

炎的转归与预后分析[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2015, 16(3): 244-246.

[5] PIRAINO B. Insight on peritoneal dialysis-related infection[J]. Contrib Nephrol, 2009, 163(3): 161-168.

[6] QAMAR M, SHETH H, BENDER F H, et al. Clinical outcomes in peritoneal dialysis: impact of continuous quality improvement initiatives[J]. Adv Perit Dial, 2009, 25(1): 76-79.

[7] WANG J, ZHANG H, LIU J, et al. Implementation of a continuous quality improvement program reduces the occurrence of peritonitis in PD[J]. Ren Fail, 2014, 36(7): 1029-1032.

[8] 李天慧, 毛永辉, 赵班, 等. 单中心 3 年腹膜透析相关性腹膜炎变化趋势分析[J]. 中国血液净化, 2015, 14(2): 75-78.

[9] SZETO C C, KWAN B C, CHOW K M, et al. Predictors of residual renal function decline in patients undergoing

continuous ambulatory peritoneal dialysis[J]. Perit Dial Int, 2015, 35(2): 180-188.

[10] BADVE S V, HAWLEY C M, MCDONALD S P, et al. Use of aminoglycosides for peritoneal dialysis-associated peritonitis does not affect residual renal function[J]. Nephrol Dial Transplant, 2012, 27(1): 381-387.

[11] TOKGOZ B, SOMDAS M A, UCAR C, et al. Correlation between hearing loss and peritonitis frequency and administration of ototoxic intraperitoneal antibiotics in patients with CAPD[J]. Ren Fail, 2010, 32(2): 179-184.

[12] ZELENITSKY S, BARNS L, FINDLAY I, et al. Analysis of microbiological trends in peritoneal dialysis-related peritonitis from 1991 to 1998[J]. Am J Kidney Dis, 2000, 36(5): 1009-1013.

(收稿日期: 2019-03-16 修回日期: 2019-06-19)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 18. 029

## CLIA 在乙型肝炎患者病毒血清学标志物检验中的应用价值

贾自晓

通许县人民医院检验科, 河南开封 475400

**摘要:**目的 分析化学发光免疫分析法(CLIA)在乙型肝炎患者病毒血清学标志物检验中的应用价值。方法 选取 2015 年 11 月至 2018 年 9 月该院疑似乙型肝炎患者 112 例为研究对象, 以实时荧光定量 PCR 检验结果为“金标准”, 对乙型肝炎病毒血清学标志物[表面抗原(HBsAg)、e 抗原(HBeAg)、e 抗体(HBeAb)、核心抗原(HBcAg)及表面抗体(HBsAb)]均行 CLIA 与酶联免疫吸附试验(ELISA)检测, 对比两种检验方法对乙型肝炎的诊断效能、血清学标志物检出率。结果 CLIA 检测准确度(93.75%)、灵敏度(97.10%)、阴性预测值(95.00%)高于 ELISA(83.93%、78.26%、72.73%), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); CLIA 的特异度、阳性预测值与 ELISA 比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); CLIA 对血清学标志物的检出率(92.75%)高于 ELISA(66.67%), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 应用 CLIA 检测乙型肝炎患者病毒血清学标志物, 准确性较高, 可有效提高检出率, 为临床选择治疗方案、判断治疗效果、评估预后提供科学依据。

**关键词:**化学发光免疫分析法; 酶联免疫吸附试验; 乙型肝炎; 实时荧光定量 PCR

**中图分类号:** R446

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1672-9455(2019)18-2683-03

乙型肝炎是由乙型肝炎病毒(HBV)感染所致的病毒性肝炎, 具有较强传染性与较高发病率, 数据显示, 我国携带 HBV 感染人数高达 0.93 亿。其病程呈进展性加重, 严重者可发展为肝硬化、重型肝炎、肝癌等, 危害患者生命安全<sup>[1-2]</sup>。目前临床治疗乙型肝炎多以预防为主。相关研究发现, 人体免疫系统对 HBV 产生特异性免疫反应, 故乙型肝炎诊断与评估预后的重要参考依据为检测 HBV DNA 与 HBV 血清学标志物<sup>[3]</sup>。酶联免疫吸附试验(ELISA)为临床常用的检测 HBV 血清学标志物方法, 但该方法无法动态观察病情、评估疗效。因此, 本研究选取 112 例疑似乙型肝炎患者, 探讨化学发光免疫分析法(CLIA)在 HBV 血清学标志物检测中的应用效果, 现将结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2015 年 11 月至 2018 年 9 月本院疑似乙型肝炎患者 112 例为研究对象, 其中男 59 例, 女 53 例; 年龄 23~47 岁, 平均(35.79±5.04)岁。本研究经本院伦理委员会审核通过。纳入标准: 知情并签署同意书; 伴有恶心呕吐、食欲不振、全身乏力、肝区疼痛、下肢水肿等临床症状。排除标准: 妊娠期或哺乳期女性; 合并心、脑、肺等重要器官功能衰竭者; 凝血机制失衡者; 既往有精神病者。

**1.2 仪器与试剂** 郑州安图生物工程股份有限公司提供的 Addcare ELISA400 全自动化学发光酶免一体机, 仪器自带酶标仪; 安图生物工程股份有限公司提供的 Quantitative CLIA 检测试剂盒; 广州健仑生物科技有限公司提供的呋喃它酮(AMAZ)ELISA 检测

试剂盒。

**1.3 方法** 以实时荧光定量 PCR 检验结果作为乙型肝炎诊断的“金标准”。

**1.3.1 实时荧光定量 PCR** 取 100  $\mu$ L 血清标本、100  $\mu$ L 试剂盒对照品,以 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液。加入血清标本 100  $\mu$ L,震荡摇匀后,再次离心处理,以 10 000 r/min 离心 10 min;弃上清液,于沉淀物内加入血清标本 25  $\mu$ L,震荡混匀,实施沸水浴,10 min 后离心处理,提取上清液。将 PCR 反应液 37.6  $\mu$ L 加入离心管 0.2 mL 内,后添加 Taq 酶 0.4  $\mu$ L、尿苷酶 0.06  $\mu$ L 为反应管,加入处理标本、对照品 2 mL,并以  $10^8$ 、 $10^7$ 、 $10^6$ 、 $10^5$ 、 $10^4$ 、 $10^3$  copies/mL 为对照品浓度梯度,混匀后移至检测区,应用核酸扩增仪进行 PCR 扩增。

**1.3.2 ELISA** 空腹状态下取患者外周静脉血 5 mL,于 4  $^{\circ}$ C 环境下离心处理,3 000 r/min,离心 10 min,分离取血清待检。于室温下放置 ELISA 试剂与微孔反应板 30 min,将待检血清标本加入微孔反应板中,行封锁处理,置于 37  $^{\circ}$ C 水浴箱中,1 h 后取出,清除微孔反应板中液体,反复洗涤 5 次,然后再次加入试剂,封锁,置于 37  $^{\circ}$ C 水浴箱中,30 min 后取出,加入终止液。若所测血清值  $\geq$  临界值 ( $2 \times$  标准差 + 阴性样品平均 A 值),则判定检测结果为阳性,反之,若所测血清值  $<$  临界值,则为阴性。

**1.3.3 CLIA** 空腹状态下取患者外周静脉血 5 mL,于 4  $^{\circ}$ C 环境下离心处理,3 000 r/min,离心 10 min,分离取血清待检。将待测血清标本置入聚苯乙烯试管[已包被 HBV 核心抗原(HBcAg)]中,以 50  $\mu$ L 辣根过氧化物酶标记,于 37  $^{\circ}$ C 环境下放置,60 min 后以磷酸盐缓冲液(PBS)反复冲洗 6 次,每次 3 min,然后于室温下,加入 0.1 mol/L 氢氧化钠 100  $\mu$ L + 30 mol/L 氢氧化钠 100  $\mu$ L,静置 10 min,最后加入 3% 的过氧化氢 50  $\mu$ L,以安图 Addcare ELISA400 全自动化学发光仪检测其发光强度。若 e 抗原(HBeAg)的临界值指数(COD)  $\geq 1.00$ ,则检测结果判定为阳性。

**1.4 判断标准** (1)CLIA:以标本相对强度与标准曲线比较,判断表面抗原(HBsAg)、表面抗体(HBsAb)阴阳性,若 HBsAb  $> 10$  IU/mL,HBsAg  $> 0.05$  IU/mL 为阳性;以标本相对光强度/临界值相对光强度(S/CO)判断 HBeAg、e 抗体(HBeAb)阴阳性,若

HBeAg S/CO  $\geq 1.00$ ,HBeAb S/CO  $\leq 1.00$ ,则判定检测结果为阳性。(2)ELISA:以 S/CO 比值判定阴阳性,若 S/CO  $\geq 1.00$  为阳性,但 HBeAb、HBsAg S/CO  $\leq 1.00$  为阳性。

**1.5 观察指标** (1)实时荧光定量 PCR 检测结果。(2)ELISA、CLIA 的检测结果。(3)ELISA、CLIA 的检测准确度、灵敏度、特异度、阳性预测值与阴性预测值。(4)ELISA、CLIA 对血清学标志物(HBsAg、HBeAg、HBeAb、HBcAg、HBsAb)的检出率。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS25.0 软件分析数据,计数资料采用百分数表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 实时荧光定量 PCR 检测结果** 112 例疑似乙型肝炎患者中,检出乙型肝炎 69 例,检出率为 61.61% (69/112),其中检出 HBsAg 阳性 10 例、HBeAg 阳性 13 例、HBeAb 阳性 19 例、HBcAg 阳性 12 例、HBsAb 阳性 15 例;43 例为 HBV 感染但 HBV DNA 呈阴性,占 38.39% (43/112)。

**2.2 ELISA、CLIA 的检测结果** CLIA 检出真阳性 67 例,真阴性 38 例;ELISA 检出真阳性 54 例,真阴性 40 例,见表 1。

表 1 ELISA、CLIA 的检测结果(n)

实时荧光定量 PCR 检测结果	CLIA		ELISA		合计
	阳性	阴性	阳性	阴性	
阳性	67	2	54	15	69
阴性	5	38	3	40	43
合计	72	40	57	55	112

**2.3 ELISA、CLIA 的检测效能** CLIA 检测准确度为 93.75%、灵敏度为 97.10%、阴性预测值为 95.00%,高于 ELISA 的 83.93%、78.26%、72.73%,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );CLIA 的特异度、阳性预测值与 ELISA 比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 2。

**2.4 ELISA、CLIA 对血清学标志物的检出率** 本研究结果显示,CLIA 对血清学标志物的检出率为 92.75%,高于 ELISA 的 66.67%,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),且 CLIA 的 Kappa 指数高于 ELISA,见表 3、4。

表 2 ELISA、CLIA 的检测效能[% (n/n)]

检测方法	阴性预测值	阳性预测值	特异度	灵敏度	准确度
CLIA	95.00(38/40)	93.06(67/72)	88.37(38/43)	97.10(67/69)	93.75(105/112)
ELISA	72.73(40/55)	94.74(54/57)	93.02(40/43)	78.26(54/69)	83.93(94/112)
$\chi^2$	7.819	0.001	0.138	11.338	5.448
P	0.005	0.980	0.711	0.001	0.020

表 3 ELISA、CLIA 对血清学标志物的检出结果(n)

实时荧光定量 PCR 检测	CLIA					ELISA					合计
	HBsAg	HBeAg	HBeAb	HBcAg	HBsAb	HBsAg	HBeAg	HBeAb	HBcAg	HBsAb	
HBsAg	9	1	0	0	0	5	4	1	0	0	10
HBeAg	1	12	0	0	0	3	9	1	0	0	13
HBeAb	0	1	17	1	0	0	3	14	2	0	19
HBcAg	0	0	1	11	0	0	0	2	8	2	12
HBsAb	0	0	0	0	15	0	0	2	3	10	15
合计	10	14	18	12	15	8	16	20	13	12	69

表 4 ELISA、CLIA 对血清学标志物的检出率比较

检测方法	检出率 [% (n/n)]	Kappa 指数	95%CI	P
CLIA	92.75(64/69)	0.908	0.789~1.028	<0.001
ELISA	66.67(46/69)	0.578	0.458~0.698	<0.001
$\chi^2$	14.517	—	—	—
P	<0.001	—	—	—

注：—表示该项无数据

### 3 讨 论

乙型肝炎复发率高、病情迁延难愈，临床治疗其主要原则为防治结合、以防为主<sup>[4]</sup>。由于乙型肝炎早期临床症状不明显，易出现漏诊与误诊，延误治疗最佳时机，对患者生命安全造成严重威胁。因此早期诊断乙型肝炎至关重要。

HBV 血清学标志物检测作为诊断乙型肝炎的主要指标，可为临床制订治疗方案、评估治疗效果提供科学、有效的参考依据<sup>[5]</sup>。ELISA 为检验 HBV 血清标志物传统方法，具有操作简便、价格经济等特点，但其仅可进行定性分析，无法有效判断 HBV 感染程度及复制状况，同时若待检标本浓度过高，易受钩状效应干扰，出现假阴性，影响临床治疗；另外其采用酶显色法检测血清标志物，易受环境因素干扰，检测结果稳定性较差<sup>[6]</sup>。本研究结果显示，ELISA 检测准确度、灵敏度、阴性预测值分别仅为 83.93%、78.26%、72.73%。提示 ELISA 应用于乙型肝炎患者 HBV 感染检测中灵敏度、准确度较差。

CLIA 作为新的检测方法，可有效克服 ELISA 的不足，其以发光强度为主要检测原理，不受突变抗体干扰，检验准确性较高，有助于识别逃逸变异株，降低人为因素干扰，直观了解 HBV 血清标志物的具体情况。本研究中，CLIA 检测准确度、灵敏度、阴性预测值分别高达 93.75%、97.10%、95.00%。表明 CLIA 应用于 HBV 感染检测中，可有效提高准确度与灵敏度。有研究报道，CLIA 可有效评估治疗效果、检测 HBV 复制情况<sup>[7]</sup>。CLIA 采用顺磁性微粒固相载体，反应面积较大，可循环利用标志物，延长发光时间，提高反光强度，精准反映 HBV 感染进程，在一定程度上

可有效减轻外在因素的干扰，提高 CLIA 检测稳定性。杨梅等<sup>[8]</sup>研究发现，CLIA 对 HBsAg、HBeAb、HBeAg 检出率高于 ELISA，可有效动态监测乙型肝炎病情发展。本研究表明，CLIA 对血清学标志物的检出率为 92.75%，高于 ELISA 的 66.67% ( $P < 0.05$ )，且 CLIA 的 Kappa 指数高于 ELISA。

综上所述，CLIA 检测乙型肝炎患者病毒血清学标志物检验，可有效提高检出率，为临床选择治疗方案、判断治疗效果、评估预后提供科学依据。

### 参考文献

- [1] SCHWEITZER A, HORN J, MIKOLAJCZYK R T, et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013[J]. Lancet, 2015, 386(13): 1546-1555.
- [2] 吴淑霞, 范军, 张俭, 等. 两种方法检测乙型肝炎病毒血清标志物结果分析[J]. 宁夏医科大学学报, 2015, 37(3): 344-346.
- [3] 张辉, 吴冬生, 方敏, 等. 荧光定量 PCR 法与酶联免疫吸附法在乙型肝炎病毒检测中的应用[J]. 解放军预防医学杂志, 2017, 35(11): 1459-1461.
- [4] 钟政荣, 徐云侠, 丁淑琴, 等. 乙型肝炎患者血清乙型肝炎病毒-DNA 与常用血清标志物的相关性分析[J]. 蚌埠医学院学报, 2015, 40(10): 1387-1389.
- [5] 王海宁, 李万顺, 孙巨军. 乙肝病毒血清标志物、外周血 T 淋巴细胞 HBV-DNA 的相关性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(4): 113-116.
- [6] 安静娜, 李冬冬, 陈其霞, 等. 电化学发光免疫法与酶联免疫吸附法检测乙型肝炎病毒血清标志物的结果分析[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(4): 374-376.
- [7] 邹红霞, 王金环, 崔海玲, 等. 乙型肝炎异常血清学诊断模式与 HBV-DNA 载量的相关性研究[J]. 国际病毒学杂志, 2017, 24(4): 239-242.
- [8] 杨梅, 晏红. 化学发光免疫分析法检测乙肝病毒感染性标志物的临床应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2016, 23(4): 448-450.