿命的标记物与时间分辨荧光技术相结合,就可以在很大程度上降低瞬时荧光造成的干扰问题。该方法一般应用于检测病毒性肝炎标志物、肿瘤相关抗原、药物、多肽类等,在HBsAg的检测应用中也比较普遍。该方法的灵敏度特异性均较好,试验结果可以保存较长时间,由于可进行定量分析,这对药物疗效观察和病情监测具有重要意义。

对于乙肝病毒来说,血清标志物包括HBsAg、HBeAg、抗HBs、抗HBe、抗HBc这几类。其中,判断HBV感染的血清学标志物一般说的是HBsAg,即乙肝表面抗原。HBsAg是HBV的外壳部分,其并不含病毒颗粒,所以一般检测到时无法判断病毒的复制情况、复制程度、传染性强弱等,所以一般将HBsAg阳性当做HBV感染的标志。HBsAg多数在乙肝患者转氨酶升高前2-8周的血清中检测到,如果患者进入恢复期,其滴度会逐渐降低;而且患者血液中出现抗HBs时,HBsAg会消失。所以检

测HBsAg水平是早期诊断乙肝的指标之一。目前临床上检测HBsAg最常用的方法就是ELISA试验,然后是RIA试验,前者比较简单,操作方便,出结果的速度也较快,最低检测浓度为0.2ng/mL。如果是HBV急性感染,检测到的HBsAg多数会在出现症状后的1-3个月左右消失;如果检测到的HBsAg持续时间 ≥ 6 个月,则认为是慢性肝病和肝细胞癌高风险的主要指标,此时需要考虑慢性乙肝的存在。所以进行HBsAg检测也可以判断是急性还是慢性乙肝。同时,HBsAg阴性则排除急性乙肝感染的可能,但要考虑窗口期。

抗HBs是HBsAg刺激人体免疫系统后产生的抗体,属于一种保护性抗体,也叫中和性抗体。其可以中和掉HBV的感染力,保护人体免受HBV的再度袭击。抗HBs阳性可以说明乙肝患者进入恢复期;既往感染过HBV或乙肝,或携带者,但现在病毒被清除;单纯抗HBs阳性是乙肝疫苗免疫成功的标志,不会再感染HBV。HBeAg是HBV复制的标志,可以判定传染性的大小,检查阳性说明HBV在体内活跃,血中带毒量大,传染性强。抗HBe的存在说明乙肝在好转,其阳性结果表明HBV复制从活跃转为相对静止,血中带毒量变小,传染性也减弱。抗HBe是机体感染HBV后最先出现的抗体,但不具备对机体的保护作用,阳性结果说明HBV正在复制,传染性较强。

本次研究分别选择TRFIA法和ELISA法对于所选就诊患者的血清学标志物5项指标进行定量检测,发现:两种方法对于HBsAg、HBeAg的检测符合率较高,但对比不存在显著差异($P>0.05$);抗HBs、抗HBe、抗HBe在两种方法之间的检测符合率分别为88.89%,80.49%,81.25%,对比存在显著差异($P<0.05$)。这意味着TRFIA法检测的阳性率要高于ELISA法,说明检测的准确率更高。因此,使用TRFIA法定量检测乙肝病毒血清学标志物,阳性检测率更高,灵敏度也更高,临床应用价值比较突出。

参考文献:

- [1]黎亮,唐秀芳,吴秀娟.时间分辨荧光免疫法检测乙型肝炎病毒标志物的效果[J].家庭医药·就医选药,2018,(04):366.
- [2]周向荣.时间分辨荧光免疫法与酶联免疫法检测乙肝病毒血清标志物的对比分析[J].人人健康,2020,(04):261.
- [3]杨婷.酶联免疫吸附实验法(ELISA)和时间分辨荧光免疫法(TRFIA)检测乙肝两对半的差异对比[J].中国保健营养,2016,26(15):375.
- [4]童波.采用时间分辨荧光免疫法检测乙肝标志物的临床价值分析[J].大家健康(学术版),2016,10(07):145-146.
- [5]马春静,邹薇,王丽.时间分辨荧光免疫法定量检测乙肝病毒血清标志物的临床意义[J].中外医疗,2015,34(17):188-189.
- [6]胡金丹.如何看待乙肝病毒血清标志物的检验结果[J].幸福家庭,2020,(14):121.
- [7]户丹,张宪华.时间分辨免疫荧光法与化学发光法检测乙型肝炎血清标志物结果的一致性分析[J].检验医学与临床,2022,19(04):559-560.
- [8]马丽娜,张俊涛,李胜男.乙型肝炎病毒相关检测方法的对比分析及其展望[J].中华临床实验室管理电子杂志,2020,08(01):2-5.