

乙型肝炎病毒表面抗原低水平阳性血清的病毒核酸载量分析^{*}

黄劲松,张军霞,刘世国,彭黎,徐瑶,岑千红[△](湖北省中山医院检验科 430030)

【摘要】 目的 对电化学发光法检测乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)低水平阳性标本的病毒核酸载量进行分析,判断感染状态。**方法** 收集湖北省中山医院检验科 2012 年 6 月至 2012 年 10 月电化学发光检测 HBsAg COI 值在 0.8~5.0 的血清标本 130 份,进行荧光定量 PCR 检测,获得 HBV-DNA 载量值。**结果** 130 份标本中 HBV-DNA 检测阳性 2 份。**结论** HBsAg 低水平阳性条件下联合 HBV DNA 检测对乙型肝炎诊断有重要的临床价值。

【关键词】 电化学发光免疫分析; 低水平 HBsAg; 荧光定量 PCR; 核酸载量

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.06.026 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)06-0782-02

乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)为乙型肝炎病毒(HBV)感染最主要的血清学标志和直接证据^[1],其测定主要采用酶联免疫吸附试验(ELISA)和电化学发光法。但不同实验室检测结果,尤其是弱反应性结果往往存在较大的差异,而对弱阳性及可疑结果的正确判断和处理直接关系到患者的诊断、治疗、输血安全和就业等多方面。因此开展对 HBsAg 弱阳性样本的确认试验^[2],给临床医师提供准确的实验依据,对降低误诊率具有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料来源 选择本院检验科 2012 年 6 月至 2012 年 10 月电化学发光检测 HBsAg COI 值为 0.8~5.0 的血清标本 130 份,其中男 76 例,女 54 例。

1.2 仪器与试剂 Chemagic Magnetic Separation Module I 核酸自动提取系统购自 Hamilton Bonaduz AG,ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪购自美国应用生物系统公司,HBV 病毒核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)购自中山大学达安基因股份有限公司,Modular Analytics E170 电化学发光分析仪和 HBV 血清标志物检测试剂盒(电化学发光法)包括 HBsAg 及其抗体(HBsAb)、HBV e 抗原(HBeAg)及其抗体(HBeAb)、HBV 核心抗体(HBcAb)均来自罗氏公司。

1.3 方法 采用电化学发光法对 130 份标本检测 HBsAg,按照罗氏 E170 全自动电化学发光免疫分析仪的操作规程进行,所测结果均由仪器自动完成,HBsAg 大于 1.0 COI 时判为阳性,所有结果均经过复检。严格按照标准的操作规程,对 130 份标本使用 Chemagic Magnetic Separation Module I 核酸自动提取系统分别提取核酸,然后采用 ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪检测 HBV DNA 载量值(核酸拷贝数每毫升大于 1 000 为阳性),并做好阳性、阴性对照以及内参。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件对实验数据进行统计学分析,计数资料比较采用 χ^2 分析,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

130 份标本中电化学发光检测值大于 1.0 COI 的标本有 8 例,占 6.2%;荧光定量核酸扩增技术检测阳性 2 例,占 1.5%。两种方法检测结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。核酸

检测阳性标本血清学检测结果中,第 1 份标本可能处于窗口期感染,血清标志物检测均为阴性,第 2 份标本可能处于乙肝恢复期或亚型感染,血清标志物显示 3 种抗体均为阳性。见表 1。

表 1 核酸检测阳性标本复检血清学的结果

序号	HBV DNA	HBsAg	HbsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb
1	1.57×1 000	0.86	阴性	阴性	阴性	阴性
2	9.78×1 000	3.55	阳性	阴性	阳性	阳性

3 讨论

中国是乙型肝炎的高发区,而 HBsAg 阳性是 HBV 感染的金标准。根据 2006 年数据统计,中国人群 HBsAg 携带率为 7.18%^[3],其中部分 HBV 感染人群 HBsAg 呈低水平表达。HBsAg 出现弱反应性结果可能与患者处于 HBV 感染窗口期,体内虽有病毒复制,但 HBsAg 编码呈低水平表达,尚未达到试剂检测阳性的敏感度;还有些慢性乙型肝炎患者病毒 S 区或 X 区基因突变影响 HBsAg 表达,或 HBV 发生变异使其产生免疫逃避株,或感染不同亚型的 HBV^[4-5]。HBsAg 结果的判定依赖于各种检测方法的敏感性,不同的检测方法敏感性差异较大^[6]。国内各医院和疾病预防控制中心以 ELISA 法最为常用,此法敏感性可达 0.7 ng/mL,且成本低廉。电化学发光法是将发光系统与免疫反应相结合以检测抗原或抗体的方法,是继放射免疫、酶免疫、荧光免疫、化学发光免疫之后的新一代标记免疫技术,其具有操作简单、试剂贮存有效期长、检测速度快、敏感性高(0.05 ng/mL)、线性范围宽、应用范围广等特点。虽然这种方法优点多,并在以往的检测工作中发挥了重要的作用,但日常工作中会经常遇到 HBsAg 检测结果为弱反应即结果在灰区内的现象,而在报告模式中只能报告阴性或阳性,这样就导致检测结果报告出现困难。而对弱阳性及可疑结果的正确判断和处理直接关系到患者的诊断、治疗、输血安全和就业等多方面,因此对于临床实验室而言,如果检测结果为“灰区”,应尽可能使用敏感性高、特异性好的检测手段。提高这类乙型肝炎人群的检出率,从而有利于临床早期干预,防止乙型肝炎慢性进展,有效阻断 HBV 通过输血、器官移植、手术等途

^{*} 基金项目:湖北省卫生厅采供血管理科研项目(CGX2010-5)。 [△] 通讯作者,E-mail:cenqianhong@163.com。

径传播^[6]。实时荧光测定 PCR 技术是一种直接定量核酸数量的方法,把基因扩增、分子杂交和光化学融为一体,提高了检测的特异性,并可自动读数,对扩增产物进行精确的定量测定,能够真实反映 HBV 感染和复制状态^[7-8],可作为一种有效的确认实验用于临床,给临床医师提供准确的实验依据,对减少误诊率具有十分重要的意义。

在临床实践中,电化学发光检测 HBsAg COI 值为 1.00~50.00 被认为是弱反应性^[9],本实验中结合实际情况,尝试将电化学发光检测 HBsAg COI 值为 0.8~5.0 作为标本试验选择的标准,130 份 HBsAg 弱反应性标本中核酸检测同样呈阳性的血清有 2 份,第 1 份标本可能处于感染窗口期,血清标志物检测均为阴性;第 2 份标本可能处于乙型肝炎恢复期或亚型感染,血清标志物显示 3 种抗体均为阳性。虽然在本实验中两种方法比较差异无统计学意义($P>0.05$),但仍提示在 HBsAg 弱反应性的患者体内有可能存在病毒核酸的复制,这部分病例需要临床密切观察,并接受相应的治疗。因此,对 HBsAg 弱反应性样本联合检测 HBV DNA 对乙型肝炎的诊断和治疗有不可忽视的临床价值。

参考文献

[1] Courouc  AM,Drouet J,Lemarrec N,et al. Blood donors positive for HBsAg and negative for anti-HBc antibody [J]. Vox Sang,1985,49(1):26-33.

(上接第 781 页)

放量明显下降,并认为这可能是维生素 B₁₂可提高精子活力的重要因素^[14]。因为精液冷冻和解冻处理可导致精子细胞释放天门冬氨酸氨基转移酶,进而导致精子顶体的肿胀和损伤。有资料报道,在冻存液中加入维生素 B₁₂,可明显延长波尔山羊和牛精液解冻后的精子存活时间,并认为该作用可能与维生素 B₁₂ 的加入使精液形成偏酸性环境有关^[9]。本研究的相关性分析显示,维生素 B₁₂ 浓度与精子活率、精子活力、精子密度、a+b 级精子百分率、a+b+c 级精子密度和 a+b+c 级精子百分率呈正相关,说明维生素 B₁₂ 对提高精子的活力和活率具有很好的作用。

综上所述,本研究结果提示维生素 B₁₂ 缺乏可能是导致特发性弱精子症的原因之一,补充维生素 B₁₂ 可能有助于改善特发性弱精子症患者的精子活力。

参考文献

[1] 世界卫生组织. 不育夫妇标准检查与诊断手册[M]. 北京:科学出版社,1994:19.
[2] 付婷辉. 67 例男性不育的染色体分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2005,13(3):47.
[3] 陈起莹. 生育和不育男性精液维生素 B₁₂、叶酸、活性氧和精子质量的比较[J]. 卫生研究,2001,30(2):160-162.
[4] Morales A,Cavicchia JC. Spermatogenesis and blood-testis barrier in rats after long-term vitamin A deprivation [J]. Tissue Cell,2002,34(5):349-355.
[5] 顾万建,商学军,黄宇烽. 抗氧化性维生素与男性生殖[J]. 中华男科学,2004,10(8):627-629.
[6] 王和民,齐广海. 维生素研究进展[M]. 北京:中国科学技

[2] 方筠,张久春,陈健,等. 乙型肝炎病毒表面抗原确认试验方法的建立[J]. 检验医学,2006,21(5):478-480.
[3] 马红霞,周运恒,杨茵,等. ELISA 法和电化学发光免疫法检测血清 HBsAg 结果比较分析[J]. 检验医学,2010,25(6):473-474.
[4] 陆俊忠. 3247 例乙型肝炎病毒血清标志物与 DNA 检测结果分析[J]. 临床检验杂志,2008,26(5):385.
[5] 胥明勇,吴茜,向礼贤,等. 乙型肝炎病毒 DNA 定量与血清学标志物的关系[J]. 检验医学与临床,2008,5(17):1037-1038.
[6] 王蕾,刘华,王雯静,等. 中和确认试验对低水平 HBsAg 结果的确认及其应用评价[J]. 检验医学,2010,25(1):26-29.
[7] 单幼兰,罗娅,黄爱龙. HBV-DNA 荧光定量 PCR 检测的临床意义[J]. 中华肝脏病杂志,2001,9(S1):102.
[8] 程刚,何蕴韶,周新宇. 荧光定量聚合酶链反应检测乙型肝炎病毒[J]. 中华医学检验杂志,1999,22(3):135-139.
[9] 胡尧,刘维薇,黄志基. 中和确认试验在电化学发光免疫法检测乙型肝炎表面抗原弱反应性中的价值探讨[J]. 检验医学,2013,28(3):218-220.

(收稿日期:2013-08-22 修回日期:2013-10-29)

术出版社,1993:84-90.
[7] 夏敏. 必需微量元素的生理功能[J]. 微量元素与健康研究,2003,6(20):41-44.
[8] 余立萍,谭德福. 维生素 B₁₂ 缺乏症的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2007,16(11):1584-1585.
[9] 蔡吉光,孙淑琴,王立阁,等. 稀释液中添加不同浓度的维生素 B₁₂ 对牛精子活力的影响[J]. 吉林畜牧兽医,2003,25(1):2-3.
[10] Hickie I,Naismith S,Philip B,et al. Vascular risk and low serum B₁₂ predict white lesions in patients with major depression[J]. J Affect Disord,2005,85(3):327-332.
[11] Till U,Rohl P,Jentsch A,et al. Decrease of carotid intima-media thickness in patients at risk to cerebral ischemia after supplementation with folic acid, vitamins B6 and B₁₂ [J]. Atherosclerosis,2005,181(1):131-135.
[12] Harma M,Harma M,Abdurrahim K,et al. Intranasal 17 β -estradiol treatment and Vitamin B₁₂, folate and homocysteine in menopause[J]. Maturitas,2005,50(4):353-358.
[13] Miller A,Korem M,Almong R,et al. Vitamin B₁₂, demyelination, remyelination and repair in multiple sclerosis[J]. J Neurol Sci,2005,233(1/2):93-97.
[14] Iqbal MP,Ishap M,Kazmi KA,et al. Role of vitamins B6, B₁₂ and folic acid on hyperhomocysteinemia in a Pakistani population of patients with acute myocardial infarction[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis,2005,15(2):100-108.

(收稿日期:2013-10-22 修回日期:2014-01-26)