HBV、HCV和HDV混合感染在慢性肝病中的意义

张绪清　胡大荣　李梦东

摘要　采用酶联免疫法（ELISA）检测127例慢性肝病患者血清中的HBV、HCV和HDV感染标志，并采用逆转录-聚合酶链反应（RT-PCR）技术检测部分患者血清HCV-RNA。HBV、HCV和HDV混合感染共37例（29.1%）。混合感染者发生慢重肝的频率明显高于单独HBV感染者（$P<0.05$），混合感染占慢重肝病因的74.2%。混合感染所致慢重肝患者的凝血酶原时间、血清总胆红素及病死率明显高于单独HBV感染者。结果表明：HBV、HCV和HDV混合感染可能是慢性肝病重型化的主要原因，所致慢重肝患者的病情重、预后差。

关键词　慢性肝病　混合感染　HBV　HCV　HDV

HCV感染是发达国家慢性肝炎和肝炎后肝硬化的主要病因[1,2]，HBV携带者重叠感染HDV加重肝损害，易发展成重型肝炎[3]。我国属HBV感染高发区，HCV、HDV感染率也较高[4,5]，但有关HBV、HCV和HDV混合感染在慢性肝炎中的作用则报道不多。本研究从病原学方面探讨HBV、HCV和HDV混合感染对慢性重型肝炎的发生、发展和预后的影响，试图进一步阐明病毒性肝炎慢性化和重型化的原因。

材料与方法

一、研究对象：系我院1991年3月～1992年1月住院的127例各型慢性肝病患者，其诊断均符合《病毒性肝炎防治方案（1990年上海）》修订的标准。一般资料见表1。患者于入院后输血或血制品前抽血5ml，分离血清－20℃贮存待检。

二、试剂及方法：

1.试剂：血清HBV标志（HBVM）检测试剂由台湾普生公司提供。血清HDV标志（HDVM）检测试剂由河南省医学科学研究所提供。血清抗-HCV检测试剂由本实验室提供，包被抗原为人工合成的CP_9和CP_{10}。Taq酶、反转录酶由Promega公司提供。检测HCV-RNA的引物由第四军医大学徐德忠大夫馈赠。引物系以日本HCV株的5′非编码区为靶序列设计，限定扩增长度为240bp，引物1为5′-GCACTCGCAAGCACCCTAT-3′，引物2为5′AGCGTCTAGCCATGGCGTTA-3′。

表1　观察对象

	例数	男	女	平均年龄（岁）	病理诊断例数
ASC	28	19	9	30.3(15～45)	0
CPH	1	11	3	35.5(16～52)	6
CAH	31	27	4	33.9(19～52)	26
CSH	31	27	4	36.3(19～68)	20
LC	23	20	3	44.2(25～63)	8
合计	127	104	23		60

CPH：慢性迁延型肝炎，CAH：慢性活动型肝炎，CSH：慢性重型肝炎，LC：肝硬化，ASC：慢性无症状HBsAg携带者

本文作者单位：第三军医大学西南医院传染科　630038　重庆市

2.检测方法：

①血清HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc、HDAg、抗-HD、抗-HDIgM、抗-HCV均用ELISA法检测。

②血清 HCV-RNA 按郝飞[6]介绍的RT-PCR法检测。

③血清总胆红素（TB）和凝血酶原时间（PT）由我院生化室常规检测。

3.HBV、HCV和HDV混合感染的诊断：HBVM和抗-HCV 均阳性者诊断为 HBV 与HCV混合感染，HBVM和HDVM均阳性者为HBV与HDV混合感染，HBVM、HDVM和抗-HCV均阳性者为HBV与HCV、HDV混合感染（三重感染）。

4.统计学处理：采用χ^2检验、四格表精确概率法和方差分析。

结 果

一、慢性肝病患者HBV、HCV和HDV的感染状况：127名慢性肝病患者血清HBVM阳性123例（96.9%），其中HBsAg阳性114例（89.8%）、抗-HBc阳性123例（96.9%）；抗-HCV阳性29例（22.8%）；HDVM阳性18例（14.2%），其中HDAg阳性15例、抗-HD阳性8例、抗-HDIgM阳性12例。各类肝病患者血清HBVM、HDVM和抗-HCV 检出情况见表2。

表2 慢性肝病患者HBV、HCV和HDV标志检出情况

	病例数	HBVM（+）	抗-HCV（+）	HDVM（+）
ASC	28	28（100.0）	1（3.6）	0（0）
CPH	14	12（85.7）	0（0）	0（0）
CAH	31	29（93.5）	5（16.1）	4（12.9）
CSH	31	31（100.0）	19（61.3）	12（38.7）
LC	23	23（100.0）	4（17.4）	2（8.7）
合计	127	123（96.9）	29（22.8）	18（14.2）

注：括号内数字为阳性率（%）

不同类型肝病患者之间HBVM阳性率相差不显著（$P>0.05$）；CSH患者的抗-HCV阳性率明显高于 ASC、CPH、CAH 和 LC（$P<0.01$）；CSH患者的HDVM 阳性率显著高于ASC（$P<0.01$）、CPH（$P<0.01$）、CAH（$P<0.05$）和LC（$P<0.05$）；ASC、CPH、CAH和LC患者彼此间的抗-HCV 阳性率和HDVM阳性率均相差不显著。

HBsAg阴性与阳性慢性肝病患者血清抗-HCV阳性率分别为61.5%（8/13）和18.4%（21/114），两者间相差非常显著（$P<0.01$）。26例抗-HCV阳性者血清 HCV-RNA阳性18例（69.2%），5例抗-HCV阴性、HBsAg阴性者血清HCV-RNA均阴性。

127例慢性肝病患者中单独HBV感染86例（67.1%），HBV、HCV和HDV 混合感染共37例（29.1%）。单独HBV感染分别占CPH、CAH和LC 病因的85.7%、71.0%和73.9%，而仅占CSH病因的25.8%；HBV、HCV 和 HDV 混合感染占 CSH 病因的74.2%。

二、HBV、HCV和HDV混合感染与慢性肝病：

1.混合感染与CAH、LC和CSH的发生：不同感染者发生CAH、LC的频率彼此间均相差不显著（$P>0.05$）。单独HBV 感染者发生CSH的频率为9.3%，明显低于HBV与HCV（$P<0.01$），HBV与 HDV（$P<0.05$）及HBV与HCV、HDV混合感染者（$P<0.01$）；各类混合感染者发生CSH 的频率彼此间相差不显著（$P>0.05$），见表3。

表3　HBV、HCV和HDV混合感染与CAH、LC及CSH

	病例数	CAH	LC	CSH
HBV与HCV	19	3（15.8）	4（21.1）	11（57.9）
HBV与HDV	10	4（40.0）	2（20.0）	4（40）
HBV与HCV、HDV	8	0（0）	0（0）	8（100.00）
HBV	86	22（25.6）	17（19.8）	8（9.3）

注：括号内数字为发生率（%）

2.混合感染所致CSH患者的PT和TB：HBV与HCV、HBV与HDV及HBV与HCV、HDV混合感染所致CSH患者的PT和TB均明显高于单独HBV感染所致的CSH患者。不同类型混合感染所致CSH患者的PT和TB均相差不显著（$P>0.05$），见表4。

表4　慢重肝患者的PT、TB和病死率

病因	病例数	PT（s） $\bar{X}\pm SD$	TB（μmol/L） $\bar{X}\pm SD$	病死率（%）
HBV与HCV	11	30.1±7.3**	285.6±37.0**	81.8*
HBV与HDV	1	29.2±3.8*	272.8±13.6*	100.0*
HBV与HCV、HDV	8	32.5±4.9**	292.8±37.8**	87.5*
HBV	8	21.8±2.0	224.3±22.0	25.0

PT、TB均指此次实验抽血前、后二天内的检查结果。

** 表示与HBV组相比相差显著（$P<0.01$）

* 表示与HBV组相比相差显著（$P<0.05$）

3.混合感染与CSH患者的预后：31例CSH患者中死亡22例，病死率为71.0%。HBV与HCV、HBV与HDV及HBV与HCV、HDV混合感染所致CSH患者的病死率分别为81.8%（9/11）、100%（4/4）和87.5%（7/8），彼此间相差不显著（$P>0.05$）。单独HBV感染所致CSH患者的病死率为25%（2/8），明显低于上述各类混合感染所致的CSH患者（$P<0.05$），见表4。

讨　论

一、慢性肝病患者HBV、HCV和HDV的感染状况及其意义：发达国家的慢性肝炎和肝炎后肝硬化主要与HCV感染有关[1,2]，但我国台湾省的慢性肝炎和肝硬化主要与HBV感染有关[7,8]，HCV感染在HBsAg阴性肝病中起重要作用[2,7,8]。本研究ASC、CPH、CAH和LC患者的抗-HCV阳性率分别为3.6%、0、16.1%和17.4%，彼此间相差不显著，并明显低于发达国家报告的结果（42.2～56%）[1,2]，提示HCV感染在我国的慢性肝炎和LC中似不占重要地位，与台湾学者的研究结果一致[7,8]。慢性肝病患者血清HBVM阳性率为96.7%，单独HBV感染分别占CPH、CAH和LC病因的85.7%、71.0%和73.9%，说明我国的慢性肝炎和LC主要是由HBV单独感染所致。HBsAg阴性慢性肝病患者抗-HCV阳性率为61.5%，明显高于HBsAg阳性慢性肝病患者，表明HCV感染在HBsAg阴性肝病慢性化过程中仍具有一定作用。

Tador等[9]报告印度急性和亚急性肝衰竭患者的抗-HCV阳性率分别为43.2%和47.2%。Ohnishi等[10]报告日本急性肝衰竭患者的抗-HCV阳性率为77.8%，与我们的研究结果相

似。重庆地区CSH 患者的抗-HCV 阳性率为61.3%，明显高于ASC、CPH、CAH 和LC患者，说明HCV 感染可能与慢性肝病患者发生肝功能衰竭有关联。

HDV和HBV 混合感染是乙型肝炎病情恶化的重要原因[3]。本研究发现CSH患者HDVM阳性率为38.7%，明显高于ASC、CPH、CAH和LC患者，进一步证实HDV感染在慢性肝病重型化过程中起重要作用。

二、HBV、HCV和HDV 混合感染及其意义：在CSH患者中混合感染占74.2%，提示混合感染可能是慢性肝病患者发展成CSH的主要原因。不同混合感染者发生CSH的频率均高于单独HBV感染者，HBV 感染基础上混合感染HCV或HDV后易使HBV感染者发生肝功能衰竭。

血清TB和PT是反映重型肝炎肝损害程度的两个重要生化指标。TB越高、PT越长表明病情越严重。我们观察到不同混合感染所致CSH患者的PT和TB 均明显高于单独HBV感染所致的CSH患者，提示混合感染所致CSH 患者的病情比单独HBV感染者严重，混合HCV或HDV感染似可加重HBV感染者的肝损害。

国外研究表明抗-HCV阳性肝衰竭患者的死亡率高于抗-HCV 阴性者[10]。本研究发现不同混合感染所致CSH 患者的病死率明显高于单独HBV感染所致CSH患者，混合感染所致CSH患者的预后较差，证实HCV、HDV感染是影响CSH患者预后的重要因素。

不同混合感染之间的CSH发生率相差不显著，所致CSH患者之间的PT、TB及病死率也均相差不显著，说明三种肝炎病毒混合感染并不比两种肝炎病毒混合感染严重。

The Significance of Multiple Infections with HBV, HCV and HDV in Patients with Chronic Liver Diseases *Zhang Xuqing, et al., Department of Infectious Diseases, Southwest Hospital, The Third Military Medical College, Chongqing, 630038*

Serum samples from 127 patients with chronic liver diseases (CLD) were tested for HBV markers, anti-HCV and HDV markers by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The serum samples from some patients were detected for HCV-RNA by reverse transcription and polymerase chain reaction(RT-PCR) technique. The results showed that 85.7% of chronic persistent hepatitis (CPH), 71.0% of chronic active hepatitis (CAH) and 73.9% of liver cirrhosis (LC) were caused by HBV infection only. In 127 patients with CLD, 37 (29.1%) were multiple infections with HBV, HCV and HDV. The incidence of patients with chronic severe hepatitis (CSH) was significantly higher in multiple infections than in HBV infection only ($P<0.05$). 74.2% of CSH were caused by multiple infections. The average levels of serum bilirubin and prothrombin time in patients with CSH caused by multiple infections were significantly higher than those in patients caused by HBV infection only ($P<0.05$). The mortality rate of patients with CSH caused by multiple infections was significantly higher than that of cases by HBV infection only ($P<0.05$).

Based on our data, it is concluded that multiple infctions with HBV, HCV and HDV might be the major factor leading to the aggravation of CLD. The general condition and prognosis of patients with CSH caused by multiple infections were much worse than those of cases caused by HBV infection only. In China, HBV is a major agent of chronic hepatitis and liver cirrhosis.

Key words Chronic liver diseases Multiple infections HBV HCV HDV

参考文献

1 Tapias JMS, Barrera JM, Costa J, et al. Hepatitis C virus infection in patients with nonalcoholic chronic liver disease. Ann Intern Med, 1990, 112(4): 921～924.

2 Gaeta GB, Rapicetta M, Sardaro C, et al. Prevalence of antibodies in patients with chronic liver diseases and its relationship to

HBV and HDV infection. Infection, 1990, 18 (5): 277～279.

3 Bernuau J, Goudeau A, Poynard T, et al. Multivariate analysis of prognostic factors in fulminant hepatitis B. Hepatology, 1986, 6(4): 648～651.

4 Tao QM, Wang Y, Wang H, et al. Investigation of anti-HCV in 391 serum samples in China. Chin Med J, 1990, 103 (8): 616～618.

5 买凯，金志宏，熊诗松，等. 我国部分地区δ型肝炎调查研究. 中华流行病学杂志，1989，10 (1): 21～23.

6 郝飞，李梦东，陈国致，等. 丙型肝炎病毒感染血清学诊断的研究. 中国科学技术协会首届青年学术年会四川卫星会议论文集（下册）. 成都科技大学出版社，1992. 183～187.

7 Lee SD, Wang YJ, Lin HC, et al. Prevalence of anti-HCV among chinese patients with acute and chronic liver disease. J Gastroenterol Hepaterol, 1992, 7 (2): 113～116.

8 Chen DS, Kuo GC, Sung JL, et al. Hepatitis C virus infection in an area hyperendemic for hepatitis B and chronic liver disease: The Taiwan experience. J Infect Dis, 1990, 162 (4): 817～821.

9 Tandon BN, Irshad M, Acharya SK, et al. Hepatitis C virus infection is the major cause of severe liver disease in India. Gastroenterol Jpn, 1991, 26 (Suppl 3): 192～195.

10 Ohnishi H, Sigihara J, Moriwaki H, et al. Detection of anti-hepatitis C virus antibody in fulminant hepatic failure. Gastroenterol Jpn, 1991, 26 (Suppl 3): 212～215.

（收稿：1992-12-15　修回：1993-02-08）

指尖滤纸血片法与静脉血法在检测HIV-1抗体中的比较

李祖正[1]　寇静冬[1]　程何荷[1]　苏明华[2]　段　松[3]　刘文华[3]　杨映荃[2]　张家鹏[1]

选择云南省某边境县戒毒所内吸毒者103人（其中包括24名已知HIV感染者）进行详细个案登记。常规消毒后同时采集静脉血和指尖滤纸血，前者分离血清，后者置滤纸血片于清洁试管内风干，两者均低温贮存待检。

滤纸片采用日本产4mm×28mm滤纸片，每次试验剪下血纸片的1/4加入磷酸盐缓冲液中连续振摇2小时，取洗脱液检测。凝集试验采用日本产BP00606明胶颗粒试剂盒。酶联免疫试验采用英国Wellcome公司产K296810试剂盒。蛋白印迹试验采用Bio-Rad公司产9711669试剂盒

对两种方法采集的血标本统一使用PA和ELISA分别在1、4、15周时进行重复检测。凡首次筛出的阳性标本均重复试验，重复阳性者再用WB法确证，证实阳性者定为HIV感染者，并观察WB法检测已知阳性的滤纸血时，各蛋白带型的敏感性在1周及15周时是否一致。

对24例已知HIV阳性者的血清与滤纸血洗脱液同时用PA及ELISA进行检测比较，结果全部吻合一致，均显示阳性；70例吸毒者经PA、ELISA检测后，滤纸血洗脱液与对应的血清均出现11份阳性反应，结果吻合，经WB确证该11例均为HIV感染者。

将103份滤纸血与相应的血清作对照，在1、4、15周时作重复检测后得知，干燥的滤纸血片在放置达15周时并不会因贮存期的延长而影响HIV抗体的检测结果。

用WB法对35例HIV阳性者的血清及滤纸血分别在1周和15周时进行两次特异蛋白带型的检测比较后结果显示，血清标本的各特异蛋白带型均吻合一致，滤纸血的蛋白带型在1周和15周时除相同的2份P24显示不清外，其余带型均同血清标本吻合一致。

上述结果表明，采用滤纸片法替代血清法进行HIV抗体检测是完全可行的，此法采血量少，易被人群接受，且易于运输贮存，因此适用于边远地区人群HIV感染状况的监测工作。

（收稿：1991-12-21）

1 云南省卫生防疫站　650022 昆明市

2 瑞丽县卫生防疫站

3 德宏州卫生防防站