

·诊疗技术·

不同模式乙肝五项与 HBV-DNA 定量及 ALT 的关系研究

朱 昕,熊 丹

(高安市人民医院检验科,江西 高安 330800)

摘要:目的 探讨不同模式乙肝五项与乙型肝炎病毒 DNA(HBV-DNA)及血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)相关性分析。方法 选择 2018 年 1~6 月在高安市人民医院确诊的 509 例乙型肝炎病毒(HBV)阳性患者为研究对象,乙肝五项用酶联免疫吸附试验(ELISA)、HBV-DNA 用荧光定量 PCR (FQ-PCR)法、ALT 用乳酸脱氢酶法测定。根据乙肝五项的结果分为 A 组大三阳(HBsAg+、HBeAg+、HBcAb+),B 组小三阳(HBsAg+、HBeAb+、HBcAb+),C 组小二阳(HBsAg+、HBcAb+),分析不同模式乙肝五项与 HBV-DNA 及 ALT 相关性。结果 ①A 组 HBV-DNA 定量阳性率(87.50%)高于 B 组(50.64%)和 C 组(34.33%),B 组阳性率高于 C 组,差异有统计学意义($P<0.05$);②A 组 HBV-DNA 定量 $>1.0\times 10^5$ 比例(64.84%)高于 B 组(18.47%)和 C 组(30.43%),A 组 HBV-DNA 定量 $<1.0\times 10^4$ 比例(23.08%)低于 B 组(64.33%)、C 组(60.87%);三组 HBV-DNA 定量为 $1.0\times 10^4\sim 1.0\times 10^5$ 的比例在 10%~20%;③509 例乙肝患者血清中 ALT ≥ 50 U/L 有 70 例,A 组中 ALT ≥ 50 U/L 的比例(34.61%)高于 B 组(0.90%)、C 组(0.89%),差异有统计学意义($P<0.05$),但 B 组与 C 组 ALT ≥ 50 U/L 的比例比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 不同模式乙肝五项检测结果与 HBV-DNA 量及血清酶 ALT 含量有关,对不同模式的乙型肝炎患者采取不同模式乙肝五项检测,对乙肝诊治具有临床意义。

关键词:乙肝五项;HBV-DNA;血清标志物 ALT;慢性乙型肝炎

中图分类号:R512.6+2

文献标识码:A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2020.19.052

文章编号:1006-1959(2020)19-0162-03

Study on the Relationship Between Five Hepatitis B Items in Different Models,
HBV-DNA Quantification and ALT

ZHU Xin,XIONG Dan

(Department of Laboratory Medicine,Gaoan People's Hospital,Gaoan 330800,Jiangxi,China)

Abstract:Objective To explore the correlation analysis of five different models of hepatitis B with hepatitis B virus DNA (HBV-DNA) and serum alanine aminotransferase (ALT).Methods A total of 509 hepatitis B virus (HBV) positive patients diagnosed in Gao'an People's Hospital from January to June 2018 were selected as the research subjects. Five hepatitis B items were tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and HBV-DNA by fluorescence quantitative PCR (FQ-PCR) method, ALT was determined by lactate dehydrogenase method. According to the results of the five items of hepatitis B, they were divided into three major yang (HBsAg+, HBeAg+, HBcAb+) in group A, three small yang (HBsAg+, HBeAb+, HBcAb+) in group B, and two small yang (HBsAg+, HBcAb+) in group C. Five hepatitis B items of different modes were analyzed. Correlation with HBV-DNA and ALT.Results ①The positive rate of HBV-DNA in group A (87.50%) was higher than that of group B (50.64%) and group C (34.33%). The positive rate of group B was higher than that of group C,the difference was statistically significant ($P<0.05$); ②The ratio of HBV-DNA quantification $>1.0\times 10^5$ (64.84%) in group A was higher than that of group B (18.47%) and group C (30.43%), and the ratio of HBV-DNA quantification $<1.0\times 10^4$ (23.08%) in group A was lower than that of group B (64.33%), group C (60.87%); the proportion of the three groups with HBV-DNA quantification of $1.0\times 10^4\sim 1.0\times 10^5$ is 10%~20%; ③There were 70 cases of 509 patients with hepatitis B in serum ALT ≥ 50 U/L. The proportion of ALT ≥ 50 U/L in group A (34.61%) was higher than that in group B (0.90%) and group C (0.89%),the difference was statistically significant ($P<0.05$), but there was no significant difference in the ratio of ALT ≥ 50 U/L between group B and group C ($P>0.05$).Conclusion The five test results of different models of hepatitis B were related to the amount of HBV-DNA and the content of serum enzyme ALT. The five test results of different models of hepatitis B for patients with different models of hepatitis B had clinical significance for the diagnosis and treatment of hepatitis B.

Key words:Five items of hepatitis B;HBV-DNA;Serum marker ALT;Chronic hepatitis B

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus,HBV)具有广泛传染性,是世界范围内流行病变^[1]。可通过血液传播、性传播及母婴传播等多种途径感染正常人群^[2,3],发病率较高。我国为乙肝高发区,人群表面抗原携带率高达 7.18%,慢性乙肝患者约 2000 万^[4],流行形势较严峻。临床常用酶联免疫法(ELISA)检测乙肝病毒血清标志物包括乙肝表面抗原(HBsAg)、乙肝表面抗体(HBsAb)、乙肝 e 抗原(HBeAg)、乙肝 e 抗体(HBeAb)和乙肝核心抗体(HBcAb),即乙肝五项,但此检测法对其病情严重程度的评估效果并不理想^[5]。随着分子诊断技术的发展,对乙肝患者血清中 HBV-DNA 及血清丙氨酸氨基转移酶(Ala-

mineaminotransferase,ALT)定量检测,可反映乙肝传染性患者的肝功损害情况^[6]。因此,本研究为进一步明确乙肝患者的两对半模式与 HBV-DNA、ALT 的关系,对乙肝病毒阳患者血清中的乙肝五项、HBV-DNA 及 ALT 进行测定,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 1~6 月在高安市人民医院确诊的 509 例 HBV 阳性患者为研究对象,其中男 366 例,女 143 例。年龄 14~75 岁,平均年龄(40.1 \pm 12.6)岁。入组患者均自愿参与本次研究,并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 仪器和试剂 乙肝五项应用半自动酶标分析仪(SK201,深圳市盛信科技有限公司)测定,乙肝五项

作者简介:朱昕(1975.6-),女,江西高安人,本科,主管检验师,主要从事临床检验工作

检测试剂盒购自珠海丽珠试剂股份有限公司; HBV-DNA 定量检测使用达安实时荧光 PCR 仪 (DA7600, 达安基因股份有限公司), HBV-DNA 定量检测试剂盒购自中山大学达安基因股份有限公司; 血清酶 ALT 使用全自动生化分析仪 (AU5800, 贝克曼库尔特商贸有限公司), 其检测试剂盒购自贝克曼库尔特商贸有限公司。

1.2.2 乙肝五项测定 将试剂盒各组分别从试剂盒中取出, 平衡至室温。将 20 倍浓缩洗液按照 1:19 的比例加入到蒸馏水中, 混匀备用。预包被板条固定于板架, 按序编号。按具体使用试剂盒说明书加样、温育、洗版、显色、终止。用酶标仪读值, 在单波长 450 nm 下读取各孔 OD 值。结果判断: ①HBsAg 临界值=阴性对照平均 OD 值+0.09; ②HBsAb 临界值 (C.O.)=2.1×阴性对照平均 OD 值; ③HBeAg 临界值 (C.O.)=2.1×阴性对照平均 OD 值; 样本 OD 值<临界值 (C.O.) 为 HBsAg 阴性, 样本 OD 值≥临界值 (C.O.) 为 HBsAg 阳性。④HBeAb 临界值 (C.O.)=阴性对照平均 OD 值×0.5; HBeAb 临界值 (C.O.)=阴性对照平均 OD 值×0.5; 样本 OD 值<临界值 (C.O.) 为 HBeAb 阳性, 样本 OD 值≥临界值 (C.O.) 为 HBeAb 阴性。根据乙肝五项的结果分为 A 组大三阳 (HBsAg+, HBeAg+, HBcAb+), B 组小三阳 (HBsAg+, HBeAb+, HBcAb+), C 组小二阳 (HBsAg+, HBcAb+)。

1.2.3 HBV-DNA 定量检测 采用 FQ-PCR 法对 HBV-DNA 进行定量检测。标本 2500 rpm 离心 5 min, 取 360 μl 血清加入微型管 B 后 12000 rpm 离心 5 min。

表 1 三种模式乙肝五项与 HBV-DNA 定量之间的关系 (n, %)

组别	n	HBV-DNA 定量<5.00×10 ² (copies/ml)	HBV-DNA 定量>5.00×10 ² (copies/ml)	阳性率
A 组	104	13	91	87.50*#
B 组	310	153	157	50.64#
C 组	67	44	23	34.33

注: 与 B 组比较, *P<0.05; 与 C 组比较, #P<0.05

2.2 HBV-DNA 定量分析 A 组 HBV-DNA 定量>1.0×10⁵ 占比 (64.84%) 高于 B 组 (18.47%) 和 C 组 (30.43%); A 组 HBV-DNA 定量<1.0×10⁴ 占比 (23.08%) 低于 B 组 (64.33%) 和 C 组 (60.87%)。三组 HBV-DNA 定量在 1.0×10⁴~1.0×10⁵ 均为 10%~20%, 见图 1。

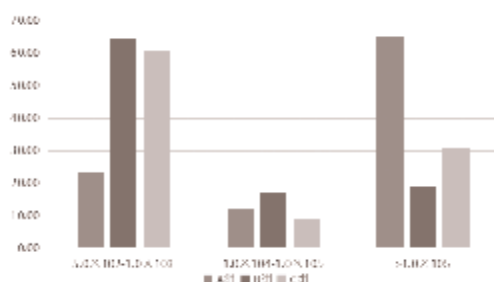


图 1 三种模式乙肝五项 HBV-DNA 定量值占比

另取微型管 A 加入 DNA 提取液 (大瓶) 450 μl, 于 B 中取 200 μl 血清加入 A 中, 机器震荡混匀离心 2000 rpm, 10 s, 放入干燥器中加盖 100℃ 煮 10 min 取出, 待其冷却后 12000 rpm 离心 5 min, 取出 20 μl 加入 PCR 管, 然后离心 8000 rpm, 10 s 上机, 反应结束后自动保存结果, 根据分析后图像调节 Baseline 的 Start 值、End 值以及 Threshold 值, 点击 Analysis 自动获得分析结果, 在 Report 界面查看结果。判定标准:<5.00×10² copies/ml 为阴性, 大于 5.00×10² copies/ml 为阳性。PCR 实验室通过卫生部认定标准。

1.2.4 ALT 测定 采用乳脱氢酶法测定, 取患者静脉血 3 ml, 温育 10 min 后, 4000 rpm 离心 4 min 分离血清。试剂准备: 该试剂是即用型 ALT 检测试剂盒, 所有操作均严格按照试剂盒说明书进行。将样本编号、扫码、输项目、上生化检测仪检测, 系统自动计算各样本 ALT 浓度。ALT 正常设定范围为 9~50 U/L。**1.3 观察指标** 观察 A 组大三阳、B 组小三阳、C 组小二阳的乙肝五项检测值、HBV-DNA 定量血清 ALT 水平。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 21.0 软件分析数据, 计数资料以 (%) 表示, 采用 χ^2 检验; 计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, t 检验, 多组间的比较行方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同模式乙肝五项与 HBV-DNA 定量检测的关系 A 组 HBV-DNA 定量阳性率高于 B 组和 C 组, B 组高于 C 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 1。

2.3 不同模式乙肝五项与血清转氨酶 ALT 的关系 509 例乙肝患者血清中 ALT≥50 U/L 有 70 例, A 组 ALT≥50 U/L 的比例高于 B 组和 C 组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), B 组与 C 组占比比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 2。

表 2 不同模式乙肝五项与血清酶 ALT 之间的关系 (U/L)

组别	n	ALT≥50	ALT≤50
A 组	104	36 (34.61) **	68 (65.38)
B 组	310	28 (0.90) &	282 (90.97)
C 组	67	6 (0.89)	61 (91.04)

注: 与 B 组比较, *P<0.05; 与 C 组比较, #P<0.05, & 与 C 组比较, P>0.05

3 讨论

乙型肝炎是有乙肝病毒引起的肝脏慢性炎症,

HBV 是病毒性肝炎中常见的病原体^[6]。HBV 感染是全球性的公共卫生问题,临床应高度重视以控制感染率。乙肝五项检查是临床检测 HBV 感染的常见方法,可判断是否感染 HBV,反映病毒复制水平^[7]。但乙肝五项模式多用于早期筛查,且其组合方式复杂多样,导致临床无法判断患者体内病毒复制状态,造成漏诊、误诊发生,对病情严重程度的评估参考性不大^[8]。

随着近年 FQ-PCR 等分子生物学方法不断涌现,有学者发现其具有灵敏度高、特异性好的优点,很好地解决免疫学方法的缺陷,降低漏检率^[9]。其中,FQ-PCR 法因其具有更高的灵敏度,且可对病毒进行精确定量、操作简便等优势,在临床上应用最为广泛^[10]。一般 HBV-DNA 定量检测值越高,传染性越强^[7]。因此,进一步明确乙肝患者的两对半模式与 HBV-DNA 定量之间的关系,可更好地协助临床医生判断患者的病情,制定更具体的治疗方案。

本研究结果显示,A 组 HBV-DNA 定量阳性率(87.50%)高于 B 组(50.64%)和 C 组(34.33%),B 组阳性率高于 C 组,差异有统计学意义($P<0.05$),与王碧玉等的研究结果一致^[11]。A 组 HBV-DNA 定量 $>1.0\times 10^5$ 比例(64.84%)高于 B 组(18.47%)和 C 组(30.43%),A 组 HBV-DNA 定量 $<1.0\times 10^4$ 比例(23.08%)低于 B 组(64.33%)、C 组(60.87%),说明不同模式的乙肝五项与 HBV-DNA 定量值有相关性,患者体内病毒复制情况不一样。此外,乙肝五项检测结果 e 抗原阳性患者中,HBV-DNA 阳性检出率均较高,HBV-DNA 定量值也高于未检出 e 抗原阳性患者,说明 e 抗原与 HBV 复制有关,这与其他文献报道的结果相一致^[12]。本研究中部分血清学阳性的患者荧光定量 PCR 检测显示为阴性,分析原因可能如下:①部分患者用药治疗后,HBV-DNA 先于血清标志物消失;②HBV 整合进宿主肝细胞,导致血清中无法检测到游离 HBV-DNA^[13]。ALT 在肝脏中含量最多,主要存在于肝细胞胞浆中,病毒性肝炎发病导致机体 ALT 浓度变化^[14]。研究发现,ALT 正常的 HBV 慢性感染者中 20.7%有明显的肝纤维化,该类患者 ALT 轻微升高,其肝纤维化的风险则高达 48%^[15,16]。此外,A 组患者中 ALT ≥ 50 U/L 的比例为 34.61%,高于 B 组(0.90%)和 C 组(0.89%),差异有统计学意义($P<0.05$),B 组与 C 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),说明大三阳患者的 ALT 波动比较大,肝功能活动性与乙肝模式相关。

综上所述,不同模式乙肝五项与 HBV-DNA 定量以及 ALT 定量有关。因此,对不同模式的乙型肝炎患者采取不同模式乙肝五项检测,对乙肝诊

治具有临床意义。

参考文献:

- [1]曾雅莉,马清峰,熊微,等.不同病期慢性 HBV 感染者肝功能、HBV-DNA 与 HBV-M 模式的关系[J].国际检验医学杂志,2015,9(4):433-435.
- [2]颜丽娟.浅析乙肝患者血清 HBV-DNA 的含量与其乙肝两对半模式的关系[J].当代医药论丛,2017,15(2):135-136.
- [3]谭斌,杨文才,李嘉,等.HBV-DNA 水平与乙型肝炎两对半模式的相关性[J].中国老年学杂志,2015,20(10):2749-2750.
- [4]刘青鹤.HBV-M 与定量 PCR 法检测 HBV-DNA 相关性探讨[J].中国医学创新,2014,11(25):123-124.
- [5]王碧玉,黄燕妮.乙肝两对半定量、乙肝 DNA 定量与乙肝前 S1 抗原联合检测的临床意义[J].海南医学,2016,27(7):1182-1184.
- [6]陈建仁,李驰,关惠恒,等.超敏荧光定量 PCR 法核酸检测与乙肝两对半联用在乙肝防控中的临床应用[J].中国实用医药,2018,13(9):83-85.
- [7]安良敏,刘寿,余素琼,等.生化检验指标在病毒性肝病诊断中的应用及特点分析[J].中国实用医药,2015,20(23):95-96.
- [8]Chao DT, Lim JK, Ayoub WS, et al. Systematic review with meta-analysis: the proportion of chronic hepatitis B patients with normal alanine transaminase ≤ 40 IU/L and significant hepatic fibrosis[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2014, 39(22): 349-358.
- [9]Nguyen LH, Chao D, Lim JK, et al. Histologic changes in liver tissue from patients with chronic hepatitis B and minimal increases in levels of alanine aminotransferase: a meta-analysis and systematic review [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2014, 12 (9): 1262-1266.
- [10]王福玲.血清 miR-122, ALT 及 HBV-DNA 定量检测对慢性乙型肝炎患者诊断的意义[J].现代检验医学杂志, 2017, 32 (4): 67-71.
- [11]罗艳. PreS1、HBV-DNA 及乙肝五项指标对乙型肝炎肝硬化纤维化诊断的临床价值 [J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27 (1): 53-57, 62.
- [12]黄秀香, 叶迎宾, 董志平, 等. 慢乙肝患者的乙肝五项、HBV-DNA 和甲状腺参数的结果分析 [J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(5): 559-563.
- [13]刘佩, 赵旭鸿. 乙肝五项、HBV-DNA 定量及乙肝前 S1 抗原联合检测用于诊断乙肝的临床价值分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2016, 23(11): 1275-1278.
- [14]曹东华, 饶丽华. 乙肝五项、PreS1Ag 及 HBV-DNA 联合检测对诊断乙型肝炎的临床价值 [J]. 医学理论与实践, 2018, 31 (20): 3117-3119.
- [15]董博, 胡海石, 王德景, 等. 慢性乙型肝炎病毒感染患者血清 HBV-LP 水平与 HBV-DNA 及 HBeAg 的关系及临床意义 [J]. 实用预防医学, 2019, 26(4): 490-492.
- [16]刘淑媛, 陈博, 杜敬佩, 等. 妊娠合并乙型肝炎患者乙肝五项定量与 HBV-DNA 结果相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(19): 3143-3145.

收稿日期: 2020-05-24; 修回日期: 2020-06-15

编辑/肖婷婷