

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^[2]。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^[3]。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^[4]。同时,细胞因子 IL-4 和 IFN- γ 具有区分 Th1/Th2 细胞亚群的作用^[5]。

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^[6]。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^[7]。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^[8]。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^[9]。通过药物治疗,人为地诱导和调控 Th1/Th2 型免疫

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-1 β 、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,李文锋,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)

• 经验交流 •

献血者 HBsAg ELISA 检测与 HBV DNA 检测的比较分析

赵桂红¹,陈晓欢²,邓雪莲¹

(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染,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

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 Ultrio 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 静脉采血至常规筛检管(EDTA-K₂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),常规筛检管(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	HBcAg	HBcAb	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^[1]0.4%的阳性率,远高于国外 Roth 等^[2]0.02%的阳性率。Roth 和 Marijke^[3]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^[4-7]。

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.