

测分析。其研究结果显示,急性上呼吸道感染组患儿血清 PCT、hs-CRP、IL-6 均明显高于健康对照组;而病毒组患儿血清 PCT、hs-CRP、IL-6 水平与健康对照组接近,其差异无统计学意义。此外,通过对细菌感染组患儿血清 PCT、hs-CRP、IL-6 水平的敏感度及特异度进行比较,结果显示,PCT、hs-CRP、IL-6 对诊断细菌引起的急性上呼吸道感染敏感度、特异度均较高,以 PCT 指标最高,其敏感度为 91.60%,特异度为 90.50%,进而提示,血清 PCT 可作为较为理想的指标,用以早期判断急性上呼吸道感染患儿是否为细菌感染。以上研究结果表明,血清 PCT、hs-CRP、IL-6 水平的测定对急性上呼吸道感染患儿病情严重程度的评价均具有一定的临床意义,对以上指标的联合检测及综合评价,对急性上呼吸道感染患儿早期诊断、病情判断、治疗方案选择及预后评估均具有重要的临床意义。

参考文献

[1] 刘霞,吴文先.痰热清注射液治疗儿童急性呼吸道感染的临床疗效观察[J].现代预防医学,2011,38(19):3932-3933.
 [2] 李友篁,周碧燕,覃李线,等.急性呼吸道感染患儿白细胞计数、内毒素、C 反应蛋白水平变化及临床意义[J].现代生物医学进展,2012,12(18):3522-3524.
 [3] 丁诗文.Hs-CRP 与白细胞联合检测在小儿急性上呼吸道感染中的应用[J].咸宁学院学报(医学版),2012,26(1):54-55.
 [4] 徐冬梅,郑颖,李蓓,等.血清 PCT、CRP 和 IL-18 检测对急性上呼

吸道感染患儿的临床意义[J].中国卫生检验杂志,2012,22(11):2698-2700.
 [5] 吕伟标,黄倩婷,谢健敏,等.CRP、WBC、MP-Ab 联合检测在儿童急性呼吸道感染中的价值[J].实验与检验医学,2011,29(4):373-374.
 [6] 耿明霞,殷少华,马杰.不同检测指标对急性胰腺炎的早期诊断价值探讨[J].国际检验医学杂志,2012,33(22):2798-2799.
 [7] 周永贤,黄瑞玉,周才.降钙素原在新生儿败血症诊断中的应用[J].广东医学,2011,32(5):629-630.
 [8] 胡可,刘文恩,梁湘辉.降钙素原在细菌感染中临床应用的研究[J].中华医院感染学杂志,2011,21(1):30-33.
 [9] 姚艳梅,王捷鹏,张寿山.监测急性胰腺炎患者 PCT、TNF- α 、IL-6 的临床价值[J].中国医学创新,2012,9(8):42-43.
 [10] 钟宏,史勇,李观强.TNF- α 和 IL-6 在重症急性胰腺炎患者血清中的变化及临床意义[J].中国医药导报,2012,9(19):157-158.
 [11] 李兵飞,康剑,郑瑞庆,等.外周血 C 反应蛋白测定对急性上呼吸道感染患儿的诊断意义[J].中国当代儿科杂志,2005,7(3):261-262.
 [12] 杨连喜,侯卫科,孙云霞.CRP 和 WBC 联合检测在儿童急性感染性疾病诊断中的临床价值[J].检验医学与临床,2011,8(20):2533-2534.
 [13] 王治伟,迟琼.急性胰腺炎患者血清 TNF- α 、IL-6 及 hs-CRP 水平变化及临床意义[J].白求恩医学院学报,2012,10(2):85-87.

(收稿日期:2013-01-08)

• 经验交流 •

308 例慢性乙肝患者血清 HBV DNA 载量与肝功能及 HBV-M 检测结果分析

曾 钢,吴 斌,李彩东,段正军

(甘肃省兰州市第二人民医院,甘肃兰州 730046)

摘要:目的 探讨慢性乙型肝炎患者(CHB)血清 HBVDNA 载量与乙肝免疫学标志物(HBV-M)定量及其与肝功能的的关系。**方法** 对 308 例慢性乙型肝炎患者分别用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)检测血清 HBVDNA 载量,化学发光免疫分析法(CLIA)检测乙型肝炎病毒患者血清免疫学标志物(HBV-M)含量,并用速率法测定丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)的含量。**结果** 在不同的 HBV-M 定量阳性模式组中以 HBsAg 阳性、HBeAg 阳性、HBcAb 阳性组 HBVDNA 载量和 ALT、AST 含量均高于其他 HBV-M 定量阳性模式组;在 HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎组和 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎组中,HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎组年龄显著大于 HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎组,HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎组 HBVDNA 载量,ALT、AST 含量均高于 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎组和健康对照组,差异有统计学意义($P^{\#} < 0.01$ 或 $P^* < 0.05$)。**结论** HBVDNA 是反映体内 HBV 感染、复制和传染性强弱的全标准,HBeAg 也是说明体内病毒复制的良好指标。HBeAg 与 HBVDNA 载量关系密切,HBeAg 阴转不表示病毒停止复制,也不能反映肝脏的损伤程度和预后。血清 ALT、AST 与肝细胞受损有直接关系,是体现肝细胞受损与坏死的指标。综合分析 HBV-M、HBVDNA 水平及肝功能指标,才能更加客观和准确地评估病情的变化、严重程度。

关键词: 肝炎,乙型,慢性; DNA,病毒; 丙氨酸转氨酶; 天冬氨酸氨基转移酶类

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.068

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2013)14-1908-03

乙型肝炎病毒(HBV)感染后,因其发病的病理、生理尚未阐明,临床症状及表现十分复杂,病情迁延可由多种不同的血清学模式^[1]。乙型肝炎病毒核酸(HBVDNA)是反映 HBV 复制活跃程度及传染性的最直接指标,也是观察抗病毒药物疗效、预后和指导抗病毒药物应用的重要指标之一,HBVDNA 定量的检测从根本上突破了免疫学方法等间接方法的局限性,通过直接检测病毒核酸水平,可真实的反映患者体内的病毒水平。HBV 感染后有多表现于隐形感染,急性肝炎到慢性肝炎,

甚至是暴发性肝炎或肝细胞癌。而实验室检查主要依据乙肝病毒 HBV-M 和 HBVDNA 等检测。HBVDNA 是反映体内 HBV 感染、复制和传染性强弱的标准,HBeAg 也是说明体内病毒复制的良好指标。血清 ALT 与肝细胞受损有直接关系,是体现肝细胞受损的直接指标^[2]。慢性乙型肝炎(CHB)患者根据乙型肝炎乙肝标志物中 e 抗原(HBeAg)状态不同可分为 HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎和 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎两种类型。本研究选取来本院就诊的慢性乙型肝炎患者 308

例,分别进行 HBVDNA 载量、HBV-M 定量及肝功能指标 ALT、AST 的检测,并探讨它们之间的关系,为临床诊断提供准确可靠的实验数据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 7 月至 2013 年 1 月来本院就诊的慢性乙型肝炎 308 例。门诊 232 例,住院 76 例。男 221 例,女 87 例,男女比例为 2.5 : 1。年龄在 5~74 岁之间,平均 38 岁。排除酒精肝、脂肪肝及合并有其他病毒感染者。该诊断符合 2010 年 12 月中华医学会肝病分会与中华医学会感染病分会修订的《慢性乙型肝炎防治指南》中的诊断标准^[3]。健康对照组 40 例来自我院体检中心某事业单位健康体检者(排除肝、胆、胰及心血管疾病体检者)所有标本空腹抽取静脉血 5 mL,室温静置后立即分离血清待检。

1.2 主要试剂和仪器

1.2.1 主要试剂 乙型肝炎病毒核酸(HBV DNA)定量 PCR 试剂购自湖南圣湘生物科技有限公司,试剂批号 2012008,乙型肝炎病毒免疫学标志物(HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb)定量检测试剂盒由北京科美生物技术有限公司提供。试剂盒组成:(1)包被板;(2)酶标记物;(3)校准品;(4)化学发光底物液 A 和 B;(5)此外还有浓缩洗涤液、封板膜、说明书等。肝功能指标 ALT、AST 试剂由贝克曼(BECKMAN)公司提供,所有操作均严格按说明书进行。

1.2.2 主要仪器 美国 Applied Biosystem 公司生产的 7300 型荧光定量分析仪,北京科美 GLORUNNER 化学发光免疫分析仪,美国 BECKMAN AU-680 型全自动生化分析仪。

1.3 方法 采用圣湘免核酸提取的“一步法”检测 HBVDNA 载量,具体操作如下:在 PCR 反应管中加入 5 μL 的“核酸释放剂”,然后分别加入 5 μL 待测样品、阴性对照、阳性对照以及定

量参制品,吸打 3~5 次混匀(轻轻吸打,避免出现气泡),每管加入 40 μL PCR-mix,吸打混匀 2~3 次盖上管盖,上机检测即可。循环参数:50 °C × 2 min 一个循环, Taq 酶活化:94 °C × 5 min 一个循环;变性:94 °C × 15 s;退火和延伸:57 °C × 30 s,共 45 个循环。HBVDNA 定量结果 > 1.00E+02 IU/mL 判为阳性;HBsAg > 0.5 ng/mL, HBsAb > 10 mIU/mL, HBeAg > 0.05 NCU/mL, HBeAb > 5.0 NCU /mL, HBcAb > 1.5 P NCU/mL 判为阳性;ALT、AST 检测结果 > 50 U/L 判为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行 t 检验和 F 检验。血清 HBV DNA 检测结果经对数转换后呈正态分布,各组检测结果以对数值 $\bar{x} \pm s$ 表示, P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBV-M 不同模式与 HBVDNA 载量、ALT、AST 结果比较 308 例 HBV 感染者根据血清标志物模式的不同分为:模式 1 [HBsAg(+), HBeAg(+), HBcAb(+)] ; 模式 2 [HBsAg(+), HBeAg(+)] ; 模式 3 [HBsAg(+), HBeAb(+), HBcAb(+)] ; 模式 4 [HBsAg(+), HBcAb(+)]。各模式组 HBVDNA 阳性率分别为 90.6%, 87.5%, 60%, 46.7%。与模式 1 组比较, P* < 0.05 (差异具有统计学意义), 见表 1。本研究发现,还有另外 3 种模式:[HBsAg(+), HBsAb(+), HBeAb(+), HBcAb(+)] 模式 1 例; [HBsAg(+), HBeAg(+), HBeAb(+), HBcAb(+)] 模式 1 例; [HBsAg(+), HBsAb(+), HBcAb(+)] 模式 1 例, HBVDNA 的阳性率分别为 0%, 100%, 100%。

2.2 HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎组和 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎组血清 HBVDNA 载量与肝功能 ALT、AST 结果比较, 见表 2。

表 1 308 例慢性乙型肝炎患者 HBVDNA 载量与 HBV-M、ALT、AST 结果比较

分组	HBV-M 定量阳性模式	n	HBVDNA (阳性率)	HBVDNA(̄x±s) 病毒载量(log10 IU/mL)	ALT(̄x±s) U/L	AST(̄x±s) U/L
1	1,3,5	117	90.6%(106/117)	6.54±2.26	152.42±92.61	98.31±76.77
2	1,3	8	87.5%(7/8)	5.17±1.36*	76.30±72.90*	48.10±31.40*
3	1,4,5	120	60%(72/120)	4.94±1.23*	67.75±50.97*	73.29±52.89*
4	1,5	60	46.7%(28/60)	3.13±1.65*	46.23±35.87*	42.07±23.34*

: P < 0.05, 与模式 1 组比较。

表 2 HBeAg(+)组和 HBeAg(-)组中 HBVDNA 载量和 ALT、AST 结果比较

组别	n	年龄(岁)	HBVDNA 阳性率	HBVDNA 载量 (log10 IU/mL)	ALT (U/L)	AST (U/L)
HBeAg(+)	126	36.9±13.1	90.5%	5.46±2.27	147.96±91.15#	95.30±74.67#
HBeAg(-)	182	41.8±12.4	55.5%	3.99±1.38	58.70±49.28*	61.14±49.12*
健康对照组	40	35.3±11.2			32.51±11.21	28.95±9.65

#: P# < 0.01; *: P* < 0.05, 与健康对照组比较; -: 无数据。

3 讨论

乙型肝炎患者症状及临床表现非常复杂,其 HBVDNA、HBV-M、肝功能只能片面地反映乙型肝炎患者在感染 HBV 的不同时期与机体免疫系统反应的结果、血清中 HBV 是否存在复制及肝脏炎症程度。以往的研究多认为乙型肝炎患者血清 HBeAg 阳性患者病毒复制较为活跃,且以血清 HBVDNA 检测水平作为病毒复制的指标,但近年来却认为血清学 HBeAg 转阴并不能说明乙型肝炎病毒复制的停止,部分 HBeAg 阴性的患者同样存在 HBV 的复制和传播,其特点是对目前治疗方案的持续应答率低、复发率高、自然缓解率低、临床转归差^[4]。

本研究用 CLIA 法测定乙型肝炎病毒患者血清中免疫学标志物(HBV-M)含量和 RT-PCR 法检测 HBVDNA 病毒载量结果见表 1。从表 1 可以看出,共检出 4 组模式。其中以 1、3、5 阳性 {HBsAg(+), HBeAg(+), HBcAb(+)} ; 1、4、5 阳性 {HBsAg(+), HBeAb(+), HBcAb(+)} ; 1、5 阳性 {HBsAg(+), HBcAb(+)} 共占 96.4% (297/308)。模式 1 组 117 例, HBVDNA 的阳性率为 90.6%; 模式 3 组 120 例, HBVDNA 的阳性率为 60%; 模式 4 组 60 例, HBVDNA 的阳性率为 46.7%。在另外 3 种少见模式组中出现 HBsAg、HBsAb 同时阳性,且 [HBsAg(+), HBeAg(+), HBeAb(+), HBcAb(+)] 阳性模

式组和[HBsAg(+), HBsAb(+), HBcAb(+)]阳性模式组中 HBVDNA 阳性率为 100%。HBsAg 是 HBV 感染的特异性指标, HBsAb 是由 HBsAg 暴露的抗原决定簇刺激机体产生的特异性保护抗体, 一般在 HBV 感染机体至 HBsAg 消失后或注射乙肝疫苗后出现阳性, 是 HBV 感染终止及有免疫力的标志, HBsAb 是一种保护性抗体, 能中和 HBsAg, 具有防御 HBV 感染的作用。理论上两者是不会同时出现阳性, 但在临床实际检测中确有一些患者表现为两者同时存在。本研究也显示, 在 HBV 感染者中, 确实存在 HBsAg 与 HBsAb 同时阳性的现象, 且占 HBsAg 阳性患者一定的比例。另外, 由于干扰素既能抑制病毒复制, 又能调节宿主免疫, 因此对于干扰素治疗的慢性乙肝患者, 在治疗中虽出现 HBsAb 血清转换但由于 S 基因的变异, 而不能将 HBsAg 清除^[5]。据报道^[6], 病情较重的 HBV 感染者, 其 HBsAg 与 HBsAb 同时阳性的检出率较高。近年来, 治疗后乙肝转阴、出现 HBsAb 也较常见。但仍有部分患者存在病毒复制, 研究较多的是病毒变异的存在。各组与模式 1 组比较, 差异具有统计学意义($P^* < 0.05$)。

从表 2 可以看出, HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎组年龄显著大于 HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎组, 可能有前者发展而来。HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎组 HBVDNA 载量高于 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎组($P^* < 0.05$), 提示前者体内病毒复制水平显著高于后者, 间接地证实了 e 抗原是病毒复制和具有传染性的标志, 与血清 HBVDNA 存在有良好的 consistency。本研究还显示, HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎组中 ALT、AST 的含量也高于 HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎组。与健康对照组比较, 差异具有统计学意义($P^* < 0.01$ 或 $P^* < 0.05$)。

本研究结果显示, 乙型肝炎患者血清 HBVDNA 水平与 ALT 水平成正比, 随着病毒载量的升高 ALT 的水平呈上升趋势, ALT 水平升高是疾病活动的重要预测因素。国内外学者对此已达成共识, 强调应及早进行抗病毒治疗, 以尽快阻止肝细胞持续坏死^[7]。一些国外专家提出了核苷(酸)类似物治疗慢性乙型肝炎路线图, 其核心内容是核苷(酸)类似物治疗慢性

乙型肝炎时, 根据患者血清 HBV DNA 水平, 监测和评价治疗的应答情况, 调整治疗方案, 降低耐药的发生率, 提高长期疗效^[8]。HBVDNA 是反映体内 HBV 感染、复制和传染性强弱的金标准, HBeAg 也是说明体内病毒复制的良好指标。HBeAg 与 HBVDNA 载量关系密切, 血清 ALT、AST 与肝细胞受损有直接关系, 是体现肝细胞受损与坏死的指标。全面综合分析 HBV-M、HBVDNA 水平及肝功能指标, 才能更加客观和准确地评估病情的变化、严重程度, 更好地为临床医师诊疗提供真实、准确可靠的实验数据。

参考文献

- [1] 施志农, 陈继梅. 1546 例乙型肝炎患者 HBV-M、HBVDNA、肝功能检测结果分析[J]. 中华全科医学, 2011, 9(6): 966-968.
- [2] 程渝, 郭运芬. 乙肝病毒不同血清标志物 ALT 与 HBVDNA 载量的临床意义[J]. 西部医学, 2010, 22(5): 911-914.
- [3] 中华医学会肝病分会、中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2011, 19(1): 13-24.
- [4] 刘红, 黄从想. HBeAg 阴性的慢性乙型肝炎的病理及临床分析[J]. 中外医学研究, 2012, 10(4): 110-111.
- [5] 郎江明. 临床免疫诊断学[M]. 广州: 广东科技出版社, 2003: 44.
- [6] 尹华发, 卢建溪, 陈青, 等. 乙肝表面抗原及抗体同时阳性的感染者调查[J]. 中国公共卫生, 2001, 17(7): 621-622.
- [7] 许德军, 王晓伟, 徐嘉. 乙型肝炎病毒 e 抗原阴性慢性乙型肝炎患者的肝组织病理分级分期及丙氨酸转氨酶的关系[J]. 临床内科杂志, 2007, 24(2): 94-95.
- [8] Keefe EB, Zeuzem S, Koff RS, et al. Report of an international workshop: roadmap for management of patients needing oral therapy for chronic hepatitis[J]. Clin. Gastroenterol Hepatol; the Official Clinicalpractice Journal of the American Gastroenterological Association, 2007, 5(8): 890-897.

(收稿日期: 2013-03-18)

• 经验交流 •

常见非发酵革兰阴性杆菌的临床分布及耐药性分析*

凌华志, 沈继录, 王中新, 徐元宏

(安徽医科大学第一附属医院检验科, 安徽合肥 230022)

摘要:目的 分析非发酵革兰阴性杆菌的临床分布及对常用抗菌药物的敏感性。方法 临床标本常规分离培养后采用 MicroScan WalkAway 96 PLUS 及 VITEK 2 COMPACT 全自动细菌鉴定仪鉴定, 按 CLSI 2012 标准, 采用纸片扩散法进行药敏试验, WHONET 5.6 软件进行耐药性分析, χ^2 检验比较耐药率。结果 1 192 株非发酵革兰阴性菌中第 1 位为鲍曼不动杆菌(AB), 占非发酵革兰阴性菌的 40.5%(482 株), 其次为铜绿假单胞菌(PA), 占 37.4%(446 株); 菌株主要来自痰(70.1%), 其次为尿(7.1%)和分泌物(6.0%)。非发酵菌在临床科室分布广泛, 前 2 位的科室为 ICU(26.5%)和呼吸内科(10.8%)。AB 对除米诺环素外的被测抗菌药物敏感率均低于 50%, PA 对除氨曲南及哌拉西林外的多数被测抗菌药物的敏感率在 60%~80%。亚胺培南不敏感 PA 及 AB 对多数被测抗菌药物的耐药率高于亚胺培南敏感菌株($P < 0.05$)。嗜麦芽窄食单胞菌和洋葱伯克霍尔德菌对所测药物的敏感率分别为 76.3%~85.3%和 33.3%~64.7%。结论 非发酵革兰阴性杆菌, 特别是鲍曼不动杆菌的耐药性相当严重, 应当引起临床医生及医院感染监控人员的高度重视。其中, 亚胺培南耐药的鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌的多重耐药性尤其值得关注。

关键词:革兰氏阴性菌; 抗药性; 微生物; 医院感染; 监测

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.14.069

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2013)14-1910-02

非发酵革兰阴性杆菌是指不能通过发酵糖类为细菌生长、繁殖提供能量的革兰阴性需氧或兼性厌氧杆菌, 多为条件致病

* 基金项目: 安徽医科大学第一附属医院青年科学基金资助项目(2011KJ07)。