

途径^[3]。

本研究对数种常见病原性细菌的药敏试验结果进行了分析。结果显示,埃希菌属、克雷伯菌属及其它肠杆菌属对亚胺培南的敏感率均达 100.0%,可能与亚胺培南具有以下特点有关:能够结合革兰阴性菌的青霉素结合蛋白 1(penicillin-binding protein,PBP1)和 PBP2,引起细菌细胞的肿胀更利于溶解;对革兰阴性菌的外膜有良好的穿透作用,对几乎所有的由质粒染色体介导的 β -内酰胺酶稳定^[4]。亚胺培南具有抗菌活性强和作用速度快的特点,但易导致二重感染。随着亚胺培南的广泛应用,出现耐亚胺培南的危险性是存在的,故不能将其作为首选药物。肠球菌对同属糖肽类抗菌剂的替考拉宁和万古霉素的敏感率相对高^[6]。糖肽类抗菌剂能与一个或多个肽聚糖合成的中间产物 D-丙氨酰-D 丙氨酰末端形成复合物,从而阻断肽聚糖合成中的转糖基、转肽基酶及 D-D 羧肽酶的作用,从而阻止了细胞壁的合成。虽然糖肽类抗菌剂抗菌作用强,但具有肾毒性,因此应避免将其作为首选用药^[7]。由于肠球菌可发生基因突变,引起获得性耐药及天然耐药,所以临床实验室应及时检测耐药菌株,以指导临床医生有效使用抗菌剂。本研究中假单胞菌属所占比例较低,但由于该菌为临床常见条件致病菌,对多种抗菌剂耐药,且在治疗过程中易通过染色特突变发生耐药,所以也应给予一定的重视。

致病菌不仅可通过在尿道和膀胱黏膜定植和引起炎症反应而导致尿路感染,还可发生逆行性感染,引起肾盂肾炎、前列腺炎^[8-9]、精囊炎等,也可进入血液循环引起菌血症。因此提高检测技术和完善检验设备,尽快获得并向临床医生反馈细菌鉴

• 检验技术与方法 •

酶联免疫吸附法检测乙型肝炎病毒外膜大蛋白的临床意义

柳 黎

(江苏省苏州市木渎人民医院检验科 215101)

摘 要:目的 探讨酶联免疫吸附法(ELISA)检测乙型肝炎病毒(HBV)外膜大蛋白(HBV-LP)的临床意义。方法 随机选择 132 例乙型肝炎患者血清标本,采用荧光定量聚合酶链反应检测 HBV DNA 含量,采用 ELISA 检测 HBV-LP 和 HBV 血清免疫学标志物(HBV-M)模式。结果 HBV-LP 与 HBV DNA 的阳性率在相同 HBV-M 模式血清标本间的差异无统计学意义($P>0.05$),在不同 HBV-M 模式血清标本间差异有统计学意义($P<0.05$);ELISA 检测血清 HBV-LP 光密度值与血清 HBV DNA 含量呈正相关($r=0.89, P<0.05$);不同 HBV DNA 含量标本间,HBV-LP 阳性率及光密度值差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 ELISA 法检测血清 HBV-LP 光密度值与 HBV DNA 含量具有较好的相关性,血清 HBV-LP 可作为判断 HBV 复制水平的指标。

关键词:肝炎,乙型; 乙肝病毒外膜大蛋白; 乙肝病毒标志物

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.12.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)12-1343-02

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus,HBV)感染在中国为高发性疾病^[1]。HBV 中的 S 基因编码的 HBV 外膜蛋白包括主蛋白、中蛋白和大蛋白。HBV 外膜大蛋白(HBV large envelope protein,HBV-LP)由 HBV 表面抗原(HBV surface antigen,HBsAg)、前 S2(Pre-S2)蛋白和前 S1(Pre-S1)蛋白^[2],而前 S 区(Pre-S)蛋白与 HBV 感染、复制和乙型肝炎(乙肝)发病密切相关^[3-5]。HBV-LP 属构象蛋白,笔者利用具有构象型前 S(Pre-S)区高亲和力和高特异性的单克隆抗体,对 132 例乙肝患者血清标本中的 HBV-LP 进行了检测,相关结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 随机选择本院 2010 年 4~8 月乙肝患者血清标本 132 例,分别采集自 132 例符合《病毒性肝炎防治方案》中

定、药敏试验结果,缩短治疗时间,提供合理的抗菌剂选择方案^[10],避免院内感染和耐药性的发生是微生物检验工作者的任务之所在。

参考文献

- [1] 刘振生,金大鹏,陈增辉.医院感染管理学[M].北京:军事医学科学出版社,1998:485-489.
- [2] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].南京:东南大学出版社,1997:459.
- [3] 张丽华,刘彦绘,赖志刚.尿液细菌培养及药敏结果分析[J].齐鲁医学检验,2005,16(4):39-40.
- [4] 陈泽慧,田应彪.尿路感染患者病原菌分布及耐药性检测[J].贵州医药,2005,4(1):323-325.
- [5] 陈世平.真菌感染学[J].沈阳:辽宁科学技术出版社,2000:84.
- [6] 潘虹霞,蔡波,孙景勇,等.3 年间医院内肠球菌的检出及其耐药监测情况分析[J].检验医学,2009,24(7):541.
- [7] 倪语星,洪秀华.细菌耐药性检测与抗感染治疗[M].北京:人民军医出版社,2002:20.
- [8] 金英,杨元好,胡可存.前列腺三种病原微生物检测结果浅析[J].检验医学,2011,26(4):271-273.
- [9] 周珑,王云,刘敏.237 例尿道炎患者前列腺液病原体检测结果分析[J].中国麻风皮肤病杂志,2009,25(2):139.
- [10] 陶晓勤,张莅,陈峰,等.2005 至 2007 年新华医院细菌耐药监测[J].检验医学,2009,24(10):769-771.

(收稿日期:2011-03-12)

乙肝病原学诊断标准^[6]。

1.2 试剂 荧光定量聚合酶链反应(fluorescent quantitation polymerase chain reaction,FQ-PCR)HBV 核酸检测试剂盒(杭州艾康生物技术有限公司)、酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA)HBV-LP 检测试剂盒(北京热景生物技术公司)和 ELISA HBV 血清标志物(HBV serological marker,HBV-M)检测试剂盒(北京万泰生物药业有限公司),均在有效期内使用。

1.3 方法 上述指标的检测均严格按试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 率的比较采用采用 χ^2 检验,计量资料的比较采用 t 检验,数据间相关系分析采用直线相关分析; $P<0.05$ 时比较差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 标本 HBV-M 模式与 HBV DNA、HBV-LP 检测结果分析 具有相同 HBV-M 模式的标本,其 HBV DNA 与 HBV-LP 阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。HBeAg 阳性标本 HBV DNA 和 HBV-LP 阳性率高于阴性标本,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 不同 HBV-M 模式标本 HBV DNA 与 HBV-LP 检测结果比较[n(%)]

HBV-M 模式	n	HBV-LP	HBV DNA
HBsAg 阳性+HBeAg 阳性+HBcAb 阳性	45	43(95.6)*#	42(93.3)*
HBsAg 阳性+HBeAb 阳性+HBcAb 阳性	41	27(65.9)#	25(61.0)
HBsAg 阳性+HBeAg 阴性	20	19(95.0)*#	19(95.0)*
HBsAg 阳性+HBcAb 阳性	16	7(43.8)#	6(37.5)
HBeAb 阳性+HBcAb 阳性	10	1(10.0)#	1(10.0)

: $P>0.05$,与同一 HBV-M 模式 HBV NDA 阳性率比较;* : $P<0.05$,与其他 HBV-M 模式组相同指标阳性率比较。

2.2 血清 HBV DNA 含量与 ELISA 检测血清 HBV-LP 检测结果分析 血清 HBV DNA 含量与 HBV-LP 检测光密度值呈正相关,两者相关系数为 0.89($P<0.05$)。不同 HBV DNA 含量组间 HBV-LP 检测光密度值和阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$),结果见表 2。

表 2 不同 HBV DNA 含量标本 HBV-LP 检测结果

HBV DNA 含量 (copy/mL)	n	HBV-LP 阳性 [n(%)]	HBV-LP 光密度值 ($\bar{x}\pm s$)*
$>10^7$	28	27(96.4)	1.735 $\pm$ 0.675
$>10^6\sim10^7$	17	16(94.1)	1.298 $\pm$ 0.532
$>10^5\sim10^6$	19	17(89.5)	0.854 $\pm$ 0.409
$>10^4\sim10^5$	20	16(80.0)	0.595 $\pm$ 0.326
$>10^3\sim10^4$	21	13(61.9)	0.436 $\pm$ 0.217
$\leq 10^3$	27	10(37.0)	0.263 $\pm$ 0.120

3 讨 论

嗜肝病毒阳性血清的感染性与血清中具有感染性的病毒颗粒(Dane 氏颗粒)和缺乏核酸的亚病毒颗粒的数量有关,其中亚病毒颗粒可增强 HBV 在细胞内的基因表达和病毒复制能力^[7]。HBV-LP 具有复杂的跨膜构象拓扑结构,可反式激活细胞内 HBV 的复制,其内、外侧结构域可本别结合 HBV 核壳体膜和易感细胞受体,是包装 HBV 成熟颗粒的关键^[8]。在感染早期,HBV-LP 作为配体与易感细胞受体结合,介导细胞摄入病毒颗粒;在感染晚期,HBV-LP 则对病毒颗粒的组装和分泌十分重要^[9]。HBV-LP 与肝细胞损伤、死亡和纤维化病变也密切相关^[10]。因此,HBV-LP 检测对 HBV 感染的诊断、判断病毒复制水平和疾病预后具有重要的临床意义。HBV DNA 定量检测也可用于 HBV 感染的早期诊断和判断患者体内 HBV 复制水平的高低,但对仪器、环境条件等要求较高,难以实现普

及应用。相较而言,HBV-LP 检测更易于推广应用。本研究显示,HBeAg 阳性的标本中,HBV DNA 和 HBV-LP 阳性率较高,而 HBeAg 阴性者两者阳性率都较低,也说明 HBV-LP 可用于判断 HBV 的复制能力和水平。

由表 1 可见,在具有相同 HBV-M 模式的标本中,HBV DNA 和 HBV-LP 的检出率存在一定的差异,HBV-LP 阳性率稍高于 HBV DNA,但差异无统计学意义($P>0.05$),不足以说明 HBV-LP 具有更高的敏感性,有必要通过增加研究对象以进行深入研究;HBeAg 阴性标本中也检出 HBV DNA 和 HBV-LP,提示 HBeAg 阴性乙肝患者体内仍存在 HBV 的复制。由表 2 可见,HBV-LP 浓度和阳性率均随 HBV DNA 拷贝数的增加而增加,提示 HBV-LP 与 HBV DNA 在反应 HBV 复制情况方面具有良好的一致性。

综上所述,HBV-LP 能够反映 HBV 的复制情况,血清 HBV-LP 浓度与 HBV DNA 拷贝数具有一定的相关性。HBV-LP 检测能够弥补常规“两对半”检测的不足,也是 HBV DNA 检测的有益补充。检测 HBV-LP 对于判断 HBV 感染的预后及抗病毒治疗的疗效均有较为重要的意义。

参考文献

[1] 陈恺杰,钟琼,袁汉尧,等.乙型肝炎病毒外膜大蛋白的检测及其临床意义[J].国际检验医学杂志,2010,31(7):658-659.

[2] Bruss V, Gerhardt E, Vieluf K, et al. Functions of the large hepatitis B virus surface protein in viral particle morphogenesis[J]. Intervirology, 1996, 39(1-2): 23-31.

[3] 黄学海,林丁,甘晓协,等.乙型肝炎病毒 PreS1 抗原与 HBV 感染和复制的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2007,28(12):1076-1077.

[4] 肖倩.乙型肝炎患者血清 HBV 外膜大蛋白与 HBV-DNA 检测的相关性及临床意义[J].国际检验医学杂志,2009,30(3):234-236.

[5] Lambert C, Mann S, Prange R, et al. Assessment of determinants affecting the dual topology of hepadnaviral large envelope proteins[J]. J Gen Virol, 2004, 85(5): 1221-1225.

[6] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会.病毒性肝炎防治方案[J].中华传染病杂志,2001,19(1):56-62.

[7] Bruns M, Miska S, Chassot S, et al. Enhancement of hepatitis B virus infection by noninfectious subviral particles[J]. J Virol, 1998, 72(2): 1462-1468.

[8] 毛远丽,李伯安,马洪滨,等.乙肝患者外膜蛋白血清学检测及对于判定 HBV DNA 复制的意义[J].中华实验和临床病毒学杂志,2006,20(3):276-278.

[9] Barrera A, Guerra B, Notvall L, et al. Mapping of the hepatitis B virus pre-S1 domain involved in receptor recognition[J]. J Virol, 2005, 79(10): 9786-9798.

[10] Foo NC, Ahn BY, Ma X. Cellular vacuolization and apoptosis induced by hepatitis B virus large surface protein[J]. Hepatology, 2002, 36(6): 1400-1407.

(收稿日期:2010-11-09)