

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.09.005

ROC 曲线对 ECLIA 法预测 HCV 感染的最佳 S/CO 值的确定和分析*

杨 泽,黎明新[△]

沈阳医学院附属中心医院检验科,辽宁沈阳 110000

摘要:**目的** 应用受试者工作特征(ROC)曲线分析丙型肝炎病毒(HCV)抗体阳性预测值 $\geq 95\%$ 的最佳 S/CO 值,以此临界值来限制临床上需要进行确证试验的患者数量。**方法** 收集 2017 年 2 月至 2018 年 6 月该院门诊和住院患者经过电化学发光免疫分析(ECLIA)法初筛检测有反应性标本($S/CO \geq 1$)167 份,阴性标本($S/CO < 1$)10 份,并进行 HCV RNA 和重组免疫印迹试验(RIBA)的补充确证试验,得到临床上可信的真阳性及假阳性标本,经 ROC 曲线分析得出结果。**结果** 将初筛结果为 $1 \leq S/CO < 10$ 的 54 份标本进行双重确证试验后得到阳性标本 17 份(34.0%),阴性标本 33 份(占 66.0%),不确定的 4 份标本(定期随访)。当 $S/CO \geq 10$,经 HCV RNA 及 RIBA 双重确证后得到的结果均为阳性。经 ROC 曲线分析,得到曲线下面积(AUC)为 0.971,此时的最佳诊断临界值为 8.83。**结论** 若 ECLIA 法检测结果显示“ $1 \leq S/CO < 8.83$ ”,应提示为“有反应性标本”,并注以阳性预测值 $\leq 95\%$,建议 1 个月后复查或进一步确证检测。

关键词:丙型肝炎病毒抗体; 电化学发光免疫分析法; 重组免疫印迹试验; 假阳性

中图分类号:R446.61

文章编号:1672-9455(2020)09-1166-04

文献标志码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Determination and analysis of optimal S/CO value of ECLIA for predicting HCV infection by ROC curve*

YANG Ze, LI Mingxin[△]

Department of Clinical Laboratory, Affiliated Central Hospital of Shenyang Medical College, Shenyang, Liaoning 110000, China

Abstract:**Objective** The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to calculate the optimal S/CO value of the positive predictive value of hepatitis C antibody $\geq 95\%$, and the critical value was used to limit the number of patients clinically required for confirmatory testing. **Methods** From February 2017 to June 2018, 167 reactive specimens ($S/CO \geq 1$) and 10 non-reactive specimens ($S/CO < 1$) were collected from outpatients and inpatients in the Affiliated Central Hospital of Shenyang Medical College through the initial screening of electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA), and supplemental confirmation tests of HCV RNA and RIBA were performed to obtain clinically credible true positive and false positive patients, which were analyzed by ROC curve. **Results** A total of 54 specimens with $1 \leq S/CO < 10$, 17 patients (34.0%) who were positive after double confirmation, 33 patients (66.0%) were negative, and 4 patients were indeterminate (regular follow-up). When the samples with $S/CO \geq 10$, the specimens were double confirmed by HCV RNA and RIBA, the results were all positive. According to the statistical analysis of the ROC curve, the area under the ROC curve (AUC) was 0.971, and the optimal diagnostic threshold was 8.83. **Conclusion** The “ $1 \leq S/CO < 8.83$ ” sample should be indicated “reactive specimen”, and the positive predictive value is $\leq 95\%$, it is recommended to review or further confirm the test one month later.

Key words: hepatitis C antibody; electrochemiluminescence immunoassay; recombinant immunoblotting assay; false positive

丙型肝炎病毒是严重威胁人类健康的传染病之一,并以血源性感染最为常见^[1]。据世界卫生组织统计,丙型肝炎病毒(HCV)在全球范围内的感染率约为 2.8%,约有 1.85 亿人感染 HCV^[2-3]。因此,对丙型肝炎的早期检查、及时预防尤为必要。目

前,临床上常用的初筛方法就是检测 HCV 抗体,因其具有较高的灵敏度和特异度,而且操作简便、成本低,因此被广泛应用于各大采血机构及临床实验室。研究表明,HCV 抗体在早期感染时会存在长达 2 个月的“窗口期”,但幸运的是这段“窗口期”能随着检测方法

* 基金项目:国家大学生科研基金项目(20160827)。

作者简介:杨泽,女,技师,主要从事临床检验诊断学研究。 [△] 通信作者, E-mail: limingxin2015@sina.com。

灵敏度的提高而缩短,使就诊患者得以早期发现及治疗。正因如此,众多临床实验室逐渐应用了灵敏度高、反应速度快的电化学发光免疫分析(ECLIA)法,但该方法在提高灵敏度的同时,特异度会有所降低,方法学上也就不可避免地出现假阳性的结果,为了保证 HCV 检测的有效性及准确性,本研究主要针对初筛抗体为有反应性的标本(尤其是弱阳性的标本)进行更特异的补充确证试验,以得出更准确的初筛临界值来完善检测报告,协助临床诊断工作。有研究表明,全国不同地区的 HCV 感染率有一定差异,以长江为界,北方人群明显高于南方人群^[4-5],因此各所实验室都应该有符合当地人群的一个标准初筛临界值。本研究主要目的为完善和确定沈阳地区人群的丙型肝炎诊断数据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2017 年 2 月至 2018 年 6 月本院门诊和住院患者经过 ECLIA 法初筛检测 HCV 抗体有反应性标本($S/CO \geq 1$) 167 份,阴性标本($S/CO < 1$) 10 份,以上标本的收集均按照 2004 年发布的《丙型肝炎防治指南》^[6]有关标准进行。本研究方案经过本院伦理委员会的批准同意,并且已获得受试者的知情同意书。

1.2 仪器与试剂 HCV 抗体检测采用罗氏 Cobas e 602 分析仪(ECLIA 法)及配套的 HCV 抗体检测试剂盒(Anti-HCV II)。HCV RNA 检测采用美国伯乐公司的 CFX 96 Touch 分析仪,试剂为达安基因公司 HCV RNA 定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法)。重组免疫印迹试验(RIBA)检测采用重组免疫印迹 HCV IgG 检测试剂条(MIKROGEN DISGNOS-TIK)。

ECLIA 法阳性判定:按照罗氏说明书进行判断, $S/CO \geq 1$ 为有反应性。HCV RNA 检测:线性范围为 $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^7$ IU/mL,该试剂的灵敏度为 250 IU/mL。RIBA 法阳性判定:通过显色条带以判定阴、阳性。满足以下任意一条即为阳性,Core 1 和 Core 2 $\geq$ Cut-off 值;Core 1 和另一个抗原 $\geq$ Cut-off 值;Core 2 和另一个抗原 $\geq$ Cut-off 值;任意 3 个抗原 $\geq$ Cut-off 值。

1.3 方法 将 HCV 抗体初筛的 177 份标本根据抗体检测值的高低分为 5 组,分别是阴性组($S/CO < 1$)、低值组($1 \leq S/CO < 10$)、中值组($10 \leq S/CO < 20$)、高值组($20 \leq S/CO < 30$)和超高值组($S/CO \geq 30$),将每组依次进行 HCV RNA 检测,若检测结果为阳性的标本,则诊断为 HCV 阳性,若 HCV RNA 为阴性的患者再进行下一步 RIBA 的补充确证试验,根据显色带的情况进行阳性和阴性的结果判读,若为不确定性的患者可采取定期随访,暂不参与数据分析。若 HCV RNA 和 RIBA 补充试验都为阴性的标本,临床上则考虑很大可能为假阳性的标本,通过此方法来

确证出真阳性及假阳性的患者,通过数据统计和分析,最终可以得到一个 HCV 抗体最佳的 S/CO 值,分析相应的临床诊断意义。

1.4 统计学处理 采用 Medcalc 软件进行受试者工作特征(ROC)曲线的数据分析,计算最佳 ROC 曲线下面积(AUC),以及相应的灵敏度、特异度、约登指数、最佳临界值等。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCV 抗体的数据收集及结果分析 通过 ECLIA 法初筛后,检测到有反应性($S/CO \geq 1$)的标本 167 份,在确证试验时,发现有 4 份标本 HCV RNA 检测为阴性的同时,RIBA 补充试验也显示为不确定性,因此将不确定的 4 份标本暂不纳入数据统计,对患者采取定期随访的措施。而本次有效的反应性标本应为 163 份,与非反应性标本 10 份,共计 173 份。

结果为阴性($S/CO < 1$)的 10 份标本经 HCV RNA 及 RIBA 检测后均为真阴性。有反应性的 163 份标本经 HCV RNA 检测可确证的真阳性标本有 85 份,之后将 HCV RNA 检测为阴性的标本进一步做 RIBA 补充试验检测,又检测出 45 份 HCV 阳性标本,最终可确诊的血清有 130 份,约占总标本的 75.1%,见表 1。

表 1 HCV 抗体经确证试验后的统计分析					
HCV 抗体	ECLIA 法 初筛(n)	HCV RNA 阳性(n)	RIBA 阳性(n)	合计真 阳性(n)	阳性率 (%)
<1	10	0	0	0	0.0
$1 \leq S/CO < 10$	50	4	13	17	34.0
$10 \leq S/CO < 20$	36	23	13	36	100.0
$20 \leq S/CO < 30$	50	38	12	50	100.0
≥ 30	27	20	7	27	100.0
合计	173	85	45	130	75.1

2.2 HCV 初筛分组结果的数据统计 当 $1 \leq S/CO < 10$ 时,收集到 50 份有意义的标本,经过确证为真阳性的标本有 17 份;剩余的 33 份均为阴性,因此考虑 $1 \leq S/CO < 10$ 区间存在很大一部分假阳性的问题,统计结果见表 2。

当 HCV 初筛的 $S/CO \geq 10$ 时,共收集 113 份标本,经 HCV RNA 检测后确证有 81 份为真阳性,其余标本进一步做 RIBA 检测,又检测出 32 份阳性标本,最终可确诊的血清有 113 份,阳性率几乎可达到 100.0%。

表 2 低值组初筛抗体经确证试验后的数据分析				
低值组	ECLIA 法 初筛(n)	HCV 真 阳性(n)	HCV 假 阳性(n)	假阳性率 (%)
$1 \leq S/CO < 5$	36	10	26	72
$5 \leq S/CO < 10$	14	7	7	50
合计	50	17	33	66

2.3 HCV 初筛最佳诊断临界值的统计结果 经

ROC 曲线分析,得到 AUC 为 0.971,最佳诊断临界值为 8.83,此时最佳约登指数为 0.861,灵敏度为 86%,特异度为 100%。见图 1。

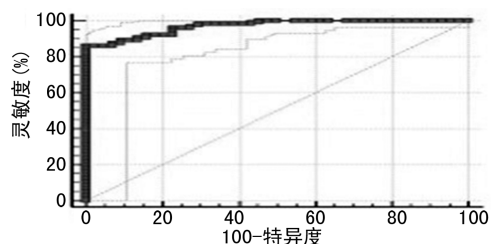


图 1 ROC 曲线

3 讨 论

HCV 抗体检测由于灵敏度和特异度均较高,且标本易获得,操作方法简便、快捷等优点,被临床作为丙型肝炎筛查的首选方法。在临床工作中,对于“高值组”的标本诊断结果较为明确,但对于“低值组”的弱阳性标本,即处于“诊断灰区”的标本,诊断较为困难,也是临床上造成误诊的主要原因之一。而在临床中,弱阳性标本并不少见,一些自身免疫性疾病或者妊娠的干扰都会导致弱阳性标本的出现。沈阳地区的许多医院都曾出现过丙型肝炎患者检测结果假阳性的问题,甚至导致医患纠纷的发生。目前,针对 HCV 抗体检测假阳性的研究相对较少,并且由于不同医院应用的方法及仪器设备不同,因此无法强行统一弱阳性标本的诊断临界值,只能通过大量临床标本的分析确定适合当地人群的最佳诊断临界值。确定适合当地人群的最佳诊断临界值的意义在于既可以增加检验人员审核 HCV 检测报告的准确性,又能减少因“诊断灰区”带来的临床误诊率及医患纠纷。

本研究收集了 10 份($S/CO < 1$)HCV 阴性标本,经 HCV RNA 及 RIBA 检测后,10 份标本均为阴性。由此考虑罗氏 Cobas e 602 分析仪在检测阴性标本中的特异度较高。但对于 $S/CO \geq 1$ 的临床标本,却收集到了 33 份假阳性标本,约占低值组的 66%,由于 ECLIA 法的高灵敏度,使其能够检测到体内极其微量的抗体,但灵敏度的提高势必也会导致特异度的下降,而特异度的降低必然会造成误诊率的升高,从而不可避免地出现临床上的假阳性患者,临床不得不考虑两者之间的平衡问题。

本研究结果显示,当 $S/CO \geq 10$ 时,HCV 抗体的真阳性率几乎可以达到 100.0%,当 $1 \leq S/CO < 10$ 时,此区间的真阳性率仅为 34.0%,说明在低值组($1 \leq S/CO < 10$)中存在相当一部分假阳性患者,而目前来看此区间的阳性率与抗体值的大小并不呈正比,其中 $1 \leq S/CO < 5$ 的分布最为密集,在 36 份标本中经过确证发现有 26 份为阴性,其假阳性率为 72%,因此,在检测过程中应格外注意 $1 < S/CO < 5$ 的标本。同时 $5 \leq S/CO < 10$ 的标本收集较为困难(仅收集到 14 份,经确证后假阳性率达到 50%,较前组有很明显

的下降趋势,因此在本研究的基础上,未来有必要拓展标本量,使数据更具有说服力。

本研究将收集到的 163 份有反应性标本经统计分析后得到 ROC 曲线,可知 AUC 为 0.971,说明该初筛试验的诊断效果非常好,具有较高的临床诊断价值;在该曲线下,得到最佳 S/CO 值为 8.83,在该点中能够同时确保灵敏度和特异度的平衡;最佳约登指数为 0.861,具有说服力。若将本研究得出的最佳诊断临界值应用于临床工作当中,不仅减少了低值组($1 \leq S/CO < 10$)的假阳性率,还更具有临床指导意义。

经过统计分析后得知,低值组的数据中不乏众多“假阳性的标本”,若单凭抗体初筛的结果进行诊断治疗,会给临床工作带来很大困扰。考虑到假阳性被检者的体内 HCV RNA 实际为阴性,属于未患病人群,更不需要用药,因此,应提高报告单的准确性与实用性,通过利用最终的初筛临界值进行更为具体的讨论,并以注释的形式体现在报告单当中,使检验的工作更准确、更完善。对于 $1 \leq S/CO \leq 8.83$ 的标本,建议报告为“有反应性标本”(既不建议报告阳性结果,也不排除有假阳性的可能),并注以该标本的阳性预测值 $\leq 95\%$,建议患者 1 个月后复查或进行 HCV RNA 检测,根据核酸定量结果,判断是否为现症感染。

在临床工作中,完善的病毒学检测是对于 HCV 感染诊断和治疗的基础,2018 年 11 月发布的《丙型肝炎病毒诊断行业标准》中规定,以 HCV RNA 结果作为丙型肝炎临床检测的金标准^[7]。同时有数据显示 HCV 阳性患者每天大约可产生 10^{12} copy 病毒,因此,可以通过 HCV 核酸检测以确定是否为现症感染。当 HCV 抗体检测的值越高,其 HCV RNA 检测出的可能性就越大^[8-9]。有少数免疫功能抑制的患者体内缺乏 HCV 抗体,但 HCV RNA 检测为阳性,基于以上因素,临床上常将定量 PCR 作为治疗监测、疗效判断的一项重要指标。

由于 RIBA 试剂盒的价格昂贵,且不能快速得出结果,目前并不适宜国内普遍应用,但考虑其较高的特异度,因此本研究将 RIBA 作为补充试验,不仅有益于 ECLIA 法在临床上的初筛,也能对比出不同实验室 PCR 的灵敏度及检测下限,从而做出调整,以达到符合当地人群要求的检测水平。

2011 年我国疾控中心发布的《丙型肝炎病毒检测技术规范》中有提到,实验室需要根据最佳 S/CO 值来决定标本是否应进一步补充确证,但由于 RIBA 的试剂盒成本较高,我国目前对实验室的 HCV 检测结果并不强行确证。而在实际工作中,考虑到 RIBA 在特异度上又极具优势,因此本课题小组正在探讨是否应该给予个别弱阳性患者进行临床上的补充确证,以确保检测结果的准确性与完善性。同时,在丙型肝炎诊断的过程中,除了凭借初筛(下转第 1172 页)

对 IM 患儿外周血 NLR、EBV-DNA 等进行动态随访,不能很好诠释急性 EBV 感染病毒本身及机体免疫情况在发病过程中的作用及变化。

参考文献

- [1] 王咏梅,曲熙波. EB 病毒引起肝脏损伤 110 例临床分析[J]. 传染病信息,2006,19(3):156-157.
- [2] FOURCADE G,GERMI R,GUERBER F,et al. Evolution of EBV seroprevalence and primary infection age in a French hospital and a city laboratory network, 2000 — 2016[J]. PLoS One,2017,12(4):e0175574.
- [3] CHEN C Y,HUANG K Y,SHEN J H,et al. A large-scale seroprevalence of Epstein Barr virus in Taiwan[J]. PLoS One,2015,10(1):e0115836.
- [4] TOPP S K,ROSENFELDT V,VESTERGAARD H,et al. Clinical characteristics and laboratory findings in Danish children hospitalized with primary Epstein-Barr virus infection[J]. Infect Dis (Lond),2015,47(12):908-914.
- [5] 黄燕,罗二平,朱义玲,等. 中性粒细胞淋巴细胞比值预测 H7N9 禽流感预后的临床应用[J]. 中华传染病杂志,2019,37(1):10-15.
- [6] 胡亚美,江载芳,申昆玲,等. 诸福棠实用儿科学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社,2015:916-921.
- [7] 宋国培. 肝功能、血清酶学检测的临床意义[J]. 临床肝胆病杂志,2003,19(4):195-197.
- [8] 吕洁,金莲花,孙景辉,等. 儿童传染性单核细胞增多症临床特点与发病年龄的关系:附 312 例分析[J]. 临床儿科

杂志,2011,29(6):518-521.

- [9] GAO L W,XIE Z D,LIU Y Y,et al. Epidemiologic and clinical characteristics of infectious mononucleosis associated with Epstein-Barr virus infection in children in Beijing,China[J]. World J Pediatr,2011,7(1):45-49.
- [10] 叶丽静,张婧,叶颖子,等. 急性 EB 病毒感染患儿肝功能损伤临床分析[J]. 中华实用儿科临床杂志,2016,31(22):1713-1716.
- [11] 谢正德. EB 病毒感染与儿童肝损伤[J]. 临床肝胆病杂志,2012,28(12):893-895.
- [12] 陈德胜,严如金,楼世贵. 不同 EB 病毒载量的 IM 患儿临床特点分析[J]. 中国妇幼健康研究,2019,30(7):840-843.
- [13] BHASKARAN P N,PULIYEL M,MYERS M,et al. Multiple pulmonary nodules in an immunocompetent adolescent with infectious mononucleosis[J]. Indian Pediatr,2018,55(2):161-162.
- [14] KOFTERIDIS D P,KOULENTAKI M,VALACHIS A,et al. Epstein Barr virus hepatitis[J]. Eur J Intern Med,2011,22(1):73-76.
- [15] EBELL M H,CALL M,SHINHOLSER J,et al. Does this patient have infectious mononucleosis? The rational clinical examination systematic review[J]. JAMA,2016,315(14):1502-1509.

(收稿日期:2019-11-26 修回日期:2019-03-22)

(上接第 1168 页)

抗体检测及核酸定量结果以外,还应多参考免疫、生化等其他指标,为丙型病毒性肝炎患者的早期诊断、及时治疗及预后评估提供更好的临床证据。

目前,国内对丙型病毒性肝炎患者的抗病毒治疗目标是清除 HCV,减轻相关损伤,使就诊患者获得治愈,或提高患者的长期生存率及生活质量,同时预防病毒的传播^[10]。因此,对于丙型病毒性肝炎的尽早发现、明确诊断和及时治疗尤为重要。根据我国社会发展情况,不同实验室应用的方法学及试剂有所不同,S/CO 参考值也会存在差异,所以还应该积极探讨适合于资源有限地区的最佳 S/CO 值来更好地辅助临床诊断工作。

参考文献

- [1] 陈卿,石璟,冯永亮,等. 血液透析者乙肝和丙型病毒性肝炎感染情况及影响因素分析[J]. 中国公共卫生,2013,29(11):1577-1580.
- [2] LAVANCHY D. The global burden of hepatitis C[J]. Liver International,2009,29(1):74-81.
- [3] World Health Organization. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection [M]. Geneva:World Health Organization,2014:75-76.

- [4] 陈园生,李黎,崔富强,等. 中国丙型病毒性肝炎血清流行病学研究[J]. 中华流行病学杂志,2011,32(9):888-891.
- [5] Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus[J]. MMWR,2003,52(RR-3):CE1-CE4.
- [6] 中华医学会肝病学分会,中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 丙型病毒性肝炎防治指南[J]. 中华肝脏病杂志,2004,12(4):194-198.
- [7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 丙型病毒性肝炎诊断行业标准[J]. 临床肝胆病杂志,2018,34(8):1619-1621.
- [8] LONG L,SHEN T,GAO J,et al. Effectiveness of HCV core antigen and RNA quantification in HCV-infected and HCV/HIV-1-coinfected patients [J]. BMC Infect Dis,2014,14(1):577.
- [9] LONG L,LIU Y,DUAN Z,et al. A preliminary assessment of the clinical utility of measuring hepatitis C virus antibody to evaluate infection status[J]. Chinese J Hepatol,2014,22(4):244-250.
- [10] 王佳佳,唐筛娣,丁伟良,等. 不同感染途径丙型病毒性肝炎患者 HCV 基因分型[J]. 中国公共卫生,2013,29(6):809-811.

(收稿日期:2019-10-17 修回日期:2020-01-17)