

2006,86(9):641-644.

[4] Bradford PA. Extended-spectru-mbeta-lactamases in the 21 st century: characterization, epidemiology, and detec-tion of this important resistance threat[J]. Clin Microbiol Rev. 2001,14:933-951.

[5] 彭少华,李从容,蔡璇,等. 产超广谱 β -内酰胺酶肺炎克雷伯菌的随机扩增多态 DNA 分型研究[J]. 中华医院感染学杂志,2002,12(7):494-496.

[6] 管希周,刘又宁,罗燕萍,等. 临床产多种 β -内酰胺酶大肠埃希菌的生物学研究[J]. 中华医院感染学杂志,2005,15(7):819-822.

[7] 邓启文,吴创鸿,杨炯,等. 大肠埃希菌耐喹诺酮类药物回旋酶基因突变的研究[J]. 中华医院感染学杂志,2003,13(1):1-3.

(收稿日期:2010-03-09)

临床研究

输血和手术前患者检测丙型肝炎核心抗体和核心抗原结果分析

郭 华,张 青,高志芬,陈晓玲(成都中医药大学附属医院检验科,成都 610072)

【摘要】 目的 对输血和手术前患者检测丙型肝炎病毒(HCV)及 HCV 核心抗原(HCVcAg)临床价值的分析和评估。**方法** 回顾性分析本院 2008 年 9 月至 2009 年 10 月输血和手术前检测患者 HCV 的结果。**结果** HCV 核心抗体(抗-HCV)和 HCVcAg 检测具有一定的特异性,HCVcAg 阳性率低于抗-HCV,抗-HCV 为 2.0%,HCV-cAg 为 0.6%。两者在检测中均出现了一定量的假阳性,抗-HCV 假阳性率为 16.7%,HCVcAg 为 14.3%。**结论** 抗-HCV 和 HCVcAg ELISA 检测具有较高的敏感性 & 特异性,成本适中,适合大规模筛查和大多数地区医院的常规检查。

【关键词】 丙型肝炎核心抗体; 丙型肝炎核心抗原; 酶联免疫法; 输血; 手术

DIO:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.17.033

中图分类号:R446.6 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2010)17-1855-02

输血及手术前检查丙型肝炎病毒,不仅为受血者治疗丙型肝炎提供了依据,争取了时间,也为区分患者是否为输血及手术后经输血传播丙型肝炎提供临床依据,避免医疗纠纷,有利于医务工作者提高自身保护意识。临床上广泛应用的丙型肝炎病毒(HCV)感染诊断方法主要是检测患者血清 HCV 抗体(抗-HCV),酶联免疫吸附法是临床进行 HCV 诊断的主要方法之一。但在理论上,HCV 感染的早期存在一个“窗口期”^[1],在这一阶段,检测不到抗-HCV,因此在实际工作中,可能存在极少数漏检的问题。检测人血清或血浆样品中 HCV 核心特异性抗原,对丙型肝炎进行早期诊断,可以减少“窗口期”漏检。本研究对 2 012 例拟输血和手术前患者进行抗-HCV 及 HCV 核心抗原(HCVcAg)联合检测,现将检测情况报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2008 年 4 月至 2009 年 3 月本院住院患者输血和手术前检测 HCV 的血清标本 2 012 例。

1.2 试剂 湖南景达生物工程有限公司生产的 HCVcAg 诊断试剂盒(酶联免疫法);上海实业科华公司生产的抗-HCV 诊断试剂盒(酶联免疫法)。

1.3 方法

1.3.1 HCVcAg ELISA 检测的简要步骤 设置空白、阴性、阳性对照各 2 孔。空白对照孔每孔加入 200 μ L 样品稀释液;其他各孔加入 100 μ L 样品稀释液,然后阴性对照孔加入 100 μ L 阴性对照;阳性对照孔加入 100 μ L 阳性对照,其余各孔加入 100 μ L 待测样品;混匀后用不干胶封片封盖反应板,37 $^{\circ}$ C 振荡孵育 90 min。小心弃去孔内液体,拍干,用洗涤液洗板 6 次,然后在吸水纸上拍干。每孔加入 200 μ L 酶结合物,用不干胶封片封盖反应板,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min。弃去孔内液体,拍干,

用洗涤液洗板 6 次,然后在吸水纸上拍干。每孔加入显色剂 A、B 液各 100 μ L,混匀后置 37 $^{\circ}$ C 避光显色 10 min。每孔加入 50 μ L 终止液。反应终止 10 min 以内以酶标仪 450 nm 波长测定各孔 OD 值。临界值(Cut Off)确定:阳性对照每孔 OD>0.6,阴性对照孔 OD<0.1 时,测定结果有效;Cut Off:阴性对照孔平均 OD 值+0.06。结果判定:待检测样品的 OD 值大于临界值,即 S/CO(吸光度值/临界值) $\geq$ 1 判定为 HCV 抗原阳性,检测样品的 OD 值小于临界值判定为 HCVcAg 阴性。

1.3.2 每份血清同时用 ELISA 法检测抗-HCV。所有检测严格按照使用说明书操作。

1.3.3 所有核心抗原和抗体阳性血清进行双孔复检。

2 结 果

作者对 2 012 例标本初次检测出 48 例抗-HCV 阳性样本,和 14 例 HCVcAg 阳性样本(表 1),双孔复检结果见表 2。对本院血样抗-HCV 初测阳性率为 2.4%,复检阳性率为 2.0%。HCVcAg 初测阳性率为 0.7%,复检阳性率为 0.6%。抗-HCV 复检与初测阳性比率为 83.33%;HCVcAg 复检与初测阳性比率为 85.71%。并对 HCVcAg 和抗-HCV 初测 S/CO 值分布规律进行分析,见表 3。分析表明 S/CO 值在 0~0.35 的血清分布最多。并且检测出 2 例抗-HCVcg 阴性而 HCV-cAg 阳性样本。在随后对其中 1 例患者的跟踪调查中,这位患者在 2 个月后的检测中,检测出抗-HCVcAg 阳性。

表 1 168 例抗-HCV 和 HCVcAg 检测结果(n)

检测结果	抗-HCV	HCVcAg
阴性	1 964	1 998
阳性	48	14
合计	2 012	2 012

表 2 168 例抗-HCV 和 HCVcAg 检测复检结果(n)		
项目	抗-HCV	HCVcAg
初检阳性	48	14
复检阳性	40	12
复检初检阳性的比例(%)	83.33	85.71

表 3 抗-HCV 和 HCVcAg S/CO 值范围		
项目	S/CO 值范围	n
抗-HCV	0.00~0.05	167
	0.05~0.10	685
	0.10~0.15	587
	0.15~0.20	226
	0.20~0.25	107
	0.25~0.30	72
	0.30~0.35	48
	0.35~0.40	0
	0.40~0.45	24
	0.45~0.50	12
	0.50~1.00	36
	>1.00	48
HCVcAg	0.00~0.05	132
	0.05~0.10	143
	0.10~0.15	144
	0.15~0.20	138
	0.20~0.25	503
	0.25~0.30	381
	0.30~0.35	161
	0.35~0.40	156
	0.40~0.45	97
	0.45~0.50	48
	0.50~1.00	95
	>1.00	14

3 讨 论

3.1 采用双抗体夹心酶联法原理(ELISA)检测人血清或血浆样品中 HCVcAg^[2],该方法简单,易于操作,可同时处理大量样品。根据表 1、2 所示,本院检出 10 例抗原和抗体同时阳性的血清,与相关的研究一致^[3]。抗-HCV 检测出现了一定的假阳性反应,根据初检和复检的阳性比例及对操作过程分析,结合其他有关资料所发现的 S/CO<3.8 者有较高的假阳性率,以及国内的相同的发现^[4],在本次检测中出现的 8 例假阳性的 S/CO<3.8,作者认为 S/CO 值在 3.8 以内的阳性结果应该进行双孔复检。HCVcAg 初检也出现了 2 例假阳性,S/CO 为 1.37;复检 HCVcAg 阳性的样品 S/CO>8.00,作者认为 HCVcAg 的 S/CO>8.00 才有较好的可信度。根据国内很多报道,抗-HCV 和 HCVcAg 检测存在相当的假阳性^[5],作者建议在实际工作中有条件的单位应该对 HCVcAg 阳性标本进行三孔中和确证试验、重组免疫印迹实验(recombinant immunoblot assay,RIBA)或者 HCV RNA 检测进行确认。

3.2 根据表 3,以及对 HCVcAg 和抗-HCV S/CO 值分布规

律进行分析,HCVcAg 和抗-HCV S/CO 值分布规律差异有统计学意义($P<0.05$),这提示 HCVcAg 检测具有一定的特异性,在一定程度上可以弥补抗-HCV 检测的不足。有研究表明,筛查实验的特异性方面,丙肝抗体酶联免疫检测试剂的特异性并不如想象中的高,许多筛查试验阳性者并无 HCV 感染,为假阳性结果^[5]。通过同时检测 HCVcAg 和抗-HCV,可以提高准确度。在本研究中检出单独游离核心抗原阳性血清 2 例,和国内外的临床研究相比较为一致^[6],在随后的跟踪检测中出现 1 例抗-HCV 阳性,更好地说明了 HCVcAg 检测可以将 HCV 窗口期缩短。对于输血及手术前患者,这既有利于治疗丙型肝炎,也可以更好地为处理医疗纠纷提供法律依据,具有十分重要的意义。

3.3 PCR 检测 HCV RNA 灵敏度高,但影响因素也多,实验室条件要求严格,且检测费用昂贵。据 Aperche 等^[7]报道,HCVcAg 阳性样品 HCV RNA 阳性率为 85%以上,两者同步消长,具有极高的相关性。很多医疗机构由于条件所限,并没有开展 PCR 的检测。抗-HCV 和抗原 ELISA 检测具有较高的敏感性及特异性,同时检测可明显缩短 HCV 感染的窗口期,实验只需 3 h 左右,操作简便,成本较低,适合大规模筛查和大多数地区级医院的常规检查。

参考文献

[1] Legrer TJ,Riggert J,Simson G,et al. Testing of individual blood donations for HCV RNA reduces the residual risk of Transfusion-transmitted HCV infection[J]. Transfusion,2000,40:192-197.

[2] Courouce AM,Le Marrec N,Bouchardeau F,et al. Efficacy of hepatitis C core antigen detection during the pre-seroconversion window [J]. Tranfusion, 2000, 40: 1198-1202.

[3] Lee SR,Peterson J,Niven P,et al. Efficacy of an HCV core antigen ELISA for the identification of “window phase”blood donations[J]. Vox Sang,2001,80(1):19-23.

[4] 谷金莲,祁白柏,王尊文,等. 丙型肝炎病毒抗体试剂检测结果的可信度分析[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(6):580-583.

[5] 邢文革,郑怀竞. 必须提高丙型肝炎病毒实验室检验结果的可信度[J]. 中华肝脏病杂志,2004,12(3):170.

[6] Syria Laperche,Nadine Le Marrec,Nicole Simon,et al. A new HCV core antigen assay based on disassociation of immune complexes:an alternative to molecular biology in the diagnosis of early HCV infection[J]. Transfusion, 2003,43:958-962.

[7] Aperche S,Le Marrec N,Simon N,et al. A new HCV corean antigen assay based on disassociation of immune complexes:an alternative to molecular biology in the diagnosis of early HCV infection[J]. Transfusion, 2003, 43: 958-961.