

像图为依据,但部分结节良恶性超声表现存在一定重叠,导致定性诊断有一定困难,影响鉴别准确度。

病理组织学中,甲状腺良性结节间质组织中血管丰富,质地柔软,而恶性病变可伴钙化、骨化,质地较硬。UE 可敏感反映甲状腺良恶性结节间的硬度差异,为其诊断结节良恶性的关键。UE 原理为向组织施加一个外力,根据弹性力学、生物力学等规律,受检组织的响应在速度、位移、应变等方面存在一定差异,并通过超声成像技术、数字信号、图像处理等方法,对甲状腺组织内部形变情况进行估测,反映出组织内部的力学属性等方面差异^[8]。本研究中,甲状腺恶性结节弹性分级多为 III~IV 级,良性结节多为 0~II 级,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。分析其原因在于,甲状腺良性结节富含胶质成分,质地较软,多为 0~II 级,而恶性结节富含砂砾体,硬度大,多为 III~IV 级。本研究中,CDFI 联合 UE 对甲状腺结节良恶性诊断灵敏度、特异度、准确度高于 CDFI、UE 单一诊断,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。表明 CDFI、UE 联合可提高甲状腺结节良恶性诊断准确度。

综上所述,CDFI、UE 对甲状腺良恶性结节具有较高诊断价值,二者联合可提高良恶性诊断准确度。

〔参考文献〕

(1) 张斌,余秀华,施红,等. 常规超声、超声造影及弹性成

像在甲状腺结节良恶性鉴别中的价值(J). 医学影像学杂志, 2018, 28(6): 913-916.

- (2) 张丽波,张波,曹京,等. 超微血管成像技术在 TI-RADS 4 类甲状腺结节检测中的应用价值(J). 中华超声影像学杂志, 2017, 26(12): 1029-1033.
- (3) 陶迅,童清平,杜欢,等. 超声联合弹性成像及促甲状腺激素水平对甲状腺良恶性病变的诊断价值(J). 东南国防医药, 2018, 20(3): 232-235.
- (4) 李晓曦. 2016 年美国临床内分泌医师协会《甲状腺结节诊断和治疗临床实践医学指南》解读(J). 中国实用外科杂志, 2017, 37(2): 157-161.
- (5) 王鑫,李玲. B-flow 超声显像、弹性成像及超声造影技术在甲状腺结节诊断中的应用(J). 陕西医学杂志, 2017, 46(8): 1068-1069.
- (6) 冯军,章晓赟,陈娟. 彩超联合弹性成像及促甲状腺激素水平对甲状腺良恶性病变的诊断价值(J). 影像研究与医学应用, 2018, 2(17): 209-211.
- (7) 王月红,温德惠,刘翔宇,等. 超声 MicroPure 成像技术联合 mSMI 对 TI-RADS3、4 级结节的鉴别诊断价值(J). 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2017, 31(3): 180-184, 190.
- (8) 刘畅,殷军,何志容,等. 实时超声弹性成像技术结合 TI-RADS 分级标准在良恶性甲状腺结节鉴别诊断中的应用价值(J). 临床超声医学杂志, 2018, 20(7): 465-467.

(文章编号) 1007-0893(2021)16-0097-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.16.040

FQ-PCR 技术检测慢性乙型肝炎患者血清 HBV-DNA 的价值分析

高飞¹ 牛志强²

(1. 安阳市第五人民医院, 河南 安阳 455000; 2. 安阳市肿瘤医院, 河南 安阳 455000)

〔摘要〕 **目的:** 探讨荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)技术检测慢性乙型肝炎患者血清乙型肝炎病毒脱氧核糖核苷酸(HBV-DNA)的价值。**方法:** 选取安阳市肿瘤医院2018年1月至2021年4月期间收治的145例慢性乙型肝炎患者,其均接受乙型肝炎病毒标志物(HBV-M)检测以及FQ-PCR技术检测血清HBV-DNA。比较不同HBV-M患者血清HBV-DNA水平以及不同病情患者HBV-DNA水平。**结果:** 乙型肝炎核心抗体(HBcAb)、乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、乙型肝炎表面抗体(HBsAb)、乙型肝炎E抗体(HBeAb)、HBcAb阳性患者的HBV-DNA水平低,三者比较,差异无统计学意义($F = 1.052, P = 0.339$); HBsAg、HBeAg、HBcAb、HBsAg、HBeAg、HBsAg、HBeAb、HBsAg、HBsAb、HBcAb、HBsAg、HBsAb、HBcAb阳性患者的HBV-DNA水平高,差异有统计学意义($F = 4680.180, P < 0.001$); 重度患者的HBV-DNA水平显著高于中度和轻度患者,且中度患者显著高于轻度患者,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:** 采用FQ-PCR技术检测患者的HBV-DNA水平,可反映乙型肝炎患者病情程度以及疾病类型。

〔关键词〕 慢性乙型肝炎; 荧光定量聚合酶链反应; 乙型肝炎病毒脱氧核糖核苷酸; 乙型肝炎病毒标志物

〔中图分类号〕 R 392-33 〔文献标识码〕 B

〔收稿日期〕 2021-06-30

〔作者简介〕 高飞,女,主管检验技师,主要从事医学检验工作。

乙型肝炎病毒标志物(hepatitis B virus markers, HBV-M)检测为临床诊断该疾病的常用手段,通过检测乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)、乙型肝炎表面抗体(hepatitis B surface antibody, HBsAb)、乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)、乙型肝炎e抗体(hepatitis B e antibody, HBeAb)和乙型肝炎核心抗体(hepatitis B core antibody, HBcAb),判断是否感染乙型肝炎及感染的具体情况,区分大三阳、小三阳,以此为临床治疗提供参考依据^[1]。同时由于乙型肝炎属于嗜肝脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)病毒科,因此病毒复制在该病的发展过程中占据重要意义,乙肝五项并不能准确的判断病毒复制情况。乙型肝炎病毒脱氧核糖核苷酸(hepatitis B virus deoxynucleotide, HBV-DNA)可反映HBV的复制,聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)是临床检测HBV-DNA的常用检测方式,但在检测过程中其扩增产物易污染而导致假阳的发生^[2],影响后续治疗。荧光定量聚合酶链反应(fluorescence quantitative polymerase chain reaction, FQ-PCR)是用特异性寡核苷酸引物在DNA聚合酶的作用下对靶DNA序列进行大量扩增的分子生物学方法,可避免扩增产物被感染的风险,本研究旨在探讨FQ-PCR技术检测慢性乙型肝炎患者HBV-DNA的价值,详情报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取安阳市肿瘤医院2018年1月至2021年4月期间收治的145例慢性乙型肝炎患者,男87例,女58例,年龄30~75岁,平均年龄(57.36±15.01)岁,病程1~15年,平均病程(8.21±2.35)年;病情严重程度:轻度39例、中度75例、重度31例。

1.1.1 纳入标准 (1)均参照乙型肝炎诊断标准^[3]进行了确诊;(2)患者临床资料完善;(3)无严重免疫系统或精神障碍者。

1.1.2 排除标准 (1)伴有甲型或其他类型病毒性肝炎者;(2)既往有吸毒,药物滥用史;(3)伴有肝脑肾等重要器官器质性病变者。

1.1.3 病情程度判定标准 (1)轻度:患者表现为疲乏、肝区不适、食欲下降等症状,转氨酶40~120 U·L⁻¹、血清胆红素17.7~34.0 μmol·L⁻¹、HBsAg、HBeAg为阳性;(2)中度:疲乏,食欲不振,巩膜发黄等临床症状较为突出,转氨酶120~140 U·L⁻¹、血清胆红素35.0~38.5 μmol·L⁻¹,肝脏B超提示肝脏有不同程度的损伤;(3)重度:精神不振、全身皮肤发黄、重度乏力,还可出现脏器出血、意识混乱。凝血酶原活动度小于40%、血清胆红素超过171 μmol·L⁻¹、白蛋白小于32 g·L⁻¹、转氨酶大于400 U·L⁻¹。

1.2 方法

患者均接受了HBV-M检测以及FQ-PCR技术检测HBV-DNA。

1.2.1 HBV-M检测 入院后抽取肘部空腹静脉血3 mL,置于血清分离管中,静置60 min,经离心处理后(3000 r·min⁻¹, 15 min),取上清液分装于EP管中,采用电化学发光分析仪(上海罗氏公司, ELECSYS1170型)电化学发光法检测HBsAg和HBsAb、HBeAg和HBeAb、HBcAb(试剂盒由上海罗氏公司生产),均严格按照仪器和试剂盒说明书操作。参考范围:HBsAg ≥ 0.2 ng·mL⁻¹; HBsAb ≥ 10 mIU·mL⁻¹; HBeAg ≥ 0.5 PEIU·mL⁻¹; HBeAb ≥ 0.2 PEIU·mL⁻¹; HBcAb ≥ 0.9 PEIU·mL⁻¹,高于临界值即定义为阳性。

1.2.2 FQ-PCR技术检测 入院后抽取肘部空腹静脉血3 mL,运用列碱法提取HBV-DNA,采用全自动荧光定量PCR仪(美国Bio-Rad, CFX96)引用相对应序列按条件扩增,50℃、94℃、93℃、以及60℃共进行40个循环。结束后运营相应软件进行分析HBV-DNA病毒载量。参考范围:HBV-DNA < 10³ copies·mL⁻¹为阴性,10³ copies·mL⁻¹ ≤ HBV-DNA < 10⁵ copies·mL⁻¹为低拷贝,≥ 10⁵ copies·mL⁻¹为高拷贝。

1.3 观察指标

(1)比较不同HBV-M患者的血清HBV-DNA水平。按照HBV-M检测结果将其分为8类:①HBcAb; ②HBsAg、HBeAg、HBcAb; ③HBsAg、HBeAg; ④HBsAb、HBeAb; ⑤HBsAg、HBsAb、HBcAb; ⑥HBeAb、HBcAb; ⑦HBsAg、HBeAb; ⑧HBsAb、HBeAb、HBcAb。(2)比较不同病情程度(轻、中、重度)患者的血清HBV-DNA水平。

1.4 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 t 检验,计数资料用百分比表示,采用 χ^2 检验,两两比较采用Bonferroni校正, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同HBV-M患者血清HBV-DNA水平比较

HBcAb, HBsAg、HBsAb, HBeAb、HBcAb阳性患者的HBV-DNA水平低,三者比较,差异无统计学意义($F = 1.052, P = 0.339$); HBsAg、HBeAg、HBcAb, HBsAg、HBeAg, HBsAg、HBeAb, HBsAg、HBsAb、HBcAb, HBsAg、HBsAb、HBcAb阳性患者的HBV-DNA水平高,差异有统计学意义($F = 4680.180, P < 0.001$),见表1。

表 1 不同 HBV-M 患者血清 HBV-DNA 水平比较
($\bar{x} \pm s$, $\times 10^4$ copies \cdot mL $^{-1}$)

HBV-M	n	HBV-DNA
HBcAb	8	0.04 \pm 0.01
HBsAb、HBeAb	13	0.04 \pm 0.01
HBeAb、HBcAb	8	0.05 \pm 0.01
HBsAg、HBeAg、HBcAb	31	554.32 \pm 35.46
HBsAg、HBeAg	11	371.24 \pm 13.45
HBsAg、HBeAb	12	3.31 \pm 0.34
HBsAg、HBsAb、HBcAb	53	41.43 \pm 6.49
HBsAb、HBeAb、HBcAb	9	0.46 \pm 0.07

注: HBV-M — 乙型肝炎病毒标志物; HBV-DNA — 乙型肝炎病毒脱氧核糖核苷酸; HBcAb — 乙型肝炎核心抗体; HBsAg — 乙型肝炎表面抗原; HBsAb — 乙型肝炎表面抗体; HBeAb — 乙型肝炎 e 抗体; HBeAg — 乙型肝炎 e 抗原

2.2 不同病情程度患者的血清 HBV-DNA 水平比较

病情程度轻度的患者血清 HBV-DNA 水平为 $(23.44 \pm 4.49) \times 10^4$ copies \cdot mL $^{-1}$, 中度患者为 $(148.32 \pm 19.46) \times 10^4$ copies \cdot mL $^{-1}$, 重度患者为 $(254.46 \pm 26.07) \times 10^4$ copies \cdot mL $^{-1}$, 重度患者的 HBV-DNA 水平显著高于中度和轻度患者, 且中度患者显著高于轻度患者, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

乙型肝炎是诱发肝硬化以及肝癌的主要因素, 因此早发现、早治疗于患者意义重大。病毒的复制是靠 DNA 的复制来完成的, DNA 的浓度越高, 病毒的复制越活跃, 但该物质的检测对实验人员、实验室条件等要求较高, 既常规使用的 PCR 法较易出现假阳性^[4], FQ-PCR 技术利用两种与相反链杂交并利用附着于目标 DNA 两端的寡核苷酸引物在高温 (95 $^{\circ}$ C) 使含目标 DNA 片段的 DNA 双链变性, 分解为单链, 进而经过几十个循环, 从 mRNA 中, cDNA 库中扩增出目标基因, 且差错少, 故本研究选择对其进行相应探讨。

本研究中, HBcAb, HBsAg、HBsAb, HBeAb、HBcAb 阳性患者的 HBV-DNA 水平低, 三者比较差异无统计学意义 ($F = 1.052$, $P = 0.339$); HBsAg、HBeAg、HBcAb, HBsAg、HBeAg, HBsAg、HBeAb, HBsAg、HBsAb、HBcAb, HBsAg、HBsAb、HBcAb 阳性患者的 HBV-DNA 水平高, 差异有统计学意义 ($F = 4680.180$, $P < 0.001$), 可能的原因是: HBsAg 阳性表示体内感染 HBV; HBeAg 是 HBV 复制的标志, 它可以判定传染性的大小; HBsAb 阳性表示乙型肝炎相对好转; HBeAb 阳性表明人体产生表面抗

体, 意味机体对 HBV 产生了抵抗力; HBcAb 为曾经感染过或正在感染者都会出现的标志。因此如果 HBeAg 阳性, 则表示 HBV 在人体内复制活跃, 血中带毒量大, 传染性强, 即本研究中 HBsAg、HBeAg、HBcAb 和 HBsAg、HBeAg 患者 HBV-DNA 水平高; HBeAb 阳性标志 HBV 的复制已经从活跃转为相对静止, 血中带毒量减少, 传染性相对降低, 表示乙型肝炎相对好转, 即 HBsAb、HBeA, HBeAb、HBcAb, HBsAg、HBeAb 患者 HBV-DNA 水平低, 该结果与谢宇端等人^[5]的研究结果一致。

本研究中, 重度患者的 HBV-DNA 水平显著高于中度和轻度患者, 且中度患者显著高于轻度患者, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明病情程度越重 HBV-DNA 水平越高。可能的原因是 HBV 属于 DNA 病毒, 核酸是病毒的核心部分, 病毒的基因都在这里, 因此当 HBV 复制越快, 体内 HBV 越多, 对肝细胞的损伤越严重, 进而加重临床表现, 而张丽等^[6]和袁媛等^[7]的研究中亦表明, HBV-DNA 水平和病情的严重程度呈正相关, 和本研究结果相符。

综上所述, 采用 FQ-PCR 技术检测患者的 HBV-DNA 水平, 可反映乙型肝炎患者病情程度以及疾病类型。

[参考文献]

- (1) 张宁. 实时荧光聚合酶链式反应技术在慢性乙型肝炎患者血清标本 HBV DNA 定量检测中的应用价值 (J). 河南医学研究, 2020, 29(31): 5915-5917.
- (2) 陈贤坤, 吴翠云. HBsAg 及 HBV DNA 定量检测在慢性乙型肝炎患者不同病程阶段中的应用价值 (J). 检验医学与临床, 2019, 16(13): 1829-1831, 1836.
- (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 年版) (J). 实用肝脏病杂志, 2016, 19(3): 389-400.
- (4) 花艳艳, 许琳婧, 李梦华. 慢性乙型肝炎患者血清 HBsAg 定量和 HBV-DNA 检测在 HBV 基因型与耐药变异中的临床探讨 (J). 中国医药指南, 2018, 16(32): 121-122.
- (5) 谢宇端, 韩艳, 高原小雪. 荧光定量聚合酶链反应检测慢性乙肝患者 HBV DNA 的意义 (J). 标记免疫分析与临床, 2020, 27(3): 513-517, 527.
- (6) 张丽, 管庆虎, 刘铭, 等. 贵州省 1-29 岁人群乙型肝炎病毒血清学标志物感染模式的变化分析 (J). 中国疫苗和免疫, 2018, 24(2): 137-140, 175.
- (7) 袁媛, 陈骥, 王亚莉. HBeAg 阴性慢性乙肝合并肝硬化患者血清 HBV DNA 水平与肝功能的关系 (J). 山东医药, 2017, 57(1): 81-83.