

• 短篇论著 •

化学发光免疫分析检测抗-HCV 抗体与 HCV-RNA 的关联研究

刘义庆¹,邹建文¹,田文君¹,刘春梅¹,王盛华¹,王 勇¹,赵跃然²,张炳昌^{1△}

(山东大学附属省立医院:1. 检验科;2. 中心实验室,山东济南 250021)

摘要:目的 分析实时荧光定量 PCR 检测 HCV-RNA 载量与化学发光免疫分析(CLIA)检测抗-HCV 抗体的相关性。方法 抽取 CLIA 法抗-HCV 检测有反应性标本 587 例,采用实时荧光定量 PCR 进一步检测 HCV-RNA。结果 荧光定量 PCR 检测 HCV-RNA,阴性 225 例,阳性 362 例,阳性率为 61.67%,且阳性标本比例与 CLIA 法 S/CO 比值呈正相关。结论 HCV-RNA 阳性率与 CLIA 法 S/CO 比值呈正相关,可根据 S/CO 比值预测 HCV-RNA 结果。

关键词:肝炎抗体,丙型; 化学发光测定法; 聚合酶链反应**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.13.036**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2014)13-1749-02

Association between HCV-RNA and chemiluminescence immunoassay for detecting anti-HCV antibody

Liu Yiqing¹, Zou Jianwen¹, Tian Wenjun¹, Liu Chunmei¹,Wang Shenghua¹, Wang Yong¹, Zhao Yueran², Zhang Bingchang^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Central Laboratory, Shandong Provincial Hospital

Affiliated to Shandong University, Jinan, Shandong 250021, China)

Abstract: Objective To analyze the correlation of real-time fluorescent quantitation PCR (FQ-PCR) for detecting HCV-RNA loading and the chemiluminescence immunoassay (CLIA) for detecting anti-HCV antibody. **Methods** 587 samples of anti-HCV antibody positive detected by CLIA were further detected HCV-RNA by FQ-PCR. **Results** Among 587 samples of anti-HCV antibody positive by the CLIA screening, 225 samples were HCV-RNA negative and 362 samples were HCV-RNA positive detected by FQ-PCR, and the positive rate was 61.67%, moreover, which was positively correlated with the S/CO ratio detected by CLIA. **Conclusion** The positive rate of HCV-RNA is positively correlated with the S/CO ratio detected by CLIA. The result of HCV-RNA can be predicted according to the S/CO ratio.

Key words: hepatitis C antibodies; chemiluminescent measurements; polymerase chain reaction

HCV 感染是一个世界性的健康问题,主要通过血液系统传播。WHO 估计全世界 HCV 感染率约为 3.0%,大约有 1.7 亿人被感染^[1],预计我国 HCV 感染者约 4 000 万至 6 000 万人^[2]。HCV 感染者中有 60%~80% 可发展为慢性持续性感染,30%~60% 的慢性感染者治疗后不能获得持续免疫应答将是肝硬化、肝癌的高发人群^[3]。临幊上常通过检测抗-HCV 抗体判断是否为 HCV 感染,但由于抗-HCV 抗体产生后可长期存在,抗-HCV 抗体阳性只能说明患者曾感染过丙型肝炎或是 HCV 慢性感染。HCV-RNA 检测可反映患者体内有无病毒复制,已成为诊断 HCV 感染的“金标准”,可以作为临幊选择抗病毒治疗和监测疗效的依据^[4]。在本文中,采用实时荧光定量 PCR 方法检测了 CLIA 法抗-HCV 抗体有反应性的标本,分析了 HCV-RNA 载量和抗-HCV 抗体的关联,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 9 月至 2013 年 9 月山东省立医院门诊及住院患者,抽取 587 例 CLIA 法检测抗-HCV 抗体阳性且未经任何抗病毒治疗的标本,其中男 310 例,女 277 例,年龄 0~93 岁,平均 (44.93 ± 17.97) 岁。无菌采集外周静脉血 8 mL,其中 EDTA-K₂ 抗凝血 5 mL,在收集后 2 h 内,室温下 800~1 600 g 离心 20 min 从全血中分离血浆,将血浆转移到无菌离心管中,−70 ℃ 保存留做 HCV-RNA 检测。

1.2 方法

1.2.1 CLIA 法检测抗-HCV 抗体 采用强生 VITROS 3600 全自动免疫分析仪进行检测,方法为增强化学发光免疫,使用强生配套试剂和质控品。结果判断:S/CO ≥ 1.0 为有反应性,存在抗-HCV 抗体。仪器操作及维护均按仪器说明书进行,检

测当日质控均在控。

1.2.2 HCV-RNA 检测 采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(FQ-RT-PCR)技术,HCV-RNA 定量检测试剂盒由罗氏诊断产品有限公司(上海)提供,仪器为 COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan48。由基因扩增实验室工作人员严格按照说明书操作,每次实验中均设置临界阳性、强阳性对照和质控, HCV-RNA 检测的线性反应范围为 43~6.9 × 10⁷ IU/mL, 检测下限为 15 IU/mL。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 21.0 软件对实验数据进行统计分析处理,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 荧光定量 PCR 检测结果及男女比较 587 例 CLIA 法抗-HCV 抗体检测有反应性的标本中,共检测 HCV-RNA 阳性(P)为 362 例,阴性(N)225 例,阳性率为 61.67% (362/587),其中男 310 例,阳性率 65.48% (203/310),女 160 例、阳性率为 57.40% (159/277),男女之间的 HCV-RNA 阳性率比较差异有统计学意义,男性高于女性 ($\chi^2 = 4.043$, $P < 0.05$),见表 1。

2.2 CLIA 法抗-HCV 抗体有反应性样本不同 S/CO 比值区间与 HCV-RNA 结果的比较 CLIA 法检测抗-HCV 抗体初筛实验 S/CO 比值分在 1.01~10.00、10.01~20.00、20.01~30.00 > 30.0 区间时,HCV-RNA 阳性例数分别为 2(1.19%)、15(34.88%)、165(87.30%)、180(96.26%)。抗-HCV 抗体的 S/CO 不同区间的 HCV-RNA 阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 420.177$, $P < 0.01$), HCV-RNA 阳性率随着 CLIA 法筛选阳性

的 S/CO 值的增加而增加,见表 2。

表 1 HCV-RNA 阳性率男女比较(*n*)

性别	HCV-RNA		
	P	N	总计
男	203	107	310
女	159	118	277
总计	362	325	687

表 2 CLIA 法抗-HCV 有反应性样本不同 S/CO 比值区间与 HCV-RNA 结果比较

S/CO 值分布	样本数量(<i>n</i>)	样本比例(%)	N[<i>n</i> (%)]	P[<i>n</i> (%)]
1.01~10.00	168	28.62	166(98.81)	2(1.19)
10.01~20.00	43	7.33	28(65.12)	15(34.88)
20.01~30.00	189	32.19	24(12.70)	165(87.30)
30.0~	187	31.86	7(3.74)	180(96.26)
合计	587	100.00	225(38.68)	362(61.67)

3 讨 论

中国 HCV 的感染率约为 3.2%^[5], HCV 感染后可导致肝脏慢性炎症和纤维化^[6], 甚至可发展为肝硬化、肝细胞癌。HCV 感染已经成为严重威胁人类健康的世界公共卫生问题。目前对于 HCV 感染的临床诊断仍以检测抗-HCV 抗体为主, CLIA 法因其灵敏度高、操作简单、重复性好等优点近年来已经成为国内外各大型医院检测抗-HCV 抗体的主要检测方法^[7-9]。但抗-HCV 抗体不是保护性抗体, 其阳性仅表示患者既往感染或现症感染。HCV-RNA 在 HCV 感染后第 1 周即可从血液或肝组织中用 RT-PCR 检测到, 是 HCV 现症感染的重要指标, 但由于该技术要求较高, 容易交叉污染, 且价格昂贵, 不宜用于医院常规筛查。

本文采用实时荧光定量 PCR 检测 CLIA 法检测有反应性的 587 例标本中的 HCV-RNA, 362 例检测为阳性, 占 61.67% (362/587), 225 例检测为阴性, 占 38.68% (225/587)。HCV-RNA 阳性率高于廖峭等^[10]研究的 605 例 ELISA 抗-HCV 抗体阳性标本中 HCV-RNA 阳性率 55.70%, 这可能与本文选择的均为未经抗病毒治疗的标本有关。男女之间 HCV-RNA 载量男性高于女性, 这与文献[10-12]报道一致。

本文研究发现 HCV-RNA 阳性的比例随着 CLIA 法抗-HCV 抗体筛查阳性的 S/CO 值的升高而增加。CLIA 法抗-HCV 抗体 $1.01 < S/CO \leq 10.00$ 区间中 HCV-RNA 阳性的 2 例标本, 1 例抗-HCV 抗体 S/CO 值为 3.13, HCV-RNA 为 18

(上接第 1735 页)

- 培养连续检测对菌血症的诊断价值[J]. 临床误诊误治, 2011, 24(1): 78-80.
- [4] 童海明. 血清降钙素原联合血培养对 ICU 患者菌血症的早期诊断价值[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(3): 321-322.
- [5] Ghorhani G. Procalcitonin role in differential diagnosis of infection stages and non infection inflammation[J]. Pak J Biol Sci, 2009, 12(3): 393-396.
- [6] 张智洁, 刘勇, 孙继梅, 等. 头孢他啶影响大鼠降钙素原产生机制的初步研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(2): 129-133.
- [7] 马超, 赵春玉, 王元祥, 等. 牛磺酸对婴幼儿体外循环术下血浆降钙素原的影响及意义[J]. 中国当代医药, 2010, 17(1): 9-13.

IU/mL, ALT 52 U/L; 1 例抗-HCV 抗体 S/CO 值为 3.79, HCV-RNA 为 1.78×10^6 IU/mL, ALT 196 U/L; 该 2 例标本 ALT 均升高。 $20.01 < S/CO \leq 30.00$ 的 HCV-RNA 阳性的比例为 87.30%, $S/CO > 30.00$ 的 HCV-RNA 阳性的比例高达 96.26%。对抗-HCV 抗体筛查呈反应性的标本, 目前国内大多医院没有开展确证试验便报告阳性结果, 常引起不必要的纠纷。笔者建议 CLIA 法抗-HCV 抗体 $S/CO > 20.01$ 者, 直接检测 HCV-RNA, 检测是否有病毒复制及决定是否进行抗病毒治疗。而 $S/CO \leq 20.0$ 者, 有输血、手术、吸毒等高危情况的患者或有肝功异常的患者建议进一步检测 HCV-RNA, 而无输血、手术、吸毒等高危情况且肝功正常的患者建议定期观察和随访即可。根据 CLIA 法筛查抗-HCV 抗体结果的 S/CO 值预测 HCV-RNA 结果对临床医生给患者合理解释结果和进一步的检查建议有重要的指导意义。

参考文献

- [1] Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection[J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(17): 2436-2441.
- [2] 李瑞兰, 李忠平, 樊忠杰, 等. HCV 抗体检测临界值附近样本传播 HCV 风险的研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2013, 27(1): 64-66.
- [3] 冯颖. 干扰素联合利巴韦林治疗不同基因型慢性丙型肝炎患者的疗效[J]. 中国医药, 2013, 8(8): 1124-1125.
- [4] 杨东亮. 丙型肝炎的病毒检测指标及其临床意义[J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(2): 104-106.
- [5] 黄秀琼, 吴英. 110 例丙肝患者 HCV-RNA 载量及抗-HCV 与肝功能指标的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(15): 1809-1810.
- [6] 邱秀霞, 陆伟, 左苗, 等. 慢性丙型肝炎合并肝脂肪变相关因素探讨[J]. 中国医药, 2012, 7(4): 431-433.
- [7] 汤巧, 吴文静, 夏永祥. 化学发光法和酶联免疫吸附法检测丙型肝炎病毒抗体的比较分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(8): 834-835.
- [8] 姚仁南, 陈复兴, 陈玲, 等. 化学发光免疫分析法检测献血者 HCV 抗体的应用评价[J]. 中华全科医学, 2011, 9(3): 450-453.
- [9] 刘佳, 陈霖, 郭静霞, 等. 临床实验室仪器间比对实验探讨[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2013, 27(1): 64-66.
- [10] 廖峭, 许茹, 王敏, 等. 广州无偿献血人群中丙型肝炎抗体阳性者 HCV 基因型与病毒载量的关系[J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(3): 242-245.
- [11] 王海燕. 肾脏病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 1083.
- [12] 李君玲. 尿毒症维持性血液透析患者丙型肝炎病毒标志物检测分析[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2008, 29(23): 2844-2845.

(收稿日期: 2013-12-08)

- [8] 胡可, 刘文恩, 梁湘辉, 等. 降钙素原在细菌感染中临床应用的研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(1): 30-32.
- [9] Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation: a harmful biomarker and a therapeutic target [J]. Br J Pharmacol, 2010, 159(2): 253-264.
- [10] Ghorhani G. Procalcitonin role in differential diagnosis of infection stages and non infection inflammation[J]. Pak J Biol Sci, 2009, 12(3): 393-396.
- [11] 黄伟平, 黄澄温, 妙云, 等. 脓毒性休克患者降钙素原的变化规律及其与预后的关系[J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25(4): 467-470.

(收稿日期: 2014-02-11)