

HBV-DNA 检测在乙型肝炎诊断中的价值分析

罗 澜(湖北省荆州市公安县人民医院检验科 434300)

【摘要】 目的 分析乙型肝炎病毒(HBV)-DNA 检测在乙型肝炎诊断中的价值。**方法** 选取 2012 年 2 月至 2013 年 2 月收治的门诊及住院患者 684 例,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 HBV 血清标记物,根据检测结果将所有患者分为 I、II、III、IV、V 组,并采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测 HBV-DNA,比较各组 HBV-DNA 阳性检出率及水平。**结果** I 组(“大三阳”组)患者 HBV-DNA 阳性检出率达 100.0%,平均水平为 5.10×10^7 copy/mL,较其他各组明显增高,差异有统计学意义($P < 0.05$);V 组(乙肝两对半“全阴”组)患者 HBV-DNA 阳性检出率为 0.0%,平均水平为 1.11×10^2 copy/mL。**结论** 单独采用 ELISA 定性检测 HBV 血清标志物对乙型肝炎的诊断具有一定的局限性,辅以 HBV-DNA 的实时荧光定量 PCR 检测可提高早期诊断的准确率及灵敏度。

【关键词】 乙型肝炎; 血清标志物; HBV-DNA; 定量检测
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.06.045 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)06-0827-01

乙型肝炎是全球最常见的慢性传染性疾病之一,我国慢性乙型肝炎的发病率位居世界首位^[1]。据统计,每年因乙型肝炎及其相关性疾病,如乙型肝炎所致肝衰竭等死亡的人数高达 25 万,给社会及患者家庭带来了严重的威胁^[2]。乙型肝炎属于病毒性感染疾病,根治极为困难,因此临床早期诊断显得尤为重要。目前,临床对乙型肝炎的检查主要通过乙型肝炎病毒(HBV)5 项血清标志物的定性检测及 HBV-DNA 的定量检测。本研究通过分析 HBV-DNA 检测在诊断乙型肝炎中的价值及其与 HBV 血清标志物的相关性,为临床诊断乙型肝炎提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 2 月至 2013 年 2 月在本院就诊的 684 例门诊及住院患者为研究对象,其中男 432 例,女 252 例;年龄 1~87 岁,平均 (33.7 ± 1.1) 岁;病程 3 d 至 6 年,平均为 (1.5 ± 0.1) 年。所有患者均晨起抽取空腹静脉血 6 mL,均分为 2 管,分别进行 HBV 血清标志物及 HBV-DNA 检测。

1.2 方法

1.2.1 检测方法及仪器设备 (1)HBV 血清标志物的检测:乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、乙型肝炎表面抗体(抗-HBs)、乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)、乙型肝炎 e 抗体(抗-HBe)和乙型肝炎核心抗体(抗-HBc)的检测采用中山生物公司提供的酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒。(2)HBV-DNA 检测:采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR),从血清中提取 HBV-DNA 加入反应管,放入扩增仪进行扩增,反应结束后由电脑自动分析结果;仪器采用美国 MJ 公司生产的 Option DNA Engine 型 PCR 扩增仪及上海科华生物技术有限公司提供的荧光定量 HBV-DNA 试剂盒。所有操作过程均严格按照试剂盒要求及防污染措施进行。

1.2.2 分组及指标阳性值界定 按照 HBV 血清标志物的 ELISA 检测结果将所有患者分成 5 组,I 组(“大三阳”组)为 HBsAg、HBeAg、抗-HBc 阳性,II 组(“小三阳”组)为 HBsAg、抗-HBe、抗-HBc 阳性,III 组为抗-HBs、抗-HBe、抗-HBc 阳性,IV 组为 HBsAg、抗-HBc 阳性;V 组为抗-HBs 阳性。未提及者即为阴性。HBV-DNA ≤ 500 copy/mL 为阴性, > 500 copy/mL 为阳性。并根据 HBV-DNA 检测结果分为 4 个水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据处理与统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HBV 血清标志物 ELISA 检测结果 II 组患者例数最

多,所占百分率达 44.0%(301/684),其次为 I 组,占 30.8%(211/684),均明显高于 III 组(12.6%)、IV 组(10.8%)、V 组(1.8%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 HBV-DNA 实时荧光定量 PCR 检测结果 I 组患者 HBV-DNA 阳性检出率达 100.0%,HBV-DNA 水平较其他各组明显增高,比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 HBV-DNA 实时荧光定量 PCR 检测结果

组别	<i>n</i>	HBV-DNA 定量(copy/mL)				平均值 (copy/mL)	阳性率 [<i>n</i> (%)]
		≤ 500	$> 500 \sim 10^4$	$> 10^4 \sim 10^6$	$> 10^6$		
I 组	211	0	41	62	108	5.10×10^7	211(100.0)
II 组	301	176	95	16	14	9.21×10^4	125(41.4)
III 组	86	78	7	1	0	1.42×10^4	8(9.1)
IV 组	74	46	26	2	0	8.38×10^4	28(38.5)
V 组	12	12	0	0	0	1.11×10^2	0(0.0)

3 讨 论

由于肝炎病毒的入侵,急性慢性肝炎患者的肝细胞受到严重的损害。我国目前约有 2 亿人口感染 HBV,给社会造成了很大的负担^[3]。HBV 属于一种部分双链 DNA 病毒,所有遗传信息均载于 DNA 片段上,病毒以此复制、增殖。HBV-DNA 为无蛋白质包裹的裸露 DNA,具有感染性,可单独完成对宿主的侵袭,使宿主体内出现完整的 HBV 颗粒^[4]。由于 HBV 感染早期的临床表现不典型,大量乙型肝炎患者就诊时已出现并发病,这给乙型肝炎的临床治疗带来了很大的困难,极大地影响患者预后^[5]。因此,早期诊断与预防乙型肝炎至关重要。

HBV-DNA 检测的主要目的是判断患者的病毒复制量,反映疾病的传染性,尤其在判断乙型肝炎的转归及用药前后的疗效等方面有重要的参考价值,同时也是重要的抗病毒治疗用药指征之一^[6]。本研究采用实时荧光定量 PCR 对 HBV-DNA 进行检测,可以准确地为乙型肝炎的诊断提供依据。实时荧光定量 PCR 是临床基因诊断的有力手段,该方法现已采取闭管方式进行扩增和检测,克服了以往普通 PCR 的污染问题,进一步增加了检测的可信度^[7]。此外,荧光探针加强了 PCR 检测的特异性,使其能直接定量检测 HBV 水平,准确地反映 HBV 的感染、复制及治疗情况^[8]。并且,该方法的实际操作过程可设阳性梯度,定量范围极广。而 ELISA 作为临床诊断 HBV 感染的传统方法,与实时荧光定量 PCR 相比,该方法是一种检测病毒感染间接手段,反映了人体对 HBV 的免疫反应状态^[9]。

(下转第 829 页)

物治疗,许多患者出现严重的尿道不适反应^[7]。为了解 NGU 患者长期服用抗菌药物后是否会引起体内菌群产生真菌的二次感染,本研究对接受治疗的男性 NGU 患者的临床检测结果进行了分析和观察。研究发现 298 例标本中检测出真菌 35 株,检出率为 11.74%。其中,白色念珠菌最多,共 13 株(37.14%);其次为热带念珠菌和光滑念珠菌,分别为 11 株(31.43%)、5 株(14.29%);近平滑念珠菌、克柔念珠菌及季也蒙念珠菌相对较少,分别为 2 株(5.71%)、1 株(2.86%)、1 株(2.86%);其他真菌共 2 株,占 5.71%,与相关文献报道一致。有学者认为,这种分布情况可能与尿液成分及其 pH 值有关^[8]。多因素分析发现,抗菌药物的使用时间、种类、剂量和病程是导致真菌感染的主要因素^[9]。这可能与疾病类型导致的免疫系统抑制有关,长期大量不合理地使用抗菌药物导致机体免疫力下降、菌群失调,造成机体更加容易感染。因此对于长期使用抗菌药物的患者,在使用抗菌药物前需谨慎,通过药敏试验合理地选择抗菌药物的种类,严格控制抗菌药物的使用剂量^[10]。若抗菌药物在治疗原有疾病时使用过多,则可能会继发尿道的真菌感染,增加临床治疗的难度。

本研究药敏试验发现,白色念珠菌及热带念珠菌对唑类抗真菌药物的敏感性较好,白色念珠菌对氟康唑、酮康唑及伊曲康唑的耐药率均为 7.69%;热带念珠菌对上述抗菌药物的耐药率均为 9.09%;光滑念珠菌和其他念珠菌对唑类药物的敏感性相对较低,对氟康唑的耐药率分别为 60.00%和 33.33%。上述所有真菌均对制霉菌素和两性霉素 B 敏感,耐药率均为 0.00%。这提示在临床治疗过程中需要严格选择合适的抗菌药物,避免滥用造成更高的耐药率^[11]。

综上所述,白色念珠菌和热带念珠菌是男性 NGU 真菌感染的常见病原菌,抗菌药物的不合理使用是造成感染的主要原因,因此需根据药敏试验结果合理地使用抗菌药物。

参考文献

[1] 易富,梁凯,何宇佳,等. 2009~2011 年医院真菌感染分布

(上接第 827 页)

本研究 684 例患者血清均经 ELISA 检测乙型肝炎两对半,结果显示“小三阳”患者所占百分率最高(44.0%),其次为“大三阳”患者(30.8%),均明显高于其他各组,比较差异有统计学意义($P<0.05$)。说明目前乙型肝炎的患病率高,但早期检出率低。对所有患者行 HBV-DNA 的实时荧光定量 PCR 检测,“大三阳”患者 HBV-DNA 阳性检出率达 100.0%,平均水平为 5.10×10^7 copy/mL,较其他各组明显增高,比较差异有统计学意义($P<0.05$)。而在乙型肝炎两对半全阴的 V 组,HBV-DNA 定量检测平均水平为 1.11×10^2 copy/mL,阳性率为 0.0%。HBV-DNA 的定量检测可以作为 ELISA 的补充,充分反映 HBV 在体内的感染与复制状况;并且,在临床干预后检测 HBV-DNA 水平还可以判断疗效,为进一步指导临床治疗提供依据^[10]。

综上所述,单纯的 ELISA 定性检测乙型肝炎血清标志物对乙型肝炎的诊断具有一定的局限性,辅以 HBV-DNA 的定量检测能提高乙型肝炎早期诊断的准确率及灵敏度。

参考文献

[1] Martinot-Peignoux M, Lapalus M, Laouénan C, et al. Prediction of disease reactivation in asymptomatic hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B patients using baseline serum measurements of HBsAg and HBV-DNA[J]. J Clin Virol, 2013, 58(2): 401-407.

与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(2): 352.

[2] 何静,刘素琴. 47 例男性非淋菌性尿道炎的真菌学检验结果分析[J]. 贵州医药, 2004, 28(9): 782.

[3] 马全福,陈文军,白道涵,等. 130 例性传播疾病性尿道炎的诊断与治疗[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(2): 299-301.

[4] 史莉,孙光成,李萍. 综合重症监护病房真菌感染的危险因素调查[J]. 西部医学, 2011, 23(1): 176-177.

[5] 覃吉高. 洛美沙星联合克拉霉素治疗顽固性支原体性非淋菌性尿道炎 52 例疗效观察[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2011, 14(4): 547-548.

[6] 叶宁,黄巍,夏炳杰. 尿类酵母菌测定和镜检对尿路真菌感染的诊断准确性研究[J]. 中国全科医学, 2014, 17(3): 334-336.

[7] 郑克茂. 非淋菌性尿道炎病原体的临床特点分析[J]. 中国医药指南, 2014, 5(10): 437-439.

[8] 林秀娟,阮建锋,林红燕. ICU 目标性监测在医院获得性真菌尿路感染的应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(2): 278-280.

[9] 张文,汪平帮,邓红丽. 420 例院内真菌感染情况及药敏分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(3): 282-283.

[10] 葛如荣,冯翔. 1795 例非淋菌性尿道炎病原体及药敏分析[J]. 浙江预防医学, 2014, 6(16): 67-70.

[11] 张雯雁,叶杨芹,沈李花,等. 6573 例非淋菌性尿道炎患者支原体感染及药敏情况分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(8): 1268-1270.

(收稿日期:2014-07-30 修回日期:2014-11-17)

[2] 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.

[3] 梁森,张顺祥,胡东生,等. 乙型病毒性肝炎病人经济负担研究进展[J]. 中国公共卫生, 2011, 27(10): 1227-1229.

[4] 张敏洁,陈维顺. HBV 感染与宿主基因及病毒 DNA 甲基化[J]. 医学综述, 2012, 18(19): 3181-3183.

[5] 段正军,徐杰,田鹏飞. 时间分辨荧光免疫法测定乙型肝炎病毒标志物[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(11): 1057-1058.

[6] 吴云忠,赵凤林,张春泽,等. 慢性重型乙型肝炎转归相关因素及抗病毒治疗研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2007, 21(2): 120-122.

[7] 蒋栋能. 乙肝病毒标志物定量检测与乙肝患者肝损伤的相关性分析[J]. 重庆医学, 2006, 35(18): 1641-1642.

[8] 罗慧琴,王志刚,李玲,等. 乙肝患者血清标志物与前 S1 抗原及 HBV-DNA 相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(24): 3337-3338.

[9] 李金明. 聚合酶链反应临床应用的优越性和局限性[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(3): 225-227.

[10] 靳礼松. 乙型肝炎病毒 DNA 与“乙肝两对半”模式关系的临床研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(21): 2837-2839.

(收稿日期:2014-07-27 修回日期:2014-11-22)