

率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.650, P < 0.05$)，与治疗前 HBV 基因型有关。

2.2 HBV YMDD 突变的检测 150 例慢性乙肝患者服用拉米夫定治疗 12 个月后血清中检出 YMDD 野生型占 56.0% (84/150)，YMDD 突变占 44.0% (66/150)。突变的 66 例的患者中，男性患者 36 例，女性 30 例，不同性别之间的 YMDD 突变率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。突变病例中，YIDD 突变占 10.6% (7/66)，YVDD 突变占 12.1% (8/66)，YMDD/YIDD 突变占 18.2% (12/66)，YMDD/YVDD 突变占 25.8% (17/66)，YMDD/YIDD/YVDD 突变占 33.3% (22/66)。

3 讨 论

HBV 为嗜肝双链 DNA 病毒，由一个不完整的双链组成，为部分双链和可变长度的单链。HBV 基因组又称 HBV DNA，约由 3 200 个碱基对组成。在所有已知能感染人体、具有独立复制能力的双链 DNA 病毒中，HBV 基因组最小，但复制效率最高。HBV 具有病毒复制产量高、突变率高的特征，HBV DNA 聚合酶缺乏校正功能，容易发生碱基配对错误，导致 HBV 基因突变十分频繁^[4]。

1988 年首次报道 HBV 基因型概念以来，一直是研究的热点问题。根据 HBV 全基因核苷酸序列异源性大于或等于 8% 或者 S 基因区核苷酸序列异源性大于或等于 4%，将不同病毒株分为不同 A~H 8 个^[5-6] 基因型。基因型分布具有人种和明显的地理特征，其中 B 型和 C 型主要分布在亚洲东部及南部，也是我国最为常见的 2 种基因型，其中北方以 C 型为主，南方以 B 型为主^[7-8]。Pan 等^[9] 报道，53 例发生拉米夫定耐药的慢性乙型肝炎患者，B 型和 C 型患者的突变率分别为 41.5% (22/53) 和 58.5% (31/53)，发生 YIDD 突变的 B 基因型 (36.36%) 低于 C 基因型 (87.1%)，并认为基因型是诱导突变和引发不同突变点的因素之一。本研究中，HBV 基因型主要为 B 型和 C 型，与文献报道的分布相一致。兰州地区地处我国西北，HBV 基因型多为 C 型，因此服用拉米夫定治疗慢性

· 经验交流 ·

Cobas E602 电化学发光免疫分析仪检测 HBcAb 结果分析

吴 敏, 陈明艳, 刘爱胜[△]

(深圳龙华新区人民医院检验科, 广东深圳 518109)

摘要: 目的 通过 Cobas E602 电化学发光免疫分析法(ECLIA)与酶联免疫吸附法(ELISA)对临床标本对比检测分析, 探讨 ECLIA 检测 HBcAb 的结果意义模式, 为临床提供科学的指导意义, 同时确保同一实验室内同一项目结果的一致性。方法 收集 60 例患者标本, 用 ECLIA 法分别同时测定原倍血清和 1:30 稀释后血清, 与临床常用的 ELISA 法测定 1:30 稀释后血清的结果进行对比统计分析。结果 ECLIA 法测得原倍血清的 HBcAb 阳性率 (48.3%) 明显高于 ECLIA 法和 ELISA 法测定 1:30 稀释后血清阳性率 (35.0% 和 38.3%), 两者差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.53, P < 0.01$), 两种方法同时测定原倍血清和 1:30 稀释后血清中的 HBcAb 阳性符合率分别为 93.4% 和 91.4%, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.29, P > 0.05$)。结论 ECLIA 法定量测定乙肝时, HBcAb 测定标本必须用 1:30 稀释后的血清, 确保同一实验室内 ECLIA 法与 ELISA 法检测结果的一致性。

关键词: 电化学发光免疫分析; 酶联免疫吸附测定; HBcAb

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.24.086

文献标识码:B

文章编号: 1673-4130(2013)24-3427-02

全世界 HBV 感染者达 3 亿以上, 主要在非洲和亚洲国家流行, 我国属高地方性流行区域^[1]。乙肝两对半定性测定是目前临床分析和判断患者传染性的重要依据之一^[2], 但随着医学的发展已不能够满足临床分型治疗的要求了。电化学发光免疫分析(ECLIA)法是目前最新的标记免疫定量测定技术, 与

乙型肝炎的患者发生 YMDD 突变的可能性较大。

本研究结果说明, HBV 基因型与 YMDD 发生变异具有相关性, 可作为早期监测乙肝患者 YMDD 突变的预测指标之一。

参考文献

- Xia GL, Liu CB, Cao HL, et al. Prevalence of hepatitis B and C virus infections in the general Chinese population. Results from a nationwide cross-sectional seroepidemiologic study of hepatitis A, B, C, D, and E virus infections in China, 1992 [J]. Int Hepatol Comm, 1996, 5(1): 62-73.
- 孟蕾, 李慧, 刘建地, 等. 甘肃省乙型肝炎流行病学特征和控制策略 [J]. 中国计划免疫, 2003, 9(6): 326-328.
- Stuyver L, De Gendt S, Van Geyt C, et al. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness [J]. J Gen Virol, 2000, 81(1): 67-74.
- 游晶, 庄林, 陈红英, 等. 乙型肝炎病毒基因型及其临床意义的研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(9): 921-928.
- Mosley JW. The search for human hepatitis viruses [J]. Arch Gesamte Virusforsch, 1967, 22(1): 252-262.
- Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, et al. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes [J]. J Gen Virol, 1988, 69(Pt 10): 2575-2583.
- 雷延昌, 郝友华, 田拥军, 等. 湖北地区乙型肝炎病毒基因型分布与临床的相关性 [J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13(2): 109-112.
- Ding X, Mizokami M, Yao G, et al. Hepatitis B virus genotype distribution among chronic hepatitis B virus carriers in Shanghai, China [J]. Intervirology, 2001, 44(1): 43-47.
- Pan XP, Li LJ, Du WB, et al. Differences of YMDD mutational patterns, precore/core promoter mutations, serum HBV DNA levels in lamivudine-resistant hepatitis B genotypes B and C [J]. J Viral Hepat, 2007, 14(11): 767-774.

(收稿日期: 2013-09-10)

意义是乙肝临床诊断意义还是乙肝流行病学普查意义?本文就此进行了ECLIA法与ELISA法对比试验,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采集2013年4~5月来本院门诊就诊患者共60例,其中来自肝炎门诊的22例,男性38例,女性22例,年龄10~52岁,平均31.6岁。采集空腹静脉血3mL,分离血清及时检测,未及时检测的标本置于2~8℃冰箱备检,24h内完成测定。

1.2 仪器与试剂 Cobas E602电化学发光免疫分析仪由罗氏公司提供,检测试剂、质控品及校准品均为罗氏提供的原装配套试剂;ELISA法试剂盒由珠海亚利生物工程有限公司提供的酶联免疫诊断试剂盒。酶标仪为美国宝特BIO-TEKEL800型,洗板机由普朗医疗提供的DNX-9620A。所有操作均由专人严格按照说明书进行。

1.3 方法 Cobas E602电化学发光免疫分析测定严格按照仪器作业指导书进行,先校正后检测室内质控物,待质控物结果在控时再进行研究标本检测;ELISA法严格按照试剂盒说明书操作步骤进行,严格控制好加样顺序、保温温度及时间、洗板次数,洗板机使用前进行管道冲洗,酶标仪及洗板机均按操作要求严格执行,确保空白、质控品及阴阳对照管均符合试剂盒要求,否则,整批标本重做,确保无假阳性或假阴性结果出现。

1.4 统计学处理 统计处理用软件SPSS15.0,两方法阳性率结果之间显著性比较用配对 χ^2 检验, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ECLIA法测定原倍血清与ELISA法测定1:30稀释后血清中HBcAb结果比较 ECLIA法测定HBcAb阳性率为48.3%(阳性29例,阴性31例),明显高于ELISA法的阳性率(38.3%,阳性21例,阴性39例),差异有统计学意义($\chi^2=8.53, P<0.01$),两种方法阳性符合率为72.5%。

2.2 ECLIA法与ELISA法同时测定原倍血清或1:30稀释后血清中的HBcAb结果比较 两种方法所测定的HBcAb结果阳性符合率分别为93.4%和91.4%,差异无统计学意义($\chi^2=1.29, P>0.05$),见表1。

表1 ECLIA法与ELISA法所测HBcAb结果(n=60)

检测方法	阳性(n)		阴性(n)		阳性率(%)	
	a	b	a	b	a	b
ECLIA	29	21	31	37	48.3	35.0
ELISA	31	23	32	39	51.7	38.3

a:原倍血清;b:1:30稀释血清。

3 讨 论

乙型肝炎血清学标志物检测是了解机体是否正感染或感染过乙型肝炎病毒,以及机体对HBV感染的免疫状态的重要指标,在乙型肝炎患者诊断、治疗及流行病学调查等方面具有重要意义^[4]。随着免疫技术的不断发展,ECLIA法是继放射免疫、酶免疫、荧光免疫、化学发光免疫测定以后的新一代标记免疫测定技术,是电化学发光(ECL)和免疫测定相结合的产物,是目前发展最先进的一种高灵敏度的定量检测方法,应用范围逐渐扩大。

研究表明,HBcAb是人体感染HBV后最早产生的抗体,也是感染消除后存在时间最长的抗体;几乎所有HBV感染者的血清中都会出现HBcAb,其阳性率远高于其他HBV标志物。目前,HBcAb的定性检测已在各级医疗卫生机构普遍开

展,但因其方法学限制,HBcAb的含量仍难以准确检出,因此,其在临床诊断和流行病学中的应用受到限制^[5]。ECLIA法检测HBcAb采用的是竞争法标本中的待检抗体与试剂中的相应抗原结合形成复合物,利用生物素-链霉亲和素技术,形成免疫复合物微粒,微粒通过磁铁吸附到电极上电极加压产生特异性化学发光,可大大提高了检测的灵敏度和线性范围,从而实现了自动化和标准化、减少批内、批间误差^[6]。它的标记物的发光原理与一般的化学发光(CL)不同,是一种在电极表面由电化学引发的特异性化学发光反应,实际上包括了电化学和化学发光二个过程,ECLIA与CL的差异在于ECLIA是电启动发光反应,而CL是通过化合物简单混合启动的发光反应。因此,ECLIA反应更易精确控制,更具有灵活性,使得HBcAb检测满足了临床上的需要,解决了临幊上HBcAb难以准确检出的问题。

本研究结果显示,ECLIA法测定原倍血清中HBcAb阳性率明显高于自身和ELISA法测定1:30稀释血清中的HBcAb阳性率,阳性率间差异有统计学意义($P<0.01$),而ECLIA法和ELISA法分别同时测定原倍血清或1:30稀释血清中HBcAb阳性率之间比较,差异无统计学意义($P>0.05$),阳性符合率分别达到93.4%和91.4%,与陈晓玲等^[7]报道的相一致。但仍然存在这些差异,这可能与各种方法自身的一些影响因素引起的,是无法杜绝的,如ELISA法因步骤多需要手工操作、带现象、溶血及灵敏度偏低等因素易引起假阳性和假阴性结果^[8]。

目前,临幊上ELISA法测定HBcAb的试剂盒说明书上注明所测标本为1:30稀释血清,此结果为乙肝临床诊断意义模式,若用原倍血清所测得结果则为乙肝流行病学普查意义。而临幊上ECLIA法测定乙肝病毒标志物均直接使用原倍血清,由此可见,ECLIA法所测原倍血清中的HBcAb结果为乙肝流行病学普查意义,故阳性率明显高于临幊上ELISA法,造成临幊上同一检测标本所测得HBcAb结果差异比较大,易误导临幊诊断。因此,临幊上用ECLIA法测定HBcAb时,须用1:30稀释血清或与ELISA法试剂盒对标本处理要求一样进行处理后再行测定,以确保同一实验室内同一标本检测结果的一致性。

参考文献

- [1] Grimaldi E, Scopacasa F. Evaluation of the Abbott CELL-DYN 4000 hematology analyzer[J]. Am J Clin Pathol, 2000, 113(4): 497-505.
- [2] 孙南雄,黄祖瑚,刘雁雁.乙型肝炎患者957例血清学标志分析[J].中华医学检验杂志,1999,22(5):296-299.
- [3] 田润华,郑春喜,王士珍.电化学发光免疫分析与临床应用[J].齐鲁医学杂志,2004,19(5):464-465.
- [4] 韦平宣.TRFIA与ELISA法检测乙肝病毒血清学标志物的分析与比较[J].广西医学,2006,28(8):1173-1175.
- [5] 尹乃宁,张卫,孙宏勋.HBcAb滴度评定乙肝病毒感染和病毒复制的临床应用及意义[J].山东医药,2013,53(17):52-53.
- [6] 郑佐娅,陶义训.电化学发光免疫测定[J].临床检验信息,1998,5(1):10-12.
- [7] 陈晓玲,罗建平.ELISA法血清稀释度对HBcAb检测的影响[J].河南预防医学杂志,2000,11(4):F004.
- [8] 吴宗华.TRFIA与ELISA法检测乙肝病毒血清学标志物的分析与比较[J].临床医学工程,2012,19(11):1967-1968.