

HBV-M 定性与 HBV-DNA 定量联合检测 在诊治乙型肝炎中的临床价值

袁锦鑫

(河南省南阳市第一人民医院核医学科, 河南 南阳 473000)

摘要:目的 观察荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)技术在乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸(HBV-DNA)定量检测中的应用价值,同时观察乙型肝炎患者血清乙肝病标志物(HBV-M)定性检测的价值。方法 选取2015年1月—2018年9月我院收治的900例乙型肝炎患者作为研究对象,分别采用酶联免疫吸附测定(ELISA)、FQ-PCR技术对其血液标本进行HBV-M定性、HBV-DNA定量检测。分析不同HBV-M模式下HBV-DNA检测结果。结果 HBV-M共检出8种模式。HBV-DNA检测阳性率为55.00%(495/900);HBsAg+HBeAg+HBcAb模式下HBV-DNA的阳性率高于HBsAg+HBeAb+HBcAb、HBsAg+HBeAb、HBsAb+HBeAb+HBcAb模式的阳性率($P < 0.001$ 或 $P < 0.05$)、HBsAg+HBeAg模式阳性率显著高于HBsAg+HBeAb+HBcAb、HBsAg+HBeAb、HBsAb+HBeAb+HBcAb模式($P < 0.01$)。HBsAg+HBeAg+HBcAb模式的HBV-DNA含量显著高于HBsAg+HBeAg、HBsAg+HBeAb+HBcAb、HBsAg+HBeAb、HBsAb+HBeAb+HBcAb模式($P < 0.001$)。结论 不同HBV-M模式的HBV-DNA阳性率及表达水平存在差异,故联合HBV-M定性与HBV-DNA定量检测对乙型肝炎临床诊治意义重大。

关键词:乙型肝炎;聚合酶链反应;乙型肝炎病毒-标志物;乙型肝炎病毒-DNA;酶联免疫吸附测定

中图分类号:R349.82

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2019)03-0272-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2019.03.008

Clinical value of combining qualitative HBV-M and quantitative HBV-DNA detection in the diagnosis and treatment of hepatitis B

Yuan Jinxin

(Department of Nuclear Medicine, the First People's Hospital of
Nanyang, Nanyang 473000, Henan, China)

Abstract: **Objective** To observe the application value of fluorescence quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR) in the quantitative detection of hepatitis B virus deoxyribonucleic acid (HBV-DNA) in patients with hepatitis B, and to observe the value of qualitative detection of serum hepatitis B virus markers (HBV-M) in patients with hepatitis B. **Methods** Nine hundred hepatitis B patients admitted to our hospital from January 2015 to September 2018 were selected as the research objects. The qualitative HBV-M and quantitative HBV-DNA detection of patients' blood samples were performed by using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and FQ-PCR, respectively. The measurements of HBV-DNA of different HBV-M modes were analyzed. **Results** There were 8 detected HBV-M modes. The detected positive rate of HBV-DNA was 55.00% (495/900). The positive rate of HBV-DNA of the HBsAg + HBeAg + HBcAb mode was higher than those of HBsAg+HBeAb+HBcAb, HBsAg+HBeAb, HBsAb+HBeAb+HBcAb modes ($P < 0.001$, or $P < 0.05$). The positive rate of HBV-DNA of the HBsAg + HBeAg mode were significantly higher than those of HBsAg+HBeAb+HBcAb, HBsAg+HBeAb, HBsAb+HBeAb+HBcAb modes ($P < 0.01$). The HBV-DNA content of HBsAg + HBeAg + HBcAb mode was significantly higher than those of HBsAg+HBeAg, HBsAg+HBeAb+HBcAb, HBsAg+HBeAb, HBsAb+HBeAb+HBcAb modes ($P < 0.001$). **Conclusion** There are differences in the positive rate and expression level of HBV-DNA among different HBV-M modes. There-

fore, the combination of qualitative HBV-M and quantitative HBV-DNA detection is of great significance in clinical diagnosis and treatment of hepatitis B.

Key words: hepatitis B; polymerase chain reaction; hepatitis B virus markers; hepatitis B virus -DNA; enzyme-linked immunosorbent assay

乙型肝炎是由乙型肝炎病毒(HBV)所致肝脏疾病,临床表现复杂,若未及时处理或处理不当,可演变为肝硬化,严重者会危及患者生命^[1]。本病的诊断主要依赖于HBV感染5项血清免疫标志物,可直观反映患者免疫应答状态,但其无法直接反映HBV在人体内复制情况^[2]。新近研究表明,HBV感染后,外周血中乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸(HBV-DNA)的检出能反映完整的HBV颗粒释放,是反映病毒复制最直接、可靠指标^[3]。现阶段,荧光定量聚合酶链反应(fluorescence quantitative PCR, FQ-PCR)技术在基因诊断中凸显巨大优势,其能高效检出HBV感染和复制情况,为临床诊治工作提供参考信息^[4]。本研究选取我院900例乙型肝炎患者进行研究,旨在探究乙型肝炎病毒-标志物(HBV-M)不同模式下FQ-PCR技术在HBV-DNA定量检测中的诊断价值,详情如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2015年1月—2018年9月我院收治的900例乙型肝炎患者作为研究对象。其中男567例,女333例;年龄18~68岁,平均(43.01±11.97)岁;病程1~5年,平均(3.01±0.84)年;临床症状体征:412例上腹部不适,304例肝区痛,522例食欲减退,489例乏力。本研究经医院伦理委员会批准通过。

1.2 选取和排除标准 ①纳入标准:根据《慢性乙型肝炎诊断标准(2015年版)》^[5]诊断为乙型肝炎患者;Knodell肝组织活动指数(HAI)≥4;丙氨酸基转移酶(ALT)≥2×ULN(ULN=40 U/L);近期末接受抗病毒治疗者;患者与家属知晓并签署同意书。②排除标准:心、肾等脏器功能障碍者;甲、丙、丁、戊型肝炎者;精神疾病者;妊娠或哺乳期妇女者;酗酒和吸毒史者;以往1个月内接受抗病毒治疗者;依从性差,无法配合研究者。

1.3 检测方法 ①标本采集。所有患者均于清晨采集6 ml空腹肘静脉血,分为2份,各3 ml,室温下放置30 min,3000 r/min,离心10 min,保存于-20℃冰箱内待测。②HBV-M模式定性检测。应用酶联免疫吸附法(ELISA)对血液标本进行HBV-M模式定性检测,检测顺序为HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb,结合上海热电MK3型酶标仪评估结果,试剂盒购自上海抚生实业有限公司,完全参照试剂盒说明书操作。③HBV-DNA定量检测。选用中山大学

达安基因诊断中心生物工程公司生产的DA 7600 PCI仪,取200 μl样品,滴加DNA提取液I 450 ml、内标溶液4 μl,振荡混匀,15 s后瞬时离心数秒,100℃恒温处理(10±1) min,12 000 r/m离心5 min,备用,并做临界阳性、阴性、强阳性质控品。取2 μl上清液放入FQ-PCR反应管进行扩增,扩增条件:94℃ 2 min,随后94℃变性10 s,60℃退火,延伸30 s,共40个循环,上述操作完成后,电脑自动计算分析HBV-DNA定量结果,每次试验设置4个HBV-DNA标准品系列浓度,>1.00×10³拷贝/毫升即为阳性结果。

1.4 统计学方法 采用SPSS 20.00软件处理,计数资料以*n*和%表示,运用 χ^2 检验;计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,运用*t*检验,多组间比较用单因素方差分析,两两比较用LSD-*t*检验, $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBV-M定性检测结果 900例乙型肝炎患者的血液标本中,HBV-M模式定性检测含8种模式,271例HBsAg+HBeAg+HBcAb,347例HBsAg+HBeAb+HBcAb,130例HBsAg+HBeAb,26例HBsAg+HBeAg,34例HBsAb+HBeAb+HBcAb,18例HBsAb+HBeAb,27例HBeAb+HBcAb,47例HBcAb。

2.2 HBV-DNA定量检测结果 900例乙型肝炎患者的血液标本,HBV-DNA检测阳性率为55.00%(495/900)。

2.3 不同HBV-M模式下HBV-DNA检测结果 HBsAg+HBeAg+HBcAb模式下HBV-DNA阳性率高于HBsAg+HBeAb+HBcAb、HBsAg+HBeAb、HBsAb+HBeAb+HBcAb模式($\chi^2 = 265.483$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 112.295$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 238.421$, $P < 0.001$);HBsAg+HBeAg模式阳性率明显高于HBsAg+HBeAb+HBcAb、HBsAg+HBeAb、HBsAb+HBeAb+HBcAb模式($\chi^2 = 33.162$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 9.992$, $P = 0.001$; $\chi^2 = 41.489$, $P < 0.001$)。HBsAg+HBeAg+HBcAb模式的HBV-DNA含量明显高于HBsAg+HBeAg、HBsAg+HBeAb+HBcAb、HBsAg+HBeAb、HBsAb+HBeAb+HBcAb模式($t = 63.823$, $P < 0.001$; $t = 452.939$, $P < 0.001$; $t = 369.598$, $P < 0.001$; $t = 217.838$, $P < 0.001$)。见表1。

表1 比较不同 HBV-M 模式下 HBV-DNA 检测结果

HBV-M 模式	<i>n</i>	HBV-DNA 阳性率 (<i>n</i> , %)	HBV-DNA 含量 ($\bar{x} \pm s$, 拷贝/毫升)
HBcAb	47	0(0.00)	—
HBsAg+HBeAg+HBcAb	271	268(98.89)	$(5.57 \times 10^6) \pm (2.37 \times 10^5)$
HBsAg+HBeAg	26	24(92.31) ^a	$(3.73 \times 10^6) \pm (1.53 \times 10^5)^e$
HBsAb+HBeAb	18	0(0.00)	—
HBsAg+HBeAb+HBcAb	347	122(35.16) ^{bc}	$(4.14 \times 10^5) \pm (1.54 \times 10^4)^e$
HBeAb+HBcAb	27	0(0.00)	—
HBsAg+HBeAb	130	78(60.00) ^{bd}	$(3.30 \times 10^4) \pm (1.75 \times 10^3)^e$
HBsAb+HBeAb+HBcAb	34	3(8.82) ^{bc}	$(4.71 \times 10^3) \pm (1.36 \times 10^2)^e$

注:与 HBsAg+HBeAg+HBcAb 模式 HBV-DNA 阳性率比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.001$;与 HBsAg+HBeAg 模式 HBV-DNA 阳性率比较,c: $P < 0.001$,d: $P < 0.01$;与 HBsAg+HBeAg+HBcAb 模式 HBV-DNA 含量比较,e: $P < 0.0001$

3 讨论

HBV 感染具有发病率高、传染力强等特征,感染 HBV 后,部分乙型肝炎患者会演变为慢性肝炎,甚至继发肝炎、肝癌等疾病,现已成为全球严重公共卫生问题之一^[6-7]。由此可见,早期诊断 HBV 感染并给予治疗,在延缓病情进展、改善预后等方面意义重大。

目前,本病检测方法多种多样,如 ELISA 法、FQ-PCR 技术定量检测、放射免疫法等,其中 ELISA 法仅能反映 HBV 病毒免疫应答状态,对机体 HBV 感染复制及传染危险性反映不准确,FQ-PCR 作为 HBV-DNA 最直接参考指标,能动态、直接反应 HBV 病毒复制状态及危险性,但 HBV-DNA 定量受核苷类药物及实验条件影响较大,无法真实反映肝细胞内 HBcAg 定量^[8-10]。高娟等^[11]学者主张将 FQ-PCR、ELISA 法联合用于乙型肝炎患者,其研究结果显示,大三阳(HBsAg+HBeAg+HBcAb)组 HBV-DNA 阳性率及表达水平最高,分别为 94.60%、 (6.57 ± 1.51) lg 拷贝/毫升。本研究数据显示,HBsAg+HBeAg+HBcAb 模式阳性为 98.89%,HBsAg+HBeAg 模式阳性率为 92.31%,HBV-DNA 含量为 $[(5.57 \times 10^6) \pm (2.37 \times 10^5)]$ lg 拷贝/毫升,明显高于其他模式,与上述研究具有相似性,该结果说明 HBsAg、HBeAg 同时为阳性时,患者体内 HBV-DNA 复制活跃,且病毒传染性增加。分析原因在于 HBeAg 阳性、HBV-DNA 升高是反映 HBV 复制最敏感指标,一旦血清中 HBeAg 呈阳性表达时,病毒复制活跃,血中 HBV-DNA 升高,且多伴有不同程度肝脏坏死、炎症、转氨酶升高现象^[12-13]。同时本研究中 HBsAg+HBeAb+HBcAb 模式 HBV-DNA 阳性率为 35.16%,HBV-DNA 含量为 $[(4.14 \times 10^5) \pm (1.54 \times 10^4)]$ lg 拷贝/毫升,低于 HBsAg+HBeAg+HBcAb 模式,与陈海雁等^[14]研究结果具有一致性,提示乙型肝炎患者体内 HBeAg 已转阴,但病毒复制尚未停止,仍存在传染性,需采取相对应预防措施。同时 HBsAb+HBeAb、

HBeAb+HBcAb 模式 HBV-DNA 阳性率为 0%,提示 HBeAg、HBsAg 已转阴,HBs 的产生提示患者体内 HBV 病毒已完全清除^[15]。

综上所述,不同 HBV-M 模式的 HBV-DNA 阳性率及表达水平存在差异,故联合 HBV-M 定性与 HBV-DNA 定量检测对乙型肝炎临床诊治意义重大,值得临床推广及应用。

参考文献:

- [1] 黄小青,杨春. IFN- γ 与乙型肝炎病毒感染相关性的研究进展[J]. 右江民族医学院学报,2018,40(6):603-606.
- [2] 窦蕾. 母体注射乙型肝炎免疫球蛋白对乙型肝炎病毒宫内感染的影响及新生儿血清乙型肝炎病毒标志物的动态变化分析[J]. 中国妇幼保健,2017,32(16):3823-3825.
- [3] 张占卿,陆伟,丁芙蓉,等. 血清 HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA 预测慢性乙型肝炎肝组织病理状态的性能评价[J]. 肝脏,2016,21(10):810-818.
- [4] Pan XB, Wei L, Han JC, et al. Cellular chromosome DNA interferes with fluorescence quantitative real-time PCR detection of HBV DNA in culture medium[J]. J Med Virol, 2008,80(1):47-52.
- [5] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎诊断标准(2015年版)[J]. 中西医结合肝病杂志,2015,25(6):384-附II.
- [6] 庄权权,林志航,蒋燕成,等. 慢性乙型肝炎病毒感染患者血清免疫调节因子检测的临床意义[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(1):1-3.
- [7] 苏晓明,黄雪珍. 乙型肝炎患者 HBV-M、HBV-DNA 检测及其与患者肝功能指标的关系[J]. 医学临床研究,2018,35(4):740-742.
- [8] 张辉,吴冬生,方敏,等. 荧光定量 PCR 法与酶联免疫吸附法在乙型肝炎病毒检测中的应用[J]. 解放军预防医学杂志,2017,35(11):1459-1461.
- [9] 何维娜,吕东月,刘和录,等. 乙型肝炎病毒 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 方法的建立及临床应用[J]. 现代检验医学杂志,2016,31(3):98-101.

(下转第 277 页)

- 212.
- [2] 郭妮. 抗氧化应激在糖尿病周围神经病变治疗中的作用研究[J]. 右江民族医学院学报, 2013, 35(5): 678-680.
- [3] 戚艳艳. 神经电生理指标与糖尿病周围神经病变病情分级的相关性分析[J]. 河北医科大学学报, 2019, 40(2): 161-164, 168.
- [4] 中国医师协会内分泌代谢科医师分会. 糖尿病周围神经病变诊疗规范(征求意见稿)[J]. 中国糖尿病杂志, 2009, 17(8): 638-640.
- [5] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会肌肉病学组, 中华医学会神经病学分会肌电图与临床神经生理学组. 肌电图规范化检测与临床应用共识修订版[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(11): 950-964.
- [6] 孙庆权, 赵蒙, 殷宏宇, 等. 比较分析 F 波检测在糖尿病周围神经病变电生理检查中的价值[J]. 中国医师进修杂志, 2017, 40(12): 1095-1099.
- [7] 邹伟伟, 刘鉴, 王根保, 等. 舒芬太尼对糖尿病周围神经病变术后镇痛效应的影响[J]. 右江民族医学院学报, 2015, 37(3): 380-383.
- [8] 尹毅霞, 李凤玲, 王民登, 等. 氯化麦角碱治疗糖尿病周围神经病变效果观察[J]. 右江民族医学院学报, 2001, 23(4): 530-531.
- [9] 汪仁斌, 杨兆军, 孙少杰, 等. F 波和 H 反射对糖尿病近端神经病的诊断作用[J]. 中日友好医院学报, 2013, 27(3): 135-137.
- [10] 尚媛媛, 陈香葵. 糖尿病性周围神经病患者的神经电生理分析[J]. 癫痫与神经电生理学杂志, 2018, 27(6): 346-348.
- [11] Wiessman MP, Liberty IF, Segev RW, et al. Clinical characteristics and survival of patients with diabetes mellitus following non-traumatic lower extremity amputation[J]. Isr Med Assoc J, 2015, 17(3): 145-149.
- [12] Erbas O, Oltulu F, Yilmaz M, et al. Neuroprotective effects of chronic administration of levetiracetam in a rat model of diabetic neuropathy[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2016, 114: 106-116.
- [13] Morales-Vidal S, Morgan C, McCoyd M, et al. Diabetic peripheral neuropathy and the management of diabetic peripheral neuropathic pain[J]. Postgrad Med, 2012, 124(4): 145-153.
- [14] Deshmukh V, Deshmukh C. Achieving good glycaemic control effective use of self monitoring of blood glucose (SMBG) [J]. J Indian Med Assoc, 2012, 110(3): 161-163.
- [15] 张继泽, 潘颖华, 代淑华, 等. 神经电生理检查在糖尿病周围神经病变中的应用[J]. 黑龙江医药科学, 2018, 41(3): 118, 120.
- [16] 宋建敏, 许瑾瑾, 丁玲, 等. 神经传导检测对早期诊断 1 型糖尿病儿童周围神经病变的敏感性[J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(11): 718-723.
- [17] 王玉珍, 许樟荣. 震动感觉阈值检查在糖尿病神经病变诊断中的应用[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2007, 27(1): 47-49.

收稿日期: 2019-03-21; 修回日期: 2019-04-11

(上接第 274 页)

- [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(9): 1723-1726.
- [11] 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(9): 29-31.
- [12] 傅维佳, 李成忠. 核苷(酸)类药物长期治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者血清 HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA 动态变化及应答相关性[J]. 肝脏, 2018, 23(2): 114-117.
- [13] 梁玉全, 周远青, 梁瑞莲, 等. 慢性乙型肝炎患者血清 HBVM 定性与 HBeAg 及 HBVDNA 定量检测的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(13): 1944-1945.
- [14] 陈海雁, 张桂花, 罗锦彬, 等. 荧光定量 PCR 法检测乙型肝炎病毒 DNA 和乙肝病毒标志物检测的临床价值分析[J]. 实用临床医药杂志, 2014, 18(19): 108-110.
- [15] 熊辉, 孙彦, 杨梅. 乙型肝炎“大三阳”与“小三阳”患者血清中 HBV-DNA 定量、肝功能检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(1): 123-125.

收稿日期: 2019-03-07; 修回日期: 2019-04-28