

丙型肝炎病毒载量与核心抗原及丙氨酸转氨酶检测的比较研究

宁发锦¹, 姜春华², 禩卫年¹ (1. 广西中医学院第一附属医院检验科, 南宁 530021; 2. 广西壮族自治区南宁市第四人民医院肝病科 530023)

【摘要】 目的 研究实时荧光定量 PCR 定量检测丙型肝炎病毒(HCV)RNA 载量与 HCV 核心抗原和丙氨酸氨基转移酶(ALT)检测的相关性及符合性。**方法** 逆转录-PCR 荧光探针法定量检测 94 例怀疑 HCV 感染患者的血清 HCV RNA, 同时用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 HCV 核心抗原, 全自动生化分析仪检测 ALT 水平。**结果** 94 份样本中 HCV RNA 阳性率为 56.4%(53/94), 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), 并随 HCV RNA 载量的升高而增加。**结论** HCV RNA 定量检测及 HCV 核心抗原检测结合 ALT 结果分析有助于临床了解 HCV 在体内的复制水平和肝脏的炎症反应状态, 指导临床用药及观察疗效。

【关键词】 RNA, 病毒; 丙型肝炎抗原; 丙型肝炎; 丙氨酸转氨酶; 聚合酶链反应

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.02.016 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)02-0162-02

Comparative study of quantitative detection of HCV RNA and detection of HCV core antigen and alanine aminotransferase NING Fa-jin¹, JIANG Chun-hua², XUAN Wei-nian¹ (1. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital, Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530023, China; 2. Department of Hepatology, Nanning Fourth People's Hospital, Nanning, Guangxi 530023, China)

【Abstract】 Objective To investigate the relevance and compliance of quantitative detection of HCV RNA by real-time fluorescence PCR and detection of HCV core antigen and alanine aminotransferase. **Methods** HCV RNA, HCV core antigen and ALT in serum of 94 patients with suspected HCV infection were detected separately by RT-PCR fluorescent probe assay, enzyme-linked immunosorbent assay and 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 were no significant statistical difference between the two methods($P>0.05$) and the coincidental rate was 84.9%(45/53). The abnormal rate of ALT was 62.3%(33/53), which was increased with the increase of the content 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 of the body and the inflammatory response status of the liver in order to guide clinical treatment and observation effects.

【Key words】 RNA, viral; Hepatitis C antigens; Hepatitis C; Alanine transaminase; Polymerase chain reaction

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, 有将近一半的人会转变为慢性肝炎^[2], 早期诊断仍是防止 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。目前用于 HCV 感染的主要诊断指标为抗-HCV、HCV RNA 及 HCV 核心抗原, 其中核心抗原检测是最近发展起来的新技术。丙氨酸氨基转移酶(ALT)由肝细胞产生, 肝细胞的受损程度与血清 ALT 水平有直接关系, 它是体现肝细胞损害和坏死的特异性强、敏感度高的指标。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]。本文对 94 例怀疑 HCV 感染患者的血清 HCV RNA、核心抗原及 ALT 进行了检测分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 收集本院 2008 年 12 月 2 日至 2009 年 10 月 31 日 94 例门诊及住院疑为丙型肝炎患者的血清, 年龄 19~81 岁, 平均 45 岁, 其中男 50 例, 女 44 例。

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。

1.2.1 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。

1.2.2 HCV 核心抗原检测 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法, 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。

1.2.3 ALT 检测 试剂和仪器均由贝克曼公司生产, 全自动生化分析仪型号为 LX-20A, 正常值为 ALT<40 U/L。

1.3 统计学处理 数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行处理, 组间比较采用配对四格表 χ^2 检验。

2 结果

2.1 HCV RNA 与 HCV 核心抗原检测结果比较 见表 1。94 份血清标本 HCV RNA 阳性 53 份, 阳性率为 56.4%(53/94); HCV 核心抗原阳性 50 份, 阳性率为 53.2%(50/94); 53 份 HCV RNA 阳性血清中 HCV 核心抗原同时阳性的有 45

份, 二者的阳性符合率为 84.9% (45/53)。经配对四格表 χ^2 检验分析, 两种方法检测结果的阳性率差异无统计学意义 ($\chi^2=0.37, P>0.05$)。

表 1 94 份血清 HCV RNA 与核心抗原检测结果比较

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

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 份 HCV RNA 载量高于 1 000 copy/mL 的病例中 ALT>40 U/L 者 33 例, 其异常的率为 62.3%。ALT 异常率的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

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

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, 目前尚无有效的疫苗预防 HCV 感染及特效的治疗药物。因此, 对健康人群进行筛查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唯一依据。目前, 临床对于 HCV 感染的诊断仍以 ELISA 法检测抗-HCV 为主, 由于其操作简便、不易污染、灵敏度较高, 已经大规模地应用于血清筛查^[5]。HCV 感染后至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, 故使用 ELISA 法检测抗-HCV 达不到早期诊断、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。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, 且快速简便, 能够防止污染, 适合临床标本的常规检测^[6-7]。近来, 一种敏感而特异的定量检测 HCV 核心抗原的 ELISA 方法已有报道。该检测方法由于在用单克隆抗体检测抗原之前采用了免疫复合物的解离步骤, 从而使之比早期的酶

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 份怀疑 HCV 感染的血清中, HCV RNA 阳性 53 份, 核心抗原同时阳性 45 份, 二者阳性符合率为 84.9%, 表明两种方法检测效果无统计学差异 ($P>0.05$), 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标志物, 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, 但是, 其最低检测限却很高。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, 其原因有待进一步探讨。

综上所述, HCV RNA 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, 2 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 检测结果可帮助临床了解 HCV 在体内的复制水平和肝脏的炎症反应状态, 以指导临床用药及观察疗效。

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): 5741.
- [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): 114-120.
- [5] 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.
- [6] Didomenico N, Link H, Konbel R, et al. COBAS AMPLICOR: fully automated RNA and DNA amplification and detection system for routine PCR[J]. Clin Chem, 1996, 42(12): 915-923.
- [7] 许方, 李晓兰, 祝林. 丙肝病毒核心抗原检测对于丙型肝炎诊断的价值[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(5): 713-715.
- [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]. J Vox Sanguinis, 2001, 80(3): 19-23.