

- transfusion-transmitted viral infections. Engl J Med, 1996, 334: 1685
- 2 Busch MP, Stramer SL, Kleinman SH. Evolving applications of nucleic acid amplification assays for prevention of virus transmission by blood components and derivatives. In: Carratty G, ed. Applications of molecular biology to blood transmission medicine. Bethesda: American Association of Blood Banks. 1997, 123
- 3 Sacher RA, Schreiber GB, Kleinman SH. Prevention of transfusion-transmitted hepatitis. Lancet, 2000, 355: 331
- 4 Interorganizational task force. Transfusion, 2000, 40: 143
- 5 Hitzler WE, Runkel S. Routine HCV PCR screening of blood donations to identify early HCV infection in blood donors lacking antibodies to HCV. Transfusion, 2001, 41: 333

(2003-12-26 收稿, 2004-08-31 修回)

本文编辑: 刘晓明

## 献血者中戊型肝炎病毒血症研究\*

严根兴<sup>1</sup> 戴利成<sup>2</sup> 吴康丽<sup>1</sup> 查荣宝<sup>1</sup> 姚行<sup>2</sup> 汪峰<sup>1</sup> 何建方<sup>2</sup> 叶玉芳<sup>1</sup> 葛胜祥<sup>3</sup> 郭清顺<sup>3</sup> 夏宁邵<sup>3</sup>

(1. 湖州市中心血站, 浙江湖州 313000; 2. 湖州市中心医院; 3. 厦门大学福建省医学分子病毒学研究中心)

**摘要:**目的 了解湖州地区献血者戊型肝炎病毒感染情况。方法 采用 ELISA 法检测 3047 名无偿献血者血清抗-HEV IgM 和 IgG 抗体, 巢式 RT-PCR 检测抗-HEV IgM 阳性血清中 HEV RNA。结果 3047 名无偿献血者中抗-HEV IgG 的检出率为 41.7%, 抗-HEV IgM 检出率为 1.5%。46 份抗-HEV IgM 阳性中发现 6 份 HEV RNA 阳性。献血者中病毒血症阳性率为 0.2%。6 名 HEV 病毒血症者中 4 名为 HEV 基因型, 另 2 例为 HEV 基因型。结论 在献血者中 HEV 病毒血症并不罕见, 有必要对输血后戊肝的潜在危险进行评估。

**关键词:** 戊型肝炎病毒 献血者 病毒血症 基因型/HEV

**中图分类号:** R373.2 R193.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2004)06-00417-03

戊型肝炎 (HE, 简称戊肝) 是一种由戊型肝炎病毒 (HEV) 引起的主要经肠道传播的急性肝炎, 临床表现类似甲型肝炎, 主要以亚临床感染为主, 急性 HE 在感染期间可出现病毒血症, 一般持续 2~3 周, 最长可持续至 112d; 亚临床感染同样可出现病毒血症<sup>[1,2]</sup>。我国属戊肝高流行区, 为了解献血者中 HE 病毒血症者的比例, 笔者对 3047 名献血者的 HEV 感染情况进行了研究, 报告如下。

### 1 材料与方 法

**1.1 标本来源及采集方法** 2002 年 12 月~2003 年 4 月整群抽样采集浙江省湖州市无偿献血者血样共 3047 份, 当天分离血清作抗-HEV (IgM 和 IgG) 检测; 其中 IgM 阳性标本重新取样, 离心分离血清, -20℃ 保存待检。

**1.2 检测方法** 按照《献血者健康标准》项目检测。抗-HEV IgM 和 IgG ELISA 试剂由北京万泰生物药业有限公司提供, 严格按试剂盒说明书操作与判断结果。

**1.3 RT-PCR 检测和测序** 取 250μl 血清用 Trizol 试剂 (GIBCO 公司) 按其操作说明提取, 20μl 体积反转录, 反转录引物为 HEV 特异性引物 E5 (5'-wgargccaaagcacatc-3'), AMV 反转录酶 42℃ 反转录 40min。第 1 轮 PCR 引物为 E1 (5'-ctgtttaaycttgctgacac-3')、E5; 反转录模板加 2μl, 总体积为 20μl, 条件为 94℃ 预变性 5min, 94℃ 变性 30s, 53℃ 复性 30s, 72℃ 延伸 40s, 35 个循环, 72℃ 延伸 5min。第 2 轮 PCR 引物为 E2 (5'-gacagaattgatttcgctc-3')、E4 (5-

tgytggttrtcacggctcctg-3')。第 1 轮模板加 2μl, 总体积为 20μl; 条件为 94℃ 预变性 5min, 94℃ 变性 30s, 53℃ 复性 30s, 72℃ 延伸 40s, 35 个循环, 72℃ 延伸 5min。将扩增片段用胶回收试剂盒 (上海华舜公司) 回收纯化, 连接入 pMT-18 载体 (大连宝生物公司), 由上海博亚公司进行序列测定。

**1.4 同源性分析** 参比序列如下: HEV 基因型的缅甸株 (Bur1, Genbank 录入号为 M73218; Bur2, Genbank 录入号为 D10330), 中国新疆株 (Chi-xinjiang, Genbank 录入号为 D11092), 印度株 (Ind1, Genbank 录入号为 X98292) 和巴基斯坦株 (Pas1, Genbank 录入号为 M80581); 基因型的墨西哥株 (Mex-o, M74506); 基因型的美国株 (US1, Genbank 录入号为 AF060668); 基因型的日本株 (Jap1, Genbank 录入号为 AB074915) 和中国变异株 (Chi4-AJ272108, Genbank 录入号为 AJ272108)。同源性分析软件采用 DNASTAR 有限公司 Lasergene 软件包中的 MegAlign 软件。测得的序列与 HEV 4 种基因型代表株用 MegAlign 中的 Clustal 方法进行同源性分析, 并生成进化树。

**1.5 数据统计分析** 应用 Microsoft Excel 作数据的双遍录入, 经核对无误后在 Epi Info 2000 软件作统计分析。

### 2 结果

**2.1 HEV 感染率** 3047 名无偿献血者中抗-HEV IgG 阳性 1269 例, 阳性率为 41.7%; IgM 阳性 46 例, 阳性率为 1.5%, 其中 44 例 IgG 同时阳性, 仅 2 例 IgM 单独阳性。对抗-HEV IgM 阳性的 46 例均进行 RT-PCR 检测, 结果共有 6 例阳性, 阳性率为 13.0%, 其中 2 例 IgM 单独阳性献血者 (hz1 和 hz24) 均为 PCR 阳性, 44 例 IgM、IgG 双阳性的献血者中有 4

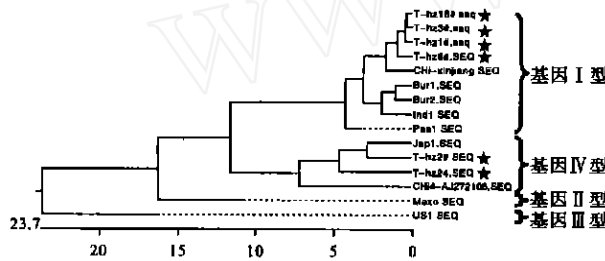
\* 基金项目: 湖州市自然科学基金 (编号 2003 YS29)

例 PCR 阳性(表 1)。这 6 例均经核酸测序证实,同源性在 78.7%~99.3%。在 3047 例献血者中病毒血症阳性率为 0.2%。

表 1 6 例 HEV RT-PCR 阳性标本的抗-HEV IgM 和 IgG 的 OD 值

编号	抗-HEV IgG	抗-HEV IgM
hz1	0.051	1.117
hz2	1.068	1.182
hz3	0.195	1.273
hz6	3.275	2.176
hz16	0.524	1.455
hz24	0.010	0.421

2.2 HEV 基因测序和分型 经同源性分析,可确定献血者中存在着 HEV 基因型和的感染(图 1)。hz1、hz3、hz6、hz16 和 hz2、hz24 核酸序列与 HEV 基因、型的一致率分别为 92.0%~97.3%、80.7%~81.3%、76.7%~77.3%、80.7%~81.3%和 78.7%~83.3%、84.0%~84.7%、78.7%~80.0%、86.0%~94.2%。



为湖州血清序列

图 1 献血者中 HEV 基因序列的同源性分析

3 讨论

HEV 血清流行病学已有大量报道<sup>[3-7]</sup>,但由于绝大多数抗-HEV IgG ELISA 检测试剂在许多患者感染急性期之后检出 HEV IgG 抗体的能力会明显减弱或者消失,这类试剂用于血清流行病学研究会明显低估感染率<sup>[1,3,7]</sup>。近年研发的新试剂对新疆 1986 年大流行 HEV 感染者 10 年后血清检测发现,阳性率为 86% (43/50),提示该试剂能够检测到较长时间的 HEV IgG 抗体<sup>[1]</sup>,较以往的试剂更适合于血清流行病学研究。

本次调查的无偿献血者抗-HEV IgG 阳性率为 41.7%,明显高于 1992 年全国 13 个省市流调结果(17.2%)<sup>[2]</sup>,这可归因于较高的灵敏度试剂、全国流调含有一定比例的低龄人群(<18 岁)等因素所致。

虽然 HE 是以肠道传播为主的一种传染病,但其他传播途径的确存在着<sup>[8-12]</sup>。有研究表明,婴儿出生时的血样或脐带血可检测到抗-HEV 或 HEV RNA,HEV 可通过感染母亲子宫内垂直传播给新生儿,并可导致胎儿较高的发病和死亡<sup>[8,9]</sup>。同样,HE 以亚临床感染为主的特征和感染期内较

长病毒血症的存在,表明 HEV 经血液传播是可能的。HEV 可通过静脉途径感染非人灵长类动物、猪、鼠等动物;在血友病患者、血液透析患者、吸毒者和输血后患者等均检测到较高的 HEV 感染率<sup>[3]</sup>。Arankalla 等<sup>[10]</sup>检测了流行区 200 名供血者 HEV 感染情况,发现 3 名 RT-PCR(+),其中只有 1 例出现 IgM(+)和 ALT 升高,但另外 2 例在 2~5 个月后又出现了抗-HEV (IgM 和 IgG) 阳转;同时,在抗-HCV 和抗-HIV 阳性率较高的 76 名有偿献血者中抗-HEV IgG 的阳性率高达 76%,有统计学意义。Arankalle 等<sup>[12]</sup>在一项输血后肝炎的回顾性研究中,进一步发现在 56 名受血者中,有 19 例在输血前即抗-HEV IgG 阳性;另外 37 例输血前阳性者中,在输血后第 4 和 5 周各有 1 例出现 IgG 和 IgM 阳转,其中 1 名 ALT 升高;而作为对照的 51 名献血者中未发现抗-HEV 阳转,412 名献血者的单份血清也均无抗-HEV IgM 阳性。从而提示输血传播 HEV 的可能性。

本研究说明在我国献血者中的确存在着 HE 病毒血症,阳性率为 0.2%,基因型与中国内地的 HE 临床散发病例中既有型又有型的结果一致<sup>[13]</sup>。这些 HE 病毒血症者均未发现肝功能异常,并且按照现有的献血者筛查策略难以明确排除<sup>[14]</sup>。虽然输入 HEV 污染的血液引起受血者发生 HEV 感染尚无十分确切的证据,但在献血者中发现的 1 例亚临床基因 IV 型 HEV 感染血清可感染恒河猴<sup>[15]</sup>,因此不排除献血者 HEV 的血清可能是输血后肝炎的潜在原因之一。因此对输血后 HE 进行系统评估对保障我国用血安全将具有重要意义。

在现有的 HEV 感染检测手段中,RT-PCR 是最灵敏的病毒血症确诊方法,但由于 RT-PCR 操作繁复,对实验环境和实验人员的要求较高,而且检测成本过高,难以广泛推广。抗-HEV IgM 检测采用常规 ELISA 技术,与现有其他血液筛查方法基本一致。但抗-HEV IgM 通常在病毒感染的 3 周左右阳转,略晚于病毒复制高峰,因此必然也会漏掉一部分病毒血症者。从笔者结果看,抗-HEV IgM 阳性的献血者中会有 13% 的病毒血症,尤其是抗-HEV IgM 单独阳性的 2 例均为病毒血症,这是一个不容忽视的问题。使用抗-HEV IgM 的另一个问题在于会有许多体内病毒血症已消失的献血者呈阳性,导致血源的浪费,此时同时进行抗-HEV IgG 的检测会提高准确率,但会导致较多漏检。综上所述,IgG、IgM 和 RT-PCR 这 3 种 HEV 感染指标对于献血者中 HE 病毒血症的筛查各有不足,但在目前情况下,抗-HEV IgM 的检测是相对好的选择,直接检测血清中 HEV 抗原也许会有更好的效果。

(致谢:感谢朱克福教授对本文提供的宝贵意见!)

参考文献

- 1 李新兰,任 晖,梁新海,等. 戊型肝炎患者十年后血清抗病毒抗体的检测. 地方病通报,2002,17(3):14
- 2 庄 辉. 戊型病毒性肝炎在我国 13 个省、市(直)、自治区的流行状况调查. 见:戴志澄主编. 中国病毒性肝炎血清流行病学调

查. 科学技术文献出版社, 北京, 1999, 83 ~ 94

3 Smith JL. A review of hepatitis E virus. J Food Protection, 2001, 4(4) :572

4 Dawson G, Mushahwar IK, Chan KH, et al. Detection of long-lasting antibody to hepatitis E virus in a US traveler to Pakistan. Lancet, 1992, 340(8816) :326

5 Brader T, Krawczynski K, Polish L, et al. Hepatitis E in a traveler to Mexico. N Engl J Med, 1991, 325(23) :1659

6 Thomas DL, Yarbough PO, Vlahov D, et al. Seroreactivity to hepatitis E virus in areas where the disease is not endemic. Clin Microbiol, 1997, 35(5) :1244

7 Irshad M. Hepatitis E virus: an update on its molecular, clinical and epidemiological characteristics. Intervirology, 1999, 42(4) :252

8 Kumar RM, Uduman S, Rana S, et al. Sero-prevalence and mother-to-infant transmission of hepatitis E virus among pregnant women in the United Arab Emirates. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2001 D, 100(1) :9

9 Khuroo MS, Kamili S, Jameel S. Vertical transmission of hepatitis E virus. Lancet, 1995, 341(8956) :149

10 Arankalle VA, Chobe LP. Retrospective analysis of blood transfusion recipients: evidence for post-transfusion hepatitis E. Vox Sang, 2000, 79(2) :72

11 Chauhan A, Jameel S, Dilawari JB, et al. Hepatitis E virus transmission to a volunteer. Lancet, 1993, 341(8838) :149

12 Arankalle VA, Chobe LP. Hepatitis E virus: can it be transmitted parenterally? J Viral Hepat, 1999, 6(2) :161

13 Wang Y, Ling R, Erker JC, et al. A divergent genotype of hepatitis E virus in Chinese patients with acute hepatitis. J Gen Virol, 1999, 80 ( Pt 1) :169

14 高东英, 彭耿, 朱家明, 等. 献血者戊型肝炎病毒亚临床感染情况调查. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(1) :11

15 Xia NS, Zhang J, Zheng YJ, et al. Transfusion of Plasma from a Blood Donor Induced Hepatitis E in Rhesus Monkey. Vox Sang, 2004, 86(1) :45

(2004-06-29 收稿, 10-24 修回)

本文编辑: 尚云

## 抗-HCV RIBA 确证试验结果分析

叶晨<sup>1</sup> 曾艳芬<sup>1</sup> 单莉莉<sup>1</sup> 伍严安<sup>2</sup> 杨闽红<sup>3</sup>

(1. 福建省临床检验中心, 福建福州 350001; 2. 福建省立医院; 3. 福建省卫生厅)

**摘要:**目的 对酶免抗-HCV 试剂检测结果不确定的血液样品, 通过抗-HCV RIBA 确认实验来确定, 有助指导采供血机构的试剂选用。方法 收集省内各中心血站及中心血库在抗-HCV 筛查中, 国产与进口试剂检测结果不符的样本, 用 Chiron RIBA HCV3.0 SIA 试剂进行确认试验。结果 收集到的 53 份样品, 经抗-HCV RIBA 确认, 均为阴性和不确定, 无一例阳性, 其中进口试剂阴性, 国产试剂阳性, RIBA 阴性的有 19 例, RIBA 不确定的有 14 例; 进口试剂阳性, 国产试剂阴性, RIBA 阴性的有 14 例; RIBA 不确定的有 6 例。20 例 RIBA 不确定的样本中, c100p 阳性有 10 例, c33c 阳性的有 5 例, c22p 阳性的有 5 例。结论 以 RIBA 进行确认, 酶免抗-HCV 国产试剂和进口试剂均存在不同程度的假阳性。建议对于不确定的样本跟踪随访。

**关键词:** 抗-HCV RIBA ELISA

**中图分类号:** R446.61 R512.6<sup>+</sup>3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-549X(2004)06-0419-02

我省的各个中心血站及中心血库在进行抗-HCV 检测时, 使用国产试剂进行初检, 使用进口试剂进行复检。在日常检测中常出现国产与进口试剂双检结果不符的情况。为此, 笔者用 RIBA 抗-HCV 确认试验来确证并观察国产、进口试剂检测结果与 RIBA 试验的符合情况, 并以此来指导我省采供血机构的试剂选用, 现将结果报道如下。

### 1 材料与方法

**1.1 标本** 省内各中心血站及中心血库送检的 53 份复检抗-HCV 检测不符的样本。

**1.2 试剂** Chiron RIBA HCV3.0 SIA 试剂。

**1.3 方法和结果判读** 严格按照说明书要求。条带的判读见表 1, 结果的解释见表 2。

表 1 条带判读依据

条带的强度	结果判读
无	-
弱于 level I IgG 对照带	+/-
等于 level I IgG 对照带	1+
强于 level I IgG 对照带并弱于 level II IgG 对照带	2+
等于 level II IgG 对照带	3+
强于 level II IgG 对照带	4+

表 2 结果判读依据

抗原条带的模式	结果判定
无任何 HCV 条带显色等于或深于 1+	阴性
HCV 条带显色等于或深于 1+, 但不符合阳性标准	不确定结果
任何两条 HCV 条带显色且 1+	阳性