

染肝脏提纯的病毒核心中分离出环状双股 DNA,从而确定 HBV 属 DNA 病毒。目前,由于克隆化 DNA 完整核苷酸已经确定,现已证实 HBsAg 和 HBcAg 都是由 Dane 颗粒的 DNA 所编码,并且二类基因存在同一 DNA 分子上。有报道发现 HBV DNA 负链能编码全部已知的 HBV 蛋白质,而其正链开放读码区,不能编码病毒蛋白^[5]。HBVDNA 负链有 4 个开放区,分别称为 S、C、P 及 X,能编码全部已知的 HBV 蛋白质。S 区可分为 2 部分,S 基因和前 S 基因。S 基因能编码主要表面蛋白。S 基因之前是 1 个能编码 163 个氨基酸的前 S 基因,编码 PreS1 和 PreS2 蛋白。C 区基因包括前 C 基因和 C 基因,分别编码 HBeAg 和 HBcAg。P 区最长,约占基因组 75% 以上,编码病毒体 DNA 多聚酶。X 区可能编码有 154 个氨基酸的碱性多肽^[6-9]。

乙肝病毒在感染人体后,乙肝标志物变化有以下特点:(1)潜伏期乙肝病毒表面抗原阳性,或伴乙肝病毒脱氧核糖核酸聚合酶和乙肝病毒 e 抗原阳性;(2)急性期 HBsAg, HBeAg, 抗-HBc, HBV-DNAP, HBV-DNA, 前 S 蛋白均可阳件,乙肝病毒核心抗体 M 型免疫球蛋白高滴度,抗-HBc 滴度逐渐升高;(3)恢复期 HBsAg, HBeAg, HBcAg, HBV-DNAP, 前 S 蛋白等均转阴,抗-HBcIgM 滴度下降并消失,抗-HBc 持续高滴度,乙型肝炎表面抗体,滴度逐渐升高,抗-HBe 可显阳性。因此,动态观察乙肝标志物有助于急性乙型肝炎的诊断,临床、上应用以下两项标准或其中 1 项诊断急性乙型肝炎。HBsAg 滴度由阴性到阳性高滴度,再由高滴度到低滴度,消失后抗 HBs 阳转。急性期抗-HBcIgM 滴度高水平,耐抗-HBc 阴性或低水平,恢复期则相反^[10-12]。

用分子生物学的方法荧光定量 PCR 检测乙肝病毒标志物 HBsAg, HBeAg, PreS2 的表达研究,发现乙肝患者 HBsAg, HBeAg, PreS2 的基因表达明显高于阴性对照组,这给医学鉴定乙肝患者提供了生物学依据,是 1 种快速准确的鉴定乙肝患者的方法,给临床提供了更有力的依据。

参考文献

[1] Sofian M, Aghakhani A, Izadi N, et al. Lack of occult hepatitis B

• 经验交流 •

virus infection among blood donors with isolated hepatitis B core antibody living in an HBV low prevalence region of Iran[J]. Int J Infect Dis, 2010, 14(4): e308-310.

[2] Penna A, Laccabue D, Libri I, et al. Peginterferon- α does not improve early peripheral blood HBV specific T-cell responses in HBeAg-negative chronic hepatitis[J]. J Hepatol, 2012, 56(6): 1239-1246.

[3] Chen H, Li J, Wu Q, Niu XT, et al. Anti-HBV activities of *Streblus asper* and constituents of its roots[J]. Fitoterapia, 2012, 83(4): 643-649.

[4] Beasley RP. Rocks along the road to the control of HBV and HCC [J]. Ann Epidemiol, 2009, 19(4): 231-234.

[5] Jiang SZ, Gao ZY, Li T, et al. T3098C and T53C mutations of HBV genotype C is associated with HBV infection progress[J]. Biomed Environ Sci, 2009, 22(6): 511-517.

[6] Liu H, Luan F, Ju Y, et al. In vitro transfection of the hepatitis B virus PreS2 gene into the human hepatocarcinoma cell line HepG2 induces upregulation of human telomerase reverse transcriptase [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 355(2): 379-384.

[7] Hadiji-Abbes N, Borchani-Chabchoub I, Triki H, et al. Expression of HBsAg and preS2 S protein in different yeast based system; A comparative analysis[J]. Protein Expr Purif, 2009, 66(2): 131-137.

[8] 林森, 易荣. 实时荧光定量 PCR 对乙肝 DNA 检测的影响因素 [J]. 国际检验医学杂志, 2012, 32(1): 127-128.

[9] 谢国强, 邵耀明, 徐苗. 乙型肝炎病毒外膜大蛋白 [J]. 国际检验医学杂志, 2011, 31(2): 87-89.

[10] 陈书恩, 桑沛霞, 杜丽伟, 等. 乙型肝炎病毒大蛋白检测对乙型肝炎的诊断价值 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 30(7): 730-732.

[11] 韩刚, 陈琳, 吴月平. 荧光 PCR 法检测 HBV 感染者 HBV 基因型及其临床应用 [J]. 南通大学学报: 医学版, 2012, 32(1): 61-62.

[12] 刘明水, 韦嘉. IFN- λ s 与乙型肝炎及丙型肝炎抗病毒治疗的相关性 [J]. 医学综述, 2012, 18(3): 385-388.

(收稿日期: 2012-06-19)

乙型肝炎病毒血清标记物少见模式复检及分析

李光友¹, 苏贵灵², 高 朋¹, 冯 岚¹

(1. 安徽省芜湖市第二人民医院检验科, 安徽芜湖 241001;

2. 安徽省芜湖市第一人民医院儿科, 安徽芜湖 241001)

摘要:目的 通过对乙型肝炎病毒血清标记物少见模式复检, 观察结果的符合情况, 并结合转氨酶和 HBV-DNA 对乙型肝炎病毒血清标记物 (HBV-SM) 少见模式进行综合分析。方法 采用 ELISA 法测定 HBV-SM; 采用荧光定量聚合酶链反应 (FQ-PCR) 法检测 HBV-DNA 含量; 采用全自动生化分析仪检测转氨酶。结果 18 372 例样本初检, 发现 711 例共 13 种 HBV-SM 少见模式, 通过双孔平行复检, 检出 HBV-SM 少见模式为 388 例, 占总检测例数的 2.11% (388/18 372), 占初检少见模式例数的 54.57% (388/711)。HBV-SM 少见模式 HBV-DNA 总阳率为 32.81%; ALT 和 AST 总阳率分别为 10.00% 和 10.67%。结论 HBV-SM 少见模式应进行复检, 并结合转氨酶和 HBV-DNA 进行综合判断。

关键词: 肝炎, 乙型; 肝炎病毒, 乙型; 生物学标记; 血清

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.23.061

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2012)23-2933-03

乙型肝炎是由乙型肝炎病毒 (HBV) 所引起的传染性疾病^[1]。乙型肝炎病毒血清标记物 (HBV-SM) 是乙型肝炎临床诊治、病情监测及疗效观察的重要依据。近几年来由于抗病毒

药物及乙肝疫苗的广泛使用等给检测结果的判断带来不便^[2-4]。因此, 研究者对出现的 HBV-SM 少见模式进行复检, 观察结果的符合情况, 并结合转氨酶和 HBV-DNA 进行综合

分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 10 月至 2012 年 3 月本院住院及门诊患者,以其中 HBV-SM 少见模式作为研究对象。

1.2 仪器与试剂 ELISA 乙肝五项试剂盒为北京万泰生物药业有限公司生产。ST-96W 洗板机为上海科华实验系统有限公司生产。雷杜 RT-600 酶标仪为深圳雷杜生命科学股份有限公司生产。荧光定量 PCR 仪为杭州博日,试剂为浙江艾康生物技术有限公司生产。美国贝克曼 UniCel Dx C800 全自动生化仪。

1.3 方法 应用乙肝五项 ELISA 试剂盒对 HBV-SM 进行检测时,严格按试剂说明和《全国临床检验操作规程》要求正规操作。对检测中初次发现的 117 例 HBV-SM 少见模式,进行平行双孔复检,每次检测时均设阴、阳性对照及质控对照。使用酶标仪判断结果:OD 值 S/Co 大于或等于 1 为阳性,小于或等于 1 为阴性。HBV-DNA 用 FQ-PCR 检测,大于或等于 10³ copies/mL 为阳性,小于 10³ copies/mL 为阴性。转氨酶用美国贝克曼 UniCel Dx C800 全自动生化仪进行检测,谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)大于 60 U/L 为阳性。

1.4 分析说明 以①、②、③、④、⑤ 分别代表乙肝五项中的 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 和 HBcAb。并以阳性项目的序号为该模式的代码,如①④即表示:HBsAg-HBeAb 模式,余类推。

2 结 果

2.1 乙型肝炎病毒血清标记物少见模式复检 见表 1。

表 1 18 372 例标本中乙型肝炎血清标记物少见模式复检结果			
模式	初检比率 [n(%)]	复检符合率 [n(%)]	总检出率 (%)
①	79(11.11)	22(27.85)	0.10
①②	34(4.78)	1(2.94)	<0.01
①③	17(2.39)	17(100.00)	<0.01
①④	41(5.76)	34(82.93)	0.18
①②④⑤	16(2.25)	13(81.25)	<0.01
②③	12(1.69)	3(25.00)	<0.01
②④	130(18.28)	92(70.77)	0.50
②⑤	76(10.69)	28(36.84)	0.15
②④⑤	52(7.31)	35(67.31)	0.19
③	8(1.12)	1(12.50)	<0.01
④	72(10.12)	50(69.44)	0.27
④⑤	78(10.97)	51(65.38)	0.28
⑤	90(12.66)	39(43.33)	0.21
合计	711(3.87)	388(54.57)	2.11

2.2 乙型肝炎病毒血清标记物少见模式 HBV-DNA 和转氨酶分析 见表 2。

表 2 乙型肝炎血清标记物少见模式 HBV-DNA 和转氨酶结果[n(%)]					
模式	n	HBV-DNA 阳性率	n	ALT 阳性率	AST 阳性率
①	18	1(5.56)	19	4(21.05)	4(21.05)
①③	31	30(96.78)	18	4(22.22)	2(11.11)
①④	14	1(7.14)	34	1(2.94)	1(2.94)
①②③⑤	5	5(100.00)	3	2(66.67)	2(66.67)
①②④⑤	9	5(55.56)	14	5(35.71)	4(28.57)
②④	13	0(0.00)	80	6(7.50)	8(10.00)

续表 2 乙型肝炎血清标记物少见模式 HBV-DNA 和转氨酶结果[n(%)]					
模式	n	HBV-DNA 阳性率	n	ALT 阳性率	AST 阳性率
②⑤	2	0(0.00)	14	3(21.42)	1(7.14)
②④⑤	12	0(0.00)	26	1(3.85)	4(15.38)
④	5	0(0.00)	42	2(4.76)	2(4.76)
④⑤	11	0(0.00)	31	1(3.23)	1(3.23)
⑤	8	0(0.00)	19	1(5.26)	3(15.79)
合计	128	42(32.81)	300	30(10.00)	32(10.67)

3 讨 论

ELISA 检测过程中受诸多因素干扰,如孔间污染等,往往造成 HBV-SM 假阳性或假阴性,出现多种少见模式。通过对 18 372 例样本初检,发现 711 例共 13 种 HBV-SM 少见模式。通过对同一样本重新离心,在同等条件下,使用同一批次试剂,同一人员进行双孔平行复检,对其中溶血严重者,第 2 天重抽血复检,结果少见模式共检出 388 例,占总检测例数的 2.11%(388/18 372),占初检少见模式例数的 54.57%(388/711)。因此,在实际工作中遇到 HBV-SM 少见模式时,不要急于发出报告,应进行复检后,方可发出报告。

检测结果中 HBV-SM 少见模式的分析。①模式被认为是急性 HBV 感染潜伏期或慢性 HBV 携带者,传染性弱。①模式中有 5.56% HBV-DNA 阳性率,21.05%伴有转氨酶异常。所以对于该模式的出现不能简单判定为 HBV 携带,应辅以 HBV-DNA 检测,分析感染状况^[5]。①③和①②③⑤模式 HBV-DNA 阳性率分别达 96.78%和 100.00%,明显高于其他 HBeAg 阴性模式,表明 HBeAg 与 HBV-DNA 复制具有良好的相关性。值得注意的是 HBeAg 转阴并不意味病毒停止复制,在①②④⑤模式中 HBV-DNA 阳性率达 55.56%,表明病毒仍可进行复制。①②③⑤和①②④⑤模式中出现 HBsAb 阳性,但都具有较高水平 HBV-DNA 阳性率,同时伴有转氨酶异常。表明此种 HBsAb 的出现对机体并无保护作用,仅仅预示着患者的感染相与恢复相的动态消长过程^[6]或可能为 HBV 基因变异和不同亚型感染^[7-8]。②④、⑤、④⑤、④、②⑤和②④⑤这几种 HBV-SM 少见模式的共同点是 HBsAg、HBeAg 阴性,只出现抗体。一般认为这些模式表示机体曾感染过乙肝病毒现处于恢复期,没有传染性,往往将其忽略。虽然在这些模式中均未检出 HBV-DNA,但发现这些模式均有不同程度的转氨酶阳性率。有研究发现,部分 HBsAb 及 HBeAb 转换患者 HBV 可以在肝细胞内长期隐匿,呈低水平复制状态^[9],而血清中已没有 HBV 颗粒存在,此时 FQ-PCR 结果为阴性。同时也要考虑是否有其他肝脏病毒混合感染的可能性,文献^[10]报道 68 例丙肝阳性血清乙肝病毒标志物分布情况发现②④、④⑤、⑤占 7.4%。因此,这些少见模式应引起临床的重视。

总之,在检测 HBV-SM 五项时,遇到少见模式一定要进行复检,并结合 HBV-DNA 和转氨酶进行综合分析判断,为临床提供可靠的诊疗依据。

参考文献

[1] 史鸣树,闵建荣.乙型病毒性肝炎[M].北京:人民军医出版社,2009:2-10.
[2] Mangia A,Chung YH,Hoofnagle JH,et al.Pathogenesis of chronic liver disease in patients with chronic hepatitis B virus infection without serum HBeAg[J].DigDis Sci,1996,41(12):2447-2452.

[3] Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Quantitative serum HBV DNA levels during different stages of chronic hepatitis B infection[J]. Hepatology, 2002, 36(6): 1408-1415.

[4] Liu QC, Zeng K, Zhuang ZH, et al. The Use of artificial neural networks in analysis catio trypsinogen gene and hepatitis B surface antigen[J]. Am J Immunol, 2009, 5(2): 50-55.

[5] 杨道琼, 陈华根. 单纯 HBsAg 阳性临床分析[J]. 四川医学, 2004, 25(12): 1326.

[6] 朱平安, 朱红秋, 申群喜, 等. HBsAg 阳性的血清学少见模式病毒学分析[J]. 中国现代医学杂志, 2003, 13(21): 110-113.

[7] Zhang JM, Xu Y, Wang XY, et al. Coexistence of hepatitis B surface antigen(HBsAg) and heterologous subtype-specific antibodies to HBsAg among patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. Clin Infect Dis, 2007, 44(9): 1161-1169.

[8] Lada O, Benhamou Y, Poynard T, et al. Coexistence of hepatitis B surface antigen(HBsAg) and anti-HBs antibodies in chronic hepatitis B virus carriers: influence of “a” determinant variants[J]. J Virol, 2006, 80(6): 2968

[9] 周建丽, 王顺安, 徐宝琴, 等. 乙型肝炎患者组织和血 HBV-DNA 对比研究[J]. 肝脏, 1999, 4(1): 40.

[10] 唐满江. 156 例丙肝阳性血清检出乙肝病毒标志物情况分析[J]. 南华大学学报, 2007, 35(1): 128-129.

(收稿日期: 2012-08-08)

• 经验交流 •

某院呼吸科患者下呼吸道感染病原菌与耐药性分析

史连盟, 郝玉梅

(西宁市第三人民医院内科, 青海西宁 810005)

摘要:目的 了解该院呼吸科患者下呼吸道感染感染的主要病原菌及其耐药性, 为指导临床用药提供依据。方法 对该院 2009 年 5 月至 2012 年 5 月呼吸科住院患者的下呼吸道感染合格痰液和咽拭子标本中分离的病原菌及抗菌药物的耐药状况进行回顾性分析。结果 从呼吸道感染患者标本中共分离出各种病原菌 1 770 株, 其中分离出革兰阴性杆菌 1 098 株, 占 62. 03%; 革兰阳性球菌 181 株, 占 10. 23%; 真菌 491 株, 占 27. 74%。药敏试验显示, 革兰阴性杆菌中, 亚胺培南、环丙沙星和氨曲南耐药率较低; 革兰阳性球菌中, 环丙沙星耐药率较低, 未发现对万古霉素和利奈唑胺耐药的菌株。结论 革兰阴性杆菌是该院呼吸科下呼吸道感染主要病原菌, 其次是真菌、革兰阳性球菌, 细菌耐药现象严重, 需要进一步规范抗生素的应用, 根据药敏试验结果合理化选用抗菌药物, 以保证治疗效果, 从而控制和减少耐药菌株产生。

关键词:呼吸道感染; 微生物学; 药物耐受性

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 23. 062 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2012)23-2935-02

近年来, 由于抗菌药物的广泛使用及不合理使用, 耐药菌株逐年增加, 对于临床治疗十分棘手。为此, 笔者对本院 2009 年 5 月至 2012 年 5 月呼吸科患者下呼吸道感染病原菌及耐药状况进行了回顾性分析, 报道如下。

1 材料与方法

- 1.1 菌株来源 所有病原菌分离自本院 2009 年 5 月至 2012 年 5 月呼吸科住院患者的合格痰液和咽拭子标本。
- 1.2 菌株分离与鉴定 培养分离严格按照第 3 版《全国临床检验操作规程》。鉴定采用法国梅里埃公司 ATB 鉴定仪。
- 1.3 药敏试验 采用 K-B 法(琼脂扩散法), 药敏纸片为英国 Oxoid 公司产品, 结果判断按照美国临床实验室标准化研究所(CLSI)2007 年制定的标准进行判读。
- 1.4 质量控制 质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC25923, 大肠埃希菌 ATCC25922, 铜绿假单胞菌 ATCC27853, 白假丝酵

- 母菌 ATCC90028。
- 1.5 统计学处理 采用 WHONET5.4 软件进行统计分析。
- 2 结 果
- 2.1 病原菌分布 4 320 例标本中共检出病原菌 1 770 株(排除从同一标本中分离出的相同菌株), 检出率为 40. 97%, 其中革兰阴性杆菌 1 098 株, 占 62. 03%; 革兰阳性球菌 181 株, 占 10. 23%, 真菌 491 株, 占 27. 74%。
- 2.2 耐甲氧西林葡萄球菌(MRS)检出率 检出耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)11 株, 占 18. 03%(11/61), 检出耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS)15 株, 占 22. 39%(15/67)。
- 2.3 耐药率 嗜麦芽窄食单胞菌对米诺环素、左氧氟沙星、复方新诺明的耐药率分别为 1. 40%、91. 54%、8. 45%。革兰阴性杆菌、革兰阳性球菌对常用抗菌药物的耐药率见表 1~2。

表 1 常见革兰阴性杆菌对抗菌药物的耐药性[n(%)]

抗菌药物	大肠埃希菌(n=165)	肺炎克雷伯菌(n=106)	铜绿假单胞菌(n=261)	鲍曼不动杆菌(n=228)
氨苄西林	145(87. 88)	95(89. 62)	—	—
头孢唑林	135(81. 82)	89(83. 96)	—	—
头孢呋辛	92(55. 76)	63(59. 43)	—	—
头孢西丁	57(34. 55)	38(65. 84)	—	—
头孢吡肟	42(25. 45)	27(25. 47)	132(50. 57)	119(52. 19)
头孢曲松	63(38. 18)	42(39. 62)	—	121(53. 07)
头孢他啶	63(38. 18)	42(39. 62)	155(59. 38)	121(53. 07)
哌拉西林	142(86. 06)	88(83. 02)	192(73. 56)	201(88. 16)
环丙沙星	15(9. 09)	11(10. 37)	19(7. 28)	65(28. 51)

—: 无数据。