

HCV 核酸检测用于临床诊断的研究进展

徐冰¹ 赫晓霞² 任雅楠¹ 王俊¹ 邢文革¹

¹中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心参比实验室,北京 102206;²北京市理化分析测试中心 北京市食品安全分析测试工程技术研究中心 北京市基因测序与功能分析工程技术研究中心 100089

通信作者:邢文革, Email: xingwenge@sina.com

【摘要】 HCV 感染呈全球流行,发病隐匿。实验室检测是临床诊断的主要依据,其检测方法主要为抗体检测和核酸检测。为实现对 HCV 感染的早发现、早诊断,选择最佳检测方法和诊断策略尤为重要。本文从 HCV 核酸检测方法,试剂的性能评价以及目前的 HCV 检测策略进行综述。

【关键词】 HCV; 核酸检测; 检测策略

Advances in studies of HCV nucleic acid testing for clinical diagnosis

Xu Bing¹, He Xiaoxia², Ren Yanan¹, Wang Jun¹, Xing Wenge¹

¹National HIV/AIDS Reference Laboratory, National Center for AIDS/STD Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention. Beijing 102206, China; ²Beijing Engineering Technology Research Centre of Gene Sequencing and Gene Function Analysis, Beijing Engineering Research Center of Food Safety Analysis, Beijing Center for Physical & Chemical Analysis, Beijing 100089, China

Corresponding author: Xing Wenge, Email: xingwenge@sina.com

【Abstract】 HCV infection is of global concern with the characteristic of insidious onset. Laboratory testing stands indispensably for clinical diagnosis with antibody assay and nucleic acid testing the main methods being adopted. For early detection and diagnosis of HCV infection, it is important to choose the best detection method and diagnostic strategy. This paper reviews the HCV nucleic acid testing methods, as well as performance evaluation of reagents and current strategies.

【Key words】 HCV; Nucleic Acid Testing; Testing Strategy

丙型肝炎(丙肝)是一种由 HCV 引起的主要经血液传播、以肝损害为主的疾病。发病隐匿,临床症状不典型,慢性化程度高。HCV 感染呈全球流行,不同性别、年龄、种族的人群均易感,尚无预防性疫苗^[1]。WHO 在 2017 年全球肝炎报告中指出,据 2015 年估计全球有 7 100 万慢性 HCV 感染者^[2]。我国于 2006 年结合全国乙型肝炎血清流行病学调查,开展了丙肝血清学研究,结果显示 1~59 岁人群抗-HCV 流行率为 0.43%^[3]。2016 年 Petruzzello 等^[4]对 138 个国家(约占全球人口 90%)在 2000-2015 年报告数据进行 Meta 分析,显示我国抗-HCV 阳性率为 1.3%。为消除作为公共卫生威胁的病毒性肝炎,世界卫生大会批准通过了 2016-2021 年全球卫生部门病毒性肝炎战略目标^[5],旨在 2030 年

诊断出 90% 的感染者,其中 80% 的患者被治疗。为早日实现该目标,须依靠及时准确的实验室检测方法和有效可行的检测策略。

《丙型肝炎诊断(WS213-2018)》指出,诊断 HCV 感染的方法主要为抗-HCV 和 HCV RNA^[6]。其中抗-HCV 检测包括 ELISA、化学发光法试验、胶体金法快速试验等;核酸检测包括 RT-PCR、荧光定量 PCR (FQ-PCR) 等。《丙型肝炎防治指南(2019 年版)》将抗-HCV 检测用于 HCV 感染者的筛查,对于抗体阳性者进行核酸检测^[7]。若不能及时进行核酸检测, HCV 核心抗原可作为 HCV RNA 用于诊断急性或慢性 HCV 感染的替代标志物^[6-7]。由于单纯进行抗体检测,在不同患者中可能出现假阳性或假阴性结果。《丙型肝炎病毒实

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200317-00371

收稿日期 2020-03-17 本文编辑 斗智

引用本文:徐冰,赫晓霞,任雅楠,等. HCV 核酸检测用于临床诊断的研究进展[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(1): 153-159. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200317-00371.



实验室检测技术规范》(试行)指出,初筛试验中抗体阳性的样本,须做复检试验^[8]。若复检结果均为阳性或者一阴一阳反应,还需进行免疫印迹试验或核酸定性检测^[8]。与之相比,WHO在2018年《慢性丙型肝炎病毒感染患者的护理和治疗指南》中,对于抗体阳性者进行核酸检测(定性或定量检测)或核心抗原检测的补充试验^[9]。美国CDC在2013年更新版指南中则建议对有抗体反应性患者直接进行核酸检测^[10]。本文主要介绍目前用于临床诊断的HCV RNA检测方法,核酸检测试剂性能评价以及检测策略。

一、HCV RNA 检测方法

HCV RNA 检测包括定性和定量检测,前者可用于献血员筛查和临床诊断,而后者主要用于进行抗病毒治疗监测及预后判断。目前,已注册试剂采用的检测方法有转录介导扩增技术(TMA)、RT-PCR、分支DNA(bDNA)技术和实时荧光定量PCR技术(Real-time quantitative PCR, RT-qPCR)。

1. HCV RNA 定性检测:

(1)TMA:利用RNA聚合酶和反转录酶共同作用,对目的基因进行恒温扩增。分析时间短,反应条件简单,无需专门的热循环仪^[11],且采用单管反应,交叉污染风险低,假阳性结果的可能性也非常低^[12]。利用TMA进行的核酸检测灵敏度较高,如Versant HCV RNA Qualitative Assay对HCV 1型的分析灵敏度达5.3 IU/ml^[13]。

(2)RT-PCR:用于HCV核酸定性和定量检测,其中AMPLICOR HCV Test, v2.0定性检测的最低检测限为50 IU/ml^[14],可作为一种高敏感和准确的方法用于HCV的诊断以及疗效监测^[15]。

2. HCV RNA 定量检测:

HCV RNA 定量检测方法有定量RT-PCR、bDNA技术和

RT-qPCR技术。由于定量RT-PCR检测繁琐、易污染,逐渐被其他方法替代。bDNA扩增技术通过信号放大来提高检测的灵敏度^[16],但不如RT-qPCR。RT-qPCR通过荧光染料或荧光标记的特异性探针,对PCR产物进行实时监测^[17]。随着更多的RT-qPCR出现,定性检测居于次要地位^[18-19],如COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV Test, v2.0 (CAP/CTM v2.0)最低检测限为15 IU/ml,比定性检测COBAS AMPLICOR HCV v2.0(最低检测限为60 IU/ml)的灵敏度高。此外,定量检测能明确病毒载量,更适用于疗效观察^[20]。

二、用于临床诊断的HCV RNA检测试剂性能评价

1. 美国用于临床诊断的HCV RNA检测试剂性能评价:

目前,获得美国食品药品监督管理局(FDA)批准且用于临床诊断HCV RNA的试剂有9种(表1),其中7种可用于确认HCV感染,包括3种定性检测与4种同时进行定性和定量检测的试剂。这7种检测试剂均不可用于血液筛查,仅供体外诊断使用,且均适用于抗-HCV阳性且有肝病证据者、抗体阳性怀疑有活动性HCV感染或有感染HCV风险者,检测结果不能区分急、慢性感染。若检出HCV RNA提示病毒正在复制,作为活动性HCV感染证据,但HCV RNA阴性结果不能排除活动性HCV感染。此外,定性检测结果不提示有肝病,对于没有HCV感染的抗体证据(未检测、抗-HCV酶免疫分析无反应、抗-HCV条带免疫分析阴性)的患者,应谨慎解释其阳性结果。HCV RNA定性检测试剂中AMPLICOR HCV Test, v2.0的最低检测限为50 IU/ml^[21],而基于TMA的Versant HCV RNA Qualitative Assay具有更高灵敏度,其最低检测限为5.3 IU/ml^[22],该值与Krajden等^[23]报告的6.0 IU/ml或Ross等^[24]报道的5 IU/ml差异无统计学意义。

表1 美国食品药品监督管理局批准用于临床诊断的HCV RNA检测试剂及性能特点

检测类型	公司名称	试剂商品名	检测方法	预期用途	检测范围 (IU/ml)	最低检测限 ^a (IU/ml)
定性检测 ^[14,32]	瑞士罗氏分子系统公司	AMPLICOR HCV Test, v2.0	RT-PCR	定性检测人血清或血浆(EDTA)中HCV RNA	-	血浆 50 血清 100
		COBAS AMPLICOR HCV v2.0			-	血浆 60 血清 100
	美国Gen-Probe公司	Versant HCV RNA Qualitative Assay	TMA	定性检测人血清或血浆(EDTA、肝素钠、柠檬酸钠和柠檬酸葡萄糖ACD)中HCV RNA	-	5.3
定性和定量检测 ^[30]	美国豪洛捷公司	Aptima HCV Quant Dx Assay		定性、定量检测来自HCV感染者的新鲜或冷冻血清和血浆(EDTA、ACD)中1~6型HCV RNA	10~1×10 ⁸	血浆 3.9 血清 3.4
	瑞士罗氏分子系统公司	COBAS HCV 6800/8800	RT-qPCR	定性、定量检测来自HCV感染者的血清、血浆(EDTA)中1~6型HCV RNA	15~1×10 ⁸	血浆 12 血清 13.7
		COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV Test, v2.0			15~1×10 ⁸	15
	美国雅培分子公司	Alinity m HCV		定性、定量检测HCV感染者血清或血浆(EDTA、ACD)中1~6型HCV RNA	12~1×10 ⁸	血浆 8.5 血清 8.0
定量检测 ^[33]		Abbott Realtime HCV Assay		定量检测HCV感染者血清或血浆(EDTA)中1~6型HCV RNA	12~1×10 ⁸	12
	德国西门子医疗诊断公司	Versant HCV RNA 3.0	bDNA	定量检测HCV感染者血清或血浆(EDTA和ACD)中1~6型HCV RNA	615~8×10 ⁶	988

注:^a最低检测限包括血清和血浆两种结果,未标明则不作区分;-无数值

定量检测作为管理抗病毒治疗 HCV 患者的辅助手段,用于测定基线和治疗期间 HCV RNA 水平,并可用于疗效观察,其检测结果的解释必须结合临床和实验室结果。定量检测不可用于血液筛查,也不用于诊断或确认 HCV 感染,其中 Versant HCV RNA 3.0 试剂检测结果的阳性预测值不可用于指导治疗。作为定量检测的 Abbott Realtime HCV Assay 与 CAP/CTM v2.0 性能相当,比 Versant HCV RNA 3.0 具有更好的性能^[25]。同时,CAP/CTM v2.0 与 FDA 批准的定性、定量检测的试剂之间有强相关性^[26-27]。

Vermehren 等^[28]对 4 种不同平台的罗氏 HCV RNA 检测的分析和临床性能进行多中心比较研究,结果表明 COBAS HCV 6800/8800 与 CAP/CTM v2.0 检测之间具有较好的相关性。除 COBAS HCV 6800/8800 检测之外,Alinity m HCV 和 Aptima HCV Quant Dx Assay 也能同时进行核酸定性和定量检测。Mouna 等^[29]用临床样本在 Abbott Alinity m 和 m2000 系统上进行 HCV 定量检测,结果显示这两种检测结果高度相关。Aptima HCV quant Dx Assay 与 CAP/CTM v2.0 和 Abbott Realtime HCV Assay 相比,线性范围宽,具有良好的敏感性、特异性和精密度,最低定量检测限为 10 IU/ml,符合 2018 年欧洲肝病学会(EASL)推荐的用于诊断 HCV 感染的检测下限 < 15 IU/ml^[30]。而且,从雅培或者罗氏转换到 Aptima 进行检测时,无需重新设定患者基线^[31]。此外,Aptima HCV quant Dx Assay 的干血斑(DBS)检测结果与 CAP/CTM v2.0 的血清检测结果相近^[32],因此 Aptima HCV quant Dx Assay 能够为基础设施不足或无法及时提供充足样本的地区提供更加可靠的检测结果。

2. 我国用于临床诊断的 HCV RNA 检测试剂性能评价:《体外诊断试剂注册管理办法修正案》第三条规定^[34],按医疗器械管理的体外诊断试剂用于疾病诊断等,而按照药品管理的用于血源筛查。查询结果显示,我国用于临床诊断的已注册进口 HCV RNA 检测试剂,包括 3 家核酸定量检测和 1 家同时进行定性和定量检测的试剂(表 2)。

我国有 17 家国产注册且在有效期内的 HCV RNA 检测试剂,主要以 HCV RNA 定量检测试剂为主。其中,仅有一家核酸定性检测试剂主要用于丙肝的辅助诊断,具有较好的特异性、重复性、抗干扰能力,灵敏度为 50 IU/ml^[35]。与罗氏 HCV RNA 定量检测试剂相比,国产试剂在病毒载量 < 10³ IU/ml 的样本中灵敏度较低^[36]。刘娜等^[37]研究也显示国

内传统 FQ-PCR 灵敏度低,最低检测限为 500-10³ IU/ml,而 RT-qPCR 的最低检测限低至 12-15 IU/ml 可满足临床需求。由于不同的提取方法导致提取效率不同,从而使其检测下限不同。根据不同的提取方式,实时荧光定量 PCR 可分为手工法、柱提取法和磁珠提取法。国内学者^[38]将这三种核酸提取方法的 HCV RNA 定量检测结果与罗氏试剂的检测结果对比,结果显示磁珠法结果较好。随着实时荧光定量 PCR(磁珠法)的应用,不仅核酸纯度和提取效率比传统方法有很大提升,而且能实现自动化操作,有些试剂能与国外试剂相媲美^[39]。

2019 年最新版《丙型肝炎防治指南》指出 HCV RNA 定量检测适用于确认 HCV 现症感染、抗病毒治疗前的病毒载量分析、治疗后应答评估,并且推荐使用灵敏度、特异度、精确度高且线性广的方法^[7]。湖南圣湘生物科技股份有限公司(圣湘)的 HCV RNA 检测试剂盒(PCR-荧光探针法)线性范围在 25×10⁸ ~ 1×10⁸ IU/ml,最低检测限为 12 IU/ml。采用磁珠吸附核酸并常温释放,最大程度地避免加热煮沸造成的气溶胶污染,防止出现假阳性结果^[40]。但磁珠分离的提取方法,在吹打混匀中可能会造成一部分核酸丢失,而北京纳捷诊断试剂有限公司(纳捷)生产的 HCV RNA 检测试剂盒(PCR-荧光探针法)采用静态核酸制备技术,无需加热、混匀磁珠,从而避免了核酸丢失。其线性范围在 50×10⁸ ~ 1×10⁸ IU/ml,最低检测限可达 15 IU/ml^[41-42]。国内学者^[43]推荐采用高敏 HCV RNA 进行检测,国外指南推荐使用检测下限 < 15 IU/ml 的高敏 HCV RNA 检测试剂^[30],进行急、慢性 HCV 感染的诊断^[44]。

三、HCV 检测策略的国内外现状

1. WHO 推荐检测策略:2018 年 WHO 推荐了最新版成年人和青少年慢性 HCV 感染的诊断、治疗和监测的检测策略^[9](图 1),包括血清学检测和补充实验。在血清学检测中,推荐使用快速诊断试验或实验室免疫分析法(包括 ELISA,化学发光法,电化学发光法)进行抗-HCV 检测。如果抗体阳性,则进行补充试验,包括 HCV RNA(定性或定量)检测或 HCV 核心抗原(HCV cAg)检测。若 HCV 核酸或核心抗原阳性,为 HCV 现症感染,反之为非 HCV 现症感染。在资源有限的地区,WHO 推荐使用 HCV cAg 检测作为 NAT 的替代方法。此检测策略中,WHO 把 HCV RNA 定量检测作为诊断和监测丙肝的金标准,但未设定诊断阈值。因为,

表 2 我国进口医疗器械 HCV RNA 检测试剂注册情况

检测类型	公司名称	试剂商品名	检测方法	预期用途	检测范围 (IU/ml)	最低检测限 ^a (IU/ml)
定量检测	瑞士罗氏分子系统公司	COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV Quantitative Test, v 2.0	PCR-荧光法	定量检测人血清或 EDTA 血浆样本中 HCV RNA	15~1×10 ⁸	15
	美国雅培分子公司	Abbott RealTime HCV		定量检测 HCV 感染者血清或 EDTA 抗凝血浆中 HCV RNA	12~1×10 ⁸	12
	德国罗氏诊断公司	cobas [®] HCV Quantitative nucleic acid test for use on the cobas [®] 6800/8800 Systems		定量检测人 EDTA 抗凝血浆或血清中 1~6 型 HCV RNA	15~1×10 ⁸	血浆 12 血清 13.7
定性和定量检测	美国豪洛捷公司	Aptima HCV Quant Dx Assay	TMA	体外检测人血浆和血清中 HCV RNA	10~1×10 ⁸	血浆 3.9 血清 3.4

注:^a最低检测限包括血清和血浆两种结果,未标明则不作区分

研究显示临床中很少低于核酸定量检测的最低检测限^[2],且新一代核酸定量和定性检测试剂具有相同的最低检测限(15 IU/ml)。

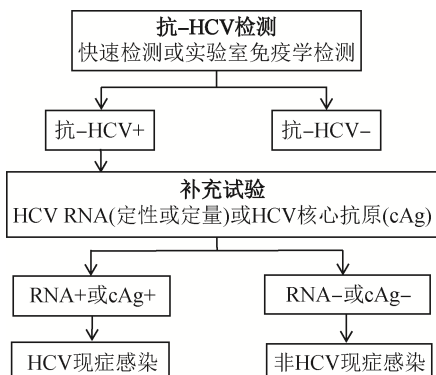
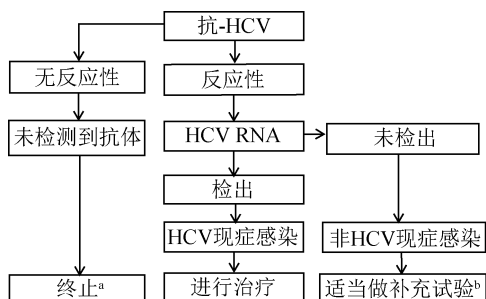


图1 WHO推荐成人和青少年慢性HCV感染的诊断、治疗和监测的检测策略

2. 美国 CDC 推荐检测策略: 2013 年美国 CDC 在 *Morbidity and Mortality Weekly Report* (MMWR) 中, 推荐了 HCV 检测策略(图 2)^[9]。首先进行抗-HCV 快速检测或实验室检测, 若结果无反应, 表明未检测到抗体可终止检测。对于免疫功能低下的人, 可考虑 HCV RNA 检测。如果在最近 6 个月内可能接触过 HCV 者, 建议进行 HCV RNA 检测或后续进行抗-HCV 检测。如果抗体检测呈反应性, 则直接进行 HCV RNA 检测。若核酸检出, 表明现症感染; 反之为非现症感染, 适当做补充试验。此外, 如果被检测者怀疑最近 6 个月内可能接触过 HCV 或有丙肝临床证据, 或对检测标本的处理、储存有疑虑, 建议重复进行 HCV RNA 检测。

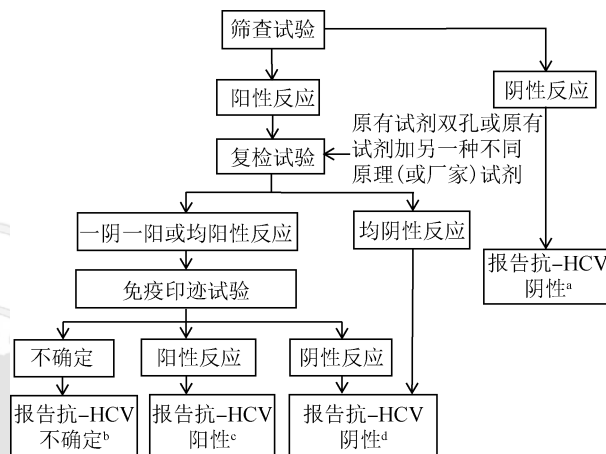
与 WHO 推荐检测策略不同, 该指南对抗-HCV 呈反应性样本直接进行 HCV RNA 检测, 且在补充试验中没有使用核心抗原, 而是使用 FDA 批准的另一种抗-HCV 检测方法作为补充试验。因为不同抗-HCV 检测方法性能特性不同, 当采用不同方法来检测同一个标本时, 不太可能每种方法都出现生物假阳性。



注:^a最近 6 个月内可能接触过 HCV 者, 建议进行 HCV RNA 检测或后续进行抗-HCV 检测。对于免疫功能低下的人, 考虑进行 HCV RNA 检测;^b为区分 HCV 既往感染与抗体假阳性, 考虑用另一种抗-HCV 检测方法, 如果被检测者怀疑在最近 6 个月内曾接触过 HCV, 或有丙肝临床证据, 或对检测标本的处理或储存有顾虑, 则应重复进行 HCV RNA 检测

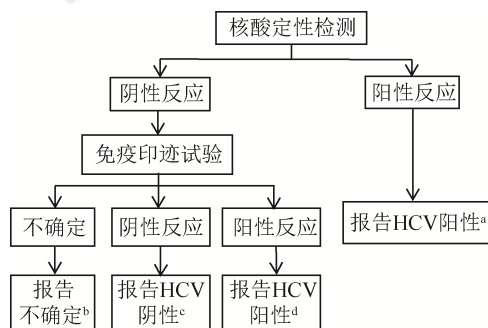
图2 美国 CDC 推荐的 HCV 感染检测流程

3. 我国现行的 HCV 检测策略:《丙型肝炎病毒实验室检测技术规范》指出^[8], 目前我国用于临床诊断的 HCV 检测策略包括抗体检测(筛查试验、补充试验)和核酸检测(核酸定性试验), 其中筛查试验为 ELISA、化学发光法试验、胶体金法快速试验等, 补充试验为免疫印迹试验。抗体检测中, 如果筛查结果呈阳性反应, 不能直接报告, 必须进行复检。再对复检结果呈一阴一阳反应或均为阳性反应的样本进行补充试验, 并根据检测结果进行报告, 对结果不确定者进行随访(图 3)。核酸定性检测主要针对抗-HCV 复检试验阳性的样品, 若核酸定性结果为阴性者, 需做免疫印迹试验(图 4)。



注:^a未感染 HCV, 除非怀疑最近被感染或存在其他证据提示感染 HCV;^b不能确定抗-HCV 结果及 HCV 感染状态; 应再采集另一份样品(>1 个月)重测抗-HCV 或 HCV RNA;^c提示既往感染或现在感染 HCV;^d未感染 HCV, 除非怀疑最近被感染或存在其他证据提示感染 HCV

图3 HCV 抗体检测流程



注:^a提示活动性 HCV 感染;^b抗-HCV 筛查结果可能是假阳性, 在这种情况下, 提示未感染 HCV;^c未感染 HCV;^d存在抗-HCV, 提示既往感染或现在感染 HCV; 由于某些 HCV 慢性感染者的 HCV RNA 间隙阳性, 因此 1 次 HCV RNA 阴性结果不能排除活动性感染

图4 HCV 核酸检测流程

4. 小结: WHO 和美国 CDC 推荐的 HCV 检测策略中均未将免疫印迹试验作为补充试验, 主要由于免疫印迹试验易出现不确定结果, 需要进行一系列随访工作。与之相比, 2011 年颁布的技术规范中仍用免疫印迹试验进行抗体确

认^[8]。考虑到当时基层医院以血清学检测为主,难以开展对技术和设备要求高的核酸检测。同时,使用 ELISA 法检测抗-HCV 时容易产生假阳性,需要进行抗体确证试验,但不区分现症感染和既往感染。随着技术的提高,第三代 EIA 抗体检测试剂包被的抗原与重组免疫印迹试验(RIBA)包被的抗原类似,其检测性能有很大改善,如 FDA 批准的 Abbott HCV EIA 2.0 和 Ortho HCV Version 3.0 ELISA 检测试剂,敏感性和特异性可达 99%^[45]。而且,国产和进口 HCV ELISA 试剂在敏感性和特异性的差异无统计学意义^[46]。国外指南^[47]表明,临床在诊断肝病时,若采用上述 2 种 FDA 批准的抗体试剂进行检测,可免去确认实验,只在免疫功能低下或者缺陷的患者中,可能出现抗-HCV 假阴性。2003 年美国 CDC 在指南^[48]中也指出,在低流行区(抗体阳性率<10%)假阳性率平均为 35%。如果 1 份标本使用以上两种不同的抗体检测方法,若 S/CO \geq 3.8 直接报告阳性结果;反之必须用 RIBA 确认,但这种方法在 2013 年美国 CDC 新版指南中发生了变化。一方面,由于 2011 年 Chiron 公司不再生产 RIBA HCV 3.0 版。另一方面,不使用 RIBA 进行抗体确认对诊断 HCV 感染无显著影响^[49]。目前,HCV RNA 检测成为美国 CDC 推荐 HCV 检测策略中用于确认抗体的检测之一。与 RIBA 或免疫印迹试验相比,HCV RNA 不仅直观地反映病毒的存在,有助于早期诊断以及免疫力低下人群(如移植、HIV 感染以及血液透析人群)的诊断,而且能够区分现症感染和既往感染。

WHO 将 HCV RNA 定量检测用于诊断,美国 FDA 也批准了能同时进行核酸定性和定量检测的试剂。我国 HCV 检测策略中核酸定性试验因其灵敏度高被用于临床诊断,但一次检测阴性不能完全排除 HCV 感染,还须加做免疫印迹试验进行确证^[8]。而且,新一代 HCV RNA 定量有与定性检测试剂的相同的最低检测限。如果将 HCV RNA 定量检测(RT-qPCR 法)和抗-HCV 检测(ELISA 法)联合使用,可以降低漏诊率^[50]。资料显示,用于临床诊断的 HCV RNA 定量检测阈值尚未提出,需进行大量临床试验。为与国际接轨,简化检测流程,缩短周转时间,需结合我国国情组合出适合临床诊断的 HCV 检测策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Westbrook RH, Dusheiko G. Natural history of hepatitis C [J]. *J Hepatol*, 2014, 61(Suppl 1): S58-68. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.07.012.
- [2] WHO. Guidelines on hepatitis B and C testing[M]. Geneva: World Health Organization, 2017.
- [3] 陈园生, 李黎, 崔富强, 等. 中国丙型肝炎血清流行病学研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2011, 32(9): 888-891. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.09.009.
- [4] Chen YS, Li L, Cui FQ, et al. A sero-epidemiological study on hepatitis C in China [J]. *Chin J Epidemiol*, 2011, 32(9): 888-891. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.09.009.
- [5] Petruzzello A, Marigliano S, Loquercio G, et al. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: an up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(34): 7824-7840. DOI: 10.3748/wjg.v22.i34.7824.
- [6] WHO. Global Health Sector Strategy on Viral Hepatitis 2016-2021 [M]. Geneva: World Health Organization, 2016.
- [7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS 213-2018 丙型肝炎诊断 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34(8): 1619-1621. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2018.08.006. National Health and Family Planning Commission, PRC. WS 213-2018 Diagnosis for hepatitis C [J]. *J Clin Hepatol*, 2018, 34(8): 1619-1621. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2018.08.006.
- [8] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 丙型肝炎防治指南(2019 年版) [J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(12): 2670-2686. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2019.12.008. Chinese Association of Hepatology, Chinese Association of Infectious Diseases. Guidelines for the prevention and treatment of hepatitis C (2019 version) [J]. *J Chin Hepatol*, 2019, 35(12): 2670-2686. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2019.12.008.
- [9] 中国疾病预防控制中心. 丙型肝炎病毒实验室检测技术规范(试行) [S]. 北京: 2010. Chinese Center for Disease Control and Prevention. Technical specification for laboratory testing of hepatitis c virus (Trial version) [S]. Beijing: 2010.
- [10] WHO. Guidelines for the care and treatment of persons diagnosed with chronic hepatitis C virus infection [EB/OL]. (2018-07-01) [2020-02-01] Geneva: World Health Organization, 2018. <https://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-c-guidelines-2018/en/>
- [11] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Testing for HCV infection: An update of guidance for clinicians and laboratorians [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2013, 62(18): 362-365.
- [12] Qi HJ, Yue SZ, Bi S, et al. Isothermal exponential amplification techniques: From basic principles to applications in electrochemical biosensors [J]. *Biosensors Bioelectron*, 2018, 110: 207-217. DOI: 10.1016/j.bios.2018.03.065.
- [13] Warkad SD, Nimse SB, Song KS, et al. HCV detection, discrimination, and genotyping technologies [J]. *Sensors*, 2018, 18(10): 3423. DOI: 10.3390/s18103423.
- [14] Langabeer SE, Gale RE, Harvey RC, et al. Transcription-mediated amplification and hybridisation protection assay to determine BCR-ABL transcript levels in patients with chronic myeloid leukaemia [J]. *Leukemia*, 2002, 16(3): 393-399. DOI: 10.1038/sj.leu.2402392.
- [15] Lee SC, Antony A, Lee N, et al. Improved version 2.0 qualitative and quantitative AMPLICOR reverse transcription-PCR tests for hepatitis C virus RNA: calibration to international units, enhanced genotype reactivity, and performance characteristics [J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(11): 4171-4179. DOI: 10.1128/JCM.38.11.4171-4179.2000.
- [16] Ramakers C, Ruijter JM, Deprez RHL, et al. Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data [J]. *Neurosci Lett*, 2003, 339(1): 62-66. DOI: 10.1016/s0304-3940(02)01423-4.
- [17] Shiao YH. A new reverse transcription-polymerase chain

- reaction method for accurate quantification [J]. BMC Biotechnol, 2003, 3: 22. DOI: 10.1186/1472-6750-3-22.
- [17] Tsongalis GJ. Branched DNA technology in molecular diagnostics[J]. Am J Clin Pathol, 2006, 126(3): 448-453. DOI: 10.1309/90BU6KDXANFLN4R].
- [18] 安钢力. 实时荧光定量 PCR 技术的原理及其应用[J]. 中国现代教育装备, 2018 (21): 19-21. DOI: 10.13492/j.cnki.cmee.20181120.002.
An GL. The principle and application of real-time fluorescent quantitative PCR[J]. Chin Mod Edu Equ, 2018 (21): 19-21. DOI: 10.13492/j.cnki.cmee.20181120.002.
- [19] Scott JD, Gretch DR. Molecular diagnostics of hepatitis C virus infection: a systematic review[J]. JAMA, 2007, 297(7): 724-732. DOI: 10.1001/jama.297.7.724.
- [20] Albertoni G, Girão MJBC, Schor N. Mini review: current molecular methods for the detection and quantification of hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus type 1 [J]. Int J Infect Dis, 2014, 25: 145-149. DOI: 10.1016/j.ijid.2014.04.007.
- [21] Firdaus R, Saha K, Biswas A, et al. Current molecular methods for the detection of hepatitis C virus in high risk group population: A systematic review[J]. World J Virol, 2015, 4(1): 25-32. DOI: 10.5501/wjv.v4.i1.25.
- [22] Gorrin G, Friesenhahn M, Lin P, et al. Performance Evaluation of the Versant HCV RNA Qualitative Assay by Using Transcription-Mediated Amplification[J]. J Chin Microbiol, 2003, 41(1): 310-317. DOI: 10.1128/JCM.41.1.310-317.2003.
- [23] Krajden M, Ziermann R, Khan A, et al. Qualitative detection of hepatitis C virus RNA: comparison of analytical sensitivity, clinical performance, and workflow of the Cobas AmpliCor HCV test version 2.0 and the HCV RNA transcription-mediated amplification qualitative assay[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(8): 2903-2907. DOI: 10.1128/jcm.40.8.2903-2907.2002.
- [24] Ross RS, Viazov SO, Hoffmann S, et al. Performance characteristics of a transcription-mediated nucleic acid amplification assay for qualitative detection of hepatitis C virus RNA[J]. J Clin Lab Anal, 2001, 15(6): 308-313. DOI: 10.1002/jcla.1042.
- [25] Desombere I, Vlierbergh HV, Couvent S, et al. Comparison of Qualitative (COBAS AMPLICOR HCV 2.0 versus VERSANT HCV RNA) and Quantitative (COBAS AMPLICOR HCV Monitor 2.0 versus VERSANT HCV RNA 3.0) Assays for Hepatitis C Virus (HCV) RNA Detection and Quantification: Impact on Diagnosis and Treatment of HCV Infections[J]. J Chin Microbiol, 2005, 43(6): 2590-2597. DOI: 10.1128/JCM.43.6.2590-2597.2005.
- [26] Pas S, Molenkamp R, Schinkel J, et al. Performance evaluation of the new Roche cobas AmpliPrep/cobas TaqMan HCV test, version 2.0, for detection and quantification of hepatitis C virus RNA[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(1): 238-242. DOI: 10.1128/JCM.01729-12.
- [27] Butcher A, Aslam S, Hemyari P, et al. HCV RNA detection in HCV antibody-positive patients with the COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV test, v2.0 in comparison with FDA-approved nucleic acid tests[J]. J Chin Virol, 2014, 60(4): 336-340. DOI: 10.1016/j.jcv.2014.04.018.
- [28] Vermehren J, Stelzl E, Maasoumy B, et al. Multicenter comparison study of both analytical and clinical performance across four Roche hepatitis C Virus RNA assays utilizing different platforms[J]. J Chin Microbiol, 2017, 55(4): 1131-1139. DOI: 10.1128/JCM.02193-16.
- [29] Mouna L, Pallier C, Proust S, et al. Comparison of the Abbott Alinity m and m2000 assays for the quantification of HIV-1, HCV and HBV in clinical samples[J]. J Clin Virol, 2020, 126: 104331. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104331.
- [30] European Association for the Study of the Liver. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2018[J]. J Hepatol, 2018, 69(2): 461-511. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.03.026.
- [31] Worlock A, Blair D, Hunsicker M, et al. Analytical characteristics and comparative evaluation of Aptima HCV quant Dx assay with the Abbott RealTime HCV assay and Roche COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV quantitative test v2.0[J]. Virol J, 2017, 14(1): 66. DOI: 10.1186/s12985-017-0727-3.
- [32] Weber J, Sahoo MK, Taylor N, et al. Evaluation of the Aptima HCV Quant Dx assay using serum and dried blood spots [J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(4): e00030-19. DOI: 10.1128/JCM.00030-19.
- [33] Villar LM, Cruz HM, Barbosa JR, et al. Update on hepatitis B and C virus diagnosis[J]. World J Virol, 2015, 4(4): 323-342. DOI: 10.5501/wjv.v4.i4.323.
- [34] 国家食品药品监管总局. 国家食品药品监管总局发布《体外诊断试剂注册管理办法修正案》[EB/OL]. (2017-02-18) (2020-02-01). http://www.gov.cn/xinwen/2017-02/08/content_5166546.htm
China food and Drug Administration. the amendment to the administrative measures for registration of in vitro diagnostic reagents issued by China food and Drug Administration. [EB/OL]. (2017-02-18) (2020-02-01). http://www.gov.cn/xinwen/2017-02/08/content_5166546.htm
- [35] 陈志忠, 李结敏, 廖扬勋, 等. 某国产 NAT 试剂盒应用于血液筛查的评价与应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2016, 8(3): 192-195, 211. DOI: 10.3969/j.issn.1674-6929.2016.03.011.
Chen ZZ, Li JM, Liao YX, et al. Evaluation and application of a domestic NAT kit used for blood screening[J]. J Mol Diagn Ther, 2016, 8(3): 192-195, 211. DOI: 10.3969/j.issn.1674-6929.2016.03.011.
- [36] 涂伟强, 黄小慧, 谭雷, 等. 三种 HCV RNA 荧光定量 PCR 检测试剂的结果分析及应用比较[J]. 新医学, 2015, 46(6): 373-377. DOI: 10.3969/g.issn.0253-9802.2015.06.007.
Gan WQ, Huang XH, Tan L, et al. Comparison of application of three types of HCV RNA fluorescent quantitative PCR detection reagents[J]. J New Med, 2015, 46(6): 373-377. DOI: 10.3969/g.issn.0253-9802.2015.06.007.
- [37] 刘娜, 李春霞, 东冰, 等. 高敏 HCV RNA 检测技术的临床应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(05): 428-433.
Liu N, Li CX, Dong B, et al. Clinical application of hypersensitive HCV RNA detection technology[J]. J Mol Diagn Ther, 2019, 11(05): 428-433.
- [38] 韩若冰, 辛毅娟, 文静, 等. 三种核酸提取方法检测丙肝 HCV-RNA 定量的比较[J]. 山西医科大学学报, 2016, 47(3): 215-217. DOI: 10.13753/j.issn.1007-6611.2016.03.005.
Han RB, Xin YJ, Wen J, et al. Comparison of three nucleic acid extraction methods in detecting HCV-RNA[J]. J Shanxi Med Univ, 2016, 47(3): 215-217. DOI: 10.13753/j.issn.1007-6611.2016.03.005.
- [39] 彭亚柏, 彭雅兰, 管吉鹏, 等. 两种 HCV RNA 定量检测方法的临床对比研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(5):

383-386. DOI:10.3969/j.issn.1674-6929.2019.05.010.
 Peng YB, Peng YL, Guan JP, et al. Clinical comparative study of two methods for quantitative detection of HCV RNA[J]. J Mol Diagn Ther, 2019, 11(5): 383-386. DOI: 10.3969/j.issn.1674-6929.2019.05.010.

[40] 湖南圣湘生物科技有限公司. 丙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒[P]. 中国, 201110046921.8. 2011-08-17.
 Hunan Shengxiang Biotechnology CO. LTD. Nucleic acid quantitative detection kit for hepatitis C virus (HCV):CN, 201110046921.8[P]. 2011-08-17.

[41] 北京纳捷诊断试剂有限公司. 一种在一管中进行磁珠提取核酸与扩增的实时荧光定量 PCR 方法: 中国, 201610022581.8[P]. 2016-03-23.
 Beijing Najie Diagnostic Reagent CO. LTD. Real-time fluorescence quantification PCR method with magnetic bead nucleic acid extraction and amplification conducted in one tube:CN, 201610022581.8[P]. 2016-03-23.

[42] 北京纳捷诊断试剂有限公司. 一种磁珠法提取核酸的裂解液[P]. 中国, 201610022017.6. 2016-03-23.
 Beijing Najie Diagnostic Reagent CO. LTD. Lysis solution for extracting nucleic acid through magnetic bead method:CN, 201610022017.6[P]. 2016-03-23.

[43] 何学虎, 郭雅琪, 董洁, 等. 新型丙型肝炎病毒核酸定量试剂检测性能验证[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(6): 821-826. DOI:10.11816/cn.ni.2019-181516.
 He XH, Guo YQ, Dong J, et al. Verification of detection performance of novel hepatitis C virus nucleic acid quantitative reagent[J]. Chin J Nosocomiol, 2019, 29(6): 821-826. DOI:10.11816/cn.ni.2019-181516.

[44] 杨甲. «2018 年欧洲肝病学会丙型肝炎治疗推荐意见» 介绍及解读[J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(8): 1622-1631. DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2018.08.007.
 Yang J. Introduction and interpretation of EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2018[J]. J Clin Hepatol, 2018, 34(8): 1622-1631. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2018.08.007.

[45] Lavanchy D, Steinmann J, Mörtitz A, et al. Evaluation of a new automated third-generation anti-HCV enzyme immunoassay[J]. Clin Lab Anal, 1996, 10(5): 267-276. DOI: 10.1002/(SICI)1098-2825(1996)10: 5<269: AID-JCLA7>3.0.CO;2-3.

[46] 李璐, 于海英, 裴丽健, 等. 丙型肝炎病毒抗体诊断试剂质量评估[J]. 中国艾滋病性病, 2012, 18(5): 283-285. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2012.05.006.
 Li L, Yu HY, Pei LJ, et al. Evaluation of quality of HCV reagent kits[J]. Chin J AIDS STD, 2012, 18(5): 283-285. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2012.05.006.

[47] NIH. NIH Consensus Statement on Management of Hepatitis C: 2002[J]. NIH Consens State Sci Statements, 2002, 19(3): 1-46.

[48] Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L, et al. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. Centers for disease control and prevention[J]. MMWR Recomm Rep, 2003, 52(RR-3): 1-13, 15.

[49] Gong SY, Schmotzer CL, Zhou L. Evaluation of quantitative real-time PCR as a Hepatitis C virus supplementary test after RIBA discontinuation[J]. J Chin Lab Anal, 2016, 30(5): 418-423. DOI:10.1002/jcla.21873.

[50] 张如, 朱建华, 李强. HCV RNA 检测在丙型肝炎诊断中的应用价值[J]. 临床输血与检验, 2019, 21(2): 200-202. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2587.2019.02.025.
 Zhang R, Zhu JH, Li Q. Application value of HCV RNA detection in the diagnosis of hepatitis c[J]. J Clin Transfus Lab Med, 2019, 21(2): 200-202. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2587.2019.02.025.

中华预防医学会流行病学分会第八届委员会组成人员名单

(按姓氏笔画排序)

顾 问	刘天锡	汪 华	陆 林	姜庆五	贺 雄				
名誉主任委员	李立明								
主任委员	詹思延								
副主任委员	叶冬青	冯子健	何 纳	何 耀	沈洪兵	胡永华			
常务委员	王 岚	王子军	王全意	王素萍	代 敏	吕 筠	朱凤才	江 宇	
	许国章	李立明	李亚斐	杨晓明	杨维中	吴 凡	吴先萍	汪 宁	
	张建中	陈 坤	赵根明	胡志斌	段广才	俞 敏	施小明	唐金陵	
	曹务春	谭红专							
委 员	丁淑军	么鸿雁	王 蓓	王建明	毛 琛	仇小强	方向华	田文静	
	白亚娜	吕 繁	庄贵华	刘 玮	刘运喜	刘雅文	刘殿武	许汴利	
	孙业桓	苏 虹	李 琦	李文庆	李石柱	李佳圆	杨西林	杨敬源	
	吴尊友	吴寰宇	邱洪斌	余宏杰	张 本	张 军	张卫东	张毓洪	
	陈可欣	陈维清	邵中军	欧剑鸣	周宝森	官旭华	孟 蕾	项永兵	
	赵亚双	胡东生	施 榕	姜 勇	姜 晶	袁 萍	贾存显	贾崇奇	
	高立冬	郭卫东	郭秀花	曹广文	梁 娴	寇长贵	彭 霞	韩秀敏	
	程锦泉	程慧健	曾小云	雷立健	蔡建芳	缪小平	潘 安	戴江红	
	魏文强								
秘书长	王 岚								
秘 书	余灿清	李银鸽							