

- [J]. 国际检验医学杂志,2011,32(8):1326-1327.

[4] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes 2010[J]. Diabetes Care,2010,33(Suppl 1):11-61.

[5] 赖基贤,江文庆,赖胜华,等.糖化血红蛋白在糖尿病诊断中的临床意义[J].临床医学,2011,31(1):53-54.

[6] 王远,何增荣.糖化血红蛋白检测在糖尿病患者中的临床应用[J].检验医学与临床,2011,8(3):355-356.

[7] 张冬青,汪德清.糖化血红蛋白与糖尿病并发症的相关性研究[J].军医进修学院学报,2009,30(4):467.

• 经验交流 •

- [8] 李慧萍.糖化血红蛋白对糖尿病诊断及监测的临床意义[J].检验医学与临床,2010,7(16):1730-1731.
 - [9] 罗杰利.糖化血红蛋白检测对糖尿病微血管病变评估的价值[J].检验医学与临床,2010,7(1):50-51.
 - [10] 涂国华,姜旭淦.糖化血红蛋白的研究现状与进展[J].临床检验杂志,2011,29(8):605-608.

(收稿日期:2013-07-18)

乙肝血清学标志物定量检测与 HBV-DNA 定量检测结果的相关性分析

刘志勇,王 娜,刘 浩,董 娟,常 东

(哈尔滨医科大学附属第一医院检验科, 哈尔滨 150001)

摘要:目的 探讨乙肝血清学标志物定量结果与 HBV-DNA 检测结果的相关性,以及两者联合检测在乙型肝炎疾病诊断中的作用。**方法** 收集来本院就诊的 548 例乙型肝炎患者的血清。采用化学发光免疫分析法定量检测乙型肝炎患者血清学标志物,用荧光定量 PCR 技术检测 HBV-DNA 的拷贝数,并分析其相关性。**结果** 乙型肝炎患者血清学标志物(HBsAg、Anti-HBs、HBeAg、Anti-HBe、Anti-HBc)的定量检测结果与 HBV-DNA 拷贝数的对数值之间 Spearman 相关分析结果分别为 $r^2 = 0.016$ 、 $P = 0.716$; $r^2 = -0.049$ 、 $P = 0.251$; $r^2 = 0.588$ 、 $P = 0.000$; $r^2 = -0.487$ 、 $P = 0.000$; $r^2 = -0.092$ 、 $P = 0.032$ 。**结论** 乙型肝炎患者血清标志物 HBeAg 与 HBV-DNA 载量存在正相关, Anti-HBe 与 HBV-DNA 含量存在负相关。血清学标志物检测与 HBV-DNA 检测需联合应用才能作出更准确判断。

关键词:乙型肝炎病毒; 乙肝血清学标志物; HBV-DNA

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.02.049

文献标识码:E

文章编号:1673-4130(2014)02-0233-03

乙型肝炎是由于感染乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)所导致的一种常见的传染类疾病,全球每年约100万人死于与HBV感染相关的肝硬化、肝衰竭以及原发性肝癌等疾病。在我国HBV病毒携带者约为1.2亿,其发病率一直居高不下。目前临床实验室主要采用ELISA和金标等方法对患者血清标本进行检测,但这些方法都存在一定的局限性。定量检测乙肝血清学标志物能更好地反映人体感染HBV后的免疫状态,对临床药物的疗效评价具有重要意义。乙型肝炎患者外周血HBV-DNA载量的检测可以直接反映HBV在人体内复制的情况,为乙型肝炎这一疾病提供了直接的病原学诊断。本实验着重研究乙型肝炎患者血清学标志物定量检测结果与HBV-DNA载量之间的相关性与区别,并讨论两者联合检测的意义与价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 1~6 月哈尔滨医科大学附属第一医院感染科就诊的乙型肝炎患者 548 例,年龄 10~83 岁;男 384 例,女 164 例。采用真空静脉采血法采集患者空腹不抗凝静脉血标本 3 mL 分离血清后准备。

1.2 检测方法与仪器

1.2.1 血清 HBV-DNA 含量检测 采用实时荧光定量 PCR (realtime PCR, RT-PCR) 技术检测乙型肝炎患者血清中的 HBV-DNA 含量, 仪器是 ABI 公司 7500 型荧光定量 PCR 仪, 试剂为上海科华生物试剂公司提供。反应参数: 94 °C 预变性 2 min, 1 个循环; 94 °C 变性 10 s, 40 个循环; 60 °C 退火、延伸及检测荧光 30 s 40 个循环。参考范围: $0.5 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^8$ 拷贝。

1.2.2 血清学标志物检测 利用化学发光微粒子免疫测定(CMIA)技术定量检测乙型肝炎患者血清学标志物(HBsAg、Anti-HBs、HBeAg、Anti-HBe、Anti-HBc)。仪器和试剂为 Architect i 2000 化学发光仪及其配套试剂。阳性判定标准:HBsAg 样本浓度值小于 0.2 ng/mL 视为阴性,样本浓度值大于或等于 0.2 ng/mL 视为阳性。Anti-HBs 样本浓度值小于 10.00

mIU/mL 视为阴性，样本浓度值大于或等于 10.00 mIU/mL 视为阳性。HBeAg 样本浓度值小于 0.5 PEIU/mL 视为阴性，样本浓度值大于或等于 0.5 PEIU/mL 视为阳性。Anti-Hbe 样本浓度值小于 0.3 PEIU/mL 视为阴性，样本浓度值大于或等于 0.3 PEIU/mL 视为阳性。Anti-Hbc 样本浓度值小于 0.9 PEIU/mL 视为阴性，样本浓度值大于或等于 0.9 PEIU/mL 视为阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理, 经 SPSS 18.0 统计软件验证, 各组数据均不符合正态分布, 变量之间的相关性分析应用 Spearman 相关分析。两组计量资料比较采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

本实验一共检测了 548 例乙型肝炎患者的标本,其中男 384 例,平均年龄 40 岁(10~83 岁);女 164 例,平均年龄 39 岁(12~62 岁)。HBV-DNA 阳性 283 例,阳性率为 51.6%,平均拷贝数 8.66×10^6 。

2.1 血清学标志物检测结果 根据乙型肝炎血清免疫学标志物结果的不同类型,将其分为3组。HBsAg阳性、HBeAg阳性和Anti-Hbc阳性为第1组,HBsAg阳性、Anti-Hbe阳性和Anti-Hbc阳性为第2组,HBsAg阳性、Anti-Hbc阳性为第3组。其他少见类型因例数较少故忽略不计。各组的HBV-DNA阳性率见表1。

表 1 各组乙肝病毒血清学标志物检测的 HBV-DNA 阳性率

组别	n	HBV-DNA 阳性率(%)
1 组	231	75
2 组	240	37.2
3 组	70	26
总计	541	51.6

2.2 乙型肝炎血清标志物与 HBV-DNA 相关性分析 乙型肝炎血清标志物与 HBV-DNA 相关性分析结果见表 3 HBV-

DNA 拷贝数取对数值后与 HBsAg 进行相关性分析, Spearman 结果为 $r^2 = 0.016, P = 0.716$; HBV-DNA 拷贝数取对数值后与 Anti-HBs 进行相关性分析, Spearman 结果为 $r^2 = -0.049, P = 0.251$; HBV-DNA 拷贝数取对数值后与 HBeAg 进行相关性分析, Spearman 结果为 $r^2 = 0.588, P = 0.000$; HBV-DNA 拷贝数取对数值后与 AntiHBe 进行相关性分析, Spearman 结果为 $r^2 = -0.487, P = 0.000$; HBV-DNA 拷贝数取对数值后与 AntiHBc 进行相关性分析, Spearman 结果为 $r^2 = -0.092, P = 0.032$ 。

表 2 乙型肝炎血清标志物与 HBV-DNA 相关性分析结果

乙型肝炎血清标志物	r^2	P
HBsAg	0.016	0.716
Anti-HBs	-0.049	0.251
HBeAg	0.588	0.000**
Anti-HBe	-0.487	0.000**
Anti-HBc	-0.092	0.032*

2.3 第1组 HBeAg 与 HBV-DNA 拷贝数的相关性分析 对第1组231例乙肝患者血清学标志物中的HBeAg与HBV-DNA拷贝数(取对数值)进行相关分析。Spearman结果为 $r^2=0.653, P=0.000$ 。作者注意到在238例HBeAg阳性病例组中,HBV-DNA低于检测下限共55例(23.1%),均高于其他相关报道。238例HBeAg阳性病例组中的HBeAg检测结果为 35.73 ± 30.91 ,其中HBV-DNA低于检测下限这55例的HBeAg检测结果为 8.48 ± 12.69 。经秩和检验,两组数据比较差异有统计学意义($P=0.000$)。

2.4 第2阳组 Anti-HBe 与 HBV-DNA 拷贝数的相关性分析

对第2阳组240例乙肝患者血清学标志物中的Anti-HBe与HBV-DNA拷贝数(取对数值)进行相关分析。Spearman结果为 $r^2=-0.054, P=0.402$ 。

3 讨 论

人体感染HBV后,可以使病毒在体内进行复制以及产生相应的血清学标志物。HBV-DNA阳性代表有完整的乙型肝炎病毒颗粒的复制,它是衡量乙型肝炎病毒复制有无及高低最灵敏、最精确、最直接的证据^[1]。目前临幊上主要以血清学标志物和HBV-DNA为乙型肝炎的主要诊断指标^[2-3]。

本研究应用CMIA技术定量检测乙型肝炎患者的血清学标志物(HBsAg、Anti-HBs、HBeAg、Anti-HBe、Anti-HBc),应用RT-PCR技术检测乙型肝炎患者血清中的HBV-DNA含量,并对它们之间的相关性进行了分析。CMIA是近年来发展起来的一种比较新的抗原抗体检测技术,它的标记发光剂是吖啶酯。这种技术具有灵敏度好、特异度高、重复性好和污染低等优点。

在本研究中,第1组(HBsAg阳性、HBeAg阳性和Anti-HBc阳性)标本的HBV-DNA的阳性率为75%,第2组(HBsAg阳性、Anti-HBe阳性和Anti-HBc阳性)标本的HBV-DNA的阳性率为37.2%。该两组标本的HBV-DNA的阳性率低于师作范等^[4]研究报道的结果(在HBsAg阳性、HBeAg阳性和Anti-HBc阳性组中HBV-DNA的阳性率为99.57%,在HBsAg阳性、Anti-HBe阳性和Anti-HBc阳性组中HBV-DNA的阳性率为42.46%),也低于张代春^[5]报道的结果(在HBsAg阳性、HBeAg阳性和Anti-HBc阳性组中HBV-DNA的阳性率为95.7%,在HBsAg阳性、Anti-HBe阳性和Anti-HBc阳性组中HBV-DNA的阳性率为54.0%)。以上原因可能是由于标本的数量差异,检测试剂、方法不同和研究对象的选取标准不同所导致。

本研究中的结果显示HBsAg与HBV-DNA之间无相关

性($r^2=0.016, P=0.716$),这一结论与周洪等^[6]得出的结论基本相符($r^2=0.023, P>0.05$)。但也有研究显示,HBsAg与HBV-DNA之间存在明显相关^[7-8]。以上原因可能是由于分组标准不同所导致的。HBeAg阳性长期以来一直被认为是乙肝患者具有较强传染性的标志。Tangkijvanich等^[9]研究表明,在抗病毒治疗过程中,定量检测HBeAg可以预测HBeAg阳性患者的血清学转换。应用定量检测HBeAg进行预测要优于采用HBeAg和HBV-DNA进行预测。多项研究表明,乙型肝炎患者血清HBeAg含量与HBV-DNA载量具有良好的相关性,HBeAg含量可以体现HBV体内复状态。本研究中显示的全体样本中HBeAg与HBV-DNA含量呈正相关($r^2=0.588, P=0.000$),第1组HBeAg与HBV-DNA含量呈正相关($r^2=0.655, P=0.000$);全体样本中Anti-HBe与HBV-DNA含量呈负相关($r^2=-0.487, P=0.000$),这些研究结果也支持上述观点。第2组中,Anti-HBe与HBV-DNA含量不存在相关性($r^2=-0.054, P=0.402$),这一统计结果与全体样本组中的统计结果相矛盾,可能是由于第二阳组中的HBV-DNA阳性样本个数偏少所导致的。本研究的数据还显示,Anti-HBc与HBV-DNA含量呈负相关($r^2=-0.092, P=0.032$)。

一般来讲HBeAg是HBV活动期复制的指标之一,HBeAg阳性提示HBV在肝细胞内复制活跃,HBV-DNA检出率应该很高,并且通常有较高的拷贝浓度。但是作者注意到,在HBeAg阳性组的238例样本中有55例样本的HBV-DNA低于检测下限,HBeAg浓度平均值为8.48 PEIU/mL。造成这一结果的原因是多方面的,可能是因为虽然HBV在肝细胞内复制活跃,但病毒释放入血的量可能较少;也可能是因为血清HBV-DNA复制水平低于检测下限或病毒发生变异,不能与探针结合^[10];还可能是因为HBV-DNA已经低于检测下限,但HBeAg还没完全降解。但本实验中HBeAg阳性组中的HBV-DNA阴性率(24.3%)高于其他相关报道,可能是由于实验本身的一些因素造成的,例如检测试剂、检测方法、检测限的设定以及检测对象的选取。HBeAg转为阴性,表明HBV复制水平降低。本研究中,310例HBeAg阴性样本中有35例样本(11.3%)HBV-DNA载量大于 1.0×10^5 ,提示HBeAg阴性患者体内病毒复制仍然活跃。这可能是因为患者体内HBV前-C区基因突变,机体发生特异性免疫耐受导致HBeAg阴性,而体内病毒复制仍然活跃^[11]。

综上所述,随着PCR技术在HBV-DNA检测中的应用和CMIA技术在定量检测乙型肝炎患者血清学标志物的应用,使HBV和血清学标志物的量化上了一个新的台阶。明确乙型肝炎血清学标志物定量结果与HBV-DNA检测结果之间的关系,可以极大地提高这些检测指标的临床价值,并为乙型肝炎的诊断、治疗及预后判断提供更有效的依据。因此,只有把乙型肝炎血清学标志物定量检测和HBV-DNA载量检测更有效地结合起来,才能为乙型肝炎的诊断、治疗及疗效评价提供一个更准确的依据。

参考文献

- [1] Aliyu SH, Aliyu MH, Salihu HM, et al. Rapid detection and quantitation of hepatitis B virus DNA by real-time PCR using a new fluorescent(FRET) detection system[J]. J Clin Virol, 2004, 30 (2):191-195.
- [2] Mushahwar I, Dienstag J, Polesky H, et al. Interpretation of various serological profiles of hepatitis B virus infection[J]. Am J Clin Pathol, 2006, 76(6):773-777.
- [3] Chu CJ, Hussain M, Lok ASF. Quantitative serum HBV DNA levels during different stages of chronic hepatitis B infection[J].

- Hepatology, 2002, 36(6): 1408-1415.
- [4] 师作范, 汪徽. 乙型肝炎血清标志物与 HBV-DNA 的相关性分析 [J]. 吉林医学, 2010, 31(33): 5966-5967.
- [5] 张代春. 乙型肝炎病毒血清学标志物与乙肝 DNA 相关性探讨 [J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(1): 82-83.
- [6] 周洪. 乙型肝炎病毒核酸 DNA 定量检测与标志物酶免检测的相关性分析 [J]. 中国医药指南, 2010, 28(1): 33-34.
- [7] Ozaras R, Tabak F, Tahan V, et al. Correlation of quantitative assay of HBsAg and HBV DNA levels during chronic HBV treatment [J]. Dig Dis Sci, 2008, 53(11): 2995-2998.
- [8] 余华, 李从容, 李娟, 等. HBV 无症状携带者血清中 HBsAg 与 HBV DNA 水平的相关性分析 [J]. 职业与健康, 2009, 25(20): 2162-2164.
- [9] Tangkijvanich P, Komolmit P, Mahachai V, et al. Comparison between CA125 and CA19-9 in the detection of breast cancer [J]. J Clin Oncol, 2004, 22(15): 3081-3087.

· 经验交流 ·

CA125、CA19-9 和 TSGF 联合检测在乳腺癌临床诊断中的价值探讨

陈晔

(江苏省常州市第四人民医院检验科, 江苏常州 213032)

摘要:目的 探究糖类抗原 125(CA125)、糖类抗原 19-9(CA19-9)和急性肿瘤特异性生长因子(TSGF)联合检测在乳腺癌临床诊断中的价值。方法 选取该院 2012 年 1 月至 2012 年 12 月初诊确认的乳腺癌患者 79 例, 并选取同期健康对照女性 79 例, 分别纳入观察组及对照组, 两组人群均接受 CA125、CA19-9 和 TSGF 联合检测, 对比两组患者检测数据并分析上述各项指标的敏感度及特异度。结果 观察组 CA125、CA19-9 及 TSGF 水平均显阳性且水平明显高于对照组, 两组数据比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。CA125、CA19-9 及 TSGF 联合检测敏感度为 91.1%, 特异度为 72.8%, 明显高于各单项检测的敏感度及特异度。结论 CA125、CA19-9 及 TSGF 联合检测对乳腺癌的早期诊断具有较高的敏感度及特异度, 若患者上述检测均超出参考值则提示乳腺癌可能, 应及时进行全面诊断及治疗, 以保证患者生活质量。

关键词:抗原, 肿瘤相关, 碳水化合物; 肿瘤标记, 生物学; 乳腺肿瘤

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.02.050

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)02-0235-02

乳腺癌是女性发病率第一的恶性肿瘤, 其发病高峰年龄段集中于 45~55 岁, 病因复杂, 发病率及死亡率均较高且具有迅速上升趋势^[1]。对乳腺癌的早期诊断和治疗是提高预后、保障患者生存质量的关键, 但肿瘤标志物单项检测特异度及敏感度均无法达到预期, 误诊、漏诊率较高^[2]。为此, 本例将糖类抗原 125(CA125)、糖类抗原 19-9(CA19-9)及恶性肿瘤特异性生长因子(TSGF)进行联合检测, 以探讨其指标在乳腺癌及健康女性中的差异, 现将研究过程与结论报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 4 月至 2010 年 3 月, 共有 79 例初诊确诊乳腺癌的女性患者在本院就诊, 均按照临床 B 超及病理诊断结果证实^[3], 年龄 29~71 岁, 平均年龄(47.1±15.0)岁, 纳入观察组; 并选取同期门诊健康体检女性 79 例, 均经严格临床检查排除乳腺癌, 年龄 28~71 岁, 平均年龄(46.9±16.3)岁, 在签署知情同意书后将其纳入对照组。两组人群年龄、性别、文化水平及疾病史等指标比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 本临床研究具有可比性。

1.2 检测方法 取两组人群清晨空腹静脉血 3 mL, 置于 3 000 r/min 离心机中离心 10 min, 将血浆分离后置于-80 ℃环境保存, 待测。CA125 及 CA19-9: 使用西门子公司的 centaur XP 及罗氏公司生产 COBAS 601 设备及相应检测试剂对 CA125 及 CA19-9 进行检测, 并使用化学发光法对上述糖类抗原水平进行检测, 操作步骤严格按照使用说明书^[4]; TSGF 检测: 使用福建新大陆生物技术有限公司提供的 TSGF 试剂盒, 利用双光束紫外分光光度计, 使用生化比色法进行检测; 正常参考值: CA125<35 U/mL, CA19-9<35 U/mL, TSGF<71 U/mL。

tween quantitative hepatitis B surface antigen, hepatitis B e-antigen and hepatitis B virus DNA levels for predicting virological response to pegylated interferon-α-2b therapy in hepatitis B e-antigen-positive chronic hepatitis B [J]. Hepatol Res, 2010, 40(4): 269-277.

- [10] Noborg U, Gusdal A, Horal P, et al. Levels of viraemia in subjects with serological markers of past or chronic hepatitis B virus infection [J]. Scand J Infect Dis, 2008, 40(3): 249-252.
- [11] Pang A, Yuen MF, Yuan HJ, et al. Real-time quantification of hepatitis B virus core-promoter and pre-core mutants during hepatitis E antigen seroconversion [J]. J Hepatol, 2004, 40(6): 1008-1017.

(收稿日期:2013-06-18)

1.3 观察指标 观察两组人群 CA125、CA19-9 及 TSGF 水平及差异, 确定联合检测是否有意义; 分别统计 CA125、CA19-9 及 TSGF 单独检测及联合检测的敏感度及特异度, 确定联合检测所得数据是否可靠。

1.4 统计学处理 对本临床研究的所有数据采用 SPSS 13.0 进行分析, 对计数资料采用卡方检验, 对计量资料采用 t 检验, 检验水准设定为 $\alpha=0.05$, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 检测结果 观察组 CA125、CA19-9 及 TSGF 水平均显阳性且水平明显高于对照组, 两组数据比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 两组人群 CA125、CA19-9 及 TSGF 水平对比($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CA125(U/mL)	CA19-9(U/mL)	TSGF(U/mL)
观察组	48	46.4±19.6	104.6±32.4	70.1±26.2
对照组	48	18.5±7.1	26.3±11.4	8.2±4.0
<i>t</i>		12.868	17.914	9.527
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

表 2 各项检测敏感度及特异度比较[n(%)]

项目	敏感度	特异度
CA125	34(43.5)	124(78.2)
CA19-9	50(63.3)	131(82.8)
TSGF	61(77.4)	99(62.4158)
联合检测	72(91.1)	115(72.8)

2.2 敏感度及特异度检测比较 CA125、CA19-9 及 TSGF 联合检测敏感度为 91.1%, 特异度为 72.8%, 明显高于各单项检