

- plasma cells in multiple myeloma[J]. Leuk Lymphoma, 2015, 113(1):1-2.
- [26] Caraux A, Klein B, Paiva B, et al. Circulating human B and plasma cells[J]. Age-associated changes in counts and detailed characterization of circulating normal CD138⁻ and CD138⁺ plasmacells[J]. Haematologica, 2010, 95(6): 1016-1020.
- [27] Gupta R, Bhaskar A, Kumar L, et al. Flow cytometric immunophenotyping and minimal residual disease analysis in multiple myeloma[J]. Am J Clin Pathol, 2009, 132(5): 728-732.
- [28] Bataille R, Pellat-Deceunynck C, Robillard N, et al. CD117 (c-kit) is aberrantly expressed in a subset of MGUS and multiple myeloma with unexpectedly good prognosis[J]. Leuk Res, 2008, 32(3): 379-382.
- [29] Mateo G, Castellanos M, Rasillo A, et al. Genetic abnormalities and patterns of antigenic expression in multiple myeloma[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(10): 3661-3667.
- (收稿日期:2016-09-18 修回日期:2016-11-18)
- 综 述 •

丙型肝炎病毒感染实验室筛查试验 S/CO 值与真阳性的相关性

吴士及 综述, 孙自镛 审校

(华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科, 武汉 430030)

关键词: 丙型肝炎病毒; 实验室; 感染

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 03. 033

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)03-0375-03

丙型肝炎病毒(HCV)是病毒性肝炎常见的病原体之一,也是急性肝炎及肝硬化、肝癌等慢性肝病主要的致病因子。1989 年被研究者发现以来,全球约有 1.7 亿慢性 HCV 感染患者。约 80% 的新发 HCV 感染者转为慢性感染,其中 10%~20% 将进展为肝硬化,长期持续的慢性 HCV 感染患者中 1%~5% 进展为肝癌^[1]。因此 HCV 感染的准确诊断对于临床治疗以及患者心理影响等尤为重要。临床实验室检测 HCV 感染主要分为筛查试验和补充确认试验。

1 HCV 感染筛查试验

临床实验室检测 HCV 感染最常用的筛查方法是酶联免疫吸附法(ELISA)或化学发光法(CLIA)检测患者血清中的抗 HCV 抗体。自 1990 年美国食品药品监督管理局(FDA)批准了第一代酶联免疫吸附法(ELISA)抗 HCV 检测试剂以来,抗 HCV 抗体的检测试剂已发展到了第三代,使用的抗原逐代增加。第一代试剂仅包被了一个 HCV 抗原片段,即融合蛋白 C100-3(来自 HCV 非结构区 NS4),第二代试剂主要来自 HCV 核心区的合成肽 c22p 和来自非结构区 NS3 的重组抗原为主,第三代试剂又加入了第四种重组抗原(来自非结构区 NS5 抗原),因此试剂的敏感性和特异性逐步提高。并且 20 多年来其检测性能有了显著的提高,第三代检测试剂的敏感度和特异度均可达到 99% 以上。我国自 20 世纪 90 年代,抗 HCV 抗体检测试剂已经广泛应用于临床诊断和无症状人群的筛查,并有效地减少了输血后感染 HCV 的风险^[2]。然而抗 HCV 抗体筛查试验的假阳性问题一直较为突出,尤其是在低流行率(<10%)的人群筛查时更为显著^[1]。国外的大量研究表明^[3-6],在无偿献血员、现役或退役军人、普通人群、卫生保健从业人员等 HCV 低流行率人群中进行抗 HCV 抗体筛查时,假阳性率高达 35%(15%~60%)。即便是在免疫力减低的人群(如血液透析患者)中筛查,假阳性率平均比例也有 15%^[7]。国内的研究也得出了相同的结论^[8-9]。抗 HCV 抗体筛查试验产生假阳性的主要原因有:(1)内源性干扰物质的影响,如类风湿因子(RF),类风湿性关节炎患者血清或血浆中的 RF 可非特异性地吸附到固相载体上或包被的抗原上造成假阳性^[10];由于抗 HCV 检测试剂原理均为间接法 ELISA,采用酶标记的抗人 IgG 抗体作为酶结合物参与反应,故样本中的免疫球蛋白

G(IgG)水平较高时可能造成非特异性的 IgG 吸附在固相载体上或包被的抗原上造成假阳性;由于 c33c 和 NS5 抗原可以与超氧化物歧化酶(hSOD)形成融合蛋白,样本中 hSOD 较高亦可造成抗 HCV 抗体的假阳性结果。(2)外源性的干扰因素:由于目前用于制造抗 HCV 抗体检测试剂的丙肝抗原主要用基因工程表达和多肽合成方法得到。丙肝病毒抗原蛋白的纯度,天然生物活性,各种抗原合适的比例的选择等都会影响其检测性能,若抗原成分不纯则可能造成假阳性^[2],另外反应体系中的酶结合物的浓度同样会影响检测结果的准确性^[11]。再者样本质量(如溶血、纤维蛋白原以及混入血细胞等)也可能导致假阳性结果。

2 HCV 感染确认试验

由于上述原因,所以不能单独依靠初筛试验阳性结果来判断一个人是否感染 HCV,初筛试验阳性的标本还需应用具有更高特异性的补充确认实验进行确认分析。对抗 HCV 筛查阳性结果的确认可减少初筛检测假阳性人群不必要的就医和心理伤害,同时也可确保医疗咨询、转诊及相应诊疗措施能针对血清学证实 HCV 感染的患者。早在 1998 年,美国疾病预防控制中心(CDC)即出版了《预防控制 HCV 感染及 HCV 相关慢性疾病指南》^[12],要求对抗 HCV 筛查阳性结果应使用具有更高特异性的补充确认实验进行确认。该指南还明确推荐使用重组免疫印迹法(Chiron RIBA HCV 3.0 SIA)检测抗 HCV 抗体,以及 RT-PCR 法定性或定量检测(AMPLICOR HCV Test Version2.0 或 COBAS AMPLICOR HCV Test Version2.0)HCV-RNA 作为抗 HCV 筛查阳性结果的确认补充实验。然而,由于确认试验费用昂贵,核酸检测对实验室条件以及操作人员要求较高,且实验室及临床医生对抗 HCV 确认结果和筛查结果的解释理解有差异等原因,大多数临床实验室并没有应用更特异的血清学实验或核酸试验证实抗 HCV 筛查阳性的结果,而报告阳性结果仅仅基于一次初筛阳性的实验结果。

3 HCV 感染筛查试验 S/CO 值结果与确认真阳性的相关性

虽然个别研究结果显示筛查试验的 S/CO 值与真阳性率之间没有相关性^[13],然而过去的十年中,国内外大量的研究^[1,8-9,13-16]表明筛查试验的 S/CO 值与真阳性是明确相关的。

筛查试验的 S/CO 值越大,其结果为真阳性的可能性就越大,相应的阳性预示值也就越高。实际上,早在 2000 年美国学者 Tobler 等^[17]的研究即指出第一代抗 HCV 抗体筛查试剂的 S/CO 值与确认试验 RIBA 的结果存在明显的相关性。2003 年美国 CDC 报告了抗 HCV 筛查试验的 S/CO 值结果与确认 HCV 感染状态之间的相关性^[1]。其研究指出针对不同感染率(2.0%~21.5%)的人群使用美国雅培公司的 ELISA 法抗 HCV 检测试剂(HCV EIA 2.0, Abbott)或 Ortho 公司的 ELISA 法抗 HCV 检测试剂(HCV Version 3.0 ELISA)进行筛查时,若筛查试验阳性且 S/CO 值大于等于 3.8 时,真阳性率(PPV)≥95%;反之,若 S/CO 值小于 3.8 时,其假阳性率可高达 60%~70%。此后,CDC 陆续研究了 FDA 批准的其他的抗 HCV 筛查试剂,如 Ortho 公司的 VITROS anti-HCV 化学发光试剂,其 S/CO 值大于等于 8.0 时,其 PPV≥95%;拜耳公司的 ADVIA anti-HCV 微粒子酶免疫化学发光试剂,其 S/CO 值大于等于 11.0 时,PPV≥95%;雅培公司的 AxSYM anti-HCV 微粒子酶免疫化学发光试剂,其 S/CO 值大于等于 10.0 时,PPV≥95%^[18-20];雅培公司的 Architect anti-HCV 微粒子免疫化学发光试剂,其 S/CO 值大于等于 5.0 时,PPV≥95%^[21]。2005 年任芙蓉等^[8]对国内常用的试剂也做了相关研究,并得出了各试剂 S/CO 阈值及其补充试验阳性结果预测率,分别为华美 S/CO≥6.0,97.3%;华大吉比爱 S/CO≥7.0,96.1%;英科新创(InTec)S/CO≥8.6,96.1%;金伟凯 S/CO≥10.0,96.1%;科华(KHB)S/CO≥10.0,96.0%;万泰(Wantai)S/CO≥14.0,96.0%。由此,可以看出虽然各个试剂厂家之间的 S/CO 值均与 PPV 明显相关,但所得 PPV≥95%的 S/CO 阈值相差较大。笔者也进行了类似的研究^[9],并同样得出了 4 种临床常用的筛查试剂的 PPV≥95%的 S/CO 阈值,分别是 InTec 的 12.0、KHB 的 4.0、Wantai 的 5.0 和雅培 Architect 的 5.0。当筛查试验的 S/CO 值大于上述 S/CO 阈值时,4 种筛查试剂的 PPV 分别是 96.4%、95.8%、96.1%及 95.4%。所得的 S/CO 阈值中,Architect 的 S/CO 阈值与 2007 年美国 CDC 报道的一致均为 5.0。其他 3 种试剂的 S/CO 阈值与任芙蓉等^[8]的研究结果均不一致,若本研究使用任芙蓉等^[8]所得 S/CO 阈值,那么得到 PPV 将分别是 InTec

93.4%、KHB100%和 Wantai98.7%。造成这种差异的原因可能有两个研究的样本人群及所用的确认试验不一致,另外几年来试剂厂家可能改进了试剂的成分或制造工艺等。但笔者认为,实验室间的变异可能是造成此种差异的主要原因。笔者研究中 4 种筛查试剂不同批号测定 336 例样本的平均批间变异分别是 InTec 28.0%、KHB 17.7%、Wantai 19.1%和 Architect 6.0%。此前研究报道也同样发现进口试剂的检测重复性优于国产试剂^[8]。另外,卫生部临床检验中心 2008—2013 年的室间质量评价数据也显示国产的抗 HCV 抗体筛查试剂的室间变异明显大于进口试剂。由于国产试剂实验室间存在较大变异,其所得到的 S/CO 阈值将很难在不同实验室间重复,因此需要较大样本的多中心研究,充分考虑实验室间的变异的因素,方可针对某个筛查试剂制定出不同实验室统一适用的 S/CO 阈值,或者实验室应建立适用于自己实验室的筛查试剂 S/CO 阈值,并于结果解释时注明。

4 HCV 感染实验室检测及报告程序

美国 CDC 基于以上研究,于 2003 年出版了《抗 HCV 的实验室检测及其结果报告指南》^[1]。该指南中推荐,若筛查试验阳性且 S/CO 值大于等于该试剂的 PPV≥95%的 S/CO 阈值时,可不做确认实验直接报告阳性。反之应进行确认实验(包括 RIBA 或 NAT)以确定 HCV 感染状态。该指南使筛查结果的准确性得以提高,且大大节省了确认实验的测试费用并提高了 HCV 感染实验室检测的效率。根据筛查试验和确认试验的不同结果组合给予合理的结果解释,见表 1。解释结果时还应考虑到某些特殊情况:(1)在 HCV 感染急性期或恢复期的患者样本中,抗体滴度低于筛查试剂的检测下限,此时抗 HCV 抗体筛查结果可能为阴性^[22-23];(2)在免疫抑制或免疫低下的慢性 HCV 感染患者样本中,抗 HCV 抗体可能持续为阴性^[7]。(3)当 HCV 感染患者由急性期转为慢性期时,抗 HCV 抗体的滴度增高,而 HCV-RNA 载量逐渐下降,此时可能检测不出样本中的 HCV-RNA^[24-25]。(4)慢性 HCV 感染患者可能出现间歇性的 HCV-RNA 阳性,也就可能导致某次 NAT 检测为阴性^[26-27]。另外,HCV 感染患者康复时样本中检测不到 HCV-RNA。

表 1 根据确认试验报告 HCV 感染结果的建议

抗-HCV 筛查结果	确认试验结果	报告	结果解释
无反应性	不需要检测	抗-HCV 阴性	未感染 HCV,除非怀疑最近被感染或存在其他证据提示 HCV 感染
筛查试验有反应性,且 S/CO 比值高	未做	抗-HCV 阳性	可能提示既往感染或现在感染 HCV;未做血清学补充试验。高 S/CO 比值的标本常被确证为阳性(≥95%),但尚有<5%的标本可能为假阳性;如需要,可进行特异性更好的补充试验。
筛查试验有反应性	RIBA 阴性	抗-HCV 阴性	未感染 HCV,除非怀疑最近被感染或存在其他证据提示 HCV 感染
筛查试验有反应性	RIBA 可疑	抗-HCV 可疑	不能确定抗 HCV 结果及 HCV 感染状态;应另采集一份标本重测抗-HCV(>1 个月)或 HCV RNA
筛查试验有反应性	NAT 阳性	抗-HCV 阳性, HCV RNA 阳性	提示活动性 HCV 感染
筛查试验有反应性	NAT 阴性, RIBA 阳性	抗-HCV 阳性, HCV RNA 阴性	存在抗 HCV,提示既往感染或现在感染 HCV;由于某些 HCV 慢性感染患者的 HCV RNA 间歇阳性,因此一次 HCV RNA 阴性结果不能排除活动性感染
筛查试验有反应性	NAT 阴性, RIBA 阴性	抗-HCV 阴性, HCV RNA 阴性	未感染 HCV,除非怀疑最近被感染或存在其他证据提示 HCV 感染
筛查试验有反应性	NAT 阴性, RIBA 可疑	抗-HCV 可疑, HCV RNA 阴性	抗-HCV 筛查结果可能是假阳性,在这种情况下,提示未感染 HCV。可进行随访,重新采集一份标本检测抗-HCV(>1 个月)或 HCV RNA。

参考文献

- [1] Alter M, Finelli L. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus[J]. *Morb Mortal Wkly Rep*, 2003, 52(23):12-15.
- [2] 于洋, 祁自柏, 周诚, 等. 国产抗 HCV 酶联免疫诊断试剂质量分析[J]. *中国预防医学杂志*, 2001, 2(3):168-170.
- [3] Dufour DR, Talastas M, Fernandez M, et al. Low-positive anti-hepatitis C virus enzyme immunoassay results: an important predictor of low likelihood of hepatitis C infection[J]. *Clin Chem*, 2003, 49(2):479-486.
- [4] Hyams KC, Riddle J, Rubertone M, et al. Prevalence and incidence of hepatitis C virus infection in the US military: a seroepidemiologic survey of 21,000 troops[J]. *Am J Epidemiol*, 2001, 153(8):764-770.
- [5] Roome AJ, Hadler JL, Thomas AL, et al. Hepatitis C virus infection among firefighters, emergency medical technicians, and paramedics—selected locations, United States, 1991-2000[J]. *Morb Mortal Wkly Rep*, 2000, 49(29):660-665.
- [6] Karen E, Mark L, Paula J, et al. Medical care and alcohol use after testing hepatitis C antibody positive at STD clinic and HIV test site screening programs[J]. *Public Health Rep*, 2007, 122(1):37-43.
- [7] Centers for Disease Control Prevention. Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients[J]. *Morb Mortal Wkly Rep*, 2001, 50(5):1-43.
- [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] Shiji W, Yanling L, Liming C, et al. Clinical evaluation of the signal-to-cutoff ratios of hepatitis C virus antibody screening tests used in China[J]. *J Medical Virol*, 2011, 83(5):1930-1937.
- [10] Francesca I, Roberto C, Roberta G. Rheumatoid Factors: Clinical Applications[J]. *Dis Markers*, 2013, 35(6):727-734.
- [11] 谷金莲. 丙型肝炎病毒抗体试剂检测结果的可信度分析[J]. *中国检验医学杂志*, 2005, 28(6):580-583.
- [12] 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(1):1-39.
- [13] 黄霞, 王珍贤, 付敏, 等. 献血者初复检抗-HCV 阳性标本确认及试剂分析[J]. *中国输血杂志*, 2003, 16(1):21-22.
- [14] Margret O, Donald R, Mayo J, et al. Efficiency of the ortho VITROS assay for detection of hepatitis C virus-specific antibodies increased by elimination of supplemental testing of samples with very low sample-to-cutoff ratios[J]. *J Clin Microbiology*, 2005, 43(6):2477-2480.
- [15] Sinyoung K, Jeong-Ho K, Seoyoung Y, et al. Clinical Performance Evaluation of Four Automated Chemiluminescence Immunoassays for Hepatitis C Virus Antibody Detection[J]. *J Clin Microbiology*, 2008, 46(6):3919-3923.
- [16] Mifumi K, Matsuo D, Masanori K, et al. Clinical utility and characteristics of nine anti-HCV antibody screening reagents used in Japan[J]. *Clin Lab*, 2009, 55(1):9-22.
- [17] Tobler LH, Tegtmeier G, Stramer SL, et al. Lookback on donors who are repeatedly reactive on first-generation hepatitis C virus assays: justification and rational implementation[J]. *Transfusion*, 2000, 40(1):15-24.
- [18] Svetlana G, Serhat U, Youchun W, et al. New tools in HCV diagnosis, in light of the enhanced awareness and the new drugs for treatment: Smartube and Stimunology[J]. *Scientific World Journal*, 2013, 38(9):780-782.
- [19] Marco M, Barbara P, Annamaria M, et al. Role of signal-to-cutoff ratios in hepatitis C virus antibody detection[J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2012, 19(8):1329-1331.
- [20] Hyon-Suk K. Anti-HCV signal-to-cutoff ratio in predicting hepatitis C viremia[J]. *Korean J Intern Med*, 2009, 24(4):299-301.
- [21] Yeon S, Eun S, Jeong H, et al. Significance of anti-HCV signal-to-cutoff ratio in predicting hepatitis C viremia[J]. *Korean J Intern Med*, 2009, 24(4):302-308.
- [22] Ana M, Contrera S, Claudia M, et al. Hepatitis C antibody levels predict false-positive results and avoid supplemental testing[J]. *Transfusion*, 2008, 48(3):2540-2548.
- [23] Alter HJ, Seeff LB. Recovery, persistence and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on longterm outcome[J]. *Semin Liver Dis*, 2000, 20(2):17-35.
- [24] Busch MP, Kleinman SH, Jackson B, et al. Committee report. Nucleic acid amplification testing of blood donors for transfusion transmitted infectious diseases; report of the interorganizational Task Force on Nucleic Acid Amplification of Blood Donors[J]. *Transfusion*, 2000, 40(1):143-159.
- [25] Williams IT, Gretch D, Fleenor M. Hepatitis C virus RNA concentration and chronic hepatitis in a cohort of patients followed after developing acute hepatitis C[J]. *Inter Medical Press*, 2002, 20(5):341-344.
- [26] Thomas DL, Astemborski J, Rai RM, et al. Natural history of hepatitis C virus infection: host, viral, and environmental factors[J]. *JAMA*, 2000, 284(11):450-456.
- [27] Larghi A, Zuin M, Crosignani A, et al. Outcome of an outbreak of acute hepatitis C among healthy volunteers participating in pharmacokinetics studies[J]. *Hepatology*, 2002, 36(2):993-1000.

(收稿日期:2016-07-28 修回日期:2016-10-18)