

### 3 种检测乙型肝炎病毒方法的比较及临床应用

祁金友,樊 卫,陈 平,施成东(江苏省淮安市楚州医院检验科 223200)

**【摘要】 目的** 探讨 3 种检测乙型肝炎病毒(HBV)方法的比较和临床应用。**方法** 采用微粒子酶免疫分析(MEIA)法和酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测血清 HBV 标志物,实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)法检测 HBV-DNA。**结果** MEIA 法与 ELISA 法检测 HBV 血清学结果的符合率较高,经  $\chi^2$  检验,两种测定方法所得结果差异无统计学意义( $P>0.05$ );I 组的 HBV-DNA 阳性率显著高于其他组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** MEIA 法联合 FQ-PCR 法或者 ELISA 法联合 FQ-PCR 法应用,为临床提供 HBV 感染、复制及传染性的判断,对于疗效的分析具有重要价值。

**【关键词】** 微粒子酶免疫分析; 酶联免疫吸附试验; 实时荧光定量聚合酶链反应; 乙型肝炎  
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.20.027 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)20-2487-01

Evaluation of three methods for testing hepatitis B virus and their clinical applications QI Jin-you, FAN Wei, CHEN Ping, SHI Cheng-dong (Department of Clinical Laboratory, Chuzhou Hospital of Huaian City, Jiangsu 223200, China)

**【Abstract】 Objective** To evaluate the three methods for testing hepatitis B virus and their clinical application. **Methods** We detected the immunity markers of HBV-M(HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb) with MEIA and ELISA, and DNA content of HBV with FQ-PCR in order to do contrast analysis. **Results** Compared with paired  $\chi^2$  test, there was no significant statistical difference between the two results by MEIA and ELISA ( $P>0.05$ ). The positive rate of the group(HBsAg, HBeAg, HBcAb) was the highest, significantly higher than the other groups( $P<0.05$ ), and the content of virus was the most. **Conclusion** Combined detection of HBV-M by MEIA or ELISA and HBV-DNA can help doctors to determine the infection and reproduction of HBV, and it can offer a credible proof to evaluate therapy effect of antiviral therapy.

**【Key words】** microparticle enzyme immunoassay; enzyme-linked immunosorbent assay; real-time fluorescent quantitative PCR; hepatitis B virus

血清乙型肝炎病毒(HBV)标志物与 HBV-DNA 检测是目前临床分析和判断乙型肝炎患者病情、传染性和疗效分析的主要依据之一<sup>[1]</sup>。本院应用微粒子酶免疫分析(MEIA)法定量检测血清 HBV 标志物和酶联免疫吸附试验(ELISA)法定性检测血清 HBV 标志物,荧光定量聚合酶链反应法(FQ-PCR)定量检测血清中的 HBV-DNA,本文就这 3 种检测 HBV 的方法进行比较评价,同时探讨它们的临床意义。

#### 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 2009 年 7 月至 2010 年 12 月到本院就诊、同时进行 MEIA 法、ELISA 法和 FQ-PCR 法检测 HBV 的 782 例慢性乙型肝炎患者。

**1.2 仪器** AXSYM 全自动酶免分析仪(美国雅培公司);RT-2100 酶标仪(丹麦雷杜);ABI Prism 7000(美国 ABI 公司)。

**1.3 方法与试剂** MEIA 法采用 AXSYM 配套试剂;ELISA 法采用万泰生物药业股份有限公司生产的试剂盒;FQ-PCR 方法采用中山大学达安基因股份有限公司生产的 HBV-DNA 试剂盒。

**1.4 统计学方法** 率的比较采用配对资料  $\chi^2$  检验,所有数据经 SPSS13.0 软件处理。

#### 2 结 果

**2.1** I 组:HBsAg、HBeAg、抗-HBc 均阳性(大三阳);II 组:HBsAg、抗-HBe、抗-HBc 均阳性(小三阳);III 组:抗-HBs、抗-HBe、抗-HBc 阳性;IV 组:HBsAg、抗-HBc 阳性;V 组:抗-HBs 阳性。以 MEIA 法为基准,比较 3 种方法的符合率,782 例标本具体检测阳性结果如表 1。

**2.2** ELISA 法与 MEIA 法阳性率比较 经配对资料  $\chi^2$  检验,两种测定方法所得结果差异无统计学意义( $P>0.05$ );同时检测结果显示,MEIA 法检测 HBV 5 项血清学标志物的灵

敏度均高于 ELISA 法,提示对弱阳性和高浓度 HBsAg 标本,MEIA 法检出率高于 ELISA 法。MEIA 法检测较 ELISA 法检测更敏感,可减少低浓度 HBsAg、HBeAg 感染患者的漏诊<sup>[2]</sup>。

表 1 3 种方法的符合率比较

| 组别  | MEIA 法<br>阳性例数 | ELISA 法<br>阳性例数 | FQ-PCR 法<br>阳性例数 | ELISA<br>阳性率(%) | HBV-DNA<br>阳性率(%) | HBV-DNA<br>对数均值 |
|-----|----------------|-----------------|------------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| I   | 280            | 254             | 267              | 90.7            | 95.4              | 7.32            |
| II  | 452            | 397             | 153              | 87.8            | 33.8              | 4.75            |
| III | 13             | 11              | 3                | 84.6            | 23.1              | 3.58            |
| IV  | 32             | 29              | 18               | 90.6            | 56.2              | 4.64            |
| V   | 5              | 4               | 0                | 80.0            | —                 | —               |

注:—表示无数据。

**2.3** 从表 1 得知,782 例标本中,I 组的 HBV-DNA 阳性率显著高于其他组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。HBeAg 可作为 HBV 复制及具有强传染性的一个指标<sup>[3]</sup>。

#### 3 讨 论

**3.1** 目前临床常用的 ELISA 法检测 HBV 是临床诊断 HBV 感染的依据,检测结果只能定性而不能定量,MEIA 法能够定量,并且敏感度比 ELISA 法高,但是这两种方法检测的都是人体对 HBV 的免疫反应状态,因此无法完成对 HBV 感染的动态观察,局限了它们的应用;HBV-DNA 能够监测病毒载量、是抗病毒疗效分析的直接监测指标;如果 MEIA 法联合 FQ-PCR 法或者 ELISA 法联合 FQ-PCR 法应用,为临床提供 HBV 感染、复制及传染性的判断,对于疗效的分析具有重要的价值。

**3.2** I 组患者具有很强的病毒复制,传染性也最强;II 组结果病毒复制水平较 I 组弱,但 HBeAg 转阴并不意味病毒复制停止,只是复制较弱;III 组提示可能是乙肝出现抗-HBs 后,血清中仍有 DNA 复制;IV 组 HBeAg 阴性,既往(下转第 2489 页)

AMB 和 5-FC 耐药率很低,分别为 0.4%和 2.5%,而对 FCA 和 ITR 的耐药率较高,分别为 22.8%和 21.7%,见表 1。

### 3 讨 论

真菌为健康人口腔的常寄菌,由于广谱抗生素、免疫抑制剂的大量使用和各种介入性治疗等的不断开展,近年真菌感染在临床呈上升趋势。以前在我国分离得到的真菌才几种,而目前真菌已超过 30 种,作者鉴定就达 16 种之多。第 3 代头孢菌素、亚胺培南等的广泛使用,敏感菌株被杀死或抑制,真菌得以生长繁殖,最终导致菌群失调,引起二重感染<sup>[1]</sup>。临床应针对适应证,减少不必要的预防性用药。在作者分析的资料中年龄大于 65 岁者占到 91.5%,显示老年人更容易受到真菌的侵袭,可能与老年人机体各方面机能免疫力下降,外加一种及以上严重的基础病(如慢性阻塞性肺疾病、冠心病、糖尿病等)有关。临床上常以白假丝酵母菌和热带假丝酵母菌感染多见,部位多以下呼吸道为主。可能与这两种菌的黏附功能有关,真菌的黏附是其定居和侵袭组织的先决条件,有学者报道,黏附于黏膜上皮细胞的白假丝酵母菌的牙管形成既快又多<sup>[2]</sup>。机体对真菌孢子出芽后的吞噬率和杀灭率均大为下降,加上白假丝酵母菌细胞壁上的甘露多糖及其分解产物可明显抑制细胞免疫功能,极易引起二重感染<sup>[3]</sup>。此外还与呼吸系统的解剖特点有关,呼吸道黏膜的温度和酸碱度均适合它们的生长<sup>[4]</sup>。

从药敏试验可见,该院分离的菌株对 AMB 和 5-FC 的敏感率较高,对 FCA 和 ITR 产生了一定的耐药性。AMB 是治疗深部真菌的首选药物,但因其不良反应而受限制。发现 5-FC 的临床治疗效果不佳,与有关报道一致,可能与其诱导耐药作用有关<sup>[5]</sup>。5-FC 和 FCA 的不良反较轻,对多种深部真菌感染抑菌作用明显,尤其是 FCA,通过有效抑制真菌麦角固醇的合成,使细胞膜的通透性改变而达到杀菌作用,具有抗广谱、高疗效、不良反应小等优点,是治疗真菌感染的较理想药物,但此次分析发现酵母样菌对唑类药物有交叉耐药现象,与有关报道一致<sup>[6]</sup>。对唑类药物产生耐药的机制主要是:(1)细胞膜对唑类药物通透性改变,细胞摄取和蓄积的药物量降低;(2)药物作用的靶酶 C-14 去甲基化酶(14DM)产生过多;(3)靶酶对药物的亲和力降低。为防止和延缓耐药的产生,有学者指出:(1)短期大剂量用药以尽快有效地杀灭真菌,降低耐药突变的发生率;(2)对于唑类耐药的菌株,除加大剂量外,适时换用其他药物也是非常必要的<sup>[7]</sup>。而对于毛霉菌、曲霉菌,临床微生物室

目前尚无有效的方法来直接检测其药敏结果,只能凭以往经验推荐抗真菌药物。

该院近年来的真菌感染率比 2002 年以前高出了 1~2 倍,这可能与临床广泛使用抗生素、免疫抑制剂、激素药物等有关。真菌的耐药性正趋于上升,且在治疗上较困难,因为真菌感染患者通常已有一种及以上严重基础疾病,且病死率较高。抗真菌的药物可选择范围不大,滥用抗真菌药物会引起真菌感染类型的变迁和导致对抗真菌药物的耐药性增强<sup>[8]</sup>。因此临床微生物室必须做好真菌的分离培养及药敏试验,提高真菌的检测手段,重视真菌的耐药监测。临床医生除积极控制原发病,达到早期诊断及及时治疗外,还要加强患者自身防护并积极进行病原学检查。根据临床实验室的体外药敏试验结果,合理应用抗真菌药物,提高临床抗真菌治疗水平。

### 参考文献

- [1] 杨岚,彭道荣.血液病深部真菌感染的临床分析[J].中华医院感染杂志,2000,3(10):182-183.
- [2] Lyman CA, Navarro E, Garrett KF, et al. Adherence of *Candida albicans* to bladder mucosa; development and application of a tissue explant assay [J]. *Mycoses*, 1999, 42 (4): 255-258.
- [3] 郭颖,张晓兵,王威,等.呼吸科患者真菌感染分离鉴定及药敏试验分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15 (14): 464-466.
- [4] 藤维恒,狄惠芝.深部真菌感染研究进展 [J]. 中华医院感染学杂志, 1999, 9(1): 62-64.
- [5] 刘永碧,马厚勋,曾凡荣,等.深部真菌感染 280 例临床分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 1998, 8 (1): 31.
- [6] 齐伟,吴志恒,张明华,等.临床分离 172 株真菌的分布与耐药性分析 [J]. 武警医院学报, 2007, 5(3): 274-278.
- [7] Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA, et al. Resistance of *Candida* species to fluconazole [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 3(9): 1-8.
- [8] 解晓珍,席道友,张中奎. 225 例真菌感染及耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2003, 13 (4): 380-381.

(收稿日期:2011-05-07)

(上接第 2487 页)

认为血清 HBeAg 转阴之后,从免疫学角度看处于好转状态,本实验 HBeAg 阴性组中 HBV-DNA 阳性率仍达 56.2%,说明病毒复制较为活跃,这可能与病毒前 C 区变异有关,最常见的为 G1896A 突变。这些突变不仅会影响 HBeAg 的表达,导致 HBeAg 阴性,甚至有利于 HBV 的复制<sup>[4]</sup>。乙肝两对半测定无法准确判断,因此必须进行 HBV-DNA 测定来确认病毒复制程度<sup>[5]</sup>。V 组无 HBV-DNA 阳性例数,说明抗-HBs 可清除血清中 HBV,为保护性抗体,HBsAg、HBeAg 转阴和抗-HBs 的出现可作为机体清除乙肝病毒的标志<sup>[6]</sup>。

**3.3** 作者在日常工作中也观察到一个现象,慢性乙型肝炎患者一般同时都进行肝功能检测,用以评价肝功能是否受到损害;肝功能严重受损患者检测的 HBV-DNA 量反而比肝功能受损轻的患者要低,这与董海峰等<sup>[7]</sup>所作调查结果一致。因此,建议慢性乙型肝炎患者同时应该做肝功能检测,便于医生更好地全面掌握病情,做更全面的治疗。

### 参考文献

- [1] 王慧玲. HBV 标志物与 HBV-DNA 检测结果的实验室对

照分析[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(1): 29-30.

- [2] 吴艾霖,龚国民. 时间分辨荧光免疫分析定量检测乙型肝炎病毒五项指标的临床评价[J]. 西南军医, 2010, 12(2): 293-294.
- [3] 秦雯,董慧珠. 乙型肝炎两对半和 HBV DNA 定量检测的临床应用[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(22): 1353-1355.
- [4] 侯远沛,刘成永,高玉金. 乙型肝炎病毒前 C 区和 BCP 区突变及基因型对 HBeAg 表达的影响[J]. 临床肝胆病杂志, 2007, 23(4): 251-253.
- [5] 段穗萍. 乙肝病毒 HBeAg 浓度含量与 HBV-DNA 水平的临床关系[J]. 医学检验与临床, 2006, 17(1): 41-42.
- [6] 蔡惠兴,吴英,梁鹏. 乙肝血清标志物与 HBV-DNA 定量检测结果分析[J]. 国际医药卫生导报, 2010, 16(2): 218-219.
- [7] 董海峰,李金凤,张宪山. 乙型肝炎病毒 DNA 定量检测与临床的关系[J]. 中国医疗前沿, 2010, 5(1): 29.

(收稿日期:2011-05-13)