

126例丙型肝炎病者临床病毒血清学分析

高志良 姚集鲁 吕 凌

(附属第三医院传染病科)

提 要 分析126例丙型肝炎病者的临床资料, 丙型肝炎病毒血清抗体(抗-HCV)滴度及丙型肝炎核酸(HCV-RNA)。发现有明确输血(浆)史者103例, 该病史中发现输血后2个月内有肝损者87例占84.4%。抗-HCV检出率为91.3%, 其中急性病者检出率82.6%, 慢性者95.8%。抗-HCV强阳性者(OD>1.0), HCV-RNA的检出率48.1%, 明显高过OD<1.0的低阳性者。抗-HCV阴性者中有18.18%(2/11)检出HCV-RNA。另外, HCV-RNA的检出与谷-丙转氨酶(ALT)水平有一定关系, 有肝损者比ALT正常者HCV-RNA检出率明显高。提示HCV-RNA的检出与活动性肝病有关系。

关键词 丙型肝炎病毒; 抗体; 核糖核酸

中图分类号 R446.61

真正认识丙型肝炎病毒(HCV)的时间不长, 了解尚处于初级阶段。本文收集1992年1~8月份, 本科126例非甲非乙非丁非戊型肝炎住院病人, 对其临床、生化改变以及丙型肝炎病毒血清抗体(抗-HCV)、丙型肝炎核酸(HCV-RNA)检测结果进行分析, 探索其相互关联。

材 料 与 方 法

病例选择 1992、1~8月本科肝炎病者126例, 均缺乏甲、乙、丁、戊型肝炎病毒感染证据, 其中男性81例、女性45例。有明确输血(浆)史者103例, 输血后2个月内有肝病临床表现及谷-丙转氨酶(ALT)升高的87例, 占84.4%。所有病例均未使用过干扰素等特殊治疗。临床分型按第6届病毒性肝炎学术会议标准。

检测试剂 抗-HCV检测盒: 上海科华生物工程公司提供(含HCV结构与非结构区特异的合成肽)。HCV-RNA反转录多聚酶链反应(RT-PCR)试剂由本科自行研究、设计与制备, 引物设计根据BK^[1]序列非编码区及C区, 采用套式(nested)PCR技术, 外引物为: C₁: 5'—TCACCATAGATCACTCCCCT—3'

(10~29)。C₂: 5'—GCCATAGAGGGGCC—AAGGGT—3'(585~566)。内引物为: C₃: 5'—CTGTGAGGAAGTACTGTCTT—3'(28~47), C₄: 5'—GGCCGACGCACCTTGGGGAT—3'(536~537)。AMV(反转录酶); promega产品。耐热DNA多聚酶(Taq)酶、核苷酸(C、T、G、A)(dNTPs)(四种)、PCR Buffer; 上海复旦大学遗传室提供。反转录及PCR操作常规另见文^[2], 在perkin Elmer Cetus循环仪上进行扩增。抗-HEV-IgM、抗-HAV-IgM、丁肝抗原, 抗体试剂由北京科卫临床诊断试剂厂生产。HBsAg/抗-HBs、HBeAg/抗-HBe、抗-HBc等检测试剂由本科自行研制^[3]。

结 果

HCV感染临床类型与血清抗-HCV, HCV-RNA检出关系 表1中显示急性丙型肝炎抗-HCV检出率比慢性HCV感染病者显著要低(0.01>P>0.005), 但其HCV-RNA的检出并不低。

ALT水平与血清HCV-RNA检出关系 见表2示。HCV-RNA的检出在ALT异常情况下较正常时明显高(P<0.005)。

抗-HCV滴度与HCV-RNA检出关系 见

表 3。

表1 丙型肝炎临床类型与血清标志检出

临床类型	例 数	抗-HCV		HCV-RNA	
		阳性例(%)	阴性例(%)	阳性例(%)	阴性例(%)
急性肝	46	38(82.6)	19(41.3)		
慢迁、活肝	71	68(95.8)	26(36.7)		
肝硬化	9	9(100)	3(33.3)		
共 计	126	115(91.3)	48(38.1)		

表2 ALT水平与血清HCV-RNA检出

ALT水平(U/L)	例 数	HCV-RNA	
		阳性例(%)	阴性例(%)
>200	91	39(42.9)	
<200>正常	23	8(34.8)	
正 常	12	1(8)	
共 计	126	48(38.1)	

注: ALT正常为25U/L以下。

表3 抗-HCV滴度与HCV-RNA检出关系

抗-HCV(OD值)	例 数	HCV-RNA	
		阳性例(%)	阴性例(%)
>1.0	79	38(48.1)	
0.51~0.99	26	6(23)	
cut off~0.5	10	2(20)	
阴 性	11	2(18.18)	
共 计	126	48(38.1)	

注: cut off:0.19

从表中看出, 抗-HCV 强阳性(OD值>1.0)时, 其病毒 RNA 检出率比其它任何一组都显著高($P<0.025$)。

讨 论

自 Choo^[4]等 1989 年首先用分子克隆方法测出实验感染的黑猩猩血清 HCV-cDNA 序列以来, 有关丙型肝炎的研究取得不少进展。本

文分析 126 例住院的 HCV 感染者, 有明确输血(浆)史者占 81.7%, 其中很大一部分病史中可问及输血后 2 个月左右有一个急性发病过程。本文统计的病例中, 急性丙型肝炎占 36.5%, 比一般报道的要多^[5]。急性病例抗-HCV 检出率远不及慢性肝病组(慢性迁延性、活动性及肝硬化), 但其 HCV-RNA 的检出率却高达 41.3%, 表明 HCV-RNA 的检测早期诊断的意义较抗-HCV 检查为大。

抗-HCV 的出现一般在 ALT 水平开始下降时, 但与 ALT 变化关系不大。HCV-RNA 却有所不同, 本研究显示, 当 ALT 水平不正常、特别是>200U以上时, HCV-RNA 的检出率明显高过 ALT 正常时, 而且, 作者发现, 刚入院时病人有明显肝损害时 HCV-RNA 较易检出, 但出院时, ALT 降为正常后, HCV-RNA 检出率较低。HCV 感染后, 外周血病毒含量较低, 况且外周血中(包括血清、血浆、PBMC)没有复制型病毒体存在, 只有肝细胞中才存有^[6], 这一点与 HBV 不同。因此, 外周血 HCV-RNA 的检测可能是间接反映了病毒在肝内有大量复制, 有肝细胞损伤的情况下, 外周血 HCV-RNA 就易于检出。

现在使用的抗-HCV 检测试剂多采用合成的多肽抗原。我们比较这种第二代合成肽试剂检测抗-HCV 的效价高低与 HCV-RNA 检出关系, 发现抗-HCV 强阳性(OD值>1.0)时, HCV-RNA 的检出率明显高于 OD 值<1.0 及抗-HCV 阴性组。但抗-HCV 与 HCV-RNA 检测阳性并没有平行的相关关系, 抗-HCV 阴性者中亦有 18.18% 的病人可测出 HCV-RNA, 两者不能相互替代, 各有特色, 互为补充。

尽管抗-HCV 及 HCV-RNA 的检测技术仍有待提高。在目前情况下, 丙型肝炎临床诊断时, 要进行综合判断。临床病史非常重要, 受血者 2 个月内出现急性肝损害者应高度怀疑 HCV 感染, 应尽早检测 HCV-RNA。如 HCV-RNA 检出阳性, 可确定诊断。如为阴性, 并不能排除 HCV 感染, 因 HCV-RNA 的检出率受许多因素影响, 如操作要求比较高、HCV

变异较大使引物选择比较困难等。此时,可追踪观察抗-HCV 变化,如逐渐升高(特别是抗-HCV 强阳性时),则HCV 感染的可能性大。但值得注意的是,抗-HCV 变化与病毒 RNA 并不呈正相关。在临床作为药物疗效判断指标上,HCV-RNA 与抗-HCV 的应用价值仍有待进一步研究。

参 考 文 献

1. Takamizawa A, et al. Structure and organization of the hepatitis C virus genome isolated from human carriers. *J. virol* 1991;65:1105
2. 吕 凌,等. 建立HCV-RNA反转录多聚酶链反应检测技术. 中山医科大学学报 待发表
3. 姚集鲁,等. 一步夹心法检测 HBsAg 的高灵敏度单克隆试剂 ELISA 技术. 中华传染

病杂志 1988; 6(1):31

4. Choo QL, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B virol hepatitis genome. *science* 1989;244:359
5. Okamoto H, et al. Antibodies against synthetic oligo-peptides-deduced from the putative Core gene for the diagnosis of hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1992;15:180
6. Tadehare T, et al. Detection of the minus strand of hepatitis C virus RNA by reverse transcription and polymerase chain reaction: implications for hepatitis C virus replication in infected tissue. *Hepatology* 1992;15:387

(1992-09-14收稿 1993-03-21修回)

SEROLOGICAL ANALYSES OF 126 PATIENTS WITH HEPATITIS C

Gao Zhiliang Yao Jilu Lu Ling

(Department of infectious diseases, the third affiliated Hospital)

One-hundred and twenty-six hepatitis C patients were investigated. Of them, 103 cases had blood product transfusion history, 2 months after transfusion liver damage developed in 84.4% of 126 patients, 91.3% were anti-HCV positive. Anti-HCV positivity was found in 82.6% of acute infections and in 95.8% of chronic cases. 18.2% of anti-HCV negative cases were found to be HCV RNA positive. In addition, a high detection rate of HCV RNA in ALT abnormal cases was observed. It suggested that HCV RNA could be related to active liver damage.

Key words hepatitis C virus; anti-body; RNA