

HCV 抗体、HCV 核心抗原和 HCV RNA 测定的比较研究

陈晶¹ 雷杰² 印晓静¹ 姚家奎^{1*}

(1.江苏省苏北人民医院医学检验科 江苏扬州 225000; 2.江苏省苏北人民医院病理科 江苏扬州 225000)

摘要: 目的: 评价丙型肝炎病毒抗体 (Hepatitis C virus antibody, HCV Ab)、HCV 核心抗原 (HCV core antigen, HCV cAg) 和 HCV RNA 对 HCV 感染的临床应用价值。方法: 双抗原夹心法检测 HCV Ab; 双抗体夹心法检测 HCV cAg; 实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 检测 HCV RNA。测定 HCV Ab 阳性标本的 HCV RNA 表达水平, 随机选取 89 名患者测定血清 HCV cAg 水平, 分析 HCV RNA 阳性病例中病毒核酸载量与感染者临床参数的相关性。结果: 132 例 HCV Ab 阳性标本中, HCV RNA 阳性检出率为 46.97%; 41 例 HCV RNA 阳性标本中, HCV cAg 阳性检出率为 41.46%, 且随着病毒核酸载量增加阳性率逐渐增强; 单因素及相关性分析结果显示, HCV RNA 表达水平高低与 HCV 感染者基本临床信息 (性别、年龄) 和感染后引起的临床症状无明显相关性 ($P>0.05$)。结论 HCV RNA 是实验室判断 HCV 感染和监测抗病毒治疗疗效的最可靠指标; HCV Ab 作为 HCV 感染的筛查试剂, 具有操作性强、重复性高等特点; 血清中 HCV cAg 滴度与 HCV RNA 的拷贝数呈正相关, 可作为早期评估病毒复制的重要指标。HCV Ab、HCV cAg 和 HCV RNA 三者联合检测能有效降低 HCV 感染的漏检率, 值得临床推广应用。

关键词: HCV; HCV Ab; HCV cAg; HCV RNA

丙型肝炎病毒 (Hepatitis C virus, HCV) 是一类主要以肝脏为靶细胞、有包膜的单股正链 RNA 病毒, 具有显著异源性和高度可变性[1]。HCV 主要通过血液传播、性传播和母婴传播引起人类丙型肝炎。据流行病学资料统计, 全球超过 1.85 亿人感染 HCV, 每年约 35 万名患者死于 HCV 感染[2]。在我国, 丙型肝炎的患病率为 1%, HCV 携带群体排在世界首位[3, 4]。在 80% 的感染病例中, HCV 能够逃避机体固有免疫和适应性免疫, 导致肝脏慢性炎症; 若不及时行正规治疗, 5-30 年时间内, 20% 患者将发展为肝硬化, 1%-4% 患者可进展为肝细胞癌[5]。尽管直接作用抗病毒药物、宿主靶向药物和针对 HCV 不同基因型药物的联合治疗策略实施, 彻底根除 HCV 仍然难以实现。因而, 早期筛查高危人群, 确诊后积极干预, 对降低 HCV 感染、延缓疾病进展尤为重要。目前, 诊断是否存在 HCV 感染主要包括两个步骤: 1. 筛查暴露人群 HCV 抗体 (HCV antibody, HCV Ab) 和 HCV 核心抗原 (HCV core antigen, HCV cAg) 水平; 2. 对 HCV Ab 或 HCV cAg 阳性患者进行病毒核酸 (HCV RNA) 测定, 确认病毒是否复制活跃。研究报道, 当 HCV RNA >3000 IU/ml 时, HCV cAg 与 HCV RNA 含量呈显著正相关, 具有高灵敏度和高特异性, 有望代替 HCV RNA 成为 HCV 高发地区的新兴检测手段。本研究旨在对实验室 HCV Ab、HCV cAg 和 HCV RNA 三种检测方法进行比较, 分析 HCV RNA 阳性病例临床参数的相关性, 探讨不同检测手段对 HCV 感染的临床应用价值。

1. 资料与方法

1.1 一般资料

对 2020 年 1 月至 2021 年 5 月在我院就诊并测定 HCV Ab 的患者进行研究。纳入标准: 有完整的临床资料, HCV Ab 测定为阳性; 排除标准: 患有精神类疾病、依从性差、处于妊娠期/哺乳期, 以及不愿接受本研究者。所有 132 名纳入对象均知情同意, 其中, 男性 55 例, 年龄 27~83 岁; 女性 77 例, 年龄 18~81 岁。所有患者均进行 HCV RNA 测定, 随机选取 89 名患者血清检测 HCV cAg 水平。

本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂

HCV Ab: 丙型肝炎病毒抗体检测试剂盒 (化学发光法) (科美, 博阳生物); 仪器: LiCA500 全自动光激化学发光检测仪;

HCV RNA: 核酸提取试剂 (Liferiver, 之江生物)、丙型肝炎病毒核酸定量测定试剂盒 (荧光 PCR 法) (Liferiver, 之江生物); 仪器: 核酸自动提取仪 EX3600、QuantStudio DX 实时荧光定量 PCR 仪;

HCV cAg: 丙型肝炎病毒核心抗原检测试剂盒 (化学发光法) (LAIBO BIO, 莱博生物); 仪器: Addcare CLIA200 全自动化学发光免疫分析仪。

所有试剂均在有效期内, 所有试验操作和检测结果判定均严格按照试剂盒说明书进行, 阳性者二次复检。

1.3 方法与结果判定

S: 待测样本光信号值, CO 参考样品光信号值 (Cutoff 值)

HCV Ab: 双抗原夹心法。阴性对照 S/CO 应 ≤ 0.6 , 阳性对照 S/CO 应 ≥ 4 ; 阴性: 待测样本 S/CO < 1 , 阳性: S/CO ≥ 1 。

HCV cAg: 双抗体夹心法。阴性: 待测样本 S/CO < 1 , 阳性: S/CO ≥ 1 , 若待测样本 $1 \leq S/CO < 35$ 时, 应进行复孔检验; 若两个孔 S/CO 均 < 1 , 则判定为阴性, 否则为阳性。

HCV RNA: RT-qPCR。阴性对照 FAM 通道结果栏 < 250 , 且 VIC 通道 Ct 值应 ≤ 35 , 临界阳性对照 FAM 通道结果栏 5×10^3 IU/ml $\sim 5 \times 10^4$ IU/ml 范围内, 标准曲线相关系数应 ≤ -0.98 , 否则试验无效; 阴性: 待测样本 FAM 通道结果栏 < 250 , 且 VIC 通道 Ct 值 ≤ 35 , 阳性: 待测样本 FAM 通道结果栏 $< 10^3$ IU/ml, 定量检测结果仅供参考, 待测样本 FAM 通道结果栏在 $\geq 10^3$ IU/ml 范围内, 可直接报告定量检测结果; 当待测样本 FAM 通道和 VIC 通道结果栏均 < 250 , 需重复试验, 若结果不变, 说明样本中存在 PCR 反应抑制物, 应用其他提取方法重复确认。

1.4 统计学处理

采用 SPSS22 软件处理分析数据及临床资料, 卡方检验进行多样本的单因素分析, Spearman 相关分析判断检测结果的相关性。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2. 结果

2.1 132 例 HCV Ab 阳性血清 HCV RNA 检测结果

对所有纳入研究的 132 例 HCV Ab 阳性标本进行 HCV RNA 的测定。结果显示, HCV RNA 阳性血清有 62 例 (阳性率 46.97%),

阴性血清 70 例 (阴性率 53.03%)。

2.2 HCV cAg、HCV Ab 和 HCV RNA 检测结果比较 (表 1)

表 1. HCV cAg 与 HCV Ab、HCV RNA 的测定结果比较

	n	HCV cAg	
		(-)	(+)
HCVAb (+)	89	72 (80.90%)	17 (19.10%)
HCV RNA (+)	41	24 (58.54%)	17 (41.46%)

*所有病例的原始检测结果见补充材料

2.3 HCV RNA 阳性病例中,不同核酸载量血清 HCV cAg 阳性情况比较 (表 2)

表 2.不同 HCV RNA 载量血清 HCV cAg 阳性率 (%)

HCV RNA (IU/ml)	n	HCV cAg (+)
10 ³ -10 ⁴	0	0
10 ⁴ -10 ⁵	5	0
10 ⁵ -10 ⁶	16	3 (18.75)
10 ⁶ -10 ⁷	18	12 (66.67)
>10 ⁷	2	2 (100)

2.4 HCV RNA 阳性病例临床参数的相关性分析

HCV 是导致肝脏和肝外疾病的主要罪魁祸首之一,其慢性感染可视为系统性 HCV 病。HCV 感染的肝外表现主要涉及肾脏、心脏、皮肤、血液系统、内分泌系统、免疫系统和其他等等。本研究 62 例 HCV RNA 阳性病例的中位年龄为 63 岁,其中 34 名患者因肝内症状就诊,28 名患者因肝外表现就诊。根据 HCV RNA 表达量 log 中位数值 5.8048,将患者分成高/低水平组,分析 HCV RNA 的表达与患者临床参数的相关性 (表 3)。

结果显示,阳性病例 HCV RNA 表达水平高低与患者的性别、年龄以及 HCV 感染后引起的临床症状无明显相关性 (P>0.05)。

表 3. HCV RNA 阳性病例的临床信息分析

Characteristics	n	HCV RNA		Pvalue
		low	high	
Total	62	31	31	
Gender				0.799
male	29	15	14	
female	33	16	17	
Age (years)				0.799
≤63	26	13	13	
>63	36	18	18	
Clinical manifestation				0.610
Hepatic	34	18	16	
Extrahepatic	28	13	15	
diabetesmellitus	8	2	6	
renal damage	4	4	0	
skeletal	2	0	2	
cardiac	2	0	2	
hemopathy	2	1	1	

immunopathy	1	1	0
Inflammatory and others	9	5	4

3. 讨论

HCV 是黄病毒科的单股正链 RNA 嗜肝病毒,基因组具有高度的遗传异质性,不易制成疫苗,在预防接种上存在较大困难。目前,丙型肝炎的诊断包括确认是否感染 HCV 和评估肝脏受损程度。研究证明,人体感染 HCV 后还能够引起一系列肝外表现,包括 a.血液系统:混合型冷球蛋白血症、B 细胞来源非霍奇金淋巴瘤; b.肾脏:冷球蛋白血症性肾病、膜性肾病; c.内分泌系统:甲状腺功能紊乱 (甲亢/甲减、桥本甲状腺炎)、2 型糖尿病; d.免疫系统:干燥综合征、类风湿关节炎; e.皮肤:迟发性皮肤卟啉症、扁平苔藓; f.其他:慢性多发性关节炎、肥厚性/扩张性心脏病等。因此,进行易感人群的早期筛查、多学科联合鉴别诊断原发/继发病因,对降低 HCV 感染的漏诊和误诊率是十分必要的。

本文对比 HCV Ab、HCV cAg 和 HCV RNA 的测定结果,发现 132 例 HCV Ab 阳性标本中有 70 例 HCV RNA 阴性,这些阴性病例的影像学及肝功能指标正常,推测受试者可能为既往感染。41 例 HCV RNA 阳性病例中有 17 例 HCV cAg 阳性,阳性率约 41.46%;随着血清 HCV RNA 载量递增,HCV cAg 的阳性率逐渐增强,证实两者之间呈正相关关系;后期若增加纳入样本的数量,提高 HCV cAg 试剂的灵敏度,有望提高早期 HCV 感染病例的检出率。同时,本文对确诊的 HCV 感染者进行临床参数的相关性分析,发现病毒核酸拷贝数的高低与患者的性别、年龄、临床症状无明显相关性,提示血清 HCV RNA 水平定量测定不能帮助确定肝病的严重程度。

4. 结论

综上所述,HCV RNA 是判断 HCV 感染和抗病毒治疗疗效监测的重要手段,HCVAb 和 HCV cAg 阴性不能排除是否存在 HCV 感染;三者联合检测可相互补充,对丙型肝炎的诊断、治疗和预后评估有重要作用。在临床诊疗过程中,医务人员应根据实验室现有的开展项目,联合多种检测方法,结合病史、患者症状及其他实验室指标和影像学检查综合判断。

参考文献:

- [1]Pietschmann, T. and R.J.P. Brown, Hepatitis C Virus. Trends Microbiol, 2019. 27(4): p. 379-380.
- [2]Mohd Hanafiah, K., et al., Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. Hepatology, 2013. 57(4): p. 1333-42.
- [3]Cui, Y. and J. Jia, Update on epidemiology of hepatitis B and C in China. J Gastroenterol Hepatol, 2013. 28 Suppl 1: p. 7-10.
- [4]Chen, Y., et al., Hepatitis C virus genotypes and subtypes circulating in Mainland China. Emerg Microbes Infect, 2017. 6(11): p. e95.
- [5]Ashraf, M.U., et al., Evolution of efficacious pangentypic hepatitis C virus therapies. Med Res Rev, 2019. 39(3): p. 1091-1136.

项目名称: 结直肠癌相关生物标志物及潜在作用机制研究 苏北人民医院资助项目 项目编号: SBKY21011