

• 临床检验研究论著 •

## 丙型肝炎病毒抗体及核酸测定的诊断效能分析

谷娅楠, 孙芹敏, 姚冰洁, 李士军, 王 贞<sup>△</sup>

(大连医科大学附属第一医院检验科, 辽宁大连 116011)

**摘要:**目的 探讨丙型肝炎病毒(HCV)感染患者 HCV 抗体(HCV-Ab)、HCV 核糖核酸(HCV-RNA)水平的变化及其在诊断治疗中的意义。方法 随机收集临床诊断为 HCV 感染患者血清,采用化学发光微粒子免疫检测法测定 HCV-Ab,PCR-荧光探针法检测 HCV-RNA,同时检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)。根据 ALT、AST 水平以及 HCV-RNA 水平分别分为两组,分析比较两组间各指标的变化。同时收集 37 例临床抗病毒治疗患者的血清,分析治疗前后各指标的变化。结果 肝功异常组 HCV-Ab、RNA 载量对数值水平均高于肝功正常组( $P < 0.05$ )。HCV-RNA 阳性组 HCV-Ab、ALT、AST 水平均高于 HCV-RNA 阴性组( $P < 0.05$ )。HCV-Ab、RNA 载量对数值诊断丙型肝炎的 ROC 曲线下面积分别为 0.990、0.838。连续观察病例治疗后 ALT、AST、RNA 载量对数值水平均较治疗前下降( $P < 0.05$ );而 HCV-Ab 治疗前后差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 HCV-Ab 对于丙型肝炎的诊断效能优于 RNA 载量对数值。ALT、AST 及 HCV-RNA 检测在丙型肝炎治疗监测过程中有重要临床意义。

**关键词:**丙型肝炎病毒抗体; 核糖核酸; 诊断效能

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.18.011

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)18-2448-03

### Diagnostic performance of HCV antibody and RNA Determination

Gu Yanan, Sun Qinmin, Yao Bingjie, Li Shijun, Wang Zhen<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116011, China)

**Abstract:** Objective To explore changes of anti-HCV antibody and HCV-RNA in patients with HCV infection and its clinical significance in diagnosis and treatment of hepatitis C. **Methods** Serum samples from patients with HCV infection were collected. HCV antibodies were analyzed with a chemiluminescence micro-particle immunoassay method, while a PCR-fluorescent probe method was used to detect HCV-RNA. Concentrations of ALT and AST were also determined. Based on the concentrations of ALT, AST and HCV-RNA, samples were divided into two groups respectively and the changes of different indicators were analyzed and compared. Meanwhile samples from 37 HCV-infected patients were collected continuously. Different indicators after treatment were compared with those before treatment. **Results** HCV-Ab and logarithm values of RNA load in the group with abnormal concentrations of ALT and AST were significantly higher than those in the normal group ( $P < 0.05$ ). HCV-Ab, ALT and AST concentrations in HCV-RNA positive group were significantly higher than those in HCV-RNA negative group ( $P < 0.05$ ). The areas under receiver operating characteristic curve of HCV-Ab and logarithm values of RNA load were 0.990 and 0.838 respectively. Concentrations of ALT, AST and logarithm values of RNA load after treatment were significantly lower than those before treatment ( $P < 0.05$ ) while there was no significance between HCV-Ab level after treatment and that before treatment ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The diagnostic performance of HCV-Ab is better than that of logarithm values of RNA load. Determination of ALT, AST and HCV-RNA is of clinical importance in monitoring the effect of hepatitis C treatment.

**Key words:** hepatitis C virus antibody; ribonucleic acid; diagnostic performance

丙型肝炎病毒(HCV)是输血后以及散发性肝炎的主要病原体,是世界性的公共卫生难题,全世界约有 1.7 亿的 HCV 血清学阳性者面临患肝硬化、肝癌的风险<sup>[1]</sup>。尽管 HCV 能刺激机体产生有效的免疫反应,但 80% 的 HCV 感染者会进展成慢性丙型肝炎,只有 20% 的患者能有效清除病毒,自行恢复且不留任何后遗症<sup>[2]</sup>。显然,HCV 感染的宿主免疫状态对其预后起着重要作用。HCV 抗体(HCV-Ab)以及 HCV 核糖核酸(HCV-RNA)的检测是临床用来诊断 HCV 的关键指标,血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)能帮助临床医生判断患者肝脏损伤程度。本文通过检测 HCV 感染患者血清 HCV-Ab、HCV-RNA、ALT、AST 水平的变化,探讨了 HCV-Ab、HCV-RNA 的诊断效能及其在 HCV 患者临

床诊治过程中的意义。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 参考《欧洲肝病学会(EASL) HCV 感染诊治指南》<sup>[3]</sup>,收集了 2012 年 10 月 1 日至 2013 年 6 月 30 日于本院临床诊断为 HCV 感染(HCV-RNA 和 HCV-Ab 同时阳性,或者经过治疗 HCV-RNA 转阴但 HCV-Ab 仍为阳性)的患者血清,共 130 例,年龄 20~85 岁,平均 58.75 岁。其中,男 64 例,年龄 22~85 岁,平均 56.13 岁;女 66 例,年龄 20~83 岁,平均 55.95 岁。同时对 37 例经临床抗病毒治疗的患者进行连续观察,收集入院当日(治疗前)血清,出院前 1 日(治疗后)血清。排除标准:并自身免疫病的 HCV 感染者,合并有其他肝炎病毒标志物阳性的患者。按照血清 ALT、

AST 水平分为两组, ALT、AST 均正常为肝功正常组 ( $n=83$ ), ALT、AST 任一异常为肝功异常组 ( $n=47$ )。按照 HCV-RNA 水平分为两组, HCV-RNA  $\leq 500$  IU/mL 为 HCV-RNA 阴性组 ( $n=40$ ), HCV-RNA  $> 500$  IU/mL 为 HCV-RNA 阳性组 ( $n=90$ )。

**1.2 方法** HCV-Ab 的检测: 采用化学发光微粒子免疫检测法, 检测水平以样本检测值与截断值的吸光度比值 ( $S/CO$ ) 表示,  $S/CO \geq 1.0$  视为阳性, 试剂为雅培公司原装配套试剂盒。ALT、AST 的检测: 采用日本世诺公司商品试剂盒丙氨酸氨基转移酶测定试剂盒、天门冬氨酸氨基转移酶测定试剂盒及日本日立 7600-110 全自动生化分析仪。HCV-RNA 定量测定: 采用罗氏 LightCycler 480 II 实时荧光定量 PCR 系统及深圳凯杰生物工程有限公司的 HCV 核酸定量检测试剂盒, PCR-荧光探针法<sup>[4]</sup>, 检出限为 500 IU/mL, 对测定结果进行对数转换得到 RNA 载量对数值。上述项目均进行每日室内质控, 质控在控后进行日常标本测定。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用独立样本  $t$  检验; 非正态分布的计量资料以四分位数表示, 采用秩和检验 (Mann-Whitney  $U$  检验);  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

表 2 HCV-RNA 阴性组与阳性组 ALT、AST 的比较

比较项目	分组	n	四分位数			Z	P
			$P_{25}$	$P_{50}$	$P_{75}$		
ALT(U/L)	HCV-RNA 阴性组	40	14.00	23.00	30.75	-3.833	0.000
	HCV-RNA 阳性组	90	20.75	36.50	73.00		
AST(U/L)	HCV-RNA 阴性组	40	17.00	22.00	32.75	-4.272	0.000
	HCV-RNA 阳性组	90	25.75	32.50	61.25		

**2.3 HCV-Ab、RNA 载量对数值的 ROC 曲线分析结果** HCV-Ab、RNA 载量对数值诊断丙型肝炎的 ROC 曲线下面积分别为 0.990、0.838, 临界值分别为 8.06、2.96 (RNA = 910 IU/mL)。HCV-Ab 临界值处的灵敏度较高, 为 96.9%; RNA 载量对数值灵敏度较低, 为 69.2%; 特异度均为 100.0%。

**2.4 进行连续观察的患者各检测指标的比较** 进行连续观察的 37 例患者, 治疗后 ALT、AST、RNA 载量对数值水平均较治疗前显著下降 ( $P < 0.05$ ); 而治疗前后 HCV-Ab 水平差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

**3 讨论**

临床实践中经常发现 HCV 感染患者的抗体检测的  $S/CO$  值相差不大, 但肝功能损害、病毒复制情况却截然不同。这说明单纯用  $S/CO$  值、肝功能或 HCV-RNA 中的某一个指标来衡量患者的病情不够全面。本文通过检测 HCV 感染患者血清 HCV-Ab、HCV-RNA、ALT、AST 水平的变化, 发现四者的意义不尽相同。

ALT、AST 增高均能反映肝细胞损伤, 肝功能异常组 HCV-Ab、HCV-RNA 水平均显著高于肝功能正常组, 提示肝组织损伤程度较重的患者体内抗体水平较高、病毒复制活跃, 临床可根据 ALT、AST 结果间接判断患者机体免疫状态。国外有报道在 12 例血清 HCV-Ab 阳性、HCV-RNA 及 ALT 都正常的患者肝脏组织活检标本中, 通过原位荧光杂交, 10 例被

**2 结果**

**2.1 肝功正常组与肝功异常组 HCV-Ab、RNA 载量对数值的比较** 肝功异常组 HCV-Ab 水平高于肝功正常组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 肝功异常组 RNA 载量对数值水平高于肝功正常组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 肝功正常组与肝功异常组 HCV-Ab、RNA 载量对数值的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	HCV-Ab	RNA 载量对数值
肝功正常组	83	13.83 $\pm$ 2.57	4.60 $\pm$ 1.85
肝功异常组	47	14.90 $\pm$ 1.52	5.53 $\pm$ 1.47
t		-2.597	-3.151
P		0.010	0.002

**2.2 HCV-RNA 阴性组与阳性组 HCV-Ab、ALT、AST 水平的比较** HCV-RNA 阳性组 HCV-Ab 水平 (14.86  $\pm$  1.77) 高于 HCV-RNA 阴性组 (12.77  $\pm$  2.69), 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); HCV-RNA 阳性组 ALT、AST 水平高于 HCV-RNA 阴性组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

检出 HCV-RNA 的存在, 而且 12 例患者中有 6 例外周血单个核细胞中仍能检测出 HCV-RNA<sup>[5]</sup>。因此, ALT、AST 处于正常水平, 只能提示患者免疫功能较强, 但还不能完全清除病毒, 肝细胞、外周血单个核细胞仍有 HCV 病毒复制, 只是水平较低, 还达不到血清学的检出限。

《欧洲肝病学会 2011 年丙型肝炎诊治指南》中介绍 HCV-RNA 的最低检测限为 50 IU/mL 的实时定量 PCR 试剂是评估疗效的最好工具<sup>[3]</sup>, 但由于国内检测试剂的局限, 本文应用的 HCV 核酸定量检测试剂盒检出限为 500 IU/mL。HCV-RNA 阳性组 HCV-Ab 水平显著高于 HCV-RNA 阴性组, 说明病毒复制活跃的患者体内相应的抗体水平也高; HCV-RNA 阳性组 ALT、AST 水平亦明显高于 HCV-RNA 阴性组, 提示由于病毒复制活跃, 导致肝组织损伤程度较重。

由于 ALT、AST 对 HCV 诊断没有特异性, 故仅对 HCV-Ab、HCV-RNA 的诊断效能进行了评价, 发现 HCV-Ab、RNA 载量对数值诊断丙型肝炎的 ROC 曲线下面积分别为 0.990、0.838, 前者高于后者, HCV-Ab 的诊断效能优于 RNA 载量对数值, 并得出最佳临界值, 分别为 HCV-Ab 为 8.06、RNA 载量对数值为 2.96 (RNA = 910 IU/mL)。国内多数医院均采用 ELISA、化学发光法来检测 HCV-Ab。本实验室采用雅培公司仪器及原装配套试剂盒,  $S/CO \geq 1.0$  视为阳性, 1.0 ~ 5.0 为弱阳性,  $\geq 5.0$  为强阳性。国外有研究者用重组免疫印迹试验 (RI-

BA)作为金标准,来衡量罗氏、雅培、强生三家公司试剂的灵敏度,罗氏 Cobas e601 系统的戒断值为 200 S/CO,雅培 Architect i2000SR 系统为 5.0 S/CO,而强生 Ortho HCV 3.0 系统为 1.2 S/CO<sup>[6]</sup>。本实验室的标准与上述报道一致,但即便 HCV-Ab 检测的 S/CO $\geq$ 5.0,仍有一部分人群体内检测不到 HCV-RNA,临床医生一般建议随诊,不能轻易诊断为 HCV 感染。本实验发现 HCV-Ab 的最佳诊断临界值为 8.06,在这个临界值处的灵敏度为 0.969,特异度为 1.000,临床应用价值较大。

对于连续观察病例的分析发现,治疗后 ALT、AST、RNA 载量对数值水平均较治疗前明显下降,而 HCV-Ab 治疗前后差异无统计学意义。Maylin 等<sup>[7]</sup>发现患者经过治疗,HCV-RNA 持续阴性,针对 HCV 非结构区 NS3、NS4 及 NS5 蛋白的 HCV-Ab 也明显下降,而针对核心蛋白的 HCV-Ab 却依然强阳性。与本实验结果不完全一致,可能与 HCV-Ab 检测试剂的灵敏度、特异度有关。Maylin 等<sup>[7]</sup>采用的是 HCV 核心蛋白以及非结构域 NS3、NS4 及 NS5 蛋白作为检测抗原,而本实验室应用的是 HCr43 蛋白(HCV 非结构区 NS3 及部分核心区的编码产物)和 c100-3 抗原(HCV 非结构区 NS3、NS4 的编码产物)组成的复合抗原<sup>[8]</sup>,核心蛋白的成分较少。HCV-Ab 治疗前后差异无统计学意义可能与 HCV-Ab 的亲合力有关,HCV-RNA 的变异性很高,尽管宿主能与病毒共同进化<sup>[9-10]</sup>,但不容易产生有效的高亲和力中和抗体<sup>[11-12]</sup>。在对抗-HBc 亲和力与 HBV 感染的研究中发现,抗-HBs 阳性组抗-HBc 亲和力明显高于抗-HBs 阴性组,与 HBV 感染的预后关系密切<sup>[13-15]</sup>;还有研究者证实抗体亲和力高低能准确反映巨细胞病毒感染活动状况<sup>[16]</sup>。本实验检测的为非中和抗体,其亲和力高低可能影响实验结果。

参考文献

[1] Lemon SM, Walker C, Alter MJ, et al. Hepatitis c virus; in fields virology[M]. PA, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 1253-1304.  
 [2] Helle F, Duverlie G, Dubuisson J. The hepatitis C virus glycan shield and evasion of the humoral immune response[J]. Viruses, 2011,3(10):1909-1932.  
 [3] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines; management of hepatitis C virus infection[J]. J Hepatol, 2011,55(2):245-264.  
 [4] Maudar KK, Gandhi P, Mishra PK, et al. Novel approach for quantification of hepatitis C virus in liver cirrhosis using real-time reverse transcriptase PCR[J]. J Gastrointest Surg, 2012, 16(1):

142-146.  
 [5] Carreo V, Pardo M, López-Alcorocho JM, et al. Detection of hepatitis C virus (HCV) RNA in the liver of healthy, anti-HCV antibody-positive, serum HCV RNA-negative patients with normal alanine aminotransferase levels[J]. J Infect Dis, 2006, 194(1): 53-60.  
 [6] Kesli R, Ozdemir M, Kurtoglu MG, et al. Evaluation and comparison of three different anti-hepatitis C virus antibody tests based on chemiluminescence and enzyme-linked immunosorbent assay methods used in the diagnosis of hepatitis C infections in Turkey [J]. J Int Med Res, 2009, 37(5): 1420-1429.  
 [7] Maylin S, Martinot-Peignoux M, Ripault MP, et al. Sustained virological response is associated with clearance of hepatitis C virus RNA and a decrease in hepatitis C virus antibody[J]. Liver Int, 2009, 29(4): 511-517.  
 [8] Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes[J]. Semin Liver Dis, 1995, 15(1): 41-63.  
 [9] Rehermann B. Hepatitis C virus versus innate and adaptive immune responses: a tale of coevolution and coexistence[J]. J Clin Invest, 2009, 119(7): 1745-1754.  
 [10] Zhong J, Gastaminza P, Chung J, et al. Persistent hepatitis C virus infection in vitro; coevolution of virus and host[J]. J Virol, 2006, 80(22): 11082-11093.  
 [11] Gremion C, Cerny A. Hepatitis C virus and the immune system: a concise review[J]. Rev Med Virol, 2005, 15(4): 235-268.  
 [12] Bowen DG, Walker CM. Adaptive immune responses in acute and chronic hepatitis C virus infection[J]. Nature, 2005, 436(753): 946-952.  
 [13] Han Y, Wang B, Liu H. The novel use of a routine quantitative system to analyze the activity, content and affinity of an antibody to hepatitis B core antigen[J]. J Clin Virol, 2011, 52(4): 295-299.  
 [14] Liu H, Han Y, Wang B. Establishment of a new method for the detection of the affinity of antibody to hepatitis B e antigen by a routine quantitative system[J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(11/12): 1022-1025.  
 [15] Liu H, Han Y, Wang B. A simple method to measure antibody affinity against the hepatitis B surface antigen using a routine quantitative system[J]. J Virol Methods, 2011, 173(2): 271-274.  
 [16] 郑晓群, 余坚, 田可港, 等. IgG 抗体亲和力指数在儿童巨细胞病毒感染诊断中的意义[J]. 医学研究杂志, 2011, 40(3): 55-57.

(收稿日期: 2014-02-16)

(上接第 2447 页)

年革兰阳性菌耐药监测[J]. 中国临床药理学杂志, 2012, 28(12): 888-892.  
 [2] 李琴春, 罗燕萍, 杨继勇, 等. 249 株肠球菌属对抗菌药物的敏感性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(7): 855-857.  
 [3] 卢岩, 周秀珍, 安春丽. 肠球菌属医院感染的危险因素病例对照配比研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(4): 485-487.  
 [4] 杨自副, 王艳, 蒋洁哈, 等. 166 株肠球菌属的临床分布及耐药分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(8): 1160-1162.  
 [5] 周翠, 吕美艳, 徐琦煜, 等. 屎肠球菌耐药特性及其对万古霉素 MIC 值的变迁[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(5): 1020-1022.

[6] 姚杰, 刘周, 周强, 等. 粪肠球菌 II 型拓扑异构酶 QRDR 基因突变与耐氟喹诺酮类药物关系的研究[J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(9): 691-695.  
 [7] 王国富, 吴利先, 薛士鹏. ICU 肠球菌属 esp 基因分布及对万古霉素耐药的相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(13): 2724-2726.  
 [8] 胡志东, 王金良. 肠球菌耐药性的研究进展[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2007, 34(4): 281-284.  
 [9] 许宏涛, 唐曼娟, 陈东科, 等. 替加环素对临床常见菌的体外抗菌活性[J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27(2): 104-106.

(收稿日期: 2014-03-05)