

[3] Ferreiros ER, Boissonnet CP, Pizarro R, et al. Independent prognostic value of elevated C-reactive protein in unstable angina[J]. *Circulation*, 1999, 100(19):1958-1963.

[4] Poudeltandukar K, Nanri A, Matsushita Y, et al. Dietary intakes of alpha-linolenic and linoleic acids are inversely associated with serum C-reactive protein levels among Japanese men[J]. *Nutrition Research*, 2009, 29(6):363-370.

[5] Makita S, Nakamura M, Satoh K, et al. Serum C-reactive protein levels can be used to predict future ischemic stroke and mortality in Japanese men from the general population[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 204(1):234-238.

[6] Okita K, Nishijima H, Murakami T, et al. Can exercise training with weight loss lower serum C-reactive protein levels[J]. *Arterios Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(10):1868-1873.

[7] Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE, et al. C-reactive

protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries[J]. *Arterios Thromb Vasc Biol*, 2003, 90(16):163001.

[8] Ziemann SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness[J]. *Arterios Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(5):932-943.

[9] Finn AV, Nakazawa G, Joner M, et al. Vascular responses to drug eluting stents importance of delayed healing[J]. *Arterios Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(7):1500-1510.

[10] Nakazato K, Misaka T, Sakamoto N, et al. Worsening late-acquired incomplete stent apposition after sirolimus-eluting stent implantation for a chronic total occlusion lesion[J]. *Cardiovascular Intervention & Therap*, 2015, 30(1):1-7.

(收稿日期:2016-01-15 修回日期:2016-03-22)

• 经验交流 •

两种反转录荧光定量聚合酶链反应检测 HCV RNA 的对比分析

唐章平

(四川省德阳市罗江县人民医院检验科 618500)

摘要:目的 探讨常规反转录荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)与高精度 RT-qPCR 检测丙型肝炎病毒(HCV)RNA 的差异,为医院开展院内感染监控提供参考。方法 对 2014 年 1 月至 2015 年 12 月的 459 例住院受血者,采用两种 RT-qPCR 检测 HCV RNA,比较两种检测方法 RNA 阳性率的表达差异。结果 高精度 RT-qPCR 和常规 RT-qPCR 检测 HCV RNA 的阳性率分别为 3.70%(17 例)、1.74%(8 例),高精度 RT-qPCR 检测 HCV RNA 阳性表达明显高于常规 RT-qPCR 检测,差异有统计学意义($\chi^2=11.326, P<0.05$)。结论 合理应用高精度 RT-qPCR 对输血前患者进行 HCV RNA 检测,可以提高对 HCV RNA 的检出率,减少了医源性感染,提高了对受血者健康状况的判断能力。

关键词:丙型肝炎病毒; 高精度实时荧光定量聚合酶链法; 医源性感染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.12.064

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2016)12-1737-02

丙型肝炎病毒(HCV)是单股正链 RNA 病毒,近年来,我国丙型肝炎患者逐渐增多,一般人群 HCV 阳性率为 3.2%,可引起急性肝炎,或发展成慢性肝炎,严重者可发展成肝硬化,甚至肝癌^[1]。实验室检查主要包括免疫学及分子生物学检测,反转录荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)是目前采用较多的检测 HCV RNA 方法,是表示传染性及其复制病毒最可靠的指标,也是显示 HCV 感染状态及治疗效果的重要指标^[2-3]。本研究采用两种 RT-qPCR 检测 HCV RNA,比较两种检测方法 RNA 阳性率的表达差异。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院 2014 年 1 月至 2015 年 12 月的 459 例住院受血者,其中男 203 例,女 256 例,年龄 5~87 岁,平均(33.6±15.1)岁。

1.2 仪器与试剂 荧光定量 PCR 法均采用罗氏 Light Cycler * 480 II 实时荧光定量 PCR 仪,常规 RT-qPCR 采用上海科华生物工程股份有限公司生产的 HCV 核酸定量试剂盒(PCR-荧光探针法),检测的线性范围:10³~10⁷ IU/mL,高精度 RT-qPCR 采用罗氏诊断产品(上海)有限公司生产的丙型肝炎病毒核酸定量试剂盒(PCR-荧光探针法),检测的线性范围:1~15×10⁸ IU/mL,均严格按照说明书进行操作。每份阳性标本均重复检测 2 次。

1.3 检测方法 均在输血前抽取受血者静脉血,同时进行高精度 RT-qPCR 检测及常规 RT-qPCR 检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 软件进行数据处理及统计学分析,组间比较采用方差分析,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

高精度 RT-qPCR 和常规 RT-qPCR 检测 HCV RNA 的阳性率分别为 3.70%(17 例)、1.74%(8 例),高精度 RT-qPCR 检测 HCV RNA 阳性表达明显高于常规 RT-qPCR 检测,差异有统计学意义($\chi^2=11.326, P<0.05$)。

3 讨论

丙型肝炎是由 HCV 感染引起的一种主要经血液传播的传染性疾病,呈世界流行趋势,其感染途径可能有输血感染、密切接触、不良行为和吸毒等。随着《输血法》的完善,供血中心已严格监测血制品传染性指标,保障受血者的用血安全是各个血站的一项重要工作^[4]。但是,近年来人们发现经血液传播的 HCV 传染病越来越多见于非输血人群,医务人员对患者进行各项诊治工作时必须提高警惕,加强自身安全防护措施,而提高检测技术对 HCV 监测的灵敏度和特异性是最行之有效的解决医院交叉感染和避免医患矛盾的途径之一。

自 1989 年科学家发现 HCV 以来,已建立了针对 HCV 抗

体、HCV RNA 和 HCV 抗原的各种检测方法,可定性和定量检测 HCV RNA,常见的方法有 RT-PCR 定性法、bDNA 检测技术、RT-qPCR 定量法等,其中 RT-qPCR 的基本原理是通过引物扩增并检测特异性 mRNA 来证实 HCV 的存在,具有高效率、高灵敏度、高特异度的优点,且操作简便,是检测 HCV RNA 比较有效的方法,也是预测和观察抗病毒效果的重要指标^[5]。常规 RT-qPCR 检测 HCV RNA 的线性范围为 $10^3 \sim 10^7$ IU/mL,而高精度 RT-qPCR 是 $(1 \sim 15) \times 10^8$ IU/mL^[6],后者灵敏度明显高于前者,这是因为高精度 RT-qPCR 是采用 COBAS HCV RNA 二代定量试剂,增加了针对 HCV 基因型 4 的探针和引物,即用靶基因特异的裂解双重标记寡核苷酸检测探针检测 HCV RNA,提高了检测灵敏度^[7]。高精度 RT-qPCR 还采用一已知数量的 HCV 定量标准(QS)RNA 分子,是一种非传染性体外转录 RNA(aRNA),组成并含有与 HCV 靶 RNA 完全相同引物结合位点的 HCV 序列片段,是一种独特的探针结合区,使 HCV QS 扩增子与 HCV 靶扩增子区分开,还有弥补抑制作用并控制制备和扩增过程,使每个标本中 HCV RNA 的定量更加准确^[8]。

本研究采用两种 RT-qPCR 检测 HCV RNA,比较了高精度 RT-qPCR 与常规 RT-qPCR 检测本院 459 例住院受血者 HCV RNA 阳性率的表达差异,结果发现,高精度 RT-qPCR 与常规 RT-qPCR 检测 HCV 抗体的阳性例数分别为 17 例(3.70%)、8 例(1.74%)。高精度 RT-qPCR 对 HCV 抗体 RNA 阳性表达率明显高于常规 RT-qPCR,其检测精度高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。因此,采用高精度 RT-qPCR 对输血前患者进行 HCV RNA 检测,可以提高对 HCV RNA 的检测率,但是,高精度 RT-qPCR 的试剂盒价格昂贵,导致检测费用大大高于常规 RT-qPCR,因此,笔者认为在临床应用中,监测 HCV RNA 定量时,可以先用常规 RT-qPCR 定量试剂检测,当 HCV RNA 浓度下降到 10^3 以下时,再用高精度 RT-qPCR 定量检测,是比较合理适用的检测流程。

本研究资料表明,为了预防输血引起的医疗纠纷,明确输血事故的责任,杜绝和减少医疗机构的损失,首先应严格控制血液制品的质量,同时认真检测患者输血前血液传染性指标。

合理应用常规和高精度 RT-qPCR,可明显提高对 HCV RNA 的检出率,有助于为医疗纠纷提高可靠举证和防止院内感染。

参考文献

- [1] 李蓉. 丙肝抗-HCV 检测与荧光定量 PCR HCV-RNA 检测结果对比分析[J]. 临床医学,2015,35(5):110-111.
- [2] 王文博,许刚,查占山,等. 献血者 HCV RNA 实时荧光定量 PCR 方法的建立[J]. 中国输血杂志,2012,25(4):351-353.
- [3] 叶贤林,李活,许晓绚,等. 核酸扩增技术在献血者血液 HBV DNA、HCV RNA 及 HIV-1RNA 筛查中的应用研究[J]. 中国输血杂志,2010,23(1):6-10.
- [4] 戴万案,邱妮妮,陈丽艳,等. 荧光定量 PCR 法与微粒子酶免分析法同步检测血液传播性疾病的对比分析[J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(5):1214-1216.
- [5] Schmid M, Scifried E. Improving blood donor screening by nucleic acid technology (NAT) [J]. ISBT Science Series, 2010, 5(1): 219-229.
- [6] 孙梅,谈国蕾,王建芳,等. 罗氏 COBAS HCV RNA 定量一代和二代检测试剂对 556 例丙型肝炎患者 HCV RNA 定量检测结果的比较[J]. 临床肝胆病杂志,2014, 30(12):1315-1317.
- [7] Chevalifz S, Bouvier-Alias M, Rodriguez C, et al. The Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HCV test, version 2.0, real-time PCR assay accurately quantifies hepatitis C virus genotype 4 RNA [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(4): 1078-1082.
- [8] Zitaer H, Heilek G, Truchon K, et al. Second-generation Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HCV quantifies test for viral load monitoring: a novel dual-probe assay design [J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(2): 571-577.

(收稿日期:2016-01-10 修回日期:2016-03-15)

(上接第 1671 页)

- [20] Otter JA, French GL. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Europe [J]. Lancet Infect Dis, 2010, 10(4): 227-239.
- [21] Chuang YY, Huang YC. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Asia [J]. Lancet Infect Dis, 2013, 13(8): 698-708.
- [22] Nimmo GR, Coombs GW. Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Australia [J]. Intern J Antimicrob Agents, 2008, 31(5): 401-410.
- [23] Shambat S, Nadig S, Prabhakara S, et al. Clonal complexes and virulence factors of Staphylococcus aureus from several cities in India [J]. BMC Microb, 2012, 12(1): 64.
- [24] Monecke S, Coombs G, Shore AC, et al. A field guide to pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant Staphylococcus aureus [J]. PloS One, 2011, 6(4): e17936.
- [25] Kock R, Brakensiek L, Mellmann A, et al. Cross-border

comparison of the admission prevalence and clonal structure of methicillin-resistant Staphylococcus aureus [J]. J Hosp Infect, 2009, 71(4): 320-326.

- [26] Kock R, Harlizius J, Bressan N, et al. Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) among pigs on German farms and import of livestock-related MRSA into hospitals [J]. Eur J Clin Microb Infect Dis, 2009, 28(11): 1375-1382.
- [27] Wassenberg MW, Bootsma MC, Troelstra A, et al. Transmissibility of livestock-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus (ST398) in Dutch hospitals [J]. Clin Microb Infect, 2011, 17(2): 316-319.
- [28] Pflingsten-Wurzburg S, Pieper DH, Bautsch W, et al. Prevalence and molecular epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in nursing home residents in northern Germany [J]. J Hosp Infect, 2011, 78(2): 108-112.

(收稿日期:2016-03-01 修回日期:2016-03-28)