

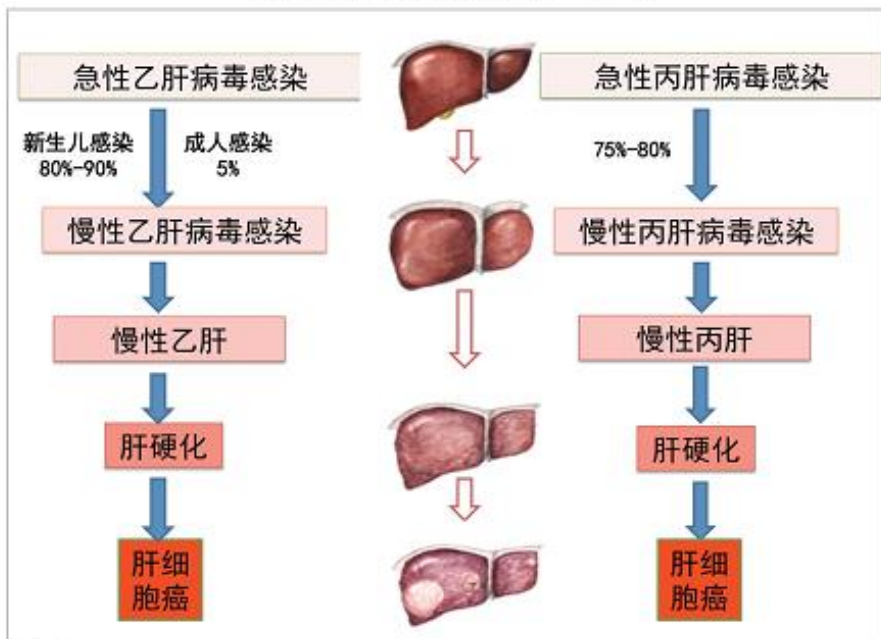
乙丙肝超敏检测的临床意义

——势在必行

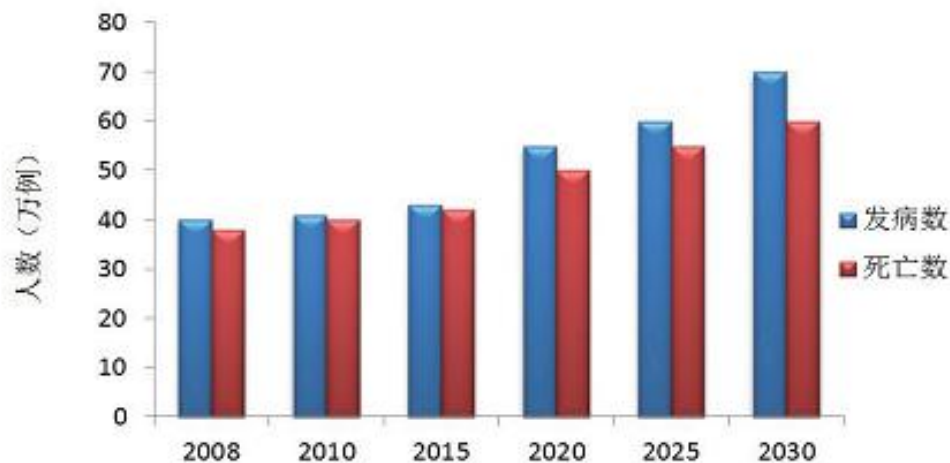
艾康市场：孟小笙

病毒性肝炎是全球健康问题

慢性肝炎的疾病转归过程



中国未来10-20年肝癌发病及死亡预测



2017年5月全国法定传染病 发病、死亡统计表

病名	发病数	死亡数**
甲乙丙类总计	677440	1563
甲乙类传染病合计	323357	1531
鼠疫	0	0
霍乱	3	0
传染性非典型肺炎	0	0
艾滋病	5025	1196
病毒性肝炎*	129131	49
甲型肝炎	1606	0
乙型肝炎	101783	38
丙型肝炎	21306	10
丁型肝炎	59	0
戊型肝炎	2671	1
未分型肝炎	1706	0
脊髓灰质炎	0	0
人感染高致病性禽流感	0	0

2017年5月，全国共报告法定传染病677440例，死亡1563人。其中，乙类传染病报告发病数居前5位的病种依次为**病毒性肝炎**、肺结核、梅毒、淋病以及猩红热，占乙类传染病的92%

乙肝丙肝病毒所导致的病毒性肝炎位居第一第二

面对严峻的传染病防治形势，分子诊断技术的快速发展和推广应用是国家的重大战略！

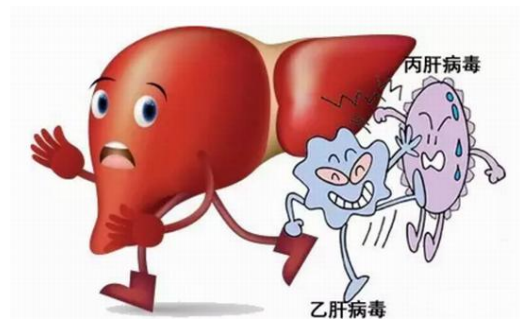
乙肝

全球有**20亿**人感染过HBV，慢性感染者超过**2.4亿**，每年约有**65万**人死于乙肝。我国有慢性HBV感染者约**9300万**人，其中慢性乙肝患者约**2000万**



丙肝

全球HCV的感染率约为**2.8%**，预计约**1.8亿**人感染HCV。每年因HCV感染导致的死亡病例约**35万**例。我国一般人群HCV感染约**560万**，如加上高危人群和高发地区，约**1000万例**



乙肝病毒感染特点



易慢性化



易传播

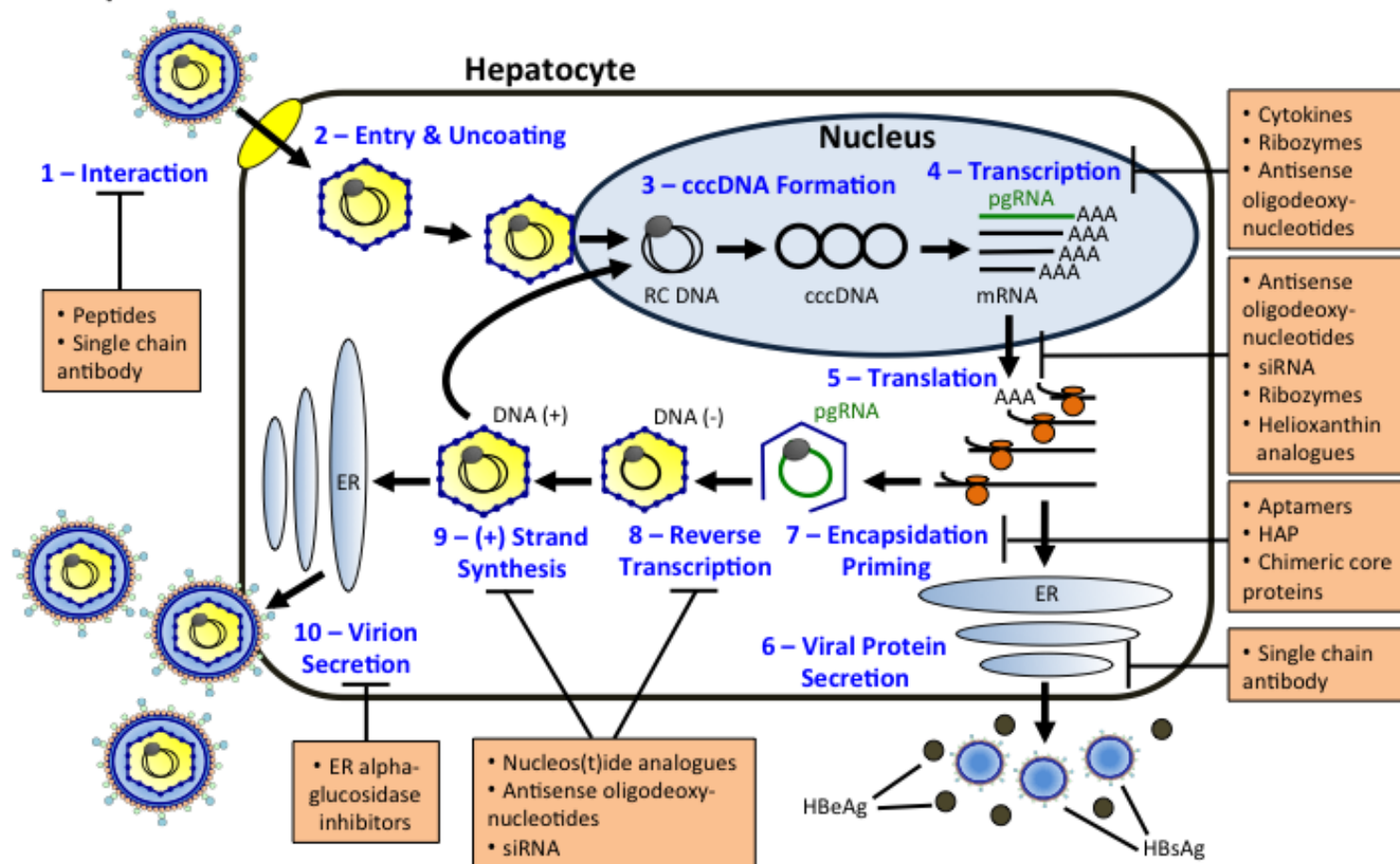


易复发



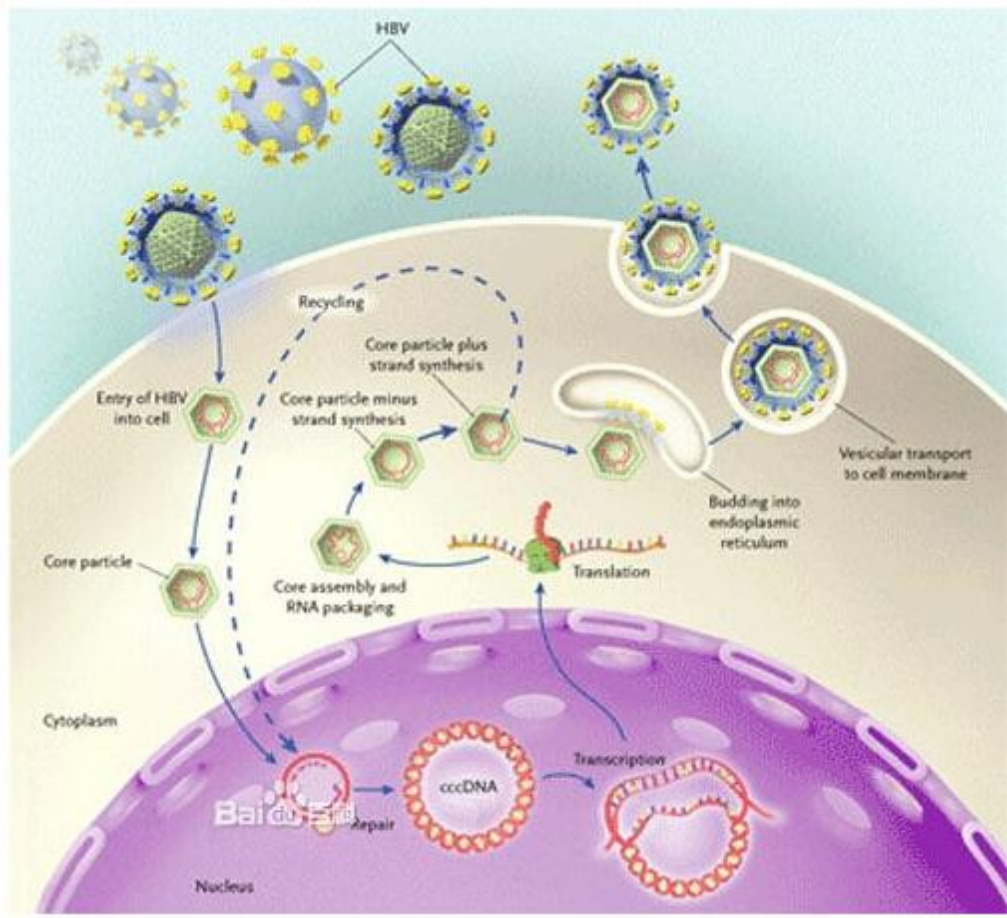
难以治愈

Hepatitis B Virion



细胞感染

乙肝病毒进入机体后不引起细胞病变，而是在细胞内复制，产生的表面抗原、核心抗原及e抗原释放于细胞膜上，激发人体免疫系统反应，机体免疫系统破坏了HBV抗原的同时引起肝细胞的损伤、坏死和炎症。



谷丙谷草转氨酶

评判肝细胞损伤的宏观指标

ALT/AST存在于肝细胞胞浆中，细胞内浓度高于血清中1000-3000倍，谷丙转氨酶被世界卫生组织推荐为肝细胞损害最敏感的检测指标



乙肝两对半

S区
变异

HBVsAg

携带/正在感染/感染后潜伏

HBVsAb

已有抵抗力

C区
变异

HBVeAg

病毒复制活跃，传染性强

HBVeAb

复制减少，传染性低

HBVcAb

仅感染过HBV的标志

乙肝超敏

注册技术审查指导原则

1. HBV DNA 提取

病毒 DNA 提取主要有以下目的：富集目的基因浓度、保证目的基因序列的完整性、增加 PCR 模板溶液均一性、去除 PCR 抑制物，是决定 PCR 成败的关键环节。因此，无论申报产品是否含有 DNA 分离/纯化的组分，企业都应对核酸提取的环节做详细的验证。临床标本中可能含有各式各样的 PCR 抑制物，因此，对于 DNA 提取试剂的选择，除最大量分离出目的 DNA 外，还应有纯化步骤，尽可能去除 PCR 抑制物。目前常见的 DNA 分离纯化方法和改良方法各有优势和不足，申请人应结合申报产品的特性，合理选择 DNA 分离/纯化试剂，并提供详细的验证资料（提取效率、与后续试验的配合等）。

2. 最低检出限与定量限（分析灵敏度）

（1）最低检出限与定量限的确定

建议使用国际参考品/国家参考品进行梯度稀释并多次检测，将具有 95% 以上阳性检出率的病毒水平作为最低检出限。建议最低检出限应不高于 30 IU/ml。

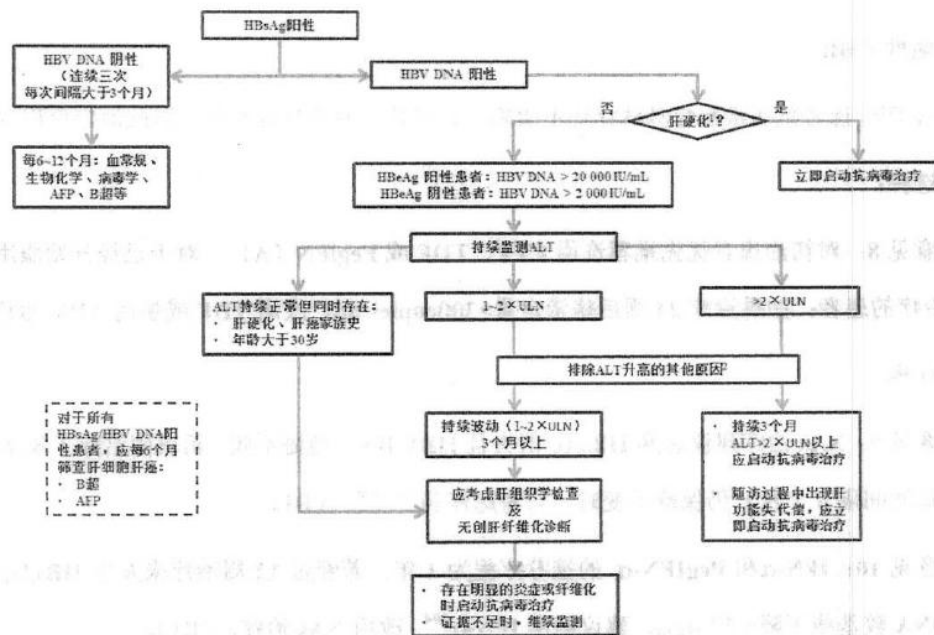
乙肝超敏的诊断应用

抗病毒治疗前的监控

慢性HBV携带者

非活动性HBsAg携带者

隐匿性CHB



1. 肝硬化: ①组织学或临床提示存在肝硬化的证据; ②病因学明确的 HBV 感染证据。通过病史或相应的检查予以明确或排除其他常见引起肝硬化的病因如 HCV 感染、酒精和药物等。

2. ALT升高的其他常见原因: 其他病原体感染、药物、酒精、免疫、脂肪肝等。

推荐接受抗病毒治疗的人群需同时满足以下条件^{9, 81, 84, 86};

1. HBV DNA 水平: HBeAg 阳性患者, HBV DNA $\geq 20\,000$ IU/mL (相当于 10^5 copies/mL); HBeAg 阴性患者, HBV DNA ≥ 2000 IU/mL (相当于 10^4 copies/mL);
2. ALT 水平: 一般要求 ALT 持续升高 $\geq 2 \times \text{ULN}$; 如用干扰素治疗, 一般情况下 ALT 应 $\leq 10 \times \text{ULN}$, 血清总胆红素应 $< 2 \times \text{ULN}$;

对持续 HBV DNA 阳性、达不到上述治疗标准、但有以下情形之一者, 疾病进展风险较大, 可考虑给予抗病毒治疗:

1. 存在明显的肝脏炎症 (2 级以上) 或纤维化, 特别是肝纤维化 2 级以上 (A1)。
2. ALT 持续处于 $1 \times \text{ULN}$ 至 $2 \times \text{ULN}$ 之间, 特别是年龄 > 30 岁者, 建议行肝组织活检或无创性检查, 明确肝脏纤维化情况后给予抗病毒治疗 (B2)。
3. ALT 持续正常 (每 3 个月检查一次), 年龄 > 30 岁, 伴有肝硬化或 HCC 家族史, 建议行肝穿或无创性检查, 明确肝脏纤维化情况后给予抗病毒治疗 (B2)。

乙肝超敏的疗效分析



抗病毒治疗疗效监控

恩替卡韦 (ETV)

50IU

替诺福韦酯 (TDF)

80IU

替比夫定 (LdT)

50IU

阿德福韦酯 (ADV)

160IU

拉米夫定 (LAM)

干扰素 (IFN- α)

$2 \times \log 10 \text{IU}$

核苷类

干扰素

乙肝超敏的药物选择

药物

LAM

ADV

ETV

LdT

主要变异位点

rt204

rt181 或 rt236

rt204+rt180+rt184 或 rt202 或 rt250

rt180

代偿性变异位点

rt180 rt173 rt80

rt80

rt169

rt204

Immune escape (B cell)

PreS: Deletion
MHR: K122I, T123N,
G145R, etc.

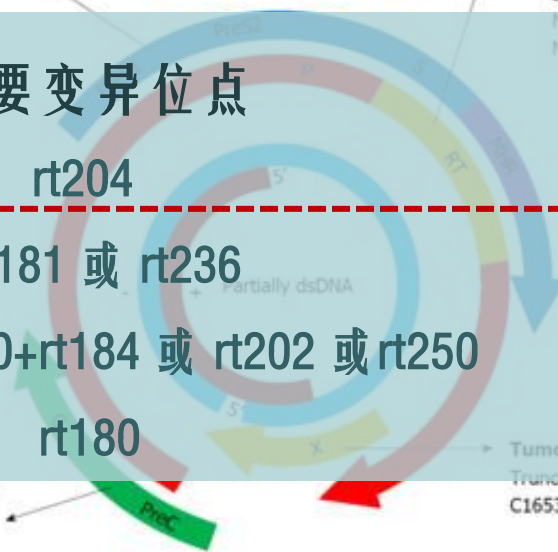
Drug resistance

RT: V173L, L180I/V,
A181V/T, T184S,
S202I, M204I/V,
N236T, F249A,
M250I/V, etc.

Increased viral replication
Abolish or decrease HBeAg
expression

Immune escape (T cell)
BCP: A1762T and G1764A
PreC: G1896A
Core gene: CTL epitope

Tumorigenesis
Truncated mutant
C1653T, T1753V, etc.



乙肝超敏势在必行

表 6.NAs 耐药挽救治疗推荐

耐药种类	推荐药物
LAM或LdT耐药	换用TDF，或加用ADV
治疗LAM/LdT耐药时出现对ADV耐药	换用TDF，或ETV+ADV
ETV耐药	换用TDF，或加用ADV
发生多药耐药突变（A181T+N236T+M204V）	ETV联合TDF，或ETV+ADV

应答是否良好判断标准：50IU/ml

乙肝超敏势在必行



特殊患者的病情监测

乙肝病毒导致的肝衰竭 DNA阳性就应抗病毒治疗

乙肝病毒导致的肝硬化 DNA阳性就应NAs抗病毒治疗

肝移植患者 DNA不可测者，移植前予ETV/TDF治疗

高风险患者，无肝期HBIG，移植后抗病毒联合HBIG

乙肝超敏势在必行



停药后病情监控

乙型肝炎再活动

DNA升高 $>2\log_{10}$ /阴转阳 $>100\text{IU}$ /DNA $>20000\text{IU}$

病毒学复发

停药后间隔一个月两次检测DNA $>2000\text{IU}$

乙肝超敏检测势在必行



HBV DNA 量化病毒

用药疗效分析

耐药换药指导

预后跟踪

政策要求

检测策略——2015丙肝防治指南

（一）急性丙型肝炎的诊断

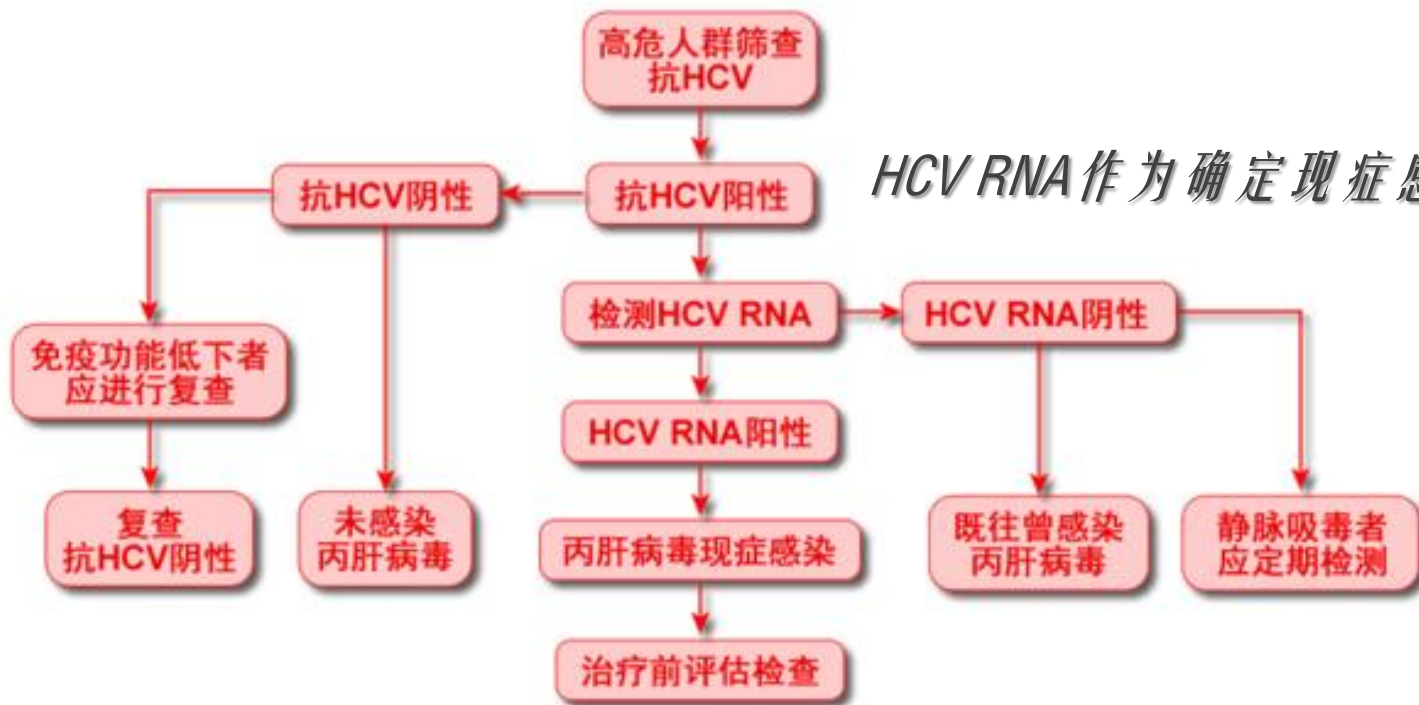
1. 流行病学史：有明确的就诊前 6 个月以内的流行病学史，如输血史、应用血液制品史或明确的 HCV 暴露史。
2. 临床表现：可有全身乏力、食欲减退、恶心和右季肋部疼痛等，少数伴低热，轻度肝肿大，部分患者可出现脾肿大，少数患者可出现黄疸。部分患者无明显症状，表现为隐匿性感染。
3. 实验室检查：ALT 多呈轻度和中度升高，也可在正常范围之内，有明确的 6 个月以内抗-HCV 和/或 HCV RNA 检测阳性结果的检测史。HCV RNA 常在 ALT 恢复正常前转阴，但也有 ALT 恢复正常而 HCV RNA 持续阳性者。

有上述 1+2+3 或 2+3 者可诊断。

（二）慢性丙型肝炎的诊断

1. 诊断依据：HCV 感染超过 6 个月，或有 6 月以前的流行病学史，或发病日期不明。抗-HCV 及 HCV RNA 阳性，肝脏组织病理学检查符合慢性肝炎。或根据症状、体征、实验室及影像学检查结果综合分析，亦可诊断。

检测策略——2017年WHO推荐

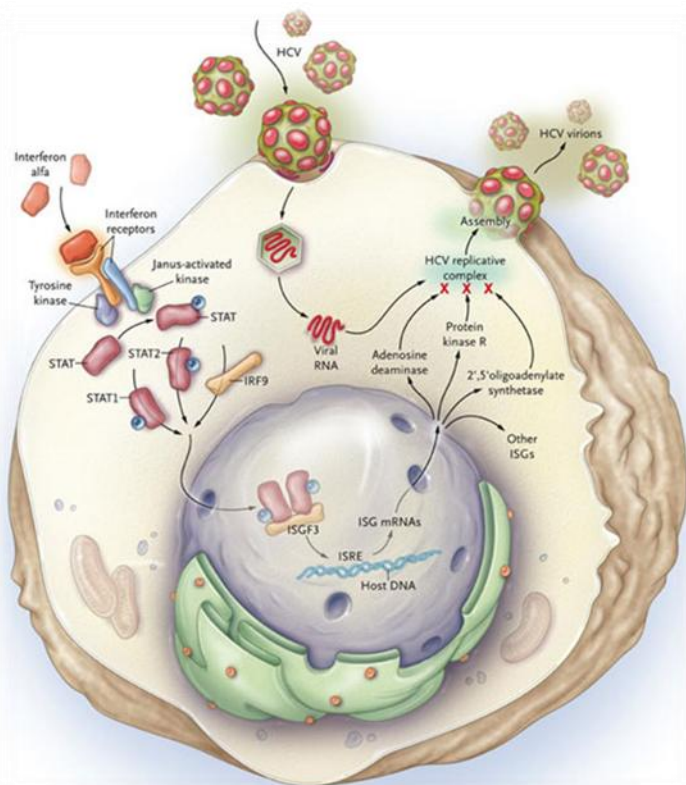


HCV RNA作为确定现症感染的检测手段

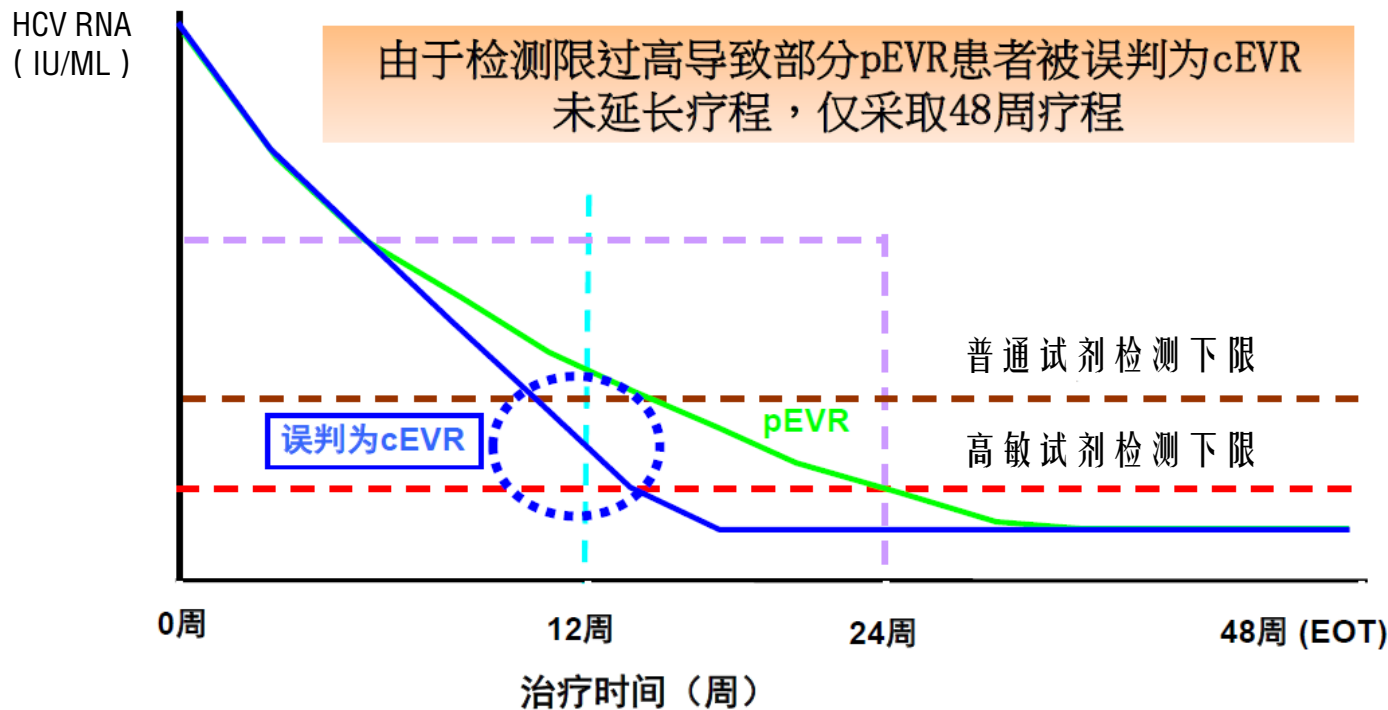
HCV 治疗终点

● 治疗目标：
治愈HCV感染，以预防肝硬化、肝细胞癌（HCC）、严重的肝外表现和死亡。

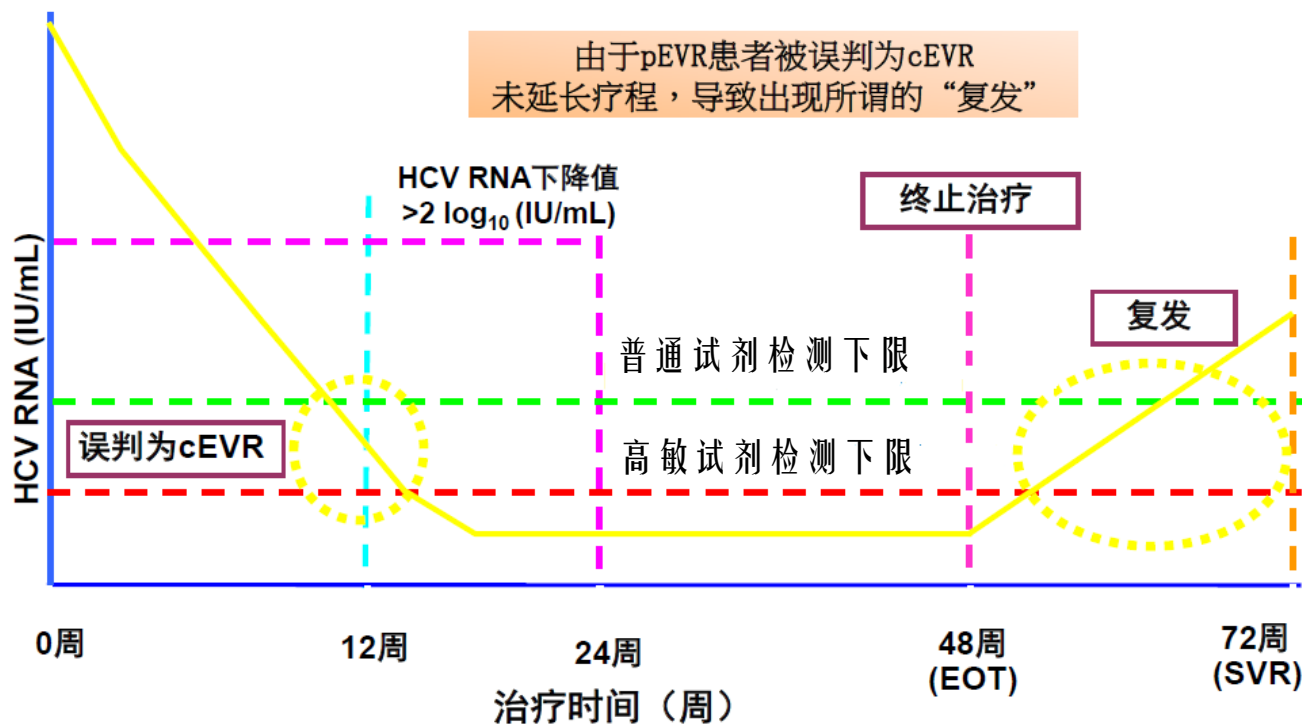
● 治疗终点：
持续的病毒学应答（SVR）---
治疗结束后12周（SVR12）和24周（SVR24）时，
采用灵敏的方法检测不出HCV RNA。



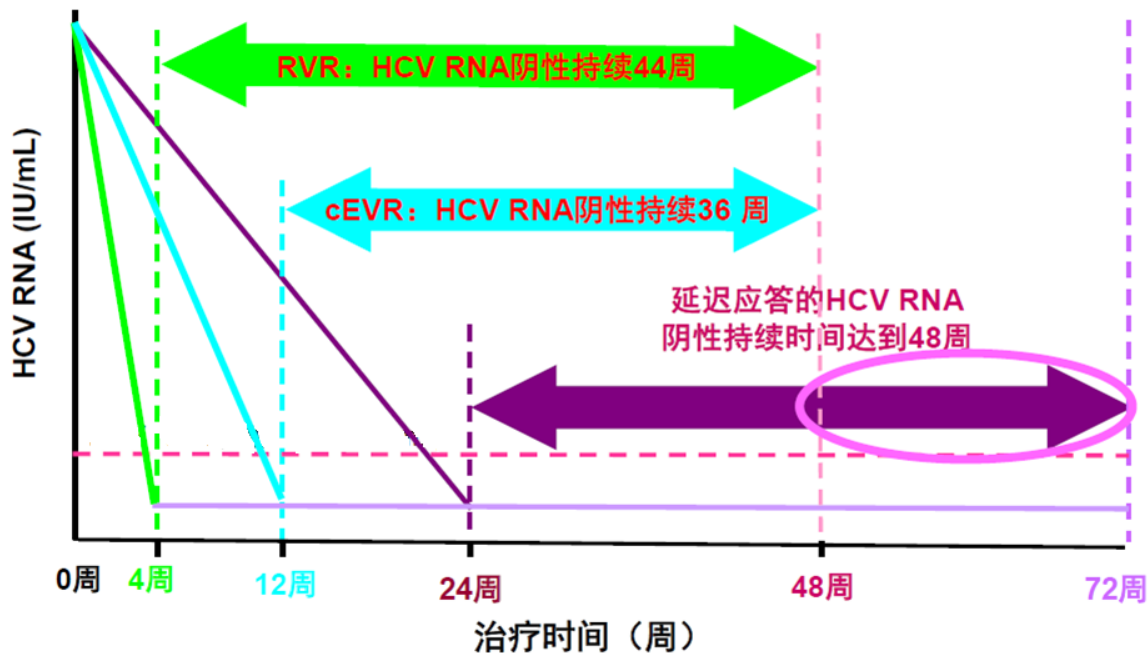
丙肝超敏避免pEVR误判为cEVR



由于误判所导致的复发率升高



对于pEVR患者需要延长阴性持续时间至48周，防止复发，获得SVR



《丙型肝炎防治指南》

(2015年更新版)

- HCV RNA定量检测应采用基于PCR扩增、灵敏度和精确度高并且检测范围广的方法，单位IU/ml
- HCV RNA定量检测适用于HCV现症状感染的确认、抗病毒治疗前基线分析、抗病毒治疗过程中及治疗结束后的应答评估
- 高灵敏HCV RNA定量检测应有助于更准确鉴定RVR(EVR),从而为抗病毒治疗疗程提供更可靠的依据

《2016 年欧洲肝病学会丙型肝炎治疗推荐意见》要点

张 影¹译，张福奎²审校

(1 大连市第六人民医院 肝病六科，辽宁 大连 116031；

2 首都医科大学附属北京友谊医院 肝病中心，北京 100050)

EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016

ZHANG Ying, ZHANG Fukui. (Sixth Department of Liver Diseases, Dalian Sixth People Hospital, Dalian, Liaoning, 116031, China)

- 在疑似急性丙型肝炎或者免疫功能低下患者，需检测HCV RNA；
- 抗-HCV抗体阳性，应采用灵敏的分子诊断方法检测HCV RNA确定是否有症状感染，HCV RNA阴性的患者，应在3个月后再次检测HCV RNA以明确病毒获得清除；
- 治疗终点是治疗结束后12周和24周用高灵敏度的试剂检测不到HCV RNA，即获得持续病毒学应答；
- HCV RNA的检测以及定量必须采用灵敏度高的试剂（最低检测限 < 15IU/ml）

2011年为<50IU/ml



国家食品药品监督管理总局 CFDA
China Food and Drug Administration

国家食品药品监督管理总局关于发布丙型肝炎病毒核糖核酸测定试剂等4个医疗器械技术审查指导原则的通告（2015年第93号）



2015年11月26日 发布

为加强医疗器械产品注册工作的监督和指导，进一步提高注册审查质量，国家食品药品监督管理总局组织制定了丙型肝炎病毒核糖核酸测定试剂、过敏原特异性IgE抗体检测试剂、人乳头瘤病毒（HPV）核酸检测及基因分型试剂、全自动化学发光免疫分析仪等4个医疗器械技术审查指导原则（见附件），现予发布。

特此通告。

2.1 最低检出限与定量限的确定

建议使用国际参考品/国家参考品进行梯度稀释并多次检测，将具有 95%阳性检出率的病毒水平作为最低检出限。**至少应不高于国家参考品最低检出限 50IU/ml 的要求**，根据循证医学中有关

《医疗机构临床检验项目目录（2013年版）》

项目名称	备注
一. 临床体液、血液专业	
五. 临床分子生物学及细胞遗传学检验	
1. 感染性疾病分子生物学检验	
乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸扩增定性检测	
乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸扩增定量检测	
高敏乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸定量检测	
乙型肝炎病毒基因分型检测	
乙型肝炎病毒前C区变异检测	
乙型肝炎病毒（HBV）YMDD变异检测	
乙型肝炎病毒（HBV）核心区启动子（BCP）变异检测	
乙型肝炎病毒基因变异检测	
丙型肝炎病毒核糖核酸扩增定性检测	
丙型肝炎病毒核糖核酸扩增定量检测	
高敏丙型肝炎病毒核糖核酸定量检测	

丙肝超敏检测是未来检测趋势



HCV感染确证方法



丙肝治疗终点判断

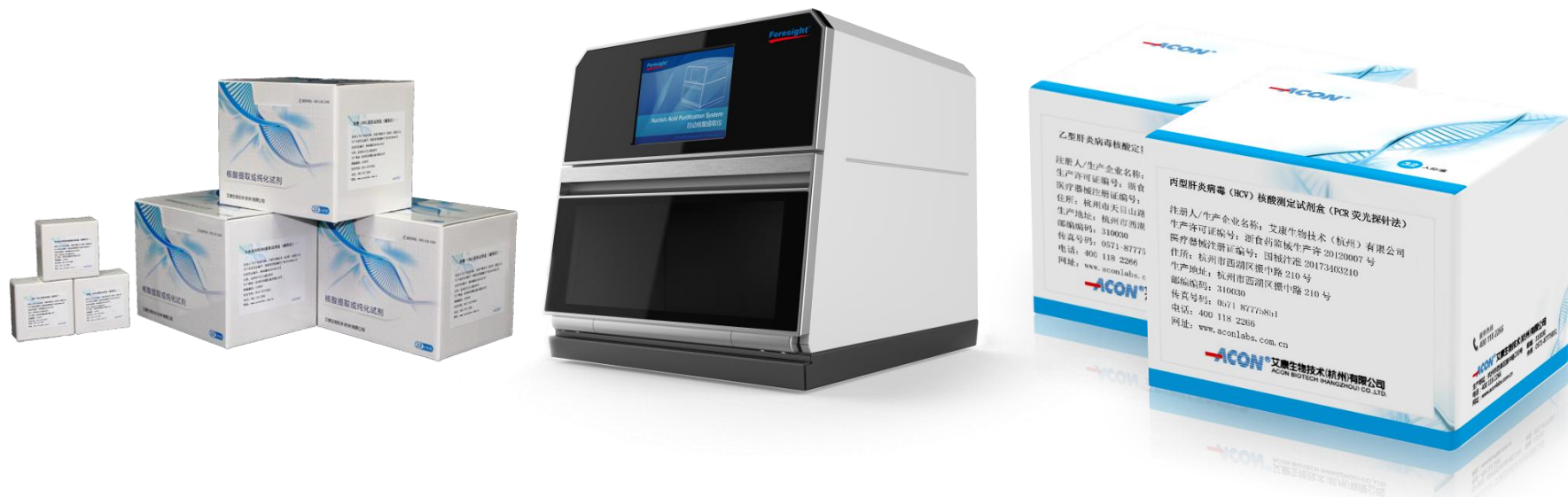


减少误判所导致的复发



国内国际政策倾斜

艾康整体解决方案



艾康整体解决方案



自动化配套，让您的超敏项目开展的更便捷！



Thank you for your attention!