

• 临床检验研究论著 •

单纯 HBV 感染和 HBV HDV 重叠感染者血清标志物的比较

丁 艳,臧桂珍,李金龙,杨义贵,隋 俊,耿全林
(东南大学附属第二医院检验科,江苏南京 210003)

摘 要:目的 通过比较单纯乙型肝炎病毒(HBV)和乙丁型肝炎病毒(HBV HDV)重叠感染的患者血清中 ALT、HBV DNA 及 HBV 血清学标志(HBVM)等的异同,了解 HBV HDV 重叠感染特点,初步探讨 HDV 的致病机理。方法 对 95 例 HBV HDV 重叠感染的患者生物化学指标、肝炎病毒标志物等作统计分析,以 100 例单纯 HBV 感染患者作为对照。结果 在 95 例重叠感染者中,慢性乙型肝炎发生率最高,占 66.32%,肝硬化次之。按 HBV DNA 载量分类,两者差异无统计学意义($P>0.05$),重叠感染组 ALT 异常率与 HBV DNA 呈正相关($r=0.90, P<0.05$)。重叠感染组以 HBeAg 阴性模式为主($P<0.05$),按 HBsAg >250 IU/mL 统计,差异无统计学意义($P>0.05$);按 HBsAg >250 IU/mL 且 HBeAg >1 S/CO 统计时,单纯 HBV 组高于重叠感染组($P<0.05$)。HBcAb-IgM 阳性率在重叠感染组中明显高于单纯 HBV 感染($P<0.05$)。结论 乙、丁型肝炎病毒重叠感染在慢性 HBV 中的发生率高。随着 HBV 病毒 DNA 数量的增加,肝功能的异常率也增高,HDV 感染能抑制 HBeAg 表达,重叠感染组中 HBcAb-IgM 阳性率高,可能与慢性乙型肝炎病情加重反复有关。

关键词:重叠感染; 乙型肝炎; 丁型肝炎

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.14.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)14-1856-03

Comparison of serum markers between pure hepatitis B infection and superinfection of hepatitis B together with hepatitis D

Ding Yan, Zang Guizhen, Li Jinlong, Yang Yigui, Sui Jun, Geng Quanlin
(Department of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital of
Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210003, China)

Abstract: **Objective** To understand the characteristics of the superinfection of hepatitis B virus (HBV) together with hepatitis D virus (HDV) by comparing the differences of serum markers ALT, HBV DNA, HBVM, etc. In the pure HBV infection and the superinfection of HBV and HDV and to preliminarily investigate the pathogenesis of HDV. **Methods** The results of major biochemical indicators and hepatitis virus markers in 95 cases of HBV together with HDV infection and 100 cases of pure HBV infection as the control group were statistically analyzed. **Results** Among 95 cases in the superinfection group, the incidence rate of chronic HBV was the highest, accounting for 66.32% and followed by liver cirrhosis. There was no statistical difference between the two groups according to the HBV DNA loads ($P>0.05$). The good positive correlation existed between the ALT abnormal rate of the liver function and HBV DNA in the superinfection group ($r=0.90, P<0.05$). The HBeAg negative mode was predominant in the superinfection group ($P<0.05$). There was no difference between the two groups according to HBsAg >250 IU/mL ($P>0.05$). According to HBsAg >250 IU/mL and HBeAg >1 S/CO, the pure HBV infection group was higher than the super infection group ($P<0.05$). The positive rate of HBcAb-IgM in the super infection group was significantly higher than that in the pure HBV group ($P<0.05$). **Conclusion** The superinfection of HBV together with HDV infection has the high occurrence rate in chronic hepatitis B. With the HBV DNA level increase, the abnormal rate of the liver function is also increased. HDV infection can inhibit the HBeAg expression. The high positive rate of HBcAb-IgM in the superinfection patients might be related with chronic hepatitis B aggravation and recurrence.

Key words: superinfection; hepatitis B; hepatitis D

丁型肝炎病毒(HDV)内部由 HDV 基因组(RNA)和丁型肝炎病毒抗原(HDVAg)组成,HDV 颗粒外部包绕有一层来自感染 HBV 宿主的 HBsAg。HDV 的研究进展比较快,HDV 对肝细胞有直接细胞毒作用,可直接损伤肝细胞。HDV 的感染率也比较高,国内一些地方高达 9.5%^[1]。HDV 对 HBV 复制有无影响,如果有影响,是如何影响的,本文拟从一些生化、HBV 感染标志物等指标对合并 HDV 感染的血清进行统计研究,初步探讨 HDV 感染患者的血清学变化及可能致病机理。

1 资料与方法

1.1 一般资料 95 例乙丁型肝炎病毒(HBV HDV)重叠感染病例均为江苏省传染病医院 2010 年 10 月至 2013 年 3 月期间住院病人,男性 68 例,女性 27 例。年龄 19~81 岁,其中慢性

HBV 感染 63 例(66.32%),肝硬变 21 例(22.11%),肝癌 5 例(5.26%),急性 HBV 感染 6 例(6.31%)。诊断标准按照 2000 年全国传染病、寄生虫病学术会议讨论修订的病毒性肝炎诊断标准、单纯 HBV 感染 100 例作为对照,男性 76 例,女性 24 例。年龄 12~72 岁,其中慢性 HBV 感染 67 例(67.00%),肝硬变 24 例(24.00%),急性 HBV 感染 5 例(5.00%),肝癌 4 例(4.00%)。均排除甲、丙、戊、庚型病毒性肝炎。

1.2 检测方法及仪器 (1)HBV DNA 定量采用 PCR 反应法,由上海科华公司提供试剂盒,PCR 仪为罗氏 480。(2)HDV 抗体和 HDV 抗原检测试剂盒为北京贝尔生物工程有限公司生产。方法分别为酶联免疫捕获法和双抗体夹心法。(3)HBVM 及 HBV 病毒核心抗体 IgM 诊断试剂盒均由英科新创

(厦门)科技有限公司生产,方法为酶联免疫捕获法。仪器为 Microlab STAR IVD ELISA 和 FAME。(4)HBV 感染病毒表面抗原定量测定试剂盒及 e 抗原定量测定试剂盒均由雅培贸易(上海)有限公司提供,方法为化学发光微粒子免疫检测法,仪器为 ARCHITECT-I2000。(5)丙氨酸氨基转移酶测定试剂盒为北京莱帮生物技术有限公司提供,方法为 IFCC 速率法。仪器为 HITACHI 7600。

1.3 统计学方法 使用 SPSS17.0 统计软件分析,采用 χ^2 检验、直线回归分析和区间估计, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 病例基本情况 95 例 HBV HDV 重叠感染病例,HDV 抗原和 HDV 抗体两者均有一项血清学标志物阳性,判断为 HDV 感染。其中,以慢性 HBV 合并 HDV 感染为主,占 66.32%,HBV 肝硬化合并 HDV 感染次之,占 22.11%。

2.2 单纯 HBV 和重叠感染与 HBV DNA 载量病例数比较 检测单纯 HBV 和 HDV 肝炎中 HBV DNA 定量,将 HBV DNA 载量分成六个组,经 χ^2 检验,除 HBV DNA 载量为 10^6 组,差异有统计学意义($P<0.05$),其余载量组差异均无统计

学意义($P>0.05$),见表 1。

2.3 单纯 HBV 和重叠感染中 HBV DNA 定量与肝功能异常率和 ALT 数值之间的相关性 利用回归相关中的直线回归分析和区间估计统计分析,单纯 HBV 组肝功能中 ALT 异常率与 HBV DNA 载量间无相关性($r=0.78, P>0.05$),但与 ALT 的数值正相关($r=0.94, P<0.05$);重叠感染组肝功能中 ALT 异常率与载量间正相关($r=0.90, P<0.05$),但与 ALT 数值无相关性($r=0.48, P>0.05$),见表 2。

表 1 单纯 HBV 和重叠感染 HBV DNA 定量病例数比较

HBV DNA 载量 (cps/mL)	单纯 HBV [n(%)]	重叠感染 [n(%)]	χ^2	P
$10^7\sim10^8$	25(25.00)	19(20.00)	0.43	>0.05
$10^6\sim<10^7$	11(11.00)	21(22.10)	4.38	<0.05
$10^5\sim<10^6$	17(17.00)	17(17.89)	0.03	>0.05
$10^4\sim<10^5$	14(14.00)	12(12.63)	0.08	>0.05
$10^3\sim<10^4$	13(13.00)	12(12.63)	0.01	>0.05
$10^2\sim<10^3$	20(20.00)	14(14.74)	0.94	>0.05

表 2 单纯 HBV、重叠感染 HBV DNA 定量分别与肝功能异常率和 ALT 数值之间的相关性

HBV HDV 载量 (cps/mL)	单纯 HBV 感染(n=100)			重叠感染(n=95)		
	n	ALT 异常率(%)	ALT($\bar{x}\pm s$,U/L)	n	ALT 异常率(%)	ALT($\bar{x}\pm s$,U/L)
$10^7\sim10^8$	25	92.00	632.53±1 168.08	19	89.47	253.76±211.81
$10^6\sim<10^7$	11	63.64	384.29±287.01	21	76.19	192.52±281.43
$10^5\sim<10^6$	17	82.35	451.36±566.33	17	70.59	246.29±411.75
$10^4\sim<10^5$	14	71.43	217.21±196.49	12	66.67	186.61±257.40
$10^3\sim<10^4$	13	46.15	120.52±98.17	12	66.67	256.93±165.50
$10^2\sim<10^3$	20	55.00	106.76±110.61	14	64.29	146.60±96.43
P 值		>0.05	<0.05		<0.05	>0.05

2.4 单纯 HBV 感染和重叠感染 HBV M 模式 e 抗原比较大三阳类和小三阳类的比率,单纯 HBV 组为 52.00% 和 48.00%,重叠感染组分别为 28.42% 和 71.58%,经 χ^2 检验,两组病例差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 单纯 HBV 和重叠感染 HBV M 模式 e 抗原的比较[n(%)]

HBV M 模式	单纯 HBV(n=100)	重叠感染(n=95)	χ^2	P
135/1345/1235	52(52.00)	27 (28.42)	11.24	<0.05
145/1245	48(48.00)	68 (71.58)	11.24	<0.05

(1)1、HBsAg;2、抗 HBs;3、HBeAg;4、抗 HBe;5、抗 HBc。(2)135/1345/1235 为 e 抗原阳性;145/1245 为 e 抗原阴性。

表 4 单纯 HBV 和重叠感染组比较[n/n(%)]

项目	单纯 HBV	重叠感染	χ^2	P
HBsAg>250 IU/mL	76/100(76.00)	77/95(81.05)	0.74	>0.05
HBsAg>250 IU/mL 且 HBeAg>1S/CO	42/76(55.26)	21/77(27.27)	12.37	<0.05
HbCAb-IgM 阳性	10/100(10.00)	36/95(37.89)	21.03	<0.05

2.5 化学发光法比较两组中 HBsAg>250 IU/mL, HBeAg>1S/CO 及 HbCAb-IgM 阳性的差异。经 χ^2 检验,当 HBsAg >250 IU/mL 时,两组差异无统计学意义($P>0.05$);当 HBsAg>250 IU/mL 且 HBeAg>1S/CO 时,两组差异有统计

学意义($P<0.05$);HbCAb-IgM 在重叠感染中的阳性率明显高于单纯 HBV,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

3 讨 论

HDV 感染病毒是一种缺陷病毒,典型的 HDV 病毒感染人类一般是和 HBV 共存于患者体内,尤其以慢性 HBV 为主,肝硬化化次之^[2]。国内外也有一些报导中阐述 HBsAg 阴性或 HBVM 阴性血清中检出 HDV 标志^[3-4]。本研究显示,HDV 病毒以和慢肝合并感染为主,且也存在 HDV 和丙肝、酒精肝、自免肝合并感染及单独感染,这与上述报道一致。可能的原因:(1)HDV 抑制了 HBV 的复制,使 HBV 消失,低于目前的检测下限;(2)检测的时间为疾病的恢复期,HDVM 较 HBsAg 退后消失,后转阴;(3)少数 HDV 可独立完成病毒复制和表达^[5]。

HDV 对 HBV 复制与表达是否有抑制作用,文献报道结果不一^[6-8]。本文通过 PCR 法定量 HBV HDV,并分为五个载量水平,两组大多数无显著性差异($P>0.05$),这与张建良等^[9]报道一致,但机体在感染 HDV 后肝功能的异常率却随着病毒的增加而呈正相关,表明 HDV 感染后随着 HBV 病毒量的增加,肝功能也更容易异常,可见 HDV 对肝细胞有严重的破坏作用。有研究发现慢性 HBV 感染重叠 HDV 后,HBeAg 的血清水平下降,以小三阳为主要模式^[10-11],本文从定性和定量的角度证明结果符合上述观点。单纯 HBVM 的模式中以大三阳为主,而重叠感染的模式中以小三阳为主,这说明重叠感染后病毒间相互干扰现象可能影响了 HBV 复制,促使感染

者由大三阳转为小三阳,更趋向 e 抗原阴性。两组在 HBsAg>250 IU/mL 且 HBeAg>1S/CO 中,重叠感染组阳性率明显低于单纯 HBV 组。本文从定性和定量的角度充分证明 HDV 感染后 HBV 病毒复制受到抑制,这与颜卫荣^[12]报道的一致。

根据病程长短,丁型肝炎分为急性和慢性,其中,急性肝炎分为联合感染和重叠感染。前者指同时感染同一人,HBcAb-IgM 可呈阳性,后者指在 HBV 的基础上感染 HDV。慢性 HDV 多由重叠感染发展而来,因为联合感染和重叠感染的预后有别,所以如何区别很关键,除了临床症状、体征等以外,另一个重要指标就是 HBcAb-IgM,如果急性期 HBcAb-IgM 阳性,则判断为联合感染,反之,为重叠感染。本文重叠感染的病例大多数为慢性 HBV 合并 HDV,HBcAb-IgM 在重叠感染中的阳性率明显高于单纯 HBV,说明可能是重叠感染时慢性肝炎患者更容易病情加重反复有关,具体原因还有待讨论。

参考文献

[1] 雷祖才,宋清林.我国九个地区丁型肝炎病毒感染状况及其与乙型肝炎[J].中华实验和临床病毒学杂志,1995,9(1):25-28.

[2] 吴志德,周沛林.丁型肝炎病毒感染标志物在乙型肝炎病毒感染者中的检测研究[J].中华医院感染学杂志,2013,23(13):3294-3295

[3] Rosina F,Saracco G,Rizzetto M. Risk of post-transfusion infection with the hepatitis delta virus: A multicenter study[J]. New England Journal of Medicine.1985,312(23):1488-1691.

[4] 于君,王麟士. HBsAg 阴性及 HBVM 阴性肝炎发生 HDV 感染的探讨[J]. 河北医学院学报,1995,16(3):131-133.

[5] 许正锯,王崇国.丁型肝炎病毒单独感染一例[J]. 中华传染病杂志,2000,18(2):113-115.

[6] Liaw YF,Dong JT,Chiu KW,et al. Why most patients with hepatitis delta virus infection are seronegative for hepatitis B e antigen: A prospective controlled study[J]. Hepatol, 1991, 12(1): 106-109.

[7] 顾小红,李奇芬,王宇明. 丁型肝炎病人肝组织 HDAg 与 HBsAg/HBeAg 和 HBV-DNA 表达及关系[J]. 第三军医大学学报,2000,22(3):227-230.

[8] Ho E,Deltenre P,Nkuize M,et al. Coinfection of hepatitis B and hepatitis delta virus in Belgium a multicenter BASL study: Prospective epidemiology and comparison with HBV mono-infection[J]. J Med Virol,2013 85(9):1513-1517.

[9] 张建良,骆成榆,韩妙通,等. 乙丁型肝炎病毒重叠感时 HDV 与 HBV-DNA 定量的相关性研究[J]. 中西医结合肝病杂志,1999,9(3):10-11.

[10] Romeo R, Foglieni B, Casazza G, et al. High Serum Levels of HDV RNA Are Predictors of Cirrhosis and Liver Cancer in Patients with Chronic Hepatitis Delta[J]. PloS one, 2014, 9(3): e92062.

[11] 方晔,徐小燕,吴春萍. 乙肝重叠丁肝感染对乙肝患者血清标志物模式的影响初探[J]. 实用医技杂志,2004,11(8):1570-1571.

[12] 颜卫荣. 丁型肝炎病毒与乙型肝炎病毒感染关系的探讨[J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(12):2929-2931.

(收稿日期:2014-01-08)

(上接第 1855 页)

0.017),提示 CⅣ 与 HBV-DNA 有一定相关性,可以间接反映肝损害程度以及病毒复制水平。病毒不同水平复制状态下血清肝纤维化指标间差异没有显著性,说明病毒复制程度与肝纤维化程度不是一致的,也就是说病毒复制程度越高肝脏的纤维化程度不一定就越高。可能的原因有二:其一,病毒复制不是病理损伤的唯一因素,还应考虑机体的免疫病理因素,病毒的持续存在及复制只是机体免疫损伤的启动因子;其二,病毒复制与肝纤维化反映了疾病过程和发病机制的不同阶段,比如在免疫耐受期,病毒复制活跃但肝脏损伤不明显,而在免疫清除期,肝脏炎症活动严重,部分病毒被清除,可血清 HBV-DNA 水平却不高,与本研究结果一致。

本文结果表明兰州地区 HBV 感染者在 HBV-DNA 低复制期 HA 高于正常值的患者应尽早开始抗肝纤维化治疗。通过探讨兰州地区慢乙肝患者肝纤维化四项血清学指标水平和 HBV-DNA 数值特点,说明慢性乙型肝炎患者在抗病毒治疗的过程中也应加强抗纤维化的治疗。

参考文献

[1] Kim SU,Seo YS,Cheong JY,et al. Fibrosis Measurement by Fibroscan in Patients with Chronic Hepatitis B[J]. AP&T,2010,32(3):498-505.

[2] 郭纯. 肝纤维化患者临床检验血清学检测指标分析[J]. 中国当代医药,2011,9(27):18.

[3] 罗国庆,王康敏,蔡亚君,等. HBeAg 阴性乙型肝炎病毒携带者血

清 HBV-DNA 水平与肝纤维化指标相关性研究[J]. 实用肝脏病杂志,2008,11(5):317-318.

[4] 中华医学会肝病学分会,感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志,2011,19(1):13-24.

[5] 邵祥强,肖华胜. 肝纤维化发病机制与临床诊断的研究进展[J]. 世界华人消化杂志,2011,3(5):268-274.

[6] 张红春,吴月平,韩刚,等. 慢性 HBV 感染患者治疗前后外周血 HBV 特异 CTL、HBV-DNA、ALT 比较[J]. 临床检验医学,2013,31(3):226-228.

[7] 黄飞,倪正平. 血清肝纤维化指标联合测定在肝病中的临床价值[J]. 医学信息,2012,25(3):143-144.

[8] Salles N,Dussarat P,Foucher J,et al. Non-invasive evaluation of liver fibrosis by transient elastography and biochemical markers in elderly inpatients[J]. Gastroenterol Clin Biol,2009,2(33):126-132.

[9] 邵健,董翠英. HBV 携带者血清 HA、PCⅢ、CⅣ、LN 水平分析[J]. 放射免疫学杂志,2005,18(5):371-372.

[10] 孙亚琴,李东红,张崇芳,等. 病毒性肝炎患者血清中肝纤维化标志物的联合测定[J]. 中国实验诊断学,2008,22(8):1022-1023.

[11] 李杰,陈茂伟,周怡,等. 早期肝纤维化外周血清标志物筛选的初步研究[J]. 内科,2011,1(5):9-11.

[12] 岳晓粉,陆伟,侯伟,等. 肝脏炎症及胆红素对 Fibro Scan 诊断慢乙肝肝纤维化的影响[J]. 天津医药,2013,5(3):426-429.

(收稿日期:2014-02-11)