

实时荧光定量 PCR 检测乙型肝炎病毒 DNA 的应用价值评价

王 鹏

南京市六合区人民医院中心实验室 211500

〔摘 要〕目的 浅析荧光定量-聚合酶链反应(FQ-PCR)检测乙型肝炎病毒DNA的应用价值。方法 择乙型肝炎患者140例,均进行酶联免疫法(ELISA)测定HBV血清标记物,FQ-PCR法检测血清中HBV-DNA。结果 绝大部分乙型肝炎患者定量PCR检测HBV-DNA结果与之基本一致,大三阳以及小三阳患者血清中PCR结果拷贝系数较高。在HBsAg(-)、HBcAb(+)的标本中有少数阳性结果,拷贝数较低。结论 FQ-PCR检测乙型肝炎病毒具有较高的准确性,可准确判断HBV感染的严重程度以及复制水平,值得研究。

〔关键词〕FQ-PCR; HBV-DNA; 乙型肝炎; 检测价值

〔中图分类号〕R446 〔文献标识码〕A 〔文章编号〕2095-7165(2022)01-026-02

乙型肝炎是由乙型病毒(HBV)引起的肝脏炎性病变,无季节性特点,严重威胁患者生命健康。相关研究中指出,采用FQ-PCR检测患者HBV-DNA含量水平,可直接体现HBV复制过程,具有较高的敏感性以及特异性,对抗病毒药物的选择以及疾病判断具有显著临床价值^[1]。本研究重在分析FQ-PCR在此疾病患者中的应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 样本选择

择我院2019年1月-2019年12月期间收治乙型肝炎患者,n=140例。纳入标准:排除标准:140例患者中男100例、女40例,年龄20~70岁,中位值(45.00±2.20)岁。

1.2 分组方法

依据患者血清学检测结果进行分组,1组(大三阳):HBsAg(+),HBeAg(+),HBcAb(+);2组(小三阳):HBsAg(+),HBeAg(-),HBcAb(+);3组:HBsAg(+),HBcAb(+);4组:HBsAg(-),HBeAg(+),HBcAb(+);5组:HBsAg(-),HBeAg(-),HBcAb(+);6组:HBsAg(-),HBeAg(-),HBcAb(-)。

1.3 方法

所有患者均FLISA法对HBV血清标记物进行检测,其检测方法依据试剂盒说明书进行,对其结果由酶标仪进行判断,均行FQ-PCR法检测血清中HBV-DNA,方法见下。

仪器:PCR仪。

试剂:乙型肝炎两对半检测试剂、HBV-DNA检测试剂。

DNA提取方法:静脉采血法采集患者静脉血液,进行10min离心处理,速率10000r/min,取上清液,取待测样品200ul,采用重庆中元全自动核酸提取仪提取HBV核酸。深圳达安基因扩增试剂检测。

ABI基因扩增PCR仪定量检测:取PCR反应管,依据顺序放入PCR扩增仪中,进行反应条件设定,依据如下顺序:93℃(2min),93℃(45s)→55℃(60s)循环10次,93℃(30s)→55℃(45s)循环30次。直接进行HBV-DNA定量分析,读取数据。

1.4 观察指标

阳性判断标准:HBV-DNA≥100IU/mL。实时荧光PCR检测HBV-DNA结果。

2 结果

以血清学标志物检测结果为对照,绝大部分乙型肝炎患者定量PCR检测HBV-DNA结果与之基本一致,大三阳以及小三阳患者血清中PCR结果拷贝系数较高。详情见表1。

表1 血清学检测、实时荧光PCR检测HBV-DNA结果对照

组别	血清学检测结果 (n)	实时荧光PCR检测结果	
		阳性率(n)	PCR定量结果(IU/mL)
1	30	28(93.33%)	$(3.30 \pm 1.40) \times 10^7$
2	48	30(62.50%)	$(4.71 \pm 2.10) \times 10^5$
3	9	3(33.33%)	$(1.99 \pm 1.45) \times 10^3$
4	15	0	0
5	18	1(5.55%)	3.18×10^3
6	20	1(5.00%)	1.10×10^2

3 讨论

当前ELISA法检测HBV血清学标志物已被广泛应用于HBV感染诊断中,具有操作简单的优势,可直接反应HBV的表达以及复制,但是由于宿主的免疫力及药物治疗等因素的影响,使乙肝病毒普遍存在着变异现象,导致常规ELISA法检测试剂盒难以检测出体内已经变异、不表达或低水平复制表达的乙肝病毒血清学标志物(如HBsAg,HBeAg)。也就是说,乙肝病毒两对半的检测只能为乙肝病毒感染提供间接证据,而HBV-DNA才是乙肝病毒感染的直接证据。由于HBV的表达以及机体免疫反应强弱受多种因素影响,也存在假阳性^[2]。既往研究指出,血清HBeAg阳性是HBV复制活跃、传染性较强的标志,HBeAg的转阴性或者HBsAb出现可表示HBV感染的缓解或者HBV清除。

FQ-PCR融合了PCR以及DNA探针杂交技术,采用荧光技术以及闭管检测,可以直接检测到PCR过程中荧光信号的变化,从而对HBV感染患者感染严重程度进行定量分析^[3]。HBsAg是诊断急性乙型肝炎以及健康携带者的重要指标之一,而HBeAg则是反映患者血液中有无传染性的关键指标。HBsAg、HBeAg、HBcAb三项阳性为大三阳,表示患者体内的HBVDNA具有较高的复制率,传染性较强。本次研究结果得出1组即大三阳患者,其HBVDNA阳性率高达93.33%,拷贝系数高达 $3.30 \pm 1.40 \times 10^7$ IU/mL,显著高于其他组,可见FQ-PCR法与ELISA法反映HBVDNA方面具有较高的一致性,这可用于判断患者是否处于HBV感染期。2组小三阳患者其HBVDNA含

(下转第29页)

的 T 、 χ^2 值进行计算, 根据计算结果对 p 值进行分析, 确认 $P < 0.05$ 则视为统计学意义存在。

2 结果

2.1 两组患者骨折检出情况对比

对照组和实验组的骨折检出率为分别, 骨折碎片检出率分别为, 差异存在统计学意义 ($P < 0.05$), 详情见表 1。

2.2 两组患者骨折分型检出情况对比

实验组中包含 13 例基底型骨折、10 例中头下型骨折、9 例经颈型骨折, 骨折分型检出率为 94.12%, 对照组包含 12 例中头下型骨折、7 例基底型骨折、经颈型骨折 5 例, 骨折分型检出率为 70.59%。

表 1 两组患者骨折检出情况对比

组别	例数	骨折检出率	骨折碎片检出率
对照组	34	28 82.35%	22 (64.71%)
实验组	34	34 100.00%	8 (23.53%)

表 2 两组患者骨折分型检出情况对比

组别	经颈型	基底型	头下型	检出率
对照组 (n=34)	5	7	12	70.59%
实验组 (n=34)	9	13	10	94.12%

3 讨论

股骨颈骨折一般在人体髋关节处发生, 而髋关节作为人体最为主要的负重关节, 组成成分包含股骨头、股骨颈、髋臼及大小粗隆等。其中, 髋臼形状以球窝形为主, 由坐骨、耻骨及髌二骨膨大组成, 在髋臼周围有许多类似镶嵌有软骨所组成的关节盂唇, 且骨性髋臼只可容纳二分之一的股骨头; 而股骨头形状以球状为主, 表面比较光滑, 中心部位有浅窝, 也就是股骨头凹下, 被圆韧带所围绕, 除了股骨头凹处外, 其他地方都被软骨头覆盖。由于髋关节具有特殊的生理学结构, 其股骨颈骨折大多数是囊内骨折型, 这种骨折有着较大创伤性和破坏性, 给患者带来极大痛苦, 使病人疼痛难耐, 严重影响病人正常的生活和工作, 降低生活质量^[3]。

对于股骨颈骨折在临床诊断上常用 x 线与 CT 影像检查,

x 线是一种传统检查方式, 可以检查出病人的许多临床症状, 所以这种检查方法在当前许多骨科检查中依旧作为首选方案而存在。但是, x 线在股骨颈骨折的检查应用中, 由于受到股骨颈骨折位置上的特殊性生理结构机制, 导致其检查的结果具有一定的局限性, 常发生误诊或者漏诊等情况, 给临床治疗方案的选择带来较大难题, 影响了病人的后期治疗方法的选择和预后效果^[4]。且 x 线检查很难客观准确反映出骨折特点, 因此为了提高股骨颈骨折的检出率, 需积极寻找其他的有效检查方法。CT 影像检查方法的应用, 在很大程度上弥补了 x 线检查的不足, 该技术主要通过计算机与二维重建技术的结合应用, 对骨折的类型、骨折部位、骨折程度、移位情况等加以形象反映出来, 在临床应用对骨折确诊有着十分重要的作用, 也是促进临床治疗方案确定的关键。通过 CT 影像检查, 所获取的图像比较全面, 且图像的分辨力比较清晰, 检查用时比较短, 出了可作为对疾病进一步确诊外, 还可在手术过程中提高治疗的准确率, 从而减少病人发生后遗症的概率, 为复查提供了全面保障作用^[5]。

综上所述, 实验结果表明, 针对股骨颈骨折患者应用 x 线诊断和 CT 影像检查, 后者的检出率和骨折类型检出率显著更高, 可以为临床治疗提供参考依据, 具有较高的应用意义。

【参考文献】

- [1] 高鑫. X 线与 CT 影像在诊断股骨颈骨折中的应用价值分析 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19 (97): 182-183.
- [2] 兰仕金. 股骨颈骨折 X 线与 CT 影像的效果对比 [J]. 影像研究与医学应用, 2019, 3 (18): 60-61.
- [3] 周维超, 唐洪峰. 探讨研究股骨颈骨折 X 线与 CT 影像的对比效果 [J]. 中国农村卫生, 2017 (13): 55 + 57.
- [4] 杨平. 股骨颈骨折 X 线与 CT 影像的对比效果研究 [J]. 影像技术, 2016, 28 (01): 24-25 + 23.
- [5] 杨永海. 研究股骨颈骨折 X 线与 CT 影像的对比效果 [J]. 数理医药学杂志, 2015, 28 (04): 615.

(上接第 26 页)

量显著低于大三阳组, 说明小三阳组患者正处于恢复期, 但体内仍然存在着 HBVDNA 复制。部分患者体内都存在 HBV-DNA 的复制, 且具有一定传染性, 说明小三阳患者转归情况不能仅依靠血清学检测, 应定量检测 HBVDNA。对于 3-6 组患者, 其感染已痊愈且具有免疫力, 但有极少数体内仍然存在少量的 HBVDNA 复制, 因此单纯采用血清学标记物转阴、转阳无法直接判断患者血清中病毒是否已经彻底清除。

综上: FQ-PCR 能够迅速而准确的定量检测 HBV-DNA, 该方法不仅操作简便、快速高效, 具有很高的敏感性和特异性, 而且是在封闭的体系中完成扩增和实时测定, 大大降低了污染的可能性。因此可采用 FQ-PCR 检测 HBV-DNA, 同时结合

HBV 血清学检查, 不仅可以反映体内是否感染乙肝病毒、乙肝病毒的复制力及传染性, 还可以评价和监测抗病毒药物对慢性乙型肝炎的疗效。

【参考文献】

- [1] 刘丽. 乙型肝炎病毒核酸提取荧光定量 PCR 方法应用价值分析 [J]. 中国医疗器械信息, 2021, 27(16): 2.
- [2] 周丹, 何进才, 李惠贞, 等. 荧光定量 PCR 仪检测乙型肝炎病毒核酸的性能验证及评价 [J]. 检验医学与临床, 2019, 16(1): 5.
- [3] 赵云, 刘兴祥, 徐云芳, 等. 标本不同状态对荧光定量 PCR 检测乙型肝炎病毒 DNA 的影响 [J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(18): 4.

(上接第 27 页)

14(26):37-39.

[2] 冯京京. 酒石酸美托洛尔缓释片联合硝苯地平、螺内酯治疗顽固性高血压患者的疗效评价 [J]. 首都食品与医药, 2021, 28(2): 76-77.

[3] 罗晓斌, 彭泰珍, 罗浩波, 等. 琥珀酸美托洛尔缓释片联合阿司匹林肠溶片、硝苯地平控释片治疗高血压并冠心

病的临床效果 [J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(19): 58-60.

[4] 肖红. 酒石酸美托洛尔联合硝苯地平控释片治疗原发性高血压的临床观察 [J]. 航空航天医学杂志, 2020, 31(5): 581-582.

[5] 王艳. 依那普利联合硝苯地平或美托洛尔对高血压合并稳定型心绞痛患者血压、血管内皮功能的影响研究 [J]. 中国实用医药, 2020, 15(3): 117-119.