

乙型肝炎病毒 DNA 定量、分型检测与血清学检测的相关性分析

何玉红

(子长县人民医院检验科,陕西 子长 717300)

摘要:目的 探讨乙型肝炎病毒血清学与 DNA 定量及基因分型检测间的相关性。方法 选取 68 例乙肝血清学及 DNA 定量阳性的样本,使用 ELISA 法对乙肝血清学进行检测,荧光 PCR 法进行 DNA 定量及基因分型检测,分析血清学结果与 DNA 定量及基因分型结果的相关性。结果 大三阳与小三阳样本 HBV DNA 定量结果之间存在显著性差异($P < 0.01$),而与 HBV 基因型无统计学差异($P > 0.05$),HBV DNA 定量结果与基因型之间也无统计学差异($P > 0.05$)。HBV 基因型在西安地区的分布与其他相关报道一致,以 B、C 型为主,且 C 型高于 B 型。结论 HBV 血清学结果与 HBV DNA 载量之间有密切的相关性,但与基因型分布无相关性,HBV DNA 载量与基因型之间无相关性。

关键词: HBV;血清学;HBVDNA;HBV 基因分型

中图分类号:R446 文献标识码:A 文章编号:1672-2639(2017)03-0070-03

Hepatitis B virus DNA quantitative, classification test and serological test of correlation analysis

HE Yu-hong

(Department of Laboratory, The People's Hospital of Zichang County, Zichang 717300, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation between the hepatitis B virus serologic and HBV DNA and genotyping detection. **Methods** Sixty-eight samples of hepatitis B serology and HBV DNA positive samples were selected. HBV serology was detected by ELISA. DNA quantification and genotyping were performed by fluorescence PCR. The results of serological analysis were correlated with DNA quantification and genotyping sex. **Results** There were significant differences between the quantitative results of HBsAg and HBeAg ($P < 0.01$), while there was no significant difference between HBV DNA quantification and genotype ($P > 0.05$). The distribution of HBV genotype in Xi'an area was consistent with other related studies, mainly B and C, and C was higher than that of type B ($P > 0.05$). **Conclusion** There is a close correlation between HBV serological results and HBV DNA loads, but has no correlation with genotype distribution, no correlation between HBV DNA loads and genotype.

Key words: HBV; Serology; HBV DNA; HBV genotyping

2016 年全国乙型肝炎 (HBV) 血清流行病学调查表明,我国 1~59 岁一般人群 HBsAg 携带率为 7.18%^[1-2]。HBV 感染时的年龄是影响慢性化的最主要因素,我国 HBV 感染者多为围产期或婴幼儿时期感染。慢性乙型肝炎患者肝硬化的年发生率为 2%~10%,危险因素包括宿主(年龄大、男性、发生

HBeAg 血清学转换时大于 40 岁、ALT 持续升高),病毒(HBVDNA > 2000 IU/mL、HBeAg 持续感染、基因型 C、HDV 或 HIV 感染)以及环境(酒精和肥胖)。对于 HBeAg 阴性、HBVDNA 低水平(< 2000 IU/mL)、B 或 C 基因型 HBV 感染患者,高水平 HBsAg (≥ 1000 IU/mL)与原发性肝癌的发生风险呈正

作者简介:何玉红(1976—),女,陕西子长人,副主任检验师,主要研究方向:生化与微生物检验。

相关^[3]。

乙型肝炎病毒的实验室检查主要包括血清学检查(HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc和抗-HBc-IgM)、HBVDNA、基因型和变异检测以及生物化学检查(ALT、AST、血清胆红素、白蛋白和球蛋白、PT、PTA、GGT、ALP、TBA、胆碱酯酶、AFP等)3类。本研究通过对68例不同乙型肝炎病毒血清学类型的样本进行HBVDNA定量及基因型检测,初步分析乙型肝炎病毒血清学与DNA定量及基因型的关系。

1 资料与方法

1.1 材料

将2016-11~2017-01在子长县人民医院检验科检验的乙肝血清学、乙型肝炎病毒DNA样本共计68例作为研究对象。按照乙肝血清学结果类型对样本进行分类,其中包括大三阳19例、小三阳33例、其他类型样本16例。

1.2 仪器与试剂

乙肝血清学标志物检测试剂购自上海科华生物技术有限公司,乙型肝炎病毒DNA定量检测设备采用西安天隆TL-988IV型四通道荧光PCR系统,检测试剂盒购自于苏州天隆科技有限公司,方法为荧光定量PCR法,试剂盒的线性范围为 $30 \sim 10^8 \text{ IU} \cdot \text{mL}^{-1}$,乙型肝炎病毒基因分型设备采用西安天隆TL-988IV型四通道荧光PCR系统,试剂盒购于苏州天隆科技有限公司,方法为荧光PCR法,试剂盒的检测范围为 $>500 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.3 统计学方法

采用SPSS19.0统计学软件进行分析,计量数据用两个独立样本 t 检验,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 血清学与HBVDNA定量的相关性

68例不同乙肝血清学样本中,大三阳HBV-DNA阳性率为94.74%及DNA平均载量为 $1.77\text{E}+07$,小三阳HBV-DNA阳性率为48.49%及平均载量为 $9.60\text{E}+03$,其他血清学类型HBV-DNA阳性率为25%及平均载量为 $9.19\text{E}+03$,大三阳样本HBV-DNA阳性率及平均载量均高于小三阳样本高于其他血清学类型样本,经统计学分析,大三阳与小三阳在HBVDNA载量之间有统计学意义($P <$

0.01),见表1。

表1 血清学与HBVDNA定量的相关性

血清学结果	$n=68$	平均HBVDNA载量(IU/mL)	HBVDNA阳性样本数量(%)	t	P
大三阳	19	$1.77\text{E}+07$	18(94.74)	7.865	<0.01
小三阳	33	$9.60\text{E}+03$	16(48.49)		
其他类型	16	$9.19\text{E}+03$	4(25.00)		

2.2 血清学与HBV基因型的相关性

68例样本中HBV核酸检测阳性的样本有38例,对这38例样本进行HBV基因分型检测,检出HBVB、C型共计37例,其中C型23例(60.53%),HBVB型14例(36.84%),经统计学分析,大三阳与小三阳在HBV基因型之间无统计学差异($P > 0.05$),见表2。

表2 血清学HBV基因型的相关性

血清学结果	$n=38$	HBV基因型(%)		χ^2	P
		B型	C型		
大三阳	17	7(38.89)	10(55.56)	0.047	0.829
小三阳	16	6(37.50)	10(62.5)		
其他类型	4	1(25.00)	3(75.00)		

2.3 HBV基因型与DNA载量的相关性

HBV基因分型检出的B、C型37例样本中,B基因型样本HBVDNA平均载量为 $1.28\text{E}+05$,C基因型样本HBVDNA平均载量为 $9.62\text{E}+05$,经统计学分析,B、C基因型HBVDNA载量间无统计学意义($P > 0.05$),见表3。

表3 HBV基因型与DNA载量的相关性

HBV基因型	$n=37$	平均HBVDNA载量(IU/mL)	t	P
B型	14	$1.28\text{E}+05$	0.883	0.384
C型	23	$9.62\text{E}+05$		

3 讨论

按照OKAMOTO^[4]提出的根据HBV全基因序列差异 $\geq 8\%$ 的标准,HBV至少有9个基因型,且HBV基因型分布存在明显的地域性差异,我国以B、C型为主,也有少量的A、D型及B/C型混合感染,其中北方以C型为多,HBV基因型与疾病进展和干扰素治疗应答有关,与C基因型感染者相比,B基因型感染者较少进展为慢性肝炎、肝硬化和肝癌,

HBeAg 阳性患者对 IFNa 治疗的应答率, B 基因型高于 C 基因型^[1]。本研究的结果显示, 虽然大三阳与小三阳样本间 B、C 基因型分布无统计学差异, 但 C 基因型的占比高于 B 基因型, 基因型的分布与王林川^[5]等对 300 例乙肝患者进行 B、C 基因型检测中报道的西安地区 C 基因型检出率明显高于 B 型的研究结果吻合。

有研究报道^[6] HBVDNA 阳性率及 HBV 基因型与 HBeAg 呈阳性存在相关性。本研究采用 ELISA 法检测 HBV 病毒的血清学标志物, 采用荧光定量 PCR 法对 HBV 核酸进行定量及基因型分型检测, 通过比较血清学结果与 HBV 核酸定量检测结果, 我们发现大三阳样本 HBV 核酸检测的阳性率及 DNA 载量均显著高于小三阳及其他两对半类型(临床治疗情况不明), 统计结果显示有统计学意义 ($P < 0.01$), 与罗慧琴^[7]等对 874 例 HBV 感染者发现大三阳样本的 HBV - DNA 阳性率高于小三阳及其他类型的结果一致, 提示 HBVHBeAg 阳性和 HBV 核酸定量结果存在高度相关性。本研究通过比较乙肝血清学与基因型分布, 结果发现, 38 例 HBV 基因分型结果阳性的样本中, 大三阳和小三阳样本 HBVB、C 基因型的分布不具有统计学意义 ($P > 0.05$), 与 Lindh 等^[8]分析来自东亚的 48 份慢性乙型肝炎携带者的血清标本, 发现 B(39%)、C(70%) 两种基因型的 HBeAg 阳性率存在统计学差异的结果有差异。另有研究报道, HBVC 型患者 HBVDNA 水平高于 B 型患者^[9], 通过比较本研究中 HBVB、C 基因型的平均 HBVDNA 载量的结果发现, B 基因型 HBVDNA 平均载量为 $1.28E + 05$, C 基因型 HBVDNA 平均载量为 $9.62E + 05$, 经统计学分析发现两者间无统计学差异 ($P > 0.05$)。

本研究结果表明, 乙型肝炎病毒血清学与 DNA 载量间存在密切的相关性 ($P < 0.01$), 但与 HBV 基因型间无相关性 ($P > 0.05$), 且 HBVDNA 载量与 HBV 基因型之间也无相关性 ($P > 0.05$), 但本研究

中的 HBV 基因型分布相关的研究结果吻合, 以 B、C 型为主, 且 C 型高于 B 型, 但本研究的样本数量相对较少, 因此仍需要不断深入的研究, 以明确乙型肝炎病毒血清学与 DNA 及基因型之间的相关性。

参考文献:

- [1] Liang X, Bi S, Yang W, et al. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination[J]. *Vaccine*, 2009, 27: 6550 - 6557.
- [2] Liang X, Bi S, Yang W, et al. Evaluation of the impact of hepatitis B vaccination among children born during 1992 - 2005 in China[J]. *J Infect Dis*, 2009, 200: 39 - 47.
- [3] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 更新版)[J]. *胃肠病学*, 21(4): 219 - 240.
- [4] Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, et al. Typing hepatitis B virus homology in nucleotide sequence; Comparison of surface antigen subtypes[J]. *J Gen Virol*, 1988, 69(10): 2575 - 2583.
- [5] 王林川, 陈威, 于燕. 乙型肝炎病毒 B、C 基因型与乙肝临床特征的相关性[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2012, 33(2): 207 - 210.
- [6] Watanabe K, Takahashi T, Takahashi S, et al. Comparative study of genotype B and C hepatitis B virus - induced chronic hepatitis in relation to the basic core promoter and precore mutations[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20(3): 441 - 449.
- [7] 罗慧琴, 王志刚, 李玲, 等. 乙型肝炎血清标志物和 HBV - DNA 载量相关性分析[J]. *国际病毒学杂志*, 2013, 20(6): 265 - 269.
- [8] Lindh M, Hannoun C, Dhillon AP, et al. Core promoter mutations and genotypes in relation to viral replication and liver damage in East hepatitis B virus carriers[J]. *J Infect Dis*, 1999, 179(4): 775 - 782.
- [9] 区映研, 杨海红, 曾文铤, 等. 乙肝病毒基因分型与 HBV - DNA 水平及临床表现的研究[J]. *中国热带医学*, 2006, 6(5): 750 - 751.

[收稿日期 2017 - 04 - 26; 责任编辑 徐文梅]