

慢性丙型肝炎患者 HCV 核心抗原和 HCV RNA 检测的对比研究

陈继梅 丁雪芳 许叶虹

作者单位:241000 芜湖市,安徽省芜湖市第三人民医院检验科

【摘要】 目的 评价丙型肝炎病毒核心抗原(hepatitis C virus core antigen, HCV-cAg)及丙型肝炎病毒 RNA(hepatitis C virus RNA, HCV RNA)检测在慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)诊断中的作用。**方法** 收集 2013 年 6 月至 2014 年 5 月我院 186 例丙肝抗体阳性的 CHC 患者,分别采用酶联免疫吸附试验及荧光定量逆转录聚合酶链反应(fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, FQ-RT-PCR)法检测患者 HCV-cAg 及 HCV RNA 水平,并对检测结果进行统计学分析。**结果** 在 186 例 CHC 患者中,HCV-cAg 阳性检出率为 33.87%,HCV RNA 阳性检出率为 53.23%,二者差异有统计学意义($P < 0.05$);以 HCV RNA 检测为病毒血症金标准,HCV-cAg 的灵敏度和特异性分别为 60.61%、96.55%,阳性预测值和阴性预测值分别为 95.24%、68.29%。随着患者血清 HCV RNA 水平的降低,HCV-cAg 阳性率也呈现下降趋势,且各组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。HCV-cAg 阳性组 HCV RNA 病毒载量及阳性率均高于 HCV-cAg 阴性组,两组间差异均有统计学意义(P 均 < 0.01)。**结论** FQ-RT-PCR 技术检测 HCV RNA 是判断 HCV 感染最可靠的方法,而 HCV-cAg 诊断病毒复制有一定的局限性,但可作为病毒存在和复制指标的重要补充。

【关键词】 慢性丙型肝炎;丙型肝炎病毒核心抗原;丙型肝炎病毒 RNA

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2014.04.002

The comparative study of HCV core antigen detection and HCV RNA assay in chronic HCV infected patients

CHEN Ji-mei, DING Xue-fang, XU Ye-hong. Department of Clinical Laboratory, the Third People's Hospital of Wuhu City, Wuhu 241000, China

【Abstract】 **Objective** To evaluate the clinical significance of hepatitis C virus core antigen (HCV-cAg) and hepatitis C virus RNA (HCV RNA) detection on diagnosis of chronic hepatitis C (CHC). **Methods** The serum samples from a total of 186 chronic HCV infected patients with positive anti-HCV were collected in our hospital from June 2013 to May 2014. HCV-cAg and HCV RNA were detected by sandwich ELISA and fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (FQ-RT-PCR) respectively, and the data were further analyzed statistically. **Results** The positive rate of HCV-cAg was 33.87% and the positive rate of HCV RNA was 53.23% from all of 186 patients, and the difference had statistical significance ($P < 0.05$). When took the HCV RNA as the gold standard, the sensitivity and specificity of HCV-cAg assay were 60.61% and 96.55% respectively, the positive predictive value and negative predictive value were 95.24% and 68.29%. The positive rate of HCV-cAg showed a downtrend along with the decreased of HCV RNA viral load, and the difference had statistical significance ($P < 0.05$). HCV RNA viral load and positive rate in HCV-cAg positive group were all higher than that of HCV-cAg negative group, and the differences all had statistical significance (P all < 0.01). **Conclusion** HCV RNA quantitation by FQ-RT-PCR technique is still the most reliable method for evaluating the status of HCV infection. Although HCV-cAg assay has some limitations, but it can be a useful supplemental indicator for monitoring the existence and replication of HCV in clinical practice.

【Key words】 Chronic hepatitis C; Hepatitis C virus core antigen; Hepatitis C virus RNA

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)是一种经血液传播的致病因子,常引起世界性传染病,HCV 感染后极易慢性化,严重威胁着人类的健康。目前对 HCV 感染的检测指标主要包括酶联免疫吸附实验

(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测抗-HCV,荧光定量逆转录聚合酶链反应法(fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, FQ-RT-PCR)检测 HCV RNA,两种方

法各有优势及局限性,尚不能完全满足临床需要。近年来随着检测技术提升,已开发出血清丙型肝炎病毒核心抗原(hepatitis C virus core antigen, HCV-cAg)的 ELISA 法检测试剂盒,操作简单、方便,不需要特殊仪器,不但可作为 HCV 早期感染的标志物,而且也是病毒复制的指标^[1],为丙肝的诊疗提供了有益的补充。本文研究检测了 186 例慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者血清 HCV RNA、HCV-cAg 水平,旨在探讨这两项指标在 CHC 诊疗中的临床应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2013 年 6 月至 2014 年 5 月期间于我院就诊的 CHC 患者 186 例,其中男 92 例,女 94 例,平均年龄(49.83±13.81)岁,所选病例均符合 2004 年版《丙型肝炎防治指南》诊断标准^[2]。

1.2 标本采集 采集受检者静脉血 3 ml,以离心半径 8 cm,3000 r/min 离心 5 min 分离血清,-20℃保存,1 w 内完成测定。

1.3 方法 血清 HCV RNA 检测采用美国 SLAN Real Time PCR Detection System 7300 荧光定量检测仪,试剂为上海科华生物有限公司产品,以 HCV RNA ≥ 1×10³ copies/mL 为阳性结果。采用 ELISA 双抗体夹心法检测患者 HCV-cAg,试剂为湖南景达制药有限公司产品,均严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间计量资料的比较采用 *t* 检验,计数资料的比较采用 χ^2 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 186 例 CHC 患者 HCV-cAg 与 HCV RNA 检测结果分析 186 例 HCV 感染者中,HCV RNA 阳性率为 53.23%(99/186),HCV-cAg 阳性率为 33.87%(63/186),HCV RNA 与 HCV-cAg 阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 14.17, P < 0.05$)。63 例 HCV-cAg 阳性患者中,HCV RNA 阳性者有 60 例(95.24%),99 例 HCV RNA 阳性者中,HCV-cAg 阳性者有 60 例(60.61%)。以 HCV RNA 为诊断病毒血症的“金标准”,HCV-cAg 的灵敏度和特异性分别为 60.61%(60/99)、96.55%(84/87),阳性预测值和阴性预测值分别为 95.24%(60/63)、68.29%(84/123),误诊率为 3.45%(3/87),漏诊率为 39.39%(39/99),诊断符合率为 77.4%[(60+84)/(60+3+39+84)],见表 1。

2.2 不同 HCV RNA 病毒载量各组间 HCV-cAg 阳

性率结果的比较 由表 2 可见,随着患者血清 HCV RNA 水平的降低,HCV-cAg 阳性率也呈现下降趋势,且各组间阳性率比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 115.94, P < 0.05$)。

表 1 186 例 CHC 患者
HCV-cAg 与 HCV RNA 检测结果分析

HCV-cAg	HCV RNA		合计
	阳性	阴性	
阳性	60	3	63
阴性	39	84	123
合计	99	87	186

表 2 不同 HCV RNA 病毒载量组
间 HCV-cAg 阳性率结果的比较[n(%)]

HCV RNA (copies/mL)	例数	HCV-cAg 阳性率
> 10 ⁷	10	10(100.00)
10 ⁶ ~10 ⁷	19	17(89.47)
10 ⁵ ~10 ⁶	37	28(75.68)
10 ⁴ ~10 ⁵	21	4(19.05)
10 ³ ~10 ⁴	12	1(8.33)
< 10 ³	87	3(3.45)

2.3 HCV-cAg 阳性与阴性组间 HCV RNA 病毒载量及阳性率检测结果比较 186 例 CHC 患者中,HCV-cAg 阳性组 HCV RNA 病毒载量及阳性率均高于 HCV-cAg 阴性组,两组间差异均有统计学意义(*P* 均 < 0.01),见表 3。

表 3 HCV-cAg 阳性与阴性组间
HCV RNA 病毒载量及阳性率检测结果比较

组别	例数	log ₁₀ HCV RNA ($\bar{x} \pm s$)	HCV RNA 阳性率 [n(%)]
HCV-cAg 阳性组	63	6.07±1.01	60(95.24)
HCV-cAg 阴性组	123	4.50±0.89	39(31.71)
统计量值	-	7.719	14.171
<i>P</i> 值	-	0.000	0.001

3 讨论

目前,对丙型肝炎的实验室诊断主要是通过通过对 HCV 抗体及 HCV RNA 的检测来进行判断。HCV 抗体检测存在的固有缺陷是“窗口期”长。有学者^[3]研究得出抗-HCV 最早于感染后的 15 d 被检测到,最晚出现于第 80 天,单独检测 HCV 抗体可能存在漏检现象。另外各厂家试剂间灵敏度和特异性存在一定的差异,常导致实验结果不一致,同时抗体产生后长期存在,其阳性并不能区分患者是现症感染还是

既往感染, 诊疗的依据必须依赖 HCV RNA 的检测。HCV RNA 是丙肝患者诊疗的金标准, 具有早期、敏感、特异等优点, 但其检测技术要求较高, 同时由于 HCV RNA 的前处理过程较为复杂, 不可避免会出现 HCV RNA 被灭活或污染现象, 导致出现错误结果^[4]。同时, 对 CHC 患者长期观察发现, HCV 感染后的病毒血症有持续性、一过性和间隙性 3 种模式, 病毒可潜伏一段时间再复制, 从而使 HCV RNA 检测结果呈阴阳交替间隙性出现, 因此, CHC 患者疾病过程中, 可能由于各种原因检测不出病毒复制, 但并不代表病毒被完全清除^[5,6]。

HCV-cAg 检测试剂盒的成功开发, 为 HCV 的诊疗提供了更多的途径, 由于是检测的抗原, 其“窗口期”短。研究^[7]表明, 患者外周血中 HCV-cAg 在 HCV RNA 出现后的 1-2 d 即可出现, 且与外周血中的 HCV RNA 水平具有良好的相关性, 其消长趋势与 HCV RNA 有明显一致性, 可以作为 HCV 复制的标志物。不同研究^[8,9]显示, 在丙肝患者血清中 HCV-cAg 检出率在 37.78%~71.8% 之间。本研究检测结果为 33.87%, 低于上述各家的结果, 可能与所用试剂及病例选择不同有关。本研究结果显示, HCV RNA 在高病毒载量时, HCV-cAg 的阳性率可达到 100%, 随着病毒载量降低, 其阳性率逐渐下降, 不同病毒载量水平组间比较, HCV-cAg 阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2=115.94, P<0.05$)。同时, HCV-cAg 阳性者中 HCV RNA 病毒载量及阳性率也远高于 HCV-cAg 阴性者, 两组间差异亦均有统计学意义 (P 均 <0.01), 说明 HCV-cAg 阳性率与 HCV RNA 病毒载量水平相关, HCV RNA 高病毒载量时更易检出 HCV-cAg, 与 PCR 方法存在一致性。本研究结果发现, 99 例 HCV RNA 阳性者中 HCV-cAg 阳性者 60 例, 仅为 HCV RNA 阳性的 60.61%, 由此可见, HCV-cAg 的灵敏度并不高, 可能造成一定的漏诊率, 尤其是在病毒复制水平比较低时, 当病毒载量低于 10^4 时, HCV-cAg 检测的阳性率低于 8.33%, 即漏诊率达到 91.67%, 漏诊率相当高。这是由于 HCV 抗原包括结构区和非结构区, HCV-cAg 位于 HCV 结构区, 常引起血清中抗原浓度低, 可能是检出率低的原因。在 HCV RNA 阴性标本中, 有 3 例 HCV-cAg

为阳性, 这可能是由于 HCV RNA 提取或保存过程不当, 被 RNA 酶降解, 也不排除 HCV 感染者体内的病毒正处于复制间隙期, 由此可见, 对于 HCV 感染者, HCV-cAg 检测可作为病毒存在和复制指标的有益补充。

本文研究结果显示, 在 HCV 检测中, HCV RNA 仍是判断病毒复制最可靠的标志物, HCV-cAg 阳性率与 HCV RNA 有一致性, 但同时也存在差异, 以 HCV RNA 为诊断病毒血症的“金标准”, HCV-cAg 的灵敏度和特异性分别为 60.61%、96.55%, 阳性预测值和阴性预测值分别为 95.24%、68.29%。HCV-cAg 应用于 HCV 感染检测, 特异性较好, 但灵敏度有待提高。但相对于 HCV RNA 检测技术要求高的特点, HCV-cAg 检测操作简单, 不需要昂贵的仪器及严格的准入制度, 适合没有条件的基层医院开展, 可作为病毒存在和复制指标的有益补充, 为丙型肝炎的诊疗提供一定的实验室依据。

4 参考文献

- 1 洪俊, 饶永彩. HCV 核心抗原测定用于丙型肝炎病毒性早期诊断临床价值的评估. 临床检验杂志, 2005, 23: 133.
- 2 中华医学会肝病学会和感染病学分会. 丙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志, 2004, 12: 194-198.
- 3 谷金莲, 祁自柏, 孙德贵, 等. 输血后丙型肝炎病人 10 年前瞻性研究. 中国预防医学杂志, 2004, 5: 104-106.
- 4 Yatsunami H, Yano M. The present state and problems of HCV blood screening system in blood products. Nippon Rinsho, 2001, 59: 1303-1307.
- 5 陈继梅, 许叶虹, 丁雪芳. 慢性丙型肝炎感染者多项指标动态监测结果分析. 中华疾病控制杂志, 2013, 17: 548-550.
- 6 季阳, 贾桂芳, 刘福荣, 等. 丙型肝炎病毒感染者和献血者 12 年追踪观察. 中国输血杂志, 2006, 19: 438-442.
- 7 Gaudy C, Thevenas C, Tichet J, et al. Usefulness of the hepatitis C virus core antigen assay for screening of a population undergoing routine medical checkup. J Clin MicroBoil, 2005, 43: 1722-1726.
- 8 周艳, 王薇. 丙肝病毒核心抗原检测对于丙型肝炎诊断的价值. 中国现代药物应用, 2010, 4: 69-70.
- 9 肖征, 周光. HCV 抗原检测与 HCV RNA 及 HCV 抗体检测的比较研究. 中国人兽共患病学报, 2009, 25: 539-540.

(收稿日期: 2014-08-06)

(本文编辑: 陈淑莲)