

乙型肝炎病毒 DNA 实时荧光定量 PCR 检测在临床诊断中的价值

周 丹(湖北省汉川市人民医院检验科 431600)

【摘要】 目的 建立实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测 HBV-DNA 含量的方法,探讨其在乙型肝炎预防、诊断、治疗及判断病情等方面的临床应用价值。**方法** 将临床样本分为 3 组,同时进行 ELISA 法与 PCR 检测 HBV-DNA 含量水平的测定。第 1 组为 HBsAg(阳性)、HBeAg(阳性)、抗-HBc(阳性)的患者。第 2 组为 HBsAg(阳性)、抗-HBe(阳性)、抗-HBc(阳性)的患者,第 3 组为 HBsAg(阳性)、抗-HBc(阳性)的患者,组与组之间进行阳性率及 HBV-DNA 含量的 *t* 检验。**结果** 228 例临床样本的检测结果显示,第 1 组患者 HBV-DNA 阳性率为 100%,显著高于其他各组,差异有统计学意义($P<0.01$)。HBV-DNA 平均含量为 7.53×10^8 copy/mL。第 2 组患者 HBV-DNA 阳性率低于第 1 组,两组比较差异有统计学意义($P<0.01$),但平均 HBV-DNA 含量为 9.58×10^7 copy/mL,与第 1 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。第 3 组患者 HBV-DNA 阳性率为 51.8%,与第 1 组比较差异有统计学意义($P<0.01$),但与第 2 组比较差异无统计学意义($P>0.05$),患者的 HBV-DNA 含量为 7.74×10^7 copy/mL,与第 1、2 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 实时荧光定量 PCR 所测 HBV-DNA 含量比 ELISA 法具有更好的灵敏度和特异性,能准确反映 HBV 在体内的复制情况,对抗病毒药物的选择和判断疾病的预后有一定的临床价值。

【关键词】 乙型肝炎病毒; HBV-DNA; 实时荧光定量 PCR 检测法; 酶联免疫吸附试验
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.20.055
中图分类号:R446.61;R512.62 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2010)20-2271-02

乙型肝炎病毒(HBV)是乙型肝炎的病原体,HBV 感染人体是一个连续、动态的过程,用 ELISA 法检测免疫标志物(HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc)可在一定程度上反映病毒是否处于复制状态,但是不可避免地具有一定的局限性,而 PCR 法检测 HBV-DNA 含量水平能直接体现 HBV 复制过程,敏感性更强,特异性更高。本文探讨血清 HBV-DNA 与免疫标志物的相关性、符合性和补充性,从而进一步证实 HBV-DNA 检测在乙型肝炎早期诊断、传染性识别、病毒复制水平判断以及抗病毒治疗效果,以及监测的临床价值。

1 材料与方法

1.1 一般资料 收集 2007 年本院门诊和住院乙型肝炎患者

288 例。

1.2 试剂与方法

1.2.1 HBV-DNA 采用 PCR 检测,试剂盒由上海复星科技有限公司提供,扩增仪为宏石 SLAN 核酸扩增仪,检测方法严格按照试剂盒说明书操作。

1.2.2 HBV 免疫标志物采用 ELISA 法检测,试剂盒由厦门新创公司提供,采用酶标仪进行结果判断,检测方法严格按照试剂盒说明书操作。

2 结 果

3 组 HBV-DNA 的检测结果显示见表 1。

表 1 3 组 HBV-DNA 检测结果

组别	模式	<i>n</i>	HBV-DNA 阳性率(%)	HBV-DNA 平均含量(copy/mL)
第 1 组	HBsAg(+),HBeAg(+),抗-HBc(+)	125	100.0	7.53×10^8
第 2 组	HBsAg(+),抗-HBe(+),抗-HBc(+)	128	52.4	9.58×10^7
第 3 组	HBsAg(+),抗-HBc(+)	32	51.8	7.74×10^7

3 讨 论

3.1 在第 1 组模式中的 125 例患者血清 HBV-DNA 的阳性率高达 100%,血清 HBV-DNA 平均含量为 7.53×10^8 copy/mL,两者的结果是相互关联的,两者具有相似的流行病学意义,同时也反映了 HBV-DNA PCR 定量检测结果阳性率更高,更能直接体现 HBV 的复制过程。

3.2 在第 2 组模式中的 128 例患者血清 HBV-DNA 阳性率为 52.4%,血清 HBV-DNA 平均含量为 9.58×10^7 copy/mL,从中可看出随着 HBeAg(阳性)转变为 HBeAg(阴性),抗-HBe(阳性)的出现 HBV-DNA 的阳性率大为减低,但 HBV-DNA

的平均含量与第 1 组差异有统计学意义($P<0.05$),反映出 HBV-DNA 较 ELISA 这一模式特异性更强,敏感性更高,更能直接反映 HBV-DNA 复制水平^[1]。

3.3 第 3 组模式中的 32 例患者血清 HBV-DNA 阳性率为 51.8%,血清 HBV-DNA 平均含量高达 7.74×10^7 copy/mL,说明 HBeAg(阴性)与 HBV-DNA 含量的变化并不一致,因此不能仅以 ELISA 法测定血清 HBeAg(阴性)就确定 HBV 在体内无复制现象,而要用敏感性较高的 PCR 检测 HBV-DNA 含量水平,才能更确切地判断 HBV 复制状况,更好来为临床服务^[2]。

值得一提的是,任何检测手段和方法都会有其片面性和局限性。在实际诊断中,HBV-DNA 定量往往被描述成为判断 HBV 传染性大小、病情严重程度以及治疗效果的“金指标”,这一认识是片面性的,HBV-DNA 定量检测为了解 HBV 在体内的变化增添了新的手段,弥补了以往乙型肝炎免疫标志物(两对半)检测的不足,HBV-DNA 定量数值只能说明游离在血液中病毒的含量,病毒多少、含量高低与病情严重程度不呈正相关。乙型肝炎病情轻重取决于很多因素,例如:患者的免疫状态、遗传因素、病毒的变异等,HBV 感染人体是一个连续、动态的过程,临床医务工作者也应该清醒地认识到这一点^[3]。

总之,HBV-DNA 实时荧光定量 PCR 检测较 ELISA 检测法有更好的灵敏度和特异性,能准确反映 HBV 在体内的复制

情况,对临床上抗病毒药物的选择和判断疾病的预后还是具有一定的临床价值。

参考文献

[1] 顾小红. HBV 感染者 HBV-DNA 与血清标志物间的关系[J]. 实用肝脏杂志, 2004, 7(4): 217-218.
[2] 马晓健, 周华. 某高校新生体检乙型肝炎病毒感染状况分析[J]. 实用预防医学, 2003, 10(1): 96-97.
[3] 庄兴辉. 病毒性肝炎知识问答[J]. 中华流行病学杂志, 1996, 17(2): 183.

(收稿日期: 2010-04-03)

59 例代偿期肝炎肝硬化患者血小板参数变化

夏礼军(湖北省广水市第一人民医院检验科 432700)

【摘要】 目的 探索乙型肝炎病毒所致的肝炎肝硬化患者血小板参数如外周血小板(PLT)、血小板平均比容(MPV)、血小板分布宽度(PDW)的变化。**方法** 对 59 例肝炎肝硬化患者根据肝功能量化按 Child-pugh 分级: A 级 29 例, B 级 13 例, C 级 17 例。年龄 25~60 岁, 男 36 例, 女 23 例。健康对照组 168 例为该院健康体检人员, 经彩色 B 超、CT 和肝功能检查均无异常, 采集静脉血用 EDTA-Na₂ 抗凝, 经 ABX 全自动血细胞分析仪检测。**结果** 肝炎、肝硬化患者 PLT 与健康对照组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。MPV、PDW 与健康对照组比较差异也有统计学意义($P<0.05$), 两组比较差异具有统计学意义。**结论** 肝炎肝硬化患者血小板参数改变显著。

【关键词】 肝炎肝硬化; 血小板参数; 代偿期

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.20.056

中图分类号: R575.2 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2010)20-2272-02

肝硬化是由多种原因造成肝脏内弥漫性纤维化和肝细胞结节大量生成,使肝脏正常结构改建。在代偿期,病程短、症状轻,不易受到重视。肝硬化可由病毒性肝炎、中毒性肝炎、肝脏代谢性障碍、长期胆汁淤滞等病因所致。据报道肝硬化 40%~65% 由乙、丙、丁型肝炎病毒所致肝炎引起,其中最常见是乙型肝炎病毒。本院对 59 例代偿期肝炎肝硬化患者血小板参数进行了分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 59 例肝炎肝硬化患者(病例组)均来自本院感染内科,其中男 36 例,女 23 例,年龄 25~60 岁,其中乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、乙型肝炎 E 抗原(HBeAg)、乙型肝炎核心抗体(抗-HBc)均为阳性 40 例。乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、乙肝抗-HBe、HBcAb 均为阳性 19 例,病程 2~15 年。肝功能异常,ALT、AST 有不同程度升高, A:G 有不同程度倒置。经彩色 B 超、核磁共振和肝纤维化检验,诊断符合全国病毒性肝炎学会标准。健康对照组 168 例为本院健康体检者,其中男 121 例,女 47 例,年龄 17~55 岁。经肝功能、彩色 B 超和核磁共振检验均无异常。

1.2 仪器与试剂 PLT 参数检验用 ABX 全自动血细胞计数仪,血细胞稀释液、溶血素和清洗液均由台湾贝索公司生产,质控物为四川迈克公司生产。抗凝剂 EDTA-Na₂ 剂量为 1.5~2.2 mg/mL(3.7~5.4 μmol)。

1.3 样本采集 受检者在静坐或静卧状态下采集静脉血 2 mL 注入 EDTA-Na₂ 抗凝管中混匀后送检。

1.4 检测方法 用 ABX 全自动血球仪检测血小板参数。

1.5 统计学方法 采用 SPSS12.0 统计分析软件,数据以 $\bar{x} \pm s$

s 表示,组间比较采用 t 检验。

2 结果

各组检验结果见表 1。病例组 PLT 明显低于健康对照组($P<0.01$), MPV、PDW 明显高于健康对照组($P<0.05$)。两组之间比较差异有统计学意义。

表 1 病例组和健康对照组检验结果

组别	PLT	MPV	PDW
健康对照组	187.55±65.42	8.92±1.72	16.34±0.58
病例组	74.32±19.42	12.44±2.16	20.12±1.32
P	<0.01	<0.05	<0.05

3 讨论

肝炎肝硬化导致 PLT 参数变化原因有以下几方面: (1) 肝炎病毒导致人体免疫反应异常,产生 PLT 抗体使补体激活,使 PLT 寿命缩短,破坏增加。(2) 肝炎病毒在骨髓细胞内增殖,导致巨核细胞再生不良, PLT 巨核细胞明显减少或消失。(3) 急性病毒性肝炎合并弥漫性血管内凝血(DIC)导致 PLT 消耗增加^[1-3]。(4) 肝炎病毒直接损害血小板。(5) 脾功能亢进时,体积较小的 PLT 被巨噬细胞吞噬破坏。以上原因使 PLT 数量减少显著, MPV、PDW 增高。肝炎肝硬化在代偿期,因症状较轻,不易引起重视,但 PLT 参数已经发生变化。在肝功能失代偿期,症状开始加重,并伴轻、中度贫血,但病程较长,易造成不可逆治疗。因此,在代偿期监测 PLT 参数,能有效预防肝炎肝硬化的发生和加重。