

两种方法对丙型肝炎病毒检测的对比研究

周 涛, 邹家裕(广东省云浮市人民医院 527300)

【摘要】 目的 探讨荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)和酶联免疫吸附试验(ELISA)在检测丙型肝炎病毒(HCV)方面的差异。**方法** 60例确诊为丙型肝炎的住院患者样本作观察组,80例健康体检人群样本作健康对照组,应用FQ-PCR和ELISA分别对这两组样本进行HCV-RNA和抗HCV抗体(抗-HCV)检测。**结果** 60例观察组样本中,FQ-PCR和ELISA分别检出阳性54例和49例,阳性率分别为90%和81.67%,80例健康对照组样本中,FQ-PCR和ELISA分别检出阴性80例和77例,阴性率分别为100%和96.25%。**结论** 在检测HCV方面,FQ-PCR比ELISA更具灵敏性和特异性,其结果更加符合患者真实情况,且FQ-PCR检测HCV具有更好的临床应用价值,若两种方法同时使用,则可大大提高临床对丙型肝炎的准确诊断。

【关键词】 荧光定量; 聚合酶链反应; 酶联免疫吸附试验; 丙型肝炎病毒; 对比研究

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.08.019 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)08-0935-02

Comparative study of FQ-PCR and ELISA for testing HCV ZHOU Tao, ZOU Jia-yu (Yunfu Municipal People's Hospital, Yunfu, Guangdong 527300, China)

【Abstract】 **Objective** To discuss the difference of fluorescence quantitative PCR (FQ-PCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in detecting hepatitis C virus (HCV). **Methods** 60 samples from the inpatients with diagnosed HCV as the observation group and 80 samples of healthy people as the control group were detected HCV-RNA and anti-HCV antibody (HCV-antibody) by FQ-PCR method and ELISA method. **Results** Among 60 samples in the observation group, FQ-PCR and ELISA detected 54 and 49 positive cases respectively, the positive rates were 90% and 81.67% respectively. Among 80 samples in the control group, FQ-PCR and ELISA detected 80 and 77 negative cases respectively, the negative rates were 100% and 96.25% respectively. **Conclusion** In the detection of HCV, the FQ-PCR method is more sensitive and specific than ELISA, and the results are more in line with the real situation of the patients. The FQ-PCR method to detect HCV has better value of clinical application. If the two methods are used simultaneously, the accuracy of clinical diagnosis of hepatitis C can be greatly improved.

【Key words】 fluorescence quantitative; PCR; enzyme-linked immunosorbent assay; hepatitis C virus; comparative study

丙型肝炎病毒(HCV)感染严重危害人类的健康,自HCV正式命名以来,即成为病毒性肝炎研究的热点之一。HCV呈全球性分布,我国整体人群的感染率约为3%,而其慢性化率高达85%,其中20%患者易发展为肝硬化,且与肝细胞癌的发生密切相关^[1]。为此,较早检出HCV感染,及时有效地阻断HCV的传播是非常重要的。目前对HCV感染的筛查主要通过检测抗-HCV,血清中的抗-HCV一般在感染7~8周后出现,一部分血液透析的患者和免疫缺陷的患者,感染HCV后并不出现抗-HCV^[2]。本文采用荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)和酶联免疫吸附试验(ELISA)同时检测抗-HCV,并对结果进行比较,以得出检测HCV的更有效方法,现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 样本来源 观察组:60例本院2010年5月至2011年8月已经确诊为丙型肝炎的住院患者样本,确诊依据按照2000年中华医学会传染病及寄生虫病学会和肝病学分会联合修订的诊断标准,年龄20~62岁,平均41岁,其中男41例,女19例;男女之比接近2:1。健康对照组:80例健康体检人群样本,年龄22~58岁,平均40岁,其中男55例,女25例,男女之比接近2:1。按常规抽取观察组和健康对照组血液,分离血清备用。

1.2 仪器 美国PE-5700型PCR扩增仪,RT-2100系列酶标仪和洗板机。

1.3 试剂 FQ-PCR试剂盒为中山医科大学达安基因股份有限公司提供的产品,ELISA试剂采用北京万泰生物药业有限公司的产品,均经国家药检所批检合格,且在有效期内使用。

1.4 方法 应用FQ-PCR和ELISA分别对观察组和健康对照组的样本进行HCV RNA和抗-HCV检测,各实验均严格按试剂说明书操作。

1.5 结果判定 FQ-PCR结果以copy/mL表示(采用求算术平均值的方法计算HCV RNA平均拷贝数,遇有阴性结果,不参加平均值的统计),结果判定:≥80 copy/mL为阳性,<80 copy/mL为阴性。ELISA法通过使用酶标仪检测样本吸光度(A)值,再利用其与Cut-off值比较判读结果,若样本A值大于或等于Cut-off值则判为阳性,否则为阴性。

1.6 统计学处理 例数及百分比用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

60例观察组样本中,FQ-PCR和ELISA分别检出阳性54例和49例,阳性率分别为90.00%和81.67%,有5例观察组样本FQ-PCR检测阳性而ELISA检测阴性;80例健康对照组样本中,FQ-PCR和ELISA分别检出阴性80例和77例,阴性率分别为100.00%和96.25%,有3例健康对照组样本FQ-PCR阴性而ELISA检测为阳性。很明显,FQ-PCR法检测观察组的阳性例数和阳性率均高于ELISA,同时,FQ-PCR检测健康对照组的阴性例数和阴性率均要高于ELISA,见表1。

表 1 两组样本均进行 FQ-PCR 和 ELISA 检测的结果统计对比

方法	观察组(60 例)			健康对照组(80 例)		
	阳性	阴性	阳性率	阳性	阴性	阴性率
	例数	例数	(%)	例数	例数	(%)
FQ-PCR	54	6	90.00	0	80	100.00
ELISA	49	11	81.67	3	77	96.25

3 讨 论

人群中 HCV 感染易于慢性化,并且慢性丙型肝炎患者可能发展为肝硬化,并可能导致肝细胞癌^[3],因此 HCV 感染的早期诊断显得十分必要和迫切。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决策的唯一依据。

传统的 ELISA 测定只能定性,满足临床对单纯阴性、阳性结果的判断。FQ-PCR 技术是一个灵敏度高、特异性强、能进行定量分析的免疫检测技术,对药物疗效和病情监测均具有重要意义^[4]。从以上研究结果也可看出,在检测 HCV 方面,FQ-PCR 比 ELISA 更具灵敏性和特异性,其结果更加符合患者真实情况。但是,本研究结果也显示,观察组中的 60 例样本,有 54 例为 FQ-PCR 检测阳性,有 49 例为 ELISA 检测阳性,两者比较差异无统计学意义($P>0.05$),提示这两种方法对丙型肝炎的诊断均有重要的意义。因此若能联合使用,则可大大提高临床对丙型肝炎的准确诊断。至于 FQ-PCR 阳性而 ELISA 却未检出抗-HCV 阳性的 5 例样本,可能存在 3 个方面原因:(1)检测抗-HCV 反应系统不稳定,或敏感度不高;(2)机体的免疫力低下,感染后抗-HCV 产生水平较低;(3)感染后抗-HCV 产生滞后,早期检测可呈阴性,试剂盒所检测的抗-HCV 在 HCV 感染后出现相对较晚,感染 HCV 后,存在一个血清抗体阴性的病毒血症期,事实上该期间内 HCV 在体内复制活跃,并有较强的传染性^[5];这可能与方法学敏感性、病毒感染所处的临床阶段、基因的突变及抗病毒药物的应用相关^[6]。换言之,临床上这类患者如果仅检测抗-HCV,往往漏诊率高,漏诊不仅在流行病学上产生诸如献血污染等公共卫生安全问题,亦可延

误患者抗病毒治疗的时机。健康对照组的 80 例样本 FQ-PCR 检测均为阴性,而 ELISA 检测为阳性的有 3 例,可能是因为被检标本中某些成分与抗-HCV 发生交叉反应或非特异性吸附时,导致抗-HCV 出现假阳性的现象^[7]。

综上所述,在检测 HCV 方面,FQ-PCR 比 ELISA 更具灵敏性和特异性,FQ-PCR 不仅可以在抗-HCV 转阳前及时发现早期感染者,而且能够明确抗-HCV 阳性的感染者体内 HCV 的复制水平,更好地动态监测 HCV 的感染状况;而 ELISA 具备检测时间较短、成本低的优点。所以若两种方法同时使用,则可大大提高临床对丙型肝炎的准确诊断。

参考文献

- [1] Wang TY, Kuo HT, Chen LC, et al. Use of polymerase chain reaction for early detection and management of hepatitis C virus infection after needle-stick injury [J]. Ann Clin Lab Sci, 2002, 32(2): 137-138.
- [2] Medhi S, Potukuchi SK, Polipalli SK, et al. Diagnostic utility of hepatitis C virus core antigen in hemodialysis patients[J]. Clin Biochem, 2008, 41(7/8): 447-452.
- [3] 康富标, 赵敏. 丙型肝炎抗病毒治疗研究进展[J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14(12): 933-935.
- [4] 周涛, 袁炜华, 朱洁好, 等. 乙肝血清学标志物定量与定性检测的对比研究[J]. 国际医药卫生导报, 2009, 15(22): 84-87.
- [5] 郑怀克. 献血者丙型肝炎病毒“窗口期”感染的筛查技术展望[J]. 中华肝脏病杂志, 2002, 10(2): 159-160.
- [6] 李桂珍, 梅秀珍, 刘兴祥, 等. 丙肝抗-HCV 与 HCV-RNA 定性、荧光定量之间的关系[J]. 江西医学检验, 2003, 21(6): 508.
- [7] 程钢, 何韶韵, 周新宇, 等. 丙型肝炎病毒荧光 PCR 试剂盒的研制与免疫学方法的比较[J]. 中国免疫学杂志, 2002, 18(7): 464-468.

(收稿日期: 2011-11-05)

(上接第 934 页)

2.2 不同性别精神分裂症患者治疗后凝血 4 项指标比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 见表 2。

3 讨 论

3.1 肝脏是凝血因子合成的重要场所。PT 是检测外源性凝血系统最常用的项目, 它反映因子 II、V、VII、X 的含量或有循环抗凝物质存在; APTT 是反映内源性凝血系统最常用和较敏感的筛选试验, 测定因子 VIII、IX、XII 的凝血活性, 也受因子 I、II、V、X 的影响; TT 是反映共同凝血途径的检测项目。FIB 是由肝脏合成的一种糖蛋白, 在凝血过程中具有重要的生理作用, FIB 具有增强细胞间的桥联力和减少细胞表面负电荷的作用, 其含量降低是反映严重肝损害患者的蛋白和生物酶合成下降凝血功能障碍的较敏感指标, 当严重肝损害时其含量明显降低^[3]。因此, 凝血 4 项检测可作为评估肝功能损害的严重性和预后的重要指标, 对精神分裂症患者的临床监测及估计预后有一定的参考价值^[4]。本文资料显示, 精神分裂症患者长期使用抗精神病药物后, 会导致其血浆 PT、APTT 和 TT 的延长以及 FIB 的减少^[5]。对于不同性别的精神分裂症患者在长期使用抗精神病药物后进行比较分析, 凝血水平无明显差别。

3.2 精神分裂症患者一般需长期治疗, 目前临床上常用的抗精神病药物对肝脏均有损害, 重者可引起药物性肝炎甚至肝硬化。如何治疗和缓解患者的临床症状, 又能减少抗精神病药物对患者造成的损害, 是每位临床医师必须考虑的。本文资料显

示, 长期使用抗精神病药物会导致精神分裂症患者存在不同程度的肝损害, 从而引起患者血浆凝血水平的异常。因此, 在临床治疗上, 临床医师可将凝血 4 项指标作为监测精神分裂症患者肝功能的指标之一, 以预防和减少早期药物使用对患者肝脏的损害, 有利于患者的治愈和康复。同时在临床用药的安全性方面也值得临床医师的高度重视^[6]。

参考文献

- [1] 王淑娟. 关于选择血栓前状态实验诊断指标的建议[J]. 中华医学检验杂志, 1998, 21(5): 305-307.
- [2] 中华医学会精神科分会. 中国精神障碍分类与诊断标准 (CCMD-3)[M]. 3 版. 济南: 山东科学技术出版社, 2001: 75-79.
- [3] 储海燕, 王鸿利. 病毒性肝炎患者凝血纤溶系统的研究[J]. 血栓与止血杂志, 2001, 7(2): 62.
- [4] 刘芳桃. 重症肝病凝血指标和血小板参数观察的临床价值[J]. 中国医药指南, 2011, 9(6): 83-84.
- [5] 韦桂兰. 102 例精神病患者凝血指标检测分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(19): 2103-2104.
- [6] 陈勇, 聂小旭. 喹硫平与氯氮平治疗精神分裂症的对照研究[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(16): 1684-1685.

(收稿日期: 2011-11-04)