

输血后HCV感染血清病毒含量及基因型与临床转归的关系

陈红梅, 万华, 于敏, 田秀兰, 魏来, 徐小元

陈红梅, 西藏大学医学院传染病教研室 西藏拉萨市 850000
万华, 于敏, 田秀兰, 许小元, 北京大学第一医院感染疾病科 北京市 100034
魏来, 北京大学第二医院肝病研究所 北京市 100038
陈红梅, 女, 1969-11-14 生, 河南省开封市人, 汉族. 1992 年西藏民族学院医学系本科毕业, 2003 年北京大学医学部硕士研究生毕业, 讲师. 主要从事传染病的临床研究.
国家“十五”攻关课题资助, No.2001BA705B06
项目负责人: 许小元, 100034, 北京市, 北京大学第一医院感染疾病科.
收稿日期: 2003-08-23 接受日期: 2003-12-16

Relationship between HCV RNA quantities and HCV genotypes and the outcome of patients with posttransfusion hepatitis C virus infection

Hong-Mei Chen, Hua Wan, Min Yu, Xiu-Lan Tian, Lai Wei, Xiao-Yuan Xu

Hong-Mei Chen, Department of Infectious Diseases, Medical College of Tibet University, Lhasa 850000, Tibet, China
Hua Wan, Min Yu, Xiu-Lan Tian, Xiao-Yuan Xu, Department of Infectious Diseases, Beijing University First Hospital, Beijing 100034, China
Lai Wei, Hepatological Research Institution, Beijing University Second Hospital, Beijing 100038, China
Supported by National Tackling Item in the National Tenth Five-Year-Plan No.2001BA705B06
Correspondence to: Dr. Xiao-Yuan Xu, Department of Infectious Diseases, Beijing University First Hospital, Beijing 100034, China.
Received: 2003-08-23 Accepted: 2003-12-16

Abstract

AIM: To investigate the relationship between HCV RNA quantities and HCV genotypes and the outcome of patients with posttransfusion HCV infection in China.

METHODS: A total of 314 cases infected with HCV in Hebei province were enrolled. Their clinical manifestations were recorded and sera detected for liver enzymes, as well as virus markers. The B-type ultrasound was performed for examination of liver, spleen and gall bladder. In virus markers, HCV RNA was detected with fluorescence-quantitative polymerase-chain-reaction, HCV genotypes were determined by RFLP method.

RESULTS: After HCV infection, 132 (57.6%) of the 229 cases that were detected for HCV RNA still had detectable HCV RNA in their blood and the infection had cleared spontaneously in 97 cases (42.4%). None of 314 cases complained of any sign at present, and abnormal ALT was observed in 40.2%. Positive relation was observed between HCV RNA load and ALT ($r = 0.346$, $P < 0.001$). The serum HCV RNA load and ALT in patients with HCV- II infection was significantly higher than that in patients with HCV- III infection ($P < 0.001$).

Male gender had higher chronic infection rate than female (infection rate at present, 66.7% vs 50.4%).

CONCLUSION: Higher spontaneous HCV clear rate after infection is observed. The clinical course of chronic HCV infection seems obscure and is often accompanied with mild to moderate elevated ALT/AST. The serum HCV RNA load and ALT in patients with HCV- II infection is significantly higher than that in patients with HCV- III infection. Male gender may have worse clinical outcomes.

Chen HM, Wan H, Yu M, Tian XL, Wei L, Xu XY. Relationship between HCV RNA quantities and HCV genotypes and the outcome of patients with posttransfusion hepatitis C virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(6):1299-1302

摘要

目的: 了解我国输血后HCV感染病毒含量及基因型与疾病转归的关系。

方法: 对河北省某农村314例单采浆献血员HCV感染后的现状调查, 包括临床表现、血清肝酶、病毒学标志检测以及B型超声检查, 其中, HCV RNA的测定采用荧光定量PCR方法, HCV基因分型采用5'端非编码区限制性酶切长度多态性分析。

结果: 本调查组HCV感染的慢性化率为57.6%, 自然阴转率为42.4%。314例感染者目前几乎均无症状, 总的ALT的异常率为40.2%。HCV RNA含量变化与ALT水平高低呈正相关性($r = 0.346$, $P < 0.001$)。HCV基因II型感染者HCV RNA含量和血清ALT均显著高于HCV基因III型感染者($P < 0.001$)。男性感染者的慢性化率高于女性感染者(66.7% vs 50.4%)。

结论: 本组输血后HCV感染自然阴转率较高, 慢性HCV感染表现隐匿, 肝酶学检查指标大多轻度到中度异常。HCV基因II型感染者HCV RNA含量和血清ALT均显著高于HCV基因III型感染者。男性感染者的慢性化率高于女性感染者。

陈红梅, 万华, 于敏, 田秀兰, 魏来, 徐小元. 输血后HCV感染血清病毒含量及基因型与临床转归的关系. *世界华人消化杂志* 2004;12(6):1299-1302
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1299.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)感染在我国常见^[1-12], 常引起急慢

性肝炎和肝硬化^[10-14], 甚或诱发癌变^[15-18]. HCV 基因型的分布随地区而异, 且有重要临床意义. 有报道 HCV 基因型与疾病严重性、治疗应答、感染转归等有关^[1-3]. 不同的 HCV 基因型所致疾病的严重程度不同, 某些基因型可能会引起较严重的肝细胞损伤^[4]. 我们应用限制性内切酶技术对河北省 A 县和 B 县 314 例输血后丙型肝炎感染者进行 HCV 基因分型, 观察其与病毒含量及临床转归的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 河北省 A 县 1977/1990 年和 B 县 1974/1995 年在单采血浆还输血细胞的献浆员(简称单采浆献血员)中发生非甲非乙型肝炎, 确认为 HCV 感染 137 例和 177 例. 男 62 vs 83 例, 女 75 vs 94 例; 年龄 46.4 ± 8.3 vs 46.1 ± 11.5 岁; 平均感染时间 18.2 ± 3.8 vs 14.6 ± 3.8 a. 基因分型引物合成: 北京赛百盛生物工程公司. 外引物: 上游引物: (OS) 5' -CTG TGA GGA ACT ACT GTC TT-3'; 下游引物: (OA) 5' -AAC ACT ACT CGG CTA GCA GT-3'. 内引物: 上游引物: (IS) 5' -TTC ACG CAG AAA GCG TCT AG-3'; 下游引物: (IA) 5' -GTT GAT CCA AGA AAG GAC CC-3'. Hae III: 华美生物工程公司.

1.2 方法 采用个案问卷调查方法. 根据 A 县 1991 年和 B 县 1992/1993 年调查中文字记载的 HCV 感染者名单, 与 A 县 137 例和 B 县 177 例 HCV 感染者签署知情同意书, 均由 3 名调查员对感染者逐一询问调查, 调查内容包括开始参加单采浆时间、发现感染的时间、临床症状和体征等, 对其中 A 县 123 例 HCV 感染者由 2 名专科医师进行肝、胆、脾和胰等 B 型超声波检查和诊断. 其后采集其外周静脉血 5 mL, 分离血清测定各种生物化学指标, 部分置 -80 °C 保存, 统一测定 HCV RNA 和 α FP. 病毒性肝炎以及 B 型超声波诊断分度, 均参照中华医学会肝病学会, 病毒性肝炎和肝病学术会议于 2000-09 联合修订的“病毒性肝炎防治方案”^[19]. 血清 HCV RNA 定量采用中山医科大学达安生物工程公司生产的逆转录-实时定量 PCR 检测试剂盒, 取 PCR 反应管加入处理后样品 2 μ l, 6 000 rpm/min 离心数秒, 按下列条件扩增: 93 °C \rightarrow 2 min 预变性, 然后按 93 °C 30 s \rightarrow 55 °C 60 s, 反应 10 个循环, 93 °C 30 s \rightarrow 55 °C 45 s 扩增 30 个循环, 结果判定参考说明书. 采用酚氯仿提取法提取血清 RNA. 然后逆转录产物进行 PCR: 第 1 次 PCR: 采用外引物的上下游引物. 反应条件: 94 °C 2 min, 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s, 30 个循环, 72 °C 7 min. 第 1 次 PCR 产物为 221 bp. 第 2 次 PCR: 采用内引物的上下游引物. 反应条件: 94 °C 2 min, 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s, 30 个循环, 72 °C 7 min. 第 2 次 PCR 产物为 145 bp. 再酶切分型: 37 °C 2 h. 最后进行电泳: 20 g/L 琼脂糖电泳, 凝胶成像仪分析电泳条带, 大于 100 bp 为 II /1b 型, 小于 100 bp 为 III /2a 型. 基因分型采用 HCV 5' 端非编码区限制性酶切长度多

态性分析^[5], 对其中 A 县 86 例和 B 县 46 例 HCV RNA 阳性者进行了基因分型(图 1). HCV RNA 定量检测及基因分型均无内参照, 也无阴阳性对照.

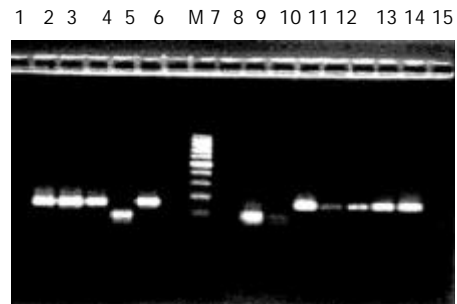


图 1 HCV 基因分型. Marker: 100 ladder DNA Marker, 由小到大依次为 100、200、300、400、500、600 bp; 1, 2, 3, 5, 10, 11, 12, 13, 14 为 II 型; 4, 8, 9, 15 为 III 型; 6, 7 未分出型; M 为 100 bp 梯度 Marker(其中最亮的条带为 500 bp).

统计学处理 mean \pm SD 和 t 检验用于 HCV RNA 含量变化与 ALT 异常关系的比较、HCV 基因型与血清 HCV RNA 含量及血清 ALT 的关系的比较; spearman 相关分析用于 HCV RNA 含量变化与血清 ALT 水平高低的相关性检验, 均采用 SPSS10 软件处理.

2 结果

2.1 HCV 感染规律 追踪 A 县 12-25 a 和 B 县 8-28 a 慢性肝炎的现患率. A 县 137 例中有 127 例和 B 县 177 例中有 102 例测定了 HCV RNA, 其中 A 县阳性者 86 例、B 县阳性者 46 例, 阳性率分别为 67.7%(86/127)和 45.1%(46/102). 因此, 这两组人群感染 HCV 后 12-25 a 和 8-28 a 时 HCV 感染的慢性化率分别为 67.7%和 45.1%, 而两组人群的自然阴转率分别为 32.3%(41/127)和 54.9%(56/102), 两组人群合并后总的 HCV RNA 自然阴转率为 42.4%. 另将 HCV RNA 含量变化与 ALT 异常的关系做比较, 结果随着血清 HCV RNA 滴度的增高, ALT 的异常率及平均值也随之增加(表 1). 在此调查中, 分别

表 1 A、B 县 HCV RNA 含量变化与 ALT 异常的关系

HCV RNA(拷贝/L)	n	ALT 异常		
		n	%	平均值(nkaf/L)
<10 ⁷	27	6	22.22	491
10 ⁷ -10 ⁸	63	24	38.10	818
>10 ⁸	42	23	54.76	840

对 A 县、B 县组及两组人群共同 HCV RNA 含量变化与 ALT 水平高低比较, 结果显示, A 县组 HCV RNA 含量变化与 ALT 水平高低呈正相关(r =0.390, P <0.001); B 县组 HCV RNA 含量变化与 ALT 水平高低无明显相关性(r =0.096, P =0.542), 此结果可能因 B 县组 HCV RNA >10⁸ 人数仅 5 人, 人数太少的缘故; 而两组人群合并后的 HCV RNA 含量变化与 ALT 水平高低呈正相关性

($r=0.346$, $P<0.001$). 结果提示, 血清HCV RNA含量变化与ALT水平的高低呈正相关性, 即随着血清HCV RNA含量的增高, ALT水平也随之增高.

2.2 HCV基因型与血清HCV RNA含量的关系 A县86例HCV RNA阳性患者中血清HCV基因II型感染者为76.7%(66/86); 血清HCV基因III型感染者为5.8%(5/86); 血清HCV基因未分型感染者为17.4%(15/86). 将不同基因型感染者的血清HCV RNA含量(拷贝/L)进行比较, 显示HCV基因II型感染者HCV RNA含量 108.79 ± 0.95 显著高于HCV基因III型感染者 107.08 ± 1.02 ($P<0.01$). B县46例HCV RNA阳性患者中血清HCV基因II型感染者为54.4%(25/46); 血清HCV基因III型感染者为37.0%(17/46); 血清HCV基因未分型感染者为8.7%(4/46). 将不同基因型感染者的血清HCV RNA含量(拷贝/L)进行比较, 显示HCV基因II型感染者HCV RNA含量 108.14 ± 0.82 显著高于HCV基因III型感染者 108.01 ± 1.12 ($P<0.01$). A县86例和B县46例HCV RNA阳性患者中血清HCV基因II型感染者为68.9%(91/132); 血清HCV基因III型感染者为16.7%(22/132); 血清HCV基因未分型感染者为14.4%(19/132). 将不同基因型感染者的血清HCV RNA含量(拷贝/L)进行比较, 显示HCV基因II型感染者HCV RNA含量 108.61 ± 0.96 显著高于HCV基因III型感染者 107.80 ± 1.14 ($P<0.001$).

2.3 HCV基因型与血清ALT的关系 A县86例HCV RNA阳性患者中HCV基因II型感染者与HCV基因III型感染者进行血清ALT(nkaf/L)比较, 显示HCV基因II型感染者血清ALT(893 ± 728)显著高于HCV基因III型感染者(813 ± 709) ($P<0.01$). B县46例HCV RNA阳性患者中HCV基因II型感染者与HCV基因III型感染者进行血清ALT比较, 显示HCV基因II型感染者血清ALT与HCV基因III型感染者无显著性差异($P>0.05$). 此与B县组HCV基因II型感染者与HCV基因III型感染者分布比例无明显差异有关. A县86例和B县46例HCV RNA阳性患者中HCV基因II型感染者与HCV基因III型感染者进行血清ALT(nkaf/L)比较, 显示HCV基因II型感染者血清ALT显著高于HCV基因III型感染者 855 ± 681 vs 744 ± 973 nkaf/L ($P<0.01$).

3 讨论

本次调查选择河北省A县和B县HCV感染后未经抗病毒治疗的人群, 部分反映我国人群HCV感染后的自然演变规律. HCV RNA在感染人群血中含量较低^[6]. 日本丙型肝炎患者血清中HCV RNA含量在 1×10^7 - $1 \times 10^{12.5}$ 拷贝/L^[7], 而国内在 1×10^8 - $1 \times 10^{12.2}$ 拷贝/L、 1×10^7 - 1×10^{10} 拷贝/L不等^[8-9], 本组为 1×10^5 - 1×10^{11} 拷贝/L, 略低于文献报道. 河北省两县结果提示, 随着血清HCV RNA滴度的增高, ALT的异常率及平均值也随之增加. 血清HCV RNA含量与ALT水平呈正相关($r=0.346$, $P<0.001$). 此与多数文献报道一致^[20-23].

HCV基因型与疾病的严重性、治疗应答、感染转归等有关^[1-3]. 河北省两县HCV RNA阳性感染者132例中, 血清HCV基因II型感染者为68.9%(91/132); 血清HCV基因III型感染者为16.7%(22/132); 血清HCV基因未分型感染者为14.4%(19/132). 将不同基因型感染者的血清HCV RNA含量进行比较, 显示HCV基因II型感染者HCV RNA含量显著高于HCV基因III型感染者($P<0.001$). 此结果与文献^[1-3, 24-25]报道一致. 故检测HCV感染者的基因型可预测HCV RNA水平及病情的预后. HCV基因II型感染者HCV RNA含量较高可能是影响干扰素疗效的原因之一. A县86例和两县合并后132例HCV RNA阳性患者中HCV基因II型感染者血清ALT显著高于HCV基因III型感染者($P<0.01$). 此结果与文献^[26-27]报道一致. 而B县组HCV基因II型感染者血清ALT与HCV基因III型感染者无显著性差异, 此与B县组HCV基因II型感染者与HCV基因III型感染者分布比例无明显差异有关. A县127例HCV感染者在感染12-25 a后, 有32.3%发生自发性HCV RNA阴转, 而B县102例HCV感染者在感染8-28 a后, 有54.9%发生自发性HCV RNA阴转, 两组人群合并后的自发性HCV RNA阴转率为42.4%, 阴转率均高于瑞典、美国、法国分别报道的21%、26%和15-20%^[10-12], 表明本次调查两组人群HCV感染后的自发性清除率较高. 其中, A县组女性感染者的自发性清除率为39.4%(26/66), B县组女性感染者的自发性清除率为60.7%(37/61), 两组人群合并后的女性感染者的自发性清除率为49.6%, 均高于男性感染者^[13-14]. HCV感染后17-26 a间肝硬化的发生率为0.3-55%^[14-17], 本次A县组中有5例B型超声波检查表现为重度, 尽管被调查者拒绝行肝活组织检查, 实际上超声波下表现为肝包膜不平、门静脉或/和脾静脉增宽, 符合肝硬化的表现, 其中时间最短者仅在感染后13 a. 提示该组人群中少数感染者在感染12-25 a已经发生肝硬化, 发生率约为4.07%(5/123). 以上结果提示, HCV感染表现隐匿, 对出现乏力者应当引起重视. HCV感染慢性化以后的表现与慢性乙型肝炎病毒感染不同, 症状轻, 演变过程可能比感染初期更加隐匿^[28-32].

在HCV感染1-24(平均9.7)a后, 可能有6%的感染者进展至失代偿性肝硬化, 或在肝硬化出现后3.3-5.1 a发生失代偿^[18, 33-34]. HCV感染相关肝癌的发生从感染17 a后的0例^[13-14]、7.6 a后的15.6%^[35]到14-28 a后的51%^[36]. 可见, 因HCV感染致肝癌可能是一个相当长的过程. HCV感染后肝病相关的死亡率报道不一, 有报道在1-24(平均9.7 a)后6%死于肝相关疾病^[18], 也有报告经45 a随访, 5.9%死于肝疾病, 仅略高于对照组的1.4%^[37-38].

本组病例中B型超声波检查为重度者是否会在近年内发生失代偿还需要进一步追踪观察. 血清 α FP与B型超声波检查, 未发现肝癌, 也有待进一步跟踪观察.

4 参考文献

- 1 Dusheiko G, Schmilovitz-Weiss H, Brown D, McOmish F, Yap PL, Sherlock S, McIntyre N, Simmonds P. Hepatitis C virus genotypes: an investigation of type-specific differences in geographic origin and disease. *Hepatology* 1994;19:13-18
- 2 Mahaney K, Tedeschi V, Maertens G, Di Bisceglie AM, Vergalla J, Hoofnagle JH, Sallie R. Genotypic analysis of hepatitis C virus in American patients. *Hepatology* 1994;20:1405-1411
- 3 Kobayashi M, Tanaka E, Sodeyama T, Urushihara A, Matsumoto A, Kiyosawa K. The natural course of chronic hepatitis C: a comparison between patients with genotypes 1 and 2 hepatitis C viruses. *Hepatology* 1996;23:695-699
- 4 Nakao T, Enomoto N, Takada N, Takada A, Date T. Typing of hepatitis C virus genomes by restriction fragment length polymorphism. *J Gen Virol* 1991;72:2105
- 5 杜绍财, 陶其敏, 朱凌, 刘金祥, 王豪, 孙炎. 丙型肝炎病毒基因5' - 末端非编码区酶切分型研究. *中华医学杂志* 1993;73:7-9
- 6 李伯安, 马洪滨, 薛净, 乔小红, 程云. 定量聚合酶链反应在检测丙型肝炎病毒感染血清中的应用. *中华传染病杂志* 1998;16:35-36
- 7 Hargiwarra H, Mayashi N, Mita E, Naito M, Kasahara A, Fusamoto H, Kamada T. Quantitation of HCV RNA in serum of asymptomatic blood donors and patients with types C chronic liver disease [J]. *Hepatology* 1993;17:545-550
- 8 Zhang FC, Cai XL, Huang JS, Xi C, Wu WF. Study on the relationship of HCV-RNA between serum and liver tissue of hepatitis C [J]. *Zhonghua Chuanranbing Zazhi* 1999;17:15-17
- 9 Zhang LX, Ma HB, Li BA, Guo RF, Hu JH, Qiao LL, Cheng Y. The clinical significance of quantitative polymerase chain reaction for HCV-RNA in patients with hepatitis C [J]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 1998;6:227-228
- 10 Mattsson L, Sonnerborg A, Weiland O. Outcome of acute symptomatic non-A, non-B hepatitis: a 13-year follow-up study of hepatitis C virus markers[J]. *Liver* 1993;13:274-278
- 11 Seeff LB, Hollinger FB, Alter HJ. Long-term morbidity of transfusion-associated hepatitis (TAH) C [J]. *Hepatology* 1998;28 (Pt 2):407A
- 12 Hue S, Cacoub P, Renou C, Halfon P, Thibault V, Charlotte F, Picon M, Rifflet H, Piette JC, Pol S, Caillat-Zucman S. Human leukocyte antigen class II alleles may contribute to the severity of hepatitis C virus-related liver disease[J]. *J Infect Dis* 2002;186:106-109
- 13 Kenny-walsh E. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin [J]. *N Engl J Med* 1999;340:1228-1233
- 14 Vogt M, Lang T, Frosner G, Klingler C, Sendl AF, Zeller A, Wiebecke B, Langer B, Meisner H, Hess J. Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children who underwent cardiac surgery before the implementation of blood-donor screening [J]. *N Engl J Med* 1999;341:866-870
- 15 Gordon SC, Elloway RS, Long JC, Dmuchowski CF. The pathology of hepatitis C as a function of mode of transmission. Blood transfusion versus intravenous drug use [J]. *Hepatology* 1993;18:1338-1343
- 16 Yano M, Kumada H, Kage M, Ikeda K, Shimamatsu K, Inoue O, Hashimoto E, Lefkowitz JH, Ludwig J, Okuda K. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C [J]. *Hepatology* 1996;23:1334-1340
- 17 Yoneyama K, Yamaguchi M, Kiuchi Y, Morizane T, Shibata M, Mitamura K. Analysis of background factors influencing long-term prognosis of patients with chronic hepatitis C treated with interferon [J]. *Intervirol* 2002;45:11-19
- 18 Di Bisceglie AM, Goodman ZD, Ishak KG, Hoofnagle JH, Melpolder JJ, Alter HJ. Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic posttransfusion hepatitis [J]. *Hepatology* 1991;14:969-974
- 19 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学会联合修订 2000-09 西安. 病毒性肝炎防治方案. *中华传染病杂志* 2001;19: 56-62
- 20 Kurosaki M, Enomoto N, Sato C, Sakamoto N, Hoshino Y, Haritani H, Marumo F. Correlation of plasma hepatitis C virus RNA levels with serum alanine aminotransferase in non-A, non-B chronic liver disease. *J Med Virol* 1993;39:246-250
- 21 Adinolfi LE, Utili R, Andreana A, Tripodi MF, Marracino M, Gambardella M, Giordano M, Ruggiero G. Serum HCV RNA levels correlate with histological liver damage and concur with steatosis in progression of chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2001;46:1677-1683
- 22 Wang ZM, Tan FM, Chen WH, Li MS, Guo SP. Quantitative study of hepatitis C virus RNA in sera of patients with posttransfusion hepatitis C virus infection. *Zhonghua Chuanranbing Zazhi* 2000; 18:37-39
- 23 Ghany MG, Chan TM, Sanchez-Pescador R, Urdea M, Lok AS. Correlation between serum HCV RNA and aminotransferase level in patient with chronic HCV infection. *Dig Dis Sci* 1996; 41:2213-2218
- 24 Raghuraman S, Shaji RV, Sridharan G, Radhakrishnan S, Chandy G, Ramakrishna BS, Abraham P. Distribution of the different genotypes of HCV among patients attending a tertiary care hospital in south India. *J Clin Virol* 2003;26:61-69
- 25 Yoshioka K, Kakumu S, Wakita T, Ishikawa T, Itoh Y, Takayanagi M, Higashi Y, Shibata M, Morishima T. Detection of hepatitis C virus by polymerase chain reaction and response to interferon-alpha therapy: relationship to genotypes of hepatitis C virus. *Hepatology* 1992;16:293-299
- 26 Prince AM, Brotman B, Huima T, Pascual D, Jaffery M, Inchauspe G. Immunity in hepatitis C infection. *J Infect Dis* 1992;165:438-443
- 27 Farci P, Alter HJ, Govindarajan S, Wong DC, Engle R, Lesniewski RR, Mushahwar IK, Desai SM, Miller RH, Ogata N, Robert H. Purcell. Lack of protective immunity against reinfection with hepatitis C virus. *Science* 1992;258:135-140
- 28 Alter HJ, Seef LB. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long-term outcome [J]. *Sem Liver Disease* 2000;20:17-35
- 29 Roffi L, Redaelli A, Colloredo G, Minola E, Donada C, Picciotto A, Riboli P, DelPoggio P, Rinaldi G, Paris B, Fornaciari G, Giusti M, Marin R, Morales R, Sangiovanni A, Belloni G, Pozzi M, Poli G, Mascoli N, Corradi C, Pioltelli P, Scalori A, Mancina G. Outcome of liver disease in a large cohort of histologically proven chronic hepatitis C: influence of HCV genotype. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:501-506
- 30 Hwang SJ, Lee SD, Lu RH, Chu CW, Wu JC, Lai ST, Chang FY. Hepatitis C viral genotype influences the clinical outcome of patients with acute posttransfusion hepatitis C. *J Med Virol* 2001;65:505-509
- 31 Poynard T, Mathurin P, Lai CL, Guyader D, Poupon R, Tainturier MH, Myers RP, Muntenau M, Ratzin V, Manns M, Vogel A, Capron F, Chedid A, Bedossa P. A comparison of fibrosis progression in chronic liver diseases. *J Hepatol* 2003; 38:257-265
- 32 Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology* 2002;36(5 Suppl 1): S47-56
- 33 Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, Nevens F, Solinas A, Mura D, Brouwer JT, Thomas H, Njapoum C, Casarin C, Bonetti P, Fuschi P, Basho J, Tocco A, Bhalla A, Galassini R, Noventa F, Schalm SW, Realdi G. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients [J]. *Gastroenterology* 1997; 112:463-472
- 34 Serfaty L, Aumaitre H, Chazouilleres O, Bonnand AM, Rosmorduc O, Poupon RE, Poupon R. Determinants of outcome of compensated hepatitis C virus-related cirrhosis [J]. *Hepatology* 1998;27:1435-1440
- 35 Tremolada F, Casarin C, Alberti A, Drago C, Tagger A, Ribero ML, Realdi G. Long-term follow-up of non-A, non-B (type C) posttransfusion hepatitis [J]. *J Hepatol* 1992;16:273-281
- 36 Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C [J]. *N Engl J Med* 1995; 332:1463-1466
- 37 Seeff LB, Miller RN, Rabkin CS, Buskell-Bales Z, Straley-Eason KD, Smoak BL, Johnson LD, Lee SR, Kaplan EL. 45-year follow-up of hepatitis C virus infection in healthy young adults [J]. *Ann Intern Med* 2000;132:105-111
- 38 Niederau C, Lange S, Heintges T, Erhardt A, Buschkamp M, Hurter D, Nawrocki M, Kruska L, Hensel F, Petry W, Haussinger D. Prognosis of chronic hepatitis C: results of a large, prospective cohort study [J]. *Hepatology* 1998;28:1687-1695