

表 1 肝硬化组和对照组肝功能指标检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	CHE (U/L)	CHO (mmol/L)	ALB (g/L)	TBA ( $\mu$ mol/L)
肝硬化组	138	2 990±756	2.9±0.5	31.7±6.4	41.98±11.53
对照组	138	8 236±934	4.3±1.9	45.9±1.7	5.3±3.6
t		51.286	8.370 9	25.090	35.673
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表 2 不同 Child-Pugh 分级患者肝功能指标检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	CHE (U/L)	CHO (mmol/L)	ALB (g/L)	TBA ( $\mu$ mol/L)
Child A	48	2 287.0±956.0 $\Delta$	3.9±1.5 $\Delta$	35.7±6.4	13.8±4.5 $\Delta$
Child B	32	1 734.0±324.0*	2.3±0.9*	31.9±3.7	45.3±23.6*
Child C	58	1 230.0±124.0	2.1±0.7	28.9±1.7	95.3±37.3

$\Delta$ :  $P < 0.05$ , 与 Child B 和 Child C 级患者比较; \* :  $P < 0.05$ , 与 Child C 级患者比较。

### 3 结 论

在我国肝硬化发生的主要原因是乙型肝炎病毒感染<sup>[5]</sup>。肝硬化患者在住院期间均进行常规肝功能检测,根据检测结果制订治疗方案。本研究发现肝硬化组 CHE、CHO、ALB 水平均明显低于对照组,TBA 水平高于对照组,说明肝硬化患者的肝细胞受到损坏。Child-Pugh 分级标准是临床上常用于对肝硬化患者肝脏储备功能进行量化评估的分级标准<sup>[6-7]</sup>。本研究发现不同 Child-Pugh 分级患者,肝功能指标比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

综上所述,CHE、CHO、ALB、TBA 水平与肝脏实质受损有关,可反映肝硬化严重程度<sup>[8-10]</sup>。本研究对肝硬化患者肝功能指标进行了分析,但例数较少,还需要进一步完善研究方案,

• 经验交流 •

积累更多的循证医学证据,指导临床实践<sup>[11]</sup>。

### 参考文献

- [1] 李江菊,王彬,李华. 综合治疗肝硬化失代偿期 36 例临床分析[J]. 中国初级卫生保健,2010,24(5):105.
- [2] 张薇薇,袁学华,袁选举,等. 盐酸普萘洛尔、螺内酯联合安络化纤丸治疗代偿期肝炎肝硬化 60 例临床观察[J]. 临床消化病杂志,2010,22(1):52-53.
- [3] 黄英男,吴吴,沈锡中. 乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗研究进展[J]. 世界临床药物,2012,33(9):519-522.
- [4] 姜绯. 临床实验室检查结果解读——肝功能检验项目及临床意义[J]. 中国实用乡村医生杂志,2008,15(10):18-21.
- [5] 罗晓雅,张玲,毛建娜,等. 中国北方地区肝硬化及肝癌患者乙型肝炎病毒基因型及亚型分析[J]. 临床荟萃,2009,24(10):844-847.
- [6] 朱为伟,王炳芳,戴娜,等. 血清胆碱酯酶与肝硬化 Child-Pugh 分级的关系研究[J]. 中国误诊学杂志,2010,10(11):2521-2522.
- [7] 唐宁,左萍,尹世玉,等. 生理性抗凝物判断乙型肝炎肝硬化及其严重程度的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志,2012,27(5):38-44.
- [8] 叶萍. 肝功能检查对治疗肝硬化的临床作用[J]. 中外医学研究,2011,9(31):43-44.
- [9] 段正军,段生寿,徐杰,等. 血清总胆汁酸与肝脏功能酶学指标联合检测在肝脏疾病诊断中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(5):612-613.
- [10] 曹立,孙华宝. 联合检测血清肿瘤标志物对肝癌诊断的价值[J]. 山东医药,2012,52(29):14-16.
- [11] 宋伟泉,徐尧江,张要栋,等. 拉米夫定联合阿德福韦酯与恩替卡韦单药治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化 2 年疗效比较[J]. 中国临床感染病杂志,2012,5(3):137-141.

(收稿日期:2013-12-10)

## HIV/HCV 合并感染者 HCV 基因分型特点及流行情况分析

张淑琼<sup>1</sup>,汪亚玲<sup>2</sup>,李晓非<sup>1</sup>,王丽萍<sup>2</sup>,刘红伟<sup>1</sup>

(昆明市第三人民医院:1. 检验科;2. 重症医学科,云南昆明 650041)

**摘要:**目的 分析昆明地区人类免疫缺陷病毒/丙型肝炎病毒(HIV/HCV)合并感染者 HCV 基因型分布特点及流行情况,为 HIV/HCV 合并感染者抗病毒治疗提供合适的治疗方案。方法 收集 2011 年 9 月至 2013 年 9 月昆明市第三人民医院 HIV 确认阳性且合并感染 HCV 的住院患者 134 例为研究对象,收集相关临床资料及标本进行 HCV 基因分型。结果 共分出 5 种基因型,分别为:1b、2a、3b、3a、6a,未分出亚型。其中 3b 型占 32.84%,6a 型占 20.15%,1b 型占 14.18%,3a 型占 9.70%,2a 型占 3.73%,26 例未分型占 19.40%。结论 昆明地区 HIV/HCV 合并感染者 HCV 基因分型以 3b 型为主,6a 型次之;感染途径以注射吸毒为主。

**关键词:**人类免疫缺陷病毒/丙型肝炎病毒合并感染; 基因型; 调查

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.07.057

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)07-0920-03

我国艾滋病感染率呈上升趋势,局部地区和重点人群已经呈现高流行趋势<sup>[1]</sup>。人类免疫缺陷病毒(HIV)和丙型肝炎病毒(HCV)具有相同的传播途径,主要是经过血液、性接触、母婴垂直传播、注射吸毒等途径。HIV/HCV 混合感染后,HIV

将影响 HCV 自然清除率、肝纤维化水平,使肝硬化、肝脏失代偿、肝细胞癌提早发生<sup>[2]</sup>。随着艾滋病感染率上升,近年来 HIV/HCV 合并感染率也逐年增加。为了解本地区人群 HCV 基因分布和流行情况,作者对本院近两年来收集的 134 例相关

人员样本进行分析,为 HIV/HCV 合并感染者抗病毒治疗提供合适的治疗方案。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 收集本院 2011 年 9 月至 2013 年 9 月间 HIV 确认阳性且合并感染 HCV 的 134 例住院患者的血清样本进行基因分型检测。样本经 1 500 r/min 离心 5 min,吸取上层血清放-70 ℃ 保存,收集的样本每 6 个月检测一次。

**1.2 仪器与试剂** 仪器:Applied Biosystems-2720 Thermal Cycler PCR 扩增仪;试剂:采用中山大学达安基因股份有限公司生产的丙型肝炎病毒基因分型检测试剂盒(PCR-反向点杂交法)和质控品。

**1.3 HCV 基因分型测定** 针对 HCV 基因组 5'非编码区(5'-UTR)和核心蛋白基因区(C),设计特异性引物和探针,采用 PCR-反向点杂交法进行检测。引物和探针均由达安基因诊断中心协助合作完成。HCV 基因分型过程中严格按照试剂说明书要求进行检测。

**1.3.1 RNA 提取** 检测前需将病毒裂解液与 Carrier RNA 充分混匀备用,每次检测均必须带阴阳性质控品。样本处理:取灭菌的 1.5 mL 离心管,加入 50 μL RNA 蛋白酶 K,再取 200 μL 血清,再加入 200 μL 病毒裂解液(已含 Carrier RNA),振荡混匀,高速离心 10 s,72 ℃ 放置 10 min,同时将洗脱液置于 72 ℃ 预热备用。

**1.3.2 RT-PCR 扩增** 根据需用量,取 HCV-PCR 反应管若干,分别在管壁加入标本和阴阳性质控品的 RNA 各 30 μL,瞬时离心,将各反应管放入 PCR 仪,按下述条件扩增:50 ℃ 逆转录 25 min,95 ℃ 15 min 预变性,然后按(94 ℃ 30 s→55 ℃ 40 s→72 ℃ 45 s)×45 个循环扩增,最后 72 ℃ 延伸 7 min。

**1.3.3 杂交反应** 按试剂说明书配制杂交前试剂,随后进行杂交,洗膜,显色及扫描。

**1.3.4 结果分析** 严格质控标准,参照达安膜条斑点识别分析系统说明书进行。

**2 结果**

**2.1 134 例 HIV/HCV 合并感染人群 HCV 基因分型** 134 例 HIV/HCV 合并感染人群 HCV 基因分型分别为 1b、2a、3b、3a、6a 5 型。其中 3b 型 44 例(占 32.84%),6a 型 27 例(占 20.15%),1b 型 19 例(占 14.18%),2a 型 5 例(占 3.73%),3a 型 13 例(占 9.70%),有 26 例未分出基因型,均为阴性。

**2.2 感染途径** 134 例 HIV/HCV 合并感染者中,注射吸毒 103 例(占 76.86%),同性恋 17 例(占 12.69%),冶游史 13 例(占 9.70%),其他 1 例(占 0.75%)。见表 1。

表 1 134 例 HIV/HCV 合并感染人群感染途径

感染途径	n	构成比(%)
注射吸毒	103	76.86
同性恋	17	12.69
冶游史	13	9.70
其他	1	0.75

**2.3 134 例 HIV/HCV 合并感染者基本情况** 134 例 HIV/HCV 合并感染者中,20 岁及以下 1 例(占 0.75%),>20~40 岁 68 例(占 50.74%),>40~60 岁 49 例(占 36.57%),>60 岁以上 16 例(占 11.94%)。男性 89 例(占 66.42%),女性 45

例(占 33.58%)。未婚 81 例(占 60.45%),已婚 42 例(占 31.34%)。有职业人数 82 例(占 61.19%),待业人数 50 例(占 37.32%),学生 2 例(占 1.49%)。见表 2。

表 2 134 例 HIV/HCV 合并感染者基本情况

一般特征	n	构成比(%)
年龄(岁)		
≤20	1	0.75
>20~40	68	50.74
>40~60	49	36.57
>60	16	11.94
性别		
男	89	66.42
女	45	33.58
婚姻状况		
未婚	81	60.45
已婚	42	31.34
不祥	11	8.21
职业		
有职业	82	61.19
学生	2	1.49
待业	50	37.32

**3 讨论**

随着我国艾滋病感染率的上升,HIV/HCV 合并感染者也日益增加。据报道,国内 HIV 感染者中,HIV/HCV 合并感染率为 55.81%~86.3%<sup>[3-4]</sup>,HIV 感染加大了 HCV 的感染概率,且限制了临床治疗和预后<sup>[5]</sup>,因此对 HCV 进行基因分型,了解该人群 HCV 流行情况,为 HIV/HCV 合并感染人群监测和合理抗病毒治疗提供重要依据。

有研究报道,不同地区 HCV 基因型分布有所差异,我国大部分地区流行的 HCV 基因型以 1b 型为主,其次为 2a 型<sup>[6]</sup>。而本研究结果显示,昆明地区 HCV 基因分型以 3b 型(32.84%)为主,6a 型(20.15%)次之,其次是 1b 型(14.18%),3a 型(9.70%),2a 型(3.73%),与上述报道不太一致,也有别于李峥等<sup>[7]</sup>云南省丙型肝炎病毒基因的分型以 1b 型为主的报道,造成这种差异的原因可能是因为 HCV 合并感染 HIV 之故;还有可能是近几年感染途径的变化、性道德观念的改变以及人口流动的增加。另有 26 例未分出基因型,可能是本次调查未涉及到其他的基因型,也可能是污染或其他技术问题,有待进一步研究。

HIV/HCV 合并感染中,HCV 的基因型分布与传播途径相关,本研究 134 例 HIV/HCV 合并感染人群中,以注射吸毒为主要感染途径(占 76.86%),同性恋占 12.69%,冶游史占 9.70%,其他 1 例(占 0.75%)。注射吸毒、手术、外伤、输注血液制品、性接触等传播途径是传染丙型肝炎的高危行为<sup>[8]</sup>,HIV 也具有相同的传播途径,应尽可能避免。

HCV 的不同基因型能影响抗病毒治疗的效果<sup>[9]</sup>。HCV 感染后,临床表现轻重程度与所感染基因型有一定关系,尤其对肝硬化、肝细胞癌影响更大。对 HIV/HCV 合并感染者进

行治疗前,还应当根据临床指征来选择治疗时机,确定治疗疾病的优先级。治疗前对 HIV/HCV 合并感染者进行 HCV 基因分型对于流行病学调查和临床诊断、治疗方案的选择和预后的判断以及丙型肝炎发病机制的研究具有重要意义<sup>[10]</sup>。

## 参考文献

- [1] 杨绍基,任红,李兰娟,等. 传染病学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社,2008:114-115.
- [2] Arends JE, Boucher CA, Hoepelman AI, et al. Hepatitis C virus and human immunodeficiency virus co-infection; where do we stand? [J]. Neth J Med, 2005, 63(5):156-163.
- [3] 刘震,邢文革,张永红,等. 即往有无偿献血(浆)人群中艾滋病毒与丙型肝炎病毒共感染研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14(6):464-465.
- [4] 邵红,彭红,田永芳,等. 静脉吸毒人群 HIV/HBV/HCV 混合感染分析[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(8):967-968.

## • 经验交流 •

- [5] 安明晖,韩晓旭,刘静,等. 中国部分地区 HIV 阳性男男性行为者合并 HCV 感染状况及其自然清除率调查[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(1):15-17.
- [6] 魏来,杨瑞峰. 丙型肝炎病毒实验室诊断的现状与存在的问题[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(8):845-848.
- [7] 李峥,高玉红,台虹,等. 云南省丙型肝炎病毒基因的分型[J]. 中华传染病杂志, 2007, 25(4):246-247.
- [8] 谢青,董志霞,项晓刚. 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒共感染的临床特征和治疗[J]. 内科理论与实践, 2009, 4(2):92-96.
- [9] 刘剑荣,黄永健,夏洪娇,等. 丙型肝炎基因型分布特点及流行病学分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(12):1347-1348.
- [10] 黄艳秋,史昌河. 丙型肝炎病毒基因分型及临床意义[J]. 青岛大学医学院学报, 2012, 48(5):468-470.

(收稿日期:2013-12-12)

# 甲型 H1N1 流感患者外周血 T 淋巴细胞亚群检测分析

王 芳,张柏梁

(铁岭卫生职业学院,辽宁铁岭 112008)

**摘要:**目的 探讨甲型 H1N1 流感患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化及临床意义。方法 采用流式细胞仪对 40 例甲型 H1N1 流感患者,63 例普通流感患者,20 例健康体检者的外周血 T 淋巴细胞亚群进行检测。结果 甲型 H1N1 流感患者 CD3<sup>+</sup>T 细胞水平明显低于普通季节性流感患者( $P=0.001$ )和健康对照组( $P=0.001$ ),普通季节性流感患者 CD3<sup>+</sup>T 细胞水平也明显低于健康对照组( $P=0.019$ )。甲型 H1N1 流感患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞明显低于普通季节性流感患者( $P=0.001$ )和健康对照组( $P=0.001$ ),普通季节性流感患者 CD4<sup>+</sup>T 细胞明显低于健康对照组( $P=0.008$ )。甲型 H1N1 流感患者 CD8<sup>+</sup>T 细胞显著低于普通季节性流感患者( $P=0.020$ )和健康对照组( $P=0.001$ ),普通季节性流感患者 CD8<sup>+</sup>T 细胞与健康对照组比较差异无统计学意义( $P=0.052$ )。结论 甲型 H1N1 流感患者的淋巴细胞及亚群均受到不同程度的损伤,造成免疫功能减低。

**关键词:**甲型流感; T 淋巴细胞; 细胞免疫

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.07.058

**文献标识码:**B

**文章编号:**1673-4130(2014)07-0922-02

甲型 H1N1 流感是由新型甲型 H1N1 流感病毒株所引起的一种新型呼吸道传染病,疫情自 2009 年 3 月在墨西哥爆发,迅速在全球范围内蔓延。该病的传染性比普通季节性流感强,高危人群出现流感样症状后,较易发展为重症病例<sup>[1]</sup>,其中部分患者迅速发展至急性呼吸窘迫综合征(ARDS),病死率较高<sup>[2]</sup>。国外学者也认为甲型 H1N1 流感患者的主要死因是 ARDS,需要应用中小剂量糖皮质激素进行治疗<sup>[3-4]</sup>。由于激素使用的时机和剂量直接影响着患者的预后,如使用不当会导致患者自身免疫力受损,进而削弱后续治疗的作用,加快病毒复制,导致不必要的死亡。因此及时、有效检测甲型 H1N1 流感患者外周血细胞免疫水平,对普通季节性流感和甲型 H1N1 流感患者的鉴别诊断和指导临床用药具有重要意义。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** (1)甲型 H1N1 流感患者( $n=40$ ):2009 年 10~11 月期间本院急诊科收治的经咽拭子 PCR 检测阳性的临床确诊病例;男性 31 名,女性 9 名;平均年龄 41 岁(18~62 岁)。(2)普通季节性流感患者( $n=63$ ):2010 年 11~2011 年 1 月就诊于本院急诊的普通季节性流感患者;男性 39 名,女性 24 名;平均年龄 56 岁(18~86 岁);部分患者仅表现为咳嗽、发热等一般流感症状,部分患者有肺炎表现。(3)健康对照组

( $n=20$ ):2010 年 11~12 月来本院进行健康体检者,选取与上述两组患者年龄、性别相匹配者;男性 11 名,女性 9 名;平均年龄 45 岁(18~84 岁)。

## 1.2 方法

**1.2.1 标本制备** 8 h 内采集的乙二胺四乙酸三钾抗凝的新鲜血液。采血后立即颠倒混匀数次,将血液与抗凝剂混匀,以防止凝固,并于室温保存。

**1.2.2 主要试剂和仪器** 三色标记的抗体试剂盒 MultiTEST[含单抗 CD3FITC/CD8PE/CD4PerCP 和 FACS(10×)溶血素]和绝对计数管购于美国 BD 公司。FACS Calibur 流式细胞仪也购自美国 BD 公司,配有 635 nm 和 488 nm 激光管,并能检测前向及侧向角。应用 CaliBRITE™ 磁珠及 FAC-SCOMP™ 软件校准仪器,MultiSET™ 软件获取及自动分析检测结果。

**1.2.3 抗体标记** 取 20  $\mu$ L MultiTEST 试剂置于绝对计数管底,加入 50  $\mu$ L 充分混匀的抗凝全血,在避光、室温的环境下孵育 15 min 后加入 45  $\mu$ L 1×FACS 溶血素,再次孵育。标本于 24 h 内上机分析。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,三组间两两比较采用方差分析,以  $P <$