

HCV RNA 定量及 HCV 核心抗原和丙氨酸氨基转移酶结果分析

毛燕群(重庆市涪陵监狱卫生所 408000)

【摘要】 目的 分析丙型肝炎病毒(HCV)RNA 定量检测结果与 HCV 核心抗原及丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测结果的相关性。**方法** 收集涪陵监狱卫生所 94 例住院和门诊患者血清,采用逆转录聚合酶链反应荧光探针法定量检测标本中的 HCV RNA,同时采用酶联免疫吸附试验检测 HCV 核心抗原,采用全自动生化分析仪检测 ALT 水平。**结果** 94 例样本中 HCV RNA 阳性率为 56.4%(53/94),HCV 核心抗原阳性率为 53.2%(50/94),经统计学分析,两种方法的阳性率差异无统计学意义($P>0.05$),符合率为 84.9%(45/53);ALT 异常率为 62.3%(33/53),随着 HCV RNA 含量的升高而增加。**结论** HCV RNA 定量检测结合 HCV 核心抗原及 ALT 检测,可帮助临床了解 HCV 在体内的复制水平及肝脏的炎症反应状态,以指导临床用药及疗效观察。

【关键词】 丙型肝炎病毒 RNA; 丙型肝炎病毒核心抗原; 丙氨酸氨基转移酶; 荧光定量聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.22.011 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)22-2711-02

Analysis on the detection results of HCV RNA, HCV core antigen and alanine ammotrans ferase MAO Yan-qun(Public Health Center of The Prison, Fuling, Chongqing 408000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the relativity of quantitative detection of HCV RNA and detection of hepatitis C virus(HCV) core antigen and alanine ammotrans ferase(ALT). **Methods** 94 human serum were collected from inpatients and outpatients. HCV RNA was quantitatively detected by real-time fluorescence PCR. HCV core antigen was measured by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA), and ALT was detected by using automatic biochemical analyzer. **Results** The positive rates of HCV RNA and HCV core antigen were 56.9%(53/94) and 53.2%(50/94), respectively. There was no significant statistical difference between two methods($P>0.05$) and the coincidence rate was 84.9%(45/53). The abnormal rate of ALT was 62.3%(33/53), which was enhanced with the increase of HCV RNA. **Conclusion** Quantitative detection of HCV RNA and HCV core antigen test with ALT results can help clinicians to understand the level of HCV replication in the body and the inflammatory response status of the liver. This will guide clinical treatment and observation of treatment effects.

【Key words】 HCV RNA; HCV; core antigen; alanine ammotrans ferase; real-time fluorescence PCR

丙型肝炎是世界性传染病,我国平均感染率为 3.2%^[1]。丙型肝炎病毒(HCV)感染人体后,有将近一半的人会成为慢性肝炎^[2],早期诊治仍是防止 HCV 传播的有效手段。因此,建立一种针对 HCV 的具有较高敏感度、特异性和稳定性的检测方法,对 HCV 感染的早期诊断和治疗以及输血前的检查具有重要意义。目前临床常规检测以抗-HCV 为主,但抗体阳性并不能说明患者是否携带 HCV,是否具有传染性^[3]。本文采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)技术检测 HCV RNA,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 HCV 核心抗原,同时采用全自动生化分析仪检测丙氨酸氨基转移酶(ALT),并对结果进行比较分析,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 收集本院 2008 年 6 月 2 日至 2011 年 10 月 31 日 94 例门诊及住院可疑丙型肝炎患者的血清,年龄 19~81 岁,平均 45 岁,男女比例为 50:44。

1.2 研究方法 所有实验均严格按照试剂说明书操作和判读结果。HCV RNA 检测:采用逆转录-PCR 荧光探针法,荧光定量 PCR 仪由深圳匹基生物工程有限公司生产,配套 HCV 核酸扩增 PCR 荧光定量检测试剂盒,批号为 2008-Version-5.0 b,HCV RNA 载量的正常值为小于 1 000 copy/mL 血清。HCV 核心抗原检测:采用 ELISA 检测,检测试剂盒由湖南景达基因公司生产,洗板机(ST236W)和酶标仪(ST2360)为上海

科华实业有限公司生产;ALT 检测:试剂及仪器均由贝克曼公司生产,采用全自动生化分析仪检测 ALT,正常值小于 40 U/L。

1.3 统计学方法 数据采用 SPSS 17.0 统计软件处理。

2 结 果

2.1 HCV RNA 与 HCV 核心抗原检测结果比较 见表 1。94 例血清标本 HCV RNA 阳性 53 例,阳性率为 56.4%(53/94);HCV 核心抗原阳性 50 例,阳性率为 53.2%(50/94);53 例 HCV RNA 阳性血清中 HCV 核心抗原同时阳性的有 45 例,二者的阳性符合率为 84.9%(45/53)。经配对四格表卡方检验分析, $\chi^2=0.37$,两种方法检测结果的阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 94 例血清 HCV RNA 与核心抗原检测结果比较

HCV RNA	HCV 核心抗原		合计
	(+)	(-)	
(+)	45	8	53
(-)	5	36	41
合计	50	44	94

注:(+)表示阳性,(-)表示阴性。

2.2 HCV RNA 载量与 HCV 核心抗原阳性及异常 ALT 的关系 见表 2。53 例 HCV RNA 载量高于 1 000 copy/mL 血

清的病例中 ALT 含量大于 40 U/L 的有 33 例,其异常率为 62.3%,ALT 异常率组间差异有统计学意义($P < 0.05$),且随着 HCV RNA 载量的增多其异常率呈一定程度的增高。异常 ALT 浓度在不同 HCV RNA 载量中差异无统计学意义。HCV 核心抗原的阳性率也随着 HCV RNA 载量的升高而增高。

表 2 HCV RNA 载量与核心抗原阳性及异常 ALT 的关系[n(%)]

HCV RNA	标本数 (copy/mL)	核心抗原阳性	ALT 异常	ALT 平均值 (U/L)
10^7	2	2(100.0)	2(100.0)	278
10^6	6	6(100.0)	5(83.3)	190
10^5	12	12(100.0)	8(66.7)	105
10^4	18	15(83.3)	11(61.1)	85
10^3	15	10(66.7)	7(46.7)	60
$<10^3$	10	2(20.0)	3(30.0)	57
(-)	31	3(9.7)	5(16.1)	48

注:(-)表示阴性。

3 讨 论

丙型肝炎是由 HCV 引起的病毒性传染病,是一种主要经血液传播的疾病^[4]。由于 HCV 感染后极易慢性化,大约 75% 以上的感染者将演变为慢性感染,并可引起肝硬化、肝癌等终末期肝病,被称之为“沉默的杀手”,目前尚无有效的疫苗预防 HCV 感染及特效的治疗药物^[5]。因此,对健康人群进行筛选及早期临床诊断是有效控制丙型肝炎发生的重要手段。但是,很多患者感染 HCV 多年,在临床上并无明显的症状和体征,对此类患者,HCV 感染的病原学检测往往是确定诊断和治疗的惟一依据。目前,临床对于 HCV 感染的临床诊断仍以 ELISA 检测抗-HCV 为主,由于其操作简便,不易污染,灵敏度较高,已经大规模应用于血清筛查^[6]。HCV 感染后到抗体转阳的窗口期平均为 70 d,有的患者可延长至 6~9 个月或更长,少数因免疫缺陷或免疫系统发育未成熟而表现为阴性,约 1%~3% 的患者抗-HCV 可持续阴性,而此时血液具有传染性,故采用 ELISA 检测抗-HCV 达不到早期诊断及早期治疗的目的。

人在感染 HCV 1~2 周时血清中即可检测到 HCV RNA,其水平反映病毒的复制与传染性,为病毒血症的标志,是诊断 HCV 的“金标准”。血清 HCV RNA 阳性是 HCV 感染的直接依据,对丙型肝炎的早期诊断具有重要意义。有资料表明,实时荧光定量 PCR 检测 HCV RNA 含量具有较好的敏感度和特异性,快速简便,能够防止污染,适合临床标本的常规检测^[7]。近年来,一种敏感而特异的定量检测 HCV 核心抗原的 ELISA 也有被报道。该检测方法因为在用单克隆抗体检测抗原之前有一免疫复合物的解离步骤而使之比早期的酶联免疫测定方法具有更好的敏感度。研究显示,丙型肝炎患者外周血中 HCV 核心抗原与 HCV RNA 有良好的相关性^[8],是理想的 HCV 感染标志物。

本实验 94 例怀疑 HCV 感染的血清中,HCV RNA 阳性

53 例,HCV 核心抗原同时阳性 45 例,二者阳性符合率为 84.9%,两种方法检测效果差异无统计学意义($P > 0.05$),说明二者有较好的一致性。从表 2 中可以看出,随着 HCV RNA 载量的升高,HCV 核心抗原的阳性率随之增高。HCV 核心抗原也是在 HCV 感染者体内出现的早期感染的标志,几乎与 HCV RNA 同时出现。外周血中 HCV 核心抗原是 HCV 病毒颗粒的结构蛋白,在各亚型 HCV 病毒中高度保守。血清中的 HCV 核心抗原非常稳定,可以在室温条件下稳定存在 7 d,而 HCV RNA 在室温下很容易降解。虽然 HCV RNA 是诊断 HCV 的“金标准”,但该方法在技术和设备上要求较高且费时,因此,在一些实验条件较差的基层医院,可以考虑用 HCV 核心抗原检测来代替 HCV RNA 定量检测。ALT 水平与 HCV 在体内的复制有一定关系,本实验结果显示,ALT 异常率在病毒载量增加时,呈一定程度的递增。本次实验 HCV RNA $< 1\ 000$ copy/mL 时,ALT 浓度也处于较高水平,其原因有待于进一步探讨。

综上所述,HCV RNA 检测和 HCV 核心抗原检测在丙型肝炎的诊断中各有一定的局限性,二者同时检测可以完善其诊断。HCV RNA 是反映体内 HCV 复制的可靠指标,结合 ALT 结果可帮助临床了解 HCV 在体内的复制水平和肝脏的炎性反应状态,以指导临床用药及疗效观察。

参考文献

- [1] 朱丰村. HCV 检测技术的研究进展[J]. 实验与检验医学,2008,26(2):162-165.
- [2] 朱忠政,丛文铭. 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒在肝癌发生中的作用研究进展[J]. 中华肝脏病杂志,2003,11(9):574-576.
- [3] 熊春林,郭满盈,罗媛焯,等. 丙肝抗体阳性者血清中 HCV 抗原的检测[J]. 实验与检验医学,2009,27(3):320.
- [4] 陈建辉,尹建平. HCV RNA 定量检测方法进展[J]. 中国医学检验杂志,2008,9(2):114-116.
- [5] 李晓敏,邹先琼. 丙型肝炎病毒抗体与核心抗原检测的比较研究[J]. 中华实验和临床感染病杂志,2010,4(4):38-39.
- [6] 潘小划,梁结玲,陈健发. ELISA 检测丙型肝炎病毒核心抗原的临床应用价值[J]. 医学临床研究,2009,26(5):912-913.
- [7] Didomenico N, Link H, Knobel R, et al. COBAS AMPLICOR: fully automated RNA and DNA amplification and detection system for routine diagnostic PCR [J]. Clin Chem,1996,42(12):1915-1923.
- [8] Lee SR, Peterson J, Niven P, et al. Efficacy of a hepatitis C virus core antigen enzyme-linked immunosorbent assay for the identification of “window-phase” blood donations [J]. Vox Sang,2001,80(1):19-23.

(收稿日期:2011-06-11)