

# 应用套式PCR 检测抗-HCV 阴性献血员血清中HCV RNA

陈友纯 赖进祥 蔡 庆 林万明

我们采用敏感特异的套式PCR法，检测经ELISA试剂筛选后抗-HCV阴性的献血员血清中HCV RNA，以了解抗-HCV阴性献血员HCV的感染情况。

## 一、材料和方法：

1. 血清来源及其HCV RNA的提取：60例经ELISA法检测抗-HCV阴性（检测试剂为美国UBI公司产品，珠海亚丽生物工程公司提供）的献血员，静脉采血，分离血清作为标本，-70℃冻存备用。用已知HCV RNA阴性和阳性血清各一份分别作阴性对照。血清中HCV RNA的提取用SDS-蛋白酶K裂解法。

2. PCR 引物：在HCV RNA的5'末端非编码区内选择内、外引物，由本室ABI 391型DNA合成仪合成并纯化。

3. 逆转录和套式PCR反应：在样品RNA中加入逆转录反应混合液（含10×反应液，4种dNTP，HCV外引物反意义链，AMV逆转录酶），37℃反应45min，95℃5min，为逆转录产物cDNA。第一次PCR用50μl反应体系，引物为外引物，模板为逆转录产物cDNA，反应条件为94℃1min，55℃1min，72℃1.5min，循环30次。第二次PCR引物为内引物，模板为第一次PCR产物5μl，反应条件同上。

4. 反应产物检测：扩增产物用2%琼脂糖凝胶电泳。用 $\phi$ X174/HaeⅢ作分子量标准，第二次PCR产物长度应为145bp，出现145bp区带者为阳性血清。

**二、结果与讨论：**用套式PCR检测60例抗-HCV阴性献血员血清中HCV RNA，结果6例阳性，阳性率10%。

目前，排除献血员HCV感染的常用方法是用ELISA法检测抗-HCV，但临床常见使用抗-HCV阴性的血液而导致受血者丙型肝炎的发生。我们用套式PCR检测抗-HCV阴性献血员的血清中HCV RNA的结果表明，部分抗-HCV阴性的献血员血清中存在HCV RNA。用套式PCR检测HCV是将cDNA进行两次扩增，第二次是在第一次的基础上，在第一次PCR扩增产物的片段内，再次进行部分靶片段扩增，以提高敏感性和特异性。另外，我们所应用引物在HCV RNA的5'末端非编码区，分子生物学研究表明，HCV RNA容易发生变异，但在各基因组中以5'末端非编码区核苷酸序列保守性最强，因而应用此区域内的引物能提高敏感性。而用ELISA检测抗-HCV，则由于抗-HCV抗体在感染早期尚未产生或浓度较低，或由于抗体检测时所用抗原片段具有局限性，或被感染的个体缺乏产生特异性的能力，而导致假阴性结果。因此用PCR检测HCV RNA，比检测抗体更直接，更早期，阳性则能说明体内有HCV RNA存在，具有传染性。PCR法在确定献血员HCV RNA感染上较ELISA法检测抗-HCV能起更重要的作用。

（收稿：1993-12-22 修回：1994-04-03）

本文作者单位：空军总医院 100036 北京市

# 一起伤寒水型爆发的调查报告

刘朋香<sup>1</sup> 王付宾<sup>2</sup>

邯郸某县棉厂，距县城约20公里，位于农村。全厂1 023人，临时工较多（均来自农村）。居住条件简陋、拥挤，大部分员工素质较差，缺乏个人卫生知识，有喝生水习惯。厂内有厂办自来水站一座，1993年8月3~30日，该厂突然发生一批持续发热病人，病人总数达116人，罹患率为11.3%，无病人死亡。经流行病学调查及检测结果分析，确定本次是由于饮用被

污染水所致的一起伤寒爆发。

## 一、流行特征：

1. 时间分布：8月3日发生首例病人，以后逐日增加，至20日形成高峰，8月底终止。共发生116例伤寒

<sup>1</sup> 河北省邯郸市卫生防疫站 056001

<sup>2</sup> 邯郸市第一医院

病人，罹患率为11.3%（116/1023）。

2. 年龄及性别分布：发病年龄最大52岁，最小17岁，其中17~30岁发病95人，占病例总数的81.9%；男性发病87例，女性发病29例，男女之比为3:1。

## 二、临床表现和实验室检验：

1. 症状与体征：本次发生的116例伤寒病人多为轻型，症状多以发热（100%）、乏力（92.3%）、头晕头痛（89.9%）为主，畏寒占76.5%，其中发热持续2~25天，39.0°C以上的高热持续2~9天，平均3.5天。体征以相对缓脉，表情淡漠多见，玫瑰疹占10.4%，肝脾肿大12%，有2例并发肠出血。

2. 实验室检查：流行期间，搜集患者血液和粪便标本52人份，伤寒菌阳性36份，阳性率69.2%，其中血培养24份，7份培养出伤寒杆菌，阳性率29.2%，肥达氏反应42份，31份阳性，阳性率73.8%。

## 三、流行因素分析

1. 食物传播：经查本厂食堂卫生状况较好，食物（主食及其它副食品）几次检验未发现致病菌。厨师5名，做肛拭子粪便培养2次，均未发现伤寒杆菌。

2. 接触传播：本次爆发存在接触传播，主要为①

传染源管理不当，流行初期因诊断不明，传染源未完全隔离治疗；②病人就诊不及时，有的发病一周后才首诊；③病人隔离时间短，一般在10天左右。经反复调查，仅有2间员工宿舍发生第二代病例，因此不是引起本次流行的主要因素。

3. 本次流行是一次水型爆发。因为①该厂位于农村，人畜粪尿污染十分严重，特别是下雨季节污染更严重，今年雨水较大，本次流行前数天都连续降雨，水样检测大肠菌群MPN大于25000个/L，细菌总数高达8500个/ml，不符合国家规定的GB5749-85饮用水细菌卫生标准，严重超标，证实水源污染是严重的。②8月3日开始发病，8月23日对该厂饮用水及环境每日进行漂白粉消毒，经一周处理，于8月底流行终止，证明对水源消毒是有效的。③饮用该厂水的职工发病，未饮用者无病例出现，证明这次流行的特点符合于水型爆发。④116例病人中有105例病前曾喝过生水，占全部病例的90.5%，今后应加强对该厂自来水站供水系统的卫生管理，搞好饮用前的净化消毒处理工作。

（收稿：1993-10-04 修回：1993-11-25）

# 我国艾滋病监测重点人群变化的调查

孙新华

1988年出版的《艾滋病防治手册》曾经确定了八类重点人群，当时其策略和重点是防止艾滋病传入，重点人群是以外国人和回国人员为主。随着我国艾滋病监测工作的深入开展，其监测策略和重点发生了变化，为了解各省艾滋病监测人群的变化，调整和改变监测策略，我们对这一情况进行了调查，结果报告如下。

**一、对象与方法：**本调查采用问卷方式，问卷于1993年11月寄送给30个省、自治区、直辖市卫生厅，11月底回收24份问卷，回收率为80%。

**二、结果：**24个省的调查共有16种人群列为监测重点。其中有23个省将暗娼，22个省将嫖客，21个省将性病病人和回国人员，16个省将涉外服务人员，14个省将献血员，11个省将吸毒者，5个省将外国人，3个省将边贸商人，2个省将HIV+配偶（密切接触者）和出国人员，1个省将同性恋、注射血制品者、劳改劳

教人员、涉外婚姻人员和汽车司机列为艾滋病监测重点人群。

## 三、讨论：

1. 24个省中，95.8%、91.7%、87.6%的省将暗娼、嫖客、性病病人列入艾滋病监测重点人群。其中有76.2%的省将性病病人、69.6%的省将暗娼、68.2%的省将嫖客列为艾滋病监测的第一和第二重点人群，这些结果显示加强这类人群的监测已成为我国HIV工作的重点。

2. 虽然目前我国HIV感染者主要在吸毒人群中，但仍有41.7%的省还未将吸毒者列入常规监测人群中，这很可能是由于吸毒现象在全国的分布不一或一些省还没有完全掌握当地的吸毒情况所致。而在列入常规

本文作者单位：中华人民共和国卫生部卫生防疫司

100725 北京市