

抗-HCV 结果分析及灰区范围设置的探讨

闵少菊¹, 刘 念¹, 赵 强², 谭玉洁^{1,3△} (1. 贵州医科大学附属白云医院检验科, 贵阳 550014; 2. 贵州省临床检验中心, 贵阳 550002; 3. 贵州医科大学附属医院, 贵阳 550001)

【摘要】 目的 分析酶联免疫吸附试验(ELISA)筛查丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)结果,探讨实验室 ELISA 中灰区范围设置的必要性。**方法** 回顾性分析 34 942 例患者抗-HCV 筛查结果,比较抗-HCV 与 HCV-RNA 及临床确诊丙型肝炎患者间的关系;以初筛 S/CO 值在 0.4~2.0 范围内的标本为灰区样本,进行不同厂家试剂复检及 HCV-RNA 检测,探讨设置抗-HCV 检测灰区范围的必要性。**结果** 抗-HCV 筛查阳性率 0.61%;31~50 岁阳性率最高;男性高于女性,两者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。S/CO ≥ 10 时抗-HCV 与 HCV-RNA 检测结果符合程度高,S/CO ≥ 3.8 时抗-HCV 与临床确诊丙型肝炎符合程度高。灰区样本的阳性率 0.38%,双试剂双孔复检后阳性率 0.20%和 0.05%。**结论** 抗-HCV 筛查阳性率在不同地域、性别及年龄段存在差异;S/CO 值越大,HCV-RNA 阳性率越高,与临床丙型肝炎的确诊符合程度越高,而抗-HCV 筛查落在灰区范围的样本应复检并检测 RNA,以减少实验室漏检或假阳性结果的产生。

【关键词】 酶联免疫吸附试验; 丙型肝炎病毒抗体; 灰区范围; 实时荧光定量聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.09.022 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)09-1211-03

Analysis HCV antibody test and explore the necessity of setting gray zone range MIN Shao-ju¹, LIU Nian¹, ZHAO Qiang², TAN Yu-jie^{1,3△} (1. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Baiyun Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550014, China; 2. Guizhou Provincial Center For Clinical Laboratory, Guiyang, Guizhou 550002, China; 3. The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550001, China)

【Abstract】 Objective Analyse the results of hepatitis C virus antibody(HCV-Ab)screening by ELISA, and discuss the necessity of setting gray zone range of ELISA. **Methods** A retrospective analysis was made on HCV-Ab screening results of 34 942 cases, and then compared the relationship between HCV-Ab and HCV-RNA, clinical confirmed hepatitis C. Finally, in order to explore the necessity of setting laboratory gray zone range by ELISA, we collected the samples whose S/CO value was in the range of 0.4 to 2.0, retested by different manufacturers reagents and detected its HCV-RNA. **Results** HCV-Ab positive screening rate was 0.61% and the highest rate was in the group of 31 to 50 years old; the rate of men was higher than women's and the difference was statistically significant($P<0.05$). When the sample's S/CO ≥ 10.0 , there was high degree of compliance between HCV-Ab and HCV-RNA detection, simultaneously; the same results arose between HCV-Ab and clinical confirmed hepatitis C when the sample's S/CO ≥ 3.8 . Gray zone sample detection rate was 0.38%, and the retested rate was still 0.20% and 0.05% by two reagents and double holes detection. **Conclusion** In different regions, gender and age, there are differences HCV-Ab positive screening rate; when they use ELISA method to test sample's S/CO value is greater, the detection rate of HCV-RNA is higher, HCV-Ab positive result and clinical confirmed hepatitis C are more conform. When the samples of HCV-Ab screening result falls in the gray zone range, we should retest them and detect their RNA, in order to reduce laboratory missed or false positive generation.

【Key words】 ELISA; hepatitis C virus antibodies; gray zone; real-time PCR

丙型肝炎病毒(HCV)经血液传播感染人体后引起丙型肝炎,中国为丙型肝炎中度流行国家。目前,HCV 感染筛查首选指标为酶联免疫吸附试验(ELISA)检测丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV),同时,HCV-RNA 的检测可进一步提示 HCV 的存在和复制情况。通过回顾性分析贵州医科大学附属白云医院抗-HCV 初筛结果,分析本地区人群 HCV 感染情况,抗-HCV、HCV-RNA 检测结果和丙型肝炎临床确诊的关系。通过进一步分析在灰区范围的检测结果,探讨检测抗-HCV 灰区范围设置的必要性,以期临床丙型肝炎的诊疗提供更准确、

可靠的实验室依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2011 年 7 月至 2014 年 12 月贵州医科大学附属白云医院门诊及住院患者 34 942 例,其中男 18 978 例,女 15 964 例;年龄 1~86 岁,平均年龄 46.7 岁;患者血清进行抗-HCV 筛查。收集 2014 年 4~12 月 10 660 例中,经 ELISA 初筛抗-HCV 后,S/CO 值落在灰区范围 0.4~2.0 的 41 例患者血清^[1-2]。

1.2 仪器与试剂 第 3 代 HCV-ELISA 试剂盒购自英科新创

和北京万泰科技有限公司;核酸提取试剂盒、HCV 阳性定量参考品试剂盒及 HCV-RNA 检测试剂盒(PCR-荧光探针法)购自中山大学达安基因股份有限公司。ST360 酶标仪及 ST36W 洗板机购自上海科华实验系统有限公司;ABI7500 荧光定量 PCR 仪购自美国 ABI 公司。BSC1500 II B2-X 生物安全柜购自济南鑫贝西生物技术有限公司。

1.3 方法 抽取患者静脉血 4 mL,分离血清后新创试剂 ELISA 初筛抗-HCV,S/CO 值落在 0.4~2.0 内的患者血清再以新创和万泰试剂复检。同时,分离血清-80℃冻存储备用,Real-time PCR 检测 HCV-RNA,各项检测均严格按照试剂盒说明书操作。每批次检测均进行室内质量控制,每年均参加卫生部临床检验中心室间质量评价。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抗-HCV ELISA 初筛结果分析

2.1.1 抗-HCV 筛查阳性率为 0.61%,男性和女性阳性率分别为 0.78%和 0.41%,两者比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。31~50 岁人群抗-HCV 阳性率最高达 62.20%,见图 1。

表 1 不同性别间抗-HCV ELISA 初筛阳性率

性别	HCV-ELISA 阳性[n(%)]	χ^2	P
男(n=18 978)	148(0.78)	—	—
女(n=15 964)	66(0.41)	—	—
总计(n=34 942)	214(0.61)	19.125	0.000

注:—表示无数据。

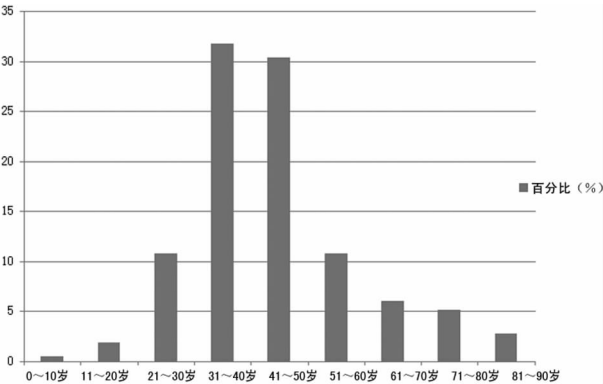


图 1 各年龄段抗-HCV ELISA 初筛阳性率分布图

2.1.2 抗-HCV 阳性样本经 HCV-RNA 检测阳性率为 69.44%,根据 Moretti 等^[3]的方法将其分为 3 组:1≤S/CO<10、10≤S/CO<15 和 S/CO≥15,各组 RNA 检测阳性率依次为 7.14%、60.00%及 79.78%,统计分析显示 1≤S/CO<10 与其他 2 组比较阳性率差异有统计学意义($P<0.05$),其余各组比较阳性率差异无统计学意义($P>0.05$),说明 S/CO≥10 时,抗-HCV 和 HCV-RNA 检出符合度较高,见表 2。

表 2 108 例抗-HCV 与 HCV-RNA 检测结果

分组	S/CO	RNA 阳性(n)	RNA 阴性(n)
a 组	1≤S/CO<10	1	13
b 组	10≤S/CO<15	3	2
c 组	S/CO≥15	71	18

注:a 组与 b 组比较, $\chi^2=4.500,P=0.037$;b 组与 c 组比较, $\chi^2=0.240,P=0.624$;a 组与 c 组比较, $\chi^2=26.979,P=0$ 。

2.1.3 抗-HCV 阳性样本与丙型肝炎临床确诊符合率为 52.80%^[4],将其分为 3 组:1≤S/CO<3.8、3.8≤S/CO<15 和 S/CO≥15,各组符合率依次为 16.00%、43.33%及 60.38%,统计分析显示 1≤S/CO<3.8 与其他 2 组比较阳性率差异有统计学意义($P<0.05$),其余各组比较阳性率差异无统计学意义($P>0.05$),说明 S/CO≥3.8 时,抗-HCV 和临床确诊丙型肝炎符合度较高,见表 3。

表 3 214 例抗-HCV 与临床确诊患者结果比较

分组	S/CO	丙型肝炎(n)	非丙型肝炎(n)
a 组	1≤S/CO<3.8	4	21
b 组	3.8≤S/CO<15	13	17
c 组	S/CO≥1	96	63

注:a 组与 b 组比较, $\chi^2=4.771,P=0.029$;b 组与 c 组比较, $\chi^2=3.003,P=0.083$;a 组与 c 组比较, $\chi^2=17.147,P=0$ 。

2.1.4 侵入性检查前抗-HCV 阳性率为 0.51%,输血及手术前抗-HCV 阳性率为 0.64%,两者阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 4 侵入性检查前、输血及手术前抗-HCV 筛查阳性率[n(%)]

组别	HCV-ELISA 阳性
侵入性检查前(n=6 445)	33(0.51)
输血及手术前(n=28 497)	181(0.64)
总计(n=34 942)	214(0.61)

注: $\chi^2=1.309,P=0.253$ 。

2.2 灰区范围设置必要性探讨 抗-HCV 灰区样本(S/CO 为 0.4~2.0)阳性率为 0.38%(41/10 660);上述两种试剂双孔复查后 S/CO 仍落在 0.4~2.0 的抗体阳性率分别为 0.20%(21/10 660)和 0.05%(5/10 660),经 HCV-RNA 检测后为阴性。

3 讨论

丙型肝炎是由 HCV 所引起的 1 种危害严重的传染病,世界卫生组织统计,全球丙型肝炎流行率平均 3.00%^[4]。本院 34 942 例患者抗-HCV 筛查阳性率为 0.61%,与叶震璇等^[5]报道的 0.76%相近,但低于武海波等^[6]报道的我国各地平均阳性率 3.20%,猜测其可能与抗-HCV 试剂盒特异性提高、血站和医院加强 HCV 筛查力度及医疗器械严格消毒等有关。同时,31~50 岁人群阳性率高达 62.20%,男性明显高于女性,与文献报道相符^[5,7-8]。

HCV-RNA 在抗-HCV 阳性样本中阳性率为 69.44%,与周永香^[9]报道的阳性率为 60.00%相近。以 S/CO 值不同将抗-HCV 与 HCV-RNA 分组比较,结果显示仅 1≤S/CO<10 与其他 2 组比较阳性率差异有统计学意义($P<0.05$)。提示 S/CO≥10 时,抗-HCV 与 HCV-RNA 阳性率符合程度较高。而 HCV 的间歇性复制特性、RNA 酶的降解作用及疾病恢复期的单纯抗-HCV 阳性等因素,均可导致抗-HCV 阳性而 HCV-RNA 为阴性。

214 例抗-HCV 阳性患者中临床确诊丙型肝炎 113 例,符合率为 52.80%。以 S/CO 值不同将抗-HCV 与临床确诊丙型肝炎分组比较,仅 1≤S/CO<3.8 与其他 2 组比较阳性率差异有统计学意义($P<0.05$),提示 S/CO≥3.8 时,抗-HCV 和临床确诊丙型肝炎符合度较高。美国疾病预防控制中心曾对抗-HCV 检测 ELISA 试剂盒研究,发现筛查检测为反应性样本,

S/CO $\geq$ 3.8 才有 95.00% 以上是真阳性, S/CO $<$ 3.8 者则有较高的假阳性率, 国内也有相同的发现^[10]。

本院的侵入性检查前与手术、输血前抗-HCV 阳性率分别为 0.51% 和 0.64%, 两者比较差异无统计学意义($P>0.05$), 因此, 侵入性检查前应对患者进行抗-HCV 筛查, 既可明确患者检查前的状况, 又可减少医源性感染, 有效预防医疗纠纷的发生。

本文对 41 例处于灰区范围内的样本进行复检, 仍有部分样本落在灰区范围内, 说明实验室对于灰区范围内样本进行不同厂家试剂双孔复检是必要的, 同时, 可排除因初筛试验操作而非样本原因造成的灰区结果, 减少患者进一步检测造成的资源浪费^[1]。因 ELISA 操作过程中影响因素较多, 对复检后仍处于灰区的样本应选择灵敏度和特异性更高的试验方法再次复检。本次复检后 5 例样本进行 HCV-RNA 检测均为阴性, 但根据国内外研究报道^[2,11], 灰区样本应严格处理, 降低阳性漏检。关于如何设置合理的灰区范围, 还需要扩大标本量, 规范所有操作流程并做进一步研究。

由此可见, ELISA 检测抗-HCV 的 S/CO 值越大, HCV-RNA 阳性率越高, 与临床丙型肝炎的确诊符合程度越高。提示参考 ELISA 检测抗-HCV 的 S/CO 值, 并结合患者流行病学史、临床表现, 可更快、更准确地诊断丙型肝炎。对筛查结果为灰区的样本应严格处理, 为临床诊断丙型肝炎提供准确、真实的实验室结果。

参考文献

[1] 毛瑞, 李晓娟, 贾明华. 西藏自治区血液中心筛查实验室 ELISA 检测方法“灰区范围”的探讨与灰区结果原因的分析[J]. 医学信息, 2012, 25(12): 224-225.

(上接第 1210 页)

治疗首先解除胆管梗阻, 若存在梗阻, 在积极对症、支持疗法的基础上, 待患者的急性症状缓解后应积极采取手术, 防止 AP 局部并发症的发生。引入病因与局部并发症相关性的概念, 有助于临床医师提高对不同病因类型 AP 早期治疗方案的制订, 加强监测并采取积极措施以逆转病情。

参考文献

[1] 王兴鹏, 李兆申, 袁耀宗, 等. 中国急性胰腺炎诊治指南 (2013, 上海)[J]. 中国实用内科杂志, 2013, 33(7): 530-535.

[2] 马晓莺. 生长抑素治疗急性胰腺炎 90 例患者的应用分析[J]. 当代医学, 2013, 19(32): 84-85.

[3] Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, et al. Classification of acute pancreatitis——2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus[J]. Acute Disease, 2013, 62(1): 102-111.

[4] 李道伟, 何丹, 董齐. 急性胰腺炎胰周积液与临床严重程度及预后相关性[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2012, 10(1): 54-56.

[5] Lankisch PG, Mahlke R, Blum T, et al. Hemoconcentra-

[2] 蔡澍, 罗均. RT-PCR 对 ELISA 试剂检测抗-HCV 灰带区血样的分析[J]. 广州医药, 2004, 35(1): 64-65.

[3] Moretti M, Pieretti B, Masucci A, et al. Role of signal-to-cutoff ratios in hepatitis C virus antibody detection[J]. Clinical and Vaccine Immunology, 2012, 9(8): 1329-1331.

[4] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病学杂志, 2001, 19(1): 56-62.

[5] 叶震璇, 李红梅, 刘强, 等. 贵州 81 005 例就诊患者丙型肝炎感染情况调查研究[J]. 健康必读, 2012, 11(4): 51-52.

[6] 武海波, 周紫霄, 黄奕祥. 2004~2011 年中国丙型病毒性肝炎流行病学特征分析[J]. 现代预防医学, 2015, 42(7): 1173-1175.

[7] 陈佳. 3 762 例住院患者丙型肝炎病毒抗体阳性率统计分析[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(6): 736.

[8] 吴莉红. 某院 2009~2011 年临床患者丙肝抗体检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(16): 1956-1957.

[9] 周永香. 丙型肝炎病毒抗体与丙型肝炎病毒核糖核酸的关系[J]. 医学理论与实践, 2003, 16(8): 890-891.

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

[11] Contreras AM, Tornero-Romo CM, Toribio JG, et al. Very low hepatitis C antibody levels predict false-positive results and avoid supplemental testing[J]. Transfusion, 2008, 48(12): 2540-2548.

(收稿日期: 2015-10-25 修回日期: 2015-12-28)

tion; an early marker of severe and/or necrotizing pancreatitis?a critical appraisal[J]. The American Journal of Gastroenterology, 2001, 96(7): 2081-2085.

[6] 李昂, 李非. 近年急性胰腺炎发病的病因学分析[J]. 实用医学杂志, 2006, 22(8): 918-919.

[7] Bai Y, Liu Y, Jia L, et al. Severe acute pancreatitis in China: etiology and mortality in 1976 patients[J]. Pancreas, 2007, 35(3): 232-237.

[8] Terayama T, Hifumi T, Kiriu N, et al. A minimally invasive multiple percutaneous drainage technique for acute necrotizing pancreatitis[J]. World J Emerg Med, 2014, 5(4): 310-312.

[9] Fu QY, Ma L, Yang ZB, et al. Multiple organ dysfunction caused by parathyroid adenoma-induced primary hyperparathyroidism[J]. Niger J Clin Pract, 2014, 17(1): 122-124.

[10] Testoni PA. Acute recurrent pancreatitis: Etiopathogenesis, diagnosis and treatment[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(45): 16891-16901.

(收稿日期: 2015-10-25 修回日期: 2015-12-20)