

· 实验研究 ·

厦门地区无偿献血者 HEV 隐性感染情况及基因型分析

陈长荣¹ 欧山海^{1△} 张永昌¹ 谢金镇¹ 裴斌¹ 葛胜祥² 张军²

(1. 厦门市中心血站 福建 厦门 361004; 2. 厦门大学国家传染病诊断试剂与疫苗工程研究中心)

摘要: 目的 了解厦门地区无偿献血者中戊型肝炎的感染情况。方法 对 2005 年 3 月—2007 年 4 月厦门地区 20 389 人(次)无偿献血者做整群抽样, 捕获法 ELISA 检测 IgM 抗-HEV, 并对 IgM 抗-HEV 阳性样本做 HEV RT-PCR 检测, 经测序后分析其基因型及序列同源性。结果 20 389 份无偿献血者血样本中, IgM 抗-HEV 阳性率为 0.91% (186/20 389); 186 例 IgM 抗-HEV 阳性中有 4 例经 RT-PCR 检测为 HEV 阳性。献血者中病毒血症总阳性率为 2/100 00(4/20 389), 4 例病毒血症中 iv 型与 ㊟型感染各 2 例。结论 厦门地区无偿献血者中, 存在 HEV 隐性感染者。

关键词: 献血者; 戊型肝炎; 输血; 病毒血症, HEV; 隐性感染; RT-PCR

中图分类号: R 446.62 Q 754 R 512.6 文献标识码: A 文章编号: 1004-549X(2009)05-0383-02

无偿献血者血液筛查项目的完善是输血安全中重要的一环。戊型肝炎是由戊型肝炎病毒 (hepatitis E virus, HEV) 引起的急性肝炎, 主要是以散发性和爆发性 2 种方式传播, 感染所致死亡率在孕妇中可达 15%—25%^[1]。除了水源性、食源性传播外, 近年来 HEV 的经血传播也逐渐受到人们关注^[2-6], 且已经发现受血者因输血而从献血者那里感染急性 HE 的证据^[7]。我国属于 HE 高流行区, 为了解本地区献血者中 HEV 感染情况和病毒血症者的比例, 以便为提高输血安全性提供一定的科学依据, 我们对厦门地区 2004 年 9 月—2007 年 4 月的 20 389 名无偿献血者做了调查, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 样本来源 对在 2005 年 3 月—2007 年 4 月间在厦门血站献血的无偿献血者进行整群抽样, 抽样时间段分别为 2005 年 3—10 月, 2006 年 8—12 月, 2007 年 1—4 月。调查其一般情况 (性别、年龄等) 并采集血样, 共计 20 389 份样本 (5 ml/人份, 排除重复献血者), 常规分离血清, -20℃ 保存待检。

1.2 检测方法 采用 ELISA 法 (捕获法) 对所有献血者样本做 IgM 抗-HEV 检测, 试剂盒为北京万泰生物药业生产, 批号分别为 (EM 20051004, EM 20060508, EM 201004, EM 20070302), 检测程序及结果判定严格按试剂盒说明书操作; 对 IgM 抗-HEV 阳性的样本待进一步检测。

1.3 RT-PCR 检测和测序 取 200 μl 经 ELISA 法检测 IgM 抗-HEV 阳性的血清, 用 Trizol 试剂 (批号 1392920 Roche 公司生产) 按操作说明提取, 20 μl 反转录, 反转录引物为 E5 (5'-WGARAGCCAAAGCACATC-3'), AMV 反转录酶 (批号 24138809 Promega 公司) 42℃ 反转录 40 min 第 1 轮 PCR 引

物: E1 (5'-CTGTTTAAAYCTTGCTGACAG-3'), E5 反转录模板加 2 μl 总体积为 20 μl PCR 反应条件为 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 40 s, 53℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 40 s, 35 个循环, 72℃ 延伸 10 min 第 2 轮 PCR 引物: E2 (5'-GACAGAAT-TGATTTCTGTCG-3'), E4 (5'-TGTYGGTTRTCATAATCCTG-3'), 模板为第 1 轮产物 2 μl 总体积 20 μl PCR 条件与第 1 轮相同, 24 个循环。将第 2 轮产物用胶回收试剂盒 (批号 2707A, 上海华舜公司) 回收纯化, PCR 产物接入 PMD18-T 载体 (批号 ck4101A, TAKARA 公司), 由上海英骏公司进行序列测定。

1.4 序列同源性分析 对测序得到的序列使用 DNASTAR 软件包处理后, 与参考序列做同源性比对, 各基因型参考序列: iv 型 (AF05183Q, AF076239, AF185822, AF444002, AF459438, M94177), ㊟型 (M74506), ㊟型 (AF060668, AF060669, AF082843, AY115488), ㊟型 (AY594199, AB080575, AB097812, AB108537, AB161719, AJ272108); 同源性分析采用 MEGA 3.1 软件。

1.5 数据统计分析 应用 Microsoft Excel 对献血者年龄、性别以及实验室检测指标结果做双遍录入, 并对数据进行统计分析。

2 结果

2.1 无偿献血者一般情况 在样本收集时间段内, 共收集到无偿献血者血清样本 20 389 份, 其中男性 11 058 人, 女性 9 331 人, 男女比为 1.3:1, 年龄 18—55 岁, 分布主要以青年为主, <30 岁无偿献血者占总献血人员的 76.95% (表 1)。

2.2 无偿献血者中 IgM 抗-HEV 阳性检出情况 ELISA 法共检测出 IgM 抗-HEV 阳性 186 例, 总阳性率为 0.91%。对性别、年龄因素进行分层分析, 表明不同性别、不同年龄献血者, 以及 3 年间抗-HEV 阳性率差异无统计学意义 (表 1.2)。

* 基金项目: 厦门市卫生局医学科研项目资助课题 (编号: WSK0516); △ 通信作者: 欧山海, 临床检验技师、硕士, 电话: (0592) 2223976, Email: shanhaiou@sina.com

表 1 厦门地区无偿献血者 IgM 抗-HEV 阳性样本的年龄、性别分布情况 (n = 20 389)

	男性 (n = 11 058)			女性 (n = 9 331)			合计 (n = 20 389)		
	n	阳性数	阳性率 (%)	n	阳性数	阳性率 (%)	n	阳性数	阳性率 (%)
18岁—	2 454	11	0.45	2 652	18	0.68	5 106	29	0.57
21岁—	5 959	59	0.99	4 625	45	0.97	10 584	104	0.94
31岁—	1 784	23	1.29	1 385	18	1.30	3 169	41	1.26
> 40岁	861	8	0.93	669	4	0.60	1 530	12	0.78
总计	11 058	101	0.91	9 331	85	0.91	20 389	186	0.91

注: $\chi^2 = 0.04 P > 0.05$

表 2 厦门地区无偿献血者 2005—2007年 IgM 抗-HEV

	阳性率变化情况 (n = 20 389)		
	n	阳性数	阳性率 (%)
2005年	9 404	85	0.90
2006年	6 628	51	0.77
2007年	4 357	50	1.15
合计	20 389	186	0.91

2.3 献血者中病毒血症及核酸序列分析 对 186 份 IgM 抗-HEV 阳性样本做 RT-PCR 检测: 其中 4 例阳性, 占 ELISA 检出阳性比例的 2.15%, 在全部检测的献血者血样中的病毒血症阳性率为 2/10 000 (4/20 389)。经序列测定及同源性分析可确定 2 名病毒血症感染者 (xm xz-13461508 和 xm xz-13221843) 为 IV 型 HEV 感染, 2 例为 II 型感染 (xm xz-13357719 和 xm xz-90445972) (图 1)。

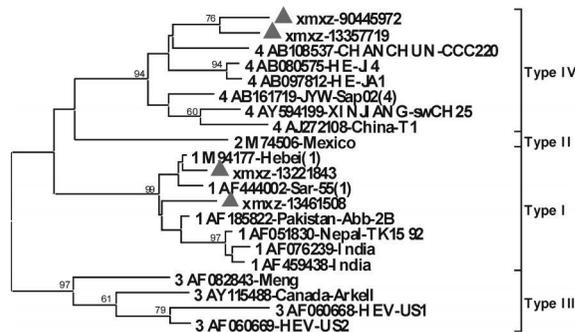


图 1 献血者中 HEV 核酸序列进化树分析

3 讨论

虽然 HE 主要以肠道传染为主, 但其它传播途径也的确存在, 且得到越来越多证据的证明^[3-4]。有研究表明在婴儿出生时的脐带血可检出抗-HEV 或 HEV RNA, 可见 HEV 可通过感染母亲而垂直传播给新生儿^[8]; 同样, HE 以亚临床感染的特性和感染期内较长病毒血症的存在, 也表明 HEV 经血传播可能性的存在。HEV 可通过静脉途径感染鼠、猪、恒河猴等动物^[5-6], 且英国在 2006 年已发现 1 例通过输血感染 HEV 的病例——2 名输注了同一位感染了 HEV 的献血者血液的患者中, 受血较多的 1 名在受血 35 d 后罹患急性 HE, 分离自献血者和受血者体内的 HEV 序列分析表明导致二者肝炎的 HEV 是一致的^[7]。在我国各地血站的献血者中, HEV 的携带者也时有发现, 如严根兴等^[9]在浙江湖州血站 3 047 名献血者中发现 6 名 HEV 病毒血症者, 桑列勇等^[10]对绍兴血站 1 年间 3 701 名献血者 HEV 感染情况的调

查也同样发现了一定数量的病毒血症者。

本研究通过对厦门地区无偿献血者中 HE 流行情况的调查发现, 本地区献血者中 IgM 抗-HEV 阳性率为 0.91%, 病毒血症阳性率为 2/10 000 都较国内其它地区为低, 这可能和本地区有较好的卫生条件有一定关系。但 HE 病毒血症者的发现仍说明: 通过血站现有的献血者血液筛查策略无法彻底将含有 HEV 的血液加以排除。因此对输血前后 HE 的感染情况进行系统评估对保障用血安全将具有一定意义。

参 考 文 献

- [1] Smith JL. A review of hepatitis E virus. J Food Prot. 2001, 64 (4): 572—586
- [2] Arankalle VA, Chobe LP. Retrospective analysis of blood transfusion recipients: evidence for post-transfusion hepatitis E. Vox Sang. 2000, 79(2): 72—74
- [3] Ayoola EA, Want MA, Gadour MO, et al. Hepatitis E virus infection in haemodialysis patients: a case-control study in Saudi Arabia. J Med Virol. 2002, 66(3): 329—334
- [4] Barzilai A, Schulman S, Karenyiy YV, et al. Hepatitis E virus infection in hemophiliacs. J Med Virol. 1995, 46(2): 153—156
- [5] 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—47
- [6] 夏宁邵, 张军, 郑英杰, 等. 戊型肝炎病毒核酸阳性血浆经输血传播感染恒河猴的研究. 中华肝脏病杂志, 2004, 12(1): 13—15
- [7] Boxall E, Herborn A, Kochethu G, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E in a 'nonhyperendemic' country. Transfus Med. 2006, 16(2): 79—83
- [8] Kumar RM, Uduman S, Rana S, et al. Seroprevalence and mother-to-infant transmission of hepatitis E virus among pregnant women in the United Arab Emirates. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2001, 100(1): 9—15
- [9] 严根兴, 戴利成, 吴康丽, 等. 献血者中戊型肝炎病毒血症研究. 中国输血杂志, 2004, 17(6): 417—419
- [10] 桑列勇, 傅立强, 方放, 等. 不同戊型肝炎病毒检测方法用于无偿献血筛查效果评价. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(4): 669—670

(2008-04-30 收稿, 2009-04-06 修回)

本文编辑: 蔡辉