

HCV 不同标志物检测结果比较分析

李 华 龙润乡 杨 蓉 蒋蕊鞠 董承红 易红昆 白慧珠 谢忠平

摘 要 **目的** 分析丙型肝炎病毒抗原、抗体及核酸标志物实验室检测结果之间的关联性。**方法** 用丙型肝炎病毒抗体(HCV - Ab)、丙型肝炎病毒核酸(HCV - RNA)扩增(PCR)荧光定量、丙型肝炎病毒核心抗原(HCV - CAg)及丙型肝炎病毒抗原(HCV - Ag)检测试剂盒,分别检测血清或血浆样品中的 HCV - Ab、HCV - RNA、HCV - CAg 和 HCV - Ag 丙型肝炎病毒 4 种标志物,对检测结果之间的关联性进行分析。**结果** 在 1551 份血清或血浆样品中,共检出 HCV - Ab 阳性样品 565 份(36.43%)、HCV - Ag(游离抗原)阳性样品 48 份(3.09%)、HCV - RNA 阳性样品 317 份(20.44%)、HCV - CAg 阳性样品 25 份(1.61%),HCV - Ab 及 HCV - RNA 检出率明显高于抗原检出率($P < 0.01$),其阳性样品检出率按高低顺序依次为 HCV - Ab、HCV - RNA、HCV - Ag 和 HCV - CAg。**结论** 4 种标志物的检测可以联合运用,能有效降低 HCV - Ab 检测带来的漏检风险。

关键词 丙型肝炎病毒 标志物 HCV - Ab HCV - RNA HCV - CAg HCV - Ag

Comparative Study on the Results Detected by Different Markers of Hepatitis C Virus. Li Hua, Long Runxiang, Yang Rong, et al. Institute of Medical Biology, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Science, Yunnan 650118, China

Abstract Objective To analyze the relevance of results detected by HCV - CAg, HCV - Ab, HCV - RNA as markers. **Methods** The enzyme immunoassay kits were used to measure the level of HCV - Ab, HCV - RNA, HCV - CAg and HCV - Ag in serum or plasma samples, and the correlation among them was evaluated by statistic analysis. **Results** The positive of HCV - Ab, HCV - RNA, HCV - CAg and HCV - Ag were 565, 317, 48, 25 among the 1551 clinical serum and plasma samples, respectively. The detection rate of HCV - Ab and HCV - RNA was obviously higher than HCV - CAg ($P < 0.01$). The positive rate was in sequence of HCV - Ab > HCV - RNA > HCV - CAg > HCV - Ag. **Conclusion** The united application of different four markers can reduce the undetected probability efficiently.

Key words Hepatitis C virus; Marker; HCV - Ab; HCV - RNA; HCV - CAg; HCV - Ag

丙型病毒性肝炎是由丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染引起的重要的世界性传染病之一,在中国人群的感染率达 3.2%,其中 50% ~ 85% 感染者发展为慢性丙型肝炎,10% ~ 30% 发展为肝硬化,肝硬化患者中约 3% ~ 10% 可演变为肝癌^[1]。HCV 初发感染往往比较隐匿,仅有约 20% ~ 30% 的感染者呈急性肝炎表现,所以选择快速、灵敏、特异的检测方法检出 HCV 十分重要^[2,3]。本研究应用 HCV 核心抗原试剂盒、HCV 游离抗原试剂盒、丙型肝炎病毒(HCV)抗体检测试剂盒(ELISA)及 HCV 核酸扩增(PCR)荧光定量检测试剂盒,对 1551 份血清或血浆临床样品检测丙型肝炎病毒不同的标志物,现将结果报道如下。

材料与方法

1. 材料:(1)血清或血浆标本来源:云南省第一人民医

院、昆明医学院第一附属人民医院及云南省血液中心 3 个单位的血清或血浆样品。(2)丙型肝炎病毒核酸扩增(PCR)荧光定量检测试剂:深圳匹基生物工程有限公司生产,批号 20080702。(3)丙型肝炎病毒核心抗原诊断试剂盒(酶联免疫法):国内某公司上市产品,批号 20091101。(4)丙型肝炎病毒抗体检测试剂盒(ELISA):上海科华生物工程有限公司生产,批号 200908011。(5)丙型肝炎病毒游离抗原检测试剂盒(ELISA):中国医学科学院医学生物学研究所生产。

2. 方法:(1)丙型肝炎病毒核酸扩增(PCR)荧光定量检测:采用丙型肝炎病毒核酸扩增(PCR)荧光定量检测试剂,按试剂盒说明书进行荧光定量检测。(2)丙型肝炎病毒核心抗原检测:按试剂盒说明书进行 ELISA 检测 HCV - Ag。(3)丙型肝炎病毒抗体检测:按试剂盒说明书进行 ELISA 检测 HCV - Ab。(4)丙型肝炎病毒游离抗原检测:包被 HCV 多表位复合抗原的多克隆抗体酶标板,先加入样品缓冲液 50 μ l,待检样品 50 μ l,37 $^{\circ}$ C 孵育 2h,洗板 5 次后,加酶结合物 100 微升/孔,37 $^{\circ}$ C 孵育 1h。洗板 5 次后,加 TMB 显色液,室温显色 15min,于 450nm 波长检测 OD 值。

结 果

1. HCV 不同标志物检测结果分析:在 1551 份血清或血浆样品中,共检出 HCV - Ab 阳性样品 565 份、

基金项目:国家高技术发展计划(“863”项目)基金资助项目(2007AA02Z400);云南省联合资助项目计划(2008GA008)

作者单位:650118 昆明,中国医学科学院北京协和医学院医学生物学研究所/云南省重大传染病疫苗研究重点实验室

通讯作者:谢忠平,电子信箱:XZP218@126.com

HCV - Ag 阳性样品 48 份、HCV - RNA 阳性样品 317 份、HCV - CAg 阳性 25 样品。其中, HCV - Ab 阳性样品(阳性率 36.43%)检出率高于 HCV - Ag 阳性样品(阳性率 3.09%, $\chi^2 = 543.422, P = 0.000$)、HCV - CAg 阳性样品(阳性率 1.61%, $\chi^2 = 610.320, P = 0.000$)及 HCV - RNA 阳性样品(阳性率 20.445%, $\chi^2 = 97.437, P = 0.000$), 2 种试剂检出率皆显示差异有统计学意义; HCV - Ag 阳性样品检出率(3.09%)高于 HCV - CAg 阳性样品(1.61%), 2 种试剂检出率显示差异有统计学意义($\chi^2 = 7.421, P = 0.006$); HCV - RNA 阳性样品(20.44%)检出率高于 HCV - Ag 阳性样品(3.09%), 2 种试剂盒检出率显示差异有统计学意义($\chi^2 = 224.687, P = 0.000$); HCV - RNA 阳性样品(20.44%)检出率高于 HCV - CAg 阳性样品(1.61%), 2 种试剂检出率显示差异有统计学意义($\chi^2 = 280.203, P = 0.000$, 表 1)。

表 2 HCV 抗原检测试剂盒临床研究不同性质样品结果分析

样品特性	HCV - Ag 阳性		HCV - CAg 阳性		HCV - RNA 阳性		样品数
	样品数	百分率(%)	样品数	百分率(%)	样品数	百分率(%)	
HCV - Ab 阳性	48	8.50	23	4.07	317	56.11	565
HCV - Ab 阴性	0	0	2	0.20	0	0	984
合计	48	3.09	25	1.61	317	20.44	1551

3. 两种 HCV 抗原检测试剂检测结果分析: 在 317 份 HCV - Ab 及 HCV - RNA 双阳性的样品中, HCV 抗原检测试剂检出 34 份 HCV 游离抗原阳性样品(阳性率 10.73%), HCV 核心抗原检测试剂检出 23 份 HCV 核心抗原阳性样品(阳性率 7.26%), HCV 抗原检测试剂检出率高于 HCV 核心抗原检测试剂, 但 2 种试剂检出率显示差异无统计学意义($\chi^2 = 2.333, P = 0.1267$)。

在 248 份 HCV - Ab 阳性、但 HCV - RNA 阴性的

表 1 HCV 抗原检测试剂盒临床研究 1551 份样品结果分析

分析指标	HCV - Ab	HCV - Ag	HCV - CAg	HCV - RNA	全阴性 合计	
	阳性	阳性	阳性	阳性		
样品数	565	48	25	317	984	1551
百分率(%)	36.43	3.09	1.61	20.44	63.44	

部分样品多个指标均为阳性, 所以各指标项下数据和大于所检测样品总数

2. HCV - Ab 指标相关性检测结果分析: 在 565 份 HCV - Ab 阳性样品中, 检出 48 份 HCV - Ag(游离抗原)阳性样品, 检出率为 8.50%; 检出 23 份 HCV 核心抗原(HCV - CAg)阳性样品, 检出率为 4.07%; 检出 317 份 HCV - RNA 阳性样品, 检出率为 56.11%。在 984 份全阴性样品中, 检出 2 份 HCV 核心抗原(HCV - CAg)阳性样品, 检出率为 0.20%; 但未检出 HCV 抗原及 HCV - RNA(表 2)。以上结果说明: HCV - RNA、HCV - Ag 及 HCV - CAg 在 HCV - Ab 阳性样品中的检出率明显高于 HCV - Ab 阴性样品, 具有明显的关联性。

样品中, HCV 抗原检测试剂检出 14 份 HCV 游离抗原阳性样品(阳性率 5.65%), HCV 核心抗原检测试剂未检出阳性样品(阳性率 0), 2 种试剂检出率有明显差异($\chi^2 = 14.407, P = 0.0001$)。

在 984 份 HCV - Ab 及 HCV - RNA 双阴性的样品中, HCV 抗原检测试剂未检出阳性样品(阳性率 0), HCV 核心抗原检测试剂检出 2 份 HCV 核心抗原阳性样品(阳性率 0.20%), 2 种试剂检出率无明显差异(校正 $\chi^2 = 0.501, P = 0.479$, 表 3)。

表 3 2 种 HCV 抗原检测试剂对不同样品检测结果分析

检测试剂	HCV - Ab 阳性		HCV - Ab 阳性		HCV - Ab 阳性		HCV - Ab 阴性	
	HCV - RNA 阳性		HCV - RNA 阴性		HCV - Ab 阳性		HCV - RNA 阴性	
	(n = 317)		(n = 248)		(n = 565)		(n = 986)	
	阳性数	百分率 (%)	阳性数	百分率 (%)	阳性数	百分率 (%)	阳性数	百分率 (%)
HCV - Ag 检测	34	10.73	14	5.65	48	8.50	0	0
HCV - CAg 检测	23	7.26	0	0	23	4.07	2	0.20
统计分析	$\chi^2 = 2.333, P = 0.127$		$\chi^2 = 14.407, P = 0.000$		$\chi^2 = 9.393, P = 0.002$		校正 $\chi^2 = 0.501, P = 0.479$	

4. HCV - Ab 与 HCV - RNA 检测结果关联性分析: 将本次所有样品 HCV - RNA(荧光定量 PCR)与

HCV - Ab(ELISA)检测结果进行分析, 若以 HCV - RNA 结果为金标准, 则与用于 HCV - Ab(ELISA)检

测结果一致性 84.01%、灵敏度 100.00%、特异度 79.90%、阳性预测值 56.11%、阴性预测值 100.00%。HCV - Ab (ELISA) 检出率 (36.43%) 明显高于核酸检出率 (20.44%)。二者之间差异经配对 *t* 检验有显著性 ($\chi^2 = 248.0, P = 0.0000$)；对两种检测结果进行关联度分析,两种检测结果明显相关,其 $r = 0.6696 (\chi^2 = 691.9, P = 0.0000)$ 。若以 HCV - Ab 结果为金标准,则与 HCV - RNA (荧光定量 PCR) 检测结果一致性、灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值分别为 84.01%、56.11%、100.00%、100.00% 及 79.90%。此结果提示,由于检测原理及检测的病毒标志物不同,荧光定量 PCR 与 ELISA 法检测结果之间存在一定的差异,并不能完全吻合而取代,也许更重要的是相互补充 (表 4)。

表 4 HCV - Ab 与 HCV - RNA 检测结果分析

HCV - Ab (批发发产品)	HCV - RNA (金标准)		合计
	阳性	阴性	
阳性	317	248	565 (36.43%)
阴性	0	986	986
合计	317 (20.44%)	1234	1551

讨 论

HCV 感染的实验室检查是丙型肝炎诊断的重要依据,所以检测方法的选择非常重要。HCV 感染通常是持续性的终生感染,抗体检测是一个非常有效的方法,但由于存在“窗口期”及“静默感染”,此期检测不到相应的抗体,所以仍然有输血后丙肝的发生^[4-6]。国外资料报道 ELISA 法检测 HCV 核心抗原相比检测 HCV 抗体缩短窗口期平均 58.2 天,仅比 RT - PCR 检测 HCV - RNA 多 0.24 ~ 3.33 天,而抗体出现则比检测到 HCV - RNA 晚 28 ~ 140 天^[7]。反转录多聚酶链反应 (RT - PCR) 是一个很敏感的方法。HCV - RNA 可以在暴露后的 1 ~ 2 周被检出^[8]。另外,在一些 HCV 感染后恢复期的人群中,抗 HCV 可能会逐渐降低到检测限之下,或免疫功能低下的 HCV 感染者,抗 HCV 会持续阴性,这时, HCV - RNA 的检测是感染的唯一证据^[9]。故使用 RT - PCR 技术检测 HCV - RNA 是判断感染最有效的方法。但其技术复杂、条件要求较高,不易在多数实验室推广。HCV 抗原 (HCV - Ag) 包括核心抗原 (HCV - CAg)、NS5、NS3 及 NS4 等,是 HCV 感染者体内出现的早期感染标志,其消长趋势与 HCV - RNA 有明显的一致性,具有早期诊断的重要价值^[7]。HCV - Ag 或 HCV

- CAg 的检测有助于评价 HCV 在细胞中的表达情况。ELISA 法较 PCR 法简便、快速,其方法简单、影响因素少、重复性好。因此,在不具备 RNA 检测条件的实验室开展 HCV - CAg 检测或 HCV - Ag 检测是很好的筛查方法。

本研究在 1551 份血清或血浆样品中,共检出 HCV - Ab 阳性样品 565 份 (阳性率为 36.43%)、HCV - RNA 阳性样品 317 份 (阳性率为 20.445%),2 种试剂检出率显示差异有统计学意义 ($\chi^2 = 97.437, P = 0.000$)。HCV - RNA 较 HCV - Ab 检出率低,原因是由于本实验采集的样品部分为特殊样品,且在 HCV 的 3 种标志物中,RNA 不稳定,而核酸的稳定性较抗体差,导致在进行 RT - PCR 检测时,样品的检出率降低^[10,11]。

在 317 份 HCV - Ab 和 HCV - RNA 双阳性样品及 984 份 HCV - Ab 和 HCV - RNA 双阴性样品,HCV - Ag 及 HCV - CAg 2 种标志物检测结果检出率差异皆无统计学意义,由此说明 HCV - Ag 检测与 HCV - CAg 检测结果有高度的相关性。但在 565 份 HCV - Ab 阳性样品中检出 48 份 HCV - Ag (检出率为 8.50%),23 份 HCV - CAg (检出率为 4.07%),2 种试剂检出率有明显差异 ($\chi^2 = 9.393, P = 0.0022$)；在 248 份 HCV - Ab 阳性、但 HCV - RNA 阴性的样品中,未检测出 HCV - CAg 阳性样品,而 HCV 抗原检测试剂检出 14 份,阳性率达 5.65%,2 种试剂检出率有明显差异 ($P = 0.000$)。可能是因为 HCV - Ag 检测试剂所使用的抗体为 HCV 多表位复合抗原的多克隆抗体,除 C 表位外,尚有 NS3、NS5 等多个表位,相对于 HCV 核心抗原的单克隆而言,捕获能力强、检测灵敏度提高。

综合比较分析,HCV 的抗原、抗体及核酸标志物之间是相互关联的,任何单一标志物的检测均存在漏检风险,HCV - CAg 试剂与 HCV - Ag 试剂可作为 HCV - Ab 检测的补充试剂,可联合应用于临床检测及血源筛选,但其灵敏度有待提高^[12]。

参考文献

1 付涌水. 丙型肝炎病毒感染的流行病学 [J]. 中国输血杂志, 2009, 22 (11): 873 - 875

2 杨朝国, 陈川. 丙型肝炎病毒感染的实验室检测及临床应用 [J]. 国外医学·临床生物化学与检验学分册, 2004, 25 (4): 379 - 381

3 Krajden M, Shivji R, Gunadasa K, et al. Evaluation of the core antigen assay as a second - line supplemental test for diagnosis of active hepatitis C virus infection [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42 (9): 4054 - 4059

- 4 Legrer TJ, Riggert J, Simson G, *et al.* Testing of individual blood donations for HCV RNA reduces the residual risk of transfusion - transmitted HCV infection[J]. *Transfusion*, 2000, 40(10):192 - 197
 - 5 Widell A, Molnégren V, Pieksma F, *et al.* Detection of hepatitis 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
 - 6 Icardi G, Ansaldi F, Bruzzone BM, *et al.* Novel approach to reduce the hepatitis C virus(HCV) window period clinical evaluation of a new enzyme - linked immunosorbent assay for HCV core antigen[J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(9):3110 - 3114
 - 7 Laperche S, Le Marrec N, Simon N, *et al.* A new HCV core antigen assay based on disassociation of immune complexes: an alternative to molecular biology in the diagnosis of early HCV infection[J]. *Transfusion*, 2003, 43(7):958 - 962
 - 8 Busch MP, Kleinman SH, Jackson B, *et al.* Nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion - transmitted infectious diseases [J]. *Transfusion*, 2000, 40(2):143 - 159
 - 9 Alter HJ, Seeff LB. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long - term outcome [J]. *Semin Liver Dis*, 2000, 20(1):17 - 35
 - 10 龙润乡, 李华, 崔萍芳, 等. 丙型肝炎病毒 3 种标志物的稳定性 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2009, 22(5):468 - 469
 - 11 刘长利, 任芙蓉, 吕秋霜, 等. 不同处理和保存条件下体外 HCV RNA 稳定性研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2006, 14(6):1238 - 1243
 - 12 刘杰平, 张贺平. 丙肝病毒核心抗原与丙肝病毒抗体检测的相关性 [J]. *海南医学*, 2008, 19(10):152 - 153
- (收稿: 2011 - 10 - 15)
(修回: 2011 - 10 - 20)

足踝部腱鞘巨细胞瘤的临床分型、分期与治疗

张 宇 栗向东 王 臻 郭 征 李 靖 范宏斌 刘 军 朱伟军

摘 要 **目的** 总结足踝部腱鞘巨细胞瘤临床特点与治疗、预后之间的关系, 建立一种能指导诊断、治疗、预测预后的临床分型、分期方法。**方法** 回顾性分析 1984 ~ 2009 年期间 21 例足踝部腱鞘巨细胞瘤住院患者的临床资料及随访结果, 据此对足踝部腱鞘巨细胞瘤进行临床分型、分期。**结果** 21 例患者以男性居多, 患者平均年龄为 38.0 岁, 肿瘤好发于右足 (71.4%) 以及滑膜关节周围 (81.0%), 半数以上患者以无痛性肿物为主要症状 (61.9%), X 线检查对关节受肿瘤侵犯的检出率低 (66.7%), 但 MRI 非常敏感 (100%), 病理检查提示大部分肿瘤细胞增生活跃 (52.4%)。根据肿瘤的生物行为可将其分为两型: A 型位于足踝部腱鞘周围; B 型位于足踝部大关节周围。其中 B 型又划分为 I 期: 局限于包膜内; II 期: 突破包膜局部浸润; III 期: 弥漫侵袭并进入关节腔。21 例病例中 A 型 4 例, B 型 17 例 (I 期 6 例, II 期 9 例, III 期 2 例)。对 A 型和 B 型 I 期患者行边缘切除, B 型 II 期给予灶内切除和术后放疗, III 期在扩大切除的基础上辅以放疗。对所有病例经过平均 119.6 个月的随访, 仅 1 例 B 型 III 期患者于术后 9 月复发并恶性变, 其余患者功能恢复满意。**结论** 足踝部的腱鞘巨细胞瘤包含生物学行为特点不同的两种亚型, 根据临床资料对肿瘤进行分型、分期, 可以很好地指导治疗和改善预后。

关键词 腱鞘巨细胞瘤 足踝 临床分型与分期 手术治疗 辅助治疗

Classification and Treatment of Giant Cell Tumor of Tendon Sheath in the Foot and Ankle. Zhang Yu, Li Xiangdong, Wang Zhen, Guo zheng, Li Jing, Fan Hongbin, Liu Jun, Zhu Weijun. *Institute of Orthopedic Surgery, Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Shanxi 710032, China*

Abstract Objective To describe the clinical classification and staging of the giant cell tumors of the tendon sheath (GCTTS) in the foot and ankle which can direct the diagnosis, treatment and forecast the prognosis. **Methods** We collected 21 cases whose feet and ankles were affected by GCTTS and treated in our hospital from 1984 to 2009. Their clinical features were retrospectively analyzed and the follow - up were conducted. By correlating the clinical features with the treatments and follow - up, the GCTTS of foot and ankle can be divided into different subtypes and stages. **Results** The mean age of the group was 38.0 years. The tumor tended to affect right foot (71.4%) and around synovial joints (81.0%). The majority of the patient bear a asymptomatic neoplasm (61.9%) and the X - ray showed a low rate of bone erosion (66.7%). MRI could sensitively detect bone destruction (100%). Pathology analysis showed active

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31170914)

作者单位: 710032 西安, 第四军医大学西京医院骨肿瘤科

通讯作者: 栗向东, 电子信箱: xdlmail@yahoo.com