维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2008年第17卷第2期
J Regional Anat & Operative Surg, 2008, Vol. 17, No. 2

FQ-PCR检测乙型肝炎HBVM和前S1抗原不同模式的HBV-DNA含量及意义

胡永芳 （重庆市传染病医院检验科，重庆 400030）

［摘 要］ **目的** 评价实时荧光定量PCR（FQ-PCR）技术在乙型肝炎诊断和治疗中的应用价值。**方法** 用FQ-PCR和酶联免疫吸附试验（ELISA）同时检测693份初诊标本和治疗3个月前后231份复诊病人标本的HBVM和HBV-DNA。**结果** HBVM模式共16组，其中HBeAg(+)组HBV-DNA检出率98.3%，定量对数值均在6.49以上；HBeAg(-)但前S1抗原(+)组HBV-DNA检出率93.6%，定量对数值为4.48±1.40；HBsAg(+)HBcAb(+)前S1抗原(-)组HBV-DNA检出率51.6%，定量对数值为4.46±1.43；HBsAg(+)HBeAg(-)HBcAb(-)组HBV-DNA检出率16.7%，定量对数值为4.29±0.43；HBsAg、HBeAg、前S1抗原同为(-)组HBV-DNA检出率很低且定量对数值也低。大、小三阳患者治疗3个月后HBV-DNA定量对数值改变1.5以上者，分别为50.0%、31.4%。**结论** FQ-PCR定量检测HBV-DNA对乙型肝炎诊断、治疗、预后判断具有重要的指导意义。

［关键词］FQ-PCR；HBVM；前S1抗原；HBV-DNA定量；乙型肝炎
［中图分类号］R512.62；R446.61 ［文献标识码］A ［文章编号］1672-5042(2008)02-0100-03

The content and significance of HBVM and vary HBV-DNA of pre-S1 antigen detected by FQ-PCR

HU Yong-fang (Department of Clinical Laboratory, Contagious Disease Hospital of Chongqing, Chongqing 400030, China)

Abstract: Objective To estimate the value of FQ-PCR in diagnosis and treatment of type B hepatitis. **Methods** All HBVM and HBV-DNA were detected by FQ-PCR and ELISA, including 693 cases preliminary diagnosis sample and 231 cases further consultation sample treated about 3 months. **Results** Among 16 groups of HBVM, detection rate of HBV-DNA was 98.3% in HBeAg(+) group, average logarithm value exceeded 6.49; detection rate of HBV-DNA was 93.6% in HBeAg(-) while pre-S1 antigen(+) group, average logarithm value was 4.48±1.40; detection rate of HBV-DNA was 51.6% in HBsAg(+) meanwhile HBcAb(+) and pre-S1 antigen(-) group; average logarithm value was 4.46±1.43; detection rate of HBV-DNA was 16.7% in HBsAg(+) while HBeAg(-) and HBcAb(-), average logarithm value was 4.29±0.43; detection rate of HBV-DNA and average logarithm value were quite low in HBsAg(-) while HBeAg(-) and pre-S1 antigen(-) group. After 3 months' treatment, 50.0% cases in HBsAg(+) while HBeAg(+) and HBcAb(+) group whose average logarithm value changed over 1.5, and 31.4% in HBsAg(+) while HBeAb(+) and HBcAb(+) group. **Conclusion** HBV-DNA detection by FQ-PCR is significance to diagnosis, treatment and prognosis estimate in type B hepatitis.

Keywords: FQ-PCR; HBVM; pre-S1 antigen; quantification of HBV-DNA; type B hepatitis

乙型肝炎是最常见的传染病之一，大多数慢性乙型肝炎病毒（HBV）感染者是需要抗病毒治疗的慢性进展性肝病患者[1]。乙型肝炎病程迁延，进一步发展为肝功能衰竭或肝硬化，甚至肝癌，它严重威胁着人们的健康。因此，乙型肝炎诊断、治疗、预后判断是许多人关注的问题。目前HBVM模式复杂多样，HBV感染复制情况难以判断，实时荧光定量PCR（FQ-PCR）的应用，使HBV-DNA检测得到准确量化，为临床医生对乙型肝炎的诊断、治疗和预后判断提供可靠依据。本文采用了实时荧光定量PCR和酶联免疫吸附试验（ELISA）两种方法同时检测693份初诊和231份治疗3个月的复诊病人血清，并对结果进行分析，现报告如下。

［作者简介］胡永芳（1963－），女，重庆市璧山县人，副主任技师，主要从事临床检验方面的研究。电话：(023)65389880

［收稿日期］2007-12-05 ［修回日期］2008-02-15

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源 693份初诊和231份复诊病人血清标本均来自于2005年7月至10月在我科同时作HBVM和HBV-DNA定量检测者。

1.1.2 仪器 德国罗氏公司提供的LightCycler荧光定量PCR仪，酶标仪、洗板机均为德国赛博公司配套产品。

1.1.3 试剂 HBV-DNA定量检测试剂盒为深圳匹基生物工程技术股份有限公司产品，HBVM检测试剂盒为上海科华公司提供，前S1抗原检测试剂盒为上海阿尔法公司提供。

1.2 方法

1.2.1 HBV-DNA定量检测 采用FQ-PCR法，严格按照仪器及检测试剂盒说明书操作。最低检测限量为500 copy/mL。

1.2.2 HBVM和前S1抗原检测 采用*ELISA*法，严格按说明书操作。

1.2.3 定量结果统计方法 HBV-DNA定量结果采用求对

维普资讯 http://www.cqvip.com

数值计算平均拷贝数，遇有阴性结果不参与平均值的统计，定量数据组间比较采用 t 检验。

2 结果

HBVM模式中各项依次为HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb、前S1抗原。693份初诊病人血清用FQ-PCR法定量检测HBV-DNA和ELISA法检测HBVM、前S1抗原，结果见表1。经治疗3个月的患者231人，在治疗前后HBVM模式基本无改变，均同时作HBVM和HBV-DNA定量检测，本组统计的模式为HBsAg、HBeAg、HBcAb阳性（俗称大三阳）和HBsAg、HBeAb、HBcAb阳性（俗称小三阳）两种，HBV-DNA检测结果见表2。HBV-DNA定量对数值改变1.5以下者视为无改变。

表1 初诊病人HBVM、前S1抗原和HBV-DNA定量结果

组别	HBVM模式	前S1抗原	例数	HBV-DNA阳性		HBV-DNA定量(copy/mL)			定量对数值($\bar{x}\pm s$)
				例数	比例(%)	$<10^5$	$10^5\sim10^7$	$>10^7$	
1	+ − + − +	−	150	146	97.3	5	18	123	7.61±1.01
2	+ − + − +	+	60	60	100.0	1	16	43	7.48±0.99*
3	+ − − + +	−	156	78	50.0	67	9	2	4.08±0.88#
4	+ − − + +	+	25	23	92.0	14	7	2	4.48±1.40#
5	+ − − − +	−	92	50	54.3	37	9	4	4.46±1.43#
6	+ − − − +	+	22	21	95.5	15	5	1	4.38±1.07#
7	+ − + − −	−	20	20	100.0	0	4	16	7.89±0.91*
8	+ − − + −	−	8	1	12.5	1	0	0	3.90±0.0
9	+ − − − −	−	10	2	20.0	2	0	0	4.29±0.43#
10	− − − − +	−	18	2	11.1	2	0	0	3.68±0.86#
11	− − − + +	−	14	1	7.1	1	0	0	3.87±0.0
12	− + − + +	−	20	1	5.0	1	0	0	3.89±0.0
13	− + − + −	−	26	0	0	0	0	0	0
14	− + − − −	−	35	0	0	0	0	0	0
15	− − − − −	−	35	0	0	0	0	0	0
16	− − + − +	−	2	2	100.0	0	0	2	7.98±0.46*

*：与第1组比较，$P>0.05$；#：与第1组比较，$P<0.05$

表2 复诊病人治疗前后HBV-DNA定量结果($\bar{x}\pm s$)

HBVM模式	治疗者		对数值无改变者		对数值<检测限		对数值>检测限且有改变者			
	例数	对数值	例数	比例(%)	例数	比例(%)	例数	比例(%)	治疗前	治疗后
+ − + − +	180	7.48±0.96	90	50.0	5	2.78	85	47.22	7.66±0.83	5.06±1.04
+ − − + +	51	3.90±0.82	35	68.6	9	17.65	7	13.72	5.09±0.75	3.19±0.45

3 讨论

从表1可见，HBeAg(+)组是第1、2、7、16组，其HBV-DNA阳性率98.3%，且定量对数值高，表明HBV-DNA与HBeAg高度相关，均为评价乙型肝炎传染性指标；第4、6组虽然HBeAg(−)，但前S1抗原(+)，在病毒感染、复制和刺激肌体产生免疫反应等方面有十分重要的作用[2]，故HBV-DNA检测阳性率达93.6%；第3、5组HBsAg和HBcAb并存，HBV-DNA阳性率51.6%，说明在慢性HBV感染中，许多患者体内存在不同程度的病毒复制且具有传染性，需高度重视；第9组HBsAg(+)，HBV-DNA阳性率20.0%，为急性感染早期；第10、11、12、13、14组HBsAg、HBeAg均阴性，但HBV-DNA阳性率高于3.5%，是感染后恢复、急性感染的“窗口期”、未检出HBsAg慢性无症状HBV携带者低水平的病毒复制。

本实验结果还可见，HBV感染后有的患者不出现HBcAb（如第7、8、9组），可能是宿主选择性免疫应答不完全，一些HBV高度复制的携带者，过量的HBcAg掩蔽而出现HBcAb(−)。第16组HBeAg(+)而HBsAg(−)，DNA定量结果对数值高达7.98，有人认为是边缘效应所至，即在温育过程中周围孔与中央孔温度升降的速率差异而至[3]。但本研究对该标本原倍复查和稀释20倍后再检测HBVM，结果后者HBsAg(+)，为HOOK现象[4]。第1组中存在HBeAg(+)而HBV-DNA(−)的结果，可能的原因是，药物使HBV-DNA复制受

维普资讯 http://www.cqvip.com

抑制或试验中样本HBV-DNA丢失或与引物对应的DNA序列变异。HBeAg(-)而HBsAg(+)、HBeAb(+)患者,病毒复制较为活跃,仍具有较强的传染性,这可能存在HBV前C区基因突变[5]。有报道HBsAg(-)的献血者HBV-DNA阳性占10%[6]。故对于HBsAg(-)无论HBsAb是否阳性,或有HBV感染后的任何血清学依据都应进一步检测HBV-DNA作为判断肝病的第二步筛选[7]。对筛选献血员也有很大的价值。因此,在筛选献血员时应同时检测HBV-DNA,确保病人用血安全。

本实验结果(表2)可见,许多乙型肝炎患者在治疗3个月前后HBVM未发生改变,部分患者HBV-DNA定量却有所变化,大三阳者病毒含量高,治疗后有效果者多于小三阳者,而治疗后HBV-DNA定量小于最低检测限者则是小三阳者多于大三阳者,也有部分患者对某种治疗方案无效而对另一种方案却有效,或其它原因而治疗无效。故对患者进行抗病毒核酸治疗时,血清中病毒核酸含量是反映病毒数量和复制活跃程度最可靠的直接指标[8]。FQ-PCR法检测HBV-DNA可为治疗乙型肝炎制定用药方案、用药时间、预后判断等提供依据。

ELISA法检测HBVM是临床诊断HBV感染的传统手段,但HBVM组合模式复杂多样,导致临床上对部分患者HBV感染复制状况难以判断。FQ-PCR技术直接探测PCR过程中荧光信号的变化,根据酶动力学特点获得DNA模板的准确定量结果[9]。此法灵敏度高、特异性强、结果准确,能反映HBV真实感染和复制状态,使人们对HBV感染者体内HBV复制及传染性有更深刻的认识。对乙型肝炎的临床诊断、治疗方案选择、疗效观察、预后判断具有指导意义。

[参考文献]

[1] 侯金林,孙 剑. 乙型肝炎病毒拉米夫定耐药的临床监测[J]. 中华传染病杂志,2003,21(1):11-13.

[2] 徐明华,胡永芳,陆渝琳. 1 034份血清乙型肝炎病毒前S1抗原与HBV-M、HBV-DNA检测结果分析[J]. 重庆医学,2005,34(6):952.

[3] 曹文飞. 酶联免疫测定的干扰因素与对策[J]. 中国实验临床免疫学杂志,1998,10(3):60-64.

[4] 曹文飞. 试论HOOK效应的分子基础[J]. 免疫学杂志,1998,14(4):274-278.

[5] 赵建勤,刘 丽,雷学忠,等. HBV-DNA定量与乙型肝炎病毒感染免疫学检测结果对比分析及意义[J]. 华西医学,2001,16(3):332-334.

[6] 赵 勇,周 影. 用PCR技术检测50名HbsAg阴性献血者血清HBV-DNA结果[J]. 中国输血杂志,1996,9(4):214.

[7] 杨世明,杨彬林,王春霞,等. HBsAg阴性血液HBV检测及其意义探讨[J]. 第四军医大学学报,2000,21(8):963.

[8] 陶其敏. 如何看待病毒性肝炎的基因诊断[J]. 中华检验医学杂志,2002,25(2):69-70.

[9] 孔建新,王保龙. 荧光定量聚合酶链反应检测肝病患者HBV-DNA[J]. 上海医学检验杂志,2002,17(4):250-252.

(编辑:余汇洋)

《中国组织工程研究与临床康复》征订启事

《中国组织工程研究与临床康复》是美国《化学文摘》(CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘》(EM)、俄罗斯全俄科学技术信息研究所数据库(VINITI)、波兰《哥伯尼索引》(IC)、美国《剑桥科学文摘》(CA)、中国科技论文统计源期刊、中国中文(临床医学类)核心期刊、中国科学引文数据库等收录期刊。本刊为周刊,每周二出版,2008年出版重点为生物材料、组织工程支架材料、口腔生物材料;组织工程产品研制以及组织构建;骨科植入体、脊柱植入体、心/脑/外周血管及血管植入物、人工假体、人工器官;成体干细胞、胚胎干细胞、脐血干细胞、羊膜干细胞、肿瘤干细胞基础及临床研究;器官/组织/细胞移植;康复工程等组织工程方面的研究。欢迎上述研究原著及综述稿件以中文或英文形式投稿。本刊一般稿件6个月出版,符合"绿色特快通道"稿件承诺3个月内出版。

咨询电邮:CRTER30001@163.COM　　**电　　话**:024-23389106　024-23384352
传　　真:024-23388105　　**投稿电邮**:kf23385083@sina.com,kf22838105@sina.com
国内订阅邮发代号:8-584　　**本社订阅**:辽宁省沈阳1200邮政信箱
邮　　编:110004　　**定　　价**:12元/册　　更多信息见www.zglckf.com