

汕头献血人群HBV DNA定量检测结果与乙肝两对半模式分析

林树波 肖泽斌 温国强

【摘要】 目的 分析献血人群中HBV DNA定量检测结果与乙肝两对半模式的关联。**方法** 对于献血者血液筛查出来的HBsAg阳性者进行乙肝两对半检测、HBV DNA荧光定量PCR检测,对于荧光定量PCR高于1000 IU/ml的进行DNA测序。**结果** 所测样本存在9种HBV-M模式,各种模式都有一定比率的DNA活动性复制,测序标本均为HBV B型。**结论** 献血人群的乙肝病毒携带者中存在较高的病毒活动性复制,应予以重视和进一步研究,HBV基因型全部为B型,可能是本地献血人群的分布特点。

【关键词】 乙肝病毒 乙肝两对半 荧光定量PCR HBV基因分型

【中图分类号】 R512.6⁺2 R392.11 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-2587 (2016) 01-0059-03

An Analysis of Correlation of Quantitative Detection of DNA with Serum Markers in HBV Carriers LIN Shu-bo, XIAO Ze-bin, WEN Guo-qiang. Blood Center of Shantou 515064

【Abstract】 Objective To analyze the HBV-DNA quantitative test results and serum HBV markers in blood donors. **Methods** The positive HBsAg was detected as HBV markers in blood donors and HBV-DNA was tested by fluorescent quantitative-PCR, and samples over 1 000 IU/ml was subjected to DNA sequencing. **Results** 9 HBV-M modes in the measured samples were noted and each of the modes presented the active DNA replication in a certain degree. **Conclusion** There are a higher viral replication activity in HBV carriers in blood donors, to which more attention should be paid. The genotype B of HBV might be the endemic character in the local blood donors.

【Key words】 HBV HBV markers Fluorescent quantitative PCR HBV Genotype

乙型肝炎病毒(HBV)是一种经血液传播的嗜肝DNA病毒,是导致慢性肝炎、肝硬化和肝癌的重要因素,是我国当前流行最广泛、危害最严重的一种传染病,人群中有很多HBV携带者。基本上所有国家都将HBV检测作为血液必检项目。目前多数研究都是针对乙肝患者,而献血人群中筛选出来的HBsAg阳性者的情况如何?对此笔者进行了初步探索。

对象与方法

1 对象 本市2014年4~12月的无偿献血者血样,经两种HBsAg ELISA试剂检测为阳性的标本(一种是丽珠HBsAg检测试剂盒,一种是索林Murex HBsAg Verson3检测试剂盒),留样-30℃保存。
2 试剂 ELISA试剂盒:珠海丽珠HBsAg检测试剂盒,批号2014010208、2014020508、

2014051108、2014081708;索林Murex HBsAg Verson3检测试剂盒,批号D188810、D224710、D224610;英科新创乙肝二对半检测试剂盒,批号2014126230、2014116328、2014106424、2014116527;中山达安基因的乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒,批号2014008、2014010、2014016、2014021;中山达安基因的乙型肝炎病毒耐药基因突变检测试剂盒(PCR测序法)20人份/盒,批号2014001、2014002。

3 主要仪器 Tecan Freedom Clinical 150/8全自动加样器, FAME24/20全自动酶联免疫分析仪, BEPIII全自动酶联免疫分析仪, Applied Biosystem® 7500实时荧光PCR仪, Applied Biosystem® 3500 XL Dx基因分析仪, 分析软件: Applied Biosystem® Data Collection®与Sequencing Analysis 软件, 数据分析软件: Applied Biosystem®公司Sequence Scanner Software 2.0 软件。

4 实验方法 采用2种HBsAg ELISA 检测试剂进行筛查,结果均为阳性的样本分样保存,并进行乙肝二对半检测。对保存后的血样进行荧光定

DOI:10.3969/j.issn.1671-2587.2016.01.018

作者单位: 515064 广东省汕头市中心血站

作者简介: 林树波(1977-),男,广东汕头人,主管检验师,主要从事实验室血液检验工作, (Tel) 13501417598 (E-mail) lsbt0p@163.com。

量PCR检测,按试剂盒操作,核酸提取后按要求加入引物,扩增条件:93℃ 2 min;93℃ 45 s,55℃ 60 s,10个循环;93℃ 30 s,55℃ 45 s,30个循环。荧光定量PCR检测病毒载量高于1 000 IU/ml,再用PCR测序法对病毒进行测序并判断HBV基因型。

结 果

表1 HBV-M各个模式的DNA检测结果

序号	乙肝两对半					例数	DNA阳性数	检 出 率 (%)	>1000IU/ml	DNA基 因型
	HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb					
1	+			+	+	87	61	70.11	26	B
2	+	+		+	+	9	6	66.67	2	B
3	+		+		+	1	1	100.00	1	B
4	+	+	+		+	2	2	100.00	2	B
5	+					10	5	50.00	3	B
6	+			+		27	5	18.52	1	B
7	+				+	15	8	53.33	5	B
8	+	+		+		1	0	0.00	0	B
9	+	+			+	1	1	100.00	1	B
总计						153	89	58.17	41	

表2 HBV DNA检测阳性的血型分布

血型	DNA阳性数	各血型DNA阳性比例(%)	同期献血人数	同期献血人数的血型分布比例(%)
A	18	20.22	7613	26.28
B	24	26.97	7558	26.09
O	44	49.44	11685	40.34
AB	3	3.37	2111	7.29
合计	89		28967	

讨 论

临床上采用乙肝两对半检查来判断是否感染乙肝及粗略估计病毒复制水平,但对于病情严重程度的评估参考性不大,也不能直接反映HBV在体内的复制情况,不能作为有否感染的直接证据。HBV DNA检查是判断体内有否病毒的直接证据,是判断如何治疗的参考依据。献血者中筛查出来的HBsAg阳性者存在不同形式的HBV-M模式,也存在较高的HBV DNA阳性率。

从表1可以看出,检测标本中有9种HBV-M乙肝两对半模式,其中有3种为常见模式(1、4、5阳性、1、3、5阳性、1、4阳性),其余6种均为非常见模式。各种模式的DNA定量检测结果均有

对28 967份标本进行HBsAg ELISA试剂检测,筛查出153份HBsAg双阳性标本,ALT检测均在正常水平范围内(<40 U),用乙肝两对半试剂检出9种HBV-M表现型,见表1;经荧光定量PCR检测,有89例HBV DNA阳性(见表2),其中41例标本病毒载量高于1 000 IU/ml,符合测序要求,进一步采用PCR体外扩增结合双脱氧终止法技术测序,结果41例均为HBV基因B型。

一定比率的阳性,说明存在病毒的活动性复制。前4种模式的DNA阳性比率较高,HBsAg阳性的标本100%检出,与相关报道的检测结果大体一致(100%^[1]、98.0%^[2]、99.13%^[3]),说明HBsAg阳性者存在明显的DNA活动性复制,需要结合其他检测进行监测治疗。病毒DNA的总检出率为58.17%,说明HBV携带者中有较高的病毒复制,应引以重视,特别是小三阳组,过往人为HBsAg阴性者的病毒处于低水平复制,但从70.11%的检出率来看,说明病毒活动性复制还是比较高的。一方面可能是检测试剂的灵敏度较高,另一方面可能与病毒变异等因素有关。HBsAg由HBV前C区编码,该区的变异会导致HBsAg无法正常合成,可逃避机体的免疫抑制,但不影响病毒复制