

### 3 讨 论

临床普遍认为,乙型肝炎是由于HBV病毒引起细胞免疫功能障碍造成的肝细胞损伤<sup>[2]</sup>。机体受HBV病毒感染后,抗原会分解为多种抗原成分,被呈递细胞给B细胞和T细胞。肝细胞损害常常与细胞免疫有着密切的关系,Th1/Th2类细胞的失衡,常常会引起不同病理变化<sup>[3]</sup>。特异性抗原通过抗原呈递细胞给Th细胞后,Th0逐渐分化为Th1/Th2细胞亚群。其中Th1主要表达IL-2和IFN-γ,可以增强杀伤细胞的细胞毒性作用,激发迟发型超敏反应,介导细胞免疫应答;Th2主要表达IL-4、IL-6、IL-10,可以促进抗体的产生,介导体液免疫应答。Th1/Th2细胞失衡,会造成乙型肝炎慢性化的发生<sup>[4]</sup>。同时,细胞因子IL-4和IFN-γ具有区分Th1/Th2细胞亚群的作用<sup>[5]</sup>。

Th1/Th2免疫应答的平衡具有维持患者机体正常免疫功能的作用。Th1细胞诱导分化与清除病毒和肝组织病理受损有关,Th1细胞因子增多则会增强细胞免疫,包括增强NK细胞、巨噬细胞、细胞毒性T淋巴细胞的活性,加强细胞免疫反应,更加造成乙型肝炎对肝组织的损伤<sup>[6]</sup>。本研究中,观察组HBeAg阳性和HBeAg阴性患者的IL-4水平均高于对照组的健康体检者( $P < 0.05$ ),而IFN-γ则明显低于对照组( $P < 0.01$ )。该结果提示观察组免疫功能较低,Th1/Th2型免疫应答的细胞因子之间会产生负反馈作用。高水平病毒复制和抗原负载是T细胞对HBV抗原低反应性的主要因素<sup>[7]</sup>。据报道,慢性乙型肝炎患者HBV基因水平的下降通常会伴有IFN-γ增加的现象<sup>[8]</sup>。e抗原阳性表示病毒复制活跃。本研究结果表明,HBeAg阴性患者IFN-γ增加,说明与病毒复制量有关,与文献报道一致。

乙型肝炎病情发展与HBV有关,通过积极抑制慢性乙型肝炎基因复制,采取有效抗病毒治疗,才能阻止或减缓病情的发展<sup>[9]</sup>。通过药物治疗,人为地诱导和调控Th1/Th2型免疫

### • 经验交流 •

## 献血者HBsAg ELISA检测与HBV DNA检测的比较分析

赵桂红<sup>1</sup>,陈晓欢<sup>2</sup>,邓雪莲<sup>1</sup>

(1. 大连市血液中心,辽宁大连 116001;2. 大连医科大学检验系,辽宁大连 116001)

**摘要:**目的 比较分析血清学HBsAg检测与核酸检测乙型肝炎在血液筛选中的作用。**方法** 用这两种方法对30 561份血液标本同时进行血清学HBsAg检测与核酸检测。对核酸阳性标本进行鉴别,鉴别结果为HBV DNA单独阳性标本采用电化学发光法测定血清学乙型肝炎五项指标。**结果** ELISA检测阳性标本共62份,检出率为0.20%,其中ELISA单试剂阳性为36份,占0.12%,ELISA双试剂阳性为26份占0.08%。核酸检测阳性标本共检出44份,检出率为0.14%。ELISA双试剂阳性、核酸阴性的标本共检出6份。ELISA双试剂阴性、核酸阳性的标本共检出21份,经鉴别17份HBV阳性,3份阴性,1份因血清量不足未作鉴别。ELISA、核酸均阳性的标本共检出23份,其中ELISA单试剂阳性、核酸阳性的标本共检出3份,ELISA双试剂阳性、核酸阳性的标本共检出20份。**结论** 核酸检测方法一定程度上可以弥补ELISA的漏检情况,降低输血相关乙型肝炎的传播,且两种方法存在一定程度上互补。

**关键词:**肝炎病毒,乙型; 肝炎病毒表面抗原,乙型; DNA,病毒; 酶联免疫吸附测定

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2012.19.046

**文献标识码:**B

**文章编号:**1673-4130(2012)19-2388-02

ELISA检测乙型肝炎属血清学范畴,是一种简便、快速、廉价的方法,也是目前最常用的检测乙肝的方法。而随着基因扩增技术的发展,人们发现用分子生物学范畴的核酸检测技术

应答,恢复Th1/Th2免疫应答的平衡,会有利于慢性乙型肝炎患者的治疗。在治疗过程中,需要明确评价慢性乙型肝炎患者的免疫功能及疗效,通过检测细胞因子,了解Th1/Th2免疫应答之间的平衡变化,有助于临床用药及疗效的观察。

### 参考文献

- [1] 高月求,孙学华,章晓鹰,等.不同类型慢性乙肝病毒感染者外周血细胞因子表达的差异[J].胃肠病学和肝病学杂志,2005,14(1):82-83,86.
- [2] 许文龙,张国祥,王红旗.慢性乙型肝炎患者外周血IL-1β、mIL-2R、IL-10的检测及意义[J].中华医院感染学杂志,2009,19(7):742-744.
- [3] 黄建宏,林心,李文峰,等.不同基因型慢性乙型肝炎患者Th1/Th2细胞因子平衡研究[J].中国基层医药,2010,17(1):87-88.
- [4] 余永胜,吴昊,汤正好,等. CTLA-4 siRNA对慢性乙型肝炎患者外周血Th1/Th2细胞因子的影响[J].中国临床药理学与治疗学,2011,16(5):553-558.
- [5] 朱影.慢性乙型肝炎患者外周血Th17细胞及其相关因子表达的检测[J].实用预防医学,2011,14(11):2181-2183.
- [6] 张林,张大志,陈敏,等.乙型肝炎e抗原阳性慢性乙型肝炎患者在替比夫定治疗期间外周血Th1/Th2型细胞因子水平的动态变化情况[J].中华肝脏病杂志,2009,17(3):175-179.
- [7] 张静,李青春,卜岚.DC联合IL-18对慢性乙型肝炎患者外周血Th1细胞分泌的细胞因子及CTL的影响[J].吉林医学,2011,32(33):7017-7018.
- [8] 钟水清,楼克忻.拉米夫定对慢性乙型肝炎患者外周血Th1/Th2细胞因子和肝纤维化指标的影响[J].中国药业,2010,10(23):16-17.
- [9] 施维群,缪锡民,黄茵,等.慢性乙型肝炎患者外周血T细胞标记物表达及细胞因子水平与中医分型的关系[J].世界华人消化杂志,2005,13(11):1364-1367.

(收稿日期:2012-04-28)

测定血液中HBV DNA的含量更直接、可靠,可检测出极微量的病毒,为HBV的感染、复制及抗病毒治疗的疗效及预后的判定上提供了更为可靠的依据。本文用这两种方法对30 561

份血液标本的检测,对不同结果进行整理分析,探讨了两者在血液筛选中的相互关系,现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 2010 年 12 月 17 日至 2011 年 7 月 7 日,大连市无偿献血者中经过 ALT 和快速 HBsAg 试纸检测合格的血液样本。

**1.2 仪器与试剂** 自动酶免分析系统 FAME 24/20(瑞士哈米顿)、全自动样本处理机 Microlab AT plus 2(瑞士哈米顿)、核酸混样仪 Microlab Star(瑞士哈米顿)、自动化核酸检测仪 Cobas Ampliprep & Cobas TagMan(美国罗氏)、自动化核酸检测仪 Procleix Tigris System(美国诺华)、电化学发光检测仪 Cobas e 411(美国罗氏)。HBsAg(厦门新创、美国雅培);核酸检测试剂 cobas TaqScreen MPX Test(美国罗氏),Procleix Ulitro Assay、Procleix HBV Discrimination(美国诺华);电化学发光试剂(美国罗氏)。

## 1.3 方法

**1.3.1 标本采集和处理** 静脉采血至常规试管(EDTA-K<sub>2</sub>抗凝的无分离胶的负压真空管)和核酸管(有分离胶),各 5 mL。核酸管需采血后 4 h 内离心(1 100 g,15 min),常规试管(1 450 g,15 min)。各检测要求在标本采集后 48 h 内完成,不能完成的需提取血浆至-20℃密闭保存,7 天内检测。

**1.3.2 检测** 对血液样本同时进行血清学 HBsAg 检测与核酸检测。对核酸阳性标本进行鉴别,鉴别结果为 HBV DNA 单独阳性标本采用电化学发光法测定血清学乙型肝炎五项指标:HBsAg、HBsAb、HBcAb(总)、HBeAg 和 HBeAb。

## 2 结 果

**2.1 HBsAg ELISA 检测和核酸检测结果** 见表 1。

表 1 30 561 份血液样本 HBsAg ELISA 检测与核酸检测的结果(n)

ELISA 检测	核酸检测		检测总数
	阳性	阴性	
单试剂阳性	3	33	36
双试剂阳性	20	6	26
双试剂阴性	21*	30 478	30 499
合计	44	30 517	30 561

\* :其中有 17 份经鉴别为 HBV 阳性,3 份阴性,1 份因血清量不足未作鉴别。

**2.2 17 份 ELISA 检测阴性、HBV DNA 检测阳性标本的乙肝五项检测结果** 见表 2。

表 2 17 份 ELISA 阴性、HBV DNA 阳性标本的乙肝五项检测结果

模式	HBsAg	HBsAb(IU/L)	HBcAb	HBeAg	HBeAb	标本数(n)
1	-	<2	-	-	-	7
2	-	<2	+	-	-	4
3	-	<2	+	-	+	2
4	-	2~50	+	-	+	2
5	-	2~50	+	-	-	2

-:阴性;+:阳性。

## 3 讨 论

本实验数据显示,30 561 份血液样本中经 ELISA 检测阴性样本共 30 499 份,这些阴性样本再经核酸检测,共检出 21 份核酸阳性的标本,经鉴别有 17 份为 HBV DNA 阳性,阳性率为 0.056%,低于国内黄呈辉等<sup>[1]</sup>0.4% 的阳性率,远高于国外 Roth 等<sup>[2]</sup>0.02% 的阳性率。Roth 和 Marijke<sup>[3]</sup>在 360 万 ELISA 阴性的血液样本中用 PCR 检测 HBV-DNA 的阳性结果为 1/60 万。因此,核酸检测方法一定程度上可以弥补酶免检测的漏检情况,降低输血相关乙肝的传染。

另外,本研究发现 ELISA HBsAg 检测与核酸检测结果存在不一致,62 份 ELISA HBsAg 检测阳性标本中有 6 份 HBV DNA 核酸检测为阴性,原因可能是血液中存在的 HBV DNA 含量在核酸检测灵敏度之下而造成结果阴性;30 499 份 ELISA HBsAg 检测阴性标本中有 17 份 HBV DNA 核酸检测为阳性,说明 ELISA 检测 HBsAg 阴性并不表示没有 HBV DNA 的复制,可能由于 HBsAg 指标的窗口期、隐匿性 HBV 感染、变异导致 HBsAg 表达抑制或结构改变等因素,使 HBsAg 不能被检出,而 HBV DNA 呈低水平复制。因此 ELISA HBsAg 检测与核酸检测存在一定程度的互补<sup>[4~7]</sup>。

17 份 ELISA 阴性 HBV DNA 阳性标本的乙肝五项血清学模式中全阴所占比例最大,有 7 份占 41.18%,可能为 HBV 低水平复制,血液中 HBsAg 水平低于 ELISA 检出限。在这 17 份 HBV DNA 阳性血液标本中 HBcAb 阳性有 10 份,占 58.82%,这与国内外相关报道 HBcAb 阳性与 HBV DNA 阳性存在一定相关性一致。增加此项检测能降低输血后 HBV 风险,但能否将 HBcAb 阳性作为献血者筛选指标,还需更多的流行病学数据的支持。

## 参考文献

- [1] 黄呈辉,陈汝光,黄建国,等.核酸扩增检测在血液筛查的初步应用[J].中华检验医学杂志,2001,24(3):141~143.
- [2] Roth WK,Weber M,Seifried E. Feasibility and efficacy of routine PCR screening of blood donations for hepatitis C virus,hepatitis B virus, and HIV-1 in a blood-bank setting[J]. Lancet,1999,35(3):359~363.
- [3] Roth WK,Marijke DP. NAT for HBV and anti-HBV testing increase blood safety[J]. Transfusion,2002,42(7):869.
- [4] Hisao Y,Masaaki M,Junko A,et al. Hepatitis B Virus(HBV) screening strategy to ensure the safety of blood for transfusion through a combination of immunological testing and nucleic acid amplification testing-Japanese experience[J]. J Clin Virol,2006,36(Suppl 1):56~64.
- [5] 李楣,秦雪.乙型肝炎血清标志物的检测方法[J].四川省卫生管理干部学院学报,1998,17(4):243~244.
- [6] 王凤岚,黄朝芳,冯万周.乙肝血清免疫标志物及 HBV-DNA 监测结果相关性分析及临床应用[J].临床和实验医学杂志,2012,11(3):203~204.
- [7] 刘社琴.乙肝血清标志物与 HBV-DNA 定量检测结果分析[J].中国医药导报,2011,8(10):171~172.

(收稿日期:2012-05-03)