

安徽省丙型肝炎病毒基因型分布

苏虹 吴系科 倪进发 毕鹏

摘要 应用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)和限制性片段长度多态性(RFLP)技术分析安徽省丙肝患者丙型肝炎病毒(HCV)基因型。结果表明 HCV 基因型有 I、II、III、IV 及 II/III 混合型,以 II 型感染(75.66%)占优势,其次为 III 型(13.23%)和 II/III 型(6.35%),I、IV 型各有 1 例(0.53%)。安徽省北部地区的 HCV III 型多于南部,而 II 型北部则少于南部,不同地理区域 HCV 基因型分布差异有显著性($P < 0.05$)。有、无输血、血液制品史的丙肝患者间 HCV 基因型分布差异无显著性。

关键词 HCV 基因型 RFLP

An Investigation on Genotypes of Hepatitis C Virus in Anhui Province Su Hong, Wu Xi-ke, Ni Jin-fa, et al. Anhui Medical University, Hefei 230032

Abstract To study the distribution of HCV genotypes in Anhui province, anti-HCV positive serum samples were collected from 371 hepatitis C patients, 60 patients under haemodialysis and 100 blood donors. HCVRNA was detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Based on the results of PCR positivity, HCV genotyping was investigated by restriction fragment length polymorphism. Results showed that among hepatitis C patients 143 (75.66%) were HCV type II infection, 25 (13.23%) were HCV type III and 12 (6.35%) were type II/III co-infection. HCV type I and IV infection appeared in one of each (0.53%). HCV genotype could not be determined in 7 patients because of low HCVRNA titers. These results indicated that HCV II infection was the dominant genotype in Anhui Province. Geographically, HCV type II infection was higher in the southern areas. The patterns of genotype distribution in the southern and northern areas were significant different ($P < 0.05$). There was no significant difference between HCV genotypes in relation to the history of blood transfusion.

Key words Hepatitis C virus Genotype Restriction fragment length polymorphism

研究一个国家或地区的丙型肝炎病毒(HCV)基因型,对追踪传染源、阐明 HCV 的传播途径、研究不同 HCV 基因型感染与临床过程及转归的关系、HCV 基因型别对丙肝慢性化的作用以及研制有效的疫苗等,均具有重要的理论与实践意义。安徽省是丙型肝炎高发地区,至今尚无有关 HCV 基因型的报道。为了解安徽省 HCV 基因型分布,我们应用 RFLP 方法分析了安徽省丙肝患者 HCV 基因型,报告如下。

材料与方法

一、血清标本来源:安徽省地理区域可依淮

河、长江分为三个区域,即淮北、江淮之间、江南,共 16 个地市。我们均匀选择安徽省有代表性的 8 个地市,依疫情报告(三个区域丙肝发病率无显著性差异),于 1995 年 2 月至 1996 年 2 月采集上述地市医院共计 371 例门诊及住院丙肝患者抗-HCV 阳性血清标本。丙型肝炎诊断依据 1990 年上海第 6 届全国病毒性肝炎学术会议修订的诊断标准。

二、实验室检测:

1. HCVRNA 的检测:经非结构 5 区逆转录 PCR 检测 HCVRNA,采用北京医科大学肝病研究所的 HCVRNA 检测试剂盒。操作步骤按试剂盒说明进行。

2. HCVRNA 基因型分析:经上述 PCR 检测的阳性标本用于 HCV 基因型分析,采用北京

医科大学肝病研究所的 HCV 非结构 5 区酶切试剂盒。操作步骤按试剂盒说明进行。

结 果

一、HCV 基因型分布:371 例抗-HCV 阳性丙肝患者的血清标本经 RT-PCR 检测, HCV RNA 阳性 189 例(50.94%), 其 HCV 基因

型分析结果表明安徽省丙肝患者 HCV 基因型有五种, 即 I、II、III、IV、II/III 型, 其检出率分别为 0.53%、75.66%、13.23%、0.53%、6.35%。其中有 7 份血标本因 HCV RNA 滴度过低而未能分型(表 1)。

二、输血、血液制品与 HCV 基因型的关系:

表 1 安徽省不同地市丙肝患者 HCV 基因型

地区	抗-HCV (+)	HCV RNA (+)	HCV 基因型					
			未分型*	I/1a(%)	II/1b(%)	III/2a(%)	IV/2b(%)	II/III(%)
淮北	阜阳	45	22		15(68.18)	6(27.27)		1(4.55)
	蚌埠	30	15	1	1(6.67)	10(66.66)	2(13.33)	1(6.67)
	小计	75	37	1	1(2.70)	25(67.57)	8(21.62)	2(15.41)
江淮之间	滁县	42	19	1	13(68.42)	3(15.79)		2(10.53)
	合肥	54	29	2	21(72.41)	4(13.79)		2(6.90)
	六安	57	31	2	23(74.20)	4(12.90)		2(6.45)
	小计	153	79	5	57(72.15)	11(13.92)		6(7.60)
江南	芜湖	50	26		20(76.92)	3(11.54)	1(3.85)	2(7.69)
	贵池	50	25	1	22(88.00)	1(4.00)		1(4.00)
	屯溪	43	22		19(86.36)	2(9.09)		1(4.55)
	小计	143	73	1	61(83.56)	6(8.22)	1(1.37)	4(5.48)
合 计	371	189	7(3.70)	1(0.53)	143(75.66)	25(13.23)	1(0.53)	12(6.35)

* 因 HCV RNA 滴度过低而未能分型的例数。 $\chi^2 = 4.23, P < 0.05$

371 例丙肝患者中有输血、血液制品史的为 277 例, 其中 HCV RNA 阳性 145 例(52.35%); 没有输血、血液制品史的为 94 例, 其中 HCV RNA 阳

性 44 例(46.81%)。两组患者 HCV 基因型分布差异无显著性。分析有、无输血史的丙肝患者 HCV 基因型分布, 其差异无显著性(表 2)。

表 2 四组丙肝患者 HCV 基因型分布

丙肝患者	HCV RNA (+)	未分型	I/1a(%)	II/1b(%)	III/2a(%)	IV/2b(%)	II/III(%)
有输血、血液制品史 ^①	145	5	1(0.69)	111(76.55)	17(11.72)	1(0.69)	10(6.90)
无输血、血液制品史 ^②	44	2		32(72.72)	8(18.18)		2(4.55)
有输血史 ^③	134	5		104(77.61)	15(11.19)	1(0.75)	9(6.72)
无输血史 ^④	55	2	1(1.82)	39(70.91)	10(18.18)		3(5.45)

注: ①与②比较: $\chi^2 = 1.14, P > 0.25$; ③与④比较: $\chi^2 = 1.67, P > 0.05$

讨 论

本研究依据安徽省地理区域特点, 均匀选择 8 个地市的 371 例抗-HCV 阳性丙肝患者血清, 样本具代表性。应用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测血清 HCV RNA, 该技术具有敏感性高、特异性高、样品要求不高等特点。本研究对 HCV 非结构 5(NS5)区进行限制性片段长度多态性(RFLP)分析。许多学者证实^[1,2] NS5 区变异情况具有代表性, 能较好地反映 HCV 全

基因组的变异情况。NS5 区的分型结果与其它部位(如 C 区和 E1 区)的分型结果相一致^[3]。实验中严格质量控制。

本研究结果显示安徽省丙肝患者的 HCV 感染 I、II、III、IV、II/III 各型均有, 其中以 II 型(75.66%)为主; 其次为 III 型(13.23%)和 II/III 型(6.35%); I、IV 型各有 1 例(0.53%), 表明本地区 HCV 优势毒株为 HCV II 型。国内有学者报道北京、武汉、广州等地 HCV 基因型主要为 II 型^[4], 本研究结果与国内已有资料一致。

有关我国 I、IV 型报道较少, 本研究的 1 例 HCV I 型患者有输进口血液制品史, 可能是输入国外较流行的 I 型毒株。IV 型亦有 1 例, 有关 IV 型毒株在全球分布模式尚不清楚。

为阐明 HCV 基因型的分布规律, 我们把安徽省分为三个地理区域: 淮北、江淮之间、江南, 分析 HCV II、III 型分布与三个地理区域间的关系。结果提示 HCV II、III 型具有显著的地理区域差异性特点, 淮北 III 型偏高, 江南 II 型多见。有学者研究表明我国 HCV 基因型的地区性分布特征为: 北方城市 III 型检出率较高, 南方城市则以 II 型检出率为主^[5], 但不同地区亚型分布构成比无显著性差异^[4]。本次研究安徽省丙肝患者 HCV 基因型分布有地区聚集性特点, 出现这种地理区域差异性特点的原因还有待于进一步研究。

有、无输血、血液制品史的两组丙肝患者的 HCV II 型检出率分别为 76.55%、70.59%, III 型检出率分别为 11.72%、17.65%。比较两组患者 HCV 基因型分布, 结果表明有、无输血、血液制品史的丙肝患者间 HCV 基因型分布差异无显著性。进一步分析有、无输血史的丙肝患者间 HCV 基因型分布, 结果两组患者 HCV 基因型分布差异亦无显著性。提示输血、血液制品感染者和未知原因感染者有同样的人群分布。在未知原因感染的患者中, 可能在诊断和治疗中感染 HCV, 如外科手术、活组织检查等,

性传播和母婴传播等也不能排除。国外也有研究提示 HCV 基因型和输血史无显著性相关关系^[6]。有输血、血液制品史丙肝患者组 II/III 型检出率(6.90%)高于无输血、血液制品史丙肝患者组(4.55%), 提示 II/III 型感染可能与输血、血液制品有关。HCV 基因型分析在追溯丙型肝炎的传染源、探查传播途径等方面是重要的方法, 有待今后在这方面作更深入的研究。

参 考 文 献

- 1 Enomoto N, Takada A, Nakao T, et al. There are two major types of hepatitis C virus in Japan. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, 170:1021.
- 2 Okamoto H, Kurai K, Okada S, et al. Full-length sequence of a hepatitis C virus genome having poor homology to reported isolates: comparative study of four distinct genotypes. *Virology*, 1992, 188:331.
- 3 Bukh J, Purcell RH, Miller RH. At least 12 genotypes of hepatitis C virus predicated by sequence analysis of the putative E1 gene of isolates collected worldwide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90:8234.
- 4 杜绍财, 陶其敏, 朱凌, 等. 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, 73:350.
- 5 Wang Y, Okamoto H, Tsuda F, et al. Prevalence, genotypes and an isolate (HCV - C₂) of Hepatitis C virus in Chinese patients with liver disease. *J Med Virol*, 1993, 40:254.
- 6 Kobayashi M, Kumade H, Chayama K, et al. Prevalence of HCV genotype among patients with chronic liver diseases in the Tokyo metropolitan areas. *J Gastroenterol*, 1994, 29:583.

(收稿:1997-02-25 修回:1997-03-28)

一起细菌性痢疾暴发的调查报告

张成元

1996 年 10 月 27 日至 11 月 5 日, 杨家镇中学先后发生 140 例不同程度的腹痛、腹泻、恶心、呕吐、里急后重、解脓血粘液便等症状的病例。经实验室检测, 为一起细菌性痢疾暴发。该校 10 个班有学生 504 人, 罹患率 27.7% (140/504)。分布在 8 个住校班。140 例患者中男 76 例, 女 64 例, 男女发病无明显差异。经调查, 本

次发病该镇其它单位无类似病例发生。检测该校生活饮用水符合国家生活饮用水卫生标准。对 18 例患者和 2 名炊食员分别采肛拭检测, 结果, 在患者中分离出 5 株和在炊食员中分离出 1 株鲍氏志贺氏菌 1~6 型痢疾杆菌。造成本次暴发的原因是学生食堂卫生设施简陋, 食堂与厕所规划不合理, 加之炊事员卫生意识差, 无健康合格证。

作者单位: 四川省绵阳市涪城区卫生防疫站 621000

(收稿:1997-04-09)