

HCV-RNA 与 HCV-Ab, HCV-cAg 相关性分析研究*

李 娅¹, 张 贇¹, 皇 海², 章 迪³, 苏明权², 郭旭昌¹

(1. 西安市第四医院检验科, 西安 710004;

2. 第四军医大学西京医院全军检验医学研究所, 西安 710032; 3. 西安市中心血站, 西安 710061)

摘要:目的 探讨丙型肝炎患者中 HCV-RNA 与 HCV-Ab, HCV-cAg 三种检测指标的相关性和临床应用效果。方法 采用酶联免疫法分别检测实时荧光定量 PCR 法检测阳性的 140 例 HCV 患者血清中的 HCV-Ab 和 HCV-cAg, 以了解检测结果及符合率。结果 在 140 例 HCV-RNA 阳性血清中, HCV-cAg 阳性 127 例, 符合率 90.71%; HCV-Ab 阳性 110 例, 符合率 78.57%; 对不同 HCV-RNA 浓度的血清进行 HCV-cAg 检测结果其阳性检出率随着 HCV 病毒含量的升高而增高; 不同 HCV-RNA 浓度的血清进行 HCV-Ab 检测结果无明显变化。结论 通过对 HCV-RNA 阳性患者中 HCV-cAg 和 HCV-Ab 的检测观察分析, HCV-cAg 检测与 HCV-RNA 的检测结果具有较高的符合率。因此 HCV-cAg 检测可作为 HCV-Ab 的补充检测, 为 HCV“窗口期”感染以及免疫低下人群感染的筛查提供简便、廉价方法; 同时为不具备 HCV-RNA 检测条件的基层医疗单位, 作为 HCV 感染的快速筛查提供诊断依据。

关键词:丙型肝炎病毒; 丙型肝炎核酸; 丙型肝炎病毒核心抗原; 丙型肝炎病毒抗体

中图分类号: R512.63; R392.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2016)05-120-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.05.034

Correlation Analysis of HCV-RNA, HCV-Ab and HCV-cAg

LI Ya¹, ZHANG Yun¹, HUANG Hai², ZHANG Di³, SU Ming-quan², GUO Xu-chang¹

(1. Department of Clinical Laboratory, the Fourth Hospital of Xi'an, Xi'an 710004, China;

2. Research Institute of Clinical Laboratory Medicine of PLA, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 3. Blood Center of Xi'an, Xi'an 710061, China)

Abstract: **Objective** To investigate the correlation of HCV-RNA with detection indexes HCV-Ab and HCV-cAg in its clinical application effect among patients with hepatitis C. **Methods** HCV-cAg and HCV-Ab in 140 cases of HCV-RNA were detected by enzyme linked immunosorbent assay in cases of PCR, which were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. **Results** 127 cases in 140 cases of HCV-RNA positive serum were HCV-cAg positive, in line with the rate of 90.71%, and the cases of 110 HCV-Ab positive, in line with the rate of 78.57%. The positive detection rate of HCV-cAg with different HCV-RNA concentration was increased with the increase of HCV virus content, and the serum of different HCV-RNA concentration had no significant changes in HCV-Ab detection results. **Conclusion** The detection results of HCV-cAg had a high coincidence rate with HCV-RNA. Therefore detection of HCV-cAg can be as a complementary detection of HCV-Ab, as the window period of HCV infection and infection in immunocompromised persons screening provides a simple, inexpensive method. At the same time it provides rapid screening for HCV infection provide diagnostic basis for those basic medical units who do not have the conditions for detection of HCV-RNA.

Keyword: hepatitis C virus; HCV-RNA; HCV-cAg; HCV-Ab

丙型肝炎病毒是一种由丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 感染引起的病毒性肝炎, 主要经输血、针刺、吸毒等血液途径传播。据世界卫生组织统计, 全球有 1.3 亿~1.5 亿人患有慢性丙肝感染, 每年新发丙型肝炎病毒病例约 3.5 万例^[1,2]。每年约有 50 万人死于与丙肝相关的肝脏疾病。丙型肝炎呈全球性流行, 可导致肝脏慢性炎症坏死和纤维化, 大量慢性感染者会出现肝硬化或者肝癌。丙型肝炎病毒抗体和 RNA 检测是临床和输血 HCV 感染诊断或筛查的主要指标, 而 HCV 核心抗原 (HCV-cAg) 作为近年来一种新的

丙型肝炎病毒抗原检测方法在临床的应用, 进一步扩大了检测范围, 缩短了窗口期, 有利于早期诊断^[3]。本文对 140 例 HCV-RNA 阳性患者血清, 采用 ELISA 法分别进行丙型肝炎病毒抗原、抗体的检测并进行符合率相关性分析, 进一步探讨 HCV 检测指标的临床应用价值。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2014 年 5 月~2015 年 6 月期间在西安市第四医院和西京医院门诊和住院的 HCV 感染患者, 经 HCV-RNA 检测为阳性的 140 份标本 (HCV 病毒载量在 $10^3 \sim 10^8$ IU/ml 之间),

* 作者简介: 李 娅 (1980-), 女, 硕士研究生, 主管检验师, 研究方向: 分子生物学, Tel: 029-87480873, E-mail: yaya50211cm@sina.com。

其中,男性 86 例,女性 54 例,年龄在 15~50 岁之间。分离血清置-80℃冰箱保存备用。

1.2 试剂和仪器 抗-HCV 抗体试剂为厦门新创公司产品;HCV-cAg ELISA 试剂为湖南康润药业有限公司产品;HCV-RNA 荧光定量试剂为广州中山达安基因股份公司产品;ABI7500 型实时荧光定量 PCR 仪为美国 ABI 公司产品;BIO-RAD Mode680 型酶标仪为美国伯乐公司产品。

1.3 方法

1.3.1 HCV 核心抗原检测:采用酶联免疫法检测血清中的 HCV-cAg,具体操作严格按照试剂盒说明书进行。结果判定,以 BIO-RAD Mode680 酶标仪 450 nm 波长测定各孔的 A 值,临界值(CUT OFF)确定:阳性对照每孔 $A > 0.6$,阴性对照每孔 $A < 0.1$ 时,测定结果有效,其临界值(CUT OFF)为阴性对照平均 $A + 0.06$ (阴性对照 $A \leq 0.06$ 时按 0.06 计算);待测样品的 $A \geq$ 临界值(CUT OFF)判定为 HCV-cAg 阳性,待测样品的 $A <$ 临界值(CUT OFF)判定为 HCV-cAg 阴性。

1.3.2 抗-HCV 抗体检测:采用间接 ELISA 方法检测血清中 HCV-Ab,具体操作严格按照试剂盒说明书进行。结果判定,以 BIO-RAD Mode680 酶标仪 450 nm 波长测定各孔 A 值,临界值(CO) = 阴性对照均值 $\times 2.8$,样品 $A/CO \geq 1$ 为阳性,样品 $A/CO < 1$ 为阴性。

1.3.3 HCV-RNA 定量检测:采用广州中山大学达安基因股份有限公司提供的 HCV 核酸扩增荧光定量检测试剂盒,具体操作严格按照试剂盒说明书进行,利用美国 ABI 公司 7500 实时 PCR 分析系统进行定量分析,定量测定范围为 $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^8$ IU/ml,检出限度为 1.0×10^3 IU/ml, $< 10^3$ IU/ml 判定为 HCV-RNA 阴性。采用 χ^2 检验。组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 HCV-cAg, HCV-Ab 检测结果与 HCV-RNA 阳性结果的符合率 在 140 例 HCV-RNA 阳性患者血清中,HCV-cAg 阳性率为 90.71% (127/140); HCV-Ab 阳性率为 78.57% (110/140)。HCV-cAg 与 HCV RNA 符合率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 HCV-RNA 浓度与 HCV-cAg 检测结果的相关性 见表 1。对 140 例丙型肝炎患者血清中不同 HCV-RNA 浓度的血清进行 HCV-cAg 检测结果发现,HCV-cAg 阳性检出率,随着 HCV 病毒含量的升高而增高($P < 0.05$)。

2.3 HCV-RNA 浓度与 HCV-Ab 结果的相关性 见表 2。对 140 例丙型肝炎患者血清中不同

HCV-RNA 浓度的血清进行 HCV-Ab 检测,结果无明显变化($P > 0.05$)。

表 1 HCV-RNA 阳性浓度与 HCV-cAg 检测结果

HCV-RNA 浓度(IU/ml)	n	HCV-cAg 阳性数	阳性率(%)
10^3	30	23	76.67
$10^3 \sim 10^4$	37	34	91.89
$10^5 \sim 10^6$	32	30	93.75
$10^7 \sim 10^8$	26	25	96.15
$> 10^8$	15	15	100.00

表 2 HCV-RNA 浓度与 HCV-Ab 检测结果

HCV-RNA 浓度(IU/ml)	n	HCV-Ab 阳性数	阳性率(%)
10^3	30	18	60.00
$10^3 \sim 10^4$	37	29	78.38
$10^5 \sim 10^6$	32	28	87.50
$10^7 \sim 10^8$	26	23	88.46
$> 10^8$	15	12	80.00

3 讨论 丙型肝炎是由丙型肝炎病毒(HCV)感染引起的一种重要的世界性传染病,人体感染丙型肝炎病毒后。有将近一半的患者会转变为慢性肝炎。导致肝癌的比例也超过了其它型肝炎。目前,抗-HCV 抗体检测和 HCV-RNA 检测仍是丙型肝炎筛查和疾病诊断的主要指标。抗-HCV 抗体存在“窗口期”长,约为 50 天左右,仍有漏检现象,因此抗-HCV 抗体检测不能及时反映 HCV 感染的早期发生;HCV-RNA 被视为 HCV 病毒复制的直接标志,可以缩短感染后血清阳转前的检测窗口期,以实现 HCV 感染的早期诊断,但定量 PCR 法检测的影响因素较多,在样本收集、储存和检测方面都有严格的要求,而且要求昂贵精密的仪器、试剂也比较昂贵,又容易出现交叉污染导致假阳性结果,使得定量 PCR 技术的推广受到了极大的限制^[4,5]。HCV 核心抗原是近年来发展的一种用于 HCV 早期检测的指标,根据 HCV 核心区全序列抗原不同区段的多株单克隆抗体细胞,制备抗 HCV 核心抗体,而建立的酶联免疫方法,可快速的检测患者血清中的 HCV-cAg,为临床应用提供极大方便,是 HCV 感染的早期感染的标志,研究证实几乎与 HCV-RNA 同时出现^[6]。

本研究通过对 140 例 HCV-RNA 阳性患者血清中 HCV-cAg 和 HCV-Ab 进行检测分析,结果显示 HCV-cAg 与 HCV-RNA 的阳性符合率为 90.71%,而 HCV-Ab 与 HCV-RNA 的阳性符合率为 78.57%;进而对丙型肝炎患者血清中不同 HCV-RNA 浓度的血清 HCV-cAg 和 HCV-Ab 检测结果分析发现,HCV-cAg 阳性检出率随着

HCV病毒载量的升高而增高,与HCV-RNA病毒载量呈正相关($P < 0.05$);而HCV-Ab阳性检出率无明显的变化,与HCV-RNA的浓度无关($P > 0.05$)。

HCV-cAg检测方法与基于RT-PCR的HCV-RNA检测方法一致性较好,而HCV-cAg在方法学上与HCV-RNA相比,具有方法简便、快速、价廉,所需设备简单,易于普及应用等优点,因此HCV-cAg检测可作为筛查HCV“窗口期”感染、严重低免疫状态人群感染的简便、廉价方法,在不具备HCV-RNA检测条件的基层医疗单位作为HCV感染检测的直接证据具有重要的意义。

参考文献:

- [1] 许方,李晓兰,祝琳.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.
Xu, Li XL, Zhu L. Diagnostic value of HCV core antigen in the hepatitis C[J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnostics, 2010, 14(5): 713-715.
- [2] 张瑞,李金明.丙型肝炎病毒感染临床检测程序的建立及结果报告与解释[J].中华检验医学杂志,

2010,33(10):990-992.

Zhang R, Li JM. Laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2010, 33(10): 990-992.

- [3] 李蓉.丙肝抗HCV检测与荧光定量PCR HCV-RNA检测结果对比分析[J].临床医学杂志,2015,35(5):110-111.
Li R. Anti HCV HCV detection with fluorescence quantitative PCR, comparative analysis of the results of HCV-RNA[J]. Journal of Clinical Medicine, 2015, 35(5): 110-111.
- [4] 曹军皓,黄前川.丙肝病毒核心总抗原定量检测的临床应用[J].现代检验医学杂志,2014,29(2):108-109,114.
Cao JH, Huang QC. Clinical application and evaluation of hepatitis C virus core antigen quantitative assays[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(2): 108-109, 114.
- [5] Bostan N, Mahmood T. An overview about hepatitis C: A devastating virus[J]. Crit Rev Microbiol, 2010, 36(2): 91-133.
- [6] Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus[J]. Clin Microbiol Infect, 2011, 17(2): 107-115.

收稿日期:2016-05-11

修回日期:2016-06-26

(上接119页)而B组和C组分别与对照组比较差异均有统计学意义($t = 15.25 \sim 22.78$, 均 $P < 0.05$)。病例组(A+B+C组)间两两比较差异有统计学意义($t = 13.45 \sim 24.25$, 均 $P < 0.05$)。

2.3 病例组(A+B+C)血清RBP水平和AnnexinA2基因表达的相关性分析 所有DN(A+B+C)患者RBP水平与AnnexinA2基因表达程度之间存在正相关($r = 0.95$, $P < 0.01$)。

3 讨论 糖尿病肾病患者初期临床症状很不典型,常规的肾功能检测不能反映患者肾脏的受累程度,一旦患者尿微量清蛋白出现并急剧升高,预示肾脏损害程度加重,故尽早发现糖尿病微血管病变是治疗此类疾患的关键。在急性肾小球损伤和慢性肾衰竭患者中,RBP水平早于肌酐在血液中浓集。本研究结果充分显示,在糖尿病无肾损伤组(A组)和早期糖尿病肾损伤组(B组)肾功能(BUN,Scr和UA)水平无差别,而B组RBP水平已明显比A组升高,预示患者肾脏早期受累正逐渐加重,此时临床医生应对患者加以针对性治疗,这将极大延缓患者肾脏代谢负荷加重,并可早期诊治DN。

AnnexinA2基因是近年来发现的与膜转运和细胞骨架重塑相关的因子,其在代谢性疾病发生中的作用机制是研究的焦点^[2]。有报道其对内皮细胞流动性改变最大的是糖尿病视网膜眼底微血管病变和新生微血管的形成^[3]。本研究发现DN(A

+B+C)组随着肾脏损伤程度加重AnnexinA2基因表达水平逐渐升高,即C组>B组>A组,预示患者肾脏微血管损害逐渐加重。另外在糖尿病肾损伤组AnnexinA2基因表达与RBP水平有很好的相关性,这些也印证AnnexinA2基因和RBP是糖尿病早期肾病微血管病变的敏感指标。

总之,通过检测患者血清中AnnexinA2基因表达和RBP水平变化,可提早发现糖尿病患者的肾脏损伤程度,且其水平随糖尿病肾病早期病情的严重程度加大而逐渐升高,应引起临床医生和实验室操作人员的高度重视。

参考文献:

- [1] 马建伟,张蕾,孟凡荣,等.糖尿病肾病患者血清中Ang-1,Ang-2,AnnexinA2基因表达水平及意义[J].中国中西医结合肾病杂志,2015,16(12):1075-1078.
Ma JW, Zhang L, Meng FR, et al. Study on the expression level of Ang-1, Ang-2, annexinA2 gene in the diabetic nephropathy[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Nephrology, 2015, 16(12): 1075-1078.
- [2] Ferguson MA, Waikar SS. Established and emerging markers of kidney function[J]. Clin Chem, 2012, 58(4): 680-689.
- [3] Mortimer JC, Laohavisit A, Macpherson N, et al. Annexins: multifunctional components of growth and adaptation[J]. J Exp Bot, 2008, 59(3): 533-544.

收稿日期:2016-05-02

修回日期:2016-08-07