

## 慢性丙型肝炎患者血清中 HCV 核心抗原的定性检测

欧阳奕<sup>1</sup>, 谭德明<sup>1,\*</sup>, 李铁刚<sup>1</sup>, 周 辉<sup>2</sup>, 谭 畅<sup>2</sup>

(中南大学湘雅医院 1. 感染病科; 2. 检验科, 长沙 410008)

**[摘要]** 目的:应用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)定性检测血清中丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)核心抗原,分析和评价 HCV 核心抗原检测的临床价值。方法:应用 ELISA 方法定性检测慢性丙型肝炎患者 149 份血清中的 HCV 核心抗原,以健康人血清 20 份,慢性乙型肝炎患者血清 20 份作为对照,以证明方法的特异性;并同时应用 RT-PCR 和 ELISA 方法分别检测血清中的 HCV RNA 和抗 HCV。结果:健康人血清和慢性乙型肝炎患者血清 HCV 核心抗原定性检测均呈阴性反应,检测值(OD 值)分别为  $0.022 \pm 0.017$ ,  $0.001 \pm 0.012$ ; 149 份慢性丙型肝炎患者血清 HCV 核心抗原阳性者 74 例,阳性率 49.66%,阳性检测值(OD 值)为  $0.534 \pm 0.457$ ,与阴性检测值比较其差异有统计学意义。HCV RNA 和 HCV 核心抗原检测有 54.36% 的符合率,两种检测方法之间检测的差异性无统计学意义( $P > 0.05$ )。149 份抗 HCV 阳性血清中 HCV RNA 阳性率为 55.03% (82/149), HCV 核心抗原阳性率为 49.66% (74/149),两者比较无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论:HCV 核心抗原定性检测特异性强,慢性丙型肝炎患者血清中阳性率为 49.66%,与 HCV RNA 有一定的相关性,可能也是反映 HCV 病毒血症的血清学标志。与 HCV RNA 同时检测,可提高对慢性丙型肝炎患者的病毒血症和病毒复制诊断率,但其检测的灵敏性还有待进一步提高。

**[关键词]** HCV 核心抗原; HCV RNA; 抗 HCV

**[中图分类号]** R512.62 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-7347(2006)06-0894-03

## Qualitative detection of hepatitis C virus core antigen in the serum in patients with chronic hepatitis C

OUYANG Yi<sup>1</sup>, TAN De-ming<sup>1,\*</sup>, LI Tie-gang<sup>1</sup>, ZHOU Hui<sup>2</sup>, TAN Chang<sup>2</sup>

(1. Department of Infectious Disease; 2. Department of Clinical Laboratory, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the clinical significance of serum hepatitis C virus (HCV) core antigen detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Methods** The serum HCV core antigen, which was taken from 149 patients with chronic hepatitis C, 20 patients of chronic hepatitis B and 20 health volunteers, was detected by ELISA. Meanwhile, the serum HCV RNA was detected by RT-PCR, and anti-HCV was detected by ELISA. **Results** The qualitative HCV core antigen in the serum, which was taken from 20 patients of chronic hepatitis B and 20 health volunteers, was negative. The positive percentage of HCV core antigen was 49.66% in the 149 sera of patients with chronic hepatitis C. The coincidence of detective results of HCV RNA and HCV core antigen was 54.36%, without significant difference ( $P > 0.05$ ). The positive percentage of HCV RNA and HCV core antigen in the 149 anti-HCV antibody positive sera samples were 55.03% (82/149) and 49.66% (74/149), respectively, and there was no significant difference ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The qualitative HCV core antigen detected by ELISA has a high specificity. The positive percentage of HCV core antigen in the serum of patients with chronic hepatitis C is 49.66%.

HCV core antigen is related to HCV RNA. HCV core antigen may be a useful serum marker which could show HCV viraemia like HCV RNA.

**Key words:** HCV core antigen; HCVRNA; anti-HCV antibody

[*J Cent South Univ (Med Sci)*, 2006, 31(6):0894-03]

丙型肝炎(以下简称丙肝)是我国主要的病毒性肝炎之一,丙肝病毒(hepatitis C virus, HCV)感染后慢性化率高达85%,20%的患者可发展为肝硬化,部分转变为肝癌,在欧、美国家丙肝肝硬化已成为肝移植的主要病因<sup>[1]</sup>。丙肝的病原学诊断我国主要依靠抗HCV和HCV RNA的检测。尽管抗HCV检测试剂的不断改进,敏感性和特异性均有明显的提高,但抗HCV检测在HCV感染的早期仍存在窗口期。HCV RNA检测技术条件高,影响因素较多,推广普及有一定的困难。近年来,HCV核心抗原检测方法的建立为临床诊断丙肝提供了新的血清学指标。初步研究结果表明HCV核心抗原检测与HCV RNA的检出有较好的相关性。为进一步证实HCV核心抗原检测的临床价值,作者应用国产的HCV核心抗原酶联免疫试剂定性检测了我院159份血清中的HCV核心抗原和抗HCV,同时用荧光定量PCR法检测了HCV RNA,现将结果报告如下。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 我院2004年12月至2005年4月临床诊断为慢性丙肝病人149例,共采集血清共149份。另采集健康人血清20份,乙型肝炎患者血清20份作为对照。

### 1.2 方法

**1.2.1 抗HAV-IgM,抗HAV-IgG,抗HEV和乙型肝炎各抗原抗体系统以及HCV核心抗原定性的检测** 采用酶联免疫吸附试验,其中HCV核心抗原定性检测试剂盒(批号20050225)由湖南景达基因有限公司提供,其余试剂由英科新创(厦门)科技有限公司提供。实验设空白、阴性和阳性对照孔。首先在待测标本孔内每孔加样品稀释液100 μL,然后加入待测血清100 μL,混匀后置37℃水浴箱90 min,洗板5次后加酶结合物200 μL,置37℃水浴箱30 min,再次洗板6次后加显色剂200 μL,37℃水浴避光显色10 min,最后加50 μL终止液,用450 nm波长酶标仪测定OD值。再按照阴性对照平均OD值+0.06为临界值,阴性对照OD值≤0.06,按0.06计算,OD值>0.06时,

按照实际测定OD值计算的标准判定结果。

**1.2.2 HCV RNA的测定** 采用荧光定量PCR检测方法,试剂盒由深圳匹基生物工程股份有限公司提供。严格按照试剂盒说明操作,荧光定量PCR反应在PE5700荧光PCR仪(美国)中进行。

**1.3 统计学处理** 采用SPSS10.0统计软件包对数据进行分析,检测结果采用均数±标准差表示,两种检测方法间比较采用 $\chi^2$ 检验。

## 2 结果

**2.1 HCV核心抗原定性检测结果** 20例健康者血清HCV核心抗原检测值(OD值)为 $0.022 \pm 0.017$ ,20例乙型肝炎患者血清HCV核心抗原检测值(OD值)为 $0.001 \pm 0.012$ ,均呈阴性反应,显示HCV核心抗原定性检测具有良好的特异性。149份丙肝病人血清有75份血清的检测值(OD值)为 $0.045 \pm 0.104$ ,在阴性判断值范围内,74份呈阳性反应,其检测值(OD值)在 $0.534 \pm 0.457$ 之间,阳性率49.66%(表1)。

表1 HCV核心抗原定性检测结果

检测对象	检测标本数	阳性标本数	OD值	阳性率(%)
丙肝患者	149	74	$0.534 \pm 0.457$	49.66
乙肝患者	20	0	$0.001 \pm 0.012$	0
健康者	20	0	$0.022 \pm 0.017$	0

### 2.2 抗HCV阳性血清中HCV RNA的检出率

149份抗HCV阳性血清中HCV RNA阳性82份,阳性率为55.03%。该阳性率与HCV核心抗原检出率(49.66%)比较,其差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.86, P > 0.05$ )。

表2 HCV核心抗原和HCV RNA结果比较

分组	阳性标本数	符合率(%)
HCV核心抗原(+)/HCV RNA(+)	44/149	29.53*
HCV核心抗原(-)/HCV RNA(-)	37/149	24.83*
HCV核心抗原(+)/HCV RNA(-)	30/149	—
HCV核心抗原(-)/HCV RNA(+)	38/149	—
HCV核心抗原、HCV RNA(+)和HCV核心抗原、HCV RNA(-)/检测标本数	81/149	54.36*

### 2.3 HCV核心抗原和HCV RNA结果比较

149份血清中HCV核心抗原/HCV RNA同时阳性

者44份,同时阴性者37份,HCV核心抗原阳性/HCV RNA阴性者38份,HCV核心抗原阴性/HCV RNA阳性者30份,符合率为54.36%,两种检测方法间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表2)。

### 3 讨 论

HCV感染的诊断主要依据血清抗HCV和HCV RNA的检测。在1989年发现HCV以后,建立了第一代抗HCV检测试剂。目前,抗HCV检测已广泛应用于临床诊断HCV感染。十余年以来,抗HCV试剂不断得到改进,逐步从第一代诊断试剂发展到现在应用的第三代抗HCV酶联免疫吸附诊断试剂,其检测的敏感性和特异性均得到了显著的提高<sup>[2]</sup>。但由于丙肝感染的窗口期,患者免疫功能低下和试剂盒本身的问题等原因,国产试剂盒总体符合率仍较低(70%),特异性更低(65%),国外报道也显示抗HCV假阳性率为10%~54.5%,假阴性率为11%~22.2%<sup>[3-6]</sup>。人感染HCV后约1~4周血清中即可检出HCV RNA,而抗HCV一般出现在感染后2~6个月,所以抗HCV的早期诊断率较低,同时也不能反映HCV的复制情况。HCV RNA一直作为检测HCV感染后的确诊和评估病毒复制和抗病毒治疗效果的主要手段,定性或定量PCR检测HCV RNA灵敏度高,特异性好(98%~99%),结果比较可靠,但其操作复杂,价格较贵,且容易污染,难以用于普及和筛查<sup>[7]</sup>。

近年来发展的HCV核心抗原定性检测方法表明,外周血中HCV核心抗原和HCV RNA有良好的相关性,HCV核心抗原ELISA特异性99.5%,敏感性94.5%,可以明显地缩短HCV窗口期,适用于HCV感染的普查<sup>[8]</sup>。对HCV感染者定量检测HCV核心抗原可以准确反映HCV复制情况<sup>[9]</sup>。为了进一步证实HCV核心抗原的临床价值,作者应用国产HCV核心抗原定性检测试剂盒进行试验,实验结果显示,应用国产的HCV核心抗原定性检测酶联免疫吸附诊断试剂有很高的特异性,检测健康人和慢性乙型肝炎患者的血清,未出现阳性反应。而丙肝患者的血清有49.66%呈阳性反应。149份抗HCV阳性血清,同时检测了HCV RNA和HCV核心抗原,HCV RNA阳性率55.03%,与文献报道56%和60.1%基本一致,HCV核心抗原阳性率49.66%。比较两者检测的敏感性,无统计学意义( $P > 0.05$ )<sup>[10]</sup>。提示HCV核心抗

原和HCV RNA一样,也是反映HCV感染和病毒血症的血清标志物。单独应用HCV RNA或HCV核心抗原检测,阳性率分别只有55.03%和49.66%,但如果同时检测HCV RNA和HCV核心抗原,其HCV RNA和/或HCV核心抗原阳性率可提高到75.17%(112/149)。因此,在丙肝的诊断中HCV RNA和/或HCV核心抗原可能有互补的作用。联合应用这两种标志物可以提高对丙肝病人的病毒血症和病毒复制的诊断率。在慢性丙肝抗病毒治疗中,干扰素持续应答与HCV核心抗原低于检测水平、HCV RNA国际单位降低2个对数单位以上有显著相关性。在单剂干扰素或联合治疗持续病毒学应答中,治疗1月后,83.2% HCV核心抗原低于检测水平,HCV RNA国际单位降低2个对数单位以上,近年发展起来的HCV核心抗原检测有可能在一定程度上替代核酸的检测<sup>[11]</sup>。由于HCV核心抗原检测相对HCV RNA费用较低,可能更有利于丙肝病人抗病毒治疗效果的监测。在本次实验中,由于搜集的是丙肝患者的单次血清标本,故未能进行抗病毒治疗过程中的HCV核心抗原监测。

本文结果表明HCV核心抗原定性检测有很高的特异性和一定的敏感性,在丙肝的临床诊断中有一定的价值。但国产HCV核心抗原定性检测试剂盒检测的结果与HCV RNA检测结果的符合率仅54.36%,较国外研究有一定差距(81.6%)<sup>[12]</sup>,抗HCV阳性标本中HCV核心抗原的阳性率仅44.30%,较HCV RNA的检出率(55.03%)低,尽管这种差异无统计学意义,但是国产HCV核心抗原定性检测的ELISA试剂盒灵敏度仍有待进一步提高。

### 参考文献:

- [1] 王豪. 丙型肝炎的流行病学与预防[J]. 中华肝脏病杂志,2003,11(6):366-367.
- [2] 张庶民,庄辉. HCV的实验室诊断及疫苗研究进展[J]. 国外医学. 流行病学传染病学分册,1999,26(2):5-58.
- [3] 邢文革,石向东,陈光增,等. 国产丙型肝炎病毒抗体酶免检测试剂盒的质量评价[J]. 中华肝脏病杂志,2001,9(5):314.
- [4] Wang Y, Tao Q M, Zhao H Y. Hepatitis C virus RNA and antibodies among blood donors in Beijing [J]. J Hepatol, 1994, 21(4):634-640.

- idase: role in cardiovascular biology and disease [J]. *Circ Res*, 2000, 86(5):494-501.
- [10] Zhang R, Brennan M L, Fu X, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease [J]. *JAMA*, 2001, 286(17):2136-2142.
- [11] Biasucci L M, D'Onofrio G, Liuzzo G, et al. Intracellular neutrophil myeloperoxidase is reduced in unstable angina and acute myocardial infarction, but its reduction is not related to ischemia [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1996, 27(3):611-616.
- [12] Apple F S, Wu A H B, Mair J, et al. Future markers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome [J]. *Clin Chem*, 2005, 51(5):810-824.
- [13] Maseri A, Cionflone D. Inflammation in acute coronary syndromes [J]. *Eur Heart J*, 2002, 4(suppl B):B8-B13.
- [14] Podrez E A, Febbraio M, Sheibani N, et al. Macrophage scavenger receptor CD36 is the major receptor for LDL modified by monocyte-generated reactive nitrogen species [J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(8):1095-1108.
- [15] Heinecke J W. Pathways for oxidation of low density lipoprotein by myeloperoxidase: tyrosyl radical, reactive aldehydes, hypochlorous acid and molecular chlorine [J]. *Biol factor*, 1997, 6(2):145-155.
- [16] Fu X, Kassim S Y, Parks W C, et al. Hypochlorous acid oxygenates the cysteine switch domain of pro-matrilysin (MMP-7). A mechanism for matrix metalloproteinase activation and atherosclerotic plaque rupture by myeloperoxidase [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(44):41279-41287.
- [17] Abu-Soud H M, Hazen S L. Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(48):37524-37532.
- [18] Eiserich J P, Baldus S, Brennan M L, et al. Myeloperoxidase, a leukocyte-derived vascular NO oxidase [J]. *Science*, 2002, 296(5577):2391-2394.
- [19] De Winter R J, Fischer J, Bholasingh R, et al. C-reactive protein and cardiac troponin T in risk stratification: differences in optimal timing of tests early after the onset of chest pain [J]. *Clin Chem*, 2000, 46(10):1597-1603.
- [20] Zabrack J S, Anderson J L, Maycock A, et al. Usefulness of high-sensitivity C-reactive protein in predicting long-term risk of death or acute myocardial infarction in patients with unstable or stable angina pectoris or acute myocardial infarction [J]. *Am J Cardio*, 2002, 89(2):145-149.
- [21] vander-Meer I M, de-Maat M P, Kiliaan A J, et al. The value of C-reactive protein in cardiovascular risk prediction: the Rotterdam Study [J]. *Arch Intern Med*, 2003, 163(11):1323-1328.

(本文编辑 彭敏宁)

(上接第 896 页)

- [5] Susan A, Galel D, Gary E. Comparative yield of HCV RNA testing in blood donors screened by 2.0 versus 3.0 antibody assays [J]. *Transfusion*, 2002, 42(11):1507-1511.
- [6] Hitzler W E, Runkel S. Routine HCV PCR screening of blood donations to identify early HCV infection in blood donors lacking antibodies to HCV [J]. *Transfusion*, 2001, 41(3):333-337.
- [7] 杨东亮. 丙型肝炎病毒学检测指标及其意义 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2004, 12(2):104.
- [8] 洪俊, 饶永彩. HCV 核心抗原测定用于丙型肝炎早期诊断临床价值的评估 [J]. *临床检验杂志*, 2005, 23(2):133.
- [9] 孙永年, 黄长行. HCV 核心抗原定量的临床应用 [J]. *国外医学. 流行病学传染病学分册*, 2003, 30(2):119.
- [10] 易冬英, 周福民, 余叔侃. 151 例血清抗 HCV 阳性患者的 HCVRNA 检测分析 [J]. *江西医学院学报*, 2001, 41(5):59-60.
- [11] 魏来. 丙型肝炎病毒学研究进展与临床意义 [J]. *中国实用内科杂志*, 2005, 25(9):776-777.
- [12] Nubling C M, Unger G, Chudy M, et al. Sensitivity of HCV core antigen and HCVRNA detection in the early infection phase [J]. *Transfusion*, 2002, 42(8):1037-1045.

(本文编辑 傅希文)