

化学发光法与酶联免疫吸附试验在乙型肝炎病毒血清学检验中的应用

王娜娜 王婷婷

作者单位: 264006 山东烟台, 烟台业达医院检验科

通信作者: 王婷婷, Email: ykywnn@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2022.01.003

【摘要】 目的 比较化学发光法与酶联免疫吸附试验(ELISA)对乙型肝炎(乙肝)病毒血清学检验的应用。**方法** 选择 2020 年 1—12 月在烟台业达医院就诊的 110 例疑似乙肝患者作为研究对象, 对所有患者均采用化学发光法和 ELISA 进行乙肝病毒血清学检验, 比较两种方法的检测敏感度、阳性检出率以及乙肝病毒血清学检验结果。**结果** 血清乙肝表面抗原(HBsAg)浓度为 1.5、3.0、9.0、12.0 $\mu\text{g/L}$ 时, 化学发光法的检测敏感度分别为 21.82%、29.09%、37.27%、57.27%, 均高于 ELISA (分别为 6.36%、10.91%、17.27%、27.27%), 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。化学发光法的阳性检出率明显高于 ELISA [86.36% (95/110) 比 63.64% (70/110), $P < 0.05$], 乙肝五项指标 [包括乙肝核心抗体(HBcAb)、乙肝 e 抗原(HBeAg)、乙肝 e 抗体(HBeAb)、乙肝表面抗体(HBsAb)、乙肝表面抗原(HBsAg)] 的检出率分别为 49.09% (54/110)、43.64% (48/110)、60.00% (66/110)、55.45% (61/110)、63.64% (70/110), 均明显高于 ELISA [分别为 33.64% (37/110)、20.00% (22/110)、40.00% (44/110)、36.36% (40/110)、41.82% (46/110)], 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** 在乙肝病毒血清学检验中, 化学发光法的敏感度和检测阳性率均高于 ELISA, 因此更具临床应用价值, 适合进一步推广。

【关键词】 乙型肝炎病毒; 化学发光法; 酶联免疫吸附试验; 血清学检验

Comparative analysis of chemiluminescence assay and enzyme linked immunosorbent assay for serological examination of hepatitis B virus

Wang Nana, Wang Tingting. Department of Clinical Laboratory, Yantai Yeda Hospital, Yantai 264006, Shandong, China

Corresponding author: Wang Tingting, Email: ykywnn@163.com

【Abstract】 Objective To compare the application of chemiluminescence assay and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in serological examination of hepatitis B virus. **Methods** The 110 suspected patients with hepatitis B who were treated in Yantai Yeda Hospital from January to December, 2020 were selected as research subjects. The serological tests of hepatitis B virus were conducted by chemiluminescence assay and ELISA. The sensitivity, positive detectable rate and serum test results of hepatitis B virus by the two methods were compared. **Results** When the concentration of serum hepatitis B surface antigen (HBsAg) was 1.5, 3.0, 9.0 and 12.0 $\mu\text{g/L}$, the detectable sensitivities by chemiluminescence assay were 21.82%, 29.09%, 37.27% and 57.27%, which were higher than those by ELISA (6.36%, 10.91%, 17.27% and 27.27%, respectively), with significant differences (all $P < 0.05$). The positive rate of chemiluminescence assay was significantly higher than that of ELISA [86.36% (95/110) vs. 63.64% (70/110), $P < 0.05$]. The detectable rates of hepatitis B five indicators [including hepatitis B core antibody (HBcAb), hepatitis B e antigen (HBeAg), hepatitis B e antibody (HBeAb), hepatitis B surface antibody (HBsAb) and hepatitis B surface antigen (HBsAg)] were 49.09% (54/110), 43.64% (48/110), 60.00% (66/110), 55.45% (61/110) and 63.64% (70/110), respectively, which were higher than those by ELISA [33.64% (37/110), 20.00% (22/110), 40.00% (44/110), 36.36% (40/110) and 41.82% (46/110), respectively], with significant differences (all $P < 0.05$). **Conclusion** In serological tests of hepatitis B virus, chemiluminescence assay has higher sensitivity and positive detectable rate than ELISA, and has more clinical application value, which is suitable for further promotion.

【Key words】 Hepatitis B virus; Chemiluminescence method; Enzyme linked immunosorbent assay; Serological test

乙型肝炎(乙肝)是一种由于感染乙型肝炎病毒引起肝脏病变的传染性疾病^[1],在临床上较为常见,以恶心、食欲减退、肝功能异常、肝区疼痛等为主要临床表现^[2]。乙肝的潜伏期较长,且大部分患者在潜伏期内的临床症状并不明显,因此对乙肝的临床诊断有一定的难度,若患者未得到及时有效的治疗,会向肝硬化、肝功能衰竭进展,因此对疾病的早发现、早诊断、早治疗十分重要。患者在感染乙肝病毒后产生特异性抗体,故临床上一般通过乙肝病毒血清学检测进行诊断,其中实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)作为该疾病诊断的“金标准”,虽然具有较高的敏感度和检出率,但存在检测时间长、费用昂贵等不足^[3],因此需要寻找更加高效、准确的检测方法。酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)和化学发光法均为临床较为常用的检测方法,在实际应用中各有优势。本研究选择本院 2020 年 1—12 月接收的 110 例疑似乙肝患者作为研究对象,就上述两种方法在乙肝病毒血清学检验中的效果进行对比分析,旨在为临床诊断乙肝提供更加可靠的数据支持,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择 2020 年 1—12 月本院收治的 110 例疑似乙肝患者作为研究对象,其中男性 63 例,女性 37 例;年龄 25~73 岁,平均(49.65±4.49)岁。

1.1.1 纳入标准 ①因出现发热、恶心、食欲不振、上腹部不适、肝区疼痛等症状而就诊被疑诊为乙肝者;②认知功能正常,自愿参与本研究。

1.1.2 排除标准 ①存在原发性血液系统疾病者;②存在相关代谢系统疾病、癌症者;③处于特殊时期(经期、妊娠期或哺乳期)的患者;④存在可能影响检验结果的疾病者;⑤存在精神障碍者。

1.1.3 伦理学 本研究符合医学伦理学标准,并经本院医学伦理委员会审批(审批号:20210702),所有检测均获得患者或家属的知情同意。

1.2 研究方法 在检验前 1 d 嘱所有受检对象从晚上至次日清晨维持空腹状态至少 8 h,采集受检对象的空腹肘静脉血 5 mL,放置在真空分离胶试管中。以 3 000 r/min 进行离心处理,时间为 10 min,将分离出的上层血清保存在 -20℃ 冰箱中。

1.2.1 化学发光法 采用 Sysmex HISCL-5000 全自动化学发光分析仪(日本希森美康株式会社)及原装试剂乙肝病毒定量试剂盒,对血清标本进行检测,

严格按照相关说明书进行操作。

1.2.2 ELISA 采用烟台艾德康生物科技有限公司生产的 ELISA 400 全自动酶联免疫分析仪以及北京万泰生物药业股份有限公司提供的 ELISA 测定试剂盒进行 ELISA 检测。试剂盒在室温条件下放置 30 min,设置阳性、阴性及空白对照孔,于阳性、阴性对照孔中分别加入标准液 50 μL,再加入 50 μL 特异酶,完成封膜处理后,使用振荡器将液体混合均匀。于 37℃ 水浴箱中放置样本,孵育 30 min 后清洗反应板,在显色后加入终止液。采用 ELISA 400 全自动酶联免疫分析仪对血清中的乙肝核心抗体(hepatitis B core antibody, HBcAb)、乙肝 e 抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)、乙肝 e 抗体(hepatitis B e antibody, HBeAb)、乙肝表面抗体(hepatitis B surface antibody, HBsAb)、乙肝表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)进行比色,记录检测结果。

1.3 观察指标及判定标准 ①观察两种方法在不同血清 HBsAg 浓度下的敏感度。②观察两种方法的乙肝病毒阳性检出率。HBcAb、HBeAg 的正常参考值均为检测标本的吸光度值/临界值(样本 A 值/cut off 值, S/CO) < 1; HBeAb 为 S/CO > 1; HBsAb 正常参考值为 0~10 U/L; HBsAg 正常参考值为 0~50 U/L。判定标准为测量值不在参考值范围内则判定为阳性,反之则为阴性。③比较两种方法的乙肝病毒血清学检验结果。④从 110 例患者的血清中选取 35 份高、中、低浓度 HBsAg 阳性血清进行重复性试验,1 日 1 次,计算批内、批间重复性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 21.0 统计软件处理数据。计数资料以例(%)表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检测不同血清 HBsAg 浓度的敏感度比较 不同血清 HBsAg 浓度下的 ELISA 检测敏感度均明显低于化学发光法(均 $P < 0.05$)。见表 1。

表 1 化学发光法和 ELISA 对不同血清 HBsAg 浓度的检测敏感度比较

方法	例数 (例)	敏感度[%(例)]			
		1.5 μg/L HBsAg	3.0 μg/L HBsAg	9.0 μg/L HBsAg	12.0 μg/L HBsAg
化学发光法	110	21.82(24)	29.09(32)	37.27(41)	57.27(63)
ELISA	110	6.36(7)	10.91(12)	17.27(19)	27.27(30)
χ^2 值		10.852	11.364	11.092	20.285
P 值		0.001	0.001	0.001	0.001

注: HBsAg 为乙肝表面抗原, ELISA 为酶联免疫吸附试验

2.2 两种方法检测乙肝病毒的阳性检出率比较 110 例受检的疑似乙肝患者中,化学发光法的乙肝病毒检出率明显高于 ELISA [86.36% (95/110) 比 63.64% (70/110)], 差异有统计学意义 ($\chi^2=15.152$, $P<0.001$)。

2.3 两种方法检测乙肝病毒的结果比较 化学发光法对 HBsAg、HBsAb、HBcAb、HBeAg、HBeAb 的检验结果均明显高于 ELISA (均 $P<0.05$)。见表 2。

表 2 化学发光法和 ELISA 对乙肝病毒的血清检验阳性检出率比较

方法	例数 (例)	阳性检出率 [% (例)]	
		HBcAb	HBeAg
化学发光法	110	49.09 (54)	43.64 (48)
ELISA	110	33.64 (37)	20.00 (22)
χ^2 值		5.416	14.164
P 值		0.020	0.001

方法	例数 (例)	阳性检出率 [% (例)]		
		HBeAb	HBsAb	HBsAg
化学发光法	110	60.00 (66)	55.45 (61)	63.64 (70)
ELISA	110	40.00 (44)	36.36 (40)	41.82 (46)
χ^2 值		8.800	8.072	10.504
P 值		0.003	0.004	0.001

注: ELISA 为酶联免疫吸附试验, HBcAb 为乙肝核心抗体, HBeAg 为乙肝 e 抗原, HBeAb 为乙肝 e 抗体, HBsAb 为乙肝表面抗体, HBsAg 为乙肝表面抗原

2.4 两种方法的批内与批间重复性比较 两种方法批内不同浓度 HBsAg 重复性均高于批内检测结果; ELISA 批内不同浓度 HBsAg 均高于化学发光法, 批间低浓度、中浓度比化学发光法高, 即 ELISA 重复性高于化学发光法。见表 3。

表 3 化学发光法和 ELISA 对不同血清 HBsAg 浓度的检测重复性比较

HBsAg	化学发光法 (%)		ELISA (%)	
	批内	批间	批内	批间
低浓度	2.74	7.81	18.52	13.84
中浓度	1.40	4.17	13.05	12.21
高浓度	0.91	3.76	8.11	3.82

注: HBsAg 为乙肝表面抗原, ELISA 为酶联免疫吸附试验

3 讨论

乙肝是一种发生率较高且传染性较强的疾病^[4], 乙肝病毒具有一定的耐高温性, 容易经母乳喂养、输血、生活接触等多种途径传播。近年来, 随着我国乙肝防控工作的深入开展, 该疾病的发生率有所下降, 但仍具有较大的发病基数, 因此还需进一步加强防控工作。同时乙肝病毒筛查也是婚前和孕前检查的常规项目之一, 当受检者 HBsAg 呈阳性时, 会增加其配偶及子女的乙肝病毒感染风险, 并可能

对母婴结局产生不利影响, 故加强婚前和孕前检查对于控制乙肝病毒的传播具有重要作用。乙肝长期迁延不愈会导致肝硬化和肝癌等并发症的发生^[5], 进而威胁患者的生命安全, 且由于目前临床上尚无治疗该疾病的特效药物或方法, 即使在患者得到有效治疗后仍会携带乙肝病毒, 因此定期筛查、保持随访意义重大。

乙肝的早期症状不典型, 仅凭临床症状进行诊断易出现漏诊、误诊。选择何种诊断措施, 科学有效地提高乙肝病毒阳性检出率是临床乙肝研究中的重点课题, 且早期筛查能避免进一步引起并发症和其他器官损伤。在感染乙肝病毒后, 能够在大部分受检对象的血清中检测到 HBcAb, 其是乙肝血清学标志物中敏感度较高的一种^[6]。HBcAb 在血清中存在时间长, 可用于判断早期急性乙肝病毒感染。HBeAb 的出现提示机体中的乙肝病毒复制数量逐渐减少或停止; 而在 HBeAb 呈阳性的患者中, 乙肝病毒 DNA 检测结果为阳性, 提示机体内的病毒正处于大量复制阶段, 故需要及时给予抗病毒治疗, 反之则提示传染性较弱。同时部分患者的 HBcAb 滴度高, 且在 HBsAg 为阴性时, 受检者的血清中能够检测到 HBcAb, 故 HBcAb 滴度高对于判断机体是否感染乙肝病毒具有一定作用。HBeAg 主要反映乙肝病毒的复制情况, 当 HBeAg 超过正常参考值范围, 则说明病毒复制数量多且具有较强的传染性^[7]。HBeAg 一般在机体感染乙肝病毒后 2~6 个月内可以在患者血清中检出。HBsAb 属于保护性抗体, 是机体为 HBsAg 产生的免疫反应性抗体, 可在机体感染乙肝病毒后 6~23 周内被检测出, 并在患者体内长期存在, 当 HBsAb 呈阳性时, 提示机体已获得免疫。HBsAg 可在乙肝患者的血液、分泌物中检出, 早期急性乙肝病毒感染患者中会从 HBsAg 阳性向阴性转变, 在慢性乙肝患者中则 HBsAg 一直为阳性。

乙肝五项指标是乙肝诊断的敏感性标志物, 目前多采用化学发光法、ELISA 进行检测, 均具有操作简单、价格低廉的优点^[8]。ELISA 是指将使抗原或抗体结合到某种固相载体表面产生固相抗原或与某种酶连接成酶标抗原或抗体, 并保持其免疫活性, 能将未结合的抗原清除, 根据显色不同对抗原和抗体的阳性情况进行判定。ELISA 适用于大批量样本的检测, 但在临床实际工作中容易出现样本污染的情况, 导致假阳性或假阴性结果的出现, 造成临床实际检验需求无法得到满足^[9-10]。

化学发光法属于分子发光光谱分析法,是利用仪器对体系化学发光强度的检测,而确定待测物含量的一种痕量分析方法,与其他发光分析法的本质区别在于体系产生发光(光辐射)所吸收的能量来源不同。化学发光法利用自动化仪器进行检测,具有较高的自动化和标准化水平,检测结果不易受到外界因素的干扰,可减少人工操作产生的误差,并且可使电磁消失速度加快,促进复合、游离抗体的分离,在乙肝病毒标志物定量检测中的敏感度高,并可动态监测乙肝病毒感染^[11-12]。同时化学发光法所用试剂消耗量低、稳定性高、易储存,适合在临床中推广。本研究结果显示,与 ELISA 比较,化学发光法对不同血清 HBsAg 浓度下的检测敏感度、阳性检出率以及血清乙肝五项指标的检出率均更高,充分说明了化学发光法具有较高的敏感度和特异度。分析原因在于,ELISA 无法对疑似乙肝病毒感染者的复制情况和感染程度进行判断。在无偿献血者等乙肝病毒感染率较低的人群中更容易出现假阳性结果^[13]。另外,国内不同厂家生产乙肝 ELISA 试剂盒的截止计算方法、检测一致性均存在较大差异,会导致假阳性结果。在临床实验室检测中,需要先对试剂盒是否完全符合要求进行评估,完全符合的试剂盒才可使用,以降低假阳性率。化学发光法借助全自动仪器和配套试剂,可减少人为因素对检测结果造成的影响^[14],实现了检测的标准化、自动化、科学化,从而可提升检测的准确度,获得更加稳定的检测结果,直接确定抗体、抗原的含量或浓度,减少误诊、漏诊情况的发生^[15-16]。同时化学发光法具有诊断范围广、时间短、分析方法简单等优势,虽然可能会出现漏诊,但乙肝病毒的检出率仍较高^[17]。刘静等^[18]研究表明,化学发光法的 HBcAb、HBeAg、HBeAb、HBsAb、HBsAg 阳性检出率均高于 ELISA,提示化学发光法更具推广应用价值,所得结果和结论与本研究相似,佐证了此次研究结果具有较高的真实性和可靠性。与同类型研究进行比较,本研究还进一步探究了不同血清 HBsAg 浓度下的检测敏感度,结果显示化学发光法对乙肝病毒检测的敏感度较高。本研究不足之处在于,未进一步对检测数据的准确度、敏感度等进行评估,应在今后加强此方面的研究。

综上所述,化学发光法应用于乙肝病毒血清学检验中的临床价值高于 ELISA,适合在临床中进一步推广使用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 苗静,郭丽颖,王丽,等. MELD-Na、CLIF-C OFs、COSSH-ACLFs、NLR 评分体系在乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭患者中的应用价值研究[J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32 (12): 1496-1501. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200720-00536.
- 郭建英,陈冷忻,杨蕊西,等. 人工肝血浆胆红素吸附治疗重症乙型肝炎病毒性肝炎患者的临床疗效观察[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2019, 26 (1): 62-64. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2019.01.016.
- 雷秀丽. 化学发光法与酶联免疫法应用于乙肝病毒血清学检验中的效果[J]. 临床医学研究与实践, 2018, 3 (6): 100-101. DOI: 10.19347/j.cnki.2096-1413.201806048.
- 牟洪香,王李鸣,辛华,等. 化学发光法与酶联免疫法应用于乙肝病毒血清学检验中的效果及准确性分析[J]. 广东化工, 2020, 47 (15): 275-276.
- 林丹丽,陈机琼,冯慧艳,等. 酶联免疫法与全自动化学发光法检测乙肝表面抗原的特异度及敏感度比较[J]. 中国医学工程, 2020, 28 (6): 12-15. DOI: 10.19338/j.issn.1672-2019.2020.06.004.
- 徐建. 乙肝病毒血清学检验采用化学发光法与酶联免疫法的效果对比[J]. 中国医疗器械信息, 2020, 26 (11): 127-128. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6586.2020.11.063.
- 戴光辉. 用化学发光法与酶联免疫法对乙型肝炎患者进行乙型肝炎病毒血清学检测的效果对比[J]. 当代医药论丛, 2019, 17 (21): 160-161. DOI: CNKI:SUN:QYWA.0.2019-21-121.
- 杨梦然,高峰. 免疫检验方法对乙肝病毒血清标志物检测结果的影响[J]. 河南医学研究, 2019, 28 (20): 3777-3778. DOI: 10.3969/j.issn.1004-437X.2019.20.069.
- 唐莲,唐艳,朱咏贵,等. 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[J]. 实用检验医师杂志, 2017, 9 (3): 146-149. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2017.03.006.
- 秦小林. 某血站 8 种酶联免疫吸附试验检测试剂检测结果待查情况调查[J]. 实用检验医师杂志, 2019, 11 (4): 211-213. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.04.006.
- 黄赛男. 使用两种免疫检验方法检测乙型肝炎患者体内乙肝病毒血清学标志物的效果对比[J]. 当代医药论丛, 2019, 17 (18): 152-153. DOI: CNKI:SUN:QYWA.0.2019-18-115.
- 刘志茹. 化学发光法和酶联免疫法在乙型肝炎病毒血清学检验中的应用效果比较[J]. 中国当代医药, 2018, 25 (36): 137-139. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4721.2018.36.043.
- 林静,罗伟波. 乙肝病毒血清学检验采用化学发光法与酶联免疫法的效果对比[J]. 中国医药科学, 2018, 8 (17): 138-141. DOI: 10.3969/j.issn.2095-0616.2018.17.039.
- 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 (5): 123-125. DOI: 10.3969/j.issn.1672-0369.2020.05.051.
- 张琰,戴彰,朱建辉. 乙肝病毒血清学检测采用化学发光法和酶联免疫法效果比较分析[J]. 中外医疗, 2018, 37 (26): 193-195. DOI: 10.16662/j.cnki.1674-0742.2018.26.193.
- 赵小平. 两种不同免疫检验方法检测乙型肝炎病毒感染血清学标志物的临床对比探讨[J]. 中外医学研究, 2019, 17 (3): 56-57. DOI: 10.14033/j.cnki.cfmr.2019.03.025.
- 辛晓阳,徐立群,潘峰. 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价值分析[J]. 中国现代医生, 2018, 56 (10): 127-130. DOI: CNKI:SUN:ZDYS.0.2018-10-035.
- 刘静,孙雅,于箭. 乙肝病毒血清学检验采用化学发光法与酶联免疫法的效果比照观察[J]. 中国实用医药, 2019, 14 (7): 31-32. DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2019.07.016.

(收稿日期: 2021-09-08)

(本文编辑: 邵文)