

# 福建省部分地区乙型肝炎病毒基因型分布及其临床意义

胡盈莹 江家骥 欧文湖 林国贤 苏智军 刘家俊 李勤光 姚履枫  
林彩文 李丹 陈怡

**【摘要】** 目的 首次调查福建省 5 个地区乙型肝炎病毒( HBV )基因型的分布状况,并探讨 HBV 基因型与 HBV 相关肝病临床的可能相关性。方法 收集福州市、厦门市、泉州市、三明市、莆田市等地区慢性 HBV 感染者的血清,采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性( PCR-RFLP )法检测 HBV 基因型,应用多因素 logistic 回归分析、对应分析研究 HBV 基因型与临床的相关性。结果 431 例 HBV DNA 阳性血清中基因 B 型 275 例( 63.8% ),C 型 100 例( 23.2% ),D 型及其混合型共 51 例( 11.8% ),未见 A、E、F 型。多因素 logistic 回归分析显示,泉州和三明地区 HBV 基因 B 型所占比例显著高于福州地区(  $P=0.002$  ; $P=0.006$  ),无症状携带者、慢性肝炎、重型肝炎组都是以基因 B 型为主要基因型,基因 C 型在肝硬化中所占比例( 47.0% )显著高于无症状携带者( 14.5% )和重型肝炎组( 14.7% )(  $P=0.009$  ; $P<0.001$  );基因 B 型的 e 抗原阳性率( 52.4% )显著低于 C 型( 56.0% )(  $P=0.008$  );基因 D 型患者 e 抗原阳性率( 30.8% )也低于 C 型(  $P=0.051$  )。对应分析表明原发性肝癌( HCC )与基因 D 型及其混合型关系密切。结论 ( 1 )福建省 HBV 感染以基因 B 型为主,其次是 C 型,也存在基因 D 型的流行。( 2 )福建省部分地区基因型 B 和 C 的分布可能存在差异。( 3 )基因 B 型在年轻患者中可能与重型肝炎的发展有关,基因 C 型在年长患者中可能更易导致肝硬化。( 4 )基因 D 型与 HCC 可能有一定的相关性,值得进一步研究。

**【关键词】** 乙型肝炎病毒;基因型;聚合酶链反应-限制性片段长度多态性;logistic 回归分析;对应分析

**Distribution of hepatitis B virus genotype in 5 cities of Fujian province and the clinical implications of HBV genotype** HU Ying-ying\*, JIANG Jia-ji, OU Wen-hu, LIN Guo-xian, SU Zhi-jun, LIU Jia-jun, LI Qin-guang, YAO Lv-feng, LIN Cai-wen, LI Dan, CHEN Yi. \*Fuzhou Municipal Hospital of Infection, Fuzhou 350025, China

Corresponding author: JIANG Jia-ji. Email: ying.hyy@21cn.com

**【Abstract】 Objective** To study the prevalence of hepatitis B virus( HBV ) genotype in 5 cities of Fujian province and the clinical implications of distinct genotypes in HBV-related liver diseases. **Methods** HBV genotype was determined by the restriction fragment length polymorphism analysis in patients with chronic HBV infection in 5 cities of Fujian province. The relationship between HBV genotype and its clinical implications was studied by multinomial logistic regression and correspondence analysis. **Results** Of the 431 HBV DNA positive patients detected by PCR, 275( 63.8% ) belonged to HBV genotype B, 100( 23.2% ) to genotype C, 51( 11.8% ) to genotype D and D-mixed genotype. Genotype A, E and F were not found. Multinomial logistic regression showed that genotype B was more prevalent in Quanzhou and Sanming cities than in Fuzhou (  $P=0.002$  ,  $P=0.006$  ), and genotype B appeared significantly more common in asymptomatic carriers( ASC ), chronic hepatitis B( CHB ) and severe hepatitis( SH ). Genotype C was most prevalent in patients with liver cirrhosis( LC )( 47.0% ) than in those with ASC( 14.5% ) and SH( 14.7% )(  $P=0.009$  ,  $P<0.001$  ). The positive rate of hepatitis B e antigen was higher in patients with genotype C than in those with genotype B and genotype D( 56.0% vs. 52.4% ,  $P=0.008$  , and 56.0% vs. 30.8% ,  $P=0.051$  , respectively ). By correspondence analysis, genotype D and D-mixed genotype seemed to be correlated with hepatocellular carcinoma( HCC ). **Conclusions** ( 1 ) The major popular genotypes of HBV were B, C and D in Fujian. ( 2 ) Data of our study suggested that the

作者单位 350025 福州市传染病医院(胡盈莹、江家骥、李勤光、姚履枫、林彩文、李丹、陈怡);三明市第一医院(欧文湖);莆田市第二医院(林国贤);泉州市第一医院(苏智军);厦门市中医院(刘家俊)

通讯作者:江家骥 Email:ying.hyy@21cn.com

geographic distribution of genotype B and C might be different in some cities of Fujian. (3) Genotype B might have a tendency to lead to SH in younger patients with chronic hepatitis B and the development of LC might be associated with genotype C among the elder patients. (4) Genotype D appeared to associate with development of HCC, which called for further study to confirm.

**【Key words】** Hepatitis B virus; Genotype; Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism; Logistic regression; Correspondence analysis

迄今为止,乙型肝炎病毒(HBV)可分为8个基因型(A~H型)。已知HBV基因型的分布具有地理地域倾向,如上海以C型为主,台湾地区以B型为优势基因型,但HBV基因型的临床意义仍不太清楚。我们调查了福建省部分地区HBV基因型,探讨HBV基因型与HBV感染相关肝病的可能相关性。

### 对象与方法

1. 对象 557份血清标本来自福建省的福州市(342例)、厦门市(29例)、泉州市(53例)、三明市(80例)、莆田市(53例)慢性HBV感染者,男445例,女112例,年龄3~75岁。所有病例的诊断均符合2000年第九届全国病毒性肝炎会议(西安)修订的病毒性肝炎诊断标准,其中无症状携带者102例、慢性肝炎208例、重型肝炎78例、肝硬化82例、原发性肝癌(HCC)87例。所有患者均排除有甲、丙、丁、戊、庚型病毒性肝炎感染。

2. HBV基因分型:血清100 μl,加入20 μl 10×抽提buffer(5% SDS, 0.1 mol/L EDTA, 0.1 mol/L Tris-HCl)和10 mg/ml蛋白酶K 10 μl,加无菌去离子水至总体200 μl,37℃过夜消化后,常规酚和氯仿法抽提。设计针对S基因区的引物对YS1(5'-GCG GGG TTT TTC TTG TTG A-3' nt. 203~221)和YS2(5'-GGG ACT CAA GAT GAT GTT GTA CAG-3' nt. 788~769)进行PCR扩增,扩增条件参照文献[1],扩增片段长度为585 bp。选择不同的限制性内切酶(Sty I、BsrS I、Hpa II、Dpn I)对7 μl PCR产物进行组合平行酶切。酶切反应总体积为15 μl,酶切温度依各酶而定,酶切产物经3%琼脂糖凝胶电泳分离鉴定。不同HBV基因型的酶切结果判断见参考文献[2],将那些无法通过聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)法鉴定基因型的标本进行PCR产物的直接测序,测序结果应用DNASIS软件分析明确其基因型。测序工作由上海生工生物有限公司完成。

3. 观察指标:包括年龄、性别、HBV DNA含量(ln copies/ml)、HBV e抗原、丙氨酸氨基转移酶

(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、血清总胆红素、地区(福州、莆田、泉州、三明、厦门)、临床类型(无症状携带者、慢性乙型肝炎、重型乙型肝炎、乙型肝炎病毒感染后肝硬化、HCC)共9项因素。

4. 统计学分析:用SPSS 11.0软件进行统计分析,计量资料采用方差分析,计数资料采用χ<sup>2</sup>检验;将单因素分析后P<0.10的指标进行多因素logistic回归分析,并对有意义的指标(P<0.05)进行相关分析,应用对应分析描述HBV基因型与肝病不同临床类型的相关性。对所有无序多分类变量给予哑变量标记后再进行分析。

### 结 果

557例标本经PCR检测HBV DNA阳性431例,其中有25例采用PCR-RFLP法无法判断其基因型,后经S基因的直接测序获得基因型。对431例不同HBV基因型感染者的9项观察指标进行单因素分析结果表明,年龄、HBV DNA含量、HBV e抗原、地区、临床类型与HBV基因型间存在相关性。再经多因素logistic回归分析显示,仅年龄、HBV e抗原、地区、临床类型与HBV基因型有关(表1)。

表1 HBV基因型分布相关因素的多因素logistic回归分析

研究因素	单因素分析		多因素分析	
	χ <sup>2</sup> 值	P值	χ <sup>2</sup> 值	P值
年龄	28.844	<0.001	10.148	0.017
HBV DNA含量	11.053	0.011	5.531	0.137
HBV e抗原	7.374	0.061	14.117	0.003
地区	27.01	0.008	19.605	0.021
临床类型	55.509	<0.001	27.806	0.006
ALT	4.295	0.231	-	-
AST	2.045	0.563	-	-
总胆红素	4.466	0.215	-	-
性别	2.443	0.486	-	-

1. HBV基因型的分布状况:431例血清标本中,B型275例(63.8%),C型100例(23.2%),D型26例(6.0%),混合型30例(7.0%),未见A、E、F型(表2)。在30例混合型中B/C混合5例、B/D混合5例、C/D混合20例,基因D型及混合D型的共51例(11.8%)。

表2 福建省不同地区 HBV 基因型分布状况

地区	HBV 基因型例数(%)				合计
	B 型	C 型	D 型	混合型	
福州	15(57.0)	7(27.0)	2(7.6)	2(8.4)	263
莆田	3(73.8)	8(19.0)	0	3(7.1)	42
泉州	3(82.6)	6(13.0)	1(2.2)	1(2.2)	46
三明	4(73.2)	9(16.1)	2(3.6)	4(7.1)	56
厦门	15(62.5)	6(25.0)	3(12.5)	0	24
合计	27(63.8)	10(23.2)	2(6.0)	3(7.0)	431

通过对福建省 5 个地区 HBV 基因型分布状况的调查发现, B 型是福建省 HBV 流行的主要基因型, 其次为 C 型和 D 型。多因素 logistic 回归在控制了年龄、HBV e 抗原、临床类型的影响后证实(表 3), 与 HBV 基因 C 型相比, 泉州地区和三明地区基因 B 型所占比例显著高于福州地区(分别是 82.6% vs. 57.0%,  $OR = 0.178$ , 95%  $CI : 0.059 \sim 0.537$ ,  $P = 0.002$ ; 73.2% vs. 57.0%,  $OR = 0.221$ , 95%  $CI : 0.076 \sim 0.646$ ,  $P = 0.006$ )。D 型和混合型在各地区间分布未见差异。

2. HBV 基因型与临床相关性: 431 例不同 HBV 基因型感染者的临床资料见表 4。各基因型间平均年龄经单因素分析存在差异, 但由多因素 logistic 回归分析控制混杂因素后发现(表 3) B 型患者的年龄明显小于 C 型和混合型(分别是  $33.5 \text{岁} \pm 14.4 \text{岁}$  vs.  $41.8 \text{岁} \pm 14.2 \text{岁}$ ,  $OR = 1.04$ , 95%  $CI : 1.016 \sim 1.065$ ,  $P = 0.001$ ;  $33.5 \text{岁} \pm 14.4 \text{岁}$  vs.  $40.8 \text{岁} \pm 14.2 \text{岁}$ ,  $OR = 1.049$ , 95%  $CI : 1.006 \sim 1.093$ ,  $P = 0.024$ )。由表 3 可见, D 型患者的 HBeAg 阳性率明显低于其他基因型, 而多因素分析则显示 D 型患者 e 抗原阳性率低于 C 型(30.8% vs. 56.0%,  $OR = 3.175$ , 95%  $CI : 0.995 \sim 10.130$ ,  $P = 0.051$ ), 且 B 型与 C 型之间 e 抗原阳性率差异存在显著性(56.0% vs. 52.4%,  $OR = 2.496$ , 95%  $CI : 1.268 \sim 4.914$ ,  $P = 0.008$ )。

多因素分析显示 HBV 基因型与 HBV 不同临床类型间存在相关性, 如

重型肝炎 B 型显著多于肝硬化和 HCC 组(分别是 76.5% vs. 36.4%,  $OR = 5.908$ , 95%  $CI : 2.373 \sim 14.708$ ,  $P < 0.001$ ; 76.5% vs. 46.9%,  $OR = 4.381$ , 95%  $CI : 1.326 \sim 14.477$ ,  $P = 0.015$ )。C 型在肝硬化组所占比例不仅高于重型肝炎组, 还显著高于慢性无症状乙肝携带者(ASC)组(47.0% vs. 14.5%,  $OR = 5.391$ , 95%  $CI : 1.522 \sim 19.098$ ,  $P = 0.009$ )。HCC 组 D 型比例明显多于重型肝炎(14.1% vs. 5.9%,  $OR = 6.986$ , 95%  $CI : 1.53 \sim 31.89$ ,  $P = 0.012$ )。采用对应分析的统计分析法应用图 1 更加直观地描述 HBV 基因型与不同临床类型间的内在联系, 由于 ASC、慢性肝炎、重型肝炎与

表3 不同 HBV 基因型间相关因素的多因素 logistic 回归分析 (以基因 B 型为参照)

变量意义	$\beta$	Wald $\chi^2$ 值	P 值	OR 值(95% CI)
<b>基因型 C</b>				
年龄	0.039	10.458	0.001	1.04(1.016~1.065)
e 抗原阳性*	0.915	7.009	0.008	2.49(1.268~4.914)
地区**				
莆田	-0.651	1.576	0.209	0.52(0.189~1.441)
泉州	-1.726	9.384	0.002	0.17(0.059~0.537)
三明	-1.508	7.617	0.006	0.22(0.076~0.646)
厦门	-0.697	1.248	0.264	0.49(0.147~1.692)
临床类型***				
ASC	0.092	0.019	0.889	1.09(0.303~3.961)
慢性肝炎	1.221	5.286	0.052	3.39(1.197~9.606)
肝硬化	1.776	14.567	0.000	5.90(2.373~14.708)
HCC	1.477	5.866	0.015	4.38(1.326~14.477)
<b>基因型 D</b>				
年龄	0.018	0.796	0.372	1.01(0.979~1.058)
e 抗原阳性*	-0.240	0.183	0.669	0.78(0.262~2.364)
地区**				
莆田	-19.289	0.000	0.998	0.000
泉州	-2.306	4.095	0.053	0.10(0.010~0.93)
三明	-1.760	3.446	0.063	0.17(0.027~1.103)
厦门	-0.355	0.173	0.678	0.70(0.131~3.742)
临床类型***				
ASC	-17.938	0.000	0.998	0.000
慢性肝炎	1.413	3.187	0.074	4.10(0.871~19.382)
肝硬化	0.875	1.289	0.256	2.39(0.53~10.853)
HCC	1.944	6.295	0.012	6.98(1.53~31.89)
<b>混合基因型</b>				
年龄	0.048	5.122	0.024	1.04(1.006~1.093)
e 抗原阳性*	0.978	2.640	0.104	2.66(0.817~8.665)
地区**				
莆田	-0.303	0.145	0.703	0.73(0.156~3.502)
泉州	-2.211	3.602	0.058	0.11(0.011~1.075)
三明	-1.388	2.488	0.115	0.25(0.044~1.401)
厦门	-19.963	-	-	0.000
临床类型***				
ASC	0.799	0.502	0.479	2.22(0.244~20.281)
慢性肝炎	1.591	2.664	0.103	4.90(0.726~33.173)
肝硬化	1.705	3.779	0.052	5.49(0.986~30.672)
HCC	1.446	1.703	0.192	4.24(0.484~37.236)

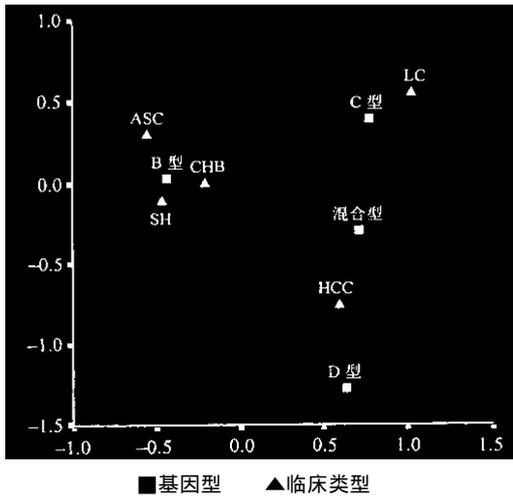
\* 阴性为对照组; \*\* 福州市为对照组; \*\*\* 重型肝炎为对照组

基因 B 型距离接近,表明这三组的基因型分布状况相似,且基因 B 型是它们的主要基因型;肝硬化组与基因型 C 的距离较近,说明二者关系密切;与其他基因型相比,HCC 与基因型 D 和混合型在图 1 中较靠近,但它们间相关程度不及肝硬化组与基因 C 型之间。

表4 431 例不同 HBV 基因型感染者的临床资料

临床特征	HBV 基因型			
	B 型	C 型	D 型	混合型
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	33.5±14.4	41.8±14.2	42.6±12.9	40.8±14.2
e 抗原阳性率(%)	52.4	56.0	30.8	60.0
临床类型*				
ASC	5(79.7)	1(14.5)	0	4(5.8)
慢性肝炎	11(69.5)	3(19.5)	9(5.5)	9(5.5)
重型肝炎	5(76.5)	1(14.7)	4(5.9)	2(2.9)
肝硬化	2(36.4)	3(47.0)	4(6.1)	7(10.6)
HCC	3(46.9)	1(7.6)	9(14.1)	8(12.5)

\* 括号外数据为病例数,括号内数据为构成比(%)



ASC:慢性无症状乙型肝炎携带者;CHB:慢性乙型肝炎;SH:慢性重型肝炎;LC:肝硬化;HCC:肝细胞癌

图1 HBV 基因型与肝病不同临床类型的对应关系

### 讨 论

大量的研究证实 HBV 优势基因型的分布具有一定的地理学特征。我国北方以 C 型为主,南方以 B 型为主<sup>[3,4]</sup>,但东南沿海 B、C 型的分布状况却存在差异,如上海以 C 型为主<sup>[5]</sup>,而台湾则多见 B 型<sup>[6]</sup>。我们应用针对 HBV S 基因的 PCR-RFLP 法,对东南沿海的福建省部分地区 431 例 HBV 慢性感染者进行 HBV 基因型的流行病学调查,发现福建省以 B 型为主(63.8%),其次是 C 型(23.2%),D 型(6.0%)和混合型(7.0%)各地区也均有分布。在 30 例混合型中,B/D 混合型有 5 例,C/D 混合型有

20 例,加上单纯 D 型 26 例,感染有 D 型的占 11.8%,可见福建省不仅存在 D 基因型的流行,而且 D 型常引起重叠和/或混合感染(49.0%)。通过多因素分析发现,泉州和三明地区 HBV 基因 B 型所占比例显著高于福州地区,出现该现象可能是由于福州是省会城市,来此求医人较多,人口的大量流动是影响 HBV 基因型地理分布的一个重要因素;另一方面也可能是福建省各地区间确实存在 HBV 基因型地理分布的差异。因此,今后我们不仅要扩大莆田、泉州、三明、厦门的检测病例数,还要扩大调查范围,从而更全面地反映福建省各地区间 HBV 基因型的分布状况。

目前,国内外多数学者仅从单因素来分析 HBV 基因型的临床意义<sup>[5-8]</sup>,忽略了混杂因素的干扰作用,使至今该方面的研究还未得出一致性的结论,本文采用多分类 logistic 回归分析和对应分析的多因素统计分析法来更合理地描述 HBV 基因型在不同疾病进程中的作用<sup>[9]</sup>。从图 1 可知,重型肝炎的 HBV 基因型分布与 ASC、慢性肝炎组相似都是以基因 B 型为主要型别,基因 C 型是肝硬化的主要基因型,其 C 型所占比例明显高于重型肝炎和 ASC 组( $P < 0.001, P = 0.009$ );多因素 logistic 分析显示,HCC 组 D 型所占比例显著高于重型肝炎组( $P = 0.012$ ),且图 1 也表明 HCC 与基因 D 型和混合型间存在一定的相关性。另外 HCC 的 8 例混合株全是 D 型混合株(即 B/D 混合株 1 例,C/D 混合株 7 例)。我们的实验还发现基因 B 型患者的平均年龄明显小于 C 型和混合型( $P = 0.001, P = 0.024$ ),重型肝炎患者的平均年龄显著小于肝硬化和 HCC 组(分别是  $38.3 \text{ 岁} \pm 13.5 \text{ 岁}$  vs.  $46.5 \text{ 岁} \pm 12.0 \text{ 岁}$ ,  $OR = 1.043, 95\% \text{ CI}: 1.011 \sim 1.076, P = 0.009$ ;  $38.3 \text{ 岁} \pm 13.5 \text{ 岁}$  vs.  $51.4 \text{ 岁} \pm 12.2 \text{ 岁}$ ,  $OR = 1.057, 95\% \text{ CI}: 1.031 \sim 1.121, P = 0.001$ )。这提示 HBV 基因型与肝脏损害存在一定的相关性,年轻的基因 B 型患者可能与重型肝炎的发展有关,而年纪较大的 C 型患者可能更易导致肝硬化;基因 D 型及其混合株与 HCC 可能存在相关性,这需要进一步的研究来证实。

在研究中 B 型患者的 e 抗原阳性率显著低于 C 型( $P = 0.008$ ),这与国内外其他学者的调查结果相似<sup>[5,6,10]</sup>,此外我们还发现基因 D 型患者 e 抗原阳性率低于 C 型( $P = 0.051$ )。令人感兴趣的是 25 例基因 D 型混合株的 e 抗原阳性率(64.0%)明显高于

单纯 D 型的阳性率(30.8%) ( $P=0.02$ )。在 HBV 的慢性感染过程中, e 抗原的阴转与年龄因素有关<sup>[11]</sup>,而本文中两个基因型组病例的平均年龄无差异。25 例 D 型混合株中 e 抗原高表达的基因 C 型混合株(即 C/D 混合株)占 20 例,这是否是因为在 D 型混合株中 D 型不是主导病毒株,其他基因毒株抑制了基因 D 型 HBV 的 e 抗原的表达。

(感谢福建省疾病预防控制中心潘宝骏教授、福建医科大学临床流行病学许能锋教授在统计分析中给予的无私帮助)

### 参 考 文 献

- Mizokami M, Nakano T, Orito E, et al. Hepatitis B virus genotype assignment using restriction fragment length polymorphism patterns. FEBS Lett, 1999, 450:66-71.
- 阎丽, 侯金林, 王战会, 等. 乙型肝炎病毒基因型 S 基因 PCR-RFLP 分型方法的建立. 中华传染病杂志, 2001, 19:224-228.
- 范金水, 庄辉, 李远贵, 等. 我国 8 城市 HBsAg 阳性和阴性乙肝患者的病毒血清型和基因型分析. 中华微生物和免疫学杂志, 1998, 18:88-91.

- 夏国良, Omana VN, 贾志远, 等. 乙型肝炎病毒基因型和血清亚型在我国部分地区的分布及其特点. 中华流行病学杂志, 2001, 22:348-351.
- Ding X, Mizokami M, Yao GB, et al. Hepatitis B virus genotype distribution among chronic hepatitis B virus carrier in Shanghai, China. Intervirology, 2001, 44:43-47.
- Kao JH, Chen PJ, Lai MY, et al. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. Gastroenterology, 2000, 118:554-559.
- 许军, 王齐欣, 蒋栋, 等. 乙型肝炎病毒基因型与病情轻重的关系. 中华肝病杂志, 2003, 11:11-13.
- Chan HL, Tsang SW, Wong ML, et al. Genotype B hepatitis B virus is associated with severe icteric flare-up of chronic hepatitis B virus infection in Hong Kong. Am J Gastroenterol, 2002, 97:2629-2633.
- 潘宝骏, 陈征, 刘少娟, 等. 8463 例正常分娩新生儿体重、胎位与孕母年龄的对应分析. 中国卫生统计, 1999, 16:145-147.
- Chu CJ, Hussain M, Lok AS, et al. Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. Gastroenterology, 2002, 122:1756-1762.
- Lok AS. Natural history and control of perinatally acquired hepatitis B virus infection. Dig Dis, 1992, 10:46.

(收稿日期 2003-10-12)

(本文编辑:张林东)

## · 疾病控制 ·

### 尿路结石形成与泌尿道解脲脲原体感染的关系探讨

申元英 白丽 王涛 王晶 郭利军

解脲脲原体(*Ureaplasma urealyticum*, UU)是引起泌尿生殖道感染的主要支原体,在人体的定植可有二次上升趋势。但研究人员对 UU 泌尿系统中的感染及其与尿路结石的形成关系研究不多,本研究旨在通过尿路结石标本和正常人尿液沉渣培养、核酸检测,以探讨 UU 与泌尿系统结石形成的关系,结果报告如下。

1. 材料与方法:正常人标本采自健康、无泌尿系统疾病的临床医学专业二年级大学生 37 人(女 20 人,男 17 人),平均年龄 20.5 岁,泌尿道结石标本收集自大理州医院和大理医学院附属医院泌尿外科经临床检查、B 超、X 线或造影等辅助诊断确诊为泌尿道结石的住院患者,经手术取石收集结石标本(男 14 例,女 10 例),平均年龄 35.1 岁。UU 培养试剂为郑州博赛(Biocell)生物工程有限责任公司生产,PCR 检测试剂盒由上海复星医学科技发展有限公司生产。培养方法:正常人和尿路结石患者中段尿标本经离心去上清,用无菌棉签取尿沉渣置于 UU 快速培养基中,37℃ 水浴培养,24~48 h 观察结果。核酸扩增:参照文献[1],正常人中段尿标本和尿路结石患者结石标本通过 DNA 模板抽提,PCR 扩增,循环参数 94℃ 保温 3 min,再按 93℃ 45 s→55℃ 45 s→72℃ 60 s 循环 35 次,最后 72℃ 延伸 5 min。PCR 产物于紫外检测分析仪

上观察。UU 培养和 PCR 扩增均严格按试剂盒之操作规程进行,实验中同时设阳性对照和阴性对照。

2. 结果和分析:经培养,患者尿沉渣 25.0%(6/24)为阳性,而健康大学生尿沉渣 78.2%(8/33)为阳性,经  $\chi^2$  检验,  $P>0.05$ ,两者差异无显著性。经 PCR 检测,结石标本 UU 核酸 41.6%(10/24)为阳性,大学生尿沉渣标本 41.6%(4/07)为阳性,  $\chi^2$  检验,  $P<0.01$ ,两者差异有显著性。

文献报道约有 40%~60% 的非淋病性尿道炎由 UU 引起<sup>[2]</sup>。本实验培养结果表明,正常人中段尿和尿路结石患者的中段尿标本差异无显著性。PCR 检测表明,正常人中段尿和结石标本差异有显著性。可能是结石标本中部分 UU 已经死亡,导致培养为阴性,但因 UU 的核酸在标本中仍然存在一段时间,由于 PCR 技术的高度敏感性和特异性,导致结石标本的核酸检出率高于培养的阳性率。动物实验表明, UU 感染与尿路结石形成有关,本实验中结石标本中 UU 核酸检测阳性率较高, UU 可能单独或与大肠埃希菌、变形杆菌等其他病原体协同作用,参与尿路结石的形成。

### 参 考 文 献

- 岳秀兰,丁显平. 重庆地区 PCR 检测慢性泌尿生殖道炎症患者的 NG、CT、UU. 中国优生与遗传杂志, 1997, 5:42.
- Taylor-Robinson D, McCormack WM. The genital *Mycoplasma*. N Engl J Med, 1998, 302:1003.

(收稿日期 2003-11-05)

(本文编辑:张林东)