

丙型肝炎病毒核心抗原检测试剂的初步应用

姚仁南¹, 张建辉², 陈复兴¹, 黄晓静¹, 赵 勤¹, 江学成¹

(1. 解放军第97医院, 江苏徐州 221004; 2. 湖南景达基因有限公司, 湖南长沙 410000)

[摘 要] **目的** 应用丙型肝炎病毒核心抗原(HCV-cAg)ELISA检测试剂, 检测丙型肝炎病毒(HCV)病毒标志物。**方法** 对单项抗-HCV ELISA试剂A阳性15份和单项试剂B阳性17份血清标本分别再用HCV-cAg ELISA试剂和HCV RNA荧光定量RT-PCR试剂检测, 对其余血清标本仅行荧光定量RT-PCR试剂检测。**结果** 对32份阳性血清标本中HCV-cAg ELISA试剂和HCV-PCR荧光定量法阳性率分别为18.75%(6/32)和15.6%(5/32)。**结论** HCV-cAg ELISA法的敏感性与HCV RNA RT-PCR荧光定量检测结果相类似, 有助于可疑抗HCV阳性结果的证实。

[关键词] 丙型肝炎; 核心抗原; 酶联免疫吸附试验

中图分类号: R512.6⁺3 文献标识码: A 文章编号: 1672-271X(2008)03-0168-02

Preliminary application of hepatitis C virus core antigen detection kit

YAO Ren-nan¹, Zhang Jian-hui², Chen Fu-xin¹, HUANG Xiao-jing¹, ZHAO Qin¹, JIANG Xue-cheng¹ (1. The 97th Hospital of PLA, Xuzhou 221004, Jiangsu, China; 2. Hunan Jingda Gene Co. LTD., Changsha 410000, Hunan, China)

[Abstract] **Objective** Hepatitis C core antigen enzyme-linked immunosorbent assay reagents (HCV-cAg ELISA) was used to detect the virus markers of viral hepatitis C (HCV). **Methods** 15 serum samples that were A positive and 17 were B positive detected by anti-HCV ELISA reagents were checked by HCV-cAg ELISA and HCV RNA fluorescence quantitative RT-PCR. Other samples were tested only by fluorescence quantitative RT-PCR. **Results** 18.75% (6/32) and 15.6% (5/32) serum samples were detected positively by HCV-cAg ELISA and fluorescence quantitative PCR respectively. **Conclusion** The sensitivity of HCV-cAg ELISA is similar to that of HCV RNA fluorescence quantitative RT-PCR.

[Key words] HCV; Core antigen; Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

我们在2006年1~12月对2 521份输血、手术前住院患者血清标本先采用两种抗-HCV ELISA试剂进行检测, 对阳性标本分别行HCV-cAg ELISA试剂和HCV RNA的RT-PCR荧光定量试剂检测, 现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 试剂A、试剂B血清HCV均为阳性者标本28份, 单项试剂A阳性标本15份和单项试剂B阳性标本17份, 均置-80℃存放, 确保被检标本仅

冻融一次。

1.2 质控品 抗-HCV 2NCU/ml质控血清(卫生部临检中心批号05.12)。

1.3 试剂 两种抗-HCV ELISA诊断试剂分别购自厦门某公司批号为2005095805、2006025801(试剂A)和上海某公司批号为20051203、20060317(试剂B), HCV-cAg ELISA试剂, 批号为060920(湖南景达基因公司赠送)。HCV RNA荧光定量RT-PCR试剂批号为20060920(上海科华公司提供)。

1.4 主要仪器 洗板机、酶标仪为上海科华实业有限公司生产, 型号为ST-36W和ST-360; PCR扩增仪(Light Cycler II)。

1.5 方法 对单项试剂A阳性15份和单项试剂B阳性17份血清标本分别再用HCV-cAg ELISA试剂

基金项目: 国科发计字[2004]449号

作者简介: 姚仁南(1958-), 男, 浙江嵊州人, 本科, 副主任技师, 从事临床检验和临床输血专业。

和HCV RNA 荧光定量RT-PCR 试剂检测,对其余血清标本仅行荧光定量RT-PCR 试剂检测。各种操作方法,结果判断严格按说明书要求。

1.6 统计学处理 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 HCV-cAg ELISA 法、HCV RT-PCR 荧光定量法检测两种试剂单项阳性标本比较 试剂A 与试剂B 组阳性率比较及两种方法组间之阳性率比较,均无显著性差异, P 均 >0.05 ,见表1。

表1 HCV-cAg ELISA 法和HCV RT-PCR 荧光定量法检测结果[阳性例(%)]

分 组	例数	HCV-cAg ELISA 法	HCV RT-PCR 荧光定量法
单项试剂 A	15	2(13.33)	2(13.33)
单项试剂 B	17	4(23.53)	3(17.65)

2.2 RT-PCR 荧光定量法检测单项抗-HCV 阳性结果比较 试剂A 阳性者,RT-PCR 荧光定量法检测阳性率 69.77%(30/43),阴性率 30.23%(13/43);试剂B 阳性者,RT-PCR 荧光定量法检测阳性率 68.89%(31/45),阴性率 31.11%(14/45),两组间阳性率、阴性率比较, P 均 >0.05 ,均无显著性差异。

3 讨论

目前,已经广泛使用第三代抗-HCV ELISA 试剂来检测丙型肝炎的病毒标志物,大部分为基因工程表达抗原(HCV-core NS₃、NS₄ 和 NS₅ 抗原),其特异性和灵敏度达99%^[1]。但由于使用HCV 基因重组抗原的质量和各抗原片段包被比例不同,使各种试剂之间的灵敏度和特异性存在一定的差异,从而导致抗-HCV 结果的不一致,产生漏检和假阳性等情况^[2]。应用抗-HCV ELISA 法还存在的一大缺陷是“窗口期”长,约为50天左右,仍有漏检现象,甚至造成医疗纠纷。本资料显示,如果单用第三代抗-HCV 试剂A 或试剂B 检测的阳性标本,再用HCV RNA 荧光定量RT-PCR 检测阳性率分别为69.77%和68.89%,其中就可能存在漏检或假阳性。

近几年来,国内外探索应用HCV-cAg 检测丙型肝炎病毒报道较多^[3-6]。Ortho 公司于2001 年研制出了游离和总的HCV 核心抗原的检测试剂,大量的临

床考核证明HCV-cAg 检出可比抗-HCV 平均约早23~46 天^[7]。为此使用国产HCV-cAg ELISA 试剂盒进行验证,发现HCV-cAg 阳性的6 份标本中,5 例HCV RNA 阳性,证实此法有高度特异性。由于HCV RNA RT-PCR 测定方法操作复杂、技术要求高、费用高,不能作为普查或常规应用。比较而言,HCV-cAg ELISA 法快速、便捷,易于推广。Peterson 等^[8]报道,HCV 感染后1~13 天,应用HCV RNA RT-PCR 即可检测到HCV RNA,2 周后可检出HCV-cAg,比抗体检出平均约早30 天。所以上述两种方法对HCV 感染的早期诊断价值相类似。

本文未对抗-HCV ELISA 法检测的全部HCV 阳性标本用HCV-cAg ELISA 法复测,继续开展研究是必要的;本资料提示对需要输血、手术的患者可先用抗-HCV ELISA 试剂检测,必要时再用HCV-cAg ELISA 或HCV RNA RT-PCR 试剂复测,这样可提高检测结果的正确性。

参考文献

- [1] Colin C, Lanoir D, Touzet S, et al. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assay: an analysis of the literature [J]. J Hepati, 2001, 8 (1): 87-95.
- [2] 谢立, 吴晓东. 丙型肝炎病毒检测方法的研究进展及其临床意义[J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(7): 884-886.
- [3] 王国华, 张贺秋, 李少波, 等. 丙型肝炎病毒核心抗原检测试剂的研制及初步应用[J]. 中国输血杂志, 2004, 17(5): 299-301.
- [4] 孟淑芳, 李秀华, 尹红章, 等. 丙型肝炎病毒抗原检测方法的建立[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2001, 15(3): 287-230.
- [5] Muerhoff A, Jiang L, Shah D, et al. Detection of HCV core antigen in human serum and plasma with an automated chemiluminescent immunoassay [J]. Transfusion, 2002, 42 (3): 349-356.
- [6] 姚仁南, 张建辉, 黄晓静, 等. 在安全输血中应用丙型肝炎病毒核心抗原检测技术的初步探索[J]. 中国实验血液学杂志, 2006, 14(3): 617-618.
- [7] Widell A, Molnegren V, Pieksma F, et al. Detection of hepatitis C core antigen in serum or plasma as a marker of hepatitis C viraemia in the serological window phase [J]. Transfusion Med, 2002, 12(2): 107-113.
- [8] Peterson J, Green G, Iida K, et al. Detection of hepatitis C core antigen in the antibody negative window phase of hepatitis C infection[J]. Vox Sang, 2000, 78, (2): 80-86.

(收稿日期:2008-01-14;修回日期:2008-03-07)

(本文编辑:潘雪飞; 英文编辑:王建东)