

HBV DNA 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

赵 棉¹, 张 力², 赵亚妮³

(1. 陕西省西安市第一医院 检验科, 陕西 西安, 710002; 2. 陕西省友谊医院 检验科, 陕西 西安, 710068; 3. 陕西省西安市第五医院 检验科, 陕西 西安, 710082)

摘要:目的 探讨乙肝病毒 HBV DNA 定量与乙肝血清学标志物定量联合检测 HBV 感染的效果。方法 回顾性分析 988 例乙型肝炎患者的临床资料, 根据 HBV 血清学标志物定量检测水平将其分为 3 组, 即大三阳组 285 例、小三阳组 358 例与其他模型组 245 例。所有患者均行乙肝血清学标志物定量与 HBV DNA 定量检测。观察并分析 HBV DNA 对 HBV 感染的检测结果, 血清标志物与 HBV DNA 检测的阳性率, 以及不同血清学标志物定量模式与不同 HBV DNA 定量水平的检测结果。结果 3 组对 HBV DNA 检测的阳性率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 即大三阳组 HBV DNA 检测的阳性率 $>$ 小三阳组 $>$ 其他模型组。3 组 HBV DNA 定量检测水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 即大三阳组 $>$ 小三阳组 $>$ 其他模型组。490 例 HBV DNA 阳性样本中, HBeAg 检出率为 48.98% (240/490), HBsAg 检出率为 96.94% (475/490)。HBV DNA 水平 $> 7 \lg \text{copies/mL}$ 时, 以大三阳组居多, 占 77.24%; $5 \sim 7 \lg \text{copies/mL}$ 时, 以大三阳组居多, 占 66.04%; $2.7 \sim < 5 \lg \text{copies/mL}$ 时, 以小三阳组居多, 占 44.66%; $< 2.7 \lg \text{copies/mL}$ 时, 以其他模型组居多, 占 55.83%。结论 HBV DNA 定量与乙肝血清学标志物定量联合检测能够有效增强 HBV 的诊断准确率。

关键词: 乙肝病毒感染; HBV DNA 定量; 乙肝血清学标志物定量

中图分类号: R 512.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2353(2018)15-037-04 **DOI:** 10.7619/jcmp.201815009

Efficiency analysis of quantitative HBV DNA detection combined with quantitative detection of hepatitis B serological markers in detecting hepatitis B virus infection

ZHAO Mian¹, ZHANG LI², ZHAO Yan³

(1. Department of Clinical Laboratory, Xi'an First Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710002;

2. Department of Clinical Laboratory, Shaanxi Friendship Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068;

3. Department of Clinical Laboratory, Xi'an Fifth Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710082)

ABSTRACT: Objective To explore the effect of quantitative HBV DNA detection combined with quantitative detection of hepatitis B serological markers in detecting hepatitis B virus (HBV) infection. **Methods** Clinical data of 988 patients with HBV were analyzed retrospectively. According to the quantitative detection level of HBV serological markers, they were divided into great three positive group ($n = 285$), small three positive group ($n = 358$) and model group ($n = 245$). All patients underwent quantitative detection of hepatitis B serological markers and HBV DNA. The results of HBV DNA detection of HBV infection were analyzed, and the positive rates of serum markers and HBV DNA were compared, and the quantitative patterns of different serological markers and the results of different HBV DNA detection levels were analyzed. **Results** There were significant differences in positive rates of HBV DNA detection among the three groups ($P < 0.05$), that was, the positive rate of the HBV DNA detection in the great three positive group was higher than small three positive group and model group. In 490 HBV DNA positive samples, the detection rate of HBeAg was 48.98% (240/490), and the detection rate of HBsAg was 96.94% (475/490). When HBV DNA level $> 7 \lg \text{copies/mL}$, great three positive group was the majority, accounting for 77.24%. When

HBV DNA level was in 5 ~ 7 lg copies / mL , great three positive group was still the majority , accounting for 66. 04% . When HBV DNA level was in 2. 7 ~ < 5 lg copies/mL and < 2. 7 lg copies/mL , small three positive group and model group were majority respectively , accounting for 44. 66% and 55. 83% . **Conclusion** Quantitative HBV DNA detection combined with quantitative detection of hepatitis B serological markers can effectively enhance the diagnostic accuracy of HBV .

KEY WORDS: hepatitis B virus infection ; HBV DNA quantification ; quantification of hepatitis B serological markers

乙型肝炎是由乙型肝炎病毒(HBV)感染所致的疾病。目前,HBV DNA定量与HBV血清学标志物是测定HBV传染性、感染程度的主要方法,其中血清学标志物可以快速获取到结果,操作简便,适用于大批量筛查。血清学标志物却无法有效反映HBV的复制状态。HBV DNA定量具有灵活度高、观察直接等特点,可以有效监测HBV DNA的复制状态,清楚识别不同时期乙肝的感染情况,诊断乙肝突变株^[1]。HBV DNA定量与HBV血清学标志物均有独特的优势,但二者联合应用的相关研究较少^[2]。本研究分析HBV DNA定量与乙肝血清学标志物定量联合检测HBV感染的效果,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

回顾性分析2017年1—12月本院988例乙型肝炎患者的临床资料,根据HBV血清学标志物定量检测水平将其分为3组,即大三阳组[乙肝表面抗原(HBsAg)、乙肝e抗原(HBeAg)、核心抗体(抗HBc)阳性]285例,小三阳组[HBsAg、抗HBc、e抗体(抗HBe)阳性]358例,以及其他模型组[表面抗体(抗HBs)、抗HBc、抗HBe阳性,抗HBc、抗HBs阳性,抗HBc、抗HBe阳性,抗HBs阳性,抗HBc阳性,HBsAg与全阴性等]245例。大三阳组:男145例,女140例;年龄18~68岁,平均年龄(40.5±5.3)岁。小三阳组:男180例,女178例;年龄18~66岁,平均年龄(40.3±4.8)岁。其他模型组:男125例,女120例;年龄18~67岁,平均年龄(39.8±4.8)岁。3组性别与年龄构成比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。纳入标准:符合《乙型病毒性肝炎诊断标准》(WS299-2008)^[3]中对乙型肝炎的诊断标准;近3个月内未采取过抗病毒药物治疗。排除标准:合并严重心脑血管疾病;伴有肝囊肿与肿瘤;有精神疾病史。

万方数据

1.2 方法

所有患者均行乙肝血清学标志物定量与HBV DNA定量检测。采集患者空腹静脉血,放置3h后,分离血清,并置于-20℃冰箱内待检。HBV DNA定量:①选择血清100 μL加入DNA浓缩液100 μL内,充分混匀,上离心机以12 000转/min的速度离心10 min,弃上清,在管底沉淀中加入HBV DNA提取液20 μL,强烈振荡充分混匀,在恒温状态下煮沸10 min,再以1 200转/min的速度离心8 min,取上清备用。②选择PCR反应管,加入处理完毕的2 μL标准品与2 μL样品,以5 000转/min的速度离心30 s,放入仪器样品槽。③调节反应参数,1个循环,93℃预变2 min;40个循环,94℃变性30 s;40个循环,94℃~60℃退火、延伸30 s;读取荧光值。血清学标志物的定量检测:通过ELISA人乙肝血清学标志物试剂进行检测,具体操作严格按照说明书执行。

1.3 观察指标

分析HBV DNA定量对HBV感染的检测结果,对比血清标志物定量与HBV DNA定量检测的阳性率,分析不同血清学标志物定量模式与不同HBV DNA定量水平的检测结果。HBV DNA定量评价标准:HBV DNA<5.0 lg copies/mL为阴性,水平≥5.0 lg copies/mL为阳性。血清学标志物评价标准:HBsAg<0.2 ng/mL为阴性,≥0.2 ng/mL为阳性;抗-HBs浓度<10.00 mIU/mL为阴性,抗-HBs浓度≥10.00 mIU/mL为阳性;HBeAg<0.5 PEIU/mL为阴性,≥0.5 PEIU/mL为阳性;抗-HBc<0.9 PEIU/mL为阴性,≥0.9 PEIU/mL;抗HBe<0.3 PEIU/mL为阴性,≥0.5 PEIU/mL为阳性。

1.4 统计学处理

本研究采用SPSS 15.0软件分析,研究中数据均符合正态分布, ($\bar{x} \pm s$)代表计量资料,行 t 检验; [$n(\%)$]代表计数资料,行 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HBV DNA 对 HBV 感染的检测结果

大三阳组 285 例, HBV DNA 阳性 280 例 (98.25%); 小三阳组 358 例, HBV DNA 阳性 185 例 (51.68%); 其他模型组 245 例, HBV DNA 阳性 25 例 (10.20%)。3 组对 HBV DNA 检测的阳性率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 即大三阳组 HBV DNA 检测的阳性率 $>$ 小三组 $>$ 其他模型组。大三阳组 HBV DNA 定量检测结果为 (7.30 ± 1.38) lg copies/mL, 小三阳组为 (4.38 ± 1.28) lg copies/mL, 其他模型组为 (3.58 ± 1.70) lg copies/mL。3 组 HBV DNA 定量检测水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 即大三阳组 $>$ 小三阳组 $>$ 其他模型组。

2.2 血清标志物与 HBV DNA 阳性率对比

490 例 HBV DNA 阳性样本中, HBeAg 检出

率为 48.98% (240/490), HBsAg 检出率为 96.94% (475/490)。见表 1。

表 1 血清标志物与 HBV DNA 阳性结果对比

HBV DNA	例数	HBeAg		HBsAg	
		阳性	阴性	阳性	阴性
阳性	490	240	250	475	15
阴性	498	28	270	250	248
合计	988	520	268	263	725

2.3 不同血清学标志物定量模式与不同 HBV DNA 检测水平的结果分析

HBV DNA 水平 > 7 lg copies/mL 时, 以大三阳组居多, 占 77.24%; $5 \sim 7$ lg copies/mL 时, 以大三阳组居多, 占 66.04%; $2.7 \sim < 5$ lg copies/mL 时, 以小三阳组居多, 占 44.66%; < 2.7 lg copies/mL 时, 以其他模型组居多, 占 55.83%。见表 2。

表 2 不同血清学标志物定量模式与不同 HBV DNA 检测水平的结果分析 [n (%)]

组别	例数	< 2.7 lg copies/mL	$2.7 \sim < 5$ lg copies/mL	$5 \sim 7$ lg copies/mL	> 7 lg copies/mL
大三阳组	446	12(26.91)	108(42.69)	70(66.04)	95(77.24)
小三阳组	253	185(41.48)	113(44.66)	35(33.02)	25(20.33)
其他模型组	123	249(55.83)	32(12.65)	1(9.43)	3(2.44)

3 讨 论

乙型肝炎属于临床常见的慢性传染性疾病, 临床表现为畏食、乏力、腹胀、恶心、肝区疼痛等, 肝质地中等硬度、肝大, 严重者伴有蜘蛛痣、慢性肝病面容、脾大、肝掌、肝功能异常等^[4]。中国乙型肝炎的发病率高居世界首位, 每年因乙型肝炎及乙肝所致肝衰竭等相关性疾病死亡的病例可达 25 万, 不仅给人们的健康带来了严重的影响, 同时也给社会造成了沉重的负担^[5]。因此, 采取可靠的检验手段尽早明确诊断乙型肝炎, 并积极采取有效的治疗措施十分必要。

在机体感染 HBV 的过程中, 免疫应答会形成免疫杀伤作用, 其中免疫功能对 HBV 感染病程与程度具有直接的影响。机体免疫功能较低的情况下, HBV 可发生持续性复制, 并生成 HBeAg, 而当病情好转或免疫功能较高时, HBV 停止复制, 抗 HBe 呈阳性, 而 HBeAg 呈阴性。还有学者^[6]发现, 乙型肝炎血清学标志物可以有效评估 HBV 的免疫状态, 而 HBV DNA 却可以直接提示乙型肝炎病毒的复制状态。目前, 血清学标志物与 HBV

DNA 分子生物学检测是诊断 HBV 的重要手段。

乙型肝炎的血清标志物包括抗 HBs、抗 HBe、抗 HBc、HBsAg、HBeAg, 现主要采用 ELISA 法检测, 具有操作简单、快速、价廉等优势, 可以间接反映出 HBV 感染^[7]。然而, 血清标志物定量检测无法动态与及时的评价出 HBV 的复制情况, 以及传染风险性^[9]。通过荧光定量实施的 HBV DNA 定量检测可以有效弥补血清标志物上述的不足之处^[10-11]。为了进一步完善乙型肝炎患者的诊疗方案, 本研究采用血清标志物定量与 HBV DNA 定量联合检测 HBV 感染, 结果显示, 3 组对 HBV DNA 检测的阳性率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 即大三阳组 HBV DNA 检测的阳性率 $>$ 小三组 $>$ 其他模型组。3 组 HBV DNA 定量检测水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 即大三阳组 $>$ 小三阳组 $>$ 其他模型组。可见, HBeAg 阳性患者 HBV 复制状态十分活跃, 具有较强的传染性。在 490 例 HBV DNA 阳性患者中, HBeAg 检出率为 48.98%, HBsAg 检出率为 96.94%。说明 HBV DNA 阳性主要存在于 HBsAg 携带者中。不同血清学模式观察中, HBV DNA 水平 $>$

7 lg copies/mL时,以大三阳组居多,占 77.24%; 5 ~ 7 lg copies/ml 时,以大三阳组居多,占 66.04%; 2.7 ~ <5 lg copies/mL 时,以小三阳组居多,占 44.66%; <2.7 lg copies/mL 时,以其他模型组居多,占 55.83%。HBV DNA 水平 > 7 lg copies/mL时,大三阳组 HBV DNA 阳性率明显高于其他模式。HBeAg 高度与 HBV DNA 水平有关,具有较佳的一致性,即 HBeAg 阳性时,其指标越高,HBV DNA 水平也随之增高,这与部分研究结果^[12-13]相符。可见,通过检测 HBeAg 能够间接识别 HBV 的传染活跃度与复制状态,但并不代表 HBeAg 转阴,HBV 即会停止复制。有研究^[14-17]发现,乙型肝炎患者 HBV DNA 指标 > 5 lg copies/mL时,HBV 具有较高的活跃度,而 ≤ 5 lg copies/mL 时,感染状态较低,所以在临床上也应同时给予 HBV DNA 定量测定,以便掌握病毒的复制情况。有研究^[18-20]认为,通过 PCR 技术测定 HBV DNA 定量指标,利于 HBsAg 阴性者尽早识别 HBV 感染。此外,PCR 具有较高的灵敏度,不仅可以检测出低指标的 HBV 感染,且在无法提示 HBsAg 指标的情况下,可以识别出可能因 S 基因突变导致 HBV 无法显示 HBsAg 而出现血清学标志物全阴的 HBV 感染情况。

总之,血清标志物可以有效反映 HBV 的感染情况,但多种阴性血清学标志物患者出现了 HBV DNA 阳性显示,说明 HBV DNA 定量检测可以有效补充血清学标志物定量测定的缺陷,二者联合检测能够有效增强 HBV 的诊断准确率,为评价 HBV 传染性与感染程度提供有效的参考。

参考文献

- [1] 杨佳佳,张彦懿,刘华伟,等. HBV-DNA 实时荧光定量 PCR 检测试剂盒性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(02): 213-217.
- [2] 陈瀑,林群,邹麟,罗鹏,等. 慢性乙型肝炎病毒感染自然史中 HBsAg 和 HBsAb 共存血清学模式分析[J]. 中国微生物学杂志, 2018, 30(01): 70-74.
- [3] 李黎,崔富强,张国民,等. 乙型肝炎诊断标准(WS299-2008)解读[J]. 中华预防医学杂志, 2014(9): 758-761.
- [4] 张敬,罗宝昌. 抗凝状态不同的血液标本对实时荧光定量 PCR 法测定 HBV-DNA 结果的差异性研究[J]. 河北医学, 2017, 23(12): 2058-2061.
- [5] 张蓉,史海霞. 标本因素对荧光定量 PCR 检测 HBV-DNA 的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(19): 2775-2777.
- [6] Estrada J, Najera M, Pounds N, et al. Clinical and Serologic Response to the 23-valent Polysaccharide Pneumococcal Vaccine in Children and Teens with Recurrent Upper Respiratory Tract Infections and Selective Antibody Deficiency[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2016, 35(2): 205-208.
- [7] 高娟,刘静. 荧光定量 PCR 法与 ELISA 法联合检测乙型肝炎的临床价值探讨[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(09): 29-31.
- [8] 罗澜. HBV-DNA 检测在乙型肝炎诊断中的价值分析[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(06): 827, 829.
- [9] 樊正勤,曹灵芝,赵耘,等. 核苷类似物干预后慢性乙型肝炎患者 HBV 多聚酶区基因突变模式与危险因素分析[J]. 实用临床医药杂志, 2017, 21(05): 54-56.
- [10] 朱明岩,叶英. 不同荧光定量 PCR 技术在乙型肝炎病毒检测中的应用评价[J]. 安徽医药, 2016, 20(09): 1723-1726.
- [11] 王海宁,李万顺,孙巨军. 乙肝病毒血清标志物、外周血 T 淋巴细胞与 HBV-DNA 的相关性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(04): 113-116.
- [12] 丁雪晴,徐红珍,刘俊慧. 乙肝血清学标志物与 HBV-DNA 含量检测的临床意义[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(11): 209-211.
- [13] Raniszewska A, Górska E, Kotura I, et al. Recurrent respiratory tract infections in children -analysis of immunological examinations[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2015, 40(2): 167-173.
- [14] 成克铭,闵瑶. 2007 例乙肝标志物、HBV-DNA 及 ALT 检测结果分析及临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(07): 987-989.
- [15] 覃彦平,柯柳华,蒋义生,等. HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者血清 HBsAg 与 HBV-DNA 的相关性及其与 HBeAg、ALT 水平的关系[J]. 广西医学, 2016, 38(01): 113-115.
- [16] 段德令,沈雪曼,史秋霞. 慢性乙肝患者 HBV DNA 定量与血清 HBeAg 的相关性分析[J]. 海南医学院学报, 2015, 21(10): 1342-1344.
- [17] 余雪平,郭如意,柯邵鹏,等. 慢性乙型肝炎及其肝硬化患者 HBsAg 与 HBV DNA 定量变化及其相关性[J]. 南方医科大学学报, 2015, 35(5): 682-686.
- [18] 王春颖,刘成永,周冬青,等. 乙型肝炎患者抗病毒治疗过程中肝组织 HBV DNA 与血清学标志物变化的动态变化研究[J]. 实用临床医药杂志, 2015, 19(7): 44-46.
- [19] 童永喜,项波,潘克女,等. 乙型肝炎相关性肝癌患者血清低拷贝 HBV DNA 检测的临床分析[J]. 中华全科医学, 2016, 14(4): 549-551.
- [20] 彭凤英,车小琼,赵宏斌. 恩替卡韦对慢性乙型病毒性肝炎患者 HBV DNA、HBsAg 及 HBeAg 定量的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(7): 41-44.