

抗 HCV 筛查血液透析患者丙型肝炎病毒感染的风险

章武战¹ 陈俊华¹ 刘生华² 陈海君³

1.浙江省金华文荣医院检验科,浙江金华 321000; 2.浙江省金华文荣医院肾内科,浙江金华 321000; 3.浙江省金华市中心医院感染科,浙江金华 321000

[摘要] 目的 研究单测丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)的模式与血液透析患者中丙型肝炎病毒(HCV)漏检率的关系,探讨丙型肝炎病毒核心抗原(HCV-cAg)检测作为降低血液透析患者丙型肝炎病毒感染风险的可行性。方法 经 ELISA 法检测抗-HCV 均为阴性的 181 例血液透析患者作为研究对象,分别于 90 d、180 d 同时 ELISA 法检测抗-HCV 和 HCV-cAg,其阳性标本采用荧光定量逆转录聚合酶链反应法(RT-PCR)进行 HCV-RNA 确认。结果 181 例血液透析组中 HCV 漏检 9 例(漏检率 4.97%),外科手术组 HCV 漏检 1 例(漏检率 0.55%),差异有统计学意义($P<0.05$);11 例 HCV 核心抗原阳性标本确认 10 例 HCV-RNA 阳性,阳性符合率 90.9%(10/11)。随访对象第 90 天、180 天,联合检测(抗-HCV 和 HCV-cAg)阳性率分别为 5.52%和 6.08%,抗原抗体同时出现阳性的比率分别为 30%和 36%。结论 联合 HCV-cAg 检测有益于提高血液透析患者的阳性检出率,降低透析进程中患者之间丙型肝炎病毒交叉感染的风险。

[关键词] 丙型肝炎;血液透析;病毒抗体;核心抗原

[中图分类号] R459.5

[文献标识码] B

[文章编号] 1673-9701(2015)09-0100-04

Risk of anti HCV screening for hepatitis C virus infection in hemodialysis patients

ZHANG Wuzhan¹ CHEN Junhua¹ LIU Shenghua² CHEN Haijun³

1.Clinical Laboratory, Wenrong Hospital of Jinhua City in Zhejiang Province, Jinhua 321000, China; 2.Department of Nephrology, Wenrong Hospital of Jinhua City in Zhejiang Province, Jinhua 321000, China; 3.Department of Infection Diseases, the Central Hospital of Jinhua City in Zhejiang Province, Jinhua 321000, China

[Abstract] **Objective** To study the correlation between patterns of single test of hepatitis C virus antibody(anti -HCV) and miss rate of hepatitis C virus(HCV)in hemodialysis patients, to explore the core antigen of hepatitis C virus (HCV-cAg) detection as the feasibility to reduce the risk of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. **Methods** Selected 181 hemodialysis patients as the research subjects, whose anti-HCV tests were shown as negative through the method of ELISA. In 90 days and 180 days, ELISA method was used to detect the anti-HCV and HCV-cAg. Positive samples by fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR)were detected by HCV-RNA. **Results** HCV had 9 cases missed detection in 181 hemodialysis group (miss rate 4.97%); Surgical operation group was 1 case (miss rate 0.55%).The difference of the two groups by χ^2 test was significant($P<0.05$); 11 cases of HCV core antigen positive samples were confirmed to 10 cases of HCV-RNA positive, the positive coincidence rate was 90.9%(10/11). Subjects were followed up for the 90th day and the 180th day, the combined detection of anti-HCV and HCV-cAg positive rates were 5.52% and 6.08%. The antigen and the antibody appeared at the same time the positive rates were 30% and 36%. **Conclusion** Combined detection of HCV-cAg is helpful to improve the positive rate of hemodialysis patients, and reduce the risk of hepatitis C virus infection.

[Key words] Hepatitis C virus; Hemodialysis; Virus antibody; Core antigen

血液透析作为目前治疗终末期肾脏疾病的一种重要手段,其患者经血液系统的开放性治疗,罹患感染性疾病的风险远高于其他人群。病毒性肝炎是维持

[基金项目] 浙江省医学会临床科研基金项目(2013ZYC-A119)

性血液透析的主要并发症之一,而由于缺少疫苗,患者免疫力低下且需要输血治疗,血液透析患者是感染丙型肝炎病毒(HCV)的高危易感人群^[1]。近年来不断加强的输血前感染检测以及对供血者实行血清抗-

HCV 抗体的筛选,输血引起的 HCV 感染明显减少。透析患者之间的医院内感染或许会成为主要途径,这可能与患者免疫功能低下、透析单位管道冲洗不彻底、透析器及管路复用等因素有关。因此减少医院交叉感染,首要应早期诊断。维持血液透析患者每半年进行实验室感染性指标检测,实行阴阳区分机,目前是血透前的常规程序,但对于丙型肝炎感染指标的检测,大多实验室往往是检测丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV),阳性再测 HCV-RNA 的模式。本文我们对抗-HCV 阴性的患者血清重新再用 ELASA 方法检测丙型肝炎病毒核心抗原(HCV-cAg),最后检测 HCV-RNA 进行确认,以此探讨单测 HCV 抗体模式是否存在漏检的风险以及应开展的控制措施。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2013年5~9月来我院行血液透析的患者,经过透前常规抗-HCV检测。将抗-HCV阴性的血清标本置-30℃保存,共181例,再分别于透析期90d、180d跟踪随访抽取血标本,同样条件下保存。年龄18~82岁,其中男98例,女83例;对照组选取同时段、同数量的抗-HCV阴性的外科手术前患者181例,标本在同样条件下保存。年龄20~79岁,其中男101例,女80例,两组患者的性别、年龄比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表1。

表1 两组患者的性别、年龄比较

组别	n	性别(男/女)	平均年龄($\bar{x}\pm s$,岁)
血液透析组	181	98/83	47.8±11.0
外科手术组	181	101/80	48.5±12.4
χ^2 值		1.004	1.081
P		>0.05	>0.05

1.2 HCV-cAg 检测

采用山东莱博生物科技有限公司的丙型肝炎病毒核心抗原检测试剂盒检测 HCV 核心抗原。试剂批号:201309001,注册证号:国食药监械(准)字 2011 第 3401278,严格按说明书要求操作。

1.3 抗-HCV 检测

采用厦门英科新创科技有限公司的丙型肝炎病毒抗体诊断试剂盒检测抗-HCV 抗体。试剂批号:2013015804,注册证号:国药准字S10950055,严格按说明书要求操作。

1.4 HCV-RNA 检测

HCV 核心抗原阳性的标本再采用荧光定量逆转录聚合酶链反应法(RT-PCR)进行确认。试剂批号:201301063,注册证号:国食药监械(准)字 2013 第 3400644,严格按 PCR 技术操作流程。

1.5 统计学方法

所有资料采用 SPSS 12.0 软件进行分析。研究对象性别比较采用 χ^2 检验,年龄符合正态分布以($\bar{x}\pm s$)表示,两组间年龄比较采用 t 检验。实验结果漏检率采用独立样本 χ^2 检验的四格表校正法,两种方法阳性率变化比较采用 Fisher 精确概率法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组抗-HCV 抗体阴性调查对象中 HCV-cAg 检测结果及漏检率

见表2。362例抗-HCV阴性的患者中单测抗-HCV漏检率为2.76%(10/362),而HCV-cAg检测能捕获到漏检。

2.2 181例随访对象不同时期的抗-HCV及HCV-cAg检测结果及阳性率的变化

见表3。11例HCV核心抗原阳性标本确认10例HCV-RNA阳性,阳性符合率90.9%(10/11)。抗-HCV检测阳性率随着透析时间的延长而升高,180d后升高明显。与抗-HCV检测比较,HCV-cAg在早期检测优势明显。联合检测阳性率、双阳率也随透析进程在逐步提高。

表2 两组抗-HCV 抗体阴性调查对象中 HCV 检测结果及漏检率

组别	n	HCV-cAg		HCV-RNA 阳性	漏检率 (%)
		阳性	阴性	确认例数	
血液透析组	181	9	172	9	4.97
外科手术组	181	2	179	1	0.55
χ^2 值		5.04			
P		<0.05			

表3 181例随访对象不同时期的抗-HCV及HCV-cAg检测结果及阳性率的变化

时间	n	抗-HCV检测	HCV-cAg	双阳	联合测
		阳性率(%)	检测阳性率(%)	占比(%)	阳性率(%)
0	181	0	4.97(9/181) ^①	0	4.97
90 d	181	1.7(3/181)	5.52(10/181)	30(3/10)	5.52
180 d	181	2.2(4/181)	6.08(11/181)	36(4/11)	6.08

注:①两种方法阳性率比较, $P=0.004$

3 讨论

丙型肝炎是由丙型肝炎病毒感染引起的一种重要的世界性传染病,主要经血液及血制品传播,也易发院内感染。丙型肝炎病毒慢性感染可导致肝脏慢性

炎症坏死和纤维化,部分患者可发展为肝硬化甚至肝癌。1989年 Michael Houghton 等利用分子克隆技术发现了丙型肝炎病毒(HCV)。丙型肝炎病毒具有显著异源性和高度可变性,在同一患者不同时期以及同型各株间,甚至表现在分离克隆之间、基因序列之间都会出现差异,这将导致编码产物发生变化,其抗原型发生改变^[2]。HCV 抗体检测所使用的 HCV 基因重组抗原质量差异、不同的抗原片段包被比例以及非选择性的广谱抗 IgG 酶标抗体,会导致 HCV 抗体检测的灵敏度和特异性存在差异。由于医院发生丙型肝炎感染的纠纷经常发生,早检出和早防治刻不容缓,不断改进的 HCV 抗体检测以及核心抗原检测也是目前研究的重点方向。

抗-HCV 不是保护性抗体,是 HCV 感染的标志。目前 HCV 抗体检测还是诊断丙型肝炎的主要血清学指标,但因感染后抗-HCV 出现较慢,在血清中出现可延迟几个月才能被检测到,即所谓的窗口期,故早期诊断丙型肝炎感染有困难。在临床上,慢性丙型肝炎的患者抗-HCV 多为阳性,但在免疫抑制的患者,如 HIV 感染者、实体器官移植受者、低丙种球蛋白血症或者血液透析患者中往往会出现抗-HCV 阴性,导致漏诊发生。

开展 HCV-cAg 检测具有早期诊断的应用价值^[3],本实验检测采用基因重组表达的丙型肝炎病毒核心区抗原免疫制备的抗 HCV-cAg 抗体包被酶标板孔,以双抗体夹心酶联免疫法检测人血清中 HCV 核心抗原,酶标仪以临界值(CUT OFF)判断 HCV 抗原阳性。本文结果显示,362 例抗-HCV 阴性的患者中有 10 例 RT-PCR 确认为阳性,单测抗-HCV 未检出率为 2.76%,且血液透析组 4.97%明显高于外科手术组 0.55%,表明血液透析患者单测抗-HCV 存在明显的 HCV 阳性漏检。虽然透析进程时间的延长,抗-HCV 阳性检出例数也会逐步增加,但是单测抗-HCV 与 HCV-cAg 比较,181 例随访对象中还是出现 9 例漏检,且在透析初期差异更加明显,显示采用 HCV-cAg 的检测方法,其早期捕获能力明显高于单测抗-HCV 方法。

PCR 方法检测 HCV-RNA 灵敏度高,是反映体内丙型肝炎病毒活动的直接证据,因此可作为诊断丙型肝炎的“金标准”。人在感染 HCV 1~2 周,其血清中就能检测到 HCV-RNA,反映病毒的复制与传染性,也是病毒血症的标志。但 HCV-RNA 检测对人员、技术、环境、仪器设备及成本要求较高,无法获得全面开展。HCV-cAg 是丙型肝炎病毒基因编码的结构蛋白之一,其氨

基酸序列比较保守,使检测 HCV-cAg 相对稳定可靠。有研究表明其在血清中的滴度与 HCV-RNA 水平、动力学变化密切相关,可以作为病程进展或抗病毒治疗的疗效监测指标^[4]。但本次 11 例 HCV-cAg 阳性结果中有 1 例 HCV-RNA 结果为阴性,显示两者并不是 100% 完全相关,可能是 HCV-cAg 检测试剂还需要进一步完善,避免假阳性发生。

HCV-cAg 作为丙型肝炎感染者早期标志物,与 HCV-RNA 几乎同时出现。HCV-cAg 检测能够弥补抗-HCV 抗体检测的不足,明显提高 HCV 检出率,本文结果显示 HCV-cAg 具有早期检测意义且与 RT-PCR 的阳性符合率为 90.9%。文献报道,HCV-cAg 阳性样品中 HCV-RNA 阳性率为 85% 以上,两者之间密切相关^[5-7]。HCV-cAg 检测阳性能较 HCV 抗体检测提前 14~68 d,平均 35.2 d^[7,8],可以减少因窗口期造成的漏检^[9-14]。文献表明 HCV-cAg 检测有推广的可行性,有利于丙型肝炎的早期诊断,提高血液透析患者 HCV 的检出率,降低血液透析交叉感染的风险。血液透析患者单测抗-HCV 存在较高的 HCV 阳性漏检风险,可能原因是:①抗-HCV 试剂还不够敏感;②血液透析患者免疫力低下或免疫受抑状态,抗体浓度较低甚至缺失,病程期内不易检测到抗-HCV 抗体;③患者处于窗口期,HCV 抗体产生有较明显的窗口期,平均为 70 d,抗-HCV 阴性并不能排除携带 HCV 或传染的可能。因此,在血液透析患者中不能只检测抗-HCV 抗体,否则存在漏检的可能^[15]。

维持血液透析患者中 HCV 感染率文献报道不尽相同,但普遍高于健康人群,且随着透析次数的增加,感染率显著升高。本文已剔除初检抗-HCV 阳性患者,将抗-HCV 阴性患者作为研究对象,从另一侧面反映透析进程对 HCV 感染率的影响。本研究显示透析时间持续越长,HCV 阳性率升高。任南等^[16]报道不同透析持续时间患者 HCV 感染率,大于 3 年的感染率是小于 1 年的 24 倍。可见血液透析前 HCV 准确检测之重要,明显可以降低医疗风险。

HCV 漏检会涉及到医院性感染的责任问题,联合 HCV-cAg 检测就很有必要,会更有利于窗口期更长、免疫受抑的血液透析患者的筛选。并且开展 HCV-cAg 的 ELISA 检测,其操作与目前检测 HCV 抗体类似。操作简便,成本相对较低,而且无特殊设备要求,基层实验室均能开展,宜于普及筛查。联合检测抗-HCV 抗体和 HCV-cAg 可起到互补作用,提高阳性检出率^[17],比单测抗-HCV 抗体更能降低这些风险。血液透析医

院加强患者透析前的严格筛查分级、做好基础卫生防护、严格遵守感染控制措施、执行严格的规范操作、开展针对医护人员和病人的教育计划、手部卫生、透析机的维护和消毒、医疗物品一次性使用和废弃物的管理等对降低血透患者丙型肝炎感染率也是非常重要的。

[参考文献]

- [1] 庄辉. 重视丙型肝炎的研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(2): 65-66.
- [2] 尹桂兰. 病毒性肝炎防治新进展[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2005: 173.
- [3] 元顺女, 李春姬. HCV-cAg 检测在丙型肝炎早期诊断中的应用价值[J]. 吉林医学, 2014, 35(13): 2889-2991.
- [4] Weiss J, Wu H, Farrenkopf B, et al. Real time TaqMan PCR detection and quantitation of HBV enotypes A-G with the use of an internal quantitation standard[J]. J Clin Virol, 2004, 30(1): 86-93.
- [5] Nubling C M, Unger G, Chudy M, et al. Sensitivity of HCV core antigen And HCV RNA detection in the early infection phase[J]. Transfusion, 2002, 42(8): 1037.
- [6] 周艳, 王薇. 丙肝病毒核心抗原检测对于丙型肝炎诊断的价值[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(2): 69-70.
- [7] 许方, 李晓兰, 祝琳. 丙肝病毒核心抗原检测对于丙型肝炎诊断的价值[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(5): 713-715.
- [8] 关伟, 高艳, 周云芳. 2492 例住院患者丙肝抗体检测与分析[J]. 哈尔滨医药, 2005, 25(4): 14.
- [9] Daniel HD, Vivekanandan P, Raghuraman S, et al. Significance of the hepatitis C virus (HCV) core antigen as an alternative plasma marker of active HCV infection[J]. Indian J Med Microbiol, 2007, 25(1): 37-42.
- [10] Severi T Vander Borgh S, Libbrecht L, et al. HBx or HCV core gene expression in HepG2 human liver cells results in a survival benefit against oxidative stress with possible implications for HCC development[J]. Chemico-Biological Interactions, 2007, 168(2): 128-134.
- [11] Neaigus A, Gyarmathy VA, Zhao M, et al. Sexual and other noninjection risks for HBV and HCV seroconversions among noninjecting heroin users[J]. J Infect Dis, 2007, 195(7): 1052-1061.
- [12] Shang G, Seed CR, Wang F, et al. Residual risk of transfusion-transmitted viral infections in Shenzhen, China, 2001 through 2004[J]. Transfusion, 2007, 47(3): 529-539.
- [13] Ouyang Y, Tan DM, Li TG, et al. Qualitative detection of hepatitis C virus core antigen in the serum in patients with chronic hepatitis C[J]. J Centr South University (Med Sci), 2006, 31(6): 894-896, 905.
- [14] Bhatti FA, Ullah Z, Salamat N, et al. Anti-hepatitis B core antigen testing, viral markers, and occult hepatitis B virus infection in Pakistani blood donors: Implications for transfusion practice[J]. Transfusion, 2007, 47(1): 74-79.
- [15] 吴荣辉. 丙型肝炎病毒核心抗原在血液透析患者中的检测和应用[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2009, 23(3): 233.
- [16] 任南, 文细毛, 吴安华. 全国医院感染监测网对持续血液透析患者丙型肝炎病毒感染现状调查[J]. 中国感染控制杂志, 2011, 10(6): 412-415.
- [17] 刘潇, 陈佳琪. 联合检测丙肝病毒核心抗原在丙型肝炎早期诊断中的价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(2): 316-317.

(收稿日期: 2014-11-25)

(上接第 99 页)

- [9] 东野, 藏奎, 夏勇, 等. 原发性高血压病人颈动脉内膜中层厚度及斑块检测的临床意义[J]. 江苏医药, 2005, 31(2): 250-251.
- [10] 杨照勇, 李雯, 林祥华, 等. 吡格列酮对 2 型糖尿病患者胰岛素抵抗的影响[J]. 山东医药, 2005, 45(31): 48-49.
- [11] Howard N, Hodis, Wendy J, et al. Effect of peroxisome proliferator-activated receptor γ agonist treatment on subclinical atherosclerosis in patients with insulin-requiring type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2006, 29(7): 1545-1553.
- [12] 刘宏宇. 二甲双胍联合吡格列酮治疗 2 型糖尿病疗效观察[J]. 中国现代医生, 2014, 52(3): 49-50.

(收稿日期: 2014-12-24)