

专论

丙型肝炎病毒感染的检测

杨瑞锋, 魏来

(北京大学人民医院 北京大学肝病研究所 北京 100044)

摘要: 丙型肝炎病毒(HCV)感染的检测包括血清学检测和核酸检测(NAT),前者包括HCV抗体(抗-HCV)、核心抗原检测,后者包括定性/定量RNA检测和基因型/亚型检测。抗-HCV检测是应用最广的HCV感染筛查试验,操作简便、耗时短、成本低,但其缺点是窗口期较长,不能判別是活动性感染还是病毒已被清除,不适用于免疫缺陷人群。HCV RNA是病毒感染的直接证据,既往定性RNA检测灵敏度较高,但随着实时定量PCR技术的成熟,定量检测灵敏度不断提高,线性范围不断拓宽,适用于临床抗病毒治疗应答的监测,也正逐步取代定性检测用于血液制品的筛查。近年HCV抗原检测和抗原抗体联合检测试剂盒已用于HCV感染的筛查及治疗监测,但其灵敏度尚不及NAT。目前主流的HCV基因分型试剂检测基因型有较高的符合率,而检测亚型的结果存在较大差异,需要方法学上的改进。

关键词: 肝炎病毒属; 肝炎, 丙型

中图分类号: R512.6'3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5256(2011)01-0001-07

Detection of hepatitis C virus infection

YANG Rui-feng, WEI Lai. (Peking University People's Hospital, Peking University Hepatology Institute, Beijing 100044, China)

Abstract: Diagnosis and treatment of hepatitis C virus (HCV) infection relies heavily on laboratory assays such as serological tests, which include the detection of anti-HCV antibody and core antigen, and nucleic acid tests (NAT), which include the detection of qualitative/quantitative HCV RNA and genotypes/subgenotypes. Anti-HCV testing is simple, rapid and cheap for the screening of HCV infection. But it has a longer window period and not applicable in the immunosuppressed population. NAT provides direct evidence for the presence of HCV. Qualitative HCV RNA test has been used for blood screening due to its high sensitivity. Meanwhile quantitative HCV RNA testing has been widely used to monitor the antiviral response to treatment. With the development of real-time quantitative PCR the qualitative RNA assays are being replaced by the quantitative ones. Recently HCV core antigen assay and the combination antigen-antibody assay have been introduced for the early diagnosis of HCV, whereas they still remain less sensitive than NAT. Assays for the determination of HCV genotype based on sequencing, reverse hybridization or real-time PCR are highly consistent in determining genotypes. Whereas they are not very consistent in determining subtypes and need to be improved.

Key words: hepacivirus; hepatitis C

丙型肝炎病毒(HCV)以经血液或体液为主要传播途径,发病隐匿,症状不典型,如果不能及早诊断,容易错过治疗的最佳时机,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细胞癌,对人民群众的健康构成严重威胁^[1]。1992~1995年全国第二次病毒性肝炎血清流行病学调查结果显示,HCV抗体(抗-HCV)流行率约为3.2%^[2],高于世界平均水平,经过20年的发展,目前更多感染者出现了临床表现,在国家传染病报告中丙型肝炎的报告率逐渐增多,感染所带来的严重后果正日益显现。目前预防性疫苗尚未研发成功,控制丙型肝炎的传播、提高丙型肝炎的治疗效果主要依靠及时、准确的实验室诊断方

法。本文重点介绍HCV的血清学标志物(包括抗-HCV和HCV抗原)及核酸(包括HCV RNA定性/定量和基因型/亚型)检测方法、方法学进展及检测的临床意义。

1 抗-HCV检测

1989年Choo等^[3]应用分子克隆技术发现了HCV特异性cDNA,1990年第一代抗-HCV酶免疫(EIA)检测试剂获得FDA批准上市,这对丙型肝炎的诊断具有里程碑式的意义,之后HCV血源性传播的几率大大降低^[4]。抗-HCV检测具有操作简便、耗时短、对实验场所和设备要求较低等优点,目前已发展到第三代试剂,用于检测抗-HCV的抗原包括非结构蛋白NS3、NS4以及核心蛋白等(一些三代试剂还包被NS5)^[5],检测技术以EIA或化学发光法为主。

在HCV感染低流行率人群如无偿献血者中,抗-HCV假阳性问题一直比较突出,引起

收稿日期: 2010-11-23

作者简介: 杨瑞锋(1979-),男,博士,助理研究员,研究方向为病毒性肝炎的实验室诊断。

通信作者: 魏来, E-mail: weilai@163.com

假阳性的原因很多,如重组蛋白纯度不足、血清成分如类风湿因子的干扰等等。为此,美国CDC在1998年“HCV感染及相关慢性疾病防控建议”中指出,对抗-HCV筛查阳性者应进一步用重组免疫印迹法(recombinant immunoblot assay, RIBA)或HCV RNA检测后方可报告^[6]。之后研究发现,在不同HCV感染流行率人群中,当雅培HCV EIA 2.0或强生Ortho HCV 3.0(EIA)的测量值/阳性判定值比值(S/Co)≥3.8时,其真阳性预测值≥95%,因此美国CDC在2003年发布的“抗-HCV实验室检测和报告导则”中,建议可根据EIA筛查的S/Co值来确定是否需要做NAT或RIBA,从而减少进一步用NAT或RIBA检测的标本数,节省检测费用;同时建议,一款新的抗-HCV检测试剂上市之前,需对不同HCV感染流行率人群的检测特异性做出评价以明确其95%阳性预测S/Co值^[7]。不同抗-HCV检测试剂95%阳性预测S/Co值不同(表1)。2005年任芙蓉等^[8]使用6种国产试剂检测献血人群中的抗-HCV,发现国产试剂≥95%阳性预测S/Co值从6.0到14.0(表2)。

表1 国际常用抗-HCV检测试剂95%阳性预测S/Co值^[7]

试剂名称	生产商	方法学	95%阳性S/Co值
Ortho HCV Version 3.0	强生	EIA	≥ 3.8
Abbott HCV EIA 2.0	雅培	EIA	≥ 3.8
VITROS anti-HCV	强生	化学增强发光	≥ 8.0
AxSYM anti-HCV	雅培	微粒酶免疫	≥ 10.0
Architect anti-HCV	雅培	微粒化学发光	> 5.0
Advia Centaur HCV	西门子	化学发光	> 11.0

表2 国产试剂抗-HCV S/Co值与阳性预测值之间的关系^[9]

EIA试剂盒	S/Co比值	NAT或RIBA阳性 (%)
Ortho	≥ 3.8	96.1
华美	≥ 6.0	97.3
吉比爱	≥ 7.0	96.1
新创	≥ 8.6	96.1
金伟凯	≥ 10.0	96.1
科华	≥ 10.0	96.0
万泰	≥ 14.0	96.0

近几年来,经广大科技工作者和生产单位的努力和国家十一五重大科技专项的大力扶持,国产试剂的检测质量在不断进步,批间差异逐渐减小。不过目前为止,仍缺乏大样本、多中心的试验以明确国产试剂95%阳性预测S/

Co值。RIBA是抗-HCV检测的确认试验,但由于其价格昂贵,一直没有在我国上市。实际上,在亚太地区,由于经济发展的不平衡,很多国家都难以采用RIBA对抗-HCV检测进行确认,甚至难以重复检测。有鉴于此,2007年发布的《亚太地区丙型肝炎专家共识》指出,单次EIA检测S/Co达到预测真阳性的水平可报告为阳性,而单次EIA检测S/Co未达到预测真阳性的水平或接近S/Co值者应考虑HCV RNA定性检测和/或进一步获得样本进行抗-HCV和HCV RNA定性检测^[9]。我国可以参考该共识进行抗-HCV的检测和报告。同时,已有国产片段抗-HCV检测试剂问世,对于确认抗-HCV结果具有一定价值;特别是近来已有国产的免疫印迹试剂,对于今后改变单一依赖抗-HCV S/Co比值报告的局面会有较大帮助。

血清中抗-HCV是否终身维持已引起关注。有研究表明,经抗病毒治疗后获得持续性病毒学应答(SVR)患者血清中,抗-HCV呈逐年下降趋势^[10],经10年随访,使用RIBA检测抗-HCV,约有一半患者针对NS4和NS5等非结构蛋白的抗体消失;所有患者核心蛋白抗体仍为阳性,但滴度逐年下降。HCV自然清除的部分患者血清中抗-HCV也呈现相似的动态变化^[11]。抗体水平的逐年下降甚至消失提示体内已无活动性的病毒感染,因此不再产生特异性的体液免疫。

相比NAT,抗-HCV检测的局限性在于:(1)抗-HCV产生是病毒感染的间接证据,不能区分是现症感染还是病毒已被清除,不能作为抗病毒治疗的适应证;(2)免疫力缺陷或低下患者(如移植患者)及血液透析者等人群血清中抗-HCV水平很低甚至缺失,容易漏检;(3)相比RNA和抗原检测,抗-HCV的“窗口期”较长,虽然第三代试剂的窗口期已缩短为60天^[12],但仍不能完全满足早期筛查的要求。这些情况下,需要进行HCV RNA检测。

2 HCV RNA检测

根据检测技术的不同,HCV RNA检测分定性和定量检测。前者因为检测灵敏度高,主要用于献血员筛查,而后者主要用于临床诊断和抗病毒治疗的监测与疗效评价。

2.1 HCV RNA定性检测 相比抗-HCV,血清中

RNA出现较早,从感染到能检测到RNA的“窗口期”只有1周左右^[12]。不过,是否应将RNA检测强制应用于献血员筛查尚未达成共识,主要是由于NAT检测的成本-效益的矛盾尚未很好解决,另外NAT检测对仪器和操作的要求高,尚难满足大规模标本量和快速筛查的需要。为了节约成本和提高检测通量,2002年以来,欧美发达国家和日本开始将血清混合微池(mini-pool)NAT引入血液制品的筛查,西班牙、美国和日本报道抗-HCV阴性的献血员中, RNA阳性率分别为1/33.8万、1/23万和1/35万^[13]。HCV RNA定性检测的技术有PCR-酶联免疫吸附试验(PCR-ELISA)和转录介导扩增(TMA)等,高灵敏度是其突出的特点(表3)。

2.2 HCV RNA定量检测 灵敏、准确且重复性好的HCV RNA定量检测是临床治疗丙型肝炎的基础,表现在:(1)HCV RNA阳性是慢性丙型肝炎(CHC)抗病毒治疗的适应证,只有RNA检测阳性时才考虑进行治疗;基线RNA水平与治疗预后相关,高病毒载量的预后不及低病毒载量,不过并无确切证据说明RNA水平与肝脏炎症的严重程度、肝纤维化程度及肝细胞癌之间存在关联;(2)HCV RNA检测是CHC个体化治疗得以贯彻的基石。当前推荐的CHC标准治疗方案是聚乙二醇干扰素联合利巴韦林^[14],治疗长期有效的判定标志为SVR;2009年美国肝病学会(AASLD)更新了丙型肝炎临床指南^[15],在推荐治疗意见中强调了“个体化治疗”的理念,该理念包括根据患者基线特征(baseline-guided therapy, BGT)和根据患者治疗应答情况(response guided therapy, RGT)具体实施, BGT指标主要有基因型和基线病毒载量, RGT指标包括快速病毒学应答(RVR)、早期病毒学应答(EVR)、延迟病毒学应答(PVR)等,上述各个指标均依赖于准确、灵敏的核酸检测。

RNA定量检测技术有分支DNA(bDNA)和实时荧光定量PCR等。bDNA是一种优良的定

量检测技术,以人工合成的、可结合多个酶标记物的分支DNA作为信号放大系统,将病毒核酸的信号放大以便进行检测,其优势在于不涉及核酸扩增反应,因此污染的可能性小,对实验室的要求较PCR低,且不需要核酸提取,直接用微量(50 μl)的血浆或血清即可进行检测,检测的重复性良好,受基因型的影响小,但其不足在于灵敏度较低,不适合低水平HCV RNA的定量^[16]。近几年来随着实时荧光定量PCR技术的日趋成熟, HCV RNA定量检测的灵敏度逐渐提高,最低检测限可达12~15 IU/ml,接近甚至超过了定性检测的灵敏度,线性范围也在不断拓宽,且无需对PCR产物进行后续操作,减少了气溶胶的污染,基于这些优势,定量检测正逐渐取代定性检测用于献血员的筛查。与此同时, HCV RNA定量检测灵敏度的提高也会促进临床对抗病毒治疗过程中HCV RNA动力学变化与疗效之间的关系有更加深入的认识,例如2010年Sarrazin等^[17]在一项回顾性研究中,评价了应用罗氏Cobas Ampliprep/COBAS TaqMan检测HCV RNA(最低检测限15 IU/ml)能否用于判断RVR。结果提示,可以将<15 IU/ml作为判断RVR的标准,与原来的<50 IU/ml(Amplicor HCV Monitor 2.0)没有统计学差异,但该研究也发现,4周或12周血清RNA <15 IU/ml但仍能被Cobas Ampliprep/COBAS TaqMan检测到(即RNA结果在0~15 IU/ml之间)的RVR或EVR患者与完全检测不到RNA的患者相比有更高的复发率,提示治疗更早期的RNA动力学变化与预后的相关性如何,是今后临床试验中需要解决的问题^[18]。

需要引起注意的是,应用实时荧光定量PCR技术进行核酸定量时,选用引物或者探针不当,会影响定量结果。Chevaliez等^[19,20]的研究表明, Cobas AmpliPrep/Cobas Taqman对约15%的2型和30%的4型HCV RNA测定值偏低,同时,一些高病毒载量的基因4型标本用Cobas

表3 国际常用的HCV定性检测试剂及特点

试剂名称	生产商(销售商)	方法学	操作	最低检测限
Versant HCV qualitative Assay	Gen-Probe(西门子)	TMA	手工	10 IU/ml
Cobas AmpliScreen HCV 2.0	罗氏	PCR-ELISA	手工或半自动化	25 IU/ml
Chiron Procleix TMA HIV-1/HCV assay	Chiron(诺华)	TMA	手工	50 IU/ml

表4 国际常用的HCV RNA定量检测试剂

检测名称 (类型)	生产商	方法学	操作	线性范围 (最低检测限)
Versant HCV RNA 3.0	西门子	bDNA	自动化	615~7.7×10 ⁶ IU/ml
Amplicor HCV Monitor 2.0	罗氏	竞争性PCR	手工或半自动化	500~5×10 ⁵ IU/ml
COBAS TaqMan HCV with HPS	罗氏	Real-time PCR	手工提取RNA	28~1.4×10 ⁹ IU/ml (15 IU/ml)
COBAS TaqMan HCV with Cobas Ampliprep	罗氏	Real-time PCR	自动化	43~6.9×10 ⁷ IU/ml (15 IU/ml)
Abbott RealTime HCV with m2000	雅培	Real-time PCR	自动化	12~1×10 ⁸ IU/ml(12 IU/ml)
达安HCV核酸定量试剂盒	广州达安	Real-time PCR	手工提取RNA	10 ³ ~10 ⁷ IU/ml (1000 IU/ml)
匹基HCV核酸定量试剂盒	深圳匹基	Real-time PCR	手工提取RNA	10 ³ ~5×10 ⁷ IU/ml (500 IU/ml)
科华HCV核酸定量试剂盒	上海科华	Real-time PCR	手工提取RNA	10 ³ ~10 ⁷ IU/ml (500 IU/ml)

表5 HCV抗原检测试剂及原理

检测试剂名称 (生产商)	方法学	检测抗原类型	操作
HCV核心抗原ELISA试剂 ^[25]	ELISA	游离核心抗原	手工
Trak-C assay (Ortho-Clinical Diagnosis) ^[26]	ELISA	总核心抗原	手工
Architect HCV Ag test (Abbott) ^[27,28]	微粒化学发光法	总核心抗原	自动化(Architect i2000)
Murex Ag/Ab combination assay(Abbott) ^[29]	ELISA	核心抗原-抗体联合检测	手工
Monolisa HCV(Bio-Rad) ^[29]	ELISA	核心抗原-抗体联合检测	手工

Taqman检测为阴性,是由于HCV 5'非编码序列中核酸突变引起引物和探针结合力降低所致。克服上述缺陷的新一代试剂已经在研发中。

在我国由于经济条件所限,临床实验室以国产HCV RNA定量检测试剂占主导,其局限性在于线性范围窄,灵敏度低,仅能达到500~1000 IU/ml,因此不能准确判断RVR与EVR,也容易将部分早期病毒学应答(pEVR)误判为完全早期病毒学应答(cEVR),未将疗程再延长24周,从而导致所谓的“复发”。因此国产试剂需要尽快提高检测性能以更好地满足临床需求。表4列出了目前国内外常用的HCV RNA定量检测试剂及性能特点。

3 HCV抗原检测

相比抗-HCV, HCV抗原检测可将窗口期缩短1.5个月,且抗原检出仅比RNA晚2天^[21];免疫功能受损或缺陷的群体如艾滋病患者、长期接受透析的肾病患者、器官移植患者或先天性免疫功能缺陷患者筛查HCV感染时,不宜选择抗体检测,可选择RNA或抗原检测^[22];也有研究提示,干扰素联合利巴韦林治疗CHC早期监测HCV抗原水平可用于预测SVR^[23,24]。

虽然HCV抗原检测有诸多优势,但血清中HCV抗原含量很低,因此对检测技术的要求很高。近几年随着化学发光法等免疫学检测技术的发展和成熟,灵敏、定量且适合自动化检测的HCV抗原检测试剂已经研发成功,如雅培公

司研发的Architect HCV Ag检测试剂^[27,28],使用该试剂对10份血清盘进行检测,结果表明,相比抗-HCV, HCV抗原检测可将窗口期缩短35.8天;在197份HCV RNA阳性血清盘标本中,196份(99.5%)HCV Ag阳性,193份(98%)为RNA阳性(Amplicor HCV Monitor 2.0), HCV抗原水平与RNA载量成正相关($r=0.74$)且两者呈相似的动力学变化;通过对5403份献血者、住院患者和非HCV相关疾病患者的标本进行检测,证明Architect HCV Ag的特异性可达99.8%^[27]。也有HCV抗原-抗体联合检测试剂盒的文献报道, Tuke等^[29]对142名抗-HCV阴性的患者进行RNA和抗原-抗体联合检测,发现112例患者RNA检测呈阳性,但使用Abbott Murex抗原-抗体检测试剂只检出56例抗原-抗体阳性,使用Bio-Rad Monolisa抗原-抗体检测试剂仅检出32例阳性,说明抗原-抗体联合检测试剂的灵敏度还有待于进一步的提高。表5列出了目前几种常见的HCV抗原检测试剂及其原理。

4 HCV基因型和亚型检测

1993年Simmonds等^[30]比较了不同HCV毒株编码非结构蛋白5(NS5)区域222核苷酸序列,通过系统进化分析,按照发现的先后顺序,将HCV分为1~6个型,每个型下面有若干亚型,以a、b、c等表示。该分型法能与之前的各种分型命名法相对应,不仅协调了以前的分型命名方法,而且可以命名新的型和亚型,因此得到

表6 国际上常见商品化HCV基因分型试剂的特点

检测名称(类型)	生产商	技术原理	分型区域	是否能区分亚型	操作(检测平台)
Versant HCV Genotype Assay (LiPA) 1.0	西门子	反相线性杂交	5'-非翻译区(5'-UTR)	是	手工或自动化(AUTO-LiPA)
Versant HCV Genotype Assay (LiPA) 2.0	西门子	反相线性杂交	5'-非翻译区(5'-UTR)和核心蛋白编码区	是	手工或自动化(AUTO-LiPA)
Trugene HCV genotyping assay	西门子	直接测序	5'-UTR	是	手工提取RNA
Abbott RealTime HCV genotyping II	雅培	实时荧光PCR-SSP	5'-UTR和NS5b编码区	只可区分1a和1b	全自动化(m2000)

了大多数学者的认同^[31]。目前为止, HCV被分为6个型和80多个亚型^[32]。在我国, 主要的基因型为1b, 其次为2a, 还有其他较少见的型别, 如西南地区的3型和广东等地区的6型等^[33]。基因型的流行病学调查有助于明确HCV传播途径并控制传染源, 也为预防性疫苗的研发提供科学依据; 对临床而言, 基因分型对治疗CHC有重要的意义: 不同基因型病毒感染的CHC抗病毒治疗疗程、利巴韦林剂量不同, 病毒学应答也有差异, 因此CHC患者治疗前应检测基因型用于指导制定抗病毒治疗的个体化方案^[34-37]。

基因1型病毒感染者48周标准抗病毒治疗后的SVR明显低于2或3型病毒感染患者24周疗程的标准治疗, 即使用过延长疗程提高了SVR, 最终的SVR仍不能令人满意^[38]。因此, 仅仅靠优化聚乙二醇干扰素联合利巴韦林的标准治疗方案, 对进一步提高疗效的作用有限。近几年来, 针对HCV蛋白酶或聚合酶的小分子靶向抑制剂是临床研究热点, 基于靶向抑制剂的特异性靶向抗病毒治疗(specifically targeted antiviral therapy for HCV, STAT-C)可显著提高基因1型病毒感染者的SVR, 比较成熟的方案包括在聚乙二醇干扰素 α -2a的基础上加用NS3/4A丝氨酸蛋白酶抑制剂telaprevir或boceprevir, 可以在缩短疗程的同时获得较为理想的SVR^[39,40]。基因1型可分为1a、1b、1c等多个亚型, 不同亚型核酸序列有所不同, 蛋白的结构和功能也存在差异, 体外研究表明, NS3/4A抑制剂和非核苷类聚合酶抑制剂的抗病毒效能呈现1a/1b亚型病毒选择性, 基因屏障和耐药变异在1a/1b亚型病毒中也有差异^[41,42], 因此, 对临床实验室而言, 在不久的将来, 不仅要准确鉴定HCV基因型, 还需准确有效地区分亚型以满足STAT-C的需要。

现阶段检测HCV基因(亚)型的方法是分子生物学方法, 如测序法(包括PCR产物直接测序法和克隆测序法)、限制性片段长度多态

性(RFLP)、实时荧光PCR-序列特异性引物(SSP)、基因芯片及反相线性探针杂交法(LiPA)等等, 目前国际上常用的商品化分型试剂列于表6, 均根据5'-非翻译区(5'-UTR)或在5'-UTR基础上附加核心蛋白编码区或RNA依赖的RNA聚合酶编码区(NS5b)的核酸序列信息检测型和亚型。最近研究表明, 这些试剂检测基因型的符合率较高, 但检测“亚型”时表现各异, 例如, LiPA 2.0不能灵敏检出在埃及人群中流行的4型HCV的各亚型, 并且其检出的4型各亚型检测结果和Trugene相比仅有3%的符合率^[43], 而Chevaliez等^[44]的研究结果显示, 基于分析5'-UTR序列信息的测序法(Trugene)或反相杂交法(LiPA 1.0)不能正确区分22.8%~29.5%的1a亚型样本和9.5%~8.7%的1b样本, 5'-UTR 107、204和/或243位点的多态性是造成误检的原因。Abbott RealTime HCV genotyping II基于检测5'-UTR和NS5b的序列来确定1a和1b亚型, 不能准确区分10%的1a或1b样本。而相比LiPA 1.0, LiPA 2.0在5'-UTR的基础上增加了核心区序列信息, 可正确鉴定99%的1a或1b标本。该研究提示, 不宜仅仅依靠5'-UTR的序列信息鉴定亚型。目前所有分型试剂均只能用于科研, 尚不能作为临床常规检测。用于检测HCV基因(亚)型的技术手段亦可用于将来检测HCV基因型耐药变异。

【参考文献】

- [1] Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection[J]. N Engl J Med, 2001, 345(1):41-52.
- [2] 戴志澄, 齐国明. 中国病毒性肝炎: 血清流行病学调查(上卷)[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1997: 60-71.
- [3] Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome[J]. Science, 1989, 244(4902): 359-362.
- [4] Alter HJ, Houghton M. Clinical Medical Research Award.

- Hepatitis C virus and eliminating post-transfusion hepatitis[J]. *Nat Med*, 2000, 6(10): 1082-1086.
- [5] Barrera JM, Francis B, Ercilla G, et al. Improved detection of anti-HCV in post-transfusion hepatitis by a third-generation ELISA[J]. *Vox Sang*, 1995, 68(1): 15-18.
- [6] Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus(HCV)infection and HCV-related chronic disease[J]. *MMWR Recomm Rep*, 1998, 47(RR-99): 1-39.
- [7] Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L, et al. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus[J]. *MMWR Recomm Rep*, 2003, 52(RR-3): 1-16.
- [8] Ren FR, Lv QS, Zhuang H, et al. Significance of the signal-to-cutoff ratios of anti-hepatitis C virus enzyme immunoassays in screening of Chinese blood donors[J]. *Transfusion*, 2005, 45(11): 1816-1822.
- [9] 魏来. 亚太地区丙型肝炎病毒感染的诊断、处理和治疗的共识[J]. *临床肝胆病杂志*, 2007, 23(5):323-327.
- [10] Toyoda H, Kumada T, Kiriyaama S, et al. Changes in hepatitis C virus(HCV)antibody status in patients with chronic hepatitis C after eradication of HCV infection by interferon therapy[J]. *Clin Infect Dis*, 2005, 40(6): e49-54.
- [11] Lefrère JJ, Girot R, Lefrère F, et al. Complete or partial seroreversion in immunocompetent individuals after self-limited HCV infection: consequences for transfusion[J]. *Transfusion*, 2004, 44(3): 343-348.
- [12] Busch MP, Glynn SA, Stramer SL, et al. A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors[J]. *Transfusion*, 2005, 45(2):254-264.
- [13] Eiras A, Sauleda S, Planelles D, et al. HCV screening in blood donations using RT-PCR in mini-pool: the experience in Spain after routine use for 2 years[J]. *Transfusion*, 2003, 43(6):713-720.
- [14] NIH Consensus Statement on Management of Hepatitis C: 2002 NIH Consens State Sci Statements[J]. *NIH Consens State Sci Statements*, 2002, 19(3): 1-46.
- [15] Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, et al. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update[J]. *Hepatology*, 2009, 49(4): 1335-1374.
- [16] Trimoulet P, Halfon P, Pohier E, et al. Evaluation of the VERSANT HCV RNA 3.0 assay for quantification of hepatitis C virus RNA in serum[J]. *J Clin Microbiol*, 2002, 40(6): 2031-2036.
- [17] Sarrazin C, Shiffman ML, Hadziyannis SJ, et al. Definition of rapid virologic response with a highly sensitive real-time PCR-based HCV RNA assay in peginterferon alfa-2a plus ribavirin response-guided therapy[J]. *J Hepatol*, 2010, 52(6): 832-838.
- [18] Pawlotsky JM. More sensitive hepatitis C virus RNA detection: what for? [J]. *J Hepatol*, 2010, 52(6): 783-785.
- [19] Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Castéra L, et al. The Cobas AmpliPrep-Cobas TaqMan real-time polymerase chain reaction assay fails to detect hepatitis C virus RNA in highly viremic genotype 4 clinical samples[J]. *Hepatology*, 2009, 49(4): 1397-1398.
- [20] Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Brillet R, et al. Overestimation and underestimation of hepatitis C virus RNA levels in a widely used real-time polymerase chain reaction-based method[J]. *Hepatology*, 2007, 46(1): 22-31.
- [21] Courouc é AM, Le Marrec N, Bouchardeau F, et al. Efficacy of HCV core antigen detection during the preseroconversion period[J]. *Transfusion*, 2000, 40(10): 1198-1202.
- [22] Medhi S, Potukuchi SK, Polipalli SK, et al. Diagnostic utility of hepatitis C virus core antigen in hemodialysis patients[J]. *Clin Biochem*, 2008, 41(7-8): 447-452.
- [23] Sasase N, Kim SR, Kim KI, et al. Usefulness of a new immunoradiometric assay of HCV core antigen to predict virological response during PEG-IFN/RBV combination therapy for chronic hepatitis with high viral load of serum HCV RNA genotype 1b[J]. *Intervirology*, 2008, 51(Suppl 1):70-75.
- [24] Lunel F, Veillon P, Fouchard-Hubert I, et al. Antiviral effect of ribavirin in early non-responders to interferon monotherapy assessed by kinetics of hepatitis C virus RNA and hepatitis C virus core antigen[J]. *J Hepatol*, 2003, 39(5): 826-833.
- [25] Tanaka E, Ohue C, Aoyagi K, et al. Evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis C virus(HCV)core antigen with clinical sensitivity approximating that of genomic amplification of HCV RNA[J]. *Hepatology*, 2000,

- 32(2): 388–393.
- [26] Bouvier–Alias M, Patel K, Dahari H, et al. Clinical utility of total HCV core antigen quantification: a new indirect marker of HCV replication[J]. *Hepatology*, 2002, 36(1): 211–218.
- [27] Morota K, Fujinami R, Kinukawa H, et al. A new sensitive and automated chemiluminescent microparticle immunoassay for quantitative determination of hepatitis C virus core antigen[J]. *J Virol Methods*, 2009, 157(1): 8–14.
- [28] Park Y, Lee JH, Kim BS, et al. New automated hepatitis C virus (HCV) core antigen assay as an alternative to real-time PCR for HCV RNA quantification[J]. *J Clin Microbiol*, 2010, 48(6): 2253–2256.
- [29] Tuke PW, Grant PR, Waite J, et al. Hepatitis C virus window–phase infections: closing the window on hepatitis C virus[J]. *Transfusion*, 2008, 48(4): 594–600.
- [30] Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS–5 region[J]. *J Gen Virol*, 1993, 74(Pt11): 2391–2399.
- [31] Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes[J]. *Hepatology*, 2005, 42(4): 962–973.
- [32] Argentini C, Genovese D, Dettori S, et al. HCV genetic variability: from quasispecies evolution to genotype classification[J]. *Future Microbiol*, 2009, 4: 359–373.
- [33] Lu L, Nakano T, He Y, et al. Hepatitis C virus genotype distribution in China: predominance of closely related subtype 1b isolates and existence of new genotype 6 variants[J]. *J Med Virol*, 2005, 75(4): 538–549.
- [34] Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon–alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose[J]. *Ann Intern Med*, 2004, 140(5): 346–355.
- [35] Hnatyszyn HJ. Chronic hepatitis C and genotyping: the clinical significance of determining HCV genotypes[J]. *Antivir Ther*, 2005, 10(1): 1–11.
- [36] Farnik H, Mihm U, Zeuzem S. Optimal therapy in genotype 1 patients[J]. *Liver Int*, 2009, 29(Suppl 1): 23–30.
- [37] Tarantino G, Craxi A. Optimizing the treatment of chronic hepatitis due to hepatitis C virus genotypes 2 and 3: a review[J]. *Liver Int*, 2009, 29(Suppl 1): 31–38.
- [38] Berg T, von Wagner M, Nasser S, et al. Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1: comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon–alpha–2a plus ribavirin[J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(4): 1086–1097.
- [39] McHutchison JG, Everson GT, Gordon SC, et al. Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360: 1827–1838.
- [40] Kwo P, Lawitz EJ, McCone J, et al. HCV SPRINT–1 final results: SVR 24 from a phase 2 study of boceprevir plus PegIFN alpha–2b/ribavirin in treatment–naïve subjects with genotype 1 chronic hepatitis[J]. *J Hepatol*, 2009, 50(Suppl 1): S4.
- [41] Erhardt A, Deterding K, Benhamou Y, et al. Safety, pharmacokinetics and antiviral effect of BILB 1941, a novel hepatitis C virus RNA polymerase inhibitor, after 5 days oral treatment[J]. *Antivir Ther*, 2009, 14(1): 23–32.
- [42] McCown MF, Rajyaguru S, Kular S, et al. GT–1a or GT–1b subtype–specific resistance profiles for hepatitis C virus inhibitors telaprevir and HCV–796[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(5): 2129–2132.
- [43] Zekri AR, El–Din HM, Bahnassy AA, et al. TRUGENE sequencing versus INNO–LiPA for sub–genotyping of HCV genotype–4[J]. *J Med Virol*, 2005, 75(3): 412–420.
- [44] Chevaliez S, Bouvier–Alias M, Brillet R, et al. Hepatitis C Virus(HCV)genotype 1 subtype identification in new HCV drug development and future clinical practice[J]. *PLoS ONE*, 2009, 4(12): e8209.

(本文编辑: 朱 晶)

丙型肝炎病毒感染的检测

作者: 杨瑞锋, 魏来, YANG Rui-feng, WEI Lai
作者单位: 北京大学人民医院, 北京大学肝病研究所, 北京, 100044
刊名: 临床肝胆病杂志 **ISTIC**
英文刊名: JOURNAL OF CLINICAL HEPATOLOGY
年, 卷(期): 2011, 27(1)
被引用次数: 9次

参考文献(44条)

1. Lauer GM;Walker BD [Hepatitis C virus infection](#)[外文期刊] 2001(01)
2. 戴志澄;齐国明 [中国病毒性肝炎:血清流行病学调查](#) 1997
3. Choo QL;Kuo G;Weiner AJ [Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A.non-B viral hepatitis genome](#)[外文期刊] 1989(4902)
4. Alter HJ;Houghton M [Clinical Medical Research Award.Hepatitis C virus and eliminating post-transfusion hepatitis](#)[外文期刊] 2000(10)
5. Barrera JM;Francis B;Ercilla G [Improved detection of anti-HCV in post-transfusion hepatitis by a thirdgeneration ELISA](#)[外文期刊] 1995(01)
6. Centers for Disease Control and Prevention [Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus\(HCV\)infection and HCV-related chronic disease](#) 1998(RR-99)
7. Alter MJ;Kuhnert WL;Finelli L [Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus](#) 2003(RR-3)
8. Ren FR;Lv QS;Zhuang H [Significance of the signal-to-cutoff ratios of anti-hepatitis C virus enzyme immunoassays in screening of Chinese blood donors](#)[外文期刊] 2005(11)
9. 魏来 [亚太地区丙型肝炎病毒感染的诊断、处理和治疗的共识](#)[期刊论文]-[临床肝胆病杂志](#) 2007(05)
10. Toyoda H;Kumada T;Kiryama S [Changes in hepatitis C virus\(HCV\)antibody status in patients with chronic hepatitis C after eradication of HCV infection by interferon therapy](#)[外文期刊] 2005(06)
11. Lefrère JJ;Giot R;Lefrère F [Complete or partial seroreversion in immunocompetent individuals after selflimited HCV infection:consequences for transfusion](#)[外文期刊] 2004(03)
12. Busch MP;Glynn SA;Stramer SL [A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recantily infected donors](#) 2005(02)
13. Eiras A;Sauleda S;Planelles D [HCV screening in blood donations using RT-PCR in mini-pool:the experience in Spain after routine use for 2 years](#)[外文期刊] 2003(06)
14. NIH Consensus Statement on Management of Hepatitis C:2002 NIH Consens State Sci Statements 2002(03)
15. Ghany MG;Strader DB;Thomas DL [Diagnosis,management,and treatment of hepatitisC:an update](#)[外文期刊] 2009(04)
16. Trimoulet P;Halfon P;Pohier E [Evaluation of the VERSANT HCV RNA 3.0 assay for quantification of hepatitis C virus RNA in serum](#)[外文期刊] 2002(06)
17. Sarrazin C;Shiffman M L;Hadziyannis SJ [Definition of rapid virologic response with a highly sensitive realtime PCR-based HCV RNA assay in peginterferon alfa2a plus ribavirin response-guided](#)

[therapy](#)[外文期刊] 2010(06)

18. [Pawlotsky JM](#) [More sensitive hepatitis C virus RNA detection:what for](#)[外文期刊] 2010(06)

19. [Chevaliez S](#);[Bouvier-Alias M](#);[Cast é ra L](#) [The Cobas AmpliPrep-Cobes TaqMan real-time polymerase chain reaction assay fails to detect hepatitis C virus RNA in highly viremic genotype 4 clinical samples](#)[外文期刊] 2009(04)

20. [Chevaliez S](#);[Bouvier-Alias M](#);[Brillet R](#) [Overestimation and underestimation of hepatitis C virus RNA levels in a widely used real-time polymerase chain reaction-based method](#)[外文期刊] 2007(01)

21. [Courouc é AM](#);[Le Marrec N](#);[Bouchardeau F](#) [Efficacy of HCV core antigen detection during the preseroconversion period](#) 2000(10)

22. [Medhi S](#);[Potukuchi SK](#);[Polipalli SK](#) [Diagnostic utility of hepatitis C virus core antigen in hemodialysis patients](#)[外文期刊] 2008(7-8)

23. [Sasase N](#);[Kim SR](#);[Kim KI](#) [Usefulness of a new immunoradiometric assay of HCV core antigen to predict virological response during PEG-1FN/RBV combination therapy for chronic hepatitis with high viral load of serum HCV RNA genotype 1b](#)[外文期刊] 2008(Suppl 1)

24. [Lunel F](#);[Veillon P](#);[Fouchard-Hubert I](#) [Antiviral effect of ribavidn in early non-responders to interferon monotherapy assessed by kinetics of hepatRis C virus RNA and hepatitis C virus core antigen](#)[外文期刊] 2003(05)

25. [Tanaka E](#);[Ohue C](#);[Aoyagi K](#) [Evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis C virus\(HCV\)core antigen with clinical sensitivity approximating that of ganomic amplification of HcV RNA](#)[外文期刊] 2000(02)

26. [Bouvier-Alias M](#);[Patel K](#);[Dahari H](#) [Clinical utility of total HCV core antigen quantification:a new indirect marker of HCV replication](#)[外文期刊] 2002(01)

27. [Morota K](#);[Fujinami R](#);[Kinukawa H](#) [A new sensitive and.automated chemiluminescent micrOdarticle immunoassay for quantitative determination of hepatitis C virus core antigen](#)[外文期刊] 2009(01)

28. [Park Y](#);[Lee JH](#);[Kim BS](#) [New automated hepatitis C virus\(HCV\) core antigen assay as an alternative to realtime PCR for HCV RNA quantification](#)[外文期刊] 2010(06)

29. [Tuke PW](#);[Grant PR](#);[Waite J](#) [Hepatitis C virus window-phase infections:closing the window on hepatitis C virus](#)[外文期刊] 2008(04)

30. [Simmonds P](#);[Holmes EC](#);[Cha TA](#) [Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region](#)[外文期刊] 1993(Pt11)

31. [Simmonds P](#);[Bukh J](#);[Combet C](#) [Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes](#)[外文期刊] 2005(04)

32. [Argentini C](#);[Genovese D](#);[Dettori S](#) [HCV genetic variability:from quasispecies evolution to genotype classification](#) 2009

33. [Lu L](#);[Nakano T](#);[He Y](#) [Hepatitis C virus genotype distribution in China:predominance of closely related subtype 1b isolates and existence of new genotype 6 variants](#)[外文期刊] 2005(04)

34. [Hadziyannis SJ](#);[Sette H Jr](#);[Morgan TR](#) [PeginterferOn-a1pha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C:a randomized study of treatment duration and ribavirin dose](#)[外文期刊] 2004(05)

35. [Hnatyszyn HJ](#) [Chronic hepatitis C and genotyping:the clinical significance of determining HCV genotypes](#)[外文期刊] 2005(01)
36. [Farnik H;Mihm U;Zeuzem S](#) [Optimal therapy in genotype 1 patients](#) 2009(Suppl 1)
37. [Tarantino G;Craxl A](#) [Optimizing the treatment of chronic hepatitis due to hepatitis C virus genotypes 2 and 3:a review](#) 2009(Suppl 1)
38. [Berg T;von Wagner M;Nasser S](#) [Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1:comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-aIfa-2a plus ribavirin](#)[外文期刊] 2006(04)
39. [McHutchison JG;Everson GT;Gordon SC](#) [Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection](#)[外文期刊] 2009(18)
40. [Kwo P;Lawitz EJ;McCone J](#) [HCV SPRINT-1 final results:SVR 24 from a phase 2 study of boceprevir plus PeglFN alpha-2b/ribavirin in treatment-naive subjects with genotype 1 chronic hepatitis](#)[外文期刊] 2009(Suppl 1)
41. [Erhardt A;Deterding K;Benhamou Y](#) [Safety, pharmacokinetics and antiviral effect of BILB 1941, a novel hepatitis C virus RNA polymerase inhibitor, after 5 days oral treatment](#)[外文期刊] 2009(01)
42. [McCown MF;Rajyaguru S;Kular S](#) [GT-1a or GT1b subtype-specific resistance profiles for hepatitis C virus inhibitors telaprevir and HCV-796](#)[外文期刊] 2009(05)
43. [Zekri AR;EI-Din HM;Bahnassy AA](#) [TRUGENE sequencing versus INNO-LiPA for sub-genotyping of HCV genotype-4](#)[外文期刊] 2005(03)
44. [Chevaliez S;Bouvier-Alias M;Brillet R](#) [Hepatitis C Virus\(HCV\)genotype 1 subtype identification in new HCV drug development and future clinical practice](#)[外文期刊] 2009(12)

引证文献(9条)

1. [王尚玉](#) [应用彩色多普勒超声评价慢性丙型肝炎的治疗效果](#)[期刊论文]-[国际病毒学杂志](#) 2013(4)
2. [刘厚昌](#), [刘映祥](#), [谢金荣](#) [抗-HCV、HCVRNA 及肝功能联合检测在丙型肝炎病毒感染检测中的临床应用](#)[期刊论文]-[中国中医药咨讯](#) 2012(5)
3. [谢旭](#), [马汉武](#), [路滢](#), [方玉金](#), [叶晓玲](#), [吴泰顺](#), [董书贤](#), [陈戊申](#), [程锦泉](#) [2010年深圳市丙型肝炎血清流行病学调查](#)[期刊论文]-[中华疾病控制杂志](#) 2012(7)
4. [严芝光](#), [钟义凯](#), [林世锋](#) [我院2007~2010年输血前检查结果分析](#)[期刊论文]-[广西医科大学学报](#) 2011(4)
5. [庄健海](#), [罗娜](#), [黄星华](#) [2项分子生物学诊断指标测量不确定度评定](#)[期刊论文]-[国际医药卫生导报](#) 2013(6)
6. [张富永](#), [叶青艳](#), [刘旭](#), [陈逸云](#), [陈建杰](#) [病毒性肝炎中医病名再探](#)[期刊论文]-[长春中医药大学学报](#) 2013(3)
7. [庄健海](#), [卓雪芽](#), [谢小梅](#), [何娴](#), [罗娜](#), [黄星华](#) [实时荧光定量PCR法检测HCV-RNA测量不确定度评价](#)[期刊论文]-[国际检验医学杂志](#) 2013(12)
8. [潘瑞钰](#) [胶体金免疫层析试验在检测急诊患者血液传播疾病中的应用](#)[期刊论文]-[国际病毒学杂志](#) 2013(4)
9. [王玲玲](#), [廖远泉](#) [丙型肝炎病毒及丙型肝炎流行病学概述](#)[期刊论文]-[现代临床医学](#) 2013(5)

引用本文格式: [杨瑞锋](#), [魏来](#), [YANG Rui-feng](#), [WEI Lai](#) [丙型肝炎病毒感染的检测](#)[期刊论文]-[临床肝胆病杂志](#) 2011(1)