

CMIA 与 ELISA 法检测慢性 HBV 感染者 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性现象的血清学特征和方法学差异

安哲, 李思鹏, 屈梦, 薛丽, 董炜, 孟昊, 张妮, 周源

(西安交通大学医学院第二附属医院检验科, 西安 710004)

摘要: 目的 研究分析慢性乙型肝炎 (Chronic hepatitis B virus infection, CHB) 患者检出 HBeAg(+)/ 抗 HBe(+) 结果的血清学特征及其方法学差异。方法 收集 2019 年 1 月~12 月在西安交通大学第二附属医院感染科就诊并接受治疗、临床实验室化学发光免疫分析 (CMIA) 法检测乙肝病毒血清标记物结果且呈 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性的 CHB 病例 363 例。另收集酶联免疫吸附 (ELISA) 法检测结果呈 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性样本 87 例。分析 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性的 CHB 病例的 HBV-M 血清学特征和病毒学特征, 并比较 CMIA 和 ELISA 法检测 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性结果之间的方法学差异。结果 CMIA 法检出的 363 例 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性样本中 HBsAg 阳性率 98.62%, HBsAg $3 \sim 4 \log_{10}$ IU/ml 和 $2 \sim 3 \log_{10}$ IU/ml 分别占 63.36% 和 20.11%, HBsAg < 0.05 IU/ml 占 1.38%; 抗 HBs ≥ 10 mIU/ml 32 例, 占 8.82%; HBeAg 均值 5.27 S/CO, $1 \sim 9.99$ S/CO 和 $10 \sim 19.99$ S/CO 水平分别占 87.88% 和 9.09%; 抗 HBe 均值 0.61 S/CO, ≥ 0.10 S/CO 95.87%; HBV-DNA $\geq 6 \log_{10}$ 病例 8.39%, HBV-DNA $\geq 2 \log_{10}$ 病例 53.28%, 不同 HBV-DNA 水平下 HBeAg 和抗 HBe 水平存在显著性差异。87 例 ELISA 法初检 HBV-M 呈 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性样本经 CMIA 法检测阳性率 3.45%; 49 例 CMIA 法检测 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性样本的 ELISA 法检测阳性率 4.08%。结论 CHB 患者 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性时 HBV-M 水平多样, HBV-DNA 水平多样, 不同方法学之间存在明显差异, ELISA 法检测结果假阳性较多, 建议采用 CMIA 法复检。

关键词: HBeAg; 抗 HBe; 双阳性; 化学发光免疫分析法; 酶联免疫吸附法

中图分类号: R446.61; R512.62 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 01-022-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.01.006

Serological Characteristics and Methodological Differences of HBeAg / Anti-HBe Double Positive in Patients with Chronic HBV Infection

AN Zhe, LI Si-peng, QU Meng, XUE Li, DONG Wei, MENG Hao, ZHANG Ni, ZHOU Yuan

(Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

Abstract: Objective To study serological characteristics and methodological differences of HBeAg / anti-HBe double positive in patients with chronic HBV infection. **Methods** Samples were collected from 363 CHB patients who were treated in the Department of Infection, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University from January to December 2019. Another 87 HBeAg / anti HBe double positive samples were tested by ELISA and collected. HBV-M serological and virological characteristics of the 363 CHB cases were analyzed and the methodological differences between CMIA and ELISA were compared. **Results** Among 363 HBeAg / anti HBe double positive samples detected by CMIA, the positive rate of HBsAg was 98.62%, 63.36% and 20.11% of HBsAg were $3 \sim 4 \log_{10}$ IU / ml and $2 \sim 3 \log_{10}$ IU / ml, 1.38% were HBsAg < 0.05 IU/ml, 32 cases were anti HBs positive, accounting for 8.82%. Mean HBeAg was 5.27 S/CO, $1 \sim 9.99$ S/CO and $10 \sim 19.99$ S/CO, respectively 88% and 9.09%, and mean anti-HBe was 0.61 S/CO, ≥ 0.10 S/CO 95.87%. HBV-DNA $\geq 6 \log_{10}$ cases 8.39%, HBV-DNA $\geq 2 \log_{10}$ cases 53.28%, HBeAg and anti HBe levels were significantly different in different HBV-DNA levels. Among 87 HBeAg / anti-HBe samples detected by ELISA the HBeAg / anti-HBe rate by CMIA was 3.45% and among 49 HBeAg / anti-HBe samples detected by CMIA the rate of ELISA was only 4.08%. **Conclusion** The levels of HBV-M and HBV-DNA in CHB patients with double positive HBeAg / anti HBe were diverse, and there were significant differences among different methods. The results of ELISA were more false positive, so CMIA method was recommended for reexamination.

Keywords: HBeAg; anti-HBe; double positive; chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA); enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

基金项目: 陕西省科技攻关计划 (项目编号 2018SF-152)。

作者简介: 安哲 (1980-), 男, 诊断学硕士, 副主任技师, 主要从事病毒性肝炎和传染性疾病的分子诊断, E-mail: anzhe80@126.com。

乙型肝炎病毒血清标记物 (hepatitis B virus serum markers, HBV-M) 在慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B virus infection, CHB) 的诊断治疗中具有重要临床价值^[1]。HBeAg 血清学转换是指 HBeAg 阳性个例的 HBeAg 消失, 继而检出抗 HBe^[2]。在 HBeAg 血清学转换过程中, 部分感染者可以出现 HBeAg 和抗 HBe 共存现象。本次研究旨在分析 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性的血清学特征及 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性的方法学影响。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2019 年 1 ~ 12 月在西安交通大学第二附属医院感染科就诊并接受治疗、临床实验室检测乙肝病毒血清标记物结果呈 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性的 CHB 病例 363 例。另收集 ELISA 法检测结果呈 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性样本 87 例。

1.2 方法和仪器 血清 HBVDNA 定量检测采用荧光定量 PCR 法, 试剂由达安基因诊断有限公司提供。HBV-M 五项采用化学发光免疫分析法 (chemiluminescence microparticle immunoassay, CMIA) 和酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 两种方法检测。HBV-M 五项 (CMIA) 检测试剂盒采用美国 Abbott Laboratories 生产的乙型肝炎病毒血清标志物定量检测试剂盒 (化学发光免疫分析法), 检测仪器采用美国 Architect I 2000 自动免疫分析仪。HBV-M 五项 ELISA 法定性检测试剂购自北京万泰生物药业股份有限公司, 采用瑞士 Tecon 免疫自动分析仪。

1.3 判定标准 CHB 的诊断标准依据慢性乙型肝炎防治指南 (2019 版)^[2]。以所有样本经 CMIA

法定量检测 HBsAg 且 HBsAg ≥ 0.05 IU/ml 判断为 HBsAg 阳性, 以抗 HBs ≥ 10 mIU/ml 判断为抗 HBs 阳性, HBeAg ≥ 1 S/CO 判断为 HBeAg 阳性, 以抗 HBe ≤ 1 S/CO 判断为抗 -HBe 阳性。

1.4 统计学分析 所有数据录入 SPSS16.0 进行统计学分析。构成比以百分率 (%) 表示, 均值比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 363 例 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性样本的 HBV-M 分布特征 363 例经 CMIA 法检测 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性样本中, 抗 HBc 阳性率 99.72% (362/363); HBsAg 阳性率 98.62% (358/363), 不同水平 HBsAg 构成比见图 1。抗 HBs 阳性率 8.82% (32/363); 不同抗 HBs 水平下 HBeAg, 抗 HBe 水平的差异以及抗 HBs 分布特征见表 1, 比较不同组 HBeAg 和抗 HBe, 抗 HBe 在抗 HBs ≥ 100 IU/ml 组和抗 HBs ≥ 10 IU/ml 组的差异有统计学意义。

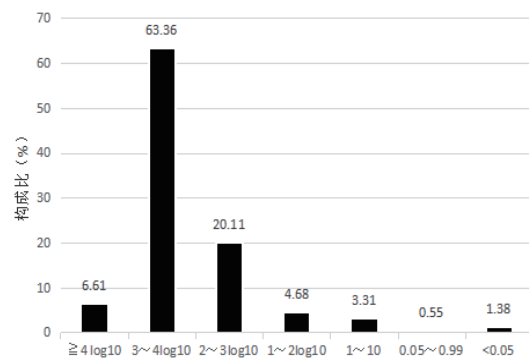


图 1 363 例 HBeAg/抗 HBe 双阳性 CHB 的 HBsAg 分布

表 1 363 例样本中不同抗 HBs 水平下 HBeAg, 抗 HBe 的比较

抗 HBs 水平 (IU/ml)	病例数	构成比 (%)	HBeAg 均值 (S/CO)	<i>t</i>	<i>P</i>	抗 HBe 均值 (S/CO)	<i>t</i>	<i>P</i>
抗 HBs < 10	331	91.18	5.21			0.61		
抗 HBs ≥ 10	25	6.89	5.16*	0.030	>0.05	0.49*	1.954	>0.05
抗 HBs ≥ 100	7	1.93	8.75**	-1.468	0.152	0.74**	-2.399	0.023
抗 HBs ≥ 1000	0	0	/			/		

注: * 与抗 HBs < 10 组比较; ** 与抗 HBs ≥ 10 组比较。

HBeAg 结果分布区间 1.03~101.00 S/CO, 均值 5.27 S/CO。不同 HBeAg 水平构占比分别是: 1~9.99 S/CO 占 87.88%, 10~19.99 S/CO 占 9.09%, 20~29.99 S/CO 占 1.65%, 30~49.99 S/CO 占 0.55%, ≥ 50 S/CO 占 0.83%。HBeAg < 20 IU/ml 占 96.97%, 结果见图 2。抗 HBe 水平分布区间 0.04~1.00 S/CO, 均值 0.61 S/CO。不同抗 HBe 水平构占比分别是: 0.81~1.00 S/CO 占 31.68%, 0.51~0.80 S/CO 占 34.44%, 0.10~0.50 S/CO 占 29.75%, < 0.10 S/CO 占 4.13%, 抗 HBe > 0.10 IU/ml 占 95.87%, 结果见图 2。

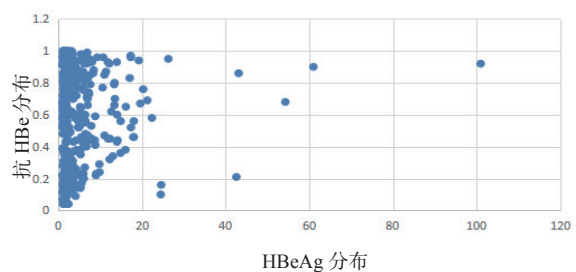


图 2 363 例 HBeAg/ 抗 HBe 双阳性 CHB 的 HBeAg 和抗 HBe 分布趋势

2.2 274例CMIA法检测HBeAg/抗HBe双阳性CHB病例的HBV-DNA特征 274例样本进行了HBV-DNA检测。HBV-DNA结果分布见图3。不同

HBV-DNA水平下HBeAg, 抗HBe水平的差异见表2, HBeAg和抗HBe在不同HBV-DNA水平组的差异具有统计学意义。

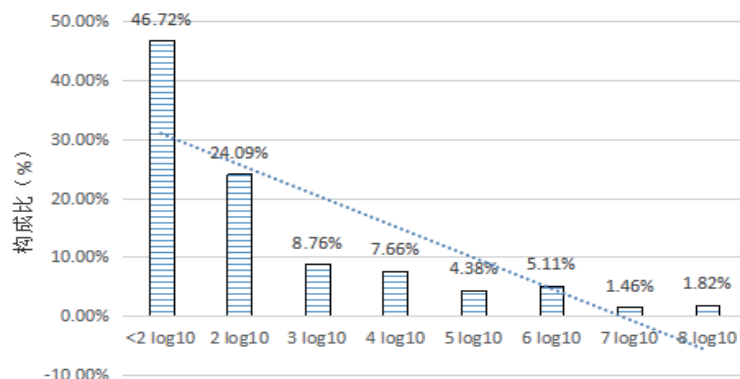


图3 274例HBeAg/抗HBe双阳性CHB的HBV-DNA分布

表2 不同HBV-DNA水平下HBeAg, 抗HBe水平的差异

HBV-DNA (log10IU/ml)	n	构成比(%)	HBeAg 均值 (S/CO)	t	P	抗HBe 均值 (S/CO)	t	P
<2	128	46.72	3.48			0.67		
2 ~ 6	123	44.89	5.75*	-2.965	<0.01	0.58*	2.697	<0.01
6 ~ 8	23	8.39	13.37**	-3.043	<0.01	0.45**	2.056	<0.05

注: *与<2(logIU/ml)组比较; **与2~6(logIU/ml)组比较。

2.3 HBeAg/抗HBe双阳性结果的方法学差异 ELISA法初检HBV-M呈HBeAg/抗HBe双阳性样本87例, 经ELISA法复检重复性54.02%(47/87)。47例复检HBeAg/抗HBe双阳性样本采用CMIA法检测, 共检出4种模式: HBeAg(+)/抗HBe(+)(6.38%), HBeAg(+)/抗HBe(-)(80.85%), HBeAg(-)/抗HBe(+)(8.51%), HBeAg(-)/抗HBe(-)(4.26%)。

CMIA法检测HBeAg/抗HBe双阳性样本49例采用ELISA法复检, 检出结果分别是: HBeAg(+)/抗HBe(+)占4.08%, HBeAg(-)/抗HBe(+)占10.20%, HBeAg(-)/抗HBe(-)占85.72%。

3 讨论

慢性乙型肝炎患者HBeAg血清学转换是指HBeAg阳性个例的HBeAg消失, 继而检出抗HBe, 并伴随血清HBV-DNA下降至<103 IU/ml, 它是HBeAg阳性CHB感染过程中一个重要转折点。发生HBeAg血清学转换后, 机体免疫耐受逐渐转变为免疫激活, 病毒复制活跃转为复制降低, 肝脏病变活动逐渐稳定和静息。HBeAg阳性慢性HBV感染约有80%可发生血清学转换, 部分感染者在HBeAg血清学转换过程中可以同时检出HBeAg和抗HBe, 表现为抗原抗体共存, 但是长期以来这一现象在实验室的检出又受到方法学的显著影响。

CHB病例出现HBeAg/抗HBe双阳性结果时, ①患者HBsAg水平仍相对较高; ②部分病例可能出现HBsAg/抗HBs双阳性反应引起, 这可能与S基因的突变或表型变异有关; ③HBeAg和抗HBe水平总体偏低, 接近临界值; 此类患者更容易发生HBeAg血清学转换; ④HBV-DNA水平呈现多样性, 阳性较多见。

检测系统和方法学差异也是当前HBV-M检测结果不一致的重要原因。研究发现ELISA法检出HBeAg(+)/抗HBe(+)样本中绝大多数为HBeAg阳性, 且HBeAg呈高水平, HBV显现出高复制状态。分析其原因可能与“带现象”有关, ELISA法检测抗HBe采用竞争法和一步法, 当待检血清中存在高水平HBeAg时, 大量HBeAg结合酶标记的抗HBe使得酶标记物无法结合微孔内包被的HBeAg, 而造成抗HBe假阳性。对经CMIA法检出HBeAg(+)/抗HBe(+)病例49例样本进行了ELISA法检测, 进一步提示真实的HBeAg(+)/抗HBe(+)样本经ELISA法检测后, 绝大多数表现为HBeAg(-)/抗HBe(-), 一小部分表现为HBeAg(-)/抗HBe(+)

提供HBeAg和抗HBe准确检测结果是对临床实验室提出的客观要求, 而准确判断慢性HBV感染者HBeAg血清学转换也是治疗疗效监测和评估的重要依据。有研究证实, 不同药物治疗后HBeAg血清学转化发生的时间也不一致。(下转第146页)