

HCV-cAg 与 HCV-Ab、HCV-RNA 及肝功能之间的关系探讨

陶象男, 孙 悝, 程 霞, 刘晓云, 金齐力

[摘要] **目的:**探讨丙型肝炎病毒核心抗原(hepatitis C virus core antigen, HCV-cAg)与丙型肝炎病毒 RNA(hepatitis C virus RNA, HCV-RNA)关系以及丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、谷氨酰转肽酶(GGT)水平与 HCV-RNA 病毒载量之间的相关性。**方法:**选取 78 例 HCV 抗体检测阳性的丙型肝炎或疑似丙型肝炎病人作为观察组,另选取同期健康体检者 20 名作为对照组。采用 ELISA 法和荧光定量 PCR 法对 2 组血清样本进行 HCV-cAg、HCV-RNA 和 ALT、AST、GGT 水平测定,并比较各参数之间的关系。**结果:**观察组 HCV-cAg 阳性检出率为 41.0% (32/78), HCV-RNA 阳性检出率为 53.8% (42/78), 差异有统计学意义($P < 0.01$), 且二者之间具有较好一致性($\kappa = 0.747$)。观察组 ALT、AST 和 GGT 水平均明显高于对照组($P < 0.01$), 但与 HCV-RNA 病毒载量均无明显相关性($P > 0.05$)。**结论:**HCV-cAg 和 HCV-RNA 在检测丙型肝炎方面有较好一致性和相关性, 可为丙型肝炎的临床诊断提供有价值的依据。

[关键词] 丙型肝炎; 丙型肝炎病毒核心抗原; 丙型肝炎病毒 RNA; 病毒载量

[中图分类号] R 512.63

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.09.028

Study on the relationship between HCV-cAg, and HCV-Ab, HCV-RNA and liver function

TAO Xiang-nan, SUN Kui, CHENG Xia, LIU Xiao-yun, JIN Qi-li

(Department of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233040, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relationship between hepatitis C virus core antigen (HCV-cAg) and hepatitis C virus RNA (HCV-RNA), and association between levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and glutamyl transpeptidase (GGT), and HCV-RNA viral load. **Methods:** Seventy-eight patients with positive HCV antibody or suspected hepatitis C were divided into the observation group, and another 20 healthy examinees were set as the control group during the same period. The serum levels of HCV-cAg, HCV-RNA, ALT, AST and GGT in two groups were determined by ELISA and fluorescence quantitative PCR, and the relationship among the above parameters were compared. **Results:** In the observation group, the positive detection rate of HCV-cAg was 41.0% (32/78), the positive detection rate of HCV-RNA was 53.8% (42/78), the difference of which was statistically significant ($P < 0.01$), and there was a good consistency between the two groups ($\kappa = 0.747$). The levels of ALT, AST and GGT levels in observation group were significantly higher than those in control group ($P < 0.01$), but there was no significant correlation with HCV RNA viral load ($P > 0.05$). **Conclusions:** The HCV-cAg and HCV-RNA have good consistency and correlation in the detection of hepatitis C, and can provide valuable basis for the clinical diagnosis of hepatitis C.

[Key words] hepatitis C; hepatitis C virus core antigen; hepatitis C virus RNA; viral load

丙型肝炎是一种由丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染引起的病毒性肝炎。据世界卫生组织统计,截至 2005 年,全球约有 1.85 亿人感染 HCV (约占全球人口的 2.8%), 每年新发感染者高达 300~400 万^[1-4]。作为世界上 HCV 感染人数最多的国家,中国一直面临来自 HCV 的挑战,包括对 HCV 认识不全面、早期诊断率和治疗普及率低等问题^[5-6]。据有关报道^[7],丙型肝炎已成为继乙型肝炎、肺结核、痢疾之后我国第四大常见感染性疾病。随着医学检验水平的逐步提高, HCV 的相关检测技

术也取得了很大进步。目前用于丙型肝炎病人的病毒检测方法主要有 HCV 抗体(anti-HCV antibodies, HCV-Ab)检测、HCV-RNA 检测以及 HCV 核心抗原(hepatitis C core antigen, HCV-cAg)检测等^[8]。HCV-cAg 检测是 20 世纪 90 年代发展起来的新型技术,在丙型肝炎早期诊断中的作用已引起了人们的关注。但 HCV-cAg 检测能否替代 HCV 核酸检测成为诊断丙肝的确诊指标尚不清楚。本研究通过分析我院就诊的 HCV 感染或疑似感染病人血清样本的临床实验结果,以期阐明不同检测指标在丙型肝炎诊断中的临床价值,提高初期检出 HCV 感染的准确度。现作报道。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2018 年 8 月至 2020 年 3 月

[收稿日期] 2020-10-24 [修回日期] 2021-05-28

[基金项目] 蚌埠医学院自然科学基金面上项目(BYKY18147)

[作者单位] 蚌埠医学院第二附属医院 检验科,安徽 蚌埠 233040

[作者简介] 陶象男(1987-),女,主管技师,讲师。

[通信作者] 金齐力,副教授,硕士研究生导师。E-mail: bbmc_nm@

于我院就诊的门诊和住院疑似丙型肝炎病人,以 HCV 抗体检测试剂盒(ELISA 法)检测其血清样本,共收集初筛结果呈阳性($S/COV \geq 1.0$)的血清样本 78 例作为观察组,其中男 46 例,女 32 例,年龄 24 ~ 82 岁。同期选取健康体检者 20 名作为对照组,其中男 11 名,女 9 名,年龄 42 ~ 70 岁。2 组年龄和性别具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 所有受检者空腹采集静脉血 5 mL,置于促凝管中,1 h 内 3 000 r/min 离心 5 min,分离血清,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.2.2 试剂与仪器 HCV-RNA 荧光定量 PCR 试剂盒来自厦门安普利公司,HCV-Ab 和 HCV-cAg 检测采用 ELISA 法,检测试剂盒分别来自上海科华生物工程股份有限公司和湖南康润药业股份有限公司,丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、谷氨酰转肽酶(GGT)水平检测采用底物法,检测试剂盒来自宁波美康;荧光定量 PCR 仪(GeneLight 2400 型,厦门安普利生物工程有限公司),酶标仪(VRANUS AE95 型,深圳爱康),全自动生化分析仪(DXC800 型,贝克曼),低速离心机(sc-2546 型,安徽中科中佳),超净工作台(Bioaer,航天生物科技有限公司)。

1.2.3 HCV-Ab 和 HCV-cAg 检测 采用 ELISA 法检测,按照试剂盒说明书进行操作。HCV-Ab:当 S/COV (待测样本和 COV 比值) ≥ 1.0 时,待测样本判定为阳性;HCV-cAg:待测样品的吸光度(OD 值) \geq 阳性判断值($cut\ off =$ 阴性对照平均 OD 值 $+0.06$,阴性对照 ≤ 0.06 时按 0.06 计算)判定为阳性。

1.2.4 HCV-RNA 检测 采用荧光定量 PCR 法检测,按照丙型肝炎病毒核酸检测试剂盒说明书提取病人血清 HCV-RNA,由 PCR 仪进行扩增。HCV-RNA:待测样本定量值 $>500\text{ IU/mL}$ 判定为阳性。

1.2.5 ALT、AST 和 GGT 检测 血清酶浓度采用底物法检测,标本由全自动生化分析仪检测(操作均按照 SOP 标准进行,当日室内质控在控,标本在 4 h 内完成检测)。

1.3 统计学方法 采用 t 检验、 χ^2 检验和相关分析。

2 结果

2.1 观察组病人 HCV-cAg 与 HCV-RNA 阳性检出率 78 例 HCV-Ab 初筛结果呈阳性病人中,检出 HCV-cAg 阳性 32 例(41.0%),HCV-RNA 阳性 42

例(53.8%),二者检测结果差异有统计学意义($\chi^2 = 10.00, P < 0.01$),有较好的一致性($\kappa = 0.747$)(见表 1)。

表 1 观察组病人 HCV-cAg 与 HCV-RNA 阳性检出率(n)

HCV-cAg	HCV-RNA		合计
	阳性	阴性	
阳性	32	0	32
阴性	10	36	46
合计	42	36	78

2.2 2 组血清 ALT、AST、GGT 水平比较 观察组血清 ALT、AST 和 GGT 水平均明显高于对照组($P < 0.01$)(见表 2)。

表 2 2 组 ALT、AST 和 GGT 水平比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	ALT/(IU/L)	AST/(IU/L)	GGT/(U/L)
对照组	20	11.25 ± 6.04	16.75 ± 3.40	19.25 ± 6.56
观察组	78	50.88 ± 38.64	54.05 ± 46.75	88.74 ± 110.74
t	—	4.56	3.55	2.72
P	—	<0.01	<0.01	<0.01

2.3 观察组病人血清 ALT、AST、GGT 水平与 HCV-RNA 相关性 HCV-RNA 阳性病人定量检测结果与 ALT、AST 和 GGT 水平均无明显相关性($r = 0.062$ 、 0.132 、 $0.011, P > 0.05$)。

3 讨论

丙型肝炎作为一个全球性的健康安全卫生问题,是导致肝脏疾病的重要原因之一,有较高的致死率,全球每年死于丙型肝炎的人数约有 70 万^[9]。相比公众较为熟知的乙型肝炎,大多数 HCV 感染者并未表现出明显的临床症状,起病隐匿,容易被忽视,因此早期检测出 HCV 感染,具有重要意义。

HCV-Ab 是 HCV 感染的常用指标,目前临床常用的检测方法有胶体金法、ELISA 法和化学发光免疫分析法。随着抗体检测技术的不断革新,HCV-Ab 在早期筛选常规临床丙型肝炎样本方面的表现,特别是敏感性和特异性都有了很大的进步。然而研究^[10]证明,现行的抗体检测技术仍有一定的局限性,需要其他检测方法进行补充。HCV 作为一种单股正链 RNA 病毒,属黄病毒科丙型肝炎属,在人体感染 HCV 7 ~ 14 d 后,血清中即可检出 HCV-RNA^[11]。众所周知,PCR 法核酸检测特异性高、窗口期短,能够直接反映 HCV 在体内的活动性和复制情况,作为丙型肝炎早期诊断和预后的金标准,为

HCV 病人的病情诊断和治疗监测提供依据。但因核酸检测技术复杂,人员环境等要求较高,不易大规模推广。HCV-cAg 检测是近年来被认为最具潜力和应用前景的检测 HCV 感染的检测手段之一,通常可在感染的 2~3 周内检测到,在 HCV-RNA 出现后即可检出,与 HCV-RNA 均可以作为丙型肝炎的早期检测指标,与核酸检测相比,HCV-cAg 检测耗时短,方法简单,价格便宜,不用添加特殊仪器设备,在常温条件下检测结果稳定,不受环境、人员的影响,便于常规检测,可以弥补抗体及核酸检测的局限性^[12-16]。

本研究对 78 例 HCV-Ab 初筛结果均呈阳性病人血清样本分别进行 HCV-cAg 和 HCV-RNA 检测,得到的阳性检出率分别是 41.0% (32/78) 和 53.8% (42/78),可见 HCV-Ab 检测存在一定的假阳性,需要采用 HCV-cAg 和 HCV-RNA 检测进行补充实验分析。本研究结果显示,HCV-cAg 和 HCV-RNA 检测结果有较好一致性 ($\kappa = 0.747$),提示 HCV-cAg 检测可代替或补充 HCV-RNA 检测作为早期检出 HCV 感染的一个实验室指标,这与 RUJIPAT 等^[17]研究相符。

大多数肝脏疾病往往涉及多种肝功能血清指标的异常,如血清总蛋白、白蛋白、ALT、AST、碱性磷酸酶、GGT、总胆红素、直接胆红素等,肝酶的异常表达常提示肝细胞有损伤。本研究中,78 例病人中血清 ALT、AST 和 GGT 水平均明显高于对照组,且 ALT、AST 和 GGT 的异常率分别为 51.3%、47.4% 和 60.3%,提示肝酶可以作为临床医生评估肝功能检查的实验指标。有研究^[18-19]表明,血清 HCV-RNA 病毒载量与 ALT、AST 和 GGT 水平呈正相关关系,提示肝细胞损害与 HCV 病毒血症水平有关。但本研究结果显示,HCV-RNA 阳性病人定量检测结果与 ALT、AST 和 GGT 均无明显相关性,这可能与样本量不足和所选病例、仪器、试剂等不同有关,因此,有待收集大量样本来确定这种联系。

综上,为提高早期丙型肝炎检测结果的准确率和可靠性,可对肝酶指标异常病人标本采用 HCV-Ab 与 HCV-cAg 联合检测,其中可疑样本可再进行 HCV-RNA 检测,这样不仅可以对早期丙型肝炎进行诊断,及时控制丙型肝炎传播,还可对丙型肝炎不同感染阶段表现作出分析与判断,为丙型肝炎临床分期和病情监测提供有利的技术手段和理论支持。

[参 考 文 献]

[1] BOZZENA WZ, URSZULA R, GRZEGORZ J, *et al.* Anti-hepatitis C virus seroprevalence in the working age population in Poland,

2004 to 2014 [J]. *Euro Surveill*, 2017, 22(2):30441.

- [2] ARNOLFO P, SAMANTHA M, GIOVANNA L, *et al.* Global epidemiology of hepatitis C virus infection An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(34):7824.
- [3] BOGNAŚK, EWELINA K, EWA S, *et al.* Prevalence of IFNL3 rs4803217 single nucleotide polymorphism and clinical course of chronic hepatitis C [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(21):3815.
- [4] MOHD HANAFIAH K, GROEGER J, FLAXMAN AD, *et al.* Global epidemiology of hepatitis C virus infection; new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence [J]. *Hepatology*, 2013, 57(4):1333.
- [5] CHEN Y, YU CS, YIN XR, *et al.* Hepatitis C virus genotypes and subtypes circulating in mainland China emerg microbes infect [J]. *Emerging Microbes Infections*, 2017, 6(11):e95.
- [6] LI MY, ZHUANG H, WEI L. How would China achieve WHO's target of eliminating HCV by 2030? [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2019, 17(10):763.
- [7] QIN Q, SMITH MK, WANG L, *et al.* Hepatitis c virus infection in china: An emerging public health issue [J]. *J Viral Hepat*, 2015, 22(3):238.
- [8] CICIOĞLU AB, AYNALI A, KAYA S, *et al.* Comparison of HCV core antigen and anti-HCV with HCV RNA results [J]. *Afr Health Sci*, 2014, 14(4):816.
- [9] ZAMEER M, JESSIE M, YUSUKE S, *et al.* Clinical utility of HCV core antigen detection and quantification using serum samples and dried blood spots in people who inject drugs in Dar-es-Salaam, Tanzania [J]. *J Int AIDS Soc*, 2017, 20(1):21856.
- [10] YUE ZH, XIA CS, WANG H. Performance evaluation of the mindray anti-HCV assay for the detection of hepatitis C virus infection [J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(9):e22600.
- [11] FLAMM SL. Chronic hepatitis C virus infection [J]. *JAMA*, 2003, 289(18):2413.
- [12] GALLI C, JULICHER P, PLEBANI M. HCV core antigen comes of age: a new opportunity for the diagnosis of hepatitis C virus infection [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2018, 56(6):880.
- [13] LAPERCHE S, NUBLING CM, STRAMER SL, *et al.* Sensitivity of hepatitis C virus core antigen and antibody combination assays in a global panel of window period samples [J]. *Transfusion*, 2015, 55(10):2489.
- [14] ALONSO R, PÉREZ-GARCÍA F, AMPUERO D, *et al.* New direct-acting antivirals for patients with chronic HCV infection: can we monitor treatment using an HCV core antigen assay? [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2017, 87(3):243.
- [15] ALONSO R, PÉREZ-GARCÍA F, LÍPEZ-ROA P, *et al.* HCV core-antigen assay as an alternative to HCV RNA quantification: A correlation study for the assessment of HCV viremia [J]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2018, 36(3):175.
- [16] ÇETINER S, ÇETIN DURAN A, KIBAR F, *et al.* Performance comparison of new generation HCV core antigen test versus HCV RNA test in management of hepatitis C virus infection [J]. *Transfus Apher Sci*, 2017, 56(3):362.

淮北地区 2 932 例孕妇无创 DNA 产前筛查的调查分析

王素侠, 陈琼琼, 程 莉

[摘要] **目的:** 分析淮北地区 2 932 例孕妇无创 DNA 产前筛查(NIPT)结果及其相关影响因素。**方法:** 利用高通量测序法对胎儿游离 DNA 进行染色体分析, 结果阳性者行羊水穿刺进行染色体核型分析确认; 拷贝数变异(copy number variation, CNV)者进行染色体微阵列分析。**结果:** 2 932 例孕妇的 NIPT 总高风险检出率为 1.43% (42/2 932)。不同年龄孕妇的三体综合征、性染色体异常和总高风险检出率差异均有统计学意义($P < 0.05 \sim P < 0.01$), CNV 差异无统计学意义($P > 0.05$)。农村与城市地区孕妇的三体综合征和性染色体异常检出差异均无统计学意义($P > 0.05$), 农村地区孕妇的 CNV 和总高风险检出率均高于城市地区孕妇($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。**结论:** 淮北地区 NIPT 以三体综合征检出为主, 性染色体异常和 CNV 风险相对较高。

[关键词] 无创产前筛查; 三体综合征; 拷贝数变异

[中图分类号] R 714.5

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.09.029

Investigation and analysis of the noninvasive DNA prenatal testing in 2 932 pregnant women in Huaibei area

WANG Su-xia, CHEN Qiong-qiong, CHENG Li

(Department of Clinical Laboratory, Maternity and Child Care Center of Huaibei, Huaibei Anhui 235000, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the results of noninvasive DNA prenatal testing (NIPT) in 2 932 pregnant women in Huaibei area, and its related influencing factors. **Methods:** The high-throughput sequencing method was used to analyze the chromosome of fetal free DNA. The positive results were confirmed by amniotic fluid puncture. The chromosome microarray analysis in fetus with copy number variation (CNV) was performed. **Results:** The overall high risk detection rate of NIPT in 2 932 pregnant women was 1.43% (42/2 932). Among different ages pregnant women, the differences of the trisomy syndrome, sex chromosome abnormalities and total high risk detection rate were statistically significant ($P < 0.05$ to $P < 0.01$), and the difference of the CNV was not statistically significant ($P > 0.05$). There was no statistical significance in the detection rates of trisomy syndrome and sex chromosome abnormality between rural and urban pregnant women ($P > 0.05$). The detection rates of CNV and total high risk in rural pregnant women were higher than those in urban pregnant women ($P < 0.05$ and $P < 0.01$). **Conclusions:** In Huaibei area, the main NIPT is trisomy syndrome, abnormalities and the risks of sex chromosome and CNV are relatively high.

[Key words] noninvasive prenatal testing; trisomy syndrome; copy number variation

据统计, 我国新生儿出生缺陷发生率约为 5.6%^[1], 其中染色体相关疾病占有重要比例, 该类患儿往往先天智力低下、生长发育迟缓、容貌特殊, 还可能伴有其他畸形, 并且免疫力较差, 易受到各种感染, 且生活能力差, 给社会和家庭带来严重的经济负担和精神痛苦^[2]。开展产前筛查与产前诊断, 对

降低出生缺陷, 提高国民素质尤为重要。为了解淮北地区孕妇受孕期间胎儿染色体筛查情况及其相关影响因素, 本研究对来本院进行孕检的 2 932 例孕妇进行无创 DNA 产前筛查 (NIPT), 以期为临床诊断提供客观依据, 及早探寻有效防治措施, 阻止出生缺陷。现作报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 5 月至 2020 年 7 月

[收稿日期] 2020-09-07 [修回日期] 2021-03-26

[作者单位] 安徽省淮北市妇幼保健院 检验室, 235000

[作者简介] 王素侠(1976-), 女, 副主任检验技师。

[17] RUJIPAT W, PREEYAPORN V, CHOMPOONUT A, et al. HCV core antigen is an alternative marker to HCV RNA for evaluating active HCV infection implications for improved diagnostic option in an era of affordable DAAs[J]. Peer J, 2017, 5:e4008.

[18] YANG N, LI ZR, YAN M, et al. Evaluation of Serum Alpha-Fetoprotein Level in Chronic Hepatitis C Patients[J]. Clin Lab, 2019, 65(1):16.

[19] SAMIRA B, FAEZEH S, SANAZ AG, et al. Prediction of HCV load using genotype, liver biomarkers, and clinical symptoms by a mathematical model in patients with HCV infection[J]. Microbiol Immunol, 2019, 63(11):449.

(本文编辑 卢玉清)