

## · 论著 ·

## CMIA法在HBV感染患者血清学标志物水平检测中的应用价值

张楠\*

洛阳市第三人民医院(洛阳职业技术学院第一附属医院)检验科(河南 洛阳 471002)

【摘要】目的 探究微粒子化学发光法(CMIA)在乙型肝炎病毒(HBV)感染患者血清学标志物水平检测中的应用价值。方法 选取2019年5月至2021年4月我院406例疑似HBV感染患者,抽取空腹外周静脉血,离心分离血清,分别采用CMIA法、酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清乙肝表面抗体(HBsAb)、乙肝表面抗原(HBsAg)、乙肝e抗体(HBeAb)、乙肝e抗原(HBeAg)、乙肝核心抗体(HBcAb)浓度。分析CMIA法、ELISA法检测HBV感染患者血清学标志物变异系数(CV)、符合率、HBsAb、HBsAg回收率、HBsAg最低浓度。结果 与ELISA法相比,CMIA法检测HBV感染患者血清学标志物CV值较低,差异化显著( $P<0.05$ );CMIA法与ELISA法检测HBV感染患者血清标志物的符合率为99.51%、99.75%、98.28%、99.75%、98.52%;HBsAb平均回收率为98.37%(96.76%~99.61%),HBsAg平均回收率为97.81%(94.92%~99.45%);CMIA法检测HBsAg最低浓度0.05 IU/mL低于ELISA法0.16 IU/mL,  $P<0.05$ 。结论 CMIA法应用于HBV感染患者血清学标志物水平检测中,检测精密度高,回收率高,准确度高,且用于低水平血清HBsAg检测中,效果良好。

【关键词】乙型肝炎病毒;微粒子化学发光法;酶联免疫吸附法;血清学标志物

【中图分类号】R446

【文献标识码】A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2022.10.037

## Application Value of CMIA in the Detection of Serum Markers in Patients with HBV Infection

ZHANG Nan\*

Department of Laboratory, Luoyang Third People's Hospital (the First Affiliated Hospital of Luoyang Vocational and Technical College), Luoyang 471002, Henan Province, China

**Abstract:** *Objective* To explore the application value of particle chemiluminescence (CMIA) in the detection of serum markers in patients with hepatitis B virus (HBV) infection. Methods 406 patients with suspected HBV infection in our hospital from May 2019 to April 2021 were selected. Fasting peripheral venous blood was extracted and serum was isolated from heart. CMIA and enzyme-linked immunosorbent assay were used respectively (ELISA) detection of serum hepatitis B surface antibody (HBsAb), hepatitis B surface antigen (HBsAg), hepatitis B e antibody (HBeAb), hepatitis B e antigen (HBeAg) and hepatitis B core antibody (HBcAb) concentration. *Methods* CMIA and ELISA methods were used to detect the variation coefficient of serological markers in patients with HBV infection. *Results* compared with ELISA, the CV value of serum markers in patients with HBV infection detected by CMIA method was lower and the difference was significant ( $P<0.05$ ); the coincidence rates of serum markers detected by CMIA method and ELISA were 99.51%, 99.75%, 98.28%, 99.75% and 98.52%, and the average recovery rate of HBsAb was 98.37% (96.76%~99.61%), the average recovery of HBsAg was 97.81% (94.92%~99.45%); the minimum concentration of HBsAg detected by CMIA method was 0.05 IU/mL, which was lower than 0.16 IU/mL by ELISA,  $P<0.05$ . *Conclusion* CMIA method has high precision, high recovery and high accuracy in the detection of serum markers in patients with HBV infection, and has good effect in the detection of low-level serum HBsAg.

**Keywords:** Hepatitis B Virus; Particle Chemiluminescence; Enzyme Linked Immunosorbent Assay; Serological Markers

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)作为乙肝患者常见病原体,其可导致患者病程迁延,治愈难度大,预后较差<sup>[1]</sup>。HBV感染可激活体液抗体应答,血清中乙肝表面抗体(HBsAb)能清除血液中病毒颗粒,但抗体抗原形成免疫复合物,会沉积在肝细胞中,造成肝毛细血管堵塞,引起急性肝坏死,并会暴露肝特异性脂蛋白抗原,损害肝细胞<sup>[2]</sup>。同时免疫细胞可识别HBV,直接杀伤靶细胞,但细胞免疫低下无法有效清除病毒,造成慢性感染,而细胞免疫反应过度会造成大量肝细胞损伤,产生重症肝炎。此外,HBV作为传染病毒,可经性接触、血液途径、医务人员职业暴露传播<sup>[3-4]</sup>。因此,应尽早对HBV感染患者进行确诊,及时予以患者有效治疗,避免病情加重,减轻肝损伤。乙肝五项指(HBsAb、HBsAg、HBeAb、HBeAg、HBcAb)是诊断HBV感染常用血清学指标<sup>[5]</sup>。临床常用酶联免疫吸附法检测乙肝五项,其操作简单,但结果易受环境影响,准确率较低<sup>[6-7]</sup>。随着我国检测技术发展,化学发光技术在HBV感染血清学标志物检测中广泛应用。微粒子化学发光法(CMIA)是结合免疫反应、化学发光系统,通过化学发光物质标记抗原、抗体,进行抗体、抗原定量检测<sup>[8]</sup>。研究显示,ELISA与化学发光法因方法学、放大信号等差异,在检测数值方面存在差异<sup>[9]</sup>。本研究旨在探究CMIA法在HBV感染患者血清HBsAb、HBsAg、HBeAb、HBeAg、HBcAb水平检测中的应用价值,报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2019年5月至2021年4月我院406例疑似HBV感染患者,男287例,女119例;年龄20~48岁,平均 $(34.12 \pm 6.33)$ 岁;BMI $18.5 \sim 28.6 \text{ kg/m}^2$ ,平均 $(23.64 \pm 1.27) \text{ kg/m}^2$ 。排除标准:MOCA评分异常、恶性肿瘤、精神异常、其他病毒性疾病。

**1.2 检测方法** 抽取清晨空腹肘静脉血5mL,放入离心机中离心分离血清,3000r/min,离心10min,提取血清,  $-20^\circ\text{C}$ 冰箱保存。采用CMIA法测定血清HBsAb、HBsAg、HBeAb、HBeAg、HBcAb水平,使用安图A2000 Plus全自动化学发光仪,试剂盒由郑州安图公司提供,严格按照说明书操作。采用ELISA法测定血清HBsAb、HBsAg、HBeAb、HBeAg、HBcAb水平,使用安图酶标仪,试剂盒由上海科华生物工程股份有限公司提供,严格按照说明书操作。CMIA法检测阳性判定:HBsAb $>10 \text{ mIU/mL}$ , HBsAg $>0.05 \text{ IU/mL}$ , HBeAb $>1 \text{ PEI U/mL}$ , HBeAg $>0.1 \text{ PEI U/mL}$ , HBcAb $>0.15 \text{ PEI U/mL}$ 。ELISA法检测阳性判定:HBsAb $>1 \text{ S/CO}$ , HBsAg $>1 \text{ S/CO}$ , HBeAb $<1 \text{ S/CO}$ , HBeAg $>1 \text{ S/CO}$ , HBcAb $<1 \text{ S/CO}$ 。

**1.3 观察指标** (1)根据美国国家临床实验室标准委员会(NCCLS)EP5-A文件中关于评价临床定量测量方法精密度的要求,每日对标本做2批实验,间隔时间 $>2\text{h}$ ,对样品做双份测定,抽取40对结果。检测前室温放置0.5h,再进行检测。统计分析检测结果,计算变异系数(CV)。(2)对比CMIA法与ELISA法检测HBV感染患者血

【第一作者】张楠,男,主管检验师,主要研究方向:细菌检验。E-mail: yfy10020@163.com

【通讯作者】张楠

清学标志物的结果。(3)取ELISA法HBsAb、HBsAg 6点定标液各200 $\mu$ l,根据不同浓度梯度加入5个试管内,0浓度为空白。抽取1份HBsAb、HBsAg阳性血清,用CMIA法检测浓度,将HBsAb、HBsAg阳性血清各200  $\mu$ l将入已知浓度试管,重复检测2次,取平均值,回收率=各浓度点实测平均值/理论期望值 $\times$ 100%。(4)对比CMIA法与ELISA法检测HBsAg最低浓度。

**1.4 统计学方法** 通过SPSS 22.0对数据进行分析,计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )表示,行t检验,计数资料用n(%)表示,行 $\chi^2$ 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 HBV疑似患者血清学标志物CV值的比较** 与ELISA法比较,CMIA法检测HBV感染患者血清学标志物CV值较低,低差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表1。

表1 HBV感染患者血清学标志物检测CV值比较(%)

| 方法       | 例数  | HBsAb  | HBsAg  | HBeAb  | HBeAg  | HBcAb  |
|----------|-----|--------|--------|--------|--------|--------|
| CMIA法    | 406 | 5.36   | 3.71   | 8.13   | 3.85   | 17.69  |
| ELISA法   | 406 | 11.79  | 7.25   | 12.05  | 8.03   | 22.46  |
| $\chi^2$ |     | 48.100 | 39.258 | 36.754 | 52.089 | 38.267 |
| P        |     | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

**2.2 HBV疑似感染患者血清学标志物符合率的结果** CMIA法与ELISA法检测HBV感染患者血清标志物的符合率为99.51%、99.75%、98.28%、99.75%、98.52%,见表2。

表2 HBV感染患者血清学标志物的结果对比(%)

| 项目    | CMIA法 | ELISA法 | 符合率 | $\chi^2$ | P              |
|-------|-------|--------|-----|----------|----------------|
|       |       | 阳性 阴性  |     |          |                |
| HBsAb | 阳性    | 175    | 0   | 99.51    | 393.916 <0.001 |
|       | 阴性    | 2      | 229 |          |                |
| HBsAg | 阳性    | 92     | 0   | 99.75    | 374.731 <0.001 |
|       | 阴性    | 1      | 313 |          |                |
| HBeAb | 阳性    | 117    | 2   | 98.28    | 413.125 <0.001 |
|       | 阴性    | 5      | 282 |          |                |
| HBeAg | 阳性    | 20     | 0   | 99.75    | 365.598 <0.001 |
|       | 阴性    | 1      | 385 |          |                |
| HBcAb | 阳性    | 198    | 2   | 98.52    | 378.518 <0.001 |
|       | 阴性    | 4      | 202 |          |                |

**2.3 CMIA法回收率测定** HBsAb平均回收率为98.37%(96.76%~99.61%),HBsAg平均回收率为97.81%(94.92%~99.45%),见表3~表4。

表3 不同浓度HBsAb回收率(%)

| 浓度(ng/mL) | 理论值    | 实测值    | 回收率   |
|-----------|--------|--------|-------|
| 0.00      | 0.00   | 0.00   |       |
| 10.00     | 132.43 | 128.14 | 96.76 |
| 50.00     | 150.69 | 146.31 | 97.09 |
| 100.00    | 177.82 | 176.44 | 99.22 |
| 500.00    | 376.81 | 373.60 | 99.15 |
| 1000.00   | 652.60 | 650.08 | 99.61 |

表4 不同浓度HBsAg回收率(%)

| 浓度(ng/mL) | 理论值    | 实测值    | 回收率   |
|-----------|--------|--------|-------|
| 0.00      | 0.00   | 0.00   |       |
| 0.21      | 62.45  | 60.36  | 97.09 |
| 3.92      | 63.78  | 60.54  | 94.92 |
| 28.28     | 75.87  | 74.94  | 98.77 |
| 131.24    | 127.13 | 125.65 | 98.84 |
| 499.73    | 313.42 | 311.70 | 99.45 |

**2.4 HBsAg最低浓度** CMIA法检测HBsAg最低浓度0.05IU/mL低于ELISA法0.16 IU/ml,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

HBV传染性强,而我国为乙型肝炎高发国家,数据显示,2015年我国HBV感染患者达3000万<sup>[10]</sup>。常规检测方法诊断HBV感染易出现漏诊、误诊,诊断效果不太理想,影响疾病及时治疗及控制HBV传播;尽管使用PCR扩增乙肝病毒DNA进行定量检测是确诊HBV感染的金标准,但其存在耗时长,费用高等缺点,对于部分患者临床接受程度有限。因此,需寻找一种准确有效,价格低廉快速HBV感染检测方法,以提高诊断效果。

乙肝五项指标是HBV感染诊断常用检测治疗,可有效反映HBV感染状态,指导临床诊疗。人体感染HBV后,血液中会存有大量HBsAg,是HBV感染的标志之一<sup>[11]</sup>。HBsAb是HBV免疫的保护性抗体,由HBsAg诱导产生,较高浓度HBsAb可有效清除机体内HBV,在乙肝疫苗接种后或HBV感染恢复期出现,是HBV感染特异性免疫标志<sup>[12]</sup>。HBeAg作为第2种血清学抗原标志物,可在躯体被HBV感染后被检出,HBeAg检出率升高,提示肝细胞严重损伤,患者HBV传染性强<sup>[13]</sup>。HBeAb是受HBeAg刺激产生的抗体。HBcAb也是HBV感染后人体出现的血清抗体,是一种敏感的血清学标志。ELISA法是临床HBV血清标志物检测常用方法。ELISA法是将可溶性抗体、抗原结合至固相载体上,根据一定的抗体只能与特定抗原结合,具有特异性,进行免疫反应定量、定性检测。胡梅霞等<sup>[14]</sup>研究显示,ELISA检测HBsAg可能出现假阳性结果,通过增加标本的离心时间和提高离心速度可有效减少假阳性例数。ELISA法实验步骤较多,标本质量、运输过程、环境等多种因素可能影响检测稳定性,导致ELISA法检测结果误差较大,易出现假阳性。我国各级医院ELISA法检测自动化水平差异较大,基层医院自动化水平低,影响检测结果的准确性。而CMIA法是在ELISA法、放射免疫分析法的基础上改进形成的新型检测方法,CMIA法是通过微粒子扩大抗体、抗原结合面积,结合免疫反应、化学发光系统,等抗体或抗原反应,或化学发光物质标记抗原、抗体后,分离游离态化学发光标记物,加入其它相关物,引起化学发光,进行抗体、抗原定量检测<sup>[15-17]</sup>。CMIA法不仅有ELISA法检测简便、反应时间短的特点,还具有放射免疫分析法灵敏、特异性强、用样量少等特点。许丽枫等<sup>[18]</sup>研究发现,CMIA法可实现全自动化的定量检测,使乙肝五项检测更快速、灵敏、准确、重复性好、少见模式少,可降低漏检率,可为临床早期诊断、有效治疗及改善预后提供有价值的参考依据。本研究结果显示,CMIA法检测HBV感染患者乙肝五项CV值低于ELISA法( $P < 0.05$ ),HBsAb平均回收率为98.37%,HBsAg平均回收率为97.81%,说明CMIA法应用于HBV感染患者血清学标志物水平检测中,检测精密度高,回收率高。可能是由于CMIA法采用全自动化检测,可减少手工操作对结果的影响,稳定性高,有利于提高检测精密度。此外,CMIA法与ELISA法检测HBV感染患者血清标志物的符合率为99.51%、99.75%、98.28%、99.75%、98.52%,具有高度一致性。而HBeAb、HBcAb存在一定差异,可能是由于检测原理不同、原材料存在差异所致,不会明显影响检测结果。本研究还显示,CMIA法检测HBsAg最低浓度0.05 IU/ml低于ELISA法0.16 IU/ml,提示CMIA法可应用于HBV感染患者低水平血清HBsAg检测中,效果良好,有利于缩短“窗口期”时间。低水平HBsAg感染确诊,可提高检出率,便于及时控制传染。

综上所述,CMIA法应用于HBV感染患者血清学标志物水平检测中,检测精密度高,回收率高,准确度高,且用于低水平血清HBsAg检测中,效果良好。

## 参考文献

- [1] Huang J, Deng Q, Wang Q, et al. Exome sequencing of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma [J]. Nature Genetics, 2016, 44 (10): 1117-1121.
- [2] 史继静, 张纪元, 王福生. HBV感染的免疫发病机制及抗病毒治疗策略 [J]. 中国病毒病杂志, 2017, 7 (3): 161-166.
- [3] 陈茂连. 50例再生障碍性贫血合并乙型肝炎患者血常规检测结果分析 [J]. 罕少疾病杂志, 2017, 24 (6): 26-28.

(下转第106页)