

# 高灵敏度HBV DNA检测指导慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗的临床意义

邵国辉 闫香芹 陈合民 张雷 孙敏 孙瑜

**【摘要】 目的** 探讨高灵敏度HBV DNA检测对于指导HBV DNA低载量慢性乙型肝炎(CHB)患者抗病毒治疗的临床意义。**方法** 收集应用国产试剂检测结果低于检测下限( $< 10^3$  IU/ml)的拟停药组112例患者和拟用药组48例患者共160份血清标本采用COBAS Amplicor系统再次进行检测,并与HBsAg定量结果进行对照分析。**结果** 经国产试剂检测结果低于检测下限( $< 10^3$  IU/ml)的160份血清经COBAS Amplicor系统再次检测有52例(32.50%)标本HBV DNA  $> 10^3$  IU/ml,高于高灵敏度HBV DNA检测下限(20 IU/ml)的标本共115份(占71.88%)。拟停药组患者HBV DNA  $\geq 20$  IU/ml者有72例(占64.29%);拟用药组患者中有19例HBV DNA  $> 10^3$  IU/ml,43例 $\geq 20$  IU/ml(占89.58%)。应用COBAS试剂检测HBV DNA不同载量组别与HBsAg浓度对数值均呈显著正相关( $P < 0.01$ )。**结论** 对国产试剂检测HBV DNA低载量患者应进一步做高灵敏的定量PCR试剂检测,可更好地指导患者初始应用或停用核苷(酸)类药物。

**【关键词】** 肝炎病毒,乙型;荧光定量PCR;COBAS Amplicor系统;临床应用

**The clinical significance of high sensitivity HBV DNA detection for the treatment of antiviral therapy in patients with chronic hepatitis B** Shao Guohui, Yan Xiangqin, Chen Hemin, Zhang Lei, Sun Min, Sun Yu. The First Inpatient Area of the Infectious Diseases Hospital of Jining, Shandong Province, Jining 272031, China  
Corresponding author: Shao Guohui, Email: 1652564281@qq.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the clinical significance of the high sensitive HBV DNA detection for the antiviral treatment of the chronic hepatitis B (CHB) patients with HBV DNA low viral load. **Methods** Total of 160 sera specimens separated from 112 cases of quasi discontinuation group which were detected lower than the detection line ( $< 10^3$  IU/ml) and 48 cases of quasi treatment group detected by domestic reagent were tested again using COBAS Amplicor system and compared with the results of quantitative HBsAg. **Results** There were 52 (32.5%) cases with HBV DNA quantitative value  $> 10^3$  IU/ml by Amplicor COBAS system out of 160 serum samples lower than the detection line ( $10^3$  IU/ml) detected by domestic reagent, 115 (71.88%) samples were detected higher than the high sensitive HBV DNA detection line (20 IU/ml). And 72 (64.29%) cases of the withdrawal group were detected than 20 IU/ml; in the treatment group, 19 cases were detected higher than  $10^3$  IU/ml, 43 (89.58%) cases were detected  $\geq 20$  IU/ml in quasi treatment group. There was a significant positive correlation between different HBV DNA load groups by COBAS reagent detection and HBsAg concentration logarithm value ( $P < 0.01$ ). **Conclusions** High sensitive quantitative PCR should be furtherly conducted for HBV DNA low load patients to guide the initial application or discontinuation of nucleos(t)ide drugs.

**【Key words】** Hepatitis B virus; Fluorescence quantitative PCR; COBAS Amplicor system; Clinical application

为探求核苷(酸)类药物安全停药的相关指标,本研究对于国产试剂HBV DNA低于检测下限的慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者在停

药前进行了高灵敏HBV DNA检测。在研究过程中,发现应用COBAS Amplicor系统检测高灵敏HBV DNA对于HBV DNA低载量CHB患者更具意义。为探讨高灵敏HBV DNA检测在HBV DNA低载量患者中的应用,本研究对160例应用国产试剂检测HBV DNA低于检测线的血清应用COBAS Amplicor系统再次检测并与HBsAg定量进行相关性分析,现报道如下。

## 资料与方法

### 一、研究对象

收集2012年12月至2014年6月于本院门诊或住院治疗的共160例患者的临床资料。所有患者均符合我国2010版《慢性乙型肝炎防治指南》(以下简称指南)诊断标准<sup>[1]</sup>。其中应用核苷(酸)类似物拟停药慢性乙型肝炎患者(简称拟停药组)112例,符合指南推荐停药指征。有肝脏炎症活动或肝脏硬化证据,即ALT大于ULN且年龄>40岁者;肝组织学显示KnodellHAI $\geq$ 4,或炎症坏死 $\geq$ G2,或纤维化 $\geq$ S2,或经Fibroscan检测肝脏弹性值(liver stiffness measurement, LSM) $\geq$ 9.4 kPa;或动态观察发现有疾病进展的证据如脾脏增大等。未进行抗病毒治疗的CHB或乙型肝炎肝硬化患者(简称拟用药组)48例。所有患者应用国产试剂检测HBV DNA均低于检测下限( $<10^3$  IU/ml)。

### 二、仪器与试剂

HBV DNA定量检测试剂A为国产实时荧光定量PCR试剂盒,应用Mx3000P型荧光定量PCR仪(美国安捷伦/Agilent Technologies)。试剂B(Roche分子诊断公司)应用COBAS Amplicor系统,试剂A采用煮沸法而试剂B采用磁珠法提取核酸,且试剂B具有内标。

HBsAg定量检测仪器系美国雅培公司的i2000免疫发光检测系统,诊断试剂由雅培公司提供。

### 三、方法

将应用试剂A检测结果低于检测下限( $<10^3$  IU/ml)的160份血清标本采用试剂B再次进行检测,具体操作和结果判定参照试剂盒说明书进行。同时对所收集的标本进行HBsAg定量检测。

### 四、统计学处理

将测得的各组HBV DNA定量及HBsAg的浓度(IU/ml)进行对数转换,并以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以HBsAg浓度的对数为横坐标,HBV DNA定量值对数为纵坐标,进行相关分析。采用SPSS 13.0统计

软件将数据作四格表 $\chi^2$ 检验和成组 $t$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 结 果

一、国产试剂检测HBV DNA $< 10^3$  IU/ml的标本应用COBAS试剂检测结果

试剂A检测HBV DNA低于检测下限( $<10^3$  IU/ml)的160份标本经试剂B再次检测,其中52例(32.50%)患者的血清标本HBV DNA $>10^3$  IU/ml;高于高灵敏度HBV DNA检测下限(20 IU/ml)的标本共115份(占71.88%)。拟停药组患者中HBV DNA $\geq 20$  IU/ml者72例(64.29%);拟用药组中19例患者HBV DNA $>10^3$  IU/ml, $\geq 20$  IU/ml者43例(89.58%),详见表1。

二、COBAS试剂检测不同HBV DNA载量组HBsAg定量结果

应用COBAS试剂检测HBV DNA不同载量组与HBsAg浓度对数值均呈显著正相关( $P < 0.01$ ),详见表2。

## 讨 论

本研究中,试剂A检测HBV DNA $< 10^3$  IU/ml的160份标本经试剂B再次检测有52份标本HBV DNA $>10^3$  IU/ml,如以试剂B为参照,则试剂A有32.5%标本出现假阴性,提示在低HBV DNA载量时试剂B与试剂A相关性较低,与倪俊明等<sup>[2-5]</sup>研究结果一致。

HBV DNA检测结果的假阴性会延误部分患者的抗HBV治疗时机。如对失代偿期肝硬化患者抗病毒治疗,我国指南提出只要HBV DNA可检测到,就可以应用核苷(酸)类似物进行治疗。与2009年版AASLD指南观点类似<sup>[1,6]</sup>。《慢性乙型肝炎抗病毒治疗专家共识》指出代偿期肝硬化患者若检测到HBV DNA,即使ALT水平正常也应考虑给予治疗<sup>[7]</sup>,与国内外学术界认为对于肝硬化患者抗病毒治疗应更为积极的观点一致<sup>[8-10]</sup>。对HBV相关肾小球肾炎

表1 国产试剂检测 HBV DNA  $< 10^3$  IU/ml 的标本应用 COBAS 试剂检测结果 [例 (%)]

组别	例数	HBV DNA 载量 (IU/ml)			
		$> 10^3$	$20 \sim 10^3$	$< 20$	低于检测下限
拟停药组	112	33 (29.46)	39 (34.82)	19 (16.96)	21 (18.75)
拟用药组	48	19 (39.58)	24 (50.00)	3 (6.25)	2 (4.17)
合计	160	52 (32.50)	63 (39.38)	22 (13.75)	23 (14.38)

表2 COBAS 试剂检测不同 HBV DNA 载量组 HBsAg 定量结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	HBsAg 定量 (IU/ml)	r 值	P 值
HBV DNA > 10 <sup>3</sup> IU/ml	52	2.92 ± 0.98	0.69	< 0.01
HBV DNA 20 ~ 10 <sup>3</sup> IU/ml	63	2.65 ± 0.87	0.79	< 0.01
HBV DNA < 20 IU/ml	22	1.85 ± 0.67	0.71	< 0.01
HBV DNA 低于检测下限	23	1.74 ± 0.44	0.68	< 0.01

(hepatitis B virus associated glomerulo nephritis, HBV-AG) 等CHB特殊患者,《慢性乙型肝炎特殊患者抗病毒治疗专家共识》建议HBV DNA可检出的患者均应考虑核苷(酸)类似物抗病毒治疗<sup>[11]</sup>。另外,对年龄>40岁,或有肝硬化、肝细胞癌家族史的CHB患者也给出了同样建议。临床上常见到一些CHB、肝硬化患者肝脏炎症或肝纤维化程度持续进展,但因应用国产试剂检测HBV DNA<10<sup>3</sup> IU/ml,而未得到及时治疗。本研究证实了这一点,即使以10<sup>3</sup> IU/ml作为HBV DNA检测下限,亦有39.58% (19/48) 的患者未得到及时抗HBV治疗,增加了这部分患者病情进展的风险。如果按HBV DNA>20 IU/ml作为HBV DNA阳性,本研究中拟用药组89.58%的患者可能有不同的预后。

另一方面,HBV DNA假阴性还可能误导部分CHB患者不规范停药。本研究中拟停药组HBV DNA>20 IU/ml者占64.29%。按欧洲肝病学会慢性乙型肝炎临床管理指南意见,尚未达到抗病毒治疗理想目的,该指南认为慢性乙型肝炎抗病毒治疗应将HBV DNA降至尽可能低的浓度,理想是低于实时定量PCR方法(灵敏度10~15 IU/ml)的最低检出限<sup>[12]</sup>。CHB患者考虑停用核苷(酸)类药物时,HBV DNA检测下限应理解为高灵敏HBV DNA检测结果。其实早在美国肝病学会(AASLD)《2007年慢性乙型肝炎防治指南》即建议用高灵敏的定量PCR试剂准确检测血清HBV DNA,且推荐使用Roche CobasTaqMan HBV DNA检测试剂<sup>[13]</sup>。庄辉等<sup>[14]</sup>也提出在判断停药指征时,应强调使用高灵敏度的核酸扩增试剂。

Liang等<sup>[15]</sup>研究认为停药时血清HBsAg水平对获得持久应答具有高度预测作用,本研究结果提示COBAS试剂检测HBV DNA不同载量分组与HBsAg定量值均呈显著正相关( $P < 0.01$ )。因此,应用高灵敏度HBV DNA检测指导CHB患者停用核苷(酸)类药物更加重要。

总之,精确的定量检测对指导CHB或乙型肝炎肝硬化患者初始抗病毒治疗或停药均有重要意

义。COBAS Amplicor系统等高灵敏度HBV DNA检测具有很好的灵敏性,但由于试剂昂贵,临床应用受到限制,如何合理应用非常重要。本研究提示对国产试剂检测HBV DNA低载量患者进一步行高灵敏HBV DNA检测,可更好地指导患者初始应用或停用核苷(酸)类药物。

## 参 考 文 献

- 1 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2011, 20(2): 197-203.
- 2 倪俊明, 孙梅, 吴旭平. 国产荧光定量PCR与COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan V 2.0检测HBV DNA结果比较[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(5): 398-399.
- 3 Hochberger S, Althof D, Gallegos de Schrott R, et al. Fully automated quantitation of hepatitis B virus (HBV) DNA in human plasma by the COBAS AmpliPrep COBAS TaqMan system[J]. J Clin Virol, 2006, 35(4): 373-380.
- 4 李兵, 王敏, 徐六妹, 等. 三种HBV荧光定量PCR检测试剂的比较及结果分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2010, 24(4): 301-304.
- 5 周薇, 胡爱荣. 荧光定量PCR与COBAS Taqman系统在血清HBV DNA检测中的应用及临床意义[J]. 现代实用医学, 2010, 22(5): 520-521.
- 6 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009[J]. Hepatology, 2009, 50(3): 661-697.
- 7 慢性乙型肝炎抗病毒治疗专家委员会. 慢性乙型肝炎抗病毒治疗专家共识[J/CD]. 中国肝脏病杂志: 电子版, 2010, 2(1): 36-43.
- 8 Hann HW, Fontana RJ, Wright T, et al. A United States compassionate use study of lamivudine treatment in nontransplantation candidates with decompensated hepatitis B virus-related cirrhosis[J]. Liver Transpl, 2003, 9(1): 47-56.
- 9 Keefe EB, Dieterich DT, Han SH, et al. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States: an update[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2006, 4(8): 936-962.
- 10 Chu CM, Liaw YF. Hepatitis B virus-related cirrhosis: natural history and treatment[J]. Semin Liver Dis, 2006, 26(2): 142-152.
- 11 慢性乙型肝炎特殊患者抗病毒治疗专家委员会. 慢性乙型肝炎特殊患者抗病毒治疗专家共识[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2010, 4(1): 92-101.
- 12 European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B[J]. J Hepatol, 2009, 50(2): 227-242.
- 13 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B[J]. Hepatology, 2007, 45(2): 507-539.
- 14 庄辉, 翁心华. 核苷(酸)类似药物治疗慢性乙型肝炎停药的探讨[J]. 中国病毒病杂志, 2013, 3(4): 241-244.
- 15 Liang Y, Jiang J, Su M, et al. Predictors of relapse in chronic hepatitis B discontinuation of anti-viral therapy[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2011, 34(3): 344-352.

(收稿日期: 2015-04-20)

(本文编辑: 孙荣华)