

· 论 著 ·

## 乙型肝炎病毒感染者 HBeAg 模式与病毒 DNA 水平相关性研究

薛小萍, 汪 骅

(江苏省扬州市苏北人民医院临床医学检测中心 225001)

**摘要:**目的 探讨乙型肝炎病毒(HBV)感染者 HBeAg 模式与 HBV DNA 水平之间的关系。方法 运用荧光定量 PCR (FQ-PCR)检测 120 例乙型肝炎患者血清中的 HBV DNA,同时运用 ELISA 方法进行 HBV 血清标志物的检测,并对结果进行相关性探讨。结果 HBeAg 阳性组血清 HBV DNA 检出率为 87.9% (58/66),HBeAg 阴性组血清 HBV DNA 检出率为 57.4% (31/54);HBV DNA 水平小于  $10^3$  IU/mL 或大于  $10^7$  IU/mL 时,HBeAg 阳性组与阴性组 HBV DNA 水平差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ),当 HBV 携带者 HBV DNA 水平为  $10^3 \sim 10^7$  IU/mL 时,HBeAg 阳性组与 HBeAg 阴性组比较,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。结论 HBeAg 阴性患者仍有 HBV DNA 复制,因此在检测中应联合应用 2 种方法进行检测,以提高检出率、避免漏诊,为临床 HBV 感染、复制及传染性的判断,以及指导治疗提供更为可靠的判定依据。

**关键词:**肝炎 e 抗原,乙型; 聚合酶链反应; 乙肝病毒 DNA

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)14-1552-02

## Correlation analysis of HBeAg mode and HBV DNA level in patients with HBV infection

Xue Xiaoping, Wang Hua

(Clinical Medicine Detection Center, Subei People's Hospital, Yangzhou, Jiangsu 225001, China)

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between HBV DNA level and HBeAg mode in patients with HBV infection. **Methods** HBV DNA was detected with fluorescent quantitative PCR (FQ-PCR) and serum markers of HBV was determined with ELISA in serum samples from 120 suspected cases of hepatitis B. The correlation between the results of the two methods was analyzed. **Results** The detecting rate of HBV DNA was 87.9% (58/66) in HBeAg positive group and 57.4% (31/54) in HBeAg negative group. When HBV DNA less than  $10^3$  IU/mL or more than  $10^7$  IU/mL, the HBV DNA levels were not significantly different between HBeAg negative and positive group ( $P>0.05$ ). When HBV DNA contents range up to  $10^3 - 10^7$  IU/mL, the HBV DNA levels were significantly different between the tow groups ( $P<0.05$ ). **Conclusion** HBV DNA may appear in HBeAg negative patients. Therefore, the two methods should be simultaneously performed for the detection of HBV infection to promote the detecting rate and provide more reliable evidence for judgment of HBV infection, duplication and infectivity and its treatment in clinical practice.

**Key words:** hepatitis B e antigens; polymerase chain reaction; HBV DNA

乙型肝炎是世界上最常见的传染病之一,世界卫生组织(WHO)估计,该病每年造成约 100 万人死亡<sup>[1]</sup>。中国是乙型肝炎的高流行区,其中乙型肝炎病毒(HBV)表面抗原携带者约 0.93 亿。在 HBV 感染中,HBV DNA 检测阳性通常被当做 HBV 感染及复制的金标准<sup>[2]</sup>,HBeAg 与病毒 Dane 颗粒、HBV DNA 具有伴随关系,是 HBV 复制活跃的血清学指标。本研究中检测了 120 例 HBV 感染者血清中 HBeAg 及 HBV DNA 水平,旨在探讨二者的相关性。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 随机选择 2010 年 1~12 月来本院就诊检测乙型肝炎免疫标志物的 120 例 HBV 感染患者,其中男 72 例,女 48 例,年龄 18~64 岁,平均 36.2 岁。所有病例近 3 个月未使用过特殊抗病毒药物。对于溶血和脂血的标本加以剔除。采血后及时进行乙型肝炎免疫标志物的检测,部分血样提取血清,分装,  $-20^{\circ}\text{C}$  以下储存。

## 1.2 方法

**1.2.1 免疫标志物的检测** 采用 ELISA 法检测,试剂为上海科华生物工程股份有限公司,仪器为 Tecan 全自动酶免分析仪。操作严格按试剂盒说明书进行,并由专人操作。

**1.2.2 血清 HBV DNA 检测** 采用荧光定量 PCR(FQ-PCR)法检测血清中 HBV DNA, MX3000 荧光定量 PCR 仪为美国 Roche 诊断有限公司生产。HBV DNA 荧光检测试剂盒由上

海复兴生物技术有限公司提供,检测灵敏度为 500 IU/mL。

**1.2.3 结果判断** 以阳性工作标准品(外参照物)拷贝浓度对数值为横坐标,以其实际测得的每个反应管的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数(Ct)为纵坐标制作标准曲线。调整基线以试剂空白和阴性管不出现阳性为准,一般基线在 0.1~0.3 之间,与基线的交点的 Ct 值为纵坐标,HBV DNA 浓度的对数值为横坐标,制作标准曲线,计算血清 HBV DNA 含量。定量结果以大于  $1.00 \times 10^3$  IU/mL 为判定阳性的标准。

**1.3 统计学处理** 采用非线性最小二乘法,曲线拟合,求相关系数,再作 *t* 检验。全部实验数据用 SPSS11.5 统计软件进行统计学处理。

## 2 结果

120 例标本经过 FQ-PCR 检测,HBV DNA 水平小于  $10^3$  IU/mL 者 31 例, $10^3 \sim 10^5$  IU/mL 者 46 例, $>10^5 \sim 10^7$  IU/mL 者 29 例,大于  $10^7$  IU/mL 者 14 例,具体结果及其构成比见表 1。

HBV 携带者 HBeAg 模式与 HBV DNA 检测结果见表 2。当 HBV 携带者 HBV DNA 水平低于  $10^3$  IU/mL 或高于  $10^7$  IU/mL 时,HBeAg 阳性组与阴性组 HBV DNA 水平差异不显著,HBeAg 模式与血清病毒载量无相关性 ( $P>0.05$ )。当 HBV 携带者 HBV DNA 水平为  $10^3 \sim 10^5$  IU/mL 时,HBeAg 阳

性组与阴性组 HBV DNA 病毒水平差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 当 HBV 携带者 HBV DNA 水平为  $>10^5 \sim 10^7$  IU/mL 时, HBeAg 阳性组与阴性组 HBV DNA 水平也存在统计学意义差异 ( $P < 0.05$ )。

表 1 HBV 携带者 HBV DNA 水平的分布

HBV DNA(IU/mL)	病例数	比例(%)
$<10^3$	31	25.8
$10^3 \sim 10^5$	46	38.3
$>10^5 \sim 10^7$	29	24.1
$>10^7$	14	11.6
合计	120	100.0

表 2 HBV 携带者 HBeAg 模式与 HBV DNA 载量的相关性

HBV DNA (IU/mL)	HBeAg 模式	阳性例数	HBV DNA 载量 ( $\bar{x} \pm s, QTY/mL$ )
$<10^3$	阳性组	8	$2.0 \pm 0.6$
	阴性组	23	$2.1 \pm 0.5$
$10^3 \sim 10^5$	阳性组	32*	$4.6 \pm 0.9$
	阴性组	14	$3.3 \pm 0.6$
$>10^5 \sim 10^7$	阳性组	17▲	$6.5 \pm 1.4$
	阴性组	12	$5.7 \pm 1.0$
$>10^7$	阳性组	9	$7.3 \pm 1.3$
	阴性组	5	$7.1 \pm 1.0$

\*:  $P < 0.01$ , 与阴性组比较; ▲:  $P < 0.05$ , 与阴性组比较; QTY: 血清 HBV DNA 测定值的常规对数值。

### 3 讨论

HBV DNA 是直接反映 HBV 存在、复制活动性及传染性的可靠指标<sup>[3-5]</sup>。但目前中国 HBV 感染者多以血清标志物(乙肝两对半)判定, 由于其组合模式复杂多样, 从而导致了临床上对部分发病患者的 HBV 感染复制状况难以判断, 有时甚至会出现漏诊的情况。FQ-PCR 法的应用, 使得研究者进行 HBV DNA 检测的同时得以对其进行相对的量化, 这对于乙型肝炎患者体内 HBV 的复制以及传染性有更直接的了解, 同时也更有利于对临床 HBV 感染的诊断、治疗方案的选择及疗效的判断<sup>[6]</sup>。本研究表明, HBeAg 阴性的 HBV 携带者 54 例, 其中 HBV DNA 阳性率为 57.4%, 提示有一半患者体内仍然存在病毒复制, 具有一定传染性, 与国内外其他学者的研究结果基本一致。HBeAg 阴性的情况下具有一定传染性, 可能是当 HBV 前核心区发生突变时, 使得 HBeAg 无法表达, 但 HBV DNA 的复制仍然存在<sup>[7-10]</sup>。

研究结果显示, HBeAg 阳性患者血清 HBV DNA 检出率为 87.9% (58/66), HBV 携带者 HBV DNA 水平为  $10^3 \sim 10^7$  IU/mL 时, HBeAg 阳性组与阴性组 HBV DNA 水平存在统计学意义差异 ( $P < 0.05$ )。HBeAg 是 HBV 基因组前 C/C 区的 mRNA 的表达, 与 HBV DNA 密切, HBeAg 阳性者病毒复制

活跃, 传染性强, HBeAg 阴性者病毒复制水平低, 传染性弱。但对一个具体患者来说, 根据抗原抗体模式, 难以准确地判断病毒复制程度及其传染性强弱<sup>[11]</sup>, HBV DNA 是病毒活跃程度的直接指标, 对判断 HBV 复制程度、传染性大小、抗病毒疗效、病情变化及预后具有重要参考价值, 可为抗病毒药物剂量和疗程提供可靠依据。本研究中, 8 例确定携带者 HBeAg 阳性, 但 HBV DNA  $<10^3$  IU/mL, 可能为 e 抗原正处于向 e 抗体转变阶段, 但具体机制还需进一步深入研究。

本研究表明, 在临床上要正确认识 HBV 携带者 HBeAg 模式与 HBV DNA 的相关性, 检测 HBeAg 必须同时检测 HBV DNA 水平, 两者结合才能正确地了解人体内 HBV 的携带情况, 指导临床诊治。

### 参考文献

- [1] Davey S. State of the world's vaccines and immunization[M]. Geneva: World Health Organization, 1996: 76.
- [2] 程钢, 何蕴韶, 周新宇. 荧光定量聚合酶链反应检测乙型肝炎病毒[J]. 中华医学检验杂志, 1999, 22(3): 135-138.
- [3] Bayram A, Erkilic S, Ozkur A, et al. Quantification of intrahepatic total hepatitis B virus DNA in chronic hepatitis B patients and its relationship with liver histology[J]. J Clin Pathol, 2008, 61(3): 338-342.
- [4] Mommeja-Marin H, Mondou E, Blum MR, et al. Serum HBV DNA as a marker of efficacy during therapy for chronic HBV infection: analysis and review of the literature[J]. Hepatology, 2003, 37(6): 1309-1319.
- [5] Gerken G, Gomes J, Lampertico P, et al. Clinical evaluation and applications of the Amplicor HBV Monitor test, a quantitative HBV DNA PCR assay[J]. J Virol Methods, 1998, 74(2): 155-165.
- [6] 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.
- [7] Rodriguez-Frias F, Buti M, Jardi R, et al. Hepatitis virus infection: precore mutants and its relation to viral genotypes and core mutations[J]. Hepatology, 1995, 22(6): 1641-1647.
- [8] Chu CM, Yeh CT, Lee CS, et al. Precore stop mutant in HBeAg positive patients with chronic hepatitis B: clinical characteristics and correlation with the course of HBeAg-to-anti-HBe seroconversion[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(1): 16-21.
- [9] Shinkai N, Tanaka Y, Ito K, et al. Influence of hepatitis B virus X and core promoter mutations on hepatocellular carcinoma among patients infected with subgenotype C2[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(10): 3191-3197.
- [10] Cho EY, Choi CS, Cho JH, et al. Association between hepatitis B virus X gene mutations and clinical status in patients with chronic hepatitis B infection[J]. Gut Liver, 2011, 5(1): 70-76.
- [11] 杨旭, 罗红雨, 张永红, 等. 乙型肝炎病毒载量与抗原抗体模式的关系[J]. 中华肝病杂志, 2002, 10(4): 269-271.

(收稿日期: 2011-02-12)