

酶联免疫法检测小儿乙肝 PreS1 抗原及抗体在乙肝诊断中的应用价值

唐莲 唐艳 朱咏贵 张慧

作者单位: 410007 湖南长沙, 湖南省儿童医院肝病中心(唐莲、朱咏贵、张慧);

422000 湖南邵阳, 湖南省邵阳市中心医院检验科(唐艳)

通讯作者: 唐莲, Email: thinkapr@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2017.03.006

【摘要】 目的 探讨酶联免疫法检测小儿乙肝病毒前 S1 蛋白(PreS1)抗原及抗体在小儿乙肝诊断中的应用价值。方法 在 2014 年至 2016 年在本院接受诊断和治疗的乙肝患儿中,选择 200 例资料完整且接受两对半检查和酶联免疫法检测血清 PreS1 抗原及抗体的患儿作为研究对象,计算不同两对半检测结果患儿 PreS1 抗原及抗体阳性率,分析 PreS1 抗原阳性与 HBV-M 的 Spearman 相关性。结果 200 例乙肝患者入选。18 例乙肝大三阳患儿的 PreS1 抗原阳性及抗体阳性的检出率较高,均为 83.33%。25 例 PreS1 抗原阳性组患儿与 175 例抗原阴性组患儿 HBsAg、HBeAg 和 HBeAb 数据对比差异具有统计学意义,说明 PreS1 抗原阳性与 HBsAg、HBeAg 和 HBeAb 具有正相关关系,相关数值分别为 0.620、0.550、0.720, P 值分别为 0.021、0.009、0.020。结论 乙肝 PreS1 抗原及抗体阳性检测准确率相对较高,可以作为乙肝诊断的补充检验,为患儿的临床诊断和治疗提供依据。

【关键词】 酶联免疫法; 乙肝 PreS1; 抗原; 抗体; 诊断

Clinical value of enzyme-linked immunosorbent assay in detecting hepatitis B PreS1 antigen and antibody in children

Tang Lian, Tang Yan, Zhu Yonggui, Zhang Hui. Liver Center, Hunan Children's Hospital, Changsha 410007, Hunan, China (Tang L, Zhu YG, Zhang H); Department of Laboratory, Hunan Shaoyang Central Hospital, Shaoyang 422000, Hunan, China (Tang Y)

Corresponding author: Tang Lian, Email: thinkapr@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the value of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in detecting hepatitis B PreS1 antigen and antibody in children. **Methods** From 2014 to 2016 in our hospital 200 cases of children with incomplete information and accept the two semi inspection and enzyme-linked immunosorbent assay of serum examination for diagnosis and treatment of hepatitis B were selected as the research object. Positive rates of PreS1 antigen and antibody, and Spearman correlation between PreS1 antigen positive and HBV-M were calculated. **Results** Two hundred cases of hepatitis B patients were enrolled. Eighteen patients with HBeAg positive PreS1 antigen and antibody positive detection rate was higher, more than 83.33% cases. Twenty-five PreS1 antigen positive group and 175 cases of children with HBsAg antigen were negative group, the difference was statistically significant in HBeAg and HBeAb data contrast, the PreS1 antigen positive and HBsAg, HBeAg and HBeAb had positive correlation, with correlation values were 0.620, 0.550, 0.720 and $P = 0.021, 0.009, 0.020$. **Conclusion** The detection accuracy of hepatitis B PreS1 antigen and antibody is relatively high, which can be used as a supplementary test for hepatitis B diagnosis, and provide the basis for clinical diagnosis and treatment of children.

【Key words】 Enzyme-linked immunosorbent assay; Hepatitis B PreS1; Antigen; Antibody; Diagnosis

乙型肝炎(乙肝)是临床中常见的传染性疾病,在现阶段的临床诊断中,两对半检测是主要的诊断手段,但是该检测方式对临床诊断具有一定的局限性,需要通过辅助诊断方式来提升诊断效果。而

DNA 检测属于有效的辅助诊断方式,然而乙肝病毒感染时,容易出现基因突变,造成检测假阳性^[1]。姜孝新等^[2]在临床研究发现,乙肝病毒前 S1 蛋白(PreS1)抗体和抗原可以辅助检测乙肝,将其应

用于患者的临床检测,可以提升检测的准确性和可靠性。王跃军等^[3]研究了乙肝病毒 PreS1 抗原及核心抗体 IgM 在临床诊断中的价值,发现 IgM 可以为乙肝患者的诊断提供依据。PreS1 抗体和抗原检测方式可以辅助诊断疾病,但其临床研究相对较少。因此,本研究的目的在于探讨酶联免疫法检测小儿乙肝 PreS1 抗原及抗体在乙肝诊断中的应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 病例选择 从 2014 年至 2016 年在本院接受诊断和治疗的乙肝患儿中,选择 200 例资料完整且接受两对半检查和酶联免疫吸附试验血清检查的患儿作为研究对象。

1.1.1 纳入标准 ① 患儿均行酶联免疫法进行诊断;② 患儿均行两对半诊断;③ 患儿家属同意本次研究且签署知情同意书。

1.1.2 排除标准 ① 伴有其他肝脏疾病;② 患有肝脏其他器质性病变。

1.1.3 患者资料 200 例患儿中男性 112 例,女性 88 例;患者年龄 2~12 岁,平均年龄(6.2±2.1)岁。其中,18 例患儿属于 HBsAg+、HBeAg+、HBcAb+ (大三阳);48 例患儿属于 HBsAg+、HBeAb+、HBcAb+ (小三阳);30 例患儿属于 HBsAg+ (单纯表面抗原阳性);44 例患儿属于 HBeAb+ (单纯表面抗体阳性);28 例患儿属于 HBsAg+、HBeAb+ (表面抗原及核心抗体阳性);22 例患儿属于 HBsAg+、HBcAb+ (表面抗体及核心抗体阳性);10 例患儿属于 HBcAb+ (核心抗体阳性)。

1.2 实验仪器的选择 实验仪器选择酶标仪(瑞士

Tecan Sunrise 公司生产);洗板机(深圳汇松科技公司生产,型号 PW-960)。

1.3 实验试剂的选择 PreS1 抗原和抗体检测试剂盒(上海阿尔法生物技术公司生产);乙肝两对半检测试剂盒(英科新创厦门科技公司生产)。

1.4 实验方法^[4] 严格按照试剂盒的说明书进行操作,稀释洗涤液备用。在测试微孔板设计空白、阳性和阴性对照组,一孔、二孔和三孔分别作为空白对照、阳性对照和阴性对照,滴入 HBsAg 酶合物,空白对照不滴加,充分摇匀后,将样本置于板贴,置于保温箱半小时,温度设置为 37℃,取下板贴,行洗板处理,运用洗涤液洗涤 6 次后拍干,加入底物液体,同时加入 1 滴显色剂,置于 37℃ 中保温 10 min,最后加入终止液,运用酶标仪测定结果。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件处理数据,计数资料用例(%)表示,同时采用 Spearman 进行相关性分析, $P < 0.05$ 表示数据对比差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患儿 PreS1 抗原以及抗体阳性情况分析 在本次研究中,发现乙肝大三阳患者的 PreS1 抗原阳性及抗体阳性的检出率较高,达到 80% 以上。结果见表 1。

2.2 患儿 PreS1 抗原阳性、阴性与乙肝病毒标志物的 Spearman 相关性分析 在本次研究中,PreS1 抗原阳性组患儿与抗原阴性组患儿 HBsAg、HBeAg、HBcAb 数据对比差异具有统计学意义,说明 PreS1 抗原与 HBsAg、HBeAg 和 HBcAb 具有正相关关系。见表 2。

表 1 200 例乙肝患儿两对半检测及 PreS1 抗原抗体阳性检测结果表

检测模式	例数 (例)	PreS1 抗原阳性		PreS1 抗体阳性	
		例数(例)	比例(%)	例数(例)	比例(%)
HBsAg+、HBeAg+、HBcAb+	18	15	83.33	15	83.33
HBsAg+、HBeAb+、HBcAb+	48	3	6.25	15	31.25
HBsAg+	30	2	6.67	25	83.33
HBeAb+	44	0	0	10	22.72
HBsAg+、HBeAb+	28	3	10.71	15	53.57
HBsAg+、HBcAb+	22	0	0	5	22.73
HBcAb+	10	2	20.00	5	50.00

表 2 200 例乙肝患儿 PreS1 抗原阳性、阴性与 HBV-M 的 Spearman 相关性分析表

组别	例数 (例)	HBsAg		HBsAb		HBeAg		HBeAb		HBcAb	
		r_s 值	P 值								
抗原阳性组	25	0.620	0.021	0.108	0.938	0.550	0.009	0.122	0.201	0.720	0.020
抗原阴性组	175	0.077	0.998	0.100	0.929	0.069	0.689	0.088	0.086	0.106	0.992

3 讨论

乙肝是指感染了乙型肝炎病毒(HBV)并导致肝脏炎症,人体感染后可以有不同的临床感染状态,如乏力、恶心和腹胀等,轻度的压痛感,病情严重者甚至会造成肝功能异常^[5]。在对患者的临床诊断中,两对半是患者的血清标志物,包括表面抗原、表面抗体、核心抗体、e 抗原以及 e 抗体。通过两对半检测,可以基本了解乙肝患者的病情,但是在检测过程中,由于患者体质以及基因突变等因素,导致仅有两对半检测仍无法了解部分患者的详细病情,因而需要采用科学的方式来进行辅助诊断^[6]。

酶联免疫法主要是通过抗体与酶的结合,通过显色剂来进行检测,其可以保证免疫活性,同时保留酶的活性。在测定时,把受检标本(测定其中的抗体或抗原)和酶标抗原或抗体按不同的步骤与固相载体表面的抗原或抗体起反应。用洗涤的方法使固相载体上形成的抗原抗体复合物与其他物质分开,最后结合在固相载体上的酶量与标本中受检物质的量成一定的比例。加入酶反应的底物后,底物被酶催化变为有色产物,产物的量与标本中受检物质的量直接相关,故可根据颜色反应的深浅来进行定性或定量分析。由于酶的催化频率很高,故可极大地放大反应效果,从而使测定方法达到很高的敏感度。在乙肝患者的诊断中,通过酶联免疫法,可以较为准确地辅助患者的 HBV 诊断,为患者的临床治疗提供依据。

在本次研究中发现,乙肝大三阳患者的 PreS1 抗原阳性及抗体阳性的检出率较高,达到 80% 以上。说明在对乙肝患者的临床诊断中,采用酶联免疫法检测患者的 PreS1 抗原以及抗体,具有较高的准确率,这主要是由于在对患儿的诊断中,传统的两对半检测方式虽然可以基本了解患儿的乙肝病情,但是对于部分患儿而言,由于体质和免疫状态的差异,导致难以确定其具体的病情。而采用 PreS1 抗原以及抗体的检测方式,可以相对更准确地确定乙肝感染状态,这是由于 HBV 颗粒包含 Dane、球形和棒状颗粒,并且 DNA 以及 DNA 多聚酶存在于 Dane 颗粒表面,在酶联免疫法的应用中,通过载体酶与反应底物的化学反应,会产生相应的有色产物,而在反应中,大三阳患儿的 HBsAg+、HBeAg+、HBcAb+ 均容易发生反应,因而在检测过程中,检出率最高,达到 83.33%。在对乙肝患者的临床诊断研究中, Joo 等^[7]采用两对半的方式对患者进行检查,通过检查

发现,该检测方式的准确率达到 75% 以上,但是对于部分患者而言,依然无法满足患者的诊断需求,因而需要结合其他检测手段来辅助进行确诊,以便为患者的临床治疗提供充分依据。靳四海^[8]在对酶联免疫法的研究中,认为其对于乙肝大三阳患者具有较高的诊断价值,这主要是由于在对患者的诊断过程中,大三阳患者体内的抗原反应相对较为灵敏,会较为准确地反映患者体内的 HBV 情况,从而可以辅助确定患者的病情,对于乙肝的具体诊断具有较为重要的临床意义。刘兰凤等^[9]在临床研究中,对酶联免疫法的临床优势以及缺点进行分析,他认为该检测方式具有较高的灵敏度,可以确定患者的病情,但是在检测的过程中,该检测方式同样会出现诊断误差,在与两对半检测出现差异时,需要对患者进行重新诊断,反而会浪费诊断时间,因此,在诊断的过程中,需要根据患者的实际情况合理选择。

在本次研究中,PreS1 抗原阳性组与阴性组患儿 HBsAg、HBeAg 和 HBcAb 数据对比差异具有统计学意义,说明与 HBsAg、HBeAg 和 HBcAb 具有正相关关系。因而在对患儿的临床诊断中,可以通过 PreS1 检测的方式来辅助诊断,以此来提升诊断的准确率,并且降低疾病的传染。这主要是由于在对患儿的诊断过程中,PreS1 抗体是 HBV 清除的重要指标,HBsAg、HBeAg 和 HBcAb 更加容易发生反应,改变抗原的性质,因而与 PreS1 抗原阳性呈现明显的正相关关系。而 HBsAb 与 HBeAb 在反应过程中,虽然发生变化,但是对于阳性的变化并无明显的影响,因而不存在相关性。在对患儿的诊断中,如果患儿 HBV 出现基因突变,加重疾病,出现重症肝炎,并且预后效果较差,因而更需要注意隔离和积极治疗。在对乙肝患者的临床诊断研究中, Dahl 等^[10]认为 PreS1 抗原以及抗体和患者 HBsAg 具有正相关关系,其主要是由于患者体内的病毒基因容易出现突变或者复制率变化,而 PreS1 抗原是患者 HBV 活跃的重要指标,因而通过该检测方式,可以较好地确定患者的感染状态。石梁^[11]在研究中,分析酶联免疫法以及乙肝两对半检测方式的差异,发现酶联免疫法检测方式中,体内 PreS1 抗原以及抗体和患者体内的 HBeAg 和 HBcAb 变化具有明显的正相关,可以较为灵敏地反映患者的 HBV 变化情况,对于患者的辅助诊断具有较高的借鉴意义。本次研究与诸多研究结果相符。

总之,PreS1 抗原及抗体的检测准确率相对较

高,可以作为乙肝诊断的补充检验,为患儿的临床诊断和治疗提供依据。然而在本次研究中,由于样本量相对较少,同时研究中可能存在一定的检验误差,且患儿的体质存在差异,因而导致本次研究结果可能存在一定的误差,但是总体而言,其仍然对于患儿的临床诊断具有一定的借鉴意义。

参考文献

- 1 康华,田亚琼,张磊,等. 乙肝相关肝细胞肝癌血清蛋白标志物的筛选[J]. 实用检验医师杂志, 2015, 7(2): 79-85.
- 2 姜孝新,蒋艳,李艳雯,等. MICA 基因第 5 外显子与乙肝后肝硬化相关性研究[J]. 实用检验医师杂志, 2013, 5(2): 76-78, 108.
- 3 王跃军,常亚丽,柴玉香,等. 乙肝病毒前 S1 抗原及核心抗体 IgM 在临床诊断中的价值[J]. 西南国防医药, 2013, 23(9): 939-941.
- 4 黄丽庆,黄启强,杨珊玉. 乙肝病毒前 S1 抗原与传统二对半联合检测的应用价值探讨[J]. 现代诊断与治疗, 2013, (13): 2909-2910.
- 5 邱芳,吴泽良. 放射免疫法和酶联免疫法检测人血浆乙肝表面抗

体效价比较[J]. 江西医药, 2012, 47(2): 178-179.

- 6 马连学,李艳菊,魏巍. 化学发光微粒免疫法和酶联免疫吸附法检测乙肝表面抗原的结果对比分析[J]. 中国实用医药, 2014, 6(9): 89-90.
- 7 Joo DJ, Jung I, Kim MS, et al. Comparison of the affinity column-mediated immunoassay and microparticle enzyme immunoassay methods as a tacrolimus concentration assay in the early period after liver transplantation [J]. Transplant Proc, 2010, 42(10): 4137-4140.
- 8 靳四海. 酶联免疫法检测乙肝患者的血清标志物的临床价值分析[J]. 中国处方药, 2015, 13(5): 115.
- 9 刘兰凤,杜丽新. 浅谈用酶联免疫法与胶体金法检测乙肝表面抗原的优缺点[J]. 当代医药论丛, 2015, 13(11): 46-47.
- 10 Dahl JH, van Breemen RB. Rapid quantitative analysis of 8-iso-prostaglandin-F(2alpha) using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and comparison with an enzyme immunoassay method [J]. Anal Biochem, 2010, 404(2): 211-216.
- 11 石梁. 酶联免疫法和胶体金快速检测板检测乙肝两对半的比较分析[J]. 临床医药文献电子杂志, 2015, 2(28): 5919-5920.

(收稿日期: 2017-06-17)

(本文编辑: 杨程伍 李银平)

消 息

湖南省医学会检验专业委员会 2017 年学术会议 暨个体化检测新技术学习班

“湖南省医学会检验专业委员会 2017 年学术会议暨个体化检测新技术学习班”定于 2017 年 10 月 26 日至 29 日在长沙市举行,这是 2017 年度湖南省检验医学的一次盛会。本次会议的主题为“提高学术水平,促进学科发展”。会议邀请国际、国内知名专家学者做专题报告,开展优秀论文讲演评选。欢迎我省广大检验医学人员参加,会议征文及相关事项通知如下。

一、征文主题(按检验医学科亚专业分组)

- 1 临床血(体)液学基础检验
- 2 临床生化检验
- 3 临床微生物学检验
- 4 临床免疫学检验
- 5 分子生物学、遗传、基因(蛋白、代谢)组学检验
- 6 临床实验室管理等

二、征文要求

- 1 论著、经验总结、综述和评论性文章均可。
- 2 不参加优秀论文评选的论文只需提交约 500 字以内的摘要。
- 3 参加优秀论文评选的论文请提交含有摘要的论文全文。原则上论文的第一作者或通信作者必须为湖南省医学会检验专业委员会会员,并且论文是在 2017 年 9 月 30 日以前未在刊物公开发表过的原始研究论著。已在省级及以上学会(协会)等会议荣获奖项的论文也不参加评奖。请在提交论文时注明:“本文未发表及获奖”。
- 4 大会将组织专家以“科学性、创新性、实用性”为基本准则,在“优秀论文评选”的稿件中进行遴选出优秀论文,再经大会论文讲演答辩评审出一、二、三等奖。
- 5 只接受 Email 投稿。投稿 Email: 604675337@qq.com。联系人: 项忠元 13755137486
- 6 征文截止日期: 2017 年 10 月 8 日 24:00

三、会议相关事项

- 1 会议时间: 2017 年 10 月 26 日至 29 日
- 2 地点: 长沙市岳麓区枫林一路 43 号: 枫林宾馆
- 3 收费标准: 会务费 800 元/人(含资料费等)。
- 4 住宿: 会议统一安排食宿,住宿和交通费用由参会人员所在单位报销。
- 5 报名方式: 可通过电话或电子邮件方式在 2017 年 10 月 20 日前报名,以便预定住宿。
- 6 联系人: 项忠元 13755137486, Email: 604675337@qq.com