

• 调查报告 •

1 427 例乙型肝炎患者 PreS1、HBV DNA 和 HBV-M 相关性分析

郑卫东,田彩霞,左万超[△]

(湖北医药学院附属人民医院检验部,湖北十堰 442000)

摘要:目的 探讨乙型肝炎患者前 S1 抗原(PreS1)、HBV DNA 及乙型肝炎病毒标志物(HBV-M)的相关性,评价三者联合检测的临床意义。方法 对 1 427 例乙型肝炎患者分别使用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测血清标本中 HBV DNA 载量,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 HBV-M 和 PreS1 水平。结果 HBsAg(+),HBeAg(+),HBcAb(+)乙型肝炎患者的 PreS1、HBV DNA 阳性率及病毒载量,均显著高于其他模式乙型肝炎患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。HBeAg、PreS1 和 HBV DNA 之间具有较高的符合率。结论 PreS1、HBV DNA 和 HBV-M 单独检测均存在缺陷,三者联合检测对乙型肝炎患者的准确诊断、判断病毒复制情况和药物疗效的监测具有重要临床意义。

关键词:肝炎病毒,乙型; 前 S1 抗原; DNA,病毒; 酶联免疫吸附测定
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.07.014 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2012)07-0802-02

Correlation analysis of PreS1-Ag, HBV DNA and HBV-M in 1 427 patients with type B hepatitis

Zheng Weidong, Tian Caixia, Zuo Wanchao[△]

(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated People's Hospital of Hubei University of Medicine, Shiyan Hubei 442000, China)

Abstract:Objective To explore the correlation between Pre-S1 antigen (PreS1-Ag), hepatitis B virus(HBV) DNA and HBV markers(HBV-M) in patients with type B hepatitis, and evaluate the clinical value of combined detection of these three indexes. **Methods** HBV DNA was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR), PreS1-Ag and HBV-M were detected by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). **Results** Compared patients with other models of HBV-M, patients with HBsAg(+), HBeAg(+) and HBcAb(+) were with significantly higher PreS1-Ag positive rate and HBV DNA viral load($P<0.05$). HBeAg, PreS1-Ag and HBV DNA were with relatively high coincidence. **Conclusion** There might be defec-tion in separate test of HBV-M, PreS1-Ag and HBV DNA. Combined detection of theses three indexes might be with important clinical significance for the accurate diagnosis, judgment of viral replication and monitoring of therapeutic efficacy.

Key words: hepatitis B virus; PreS1-antigen; DNA, viral; Enzyme-linked immunosorbent assay

乙型肝炎病毒(HBV)感染后,因其发病的病理、生理尚未完全阐明,临床症状及表现十分复杂,病情迁延可有多种不同的血清学标志模式^[1]。目前,乙型肝炎病毒标志物(HBV-M)和乙型肝炎前 S1 抗原(PreS1)多采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测,操作简单、无需特殊设备,因此多数实验室均能常规开展,但反映乙型肝炎病毒载量变化的 HBV DNA 检测只能在有准入资格的实验室开展。现就乙型肝炎患者联合检测 HBV DNA、HBV-M 和 PreS1 结果进行分析,并探讨其间的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 5 月至 2011 年 8 月,在该院住院及门诊的乙型肝炎患者 1 427 例。其中男 1 021 例,女 406 例,男、女性比例为 2.51:1,年龄 1~89 岁,平均年龄(36.7±13.1)岁。

1.2 方法

1.2.1 血清 HBV DNA 载量检测 采用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)法,试剂购自中山大学达安基因股份有限公司,仪器为美国 ABI 公司生产的 ABI PRISM 7000 Sequence Detection System 实时荧光定量 PCR 仪。由获得基因操作资格证书的人员严格按说明书操作,以 HBV DNA>10³ copy/mL 为阳性结果。

1.2.2 血清 HBV-M 检测 采用 ELISA 法,试剂购自上海科华生物工程股份有限公司。严格按说明书操作,在奥地利 An-

thos 2010 型酶标仪上检测,其中乙型肝炎标志物分别为 HBsAg(1)、抗-HBs(2)、HBeAg(3)、抗-HBe(4)和抗-HBc(5),以出现阳性项目的序号为该模式的代码。以下乙型肝炎模式均用代码表示。

1.2.3 血清 PreS1 检测 采用 ELISA 法,试剂购自中国科学院上海阿尔法生物技术有限公司。严格按说明书操作,在奥地利 Anthos 2010 型酶标仪上进行检测。

1.3 统计学处理 HBV DNA 平均拷贝数采用对数平均值计算($\bar{x}\pm s$),阴性结果不参与平均值计算,HBV DNA 载量比较也采用方差分析,阳性率比较采用卡方检验,PreS1 阳性率比较采用卡方检验。所有数据统计分析运用 SPSS 13.0 统计软件处理。

2 结果

2.1 HBV-M 与 HBV DNA 阳性率及病毒载量结果比较,见表 1。

表 1 1 427 例乙型肝炎患者 HBV-M 与 HBV DNA 阳性率及病毒载量结果比较($\bar{x}\pm s$)

分组	HBV-M 阳性模式	例数 (n)	HBV DNA 阳性数[n(%)]	HBV DNA 病毒载量(copy/mL)
1	1,3,5	481	403(83.7)	6.369±1.519
2	1,4,5	667	237(35.5)	4.616±1.485
3	1,5	279	96(34.4)	4.724±1.628

[△] 通讯作者,E-mail:ZC2065@163.com。

2.2 HBV-M、PreS1-Ag 和 HBV-DNA 不同组合结果比较,见表 2。2.3 HBV-M 和 PreS1 阳性结果比较,见表 3。

表 2 1 427 例乙型肝炎患者 HBV-M、PreS1 和 HBV DNA 不同组合结果比较[n(%)]

分组	HBV-M 阳性模式	例数	PreS1 阳性+ HBV DNA 阳性	PreS1 阳性+ HBV DNA 阴性	PreS1 阴性+ HBV DNA 阳性	PreS1 阴性+ HBV DNA 阴性
1	1,3,5	481	350(72.7)	66(13.7)	53(11.0)	12(2.5)
2	1,4,5	667	148(22.1)	231(34.6)	89(13.3)	199(29.8)
3	1,5	279	68(24.3)	114(40.8)	28(10.0)	69(24.7)

表 3 1 427 例乙型肝炎患者 PreS1 阳性结果比较(n, %)

分组	HBV-M 阳性模式	例数(n)	PreS1 阳性数[n(%)]
1	1,3,5	481	415(86.2)
2	1,4,5	667	378(56.6)
3	1,5	279	181(64.8)

3 讨 论

3.1 本研究调查对象为同时检测 HBV-M、PreS1 和 HBV DNA 的乙型肝炎患者,主要以(1,3,5)、(1,4,5)和(1,5)模式的阳性患者为主,这也是乙型肝炎患者最为常见的几种模式,其他少见模式患者由于资料不全未予统计。目前 HBV-M 是诊断 HBV 感染最常用的指标,治疗乙型肝炎患者最常用的药物为干扰素类和核苷类似物药物。长期服用核苷类似物药物容易导致 HBV 的 YMDD 区发生变异,产生耐药性。由于存在病毒变异和机体不同的免疫应答状态等因素,最早用于临床 HBV-M 检测已不能准确地反映 HBV 感染^[2-3]。PreS1 具有高度的免疫原性,在乙型肝炎病毒感染、装配、复制和刺激机体产生免疫反应方面具有十分重要的作用^[4]。荧光定量 PCR 法检测 HBV DNA 是 HBV 复制最直接可信的指标,可反映 HBV 感染和复制的真实状态,特别是低复制状态^[5]。

3.2 HBV-M 与 HBV DNA 载量的关系 (1,3,5)模式的阳性患者,HBV DNA 阳性率达 83.7%,病毒载量对数均值也明显高于(1,4,5)和(1,5)阳性患者,差异有统计学意义($P<0.05$),这一结果与胥颢等^[6]报道基本一致。这与传统上认为 HBeAg 阳性患者病毒复制活跃、传染性强是一致的。但在(1,3,5)阳性患者中,有近 16.3%的患者 HBV DNA 阴性,可能因为部分患者使用干扰素或核苷类似物治疗过程中,HBV 复制被抑制,但 HBeAg 仍在表达或血清中消除较慢有关。(1,4,5)和(1,5)模式的阳性患者比较,HBV DNA 阳性率、病毒载量差异均无统计学意义($P>0.05$),但两者 HBV 的复制率仍达 35%左右,低于陆进友^[7]和刘成忠等^[8]的报道,且病毒载量仍维持较高水平。因此,单纯依靠 HBV-M 模式判断 HBV 的复制状况并不客观,应结合患者 HBV DNA 结果和药物使用情况综合分析,才能准确掌握 HBV 复制情况。

3.3 HBV-M 与 PreS1 的关系 HBV 前 S1 基因编码的前 S1 抗原在 HBV 复制时表达最多,可作为 HBV 复制的标志^[9-10]。(1,3,5)模式的阳性患者,PreS1 阳性率达 86.2%,明显低于蔡兰兰等^[11]的报道,表明 HBeAg 和 PreS1 有较高的符合率。(1,4,5)和(1,5)模式的阳性患者,PreS1 阳性率比较差异虽有统计学意义($P>0.05$),但阳性率仍达 55%~65%,表明 HBeAg 和 PreS1 并无明显的相关性。从表 1 和表 2 结果显

示,(1,3,5)模式的阳性患者 PreS1 阳性率和 HBV DNA 阳性率差异无统计学意义($\chi^2=0.113,P>0.05$);而(1,4,5)和(1,5)模式的阳性患者,PreS1 阳性率均显著高于 HBV DNA 阳性率,差异有统计学意义($P<0.05$)。据此推测,PreS1 外周血检出时间低于 HBV DNA 检出时间,在 HBV DNA 无法检测的情况下,可作为 HBV 复制的指标之一。

3.4 HBV-M、PreS1 和 HBV DNA 的关系 (1,3,5)模式的阳性患者,(PreS1+HBV DNA)阳性率明显高于(1,4,5)和(1,5)阳性患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。表明 HBeAg、PreS1 和 HBV DNA 反映病毒复制的 3 个指标有较高的符合率。(1,4,5)和(1,5)阳性患者,仍有 23%左右的患者 PreS1 和 HBV DNA 均阳性,表明 HBeAg 阴性的乙型肝炎患者,HBV 仍存在一定程度的复制。表 3 也表明,不同模式的乙型肝炎患者,各种 PreS1 和 HBV DNA 组合模式均有检出,表明乙型肝炎患者 HBV-M、PreS1 和 HBV DNA 既有一定的相关性,也呈现出多样化的特点。

综上所述,传统上根据 HBeAg 是否阳性来判断 HBV 的复制情况是非常不严谨的^[12]。ELISA 检测 PreS1 方法较为简单,多数实验室均能开展,可作为 HBV 复制较好的参考和补充指标。HBV DNA 检测对实验室要求较高,但随着 FQ-PCR 法技术的普及,较多的实验室已经具备检测条件和资质。HBV-M、PreS1、HBV DNA 单项检测各有优缺点,三者联合检测,互为补充,对乙型肝炎患者的准确诊断、判断病毒复制情况和药物疗效的监测具有重要临床意义。

参考文献

[1] 施志农,陈继梅. 1 546 例乙型肝炎患者血清 HBV-M、HBV DNA、肝功能检测结果分析[J]. 中华全科医学,2011,6(9):966-968.

[2] Franchis R, Hadengue A, Lau G, et al. EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. 13-14 September, 2002 Geneva, Switzerland. Consensus statement (long version) [J]. J Hepatol, 2003, 39 (1):3-25.

[3] Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection[J]. Lancet Infect Dis, 2002, 2(7):395-403.

[4] 王健, 闵福援. 乙型肝炎病毒血清标志物的检测方法及其临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(1):113-115.

[5] 孙慧. HBV DNA 与 HBV 血清标志物和前 S1 抗原的相关性研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11):1319-1320.

[6] 胥颢, 余文静, 张莉萍, 等. 乙型肝炎患者 HBV DNA 载量与 HBV 血清标志物、前 S1 抗原的相关性[J]. 重庆医学, 2009, 38(19): 2430-2432.

[7] 陆进友. 乙型肝炎病毒前 S1 抗原和 HBV DNA(下转第 805 页)

2.2 β-内酰胺酶检测结果 分离的嗜血杆菌、卡他莫拉菌、金黄色葡萄球菌 β-内酰胺酶的阳性率分别为 40.1%、83.5% 和 65.2%。

2.3 细菌的耐药性检测结果 用纸片法检出 1 株耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌, E-test 确证为甲氧西林中介的金黄色葡萄球菌; 检出青霉素耐药的肺炎链球菌 2 株, 用 E-test 试纸条确定均为肺炎链球菌, 占分离肺炎链球菌的 22.2%。

3 讨 论

草绿色链球菌与奈瑟菌是鼻咽部的正常菌群, 对革兰阴性杆菌等细菌的异常定植有重要的拮抗作用, 对上呼吸道感染的防护有重要的生态功能^[2]。呼吸道感染和细菌异常定植与草绿色链球菌和奈瑟菌的缺失有着密切的相关性^[3-4]。调查结果表明, 草绿色链球菌与奈瑟菌的检出率为 100%, 表明本组儿童鼻咽部生态屏障作用较好, 对条件致病菌的定植有一定的拮抗作用。

嗜血杆菌、卡他莫拉菌、肺炎链球菌等条件致病菌主要存在于人的鼻咽部, 是社区获得性细菌性呼吸道感染的重要病原菌, 儿童尤为严重^[5-6]。本调查中发现副流感嗜血杆菌、流感嗜血杆菌和卡他莫拉菌的检出率分别为 90.1%、36.5% 和 25.2%, 明显高于有关研究的报道^[7-10], 与刘军和赵婷^[11]的报道基本一致。临床上引起儿童肺炎、脑膜炎、败血症等疾病的金黄色葡萄球菌检出率为 8.4%, 本组分离出 1 株甲氧西林中介的金黄色葡萄球菌; 肺炎链球菌是儿童呼吸道感染的常见致病菌, 国内已出现对头孢菌素类耐药株^[12-14]。本调查中检出率占 2.6% 的肺炎链球菌未发现对头孢菌素耐药的菌株, 但发现 2 株肺炎链球菌, 值得关注。本组细菌的高检出率可能与高寒地区冬季时间相对较长(7 个月)、门窗封闭较严而不能通风及儿童极少进行户外活动有关, 有待进一步研究。金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌在正常儿童鼻咽部的检出可能与临床大量使用抗菌药物有密切关系。

β-内酰胺酶检测结果显示, 嗜血杆菌、卡他莫拉菌、金黄色葡萄球菌 β-内酰胺酶的阳性率分别为 40.1%、83.5% 和 65.2%, 应引起临床高度注意, 因一旦被产酶株感染将给临床治疗带来困难。

上呼吸道感染是高寒地区儿童的常见病、多发病, 快速准确检测出引起患儿感染的病原菌是微生物检验工作者的职责。而鼻咽部菌群检出的数量与种类, 与取材部位、标本质量、培养基质量、分离培养技术等多种因素密切相关, 任何一个环节出

现问题都将影响其检出率, 特别是苛养菌^[15-16]。这就要求要有丰富的临床经验和严谨的工作作风, 从标本的采集到结果的发出, 每一步都应仔细认真, 一丝不苟, 也只有这样, 检验结果才能反映感染患者真实情况, 指导临床合理选用抗菌药物。

参考文献

[1] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 736-920.

[2] 康白. 微生物学[M]. 大连: 大连出版社, 1998: 120-248.

[3] 符莹, 罗继霞. 儿童急性白血病化疗期间院内感染细菌及耐药性分析[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2009, 23(5): 356-357.

[4] 陈世钰. 口腔鼻咽部正常菌群与健康[J]. 湖北民族学院学报(医学版), 2007, 24(2): 72-73.

[5] 熊德鑫. 临床厌氧菌检验手册[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994: 3-19.

[6] 倪语星. 临床微生物学及微生物学检验[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 252-274.

[7] 赵建红. 100 例正常人咽拭子细菌培养及抗生素敏感实验[J]. 内蒙古中医药, 2009, 32(8): 89-89.

[8] 冯丽霞. 呼吸道感染患儿的临床治疗分析[J]. 中华中西医杂志, 2008, 6(4): 25-26.

[9] 陈东科, 胡金树, 许宏涛, 等. 嗜血杆菌在儿童上呼吸道中的分布差异及耐药趋势分析[J]. 中华流行病学杂志, 2007, 28(10): 1044-1044.

[10] 陈东科, 陶风蓉, 董劲春, 等. 冬季儿童上呼吸道菌群分布调查[J], 中华儿科杂志, 2001, 39(6): 365-366.

[11] 刘军, 赵婷. 学龄前健康儿童咽部菌群分布调查[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(6): 740-741.

[12] 何礼贤. 社区获得性肺炎诊治进展[J]. 临床肺科杂志, 2005, 10(1): 2-4.

[13] 陆权, 张泓, 杨永弘, 等. 2000~2002 年上海地区儿童肺炎链球菌耐药性研究[J]. 中华医学杂志, 2006, 86(9): 636-637.

[14] 肖纯凌, 韩秀珍, 王雨, 等. 空气污染对呼吸道微生态的影响[J]. 中国公共卫生, 2001, 17(3): 205-206.

[15] 吴晓娟. 儿童医院重症监护室细菌耐药性监测[J]. 实用诊断与治疗杂志, 2007, 21(4): 319-320.

[16] 林航, 孙彦, 林荣军. 支气管急性发作期病儿口咽部菌群分布[J]. 齐鲁医学杂志, 2007, 22(2): 113-114.

(收稿日期: 2012-01-15)

(上接第 803 页)

水平与 HBV 血清标志物的相关性分析[J]. 中国医学工程, 2010, 18(1): 100-102.

[8] 刘成忠, 肖传宇, 侯文华, 等. HBeAg 阴性乙型肝炎患者前 S1、前 C 区变异, HBV DNA 载量的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(7): 766-767.

[9] 武红梅. 乙型肝炎患者血清前 S1 抗原检测的临床意义[J]. 西部医学, 2008, 20(1): 178-179.

[10] 卜国平, 开远胜. 乙型肝炎病毒前 S1 抗原的实验室检测及其在临

床上的应用[J]. 实用肝病杂志, 2007, 10(4): 250-251.

[11] 蔡兰兰, 李振雪, 樊冰. 乙型肝炎病毒前 S1 抗原与乙型肝炎血清标志物及 HBV DNA 的相关性分析[J]. 中国医药导报, 2010, 7(19): 91-92.

[12] 李爱武, 蒋霞, 李芳, 等. HBV DNA、乙型肝炎前 S1 抗原与 HBV 血清标志物相关性的研究[J]. 陕西医学杂志, 2011, 40(6): 709-710.

(收稿日期: 2012-01-28)