

· 论 著 ·

HCV-RNA、抗-HCV、肝功能指标对丙型肝炎的临床诊断价值^{*}

陈久凯, 张战锋, 刘 玥, 周迎春[△]

广州中医药大学第一附属医院检验科, 广东广州 510405

摘要: 目的 分析丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)阳性患者丙型肝炎病毒核酸 RNA(HCV-RNA)载量、肝功能指标在丙型肝炎诊断中的价值。方法 选取 893 例抗-HCV > 1 S/CO 的患者, 检测其 HCV-RNA 和丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、γ-谷氨酰基转肽酶(GGT)及 α-L-岩藻糖苷酶(AFU)水平。采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析各项指标诊断丙型肝炎的效能。结果 抗-HCV、ALT、AST 诊断丙型肝炎的 ROC 曲线下面积分别为 0.884、0.760、0.760。抗-HCV 截断值为 10.26 S/CO 时, 其诊断丙型肝炎的灵敏度为 95.7%, 特异度为 75.6%; ALT 的灵敏度和特异度分别为 68.6%、73.3%, AST 的灵敏度和特异度分别为 77.7%、65.3%。抗-HCV ≥ 10.26 S/CO 组 HCV-RNA、肝功能指标均高于抗-HCV < 10.26 S/CO 组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。HCV-RNA 阳性组抗-HCV、肝功能指标均高于 HCV-RNA 阴性组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。抗-HCV 与 HCV-RNA 载量等级的相关性最高($r = 0.632, P < 0.05$)。结论 抗-HCV ≥ 10.26 S/CO 时, 结合 HCV-RNA、ALT、AST 检测对丙型肝炎具有较准确和全面的诊断价值。

关键词: 丙型肝炎; 病毒核酸 RNA; 丙型肝炎病毒抗体; 肝功能指标

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.16.016 **中图法分类号:** R446.1

文章编号: 1673-4130(2021)16-1997-04

文献标志码: A

Clinical diagnosis value of HCV RNA, anti HCV and liver function indexes in hepatitis C

CHEN Jiukai, ZHANG Zhanfeng, LIU Yue, ZHOU Yingchun[△]

Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University
of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China

Abstract: Objective To analyze the value of hepatitis C virus RNA (HCV-RNA) load and liver function indexes in the diagnosis of hepatitis C in patients with hepatitis C antibody (anti-HCV) positive. **Methods** A total of 893 cases with anti-HCV > 1 S/CO were collected, and HCV-RNA and alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), γ-Glutamyl transpeptidase (GGT) and α-L-Fucosidase (AFU) were detected. Receiver operating characteristic curve (ROC curve) was used to analyze the effectiveness of various indicators in diagnosis of hepatitis C. **Results** The area under the curve for the diagnosis of hepatitis C by anti-HCV, ALT, AST were 0.884, 0.760, 0.760. When the cut off value of anti-HCV was 10.26 S/CO, the sensitivity for diagnosing hepatitis C was 95.7% and the specificity was 75.6%, respectively, the sensitivity and the specificity of ALT were 68.6% and 73.3%, respectively, while the sensitivity and the specificity of AST were 77.7% and 65.3%, respectively. The HCV-RNA and liver function indexes of anti-HCV ≥ 10.26 S/CO group were higher than those of anti-HCV < 10.26 S/CO group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The anti-HCV and liver function indexes of HCV-RNA positive group were higher than those of HCV-RNA negative group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Anti-HCV had the highest correlation with HCV-RNA load level ($r = 0.632, P < 0.05$). **Conclusion** When anti-HCV was ≥ 10.26 S/CO, the combination detection of HCV-RNA, ALT and AST has a more accurate and comprehensive diagnostic value for hepatitis C.

Key words: hepatitis C; virus RNA; hepatitis C antibody; liver function indicators

* 基金项目: 广东省中医药局科研项目(20201104)。

作者简介: 陈久凯, 男, 主管技师, 主要从事临床核酸分子诊断方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: yingchunbaby@126.com。

本文引用格式: 陈久凯, 张战锋, 刘玥, 等. HCV-RNA、抗-HCV、肝功能指标对丙型肝炎的临床诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(16): 1997-2000.

丙型肝炎是由丙型肝炎病毒(HCV)感染引起肝细胞和肝功能损伤的一系列炎症性病变的传染性疾病。由于 HCV 感染具有隐匿性,多数感染者并不知道自己已感染 HCV,丙型肝炎急性感染后容易转变成慢性丙型肝炎,慢性感染可导致肝脏慢性炎症坏死和纤维化,慢性化率为 55%~85%,发展为慢性丙型病毒性肝炎,部分可发展为肝硬化及肝细胞癌,成为丙型肝炎主要的死因^[1-3],因此,准确及时地对丙型肝炎患者进行早期确诊,对有效阻断 HCV 的肝脏损伤十分重要。本研究拟以 HCV 核酸 RNA (HCV-RNA)作为丙型肝炎诊断的金标准,确定抗-HCV 诊断丙型肝炎的截断值,旨在探讨血清标志物对丙型肝炎的诊断价值,为临床提供准确的 HCV 感染证据。目前,国内外对丙型肝炎的实验室检查主要有丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)、丙型肝炎病毒抗原(HCV-Ag)、HCV-RNA、肝功能指标、肝纤维化指标。由于抗体存在假阳性和假阴性及窗口期,而核酸检测受经济条件和技术条件限制,存在治疗下限检测不出等问题的困扰。因此,完善的血清免疫学、血清生化、病毒核酸检测是慢性 HCV 感染筛查、监测、诊断和治疗的基础,多项目联合检测能指导实验室医生发出正确的结果,指导临床医生做出更周全的判断和决策。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2017 年 1 月至 2019 年 10 月就诊的抗-HCV 阳性患者 893 例作为研究对象,其中男 546 例,女 347 例;年龄 23~89 岁,平均(55±15)岁。丙型肝炎的诊断标准和纳入标准按照《丙型肝炎防治指南》^[2]的临床诊断标准;排除标准:排除肝硬化、肝细胞癌、心功能严重不全者,以及甲、乙、戊型肝炎患者。检测患者抗-HCV、HCV-RNA、肝功能相关指标[丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、γ-谷氨酰转肽酶(GGT)、α-L-岩藻糖苷酶(AFU)]。所有标本均使用无菌真空抽血管采集,HCV-RNA 检测采用 EDTA-K₂ 抗凝血浆标本,抗-HCV、肝功能指标检测采用干燥剂促凝管血清标本,抽取后以 3 500 r/min 离心 5 min,分离血浆置-20℃保存,1 周内完成检测。

1.2 仪器与试剂 HCV-RNA 定量检测采用罗氏 Cobas Z480 实时荧光定量 PCR 仪,试剂采用圣湘生物 HCV 核酸定量检测试剂盒;抗-HCV 采用雅培 I4000 和 I2000 化学发光仪和雅培配套原装试剂上机检测;肝功能相关指标采用罗氏全自动生化分析仪 Cobas 701、702 和罗氏原装封闭试剂检测。所有检测试剂均在有效期内,实验仪器经过校准。

1.3 方法 HCV-RNA 定量检测采用反转录 PCR,每一批次检测均设置 4 个标准品、2 个阳性质控(高值和低值各 1 个)、1 个阴性质控,按照试剂盒说明书提

取 HCV-RNA 和上机反转录扩增反应,质控在可控范围内,标本检测结果为有效,HCV-RNA 检测结果<100 IU/L 为阴性,HCV-RNA 检测结果≥100 IU/L 为阳性;抗-HCV 采用化学发光法检测,每天检测阴性和阳性质控各 1 个,检测结果>1 S/CO 时,判定为抗-HCV 阳性,质控在控,标本检测结果有效;AST 检测采用苹果酸脱氢酶法,ALT 检测采用乳酸脱氢酶法,AFU 检测采用连续监测法,GGT 检测采用速率法,每天检测高低两种水平的质控物,质控在控,标本检测结果有效。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件对数据进行分析处理。非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用非参数检验;HCV-RNA 数据通过 Log 转换进行统计分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 抗-HCV、肝功能指标诊断丙型肝炎的受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 以 HCV-RNA 阳性作为 HCV 感染的金标准,ROC 曲线分析结果显示,抗-HCV、ALT、AST、GGT、AFU 对诊断丙型肝炎的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.884、0.760、0.760、0.628、0.619,且 $P < 0.05$ 。见表 1。

表 1 抗-HCV 和肝功能指标的 ROC 曲线分析

| 项目 | AUC | 95%CI | | P |
|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 下限 | 上限 | |
| 抗-HCV | 0.884 | 0.862 | 0.906 | <0.05 |
| ALT | 0.760 | 0.727 | 0.793 | <0.05 |
| AST | 0.760 | 0.727 | 0.794 | <0.05 |
| GGT | 0.628 | 0.590 | 0.666 | <0.05 |
| AFU | 0.619 | 0.581 | 0.657 | <0.05 |

2.2 抗-HCV 肝功能指标诊断丙型肝炎的效能分析 根据表 1 所得 ROC 曲线结果计算出 ALT、AST、GGT、AFU 诊断丙型肝炎的灵敏度、特异度和 Youden 指数,得到最佳截断值,AFU 截断值为 33.15 U/L 时,特异度最高,为 78.1%。ALT 和 AST 的灵敏度和特异度分别为 68.6%、73.3% 和 77.7%、65.3%;AFU 的灵敏度最低,为 41.5%,GGT 的特异度最低,为 58.4%。见表 2。

表 2 肝功能指标诊断丙型肝炎的诊断效能

| 变量 | 截断值 | 灵敏度(%) | 特异度(%) | Youden 指数 |
|-------|------------|--------|--------|-----------|
| 抗-HCV | 10.26 S/CO | 95.7 | 75.6 | 0.713 |
| ALT | 24.5 U/L | 68.6 | 73.3 | 0.419 |
| AST | 23.5 U/L | 77.7 | 65.3 | 0.431 |
| GGT | 30.5 U/L | 61.6 | 58.4 | 0.200 |
| AFU | 33.15 U/L | 41.5 | 78.1 | 0.195 |

2.3 抗-HCV<10.26 S/CO 组和抗-HCV≥10.26 S/CO 组年龄、HCV-RNA 和肝功能指标结果比较 与抗-HCV<10.26 S/CO 组比较, 抗-HCV≥10.26 S/CO 组年龄较小, HCV-RNA、ALT、AST、GGT、AFU 水平均明显升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 抗-HCV 分组中年龄、HCV-RNA 和肝功能指标结果比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

| 组别 | n | 年龄(岁) | HCV-RNA(IU/mL) | ALT(U/L) | AST(U/L) | GGT(U/L) | AFU(U/L) |
|--------------------|-----|-----------|-----------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------------|
| 抗-HCV<10.26 S/CO 组 | 441 | 58(46,68) | 0.00(0.00,0.00) | 17.0(11.0,26.5) | 19(15,26) | 26.0(16.0,48.5) | 25.0(20.0,30.0) |
| 抗-HCV≥10.26 S/CO 组 | 452 | 54(44,63) | 5.81(0.00,6.83) | 29.0(16.0,53.5) | 32(21,53) | 36.5(21.0,83.0) | 29.8(23.8,38.0) |
| Z | | 1.928 | 9.772 | | 4.664 | 6.005 | 2.602 |
| P | | <0.05 | <0.05 | | <0.05 | <0.05 | <0.05 |

表 4 HCV-RNA 阴性组与阳性组抗-HCV、肝功能指标结果比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

| 组别 | n | 抗-HCV(S/CO) | ALT(U/L) | AST(U/L) | GGT(U/L) | AFU(U/L) |
|-------------|-----|--------------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------------|
| HCV-RNA 阴性组 | 565 | 2.93(1.59,10.03) | 17.0(12.0,26.0) | 19(16,28) | 26.0(17.0,51.5) | 26.1(20.4,32.5) |
| HCV-RNA 阳性组 | 328 | 14.35(13.09,15.27) | 37.5(21.0,63.0) | 37(25,60) | 40.0(22.0,90.0) | 29.8(24.0,38.9) |
| Z | | -19.137 | -12.977 | -12.982 | -6.385 | -5.933 |
| P | | <0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 | <0.05 |

2.5 抗-HCV 和 HCV-RNA 病毒载量、肝功能指标的相关性分析 将抗-HCV 检测 S/CO 值分级为 1~5、>5~10、>10~15、>15~20 4 个等级, Spearman 等级相关分析显示, 抗-HCV 与 HCV-RNA 病毒载量、ALT、AST、GGT、AFU 有等级相关性 ($P < 0.05$), 且与 HCV-RNA 病毒载量等级相关性较强, 与肝功能指标有相关性, 但 r 较小。见表 5。

表 5 抗-HCV 不同数量级与 HCV-RNA、肝功能指标相关性分析

| 变量 | 抗-HCV 分级 | |
|--------------|----------|--------|
| | r | P |
| HCV-RNA 病毒载量 | 0.632 | <0.001 |
| ALT | 0.320 | <0.001 |
| AST | 0.400 | <0.001 |
| GGT | 0.196 | <0.001 |
| AFU | 0.237 | <0.001 |

3 讨 论

人体感染 HCV 后 1~3 周, 外周血可检测到 HCV-RNA, 50%~70% 的感染者出现抗-HCV 阳性, 有一半的感染者会在 12 周左右自发清除 HCV, 有 55%~85% 的感染者转为慢性感染, 慢性 HCV 感染是引起肝硬化和肝细胞癌的原因之一^[4-6]。

目前, HCV 感染的主要实验室检查是抗-HCV 和 HCV-RNA, 而抗-HCV 阳性检出率受感染窗口期

2.4 HCV-RNA 阴性组和 HCV-RNA 阳性组抗-HCV、肝功能指标结果比较 与 HCV-RNA 阴性组比较, HCV-RNA 阳性组抗-HCV、ALT、AST、GGT、AFU 水平均明显升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 4。

影响, 抗-HCV 作为筛查试验, 灵敏度较高, 特异度相对较低, 假阳性率较高; 一些自身免疫性疾病患者可能出现抗-HCV 假阳性, 血液透析和免疫功能缺陷或合并 HIV 感染者可出现抗-HCV 假阴性^[7]。对于抗-HCV 阳性者, 应进一步检测 HCV-RNA, 以确定是否为现症感染。血清抗-HCV 滴度越高, HCV-RNA 检出的可能性越大。HCV-RNA 作为 HCV 感染诊断的金标准^[8], 由于受试剂仪器方法学的限制低于检测限的病毒载量、环境皮肤毛发 RNA 酶的存在、不明原因扩增抑制、偶然性误差等因素的影响, 会造成检测结果出现假阴性; 而实验室环境污染、标本间交叉污染、扩增产物污染、偶然误差等因素会造成检测结果出现假阳性^[9]。因此, HCV-RNA 检测存在一定的局限性。

本研究 ROC 曲线分析结果显示, 抗-HCV、ALT、AST 诊断 HCV 感染的 AUC 分别为 0.884、0.760、0.760, AUC 越大, 诊断效能越高, 这些指标能够作为 HCV 感染的辅助诊断指标, 其中抗-HCV 诊断价值最大。本研究结果显示, 抗-HCV 的截断值为 10.26 S/CO 时, HCV 感染的灵敏度最高, 为 95.7%, 特异度为 75.6%。抗-HCV<10.26 S/CO 组 HCV-RNA 结果中位数为 0.00 IU/mL, 而抗-HCV≥10.26 S/CO 组 HCV-RNA 结果中位数为 5.81 IU/mL。有研究表明, 随着 HCV-RNA 载量的不断增加, 抗-HCV 阳性率不断升高^[10]。本研究中检测抗-HCV 的

方法为化学发光法,灵敏度比酶免疫法高,存在假阴性,所以抗-HCV<10.26 S/CO 存在假阴性。而在临床检验工作中,临床医生会将抗-HCV>1 S/CO 判定为 HCV 感染,并做进一步 HCV-RNA 检测。而检测 HCV-RNA 时,由于受检测试剂及技术条件的限制,有假阴性出现的可能。抗-HCV 数值能够有效判断 HCV-RNA 阳性和阴性,给临床提供准确的检测结果。本研究结果显示,抗-HCV≥10.26 S/CO 组的年龄比抗-HCV<10.26 S/CO 组年龄小,可能是因为感染 HCV 后血液中持续存在抗-HCV,大约有 45% 的急性 HCV 感染者可自发清除病毒,抗体可持续阳性^[5],与本研究结果一致。在实际临床工作中发现,有年龄较大的人群虽然抗-HCV≥10.26 S/CO,但是 HCV-RNA 检测结果为阴性。HCV 感染肝细胞,破坏肝细胞,ALT、AST、GGT 从肝细胞释放入血,引起血 ALT、AST、GGT 水平升高,因此,ALT、AST、GGT 水平升高表明肝细胞有炎症存在,可辅助诊断 HCV 感染;AFU 广泛存在于人体细胞,急慢性肝炎会引起 AFU 水平升高,能够判断炎症的存在。本研究结果显示, HCV-RNA 阳性组 抗-HCV、ALT、AST、GGT、AFU 水平均明显高于 HCV-RNA 阴性组,差异均有统计学意义($P<0.05$),与 YANG 等^[11]的研究结果一致,说明抗-HCV 数值越高,肝损伤越严重。实际工作中会遇到抗-HCV 数值较大时,HCV-RNA 的检测结果为阴性。HCV 感染多为隐性感染,部分患者无明显症状,体内抗体持续存在,所以,应综合抗-HCV、ALT、AST、GGT、AFU 水平判断 HCV-RNA 是否为真阳性。本研究结果显示,不同抗-HCV 数量级与 HCV-RNA 病毒载量的 r 为 0.632,血液中抗-HCV 检测水平越高,HCV-RNA 病毒载量就越大,HCV 感染的可能性就越大,这与 TEJADA-STROP 等^[12]的研究结果相似,肝功能指标水平就有可能升高,与既往研究结果一致^[13-15]。

综上所述,丙型肝炎实验室检查项目的完整、多样能为临床提供更多的诊疗证据和更充分、准确的治疗指导,HCV-RNA 检测、血清免疫学检测、机体生化指标检测均对丙型肝炎具有诊断价值。

参考文献

- [1] 刘丽改,王艳斌.丙型肝炎病毒感染的流行病学研究进展[J].中国临床医生杂志,2019,47(3):255-257.
- [2] 陈红松,窦晓光,段中平,等.丙型肝炎防治指南(2015 年

更新版)[J].临床肝胆病杂志,2015,31(12):1961-1979.

- [3] 崔芳芳,龚作炯.慢性丙型肝炎、肝硬化、肝癌患者血清 IL-17、IL-6 和维生素 D 水平变化及其临床意义[J].胃肠病学和肝病学杂志,2014,23(12):1448-1450.
- [4] CHEN W Y, YU Y, DU P. The value of enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of hepatitis C virus infection[J]. Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi, 2016, 30(1):64-66.
- [5] HWANG J P, LOCONTE N K, RICE J P, et al. Oncologic implications of chronic hepatitis C virus infection[J]. J Oncol Pract, 2019, 15(12):629-637.
- [6] YANG X, XU Z, MEI Y, et al. Barriers to hepatitis C virus treatment in Guangdong Province[J]. Ann Palliat Med, 2019, 8(5):640-644.
- [7] 朱琳,李坤,楚利芳. HCV-Ab 与 HCV-RNA 联检对丙型肝炎的诊断价值[J].疾病监测与控制,2017,11(7):578-579.
- [8] 杨慧敏,李超,杨国华,等.丙型肝炎患者 HCV-RNA 载量与抗-HCV 检测的临床意义探讨[J].中国优生与遗传杂志,2017,25(12):12-14.
- [9] 王江南,陈秀荣,李健.ELISA 法检测抗-HCV-IgG 抗体以及 FQ-PCR 检测血清 HCV-RNA 在丙型肝炎诊断中的应用价值[J].广东医学,2015,36(24):3797-3801.
- [10] PAPADOPOULOS N, GRIVEAS I, SVERONI E, et al. HCV viraemia in anti-HCV-negative haemodialysis patients: do we need HCV RNA detection test? [J]. Int J Artif Organs, 2018, 41(3):168-170.
- [11] YANG N, LI Z, YAN M, et al. Evaluation of serum alpha-fetoprotein level in chronic hepatitis C patients[J]. Clin Lab, 2019, 65(1):7754-7759.
- [12] TEJADA-STROP A, DROBENIUC J, MIXSON-HAYDEN T, et al. Disparate detection outcomes for anti-HCV IgG and HCV RNA in dried blood spots[J]. J Virol Methods, 2015, 212:66-70.
- [13] 李钿,侯婷婷,索海燕,等.丙型肝炎抗体、ALB、ALT 和 HCV-RNA 联合检测对丙型肝炎的诊断意义[J].检验医学与临床,2017,14(18):2762-2764.
- [14] 卢庆文,董娅,刘红霞.联合检测血清 HCV-RNA、HCVcAg 与 HCV-Ab 对丙型肝炎的诊断价值分析[J].实验与检验医学,2017,35(5):752-754.
- [15] 杨正亮,闫本纯,鞠传余,等.3 种血清标志物检测对丙型肝炎诊断的临床应用评价[J].国际检验医学杂志,2017,38(5):685-687.

(收稿日期:2020-12-08 修回日期:2021-04-08)