

· 临床检验研究论著 ·

## 慢性乙肝患者血清标志物及基因型与病毒载量的相关性分析

刘涛<sup>1</sup>, 薛秀云<sup>2</sup>

(1. 鹤壁市传染病医院检验科, 河南鹤壁 458000; 2. 鹤壁市第一人民医院检验科, 河南鹤壁 458000)

**摘要:**目的 探讨慢性乙肝血清标志物的基因型与乙型肝炎病毒(HBV)载量之间的关系,以期提高临床治疗水平。方法 选取 2010 年 4 月至 2013 年 4 月该院门诊及住院 819 例慢性乙肝患者为研究对象,进行基因分型,采用实时荧光定量 PCR 检测乙肝病毒 DNA 水平。结果 819 例 HBsAg 阳性患者中 HBV-DNA 阳性数 357 例,占 43.59%;HBeAg(+)占 90.11%;在血清标志物阳性模式和 HBV 载量上,以 HBsAg、HBeAg、HBcAb 和 HBsAg、HBeAb、HBcAb 阳性数最多,占全部的 88.52%;HBV 基因分型中有 B 型、C 型、BC 混合型和未分型 4 种,HBV DNA 对数水平分别为  $7.187 \pm 1.668$ 、 $7.184 \pm 1.558$ 、 $7.208 \pm 1.447$ 、 $7.313 \pm 1.505$ , 四者之间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 本地区慢性乙肝患者中 HBV 基因以 C 型为主,其中血清标志物 HBeAg 和 HBV DNA 病毒载量相关性紧密,感染的 HBV 基因型和 HBV 载量之间相关性较低。

关键词:慢性乙肝; 血清标志物; 基因型; 病毒载量

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.019

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)23-3198-02

## Analysis on correlation between serum markers and genotype with viral load in patients with chronic hepatitis B

Liu Tao<sup>1</sup>, Xue Xiuyun<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Hebi Municipal Infectious Diseases Hospital, Hebi, Henan 458000, China,

2 Hebi Municipal First People's Hospital, Hebi, Henan 458000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between the serum markers and genotype with viral load in chronic hepatitis B in order to improve the level of clinical treatment. **Methods** 819 patients with chronic hepatitis B in our hospital from April 2010 to April 2013 were selected as the study subjects and performed the genotyping. The hepatitis B virus (HBV) DNA level was detected by using real-time fluorescence PCR. **Results** Among the 819 cases of positive HBsAg, 357 cases were positive HBV-DNA, accounting for 43.59%; HBeAg(+) accounted for 90.11%; in the positive modes of serum markers and viral load, most of positive cases were HBsAg, HBeAg, HBcAb and HBsAg, HBeAb, HBcAb, accounting for 88.52%; HBV genotyping had B, C, BC mixed types and unclassified type, the logarithm levels of viral DNA were  $(7.187 \pm 1.668)$ ,  $(7.184 \pm 1.558)$ ,  $(7.208 \pm 1.447)$  and  $(7.313 \pm 1.505)$ , there was no statistically significant difference among them ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The virus gene in the patients with chronic hepatitis B is dominated by type C, in which serum markers HBeAg and HBV-DNA viral load have the loose correlated, the infected virus genotype has the low correlation with the viral load.

Key words: chronic hepatitis B; serum markers; genotype; viral load

从 20 世纪 80 年代末国外学者提出乙型肝炎病毒(HBV)的 A、B、C、D 4 种基因型后乙肝病毒基因型就不断被发现并逐渐增多,目前为止共有 A 至 H 共 8 种基因型。研究表明<sup>[1]</sup>, HBV DNA 水平和抗病毒治疗的临床效果有相关性,所以只有了解乙肝患者的血清标志物和病毒基因型,以及病毒载量之间的相关性,就可以在临床上进行个体化治疗,有助于对患者病情的掌握和对预后的评估。本次研究就针对慢性乙肝患者的血清标志物和基因型,以及病毒载量之间的相关性研究,以期寻找出有助于临床诊治的依据,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2010 年 4 月至 2013 年 4 月本院门诊及住院的 819 例慢性乙肝患者为研究对象,男 613 例,女 206 例,年龄最小 14 岁,最大 77 岁,平均  $(36.7 \pm 3.2)$  岁;病程最短 1 年,最长 34 年,平均  $(3.9 \pm 1.2)$  年。慢性乙肝诊断标准符合 2010 年中华医学会病毒性肝炎和肝病学术会议提出的《病毒性肝炎防治方案》中的诊断标准<sup>[2]</sup>。

**1.2 方法** 采用美国雅培系统对乙肝血清标志物 HBsAg、HBeAg、HBsAb、HBeAb、HBcAb 进行定量检测,这其中 HBsAg 阳性为该数值超过 0.05 IU/mL, HBsAb 超过 10 MIU/

mL 为阳性,剩下的三者采用 S/CO 进行评定, HBeAg 超过 1 则为阳性, HBeAb HBcAb 则为小于 1 为阳性。

然后采用 ABI-7500 PCR 扩增仪对 HBV-DNA 进行定量检测,试剂购自深圳凯杰生物科技有限公司,HBV 核酸提取和检查分析均严格按照说明书进行操作,阳性的标准为 HBV-DNA 定量检测在  $1.0 \times 10^3$  copies/mL 以上。采用引物特异性 PCR 进行乙肝病毒分型,采用巢氏 PCR 进行扩增,结合琼脂糖凝胶电泳片段大小进行基因型,引物内位置为 nt284631476 和 nt479583827,外位置为 nt683785 和 nt296848377。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS16.0 软件进行分析,将调查统计的内容作为变量,计量资料采用  $t$  检验,计数资料采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 乙肝血清标志物和 HBV-DNA 结果比较** 对乙肝血清标志物和 HBV-DNA 结果进行比较, HBsAg(+) 发生率为 43.59%, HBeAg(+) 发生率为 90.11%, HBeAg(-) 发生率为 43.04%, 三者 HBV-DNA 拷贝数在  $10^3 \sim 10^5$  之间的占多数,见表 1。

**2.2 HBV 血清标志物阳性模式和病毒载量比较** 对 HBV

血清标志物阳性模式和病毒载量进行比较,其中以 HBsAg、HBeAg、HBcAb 和 HBsAg、HBeAb、HBcAb 阳性数最多,占 88.52%,详见表 2。

表 1 HBV 血清标志物和病毒载量的关系[n(%)]

项目	n	HBV-DNA 阳性率	HBV-DNA 拷贝数(%)	
			10 <sup>3</sup> ~10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
HBsAg(+)	819	357(43.59)	198(24.18)	159(19.41)
HBeAg(+)	273	246(90.11)	207(75.82)	39(14.29)
HBeAg(-)	546	235(43.04)	183(33.52)	52(9.52)

表 2 HBV 血清标志物阳性模式和病毒载量的关系[n(%)]

HBV 血清标志物阳性模式	n	HBV-DNA 阳性率	HBV-DNA 拷贝数(%)	
			10 <sup>3</sup> ~10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
1,3,5	202	179(88.61)	176(87.13)	153(75.74)
1,4,5	523	234(44.74)	78(14.91)	156(29.83)
1,2,3,5	11	7(63.64)	8(72.73)	4(36.37)
1,3,4,5	31	26(83.87)	23(74.19)	21(67.74)
1,5	45	16(35.56)	4(8.89)	12(26.67)
1,2,4,5	7	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)

1、2、3、4、5 分别代表是 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb。

2.3 HBV 基因型和 HBV DNA 对数水平比较 对 HBV 基因型和 HBV DNA 对数水平进行比较,以 B 型和 C 型为主,占 86.45%,而在 HBV DNA 对数水平上四者之间比较差异无统计学意义(P>0.05),见表 3。

表 3 HBV 基因型和 HBV DNA 对数水平比较

基因分型	n	百分率(%)	HBV DNA 对数水平
B 型	266	32.48	7.187±1.668
C 型	442	53.97	7.184±1.558
BC 混合型	76	9.28	7.208±1.447
未分型	35	4.27	7.313±1.505

### 3 讨论

乙型肝炎是世界性疾病,据相关报道称全世界约有 4 亿人患有此疾病<sup>[3]</sup>,而我国是高发国家之一,占 1/3 左右,而慢性乙肝控制不理想往往会造成肝硬化、肝癌等。目前在诊断上金标准为乙型肝炎血清标志物,就检测手段来看目前有化学发光法和 ELISA 法等,但随着检测技术不断提高,目前化学发光法特异性更强,敏感度更高。

本研究结果显示,HBsAg(+)发生率为 43.59%,HBeAg(+)发生率为 90.11%,HBeAg(-)发生率为 43.04%。根据结果笔者可推测出并不是所有表面抗原阳性的慢性乙肝患者都需进行抗病毒治疗,有一些患者仅仅需要定期随访即可。另外可推测出 HBV 载量较高的患者往往肝功能异常的发生率较高,这就提示在临床检测中可根据病毒载量推测出疾病的严重程度<sup>[4]</sup>。

研究结果证实,1、3、5 阳性(即传统的大三阳)患者 HBV DNA 阳性率为 88.61%,远较 1、4、5 阳性(即传统的小三阳)的 44.74%阳性率高,且在 HBV DNA 拷贝数上两者比较也有显

著差异性,这说明了大三阳病毒载量更高。另外,从 HBsAg、HBsAb 双阳性的 11 例患者中看出,其 HBV DNA 阳性率为 63.64%,较 HBsAg、HBeAg、HBeAb、HBcAb 的 83.87%比较差异明显,这可能是 HBeAg、HBeAb 亚型不同,也可能是在一个阶段被多种病毒感染,而 HBsAb 仅能中和同类型的病毒有关<sup>[5-6]</sup>。而就 HBeAg 阳性情况看,HBV-DNA 拷贝数在大于或等于 10<sup>5</sup> 的发生率分别为 75.74%、36.37%、67.74%,从这一点可推断出 HBeAg 具有病毒高复制的特点,这提示我们在临床上可从这点进行对症治疗。

研究认为,慢性乙肝患者基因型的分布在我国有明显的特点,南方以 B 型为主<sup>[7-8]</sup>,而北方则以 C 型为主,而从本组数据结果来看,B 型占 32.48%,C 型占 53.97%,这说明了 C 型是占多数的,和研究结果有所不同,分析原因可能和纳入的标准不同有关。有报道指出,C 型对肝功能损伤较 B 型更加严重<sup>[9]</sup>,前者的发生率一般在 14.77%,而后者仅仅为 3.67%,这足以引起临床重视。有研究通过对云南大理白族人群乙型肝炎病毒基因型和亚型的分布研究后指出,基因型中的 C 型发生原发性肝癌的发生率较其他类型的高<sup>[10]</sup>,这可能是与 C 型病毒载量较高有关。而在本次研究中 4 种类型中在 HBV DNA 对数水平上比较无显著差异性,这可能是由于病程不同、机体免疫能力之间有差异性和抗病毒药物的应用等有关<sup>[11]</sup>。但这也提示我们在临床上对慢性乙肝进行治疗时要注意对基因型的分型的研究,特别是对 C 型患者要加强病情观察,防止病情变化引起肝硬化、肝癌等并发症的发生。

### 参考文献

- [1] 胡蓉. 赣州地区乙肝病毒基因分型及其临床相关性研究[J]. 南昌大学学报, 2010, 6(1): 46-48.
- [2] 王利君,袁梁. 乙型肝炎病毒基因型分析以及与血清标志物的关系[J]. 中国实验诊断学, 2011, 13(10): 1393-1394.
- [3] 曹军皓,赵冰红,叶彬,等. HBV 基因分型与病毒载量及血清标志物关系的探讨[J]. 局解手术学杂志, 2010, 19(4): 295-297.
- [4] 李天一,陈青锋,肖萍,等. 兰州地区乙肝病毒基因亚型的感染情况[J]. 临床消化病杂志, 2012, 14(3): 99-100.
- [5] 李彩东,吴斌,段正军,等. 乙型肝炎病毒基因分型与 HBV-DNA 水平及血清标志物关系的探讨[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(5): 907-909.
- [6] Thompson AJ, Nguyen T, Iser D et al. Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers; disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. [J]. Hepatology, 2010, 51(6): 1933-1944.
- [7] 李世波,林志益,丁贤君,等. 舟山群岛慢性乙型肝炎病毒感染者基因型与临床病理的关系[J]. 中华肝脏病杂志, 2011, 15(3): 179-183.
- [8] 孙永红,陈青锋,肖萍,等. 乙型肝炎病毒基因型与临床病理分级分期的关系[J]. 临床荟萃, 200, 23(5): 566-568.
- [9] 赵海平. 西双版纳傣族人群乙型肝炎病毒感染的基因型及基因亚型研究[J]. 大理学院学报, 2010, 6(1): 67-69.
- [10] 李威,张炬榕,申元英,等. 云南大理白族人群乙型肝炎病毒基因型和亚型的分布[J]. 中国病原生物学杂志, 2010, 3(3): 166-169.
- [11] Zaki Mel S, Saady N, El Diasty A, et al. Study of nitric oxide in patients with chronic hepatitis C genotype 4: relationship to viremia and response to antiviral therapy[J]. Immunol Invest, 2010, 39(6): 598-610.