

# 155 例乙型肝炎血清学标志物少见模式的分析

赵冰红, 叶 彬, 王菲菲, 黄前川(广州军区武汉总医院检验科, 武汉 430070)

**【摘要】 目的** 对 155 例乙型肝炎血清学标志物(HBV-M)少见模式进行分析,探究可能原因。**方法** 用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测患者 HBV-M,同时参考聚合酶链反应(PCR)HBV DNA 检测的结果进行综合分析。**结果** 发现 155 例少见 HBV-M 结果模式,主要表现为三组:HBsAg 与抗-HBs 同时阳性的 HBV 感染;抗-HBc 阴性的 HBV 感染;HBsAg 阴性的 HBV 感染。**结论** 机体免疫反应的不同、ELISA 检测方法本身的局限性、病毒变异都可能导致 HBV-M 检测结果出现少见模式,建议使用更为灵敏的化学发光法定量检测。

**【关键词】** 乙型肝炎; 乙型肝炎病毒表面抗原; 乙型肝炎病毒表面抗体; 乙型肝炎病毒 c 抗体; 酶联免疫吸附试验; 病毒变异

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.06.014 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)06-0675-02

**Analysis on rare serological markers of hepatitis B in 155 cases** ZHAO Bing-hong, YE Bin, WANG Fei-fei, HUANG Qian-chuan (Department of Clinical Laboratory, Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Region, Wuhan, Hubei 430070, China)

**【Abstract】 Objective** To analyze the rare modes of serological markers of hepatitis B and to explore their possible causes. **Methods** HBV markers in the serum samples from the patients were conducted by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and then comprehensively analyzed referring to the results of polymerase chain reaction (PCR HBV DNA) test. **Results** 155 cases of rare HBV-M modes were found, mainly including three groups: HBsAg and anti-HBs simultaneously positive HBV infection, anti-HBc negative HBV infection and HBsAg negative HBV infection. **Conclusion** The different immune response of human body, the limitations of ELISA detection method itself and the virus mutation may all lead to the rare models of HBV-M detection results. It is recommended to use a more sensitive chemiluminescence assay for quantification.

**【Key words】** serological markers of hepatitis B; HBsAg; anti-HBs; anti-HBc; enzyme linked immunosorbent assay; virus mutation

乙型病毒性肝炎(乙肝)具有传染性强、传播途径复杂、流行广泛、发病率高、易于慢性化、重症化等特点,是目前世界性的重要公共卫生问题,也是我国现今危害最严重的传染病之一。乙肝血清学标志物(HBV-M)检测在判断 HBV 感染病程、传染性以及临床诊断、治疗、分析过程中是一个重要依据,不同的 HBV-M 谱往往具有独特的临床意义,近年来随着抗乙肝药物以及乙肝疫苗的广泛应用,临床上发现越来越多的 HBV-M 模式,其表现模式较为复杂,给患者及临床医生带来很多困惑,本文就工作中遇到的一些少见 HBV-M 模式进行统计,分析,探讨出现少见模式的原因以及对少见模式如何做出合理的解释,现将结果报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 标本为 2010 年 1 月至 2010 年 7 月就诊于本院门诊和住院的乙肝患者,乙肝血清学检测少见模式 155 例。

## 1.2 方 法

**1.2.1 HBV-M5 项指标检测** 5 种血清学标志物采用 ELISA 法分别检测,试剂盒购自上海科华生物技术有限公司,按说明书操作。

**1.2.2 HBV DNA 检测** 采用荧光定量 PCR 法,试剂盒购自中山达安基因生物工程股份有限公司,按说明书操作。

**1.2.3 仪器** 美国 Stat Fax 4300 酶标仪; DA7600 荧光定量 PCR 自动分析仪。

**1.2.4 结果表述** 以 1、2、3、4、5 分别代表乙肝血清学标志物

中的乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、乙型肝炎病毒表面抗体(抗-HBs)、乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)、乙型肝炎病毒 e 抗体(抗-HBe)和乙型肝炎病毒 c 抗体(抗-HBc),并以阳性项目的序号为该模式的代码,如某患者血清学标志物的检测结果为 HBsAg 阳性,抗-HBs 阴性, HBeAg 阳性,抗-HBe 阴性,抗-HBc 阳性,则该模式代码为“135”,余类推。

## 2 结 果

55 例少见 HBV-M 结果模式中,将其分为 3 组进行分析讨论,分别是 I 组:HBsAg 与抗-HBs 同时阳性的 HBV 感染; II 组:抗-HBc 阴性的 HBV 感染; III 组:HBsAg 阴性的 HBV 感染。

**2.1 I 组** HBsAg 与抗-HBs 同时阳性的 HBV 感染共有 32 例,占到少见模式的 20.6%,见表 1。

表 1 I 组 HBV-M 比例及其 HBV DNA 阴阳性百分率

模式代码	n	比例(%)	HBV DNA[n(%)]	
			阴性	阳性
12	3	1.9	3(100.0)	0(0.0)
125	5	3.2	5(100.0)	0(0.0)
1235	14	9.0	4(28.6)	10(71.4)
1245	10	6.5	8(80.0)	2(20.0)

**2.2 II 组** 抗-HBc 阴性的 HBV 感染约 77.4%,见表 2。

表 2 II 组 HBV-M 比例及其 HBV DNA 阴阳性结果

模式代码	n	比例(%)	HBV DNA[n(%)]	
			阴性	阳性
1	12	7.7	10(83.3)	2(16.7)
13	86	55.5	17(19.8)	69(80.2)
14	22	14.2	18(81.8)	4(18.2)

2.3 III 组 HBsAg 阴性的 HBV 感染,此组比较少见,约 2.6%,见表 3。

表 3 III 组 HBV-M 比例及其 HBV DNA 阴阳性结果

模式代码	n	比例(%)	HBV DNA[n(%)]	
			阴性	阳性
3	1	0.6	0(0)	1(100)
35	2	1.3	1(50)	1(50)
235	1	0.6	1(100)	0(0)

### 3 讨 论

人体感染 HBV 后,血清学标志物转换的顺序依次为 e 系统的转换、s 系统的转换、抗-HBe 消失或抗-HBe 和抗-HBs 同时消失<sup>[1]</sup>。但因人体血清学免疫反应较复杂以及个体差异,常常出现多种血清学模式,甚至是少见模式,同时因为药物抑制和机体自身清除病毒的能力,病毒复制状态也呈现多样性。对于上表中 155 例 HBV-M 少见模式,具体分析原因及解释如下:

I 组:HBsAg 与抗-HBs 同时阳性的 HBV 感染。如模式“12”“125”“1235”“1245”,占到少见模式的 20.6%,说明临床上越来越多的出现 HBsAg 与抗-HBs 同时阳性,这可能与 ELISA 检测影响因素较多易产生假阳性或试剂盒本身灵敏度提高有关,再者可能与乙肝患者进行抗病毒治疗病情变化有关。其中 3 例“12”模式,5 例“125”模式 HBV DNA 检测均为阴性(低于 1 000 copy/mL),推测“12”可能系不同亚型 HBV 重叠感染,即某一血清型亚型感染后诱导产生了该型特异抗体,随后患者又感染了另一亚型,原先产生的抗-HBs 不能中和新感染的 HBV,故血清中同时出现 HBsAg、抗-HBs 并存的局面,例如:Adr 亚型抗体阳性者感染 adw 亚型抗原,以及 adw 抗体阳性合并 Ad 亚型抗原感染<sup>[2]</sup>。“125”可能系 HBV 感染恢复期,抗-HBs 的产生表明机体对同型乙肝病毒具有抵抗力,乙肝病毒进入清除阶段,故 DNA 均为阴性。而“1235”模式可能系 HBV 血清学转换向“1245”过渡,其中 HBV DNA 检测阳性率达 71.4%,说明 HBeAg 的表达与 HBV DNA 含量存在相关性,这与许多文献报道相一致<sup>[3]</sup>,仍有 28.6%“1235”DNA 为阴性,可能系抗病毒治疗过程中 DNA 阴转,而 e 系统还未发生血清学转换或病毒变异检测不出。10 例“1245”模式中有 8 例 DNA 检测为阴性,推测可能系“1245”向“125”或“245”“25”转换,病毒复制减弱感染趋向恢复,2 例 DNA 检测为阳性,表明 HBeAg 消失不能完全代表 HBV 水平的完全降低<sup>[4]</sup>,仍有病毒复制和传染性,此时应结合 HBV DNA 的结果进行临床判断。

II 组:抗-HBe 阴性的 HBV 感染。此组少见模式有“1”“13”“14”,其中“13”占到少见模式的 55.5%,这可能与目前本

室及大多数实验室所用检测抗-HBc 的方法有关。部分乙肝患者血清中抗-HBc 滴度很低,而目前实验室 ELISA 检测抗-HBc 均采用稀释法,对于这部分低浓度抗-HBc 无法检出,改用灵敏度更高的化学发光法能提高阳性检出率。其中单项“1”可能见于急性 HBV 感染最早期,HBeAg 和抗-HBc 还未产生或浓度较低,而 HBsAg 浓度已达到可检测范围,此时出现单项 HBsAg 阳性;或者是体内 HBV-DNA 整合入宿主肝细胞染色体 DNA 中,呈整合状态的 HBV-DNA 都不能复制产生新的病毒,但可包含有完整的、可转录的单个基因(最常见的是 S 基因),从而可产生 HBsAg,但不能产生 HBeAg 和 HBcAg 等成分,成为 HBsAg 携带者<sup>[5]</sup>。此外 HBV 前 C 区突变后,核心抗原(HBcAg)变异,以致目前的核心抗原检测系统不能检出抗-HBc 或由于宿主存在选择性免疫缺陷,缺乏 HBcAg 特异性的 T 细胞,对 HBcAg 没有淋巴细胞增殖反应<sup>[6]</sup>。12 例单项 HBsAg 阳性中有 10 例 DNA 阴性,仍有 2 例检测到有病毒复制,含量均在 10<sup>3</sup> copy/mL,说明单项 HBsAg 阳性,仍有病毒复制和传染性。86 例“13”模式中有 17 例 HBV DNA 检测阴性,推测可能系抗病毒治疗中,DNA 含量降低于检测下限或病毒发生变异无法检测到。22 例“14”模式中有 4 例 DNA 阳性,说明 e 系统发生转换后病毒复制未完全停止,仍有传染性,可能系前 C 基因变异,导致 HBeAg 合成终止形成 HBeAg 阴性的前 C 区变异株。

III 组:HBsAg 阴性的 HBV 感染。本文统计有模式“3”“35”“235”,此三种模式较少见,根据一般 HBV 感染血清学反应很难解释,可能原因是 ELISA 检测方法学局限性和试剂检测灵敏度低或病毒变异造成的 HBsAg 假阴性。例如部分患者 HBsAg 浓度过高产生高剂量“HOOK”效应,致使检测呈假阴性;其次患者可能处于出现窗口期,其血液中同时存在 HBsAg 和抗-HBs,若浓度正好合适全部形成免疫复合物,导致游离的 HBsAg 消失或浓度降低,HBsAg 和抗-HBs 都不能被检出,因本实验室不能进行乙肝标志物定量检测,所以不排除有误检的可能。此外据文献报道,导致 HBsAg 假阴性的原因还有:由于 HBV 基因组具有高度变异性,S 区基因突变可致 HBsAg 氨基酸序列改变而无法检出,X 区突变则抑制 X 蛋白的转录活性及激活 HBV 增强子的作用,使病毒蛋白表达减少,造成血清中各指标滴度下降,甚至不能检出;丙型肝炎病毒(HCV)与丁型肝炎病毒(HDV)重叠感染对 HBV 复制和(或)HBsAg 的表达有抑制作用以及测定方法所用抗体对 HBV 不同基因型检测敏感性的不同而导致 HBsAg 假阴性<sup>[7-8]</sup>。1 例“235”模式 DNA 呈阴性,此标本来源于一新生儿,查阅病例知其母为乙肝“大三阳”患者,出现这一少见模式的原因可能系新生儿出生后注射乙肝免疫球蛋白(HBIG)及乙肝疫苗起到中和 HBsAg 和病毒颗粒作用。有报道称,HBIG 在体内可与 HBV 结合,激活补体系统,增强体液免疫,快速清除 HBV,故 HBsAg 呈阴性<sup>[9]</sup>。对于这类患者建议其定期追踪复查或行定量乙肝检测,以便全面了解病情,及时治疗。

由以上分析可知造成 HBV-M 出现特殊模式的原因有很多,ELISA 检测具有一定局限性,其影响因素很多,很容易造成假阴性和(或)假阳性,对于抗原抗体含量也不能定量,而化学发光法检测结果能准确定量,灵敏度高,速度快,重复性好,值得临床应用<sup>[5]</sup>。

表 1 各组患者 UNAG、UmALB、UNAG/Cr、UmALB/Cr 测定结果

组别	n	UNAG(U/L)	UmALB(mg/L)	UNAG/Cr(U/mmol)	UmALB/Cr(mg/mmol)
健康对照组	40	7.86±5.06	14.37±6.21	1.07±0.49	2.37±0.95
SLE 尿蛋白定性阴性组	47	25.62±14.51	61.21±51.75	3.51±1.86▲	7.23±6.31▲
SLE 尿蛋白定性阳性组	50	65.71±28.53	155.44±124.37	8.51±11.43▲●	21.31±20.12▲●

注:与对照组比较,▲P<0.01;与尿蛋白定性阴性组比较,●P<0.01。

### 3 讨 论

mALB 相对分子质量为  $69 \times 10^3$ , 正常情况下绝大部分不能通过肾小球滤过膜。UmALB 指尿中清蛋白排出量已超出正常上限(24 h UmALB 30 mg), 24 h UmALB 在 30~300 mg, 但尚未达到临床广泛应用的尿蛋白试带的检出限<sup>[3]</sup>。UmALB 带负电荷, 在正常情况下, 由于受肾小球滤过膜的电荷选择性屏障的阴性静电同性排斥作用, 绝大部分 mALB 不能通过肾小球滤过膜, 当肾小球受损时, 则其滤过量超过肾小管重吸收量, 致尿中浓度升高。当 UmALB 含量升高时, 则标志着肾小球滤过膜电荷选择性屏障损伤。UmALB 排出量多少与肾小球基膜损伤程度成正相关, 主要反映肾小球功能障碍, 是肾小球早期损伤的标志性蛋白。近几年有较多研究建议用 UmALB/Cr 法查随机尿诊断尿微量清蛋白症, 其结果与“金标准”24 h 尿清蛋白排泄率有很好的相关性<sup>[4]</sup>。

NAG 是一种细胞内溶酶体酶, 主要位于溶酶体, 其次是刷状缘和细胞质中, 相对分子质量为  $(130 \sim 140) \times 10^3$ , 在血浆中的半衰期仅为 5 min, 且血浆中 NAG 不能通过肾小球滤过膜。NAG 在尿中相对稳定, 正常情况下尿液中可测得少量 NAG, 肾小管上皮细胞变性坏死时 UNAG 酶活性显著增加, UNAG 水平明显升高, 且改变远远早于血尿素氮(BUN)和 Cr 的变化<sup>[5]</sup>, 也早于其他尿酶<sup>[6]</sup>。尿 NAG 可用来评定肾脏病进展早期的近曲小管上皮细胞的损害<sup>[7]</sup>, 是反映肾小管损害敏感且特异的指标<sup>[8]</sup>。UNAG/Cr 能更敏感反映肾小管受损情况。

SLE 是一种以免疫调节异常为特征, 累及多系统、多脏器的自身免疫性疾病。系统性红斑狼疮性肾损害是 SLE 最常见且严重的内脏损害, 在我国肾活检病例中占继发性肾脏病的首位<sup>[9]</sup>, 以 Cr、BUN 为主的生化指标, 很难准确反映 SLE 早期肾损害。在本资料中 SLE 患者尿蛋白定性阴性组尿 mALB/Cr 及尿 NAG/Cr 明显高于健康对照组, 两者比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), 提示 SLE 早期肾损害不仅存在于肾小球, 还存在于肾小管。在本资料中 SLE 患者尿蛋白定性阳性组尿 mALB/Cr 及尿 NAG/Cr 不仅明显高于健康对照组( $P <$

0.01), 还明显高于 SLE 患者尿蛋白定性阴性组( $P < 0.01$ ), 表明 UmALB/Cr 及 UNAG/Cr 测定是较敏感的反映 SLE 患者肾脏损伤的指标, 尿 mALB/Cr 及 UNAG/Cr 测定可以早期诊断系统性红斑狼疮性肾损害。

### 参考文献

- [1] 姚建. 肾小管标记蛋白及其临床意义[J]. 中华肾脏病杂志, 1997, 13(2): 113-115.
- [2] Hochberb MC. Updaling the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of Systemic lupus rythematosus[J]. Arthritis Rheum, 1997, 40: 1725.
- [3] 魏有仁. 早期肾损伤的检测与监测[M]//朱立华. 实验诊断学. 北京: 北京医科大学出版社, 2002: 309.
- [4] 邓晓初. 尿清蛋白/肌酐比值检测法在早期 2 型糖尿病肾病中的应用[J]. 重庆医学, 2005, 34(1): 46.
- [5] D'Amico G, Bazzi C. Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2003, 12(6): 639-643.
- [6] 董瑞兰. 尿微量清蛋白和尿酶的联合检测对早期糖尿病肾损伤诊断的意义[J]. 中国保健杂志, 2005, 13(11): 47.
- [7] Bazzi Claudio, Petrini Concetta, Rizza Virginia, et al. Urinary N-acetyl-[beta]-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulo-nephritis [J]. Nephrol Dialysis Transplant, 2002, 17: 1890-1896.
- [8] 董德平, 严冲, 钱开放, 等. 尿微量蛋白联合尿酶测定对糖尿病肾损伤的临床意义[J]. 临床检验杂志, 2001, 19(3): 185.
- [9] 陈惠萍, 曾彩虹, 胡伟新, 等. 10 594 例肾活检病理资料分析[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2000, 9(6): 501-509.

(收稿日期: 2010-10-08)

(上接第 676 页)

### 参考文献

- [1] 陈惜贞. 乙型肝炎患者 957 例血清学标志物分析[J]. 医技与临床, 2007, 7(11): 612-614.
- [2] 王智斌, 周红艳. 乙型肝炎血清标志物少见模式分析[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(24): 2093-2094.
- [3] 潘晓微. 慢性乙肝患者血清 HBV-DNA 和 HBeAg 定量的相关性分析[J]. 放射免疫学杂志, 2009, 22(1): 68-71.
- [4] 黄松洁, 林永志. HBeAg 定量与 HBV-DNA 定量的相关性及其临床意义[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(12): 1236.
- [5] 张国元, 胡彦, 凡瞿明, 等. 1010 例乙型肝炎病毒血清标志

物检测[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 18(2): 119-121.

- [6] 王丽, 王琳, 李进琴. 乙型肝炎血清学检测少见模式分析[J]. 实用医技杂志, 2006, 13(14): 2431-2432.
- [7] 武建国, 王毓三. 检验医师必读[M]. 南京: 南京师范大学出版社, 1995: 481.
- [8] 李金明. 乙型肝炎病毒血清标志物测定及结果解释的若干问题[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(5): 385-389.
- [9] 邓宇, 李娟, 李伟群, 等. 不同剂量乙肝免疫球蛋白阻断乙肝病毒母婴传播的效果比较[J]. 社区医学杂志, 2008, 6(13): 30-31.

(收稿日期: 2010-10-10)