

# 乙肝血清学检测研究进展

吴诗阳, 孙加进, 杨 州

(无锡市第八人民医院检验科, 江苏 无锡 214011)

**【摘要】**乙型肝炎是一个严重的公共卫生问题, 主要由乙型肝炎病毒 (HBV) 感染引发, 且 HBV 感染者数量庞大, 因此, 乙型肝炎的诊断、治疗和预防都非常重要。HBV 血清学检测不仅可以用于检测 HBV 的抗原和抗体 (判断机体是否感染了 HBV), 还可以反映病毒的复制水平, 为乙型肝炎的治疗和预后评估提供参考。随着分子生物学和免疫学技术的不断发展, HBV 血清学检测方法也在不断的改进和完善, 不同血清标志物在疾病诊断中的不同参考价值。为了全面了解 HBV 血清学检测在诊断、治疗、预后评估、疫苗接种效果评估等方面的应用, 总结 HBV 血清学检测的局限性, 提出 HBV 血清学检测的进一步研究方向, 现就 HBV 血清学检测的研究进展进行综述, 为临床研究提供参考依据。

**【关键词】**乙型肝炎病毒; 血清学检测; 诊断价值; 预后评估

**【中图分类号】**R512.6+2

**【文献标识码】**A

**【文章编号】**2096-3718.2023.23.0134.04

**DOI:** 10.3969/j.issn.2096-3718.2023.23.044

在我国, 乙型肝炎是一个严重的公共卫生问题, 主要由乙型肝炎病毒 (HBV) 感染引发, 每年有大量新发感染病例, 且 HBV 感染者数量庞大。乙型肝炎是一种损害肝脏的病毒感染, 可引起急性或慢性疾病, 可发展为肝硬化和肝细胞癌。因此, 乙型肝炎的诊断、治疗和预防都非常重要。HBV 血清学检测作为诊断和治疗的重要手段, 其应用价值不言而喻。在临床应用方面, HBV 血清学检测可以用于诊断乙型肝炎、评估病情、监测治疗效果、指导抗病毒治疗、评估疫苗接种效果等, 如通过检测 HBV、脱氧核糖核苷酸 (DNA) 可以了解病毒复制水平, 判断病情严重程度; 通过检测乙肝表面抗体 (HBsAb) 可以了解疫苗接种后的免疫效果等。此外, HBV 血清学检测也在流行病学调查中发挥重要作用。通过对不同人群进行血清学调查, 可以了解 HBV 的感染状况和流行趋势, 为制定预防措施提供依据。本文主要探讨 HBV 血清学检测的研究进展, 现综述如下。

## 1 HBV 血清标志物

HBV 血清标志物是 HBV 感染和复制的重要指标, 其检测简单易得, 也是乙型肝炎诊断和治疗的关键依据。HBV 血清标志物如乙肝表面抗原 (HBsAg)、乙肝表面抗体 (HBsAb)、乙肝病毒 e 抗体 (HBeAg) 等在疾病进展中具有指示作用, 可以反映肝脏受损程度和病毒复制情况, 从而帮助评估患者病情和指导治疗<sup>[1]</sup>。如 HBsAg 和 HBsAb 的检测可以一定程度反映病毒复制情况和肝脏受损程度, 从而帮助评估病情和指导治疗。同时, HBeAg 和 HBeAb

的检测可以反映病毒复制和传染性的强弱, 从而指导抗病毒治疗。在临床上, 将 HBsAg 和 HBV DNA 进行联合检测, 可以更准确地诊断 HBV 感染<sup>[2]</sup>。由于某些基因和环境因素可能会影响到血清标志物的表达水平, 从而影响患者病情的发展和治疗效果。

## 2 HBV 核酸检测方法

核酸检测方法在 HBV 的检测中得到广泛应用, 这些方法包括聚合酶链反应 (PCR)、实时荧光定量 PCR、碱基化反应测序等。核酸检测方法具有高灵敏度和高特异性, 并可以检测到病毒的脱氧核糖核苷酸 (DNA)/核糖核苷酸 (RNA), 可以有效确定 HBV 感染者的感染状况、病毒载量和突变情况。结合实验室中开发的新型自动化和智能化的系统, 可以通过机器学习和人工智能技术实现自动化样本处理、数据分析等功能, 进一步提高检测的准确性和可重复性, 减少人为误差。各项检测技术也经常与其他血清学指标 (如肝功能、肝炎病毒标志物等) 联合使用, 形成综合诊断方案, 以提高诊断的准确性和治疗效果评估。

**2.1 PCR 技术** PCR 技术是以 DNA 的半保留复制机制为基础, 发展出的体外酶促合成、扩增特定核酸片段的一种方法。目前通过优化 PCR 反应体系、采用低浓度引物多重 PCR 等技术, 成功提高了 HBV 的检测灵敏度。根据最新研究显示, 该技术已经能够检测到低至单个拷贝的 HBV DNA, 极大地提高了早期诊断的准确性<sup>[3]</sup>。在临床上, 通过采用高特异性的引物和探针, 结合严谨的实验设计, PCR 技术对 HBV 的检测特异性有了显著提高, 其有

助于减少误诊和漏诊,提高诊断的准确性<sup>[4-5]</sup>。多重 PCR 技术使得 HBV 的基因分型和耐药性检测得以实现,该技术可以通过同时检测多个基因片段,可以更准确地了解病毒的变异情况,为临床治疗提供指导。

**2.2 基因测序技术** 采用高深度测序技术能够更准确地检测 HBV 的基因序列,采用这种方法有助于了解病毒的变异情况,为临床治疗提供指导。目前可以利用碱基化反应测序技术,进行全基因组测序<sup>[6]</sup>。采用这种方法有助于全面了解 HBV 的基因组结构和功能,为抗病毒药物研发提供重要信息。可以通过碱基化反应测序技术,检测 HBV 对药物的耐药性,有助于指导医师选择合适的药物治疗方案,提高治疗效果。可以利用碱基化反应测序技术,精确地进行 HBV 的基因分型和进化分析,有助于了解病毒的传播和演化情况,为疫情防控提供重要信息。

### 3 血清学标志物检测方法

HBV 血清学标志物包括 HBsAg、HBeAg、HBsAb 等,近年来,一些新的检测方法,如荧光免疫分析法(FIA)、化学发光免疫分析法(CLIA)等的引入,提高了 HBV 血清学标志物检测的灵敏度和特异性。

**3.1 FIA** 通过采用新型的荧光标记技术和信号放大技术,荧光免疫分析法的灵敏度得到了显著提高,比传统的酶联免疫吸附试验(ELISA)方法更灵敏<sup>[7]</sup>。FIA 利用荧光标记的特异性探针,可以同时检测多个病毒抗原或抗体,包括乙肝表面抗原、e 抗原、核心抗原和抗体等,有助于全面了解 HBV 的感染和复制情况<sup>[8]</sup>。FIA 通过优化荧光标记物的选择和制备过程,提高荧光标记物的质量和稳定性,从而提高检测的灵敏度。此外,还可通过改进荧光免疫分析法的实验条件和操作流程,以降低背景信号和噪声,提高检测的信噪比,利用纳米材料和量子点等新型荧光标记物,提高荧光免疫分析法的灵敏度和稳定性。FIA 通过同时使用多种荧光标记物,对不同目标分子进行标记和检测,以实现多重检测。此外,还可通过将 FIA 与其他技术相结合,如质谱技术、芯片技术和纳米技术等,以进一步提高多重检测的灵敏度和特异性<sup>[9]</sup>。利用纳米材料和量子点等新型荧光标记物,实现多重荧光免疫分析;将不同荧光标记物与不同的抗体或核酸等目标分子结合,形成具有高荧光性能的标记物,从而实现对不同目标分子的多重检测。

**3.2 CLIA** 通过优化 CLIA 的反应条件和探针设计,提高了检测的灵敏度和特异性,新型的 CLIA 可以检测到低至单个拷贝的 HBV 表面抗原,具有较高的准确性<sup>[10]</sup>。新型的 CLIA 结合了量子点和磁性纳米颗粒的优势,实现了对目标分子的高灵敏度和高特异性检测,还可以将 CLIA

与其他技术联用,如质谱技术、纳米技术等,以进一步提高 CLIA 的灵敏度和特异性。在临床应用方面,目前已开发自动化、微型化的 CLIA 仪器,实现快速、简便的检测。目前临床正在探索新型的化学发光标记物,如量子点、纳米线等,这些新型标记物具有更高的发光效率和稳定性,可以进一步提高 CLIA 的灵敏度和特异性。金属有机框架(MOFs)作为新型发光标记物具有高稳定性、高灵敏度、高发光效率等优点,为化学发光免疫分析提供了新的选择,MOFs 是一种由金属离子或团簇与有机配体相互连接形成的具有多孔结构的晶体材料,具有高比表面积、高孔容、可调的孔径和化学功能性等优点,为化学发光标记物的制备提供了新的平台,将 CLIA 与纳米技术、生物技术等相结合,开发出更加灵敏、特异的检测方法<sup>[11]</sup>。

**3.3 免疫学检测方法** 免疫学检测方法包括 ELISA、放射免疫测定法(RIA)等。近年来,研究人员对这些方法进行了改进,提高了乙肝病毒抗体的检测灵敏度和特异性。

**3.3.1 ELISA** ELISA 方法通过将酶与抗体结合,形成酶-抗体复合物,然后将该复合物与目标分子结合,实现信号的第一次放大。接着,通过将另一个酶与第一个酶-抗体复合物结合,形成第二个酶-抗体复合物,实现对目标分子的多级放大,从而极大地提高了检测的灵敏度。目前临床致力于优化 ELISA 的反应条件和探针设计,以进一步提高检测的灵敏度和特异性。新型的 ELISA 方法可以检测到低至单个拷贝的 HBV 表面抗原,具有较高的准确性;基于信号放大的 ELISA 方法利用多个酶-抗体复合物对目标分子进行多级放大,从而极大地提高了检测的灵敏度<sup>[12-13]</sup>。通过选择具有高亲和力和特异性的抗体,以及优化实验条件和操作流程,以降低背景信号和噪声,提高检测的信噪比和特异性,还可以于开发自动化、微型化的 ELISA 仪器,以实现快速、简便的检测。

**3.3.2 RIA** 通过采用新型的放射性核素和抗体,RIA 的灵敏度和特异性得到了显著提高<sup>[14]</sup>。新型的 RIA 方法可以检测到低至单个拷贝的 HBV 表面抗原,具有较高的准确性。通过改进放射性核素的标记技术和优化实验条件,提高放射免疫测定法的灵敏度和特异性。如利用新型的放射性核素,如<sup>64</sup>Cu、<sup>18</sup>F 等,具有较长的半衰期和较高的能量分辨率,可以提高检测的灵敏度和准确性。将 RIA 与其他技术相结合,以实现多组分联合检测和自动化检测,如将放射免疫测定法与磁性分离技术、光学成像技术等相结合,利用磁性纳米颗粒对目标分子的高效吸附和光学成像技术的高分辨率优势,可以实现高灵敏度和高特异性的检测。目前临床正在探索新型具有更高的灵敏度和更低的



辐射剂量的放射性核素,可以进一步提高 RIA 的检测效果。利用纳米技术制备出具有高比表面积、高发光效率、低毒性的新型纳米发光材料,并将其与放射性核素结合,形成具有高效发光性能和低毒性的纳米发光标记物,从而利于提高检测的灵敏度和安全性。另外还可将放射免疫测定法与其他技术相结合,如将 RIA 与质谱技术、芯片技术等相结合,通过分析目标分子的质谱特征或与芯片上的抗体或核酸探针结合,实现高灵敏度和高特异性的检测。

#### 4 HBV 血清学检测的应用领域和现状

HBV 血清学检测广泛应用于以下几个方面:① HBV 的筛查和诊断;②乙型肝炎病情监测和预后评估;③乙型肝炎疫苗接种后的效果评估。目前,HBV 血清学检测技术已经得到了广泛应用,但仍然存在一些问题,如试剂的质量和标准化问题、交叉反应和假阳性等。

##### 4.1 乙型肝炎的筛查和诊断

4.1.1 筛查 HBV 血清学检测常用于乙型肝炎的筛查,特别是对于 HBV 携带者和乙型肝炎患者。通过检测 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 和乙型肝炎病毒核心抗体(HBcAb)等指标,可以有效地发现 HBV 的存在和复制情况,进而进行必要的治疗和管理<sup>[15]</sup>。然而对于一些隐性感染或病毒携带者,可能会出现漏检的情况。此外,由于不同地区和人群的感染模式和免疫状态不同,血清学检测的阳性率也会有所差异。

4.1.2 诊断 HBV 血清学检测在乙型肝炎的诊断方面也具有重要作用,通过检测血清中的病毒标志物和其他相关指标,可以确定乙型肝炎的感染状态、病情进展和治疗效果等<sup>[16]</sup>。如 HBV DNA 的检测可以用于判断病毒复制情况和治疗效果,而 HBsAg 和 HBsAb 的检测可以用于判断感染状态和免疫情况。然而有时也会出现假阳性或假阴性的情况,比如可能会出现一些非特异性免疫因素从而导致假阳性的结果,而病毒变异或低水平复制则可能导致假阴性的结果。

##### 4.2 乙型肝炎病情监测和预后评估

4.2.1 病情监测 在临床上,常通过定期检测 ALT、AST 等肝功能指标,来了解肝脏的功能状况,进而评估病情的进展和治疗效果;然而并不能完全反映肝脏病变的情况,这是因为一些血清标志物的变化可能滞后于病情变化,因此需要结合其他检查和临床数据进行综合判断<sup>[17]</sup>。HBV 血清学检测可以用于监测乙肝患者的病情变化。例如,HBsAg 和 HBsAb 的检测可以反映病毒复制情况和免疫状态,而 HBeAg 和 HBeAb 的检测可以反映病毒复制和传染性的强弱<sup>[18]</sup>。通过定期检测这些指标,可以评估病情的进展和治疗的效果。病毒载量可以反映乙型肝炎病毒在

体内的复制活跃程度,高病毒载量提示传染性强、疾病进展快,而低病毒载量则提示传染性低、疾病进展缓慢,血清 HBV DNA 水平是反映病毒复制活跃程度的重要指标。

4.2.2 预后评估 HBV 血清学检测在抗病毒治疗方面也具有指导作用,通过检测 HBV DNA 的水平,可以判断抗病毒药物的治疗效果和病毒的复制情况,进而调整治疗方案。HBV 血清学检测可以用于指导抗病毒治疗,但不能完全反映病毒对药物的反应情况。一些药物可能不能有效降低 HBV DNA 水平,但可以改善肝功能和减少肝组织炎症反应,因此需要结合其他检查结果进行综合评估。HBV 血清学检测也可以用于评估患者的预后情况。HBsAg 定量检测可以预测抗病毒治疗的效果和预后,而 HBsAg 和 HBcAb 的定量检测可以预测疾病进展和肝硬化的风险。如 HBsAg 通常在症状出现后 1 至 3 个月消失,而乙肝核心抗体(抗-HBc)在窗口期可能是唯一存在的血清学标志物。在慢性乙型肝炎中,HBsAg 持续存在和抗-HBc 总阳性是疾病进展为肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌的主要危险因素<sup>[19]</sup>。同时,血清学指标如透明质酸、层粘连蛋白、IV 型胶原等被用于评估肝纤维化的程度,这些指标可以反映肝脏损伤的程度和疾病的预后<sup>[20]</sup>。

4.3 乙肝疫苗接种后的效果评估 HBV 血清学检测可以用于评估乙肝疫苗接种后的效果。在疫苗接种后,通过定期检测 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 和 HBcAb 等指标,可以了解疫苗接种后的免疫应答情况,包括疫苗接种的有效性和持久性等<sup>[21]</sup>。数字免疫分析法是一种新型的免疫分析方法,具有快速、自动化、高精度和低成本等优点。数字免疫分析法通过将抗体与磁性纳米颗粒结合,然后利用磁分离技术将抗体与抗原结合形成的免疫复合物分离,最后通过检测光信号来定量抗原浓度,可以用于乙肝疫苗接种后的效果评估。

#### 5 HBV 血清学检测的局限性及进一步研究方向

目前,HBV 血清学检测方法在临床应用中已然取得了显著的成效,但仍存在一定的局限性。如常规的电镜法虽然标本用量小、制作速度快,但在观察过程中直观性较差,且灵敏度较低。免疫电镜法虽然高灵敏度、高精密度,但样本制备过程较为复杂,对操作者技能要求较高。另外,目前对于 HBV 的检测主要集中在其表面抗原的检测上,而对于病毒基因突变以及其他未知病毒蛋白的检测尚不完善<sup>[22]</sup>。

进一步的研究方向可以从探索新型生物标志物、联合应用多种检测方法、自动化和智能化、个性化治疗、疫苗接种效果评估、肝病预防、预后评估等方面。具体分析如下:①探索新型生物标志物:除了目前的乙肝表面抗原、

e 抗原、e 抗体和核心抗体等指标外，还可以探索其他与 HBV 感染和复制相关的生物标志物，比如微小 RNA、循环 DNA 等，以更准确地反映 HBV 的感染状态、复制程度和治疗效果。②联合应用多种检测方法：可以将不同的 HBV 血清学检测方法进行联合应用，如免疫化学发光法、时间分辨荧光免疫法、电化学发光免疫法等，可以提高检测的准确性和灵敏度。③借助自动化和智能化系统：还可以进一步开发自动化仪器和智能化系统，实现样本自动处理、数据分析等功能，提高检测的可重复性和准确性，减少人为误差。④个性化治疗：可以通过 HBV 血清学检测，可以了解患者的病毒复制情况、基因型等个体差异，为制定个性化的抗病毒治疗方案提供依据。⑤疫苗接种效果评估：HBV 血清学检测可以评估疫苗接种后的免疫应答情况，预测疫苗的保护效果，为优化疫苗接种方案提供参考。⑥肝病预防：可以通过 HBV 血清学检测，可以发现潜在的感染者，及时采取预防措施，降低乙型肝炎的传播风险。⑦预后评估：可以通过对乙型肝炎患者的长期随访和检测，可以评估患者的预后情况，预测疾病的发展趋势，为临床治疗提供指导。

## 6 小结与展望

HBV 血清学检测在临床上有重要的应用价值，主要包括诊断和鉴别诊断、病情监测和预后评估、抗病毒治疗指导、疫苗接种效果评估以及流行病学调查等方面。通过乙肝血清学检测，医师可以判断患者是否感染了 HBV，了解病毒的复制水平，评估病情严重程度，监测治疗效果，指导抗病毒治疗，评估疫苗接种效果等。虽然 HBV 血清学检测技术已经得到了广泛应用，但仍需要进一步改进和完善，提高其灵敏度和特异性，降低交叉反应和假阳性率。同时，随着新技术的发展和运用，HBV 血清学检测技术也将得到更广泛的应用和发展。

## 参考文献

- [1] 郜燕, 栾和伟, 田园, 等. 探究不同免疫检验法对乙型肝炎病毒感染血清标志物检验的效果 [J]. 系统医学, 2023, 8(1): 77-80.
- [2] 马艳春. 乙型肝炎病毒表面抗原阳性患者前 -S1 抗原和前 -S2 抗原与 HBV DNA 和 HBV-M 相关性分析 [J/CD]. 中国肝脏病杂志 (电子版), 2011, 3(11): 27-30.
- [3] 王文萍. 荧光定量聚合酶链反应法与免疫学化学发光法检测乙型肝炎病毒的比较 [J]. 基层医学论坛, 2023, 27(22): 118-120.
- [4] 李书轻, 刘丹, 王亚, 等. 实时荧光定量聚合酶链反应对乙型肝炎病毒 DNA 的检验效果 [J]. 实用检验医师杂志, 2023, 15(2): 159-162.
- [5] 吴劲璋, 覃丽娜. 探讨实时荧光定量 PCR 在乙型肝炎病毒 DNA 定量检测中应用价值 [J]. 黑龙江医药, 2023, 36(5): 1174-1176.
- [6] 姚如恩, 傅启华, 郁婷婷. 全基因组测序技术在临床诊断中的应用 [J]. 国际检验医学杂志, 2023, 44(17): 2049-2052.
- [7] 李梅, 刘洁, 叶燕, 等. 时间分辨荧光免疫分析法和酶联免疫吸附实验法测定乙型肝炎病毒大蛋白的方法学比较 [J]. 中国临床新医学, 2018, 11(2): 118-121.
- [8] 王迪, 王慧, 张锦伟. 时间分辨荧光免疫分析法检测肝病患者肝纤四项的临床探讨 [J]. 中国医药指南, 2016, 14(28): 65-66.
- [9] 王江南, 刘伟, 张起. 时间分辨荧光免疫分析法与 ELISA 检测丙型肝炎病毒抗体的比较 [J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(11): 1579-1580.
- [10] 符小玉, 郭飞源, 陈钢, 等. 化学发光免疫分析法和时间分辨免疫荧光法定量检测不同浓度 HBsAg 的对比分析 [J]. 中国感染控制杂志, 2017, 16(3): 258-262.
- [11] 覃晓丽, 詹子颖, JAHANGHIRI S, 等. 金属有机框架材料在电化学 / 电化学发光免疫分析中的应用 [J]. 电化学, 2023, 29(6): 4-18.
- [12] 罗纯生, 展秀君. 化学发光免疫分析法与酶联免疫吸附试验法检测乙肝病毒感染标志物比较 [J]. 医学信息, 2022, 35(9): 175-177.
- [13] 胡瑞, 张艳亮, 张娟. 甲、乙型流感病毒检测方法的研究进展 [J]. 系统医学, 2023, 8(2): 178-182, 198.
- [14] 张孝永, 刘辉. 乙肝患者血清 HBV-DNA 阳性率分析 [J]. 福建医药杂志, 2002, 24(6): 141-142.
- [15] 许晓娟, 叶贤林, 郑欣, 等. HBsAg 反应性 / 核酸筛查无反应性献血者乙肝感染多方法确认研究 [J]. 中国输血杂志, 2021, 34(12): 1310-1313.
- [16] 屈丽, 赵波涛. 乙肝病毒前 S1 蛋白及其抗体与血清标志物联合检测在小儿乙肝早期诊断中的价值 [J]. 中国妇幼保健, 2023, 38(4): 661-664.
- [17] 陈慧娟, 李伟, 陈家盛, 等. 慢性乙型肝炎病人经核苷 (酸) 药物治疗后血清 HBV pgRNA 的检测及其临床意义 [J]. 蚌埠医学院学报, 2023, 48(7): 913-916, 921.
- [18] 赵棉, 张力, 赵亚妮. HBVDNA 定量与乙肝血清学标志物定量联合检测乙肝病毒感染的效果分析 [J]. 实用临床医药杂志, 2018, 22(15): 37-40.
- [19] 王莉雪, 王文芳. HBsAg 对恩替卡韦治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎临床疗效的预测价值 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2022, 32(4): 361-363.
- [20] 朱萍, 路毓峰, 王丽, 等. 慢性乙型肝炎患者肝纤维化血清标志物与肝组织炎症分级的关系 [J]. 河北医药, 2019, 41(16): 2497-2500.
- [21] 梁振昌, 郭浩彬, 黄淑婷. 不同年龄儿童接种乙肝疫苗后的免疫应答效果观察 [J]. 临床医学工程, 2023, 30(2): 285-286.
- [22] 陈翔宇. 乙肝血清学检测研究进展 [J]. 医学理论与实践, 2015, 28(18): 2450-2452.