

丙型肝炎病毒核心抗原检测试剂盒的临床应用评价

陈利明¹, 陈冬梅² (1. 江苏省苏州市吴中人民医院 215128; 2. 江苏省苏州市吴中区妇幼保健所 215128)

【摘要】 目的 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测丙型肝炎病毒核心抗原(HCVcAg)。方法 对苏州市吴中人民医院 2011 年 2 月至 2012 年 2 月的 2 523 份输血、手术前住院患者血清标本进行抗-HCV 初、复检检测。将初、复检均阳性的其中 10 份、仅初检阳性的 15 份和仅复检阳性的 17 份血清标本分别采用 ELISA 检测 HCVcAg 和采用 RT 聚合酶链反应(RT-PCR)检测 HCV。结果 ELISA 检测 HCVcAg 阳性结果为 4 份(40%)。32 份仅初检或复检抗-HCV 阳性标本采用 ELISA 检测 HCVcAg 阳性 6 份,阳性率为 18.75%。采用 RT-PCR 荧光定量检测 HCV 10 份初、复检抗-HCV 均阳性的血清标本结果均为阳性,32 份仅初检或复检抗-HCV 阳性标本采用 RT-PCR 荧光定量检测 HCV 阳性 5 份,阳性率为 15.63%。结论 HCVcAg 的敏感性与 RT-PCR 荧光定量检测 HCV 类似,能对 HCV 的感染作出早期诊断。

【关键词】 丙型肝炎; 丙型肝炎核心抗原; 酶联免疫吸附试验

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.22.010 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)22-2802-02

Clinical detection of hepatitis C core antigen ELISA reagent CHEN Li-ming¹, CHEN Dong-mei² (1. Department of diagnosis, Suzhou Wuzhong People's Hospital, Suzhou, Jiangsu 215128, China; 2. Department of diagnosis, Suzhou Wuzhong Woman and Children's Hospital, Suzhou, Jiangsu 215128, China)

【Abstract】 Objective To detect hepatitis C virus core antigen(HCVcAg) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Methods** 2523 patients' serum samples were selected from before blood transfusion and operation for anti-HCV early re-verification tests from February 2011 to February 2012. 10 samples with being both positive in first test and retest, 15 samples with being positive in first test and 17 samples with being positive in retest were detected by ELISA for HCVcAg and RT-PCR fluorescence quantitative detection for HCV. **Results** Four (4/10) were positive by ELISA. 32 sample with initial inspection or re-examination both positive of anti-HCV positive were tested by ELISA HCV the-cAg, the positive rate was 18.75%. 10 samples with initial inspection or re-examination both positive of HCV were positive by RT-PCR fluorescence quantitative, 32 sample with initial inspection or re-examination both positive of anti-HCV positive were tested by RT-PCR, positive rate was 15.63%. **Conclusion** Of HCV-cAg has sensitivity as testing HCV by RT-PCR fluorescence quantitative, it can make an early diagnosis of HCV infection.

【Key words】 HCV; HCVcAg; enzyme-linked immunosorbent assay

丙型肝炎病毒(HCV)的诊断主要应用抗-HCV 酶联免疫吸附试验(ELISA),由于 HCV 基因重组抗原质量及各抗原片段包被比例的不同,使各试剂间的灵敏度和特异性有一定差异,导致了临床抗-HCV 检测结果的不一致而产生假阳性或漏检等情况。为此,本文对 2 523 份输血、手术前住院患者血清标本采用不同抗-HCV ELISA 试剂进行初检和复检,并对部分初、复检抗-HCV 均阳性或仅初检或复检抗-HCV 阳性血清标本进行了丙型肝炎病毒核心抗原(HCVcAg)和 HCV-RNA 检测,现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 2 523 份血清标本来自本院输血和手术前住院患者。所有标本均经初检和复检 2 次检测,检测阳性的血清标本分管保留置-80℃存放备用。

1.2 质控品 包装为 2 ncu/mL 的抗-HCV 质控血清由卫生部临床检验中心提供(批号 04.12)。

1.3 试剂 抗-HCV ELISA 初检试剂由厦门新创公司提供(批号为 2010095805 和 2011025801),抗-HCV ELISA 复检试剂由北京万泰公司提供(批号为 20101203 和 20110317),山东莱博生物科技有限公司生产的 HCVcAg ELISA(批号为 20110201 和 20111201),采用聚合酶链反应(PCR)检测 HCV,

荧光定量试剂由中山大学达安基因股份有限公司生产(批号为 20110101)。

1.4 主要仪器 深圳华科瑞 HW3096 型洗板机、芬兰 Wellscan MK3 型酶标仪和 PCR 扩增仪(ABI 7000)。

1.5 方法 抗-HCV、HCVcAg 及 HCV RT-PCR 荧光定量的检测按试剂盒提供的操作步骤进行,结果判断严格按说明书要求执行。

1.6 统计学方法 采用四格表进行 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 抗-HCV 结果 检测结果在 2 523 份住院患者的血清标本中,初检和复检均阳性 28 份,仅初检阳性 15 份,仅复检阳性 17 份。初检检出率为 1.70%,复检检出率为 1.78%,初检和复检一致的检出率为 1.11%,总检出率为 2.38%。

2.2 HCVcAg 和 HCV-RNA 的检测结果 见表 1。采用 ELISA 和 PCR 荧光定量技术分别对 15 份仅初检和 17 份仅复检及 10 份初、复检抗-HCV 均阳性的血清标本中 HCVcAg 和 HCV-RNA 进行了测定。结果表明,在初、复检单独阳性的标本中,HCVcAg 和 HCV-RNA 的阳性率差异无统计学意义($P > 0.05$),而在初、复检均阳性的标本中差异有统计学意义

($P < 0.01$)。

表 1 HCVcAg ELISA 和 HCV RT-PCR 荧光定量检测结果

抗-HCV	n	HCVcAg ELISA			HCV RT-PCR 荧光定量法		
		阳性	阴性	阳性率(%)	阳性	阴性	阳性率(%)
初检阳性	15	2	13	13.33	2	13	13.33*
复检阳性	17	4	13	23.53	3	14	17.65*
初、复检均阳性	10	4	6	40.00	10	0	100.00**

注:与 HCVcAg ELISA 相比, * $P > 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

3 讨 论

目前, ELISA 的第 3 代抗-HCV 检测已用于 HCV 的诊断, 由于其包被了 HCV-core、HCV NS3 区、NS4 和 NS5 等基因工程表达抗原, 使特异性和灵敏度达 99%^[1]。但是, 由于 HCV 基因重组抗原的质量和各抗原片段包被比例不同, 使试剂之间的灵敏度和特异性存在一定的差异, 从而导致抗-HCV 结果的不一, 产生漏检和假阳性等情况, 尤其是使用间接酶联免疫法本身可引起少数假阳性^[2]。第 3 代抗-HCV 试剂的启用, 尽管在一定程度上将 HCV 检出的“窗口期”缩短到 50 d 左右, 但漏检现象仍然存在。为了提高检出率和作出早期诊断, 人们一直致力于寻找一种快速、便捷检测 HCV 的诊断方法。

HCV 侵入人体后, 血液中首先出现的是 HCV 抗原, 经过一段时间后才可能产生相应的抗体。Ortho 公司于 2001 年研制出了 HCV 核心抗原检测试剂, 通过大量的临床考核证明 HCVcAg 检出可比抗-HCV 平均约早 23~46 d^[3]。近几年国内外探索采用 HCVcAg 检测丙型肝炎报道较多^[4-7]。本文的初步检测结果显示, 在一种方法检测抗-HCV 阳性标本中, HCVcAg 阳性率分别为 40.00%(4/10)、13.33%(2/15)和 23.53%(4/17), 比文献报道的在抗-HCV 阳性标本中 HCVcAg 阳性率为 7.48%(11/146)和抗-HCV 阴性的高危人群 HCVcAg 阳性率为 7.10%(16/225)明显要高^[5]。这可能与所建立方法的灵敏度有关, 还可能与所检测血清标本的人群有关。

Peterson 等^[8]报道, HCV 感染后 1~13 d, 采用 HCV RT-PCR 即可检测到 HCV-RNA, 2 周后可检出 HCVcAg, 比抗体检出平均约早 30 d^[9]。所以两种方法对 HCV 感染的早期诊

断有类似作用。表 2 的检测结果本文推测是一致的, 即 HCV-cAg 用于 HCV 感染的早期诊断价值更大。

参考文献

- [1] Colin C, Lanoir D, Touzets, et al. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assay; an analysis of the literature [J]. J Viral Hepat, 2001, 8(2): 87-95.
- [2] 谢立, 吴晓东. 丙型肝炎病毒检测方法的研究进展及其临床意义 [J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(7): 884-886.
- [3] Widell A, Molnegren V, Pieksma F, et al. Detection of hepatitis C core antigen in serum or plasma as a marker of hepatitis C viraemia in the serological window phase [J]. Transfusion Med, 2002, 12(2): 107-113.
- [4] 王国华, 张贺秋, 李少波, 等. 丙型肝炎病毒核心抗原检测试剂的研制及初步应用 [J]. 中国输血杂志, 2004, 17(5): 299-301.
- [5] 杨秀华, 黄山, 邓小林, 等. HCV 核心抗原检测技术的临床应用 [J]. 实用医技杂志, 2008, 15(18): 2334-2336.
- [6] 孟淑芳, 李秀华, 尹红章, 等. 丙型肝炎病毒抗原检测方法的建立 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2001, 15(3): 287-290.
- [7] Muerhoff A, Jiang L, Shah D, et al. Detection of HCV core antigen in human serum and plasma with an automated chemiluminescent immunoassay [J]. Transfusion, 2002, 42: 349-356.
- [8] Peterson J, Green G, Iida K, et al. Detection of hepatitis C core antigen in the antibody negative window phase of hepatitis C infection [J]. Vox Sang, 2000, 78(2): 80-86.
- [9] Kurtz JB, Boxll E, Qsir N, et al. The diagnostic significance of an assay total hepatitis C core antigen [J]. J Virol Methods, 2001, 96(2): 1282-1284.

(收稿日期: 2012-06-23)

(上接第 2801 页)

越长, 则重复和缺失的部分越短, 其配子和合子正常发育的可能性越大, 娩出先天性畸形儿的风险越大。本文在 1 300 例不良妊娠史和异常发育史受检者中发现 16 例 inv(9)患者, 检出率达 1.2%, 据报道, 有的 inv(9)检出率达到 1.78%, 均高于健康人群的检出率, 由此提示其在不良孕产史等群体中具有高发率, 原因可能性因为染色体倒位后, 染色体结构重排, 部分基因序列发生了位置改变, 引起不同程度的位置效应。还有报道 9 号染色体的 pler-q12 段为松弛素基因所在, 与妊娠有关, 而且在生育调节中起重要作用, 倒位使松弛素远端发生位置效应, 使松弛素基因作用减弱致生育发生障碍^[5-7]。

因此, 对检出 inv(9)的患者, 如家系中有类似核型且无异常常生育史等表现, 则可认为其为多态性变异, 对以后生育的影响较小, 反之则应加强产前诊断, 防止染色体病患儿的出生。

参考文献

- [1] 夏家辉, 李麓芸. 染色体病 [M]. 北京: 科学出版社, 1989:

273.

- [2] 李琳. 染色体臂间倒位的遗传效应分析 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2007, 8(24): 487-488.
- [3] 张思仲, 周焕庚. 人类染色体结构异常性 [M]. 北京: 科学出版社, 1987: 63.
- [4] 周焕庚, 夏家辉. 人类染色体 [M]. 北京: 科学出版社, 1987: 58.
- [5] 肖晓素, 刘晓翌, 王勇强, 等. 9 号染色体臂间倒位的遗传效应研究 [J]. 国际遗传学杂志, 2006, 29(2): 89-90.
- [6] 李丽莎, 任洪进, 宁郁玲, 等. 138 例染色体多态的细胞遗传学分析及临床表现 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2007, 24(3): 362.
- [7] 孟西娜, 耿金花. 75 例 9 号染色体臂间倒位遗传效应的分析 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(5): 42.

(收稿日期: 2012-06-15)