

• 论 著 •

杭州地区体检人群乙型肝炎病毒标志物阴性结果分析

钟毓红,戴宇,张松照[△]

(浙江大学医学院附属第二医院检验科,浙江杭州 310009)

摘要:目的 分析 2014 年杭州地区体检人群乙型肝炎病毒血清学五项标志物(HBV-M)全阴模式的分布特征,为预防和控制 HBV-M 阴性人群感染乙型肝炎病毒(HBV)提供对策。方法 采用 ELISA 对体检人群的血液标本进行 HBV-M(HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb 和 HBcAb)检测。对保存的 300 例 HBV-M 阴性标本,分别使用化学发光免疫分析法检测 HBsAg、HBsAb 和 PROCLEIX ULTRIO[®] Assay 检测 HBV-DNA,对 HBV-DNA 反应性标本进行病毒载量测定。结果 在检测的 9 143 例体检者的标本中,2 213 例标本为 HBV-M 阴性,阴性率为 24.20%;男女 HBV-M 阴性率比值为 1:1.21。使用化学发光免疫分析法和 PROCLEIX ULTRIO[®] Assay 分别检测出 1 例低浓度的 HBsAg 标本(HBsAb 及 HBV DNA 均无反应性),4 例低浓度的 HBsAb 标本(HBsAg 及 HBV DNA 均无反应性),2 例 HBV-DNA 反应性标本(HBV-M 阴性)。其中 1 例 HBV-DNA 反应性标本定量检测为 560 IU/mL。结论 杭州地区 ELISA HBV-M 阴性的体检人群中,少数人可检出低浓度的 HBsAg 或 HBsAb 或 HBV DNA。针对 ELISA HBV-M 阴性人群,建议接种乙肝疫苗前进行 HBV-M 和 HBV-DNA 定量检测,以确定是否需要接种乙肝疫苗及接种乙肝疫苗的方案。

关键词:乙型肝炎病毒标志物; 阴性模式; 疫苗接种; 体检人群

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.17.012 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)17-2482-03

Analysis of negative results of hepatitis B virus markers in healthy population in Hangzhou district

Zhong Yuhong, Dai Yu, Zhang Songzhao[△]

(Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310009, China)

Abstract: **Objective** To analyse the distribution characteristics of negative pattern of hepatitis B virus Markers (HBV-M) in healthy population in Hangzhou district in 2014, and provide strategy for the prevention and control of HBV infection in HBV-M negative population. **Methods** The HBV-M (HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb and HBcAb) in blood specimens of health examination population were tested by using ELISA. For 300 cases preserved HBV-M negative specimens, HBsAg and HBsAb were detected by using chemiluminescence immunoassay and HBV-DNA was detected by using PROCLEIX ULTRIO[®] Assay. The viral load of HBV-DNA reactive sample was quantitatively determined. **Results** Among 9 143 blood samples, 2 213 samples were HBV-M negative, and the negative rate was 24.20%. The negative rate of male to female was 1:1.21. Using chemiluminescence immunoassays and PROCLEIX ULTRIO[®] Assay simultaneously, we found one case of low concentration of HBsAg (both HBsAb and HBV DNA nonreactive), four cases of low concentration of HBsAb (both HBsAg and HBV DNA nonreactive), two cases of HBV-DNA reactive (HBV-M negative). One HBV-DNA reactive sample could be quantified as 560 IU/mL. **Conclusion** In HBV-M (ELISA) negative population of health examination of Hangzhou district, a few subjects had low concentrations of HBsAg or HBsAb or HBV-DNA. For HBV-M negative population, quantitative detection of HBV-M and HBV-DNA before HBV vaccination is recommended to determine whether they need HBV vaccine and the HBV vaccination plan.

Key words: hepatitis B virus markers; negative pattern; vaccination; health examination population

乙型肝炎病毒(HBV)是一种 DNA 病毒,感染 HBV 将严重威胁人类健康。全球约 20 亿人曾感染 HBV,其中 3.5 亿人为慢性 HBV 感染者,约占全球人口的 6%;我国属于 HBV 高流行地区,每年有 30 万人死于 HBV 感染引起的肝硬化和肝癌^[1]。酶联免疫吸附试验(ELISA)是广泛用于检测乙型肝炎病毒血清学五项标志物(HBV-M)的一项定性实验。目前多使用 ELISA 法分析体检人群的 HBV-M 阳性模式^[2-3],而对 HBV-M 阴性模式分布特征的分析研究较粗略。为探讨 HBV-M 阴性体检人群的流行病学特点以及为制定 HBV-M 阴性人群预防感染 HBV 的措施提供科学依据,本课题组收集了本院 2014 年体检人群的 9 143 例标本,对其 HBV-M 阴性模式情况进行了回顾性分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年在本院进行 HBV-M 检测的体

检人群,年龄 18~83 岁,共 9 143 例。其中男 5 177 例,年龄为(44.27±11.00)岁;女 3 966 例,年龄(42.66±11.89)岁。本研究获得浙江大学医学院附属第二医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 采集空腹静脉血 3 mL,3 000 r/min 离心 10 min 后分离血清。(1)采用酶联免疫吸附试验检测 HBV-M,试剂由厦门英科新创有限公司提供;(2)Architech i4000 全自动化学发光免疫分析仪及其配套试剂定量检测 HBsAg 和 HBsAb;(3)转录介导的扩增(TMA)法定性检测 HBV-DNA,试剂购自美国诺华生物诊断公司 PROCLEIX ULTRIO[®] Assay 及其配套的 Tigris 操作平台(单人份标本检测);(4)荧光定量 PCR 仪对 HBV-DNA 反应性标本进行病毒载量测定,诊断试剂为上海复星长征医学科学有限公司产品,自动荧光 PCR 仪为 AB StepOne Plus。由持有 PCR 实验室上岗证的专业人

员操作。

1.2.2 判定规则 (1)ELISA 检测 HBV-M 判定规则:HBV-M ELISA 检测结果小于临界值(其中 HBeAb 检测结果大于临界值)判定标本为该项目 ELISA 检测阴性;ELISA 试剂检测结果大于或等于临界值(其中 HBeAb 检测结果小于或等于临界值)判定标本为该项目 ELISA 检测阳性。(2)HBsAg 和 HBsAb 定量判定规则如下,HBsAg 无反应性: $<0.05\text{ IU/mL}$;HBsAg 反应性: $\geq 0.05\text{ IU/mL}$;HBsAb 无反应性: $<10\text{ mIU/mL}$;HBsAb 反应性: $\geq 10\text{ mIU/mL}$ 。(3)PROCLEIX ULTRIO® Assay 检测 HBV-DNA 判定规则:待测标本 HBV-DNA S/CO 值小于临界 S/CO 值 1,判定 HBV-DNA 呈无反应性;待测标本 HBV-DNA S/CO 值大于或等于临界 S/CO 值 1,则判定 HBV-DNA 呈反应性。(4)HBV-DNA 荧光定量判定规则:检测样本中 HBV DNA $\geq 1.0\times 10^2\text{ IU/mL}$ 时,按实际检测结果报告;检测样本中 HBV DNA $<1.0\times 10^2\text{ IU/mL}$ 时,报告为低于定量检出限。

1.3 统计学处理 使用 SPSS13.0 统计软件分析,阴性率的比较使用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 体检人群年龄、性别分布情况 共有 9 143 例体检者参加本研究,见表 1,男女比例为 1.31:1。体检人群年龄集中分布在 31~<61 岁,此年龄段男女比例为 1.43:1。

表 1 9 143 例体检者年龄、性别分布特征

年龄	n	男		女	
		n	所占比例(%)	n	所占比例(%)
18~<31 岁	1 248	553	44.31	695	55.69
31~<41 岁	2 430	1 397	57.49	1 033	42.51
41~<51 岁	3 119	1 862	59.70	1 257	40.30
51~<61 岁	1 634	963	58.94	671	41.06
≥ 61 岁	712	402	56.46	310	43.54
合计	9 143	5 177	50.62	3 966	43.38

2.2 不同性别、年龄人群乙肝 HBV-M 阴性的检测情况 HBV-M 阴性率在 18~<31 岁年龄段较高,41~<51 岁和 51~<61 岁年龄段中,男、女 HBV-M 阴性率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 不同性别、年龄人群乙肝 HBV-M 阴性的检测情况

年龄	男			女			χ^2	P
	检测(n)	阴性(n)	阴性率(%)	检测(n)	阴性(n)	阴性率(%)		
18~<31 岁	553	181	32.73	695	223	32.09	0.058	0.809
31~<41 岁	1 397	344	24.62	1 033	282	27.30	2.222	0.136
41~<51 岁	1 862	375	20.14	1 257	299	23.79	5.893	0.015
51~<61 岁	963	188	19.52	671	168	25.04	7.058	0.008
≥ 61 岁	402	87	21.64	310	66	21.29	0.013	0.910
合计	5 177	1 175	22.70	3 966	1 038	26.17	14.789	0.000

2.3 HBV-M 阴性标本的化学发光免疫分析法和 TMA 法检测 在 300 例 HBV-M 阴性标本中,化学发光免疫分析法检测出 1 例低浓度 HBsAg 标本,4 例低浓度 HBsAb 标本;TMA 法检测出 2 例 HBV-DNA 反应性标本,见表 3。

表 3 7 例 HBV-M ELISA 阴性标本的 HBsAg、HBsAb 和 HBV-DNA 反应性结果

标本编号	HBsAg	HBsAb	HBV-DNA
1	反应性(0.27 IU/mL)	无反应性	无反应性
2	无反应性	反应性(11.34 mIU/mL)	无反应性
3	无反应性	反应性(12.54 mIU/mL)	无反应性
4	无反应性	反应性(14.95 mIU/mL)	无反应性
5	无反应性	反应性(15.45 mIU/mL)	无反应性
6	无反应性	无反应性	反应性(20.87 ^a)
7	无反应性	无反应性	反应性(22.66 ^b)

^a:S/CO 值,定量结果为 560 IU/mL;^b:S/CO 值,定量结果低于检测限。

3 讨 论

HBV-M 阴性模式是体检人群中的常见的 HBV 血清学模式,一般认为此人群体内不存在 HBV,与此同时机体也不具备抵抗病毒感染的自我保护能力,属于 HBV 易感人群。

本文使用 ELISA 检测杭州地区体检人群的 HBV-M,结果显示 HBV-M 阴性率为 24.20%,低于俞小忠等^[2]报道的 42.17%和梁小兵等^[3]报道的 40.19%,提示体检人群 HBV-M

阴性率处于下降态势,分析原因可能与体检人群的健康意识增强,主动接种 HBV 疫苗预防 HBV 感染有关。本研究数据表明 HBV-M 阴性人群年龄集中分布于 18~<51 岁年龄段,HBV-M 阴性率女性高于男性,由于这部分人群(尤其是女性)会比较会追捧流行元素:如修足、纹身、扎耳环孔等,为 HBV 提供了传播途径。此外,成人接种 HBV 疫苗并非免费和强制性,多数成人的自我保护意识淡薄,此年龄段的 HBV-M 阴性人群将是预防控制 HBV 感染的重点和难点。

化学发光免疫分析法是一项新的定量分析方法,与 ELISA 相比具有更高的灵敏度和测量范围,同时能缩短检测时间,已逐渐用于临床检测抗体和抗原^[4]。本研究使用化学发光免疫分析法检测出 1 例 HBsAg 低浓度标本,4 例 HBsAb 低浓度,提示 ELISA 存在漏检 HBV-M 的风险,这与王巧莲等^[5]的报道相符,这要求在具体的检测过程中对此类 HBV-M 阴性结果引起注意,必要时询问相应体检者的既往 HBV-M 检测结果加以确认。

由于血清学检测存在窗口期长、免疫静默感染和病毒变异等问题,检测和定量 HBV-DNA 在诊断和监测 HBV 感染以及评估治疗反应方面发挥重要作用。Dong 等^[6]使用 PRO-CLEIX ULTRIO® Assay 在 178 447 例无偿献血标本中检测出 94 例隐匿性 HBV 感染(OBI)标本,2 例 HBV 血清学窗口期标本。本研究中 300 例 HBV-M 阴性标本中有 2 例为 HBV-DNA 反应性,其中 1 例标本定量结果为 560 IU/mL。隐匿性

HBV 感染是对 HBV 疫苗无应答的重要因素之一,低水平的 HBV 感染对 HBsAg 处于免疫耐受状态^[7]。笔者未进一步区分这 1 例标本是否为 OBI,将通过后续追踪检测实验加以确定。

蒋汝刚等^[8]和王德全等^[9]分别指出接种常规重组酵母 HBV 疫苗(HBsAg 亚单位疫苗),成年人全程接种乙肝疫苗后无、弱应答率分别为 12.98%和 25.38%。这些无、弱应答的对象仍然对 HBV 敏感,很有可能成为 HBV 慢性携带者,成为乙肝防控工作中的难题。接种 HBV 疫苗后抗体的产生与疫苗接种因素、饮食因素、机体发育因素、不良生活习惯和遗传因素密切相关。接种乙肝疫苗后无或弱应答可能与人类白细胞抗原(HLA)有关,其中 HLA II 类基因 DRB1 和 DRB2 与 HBV 疫苗接种后 HBsAb 反应性有关^[10]。HBV 疫苗无应答者体内具有针对 HBV 感染的细胞免疫反应,能保护其抵抗 HBV 的侵袭。对此,本课题组下一步将从细胞和分子水平研究 HBV-M 阴性体检人群中体液免疫和细胞免疫对 HBV 疫苗所起的作用。

目前人类尚无法彻底治愈 HBV 感染,一般建议是对 HBV 疫苗无应答或低应答且非 HBV 感染者进行 1 次或数次加强免疫。而此类人群再次接种后应答状况和抗体的持续时间仍是难题。第三代 HBV 疫苗 Sci-B-VacTM(除小 S 抗原外,含有前 S1 和前 S2 抗原)通过诱导机体产生强有力的细胞和体液免疫,使对常规 HBV 疫苗无或弱反应的健康个体产生了保护性 HBsAb^[11]。与传统的肌肉接种 HBV 疫苗相比,皮内接种 HBV 疫苗能更好地诱导对常规疫苗无反应的机体产生免疫应答^[12]。这些措施或许能成为 HBV-M 阴性人群对常规 HBV 疫苗无应答时的一种选择。

综上所述,HBV-M 阴性人群属于 HBV 的易感人群,建议对 ELISA HBV-M 阴性的标本进行 HBsAg、HBsAb 和 HBV-DNA 定量,以确定是否存在 HBV 感染;若无感染,对未接种 HBV 疫苗者,及时注射 HBV 疫苗;而对 HBV 疫苗无(弱)应答者,应加强健康教育,改变不良习惯,通过增加接种剂量、接种时加入佐剂、进行皮内接种或使用新型 HBV 疫苗等有效措施,提高对 HBV 疫苗的应答率,从而防止 HBV-M 阴性人群感染 HBV。

(上接第 2481 页)

各病原体感染阳性率分析。从研究结果可以看出,在 IgE 高水平组中 MP 感染阳性率明显高于 IgE 低水平组,而 Adv 及 RSV 则在低水平组中有较高的阳性率。其他如 IAv、IBv 及 PIV 在两组的阳性率未见有明显差异。上述结果进一步证实 MP 感染可引起较高的 IgE 的表达,与张蔓莉等^[4]的报道一致。

综上所述,儿童感染性疾病中以 MP 为主要致病菌,其次为 IAv/IBv 等病毒感染。除 RSV 外,其余几种病原体感染均可造成患者血清总 IgE 水平的升高,主要以 MP 为主。结合其他文献资料,临床上对 MP、病毒感染阳性进行治疗时应同时关注血清总 IgE 水平升高所带来的气道高反应性等症状。

参考文献

[1] 周晓聪,徐强,董琳,等. 儿童呼吸道感染病毒感染谱临床分析[J]. 浙江医学,2006,28(4):293-294.

参考文献

[1] Lu FM, Li T, Liu S, et al. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection in China[J]. J Viral Hepat, 2010, 17 (Suppl 1):4-9.

[2] 俞小忠,朱辰,张曙云,等. 浙江省健康体检人群乙肝标志物血清学模式分析[J]. 中国公共卫生,2011,27(8):1027-1029.

[3] 梁小兵. 珠海市健康体检人群乙型肝炎病毒感染分析[J]. 实用预防医学,2008,15(3):724-725.

[4] Huh HJ, Chae SL, Cha YJ. Comparison study with enzyme immunoassay and chemiluminescence immunoassay for hepatitis B virus surface antigen detection[J]. Korean J Lab Med, 2007, 27 (5): 355-359.

[5] 王巧莲. 化学发光法与 ELISA 法检测乙肝病毒血清标志物结果比较[J]. 包头医学院学报,2006,22(1):82-84.

[6] Dong J, Wu Y, Zhu H, et al. A pilot study on screening blood donors with individual-donation nucleic acid testing in China[J]. Blood Transfus, 2014, 12(2):172-179.

[7] 程东燕,贾宇. 乙肝疫苗成人免疫无/低应答研究进展[J]. 中国公共卫生,2010,26(5):649-650.

[8] 蒋汝刚,付翔,周静,等. 成年人接种乙肝疫苗后无(弱)应答状况及其影响因素分析[J]. 中华疾病控制杂志,2011,15(3):210-212.

[9] 王德全,陈思东,周卫平,等. 乙肝疫苗接种后无(弱)应答状况及影响因素[J]. 中国公共卫生,2006,22(6):674-675.

[10] Li ZK, Nie JJ, Li J, et al. The effect of HLA on immunological response to hepatitis B vaccine in healthy People: A meta-analysis[J]. Vaccine, 2013, 31(40):4355-4361.

[11] Krawczyk A, Ludwig C, Jochum C, et al. Induction of a robust T- and B-cell immune response in non- and low-responders to conventional vaccination against hepatitis B by using a third Generation PreS/S vaccine[J]. Vaccine, 2014, 32(39):5077-5082.

[12] Filippelli M, Lionetti E, Gennaro A, et al. Hepatitis B vaccine by intradermal route in non responder patients: an update[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(30):10383-10394.

(收稿日期:2015-03-22)

[2] 高世华. 7 286 例儿童血清肺炎支原体抗体检测结果分析[J]. 按摩与康复医学:下旬刊,2012,3(12):472-473.

[3] 王晔,黄凯,梁振山. 肺炎支原体感染与儿童哮喘及 IgE 水平的相关性研究[J]. 实验与检验医学,2012,30(3):234-235.

[4] 张蔓莉,孙跃红,江毅,等. 儿童肺炎支原体感染与 IgE 水平的相关性研究[J]. 中国妇幼保健,2008,23(36):5148-5150.

[5] 冯广满,蒋旺珍,吴见欢,等. 肺炎患儿检测肺炎支原体抗体和血清总 IgE 的临床价值[J]. 实用检验医师杂志,2014(2):84-86.

[6] Seggev JS, Sedmak GV, Kurup VP. Isotype-specific antibody responses to acute Mycoplasma pneumoniae infection[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 1996, 77(1):67-73.

(收稿日期:2015-03-18)

