

- associated production of neopterin; Release from macrophages primarily under control of interferon gamma[J]. J Exp Med, 1984, 160(3): 310-316.
- [2] Wirleitner B, Schroecksnadel K, Winkler C, et al. Neopterin in HIV-1 infection[J]. Mol Immunol, 2005, 42(2): 183-194.
- [3] 赖文, 陈尚良, 李结敏, 等. 血清新蝶呤与 ALT 检测在无偿献血者筛查中的意义比较[J]. 中国医药指南, 2010, 8(9): 118-119.
- [4] 覃水庆, 唐秋民, 邱昌文, 等. 新蝶呤与输血安全[J]. 内科, 2008, 3(2): 277-279.
- [5] Schennach H, Hessenberger G, Mayersbach P, et al. Acute cytomegalovirus infections in blood donors are indicated by increased serum neopterin concentrations[J]. Med Microbiol Immunol, 2002, 191(2): 115-122.
- [6] 王景阳, 于彦居, 刘乐霞, 等. 血清新蝶呤水平在献血者筛查中意义的探讨[J]. 中国输血杂志, 2006, 19(3): 206.
- [7] 靳雪源, 楼敏, 赵平, 等. 病毒性肝炎患者血清新蝶呤检测的临床意义[J]. 临床肝胆病杂志, 2007, 23(2): 90-91.
- [8] 宋明辉. 乙型病毒性肝炎患者血清新蝶呤的检测[J]. 中华传染病学杂志, 2004, 22(2): 122-123.
- [9] 宋明辉, 董凤歧, 刘齐歌. 乙型病毒性肝炎合并丙型、丁型病毒性肝炎患者血清 NPT 水平[J]. 现代免疫学, 2005, 25(6): 496-506.
- [10] Nubling MC, Chudy M, Volkers P, et al. Neopterin levels during the early phase of human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, or hepatitis B virus infection[J]. Transfusion, 2006, 46: 1886-1891.
- [11] Kilic D, Boyunaga H, Kaygusuz S, et al. Neopterin levels in nonreplicative HBV carriers[J]. Hepatol Res, 2002, 24(1): 18-22.

(收稿日期: 2010-12-17)

• 临床研究 •

乙型肝炎患者 HBV-M 与 HBV-DNA 定量检测的关系研究

刘谋渊¹, 刘 岚^{2△}, 赵 娇² (1. 四川省泸州市龙马潭区泸化医院检验科 646000; 2. 泸州医学院医学生物学与遗传学教研室, 四川泸州 646000)

【摘要】 目的 了解乙型肝炎病毒(HBV)感染的不同血清学组合的 HBV-DNA 阳性情况。**方法** 对 694 例血清采用酶联免疫吸附试验测定 HBV 标志物(HBV-M)及荧光定量聚合酶链反应检测 HBV-DNA。**结果** HBsAg(+)组 HBV-DNA 阳性率为 55.68%(299/537), HBsAg(-)组 HBV-DNA 阳性率为 3.82%(6/157), 两组差异有统计学意义($P < 0.05$)。HBsAg(+), HBeAg(+), 抗-HBc(+)血清 HBV-DNA 阳性率为 100.0%(140/140), 平均含量为 4.67×10^7 copy/mL; HBsAg(+), 抗-HBe(+)血清 HBV-DNA 阳性率为 91.43%(32/35), 平均含量为 2.46×10^7 copy/mL; HBsAg(+), 抗-HBe(+), 抗-HBc(+)血清 HBV-DNA 阳性率为 44.66%(117/262), 平均含量为 2.58×10^4 copy/mL; HBsAg(+), 抗-HBe(+)血清 HBV-DNA 阳性率为 11.54%(6/53), 平均含量为 1.54×10^4 copy/mL; HBsAg(+), 抗-HBc(+)血清 HBV-DNA 阳性率为 8.51%(4/47), 平均含量为 2.15×10^4 copy/mL; 抗-HBs(+), 抗-HBe(+), 抗-HBc(+)血清 HBV-DNA 阳性率为 4.07%(5/123), 平均含量为 1.32×10^3 copy/mL; 抗-HBs(+), 抗-HBc(+)血清 HBV-DNA 阳性率为 2.94%(1/34), 平均含量为 1.17×10^3 copy/mL。**结论** 临床对乙型肝炎的诊断、治疗及预后等判定有必要同时结合 HBV-M 和 HBV-DNA 检测。

【关键词】 乙型肝炎病毒; HBV-M; HBV-DNA

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.09.029 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)09-1078-03

乙型肝炎病毒(HBV)血清标志物(HBV-M)检测是目前诊断乙型肝炎(下称乙肝)最常用的指标, 主要反映人体对 HBV 的免疫反应状态, 不同血清标志模式反映不同的临床意义。酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 HBV-M 简便易行, 为临床检测常用方法。近年来随着分子生物学技术的发展及其在临床应用方面的推广, 应用荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测 HBV 病毒载量已成为目前临床诊断 HBV 感染的常用指标^[1]。本文采用两种方法分别对临床疑似乙肝患者的血清进行检测, 以了解 HBV 感染的不同血清学组合与 HBV-DNA 的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 6 月至 2010 年 6 月来本院住院及门诊的 694 例患者, 年龄 8~75 岁。所有标本用无菌管留取血样 3 mL, 于 3 h 内分离血清, 并冻存于 20℃ 冰箱。

1.2 仪器与试剂 HBV-M 测定采用 ELISA, 使用芬兰 Lab-systems 生产的 Muhiskan MK3 酶标仪, 试剂由上海科华生物工程公司提供。HBV-DNA 定量诊断用荧光定量 PCR 法检测, 使用美国 ABI 公司生产的 ABI7500 荧光定量 PCR 仪, 试剂由深圳市匹基生物技术公司提供。

1.3 检测方法

1.3.1 HBV-M 测定 HBV-M 检测采用 ELISA 法按试剂说明书进行操作。

1.3.2 HBV-DNA 测定 按说明书从血清中提取 HBV-DNA, PCR 仪扩增, 反应结束后由电脑自动分析结果。

1.3.3 污染的控制 标本的处理、试剂的配制、上样及 PCR 扩增检测严格分室进行, 每次检测均设强阳性、临界阳性、阴性、质控试剂参照品。

1.4 统计学方法 对所得数据进行 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差

△ 通讯作者, E-mail: liulan8001@163.com.

异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HBsAg(+)组与 HBsAg(-)组 HBV-DNA 阳性率的比较 694 例血清标本 HBV-DNA 表达情况见表 1。由表 1 可见,HBsAg(+)组 HBV-DNA 阳性率为 55.68%,阴性率为 44.32%;HBsAg(-)组 HBV-DNA 阳性率 3.82%的,阴性率为 96.18%,组间差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 HBV-M 不同模式的 HBV-DNA 检测结果 694 例血清标本 HBV-M 不同模式的 HBV-DNA 检测结果见表 2。

表 1 两组 HBV-DNA 阳性率的比较[n(%)]

组别	n	HBV-DNA 阳性率	HBV-DNA 阴性率
HBsAg(+)组	537	299(55.68)	238(44.32)
HBsAg(-)组	157	6(3.82)	151(96.18)

表 2 HBV-M 不同模式的 HBV-DNA 检测结果

HBV-M 模式	n	HBV-DNA 阳性例数[n(%)]	HBV-DNA 平均含量(copy/mL)
HBsAg(+),HBeAg(+),抗-HBc(+)	140	140(100.00)	4.67×10^7
HBsAg(+),HBeAg(+)	35	32(91.43)	2.46×10^7
HBsAg(+),抗-HBe(+),抗-HBc(+)	262	117(44.66)	2.58×10^4
HBsAg(+),抗-HBe(+)	53	6(11.54)	1.54×10^4
HBsAg(+),抗-HBc(+)	47	4(8.51)	2.15×10^4
HBsAg(+),抗-HBe(+),抗-HBc(+)	123	5(4.07)	1.32×10^3
抗-HBs(+),抗-HBc(+)	34	1(2.94)	1.17×10^3

3 讨 论

血清乙肝 5 项标志物 HBV-M 定性测定始于 80 年代中期,对乙肝的疾病诊断、病程监测及疗效观察具有一定作用。血液 HBV-DNA 拷贝数可真实反映 HBV 感染的状况,对感染 HBV 的判断更直接和重要,可用于判断血液中是否有病毒复制以及传染性。

本实验中血清 HBsAg、HBeAg、抗-HBc 阳性组合 HBV-DNA 阳性率为 100.0%,HBV-DNA 平均含量为 4.67×10^7 copy/mL;HBsAg、HBeAg 阳性组合 HBV-DNA 阳性率为 91.43%,HBV-DNA 平均含量为 2.46×10^7 copy/mL。说明这两种模式 HBV 复制活跃,传染性强。HBsAg 阳性合并抗-HBe 及抗-HBc 单独或同时阳性时,HBV-DNA 阳性率降低,其拷贝数也降低,约 2×10^4 copy/mL 左右,说明这 3 种模式的传染性较低。

过去临床上认为乙肝患者出现抗-HBs 阳性、HBeAg 阴转是 HBV 复制减弱、传染性降低和预后良好的象征,但诸多研究表明,在 HBsAg 阴性的慢性乙肝患者中,部分患者临床 HBeAg 检测呈阴性,但 HBV-DNA 仍为阳性,HBV 仍在复制^[2]。本实验中抗-HBs(+)、HBeAg(-)患者 157 例中有 6 例(3.82%)HBV-DNA 检测为阳性,拷贝数在 10^3 copy/mL 左右,与其他报道一致^[3-4]。其原因可能是:(1)HBV 发生变异,其前 S 区变异率比 S 区高 2 倍;出现“免疫逃逸”或不同亚型的 HBV 重叠感染^[5]。(2)HBsAg 的表达可能较低或其抗原性改变较大,用现有的试剂检测不出。(3)形成免疫复合物,有人发现血中免疫复合物的存在可能影响 HBsAg 的检出^[6]。所以,抗-HBs 出现和 HBeAg 阴转并不能作为 HBV 复制终止或者减弱的判断依据,相反,这种慢性乙肝更容易被忽视,给患者造成更大的危害。对于 HBeAg 与 HBV 病毒载量之间的关系,一般认为二者的水平存在一定程度的一致性,既有相关性,又不尽一致,临床上需要将二者结合起来对患者进行诊断和治疗。

乙肝 HBV-M 和 HBV-DNA 检测中,HBeAg、HBV-DNA 可作为病毒复制指标,当 HBeAg、HBV-DNA 均为阳性时,证明病毒复制活跃,传染性强,应采取积极治疗;当 HBsAg、抗-

HBe、抗-HBc 均为阳性时,为病毒性肝炎恢复期,此时病毒复制虽不活跃,但 HBV-DNA 检测仍为阳性,说明病毒依然存在,也应采取治疗,以提高免疫抗病毒治疗为主;当 HBV-DNA 检测为阴性时,为恢复期,当各种指标证明人体内病毒已得到抑制,可以不用治疗,属于既往感染 HBV 并且现有保护性抗体抗-HBs 的确存在及 HBV-DNA 阴性时,说明已趋于好转和(或)临床治愈,可不用药;如果 HBV-DNA 阴性而 HBsAg、HBeAg 或抗-HBe 及抗-HBc 浓度还较高,提示并未完全痊愈,有可能病毒再次出现复制状况,尚须密切关注;如果 HBV-DNA 阴性而 HBsAg、HBeAg 或抗-HBe 及抗-HBc 浓度均很低或阴性并持续一段时间,提示可能痊愈,预后效果良好^[7]。

综上所述,HBV-M 测定的血清学 ELISA 法是检测病毒侵染机体产生的免疫反应,间接反映病毒的感染状况。血清 HBV-DNA 测定是反映病毒数量和复制活跃程度的最可靠的直接指标,同时也是能确实反映动态观察药物疗效的确切指标。临床分析 HBV 感染者的病情状况、病毒复制状态、病毒变异程度以及职业暴露和传播风险评估时,有必要结合 HBV-M 和 HBV-DNA 同时判定。

参考文献

[1] 付蕾. HBV-DNA 荧光定量 PCR 检测的临床意义[J]. 检验医学与临床,2010,7(10):960-961.

[2] 刘爱云,李爱荣,贾冬青,等. HBV-DNA 检测与乙肝两对半检测的结果分析[J]. 检验医学与临床,2009,7(4):14-17.

[3] 高清萍,卢亚祖,李军,等. PreS1 与 HBV 血清学标志物的关系[J]. 中国优生与遗传杂志,2007,15(8):31-32.

[4] 万铁林,耿叔英,王战会,等. HBsAg 携带者与 HBeAg 阴性慢性乙型肝炎患者病毒学特征的比较[J]. 实用肝脏病杂志,2009,12(1):17-20.

[5] 王国义,李雷. 慢性乙型肝炎病变活动与血清 HBV-DNA 含量的关系[J]. 中国现代医学杂志,2001,1(10):102.

[6] 田庚善. 传染病学[M]. 3 版. 上海:上海科学技术出版社,1998:237-260.

[7] 成军,孙长贵,陈瑜,等. 低浓度 HBsAg 人群 HBV-DNA 与 HBV-M 定量结果的关系及评价[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2009,25(7):631-633.

(收稿日期:2010-12-25)

• 临床研究 •

两种方法对血清促甲状腺激素测定的对比研究

甘钊杏(广东省广州市番禺区何贤纪念医院 511400)

【摘要】 目的 了解时间分辨荧光免疫分析法(TR-FIA)和化学发光免疫分析法(CLIA)对检测血清促甲状腺激素(TSH)的临床应用价值。**方法** 采用 TR-FIA 和 CLIA 对 40 例健康人、40 例甲状腺功能亢进(简称甲亢)患者和 40 例甲状腺功能减低(简称甲减)患者进行血清 TSH 测定,然后比较两种方法的测量精度。**结果** TR-FIA 对甲亢和甲减的临床诊断符合率显著高于 CLIA,而且 TR-FIA 的精度和可重复性都明显优于 CLIA,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 在甲亢和甲减的临床诊断上 TR-FIA 明显比 CLIA 更具价值。

【关键词】 时间分辨荧光免疫分析法; 化学发光免疫分析法; 血清促甲状腺激素; 甲状腺功能亢进; 甲状腺功能减低

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.09.030 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)09-1080-02

促甲状腺激素(TSH)促进甲状腺上皮细胞的代谢及胞内核酸和蛋白质合成,使细胞呈高柱状增生,从而使腺体增大。腺垂体分泌 TSH,一方面受下丘脑分泌的促甲状腺激素释放激素(TRH)的促进性影响;另一方面又受到甲状腺激素 T₃、T₄ 反馈性的抑制性影响,二者互相拮抗,它们组成下丘脑-腺垂体-甲状腺轴。在临床诊断中,高精度的 TSH 测定指标是判定甲状腺功能的重要指标。血清 TSH 的测定国内现多用放射免疫法,但精度低,敏感度差^[1]。时间分辨荧光免疫分析法(TR-FIA)和化学发光免疫分析法(CLIA)对血清 TSH 的测量精度较高,敏感度好。本文试图对这两种方法进行对比分析,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本文收集了 80 例甲状腺功能异常者,其中甲状腺功能亢进(简称甲亢)者 40 例,男 22 例,女 18 例;年龄 19~61 岁,平均 37.7 岁。甲状腺功能减低(简称甲减)者 40 例,男 19 例,女 21 例;年龄 21~64 岁,平均 41.4 岁。另外 40 例健康人,除 5 例为医院患者家属中健康的自愿者外,其余全部来自本院健康的医护人员,男 26 例,女 14 例;年龄 27~56 岁,平均 41.7 岁。

1.2 测量仪器 TR-FIA 使用 PE1235 荧光仪及相关配套试剂盒对血清 TSH 进行测定;CLIA 使用 CENTAUR-XP 化学发光免疫分析仪及相关配套试剂盒进行血清 TSH 测定。

1.3 测量方法 对所有观察对象于上午 8:00~10:00 取空腹静脉血 3 mL,经离心机分离血清,置于-20℃冰箱中保存,1 周内送检^[2]。用 CLIA 和 TR-FIA 分别对高、中、低 3 份质控标本进行 TSH 测定,重复 10 次,并计算其批内变异系数。同时将高、中、低 3 份质控标本装入 30 只试管,置于 20℃冰箱中保存,然后进行 30 次测定,并计算批间变异系数^[3]。

依据 TR-FIA 试剂盒说明书进行操作,在待检血清中加入 TSH-Eu^[4],然后将其置于微型振荡器上振荡 15 min,室温放置 4 h 后,再行处理再振荡 15 min,最后将反应条置于荧光仪上测量计数,并绘制荧光强度曲线,从而从曲线上读出相应的浓度值。

将 120 份健康组、甲亢组和甲减组的血清样本同时采用 TR-FIA 和 CLIA 进行 TSH 测定,并计算其相关系数。

1.4 诊断标准 TR-FIA 的正常值为 0.3~3.8 μU/mL,CLIA 的正常值为 0.35~5.50 mU/mL。当 TR-FIA≤0.3 μU/mL,CLIA≤0.35 mU/mL 时可诊断为甲亢^[5];当 TR-FIA≥3.8 Z μU/mL,CLIA≥5.50 mU/mL 时可诊断为甲减。

1.5 统计学方法 使用 SPSS12.0 统计学软件进行数据处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TR-FIA 的批内和批间变异系数明显小于 CLIA,说明了 TR-FIA 的精度比 CLIA 高,方法的重复性好。具体见表 1。

浓度	批内变异系数(%)		批间变异系数(%)	
	TR-FIA	CLIA	TR-FIA	CLIA
低浓度	3.29	5.26	4.78	6.57
中浓度	3.05	5.14	4.23	5.29
高浓度	2.87	4.98	3.96	5.43

2.2 经过计算,TR-FIA 和 CLIA 两种方法的相关性很好,相关系数为 0.83。与 CLIA 相比,TR-FIA 对 3 组测定结果差异有统计学意义($P<0.05$)。具体见表 2。

表 2 3 组的 TR-FIA 和 CLIA 检测 TSH 结果对比($n=40$)		
组别	TR-FIA(μU/mL)	CLIA(mU/mL)
健康组	1.42±0.86	1.91±1.19
甲亢组	0.01±0.08*#	0.03±0.16*
甲减组	36.46±37.81*#	28.82±38.44*

注:与健康组相比,* $P<0.01$;与 CLIA 比较,# $P<0.05$ 。

表 3 两种方法测定值与诊断符合率比较($n=40$)				
组别	TR-FIA		CLIA	
	95%范围	符合率[n(%)]	95%范围	符合率[n(%)]
健康组	0.45~5.20	38(95.0)	0.50~5.63	36(90.0)
甲亢组	0.00~0.12	39(97.5)	0.00~0.20	37(92.5)
甲减组	4.65~146.32	37(92.5)	6.58~158.44	35(87.5)