

· 实验研究 ·

异源双链泳动分析法快速检测 TT 病毒基因型

何忠平 庄辉 姚均 董庆鸣 戴旺苏 宋淑静

【摘要】 目的 建立一种简单、敏感、特异和成本低的 TT 病毒(TTV)基因型测定方法。方法 采用巢式聚合酶链反应方法(nPCR)对 96 名正常人和 180 例各型肝炎患者血清标本进行 TTV DNA 检测,然后采用异源双链泳动分析法(HMA)和序列测定分析法对 TTV DNA 阳性标本进行基因分型。结果 各型病毒性肝炎中 TTV DNA 阳性率为 22.2%(40/180),正常人为 19.8%(19/96),两者差异无显著性($\chi^2=0.220, P=0.639$)。在甲、乙、丙、戊型肝炎和非甲~戊型肝炎患者中 TTV DNA 阳性率分别为 20.0%(6/30)、16.7%(5/30)、23.3%(7/30)、36.7%(11/30)和 18.3%(11/60)。在 40 例 TTV DNA 阳性标本中,经 HMA 法分型,G1 型为 50.0%(20/40),G2 型为 17.5%(7/40),混合型为 25.0%(10/40),另有 7.5%(3/40)未能分型。10 例 TTV 混合型感染的标本经克隆测序及基因进化树分析,5 例为 G1 和 G2 型,2 例为 G1 和 G3 型,1 例为 G1 和 G4 型,1 例为 G2 和 G3 型,1 例为 G1、G2 和 G3 混合型感染。结论 HMA 是一种简单、敏感、特异和经济的分型法,可用于 TTV 基因型分型。

【关键词】 TT 病毒;异源双链泳动分析;基因进化树;基因型

Rapid detection of genotypes of TT virus using a heteroduplex mobility assay HE Zhong-ping*, ZHUANG Hui, YAO Jun, DONG Qing-ming, DAI Wang-su, SONG Shu-jing. *Department of Microbiology, Peking University Health Science Center, Beijing 100083, China

【Abstract】 Objective To establish a simple, sensitive, specific and less-costly method for detecting genotypes of TT virus (TTV). **Methods** TTV DNA was tested by nested polymerase chain reaction (nPCR) in sera from 180 patients with different types of viral hepatitis and 96 normal individuals in Beijing. TTV genotypes were determined in 40 sera collected from TTV DNA positive patients by heteroduplex mobility assay (HMA) and through sequencing. **Results** The positive rates of TTV DNA in viral hepatitis patients and normal individuals were 22.2%(40/180) and 19.8%(19/96), respectively ($\chi^2=0.220, P=0.639$). TTV DNA positive rates of patients with hepatitis A, B, C, E and non-A to E were 20.0%(6/30), 16.7%(5/30), 23.3%(7/30), 36.7%(11/30) and 18.3%(11/60), respectively. Of 40 TTV DNA positive patients, 20(50.0%) were TTV G1, 7(17.5%) TTV G2, 10(25.0%) coinfecting with different genotypes of TTV, and 3 untyped by HMA. Twenty G1 and 7 G2 detected by HMA were confirmed by sequence analysis. Of 10 patients coinfecting with different genotypes of TTV, 5 were G1 and G2, 2 G1 and G3, 1 G1 and G4, 1 G1 and G3, and 1 with G1, G2 and G3 coinfections. **Conclusion** HMA was recognized as simple, sensitive, specific and less-costly, thus could be used for genotyping of TTV.

【Key words】 TT virus; Heteroduplex mobility assay; Phylogenetic tree; Genotype

自 1997 年 Nishizawa 等^[1,2]发现 TT 病毒(TTV)以来,对 TTV 的研究日益深入。Tanaka 等^[3]用限制性片段长度多态性分析法(RFLP)将 TTV 分为 6 个基因组(G1~G6)。Cong 等^[4]应用基因进化树分类法,将 TTV 及其相关病毒分为 4 个组 13 个基因型(I~XIII)。Tanaka 等^[5]用基因进化树分类法,将已发表的 TTV 及其相关病毒的序列进行比较,用 TTV 样微小病毒作为外参照,将

TTV 及其相关病毒分为 4 个组,这些病毒异源性较高,碱基序列差异可高达 30% 以上,关于其命名、分类以及在人类致病中的作用仍未明了。目前,用于 TTV 分型方法主要有序列测定法和 RFLP 法等。DNA 直接序列测定法特异、准确,但需要专门测序仪,且技术较复杂,费用较高,对大量标本进行分析不易普及;聚合酶链反应(PCR)-RFLP 法需要进行 PCR 酶切,条件较复杂,不易掌握。这些方法对混合感染不易检出。异源双链泳动分析法(heteroduplex mobility assay, HMA)是由 Mullins 等^[6-8]在 HIV 基因变异分析中建立的一种方法,操

基金项目 北京市委组织部优秀人才工程资助项目(2001-01)

作者单位 100083 北京大学医学部微生物学系(何忠平、庄辉);北京地坛医院(姚均、董庆鸣、戴旺苏、宋淑静)

作简单、省时,可适用于大规模标本的分析,并对基因变异大和混合感染的标本也可检出。由于 TTV 变异大,不同基因型混合感染较为常见,因此,本研究应用 HMA 法对从 180 例肝炎患者中分离的 TTV 进行了基因分型,现将结果报道如下。

对象与方法

1. 研究对象及标本来源:60 例临床诊断为“非甲~戊型肝炎”患者的血清标本采自于 1997 年 3 月至 1999 年 3 月在北京地坛医院住院和门诊病例,该 60 例患者具有肝炎的症状和体征,丙氨酸转氨酶(ALT)异常(>40 U,赖氏法),经 2 次甲、乙、丙、丁和戊型肝炎病毒(HAV、HBV、HCV、HDV、HEV)抗原或抗体酶联免疫法(EIA,美国 ABBOTT 公司产品)及 EB 病毒(EBV)巨细胞病毒(CMV)抗体 EIA 法(德国 Human 公司产品)检测均为阴性,并除外自身免疫性肝病、药物性肝炎、酒精性肝炎和阻塞性黄疸等。另有急性甲型肝炎 30 例、慢性乙型肝炎(轻度)30 例、慢性丙型肝炎(轻度)30 例、急性戊型肝炎 30 例,均为 1997 年 3 月至 1999 年 3 月在北京地坛医院住院病例,按 2000 年第十次全国病毒性肝炎与肝病学术会议修订的“病毒性肝炎防治方案”中诊断标准诊断。96 名正常人血清标本采自北京妇产医院婚前检查者。

2. 核酸提取及 TTV DNA 巢式 PCR(nPCR):DNA 提取及 TTV DNA nPCR 法参照参考文献[9,10]

3. 用于 TTV 基因分型的目的基因扩增:血清 DNA 提取法同前。用于 TTV 分型的目的基因扩增采用半巢式 PCR 法^[2]。第一轮 PCR:Ta_q 酶 1 U, $10\times$ 扩增缓冲液 $3\ \mu\text{l}$, $25\ \text{mol/L}$ dNTP $0.12\ \mu\text{l}$, $50\ \mu\text{mol/L}$ 引物 $0.12\ \mu\text{l}$, 血清 DNA 提取物 $6\ \mu\text{l}$, 加 DEPC 水至 $30\ \mu\text{l}$ 。第一轮引物为 NG59, 正向引物:5'-ACA GAC AGA GGA GAA GGC AAC ATG-3', NG63, 反向引物:5'-CTG GCA TTT TAC CAT TTC CAA AGT T-3', PCR 产物为 286 bp。第二轮 PCR:PCR 反应体系同第一轮,唯正向引物为 NG61, 5'-GGC AAC ATG YTR TGG ATA GAC TGG-3' (Y=T/C; R=A/G), 反向引物 NG63 同第一轮,模板为第一轮 PCR 产物 $3\ \mu\text{l}$, 加 DEPC 水至 $30\ \mu\text{l}$ 。两轮 PCR 循环温度条件均为 94°C 3 min 预变性,然后 94°C 45 s, 60°C 45 s, 72°C 45 s, 共 35 个循环,然后 72°C 延伸 7 min。取第二轮 PCR 产物

$8\ \mu\text{l}$,以 2.0% 琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭染色后于紫外灯下观察结果,扩增产物为 271 bp。

4. HMA 法:

(1)对照质粒的构建:目的基因扩增阳性的第二轮 PCR 产物,经 1% 琼脂糖凝胶电泳,与标准对照判定无误后,纯化 PCR 产物(Promega 公司纯化试剂盒),连接至 pGEM-T 载体(Promega 公司产品),转化 XL-1 Blue 细菌,挑选白色阳性克隆,PCR 和酶切鉴定。经克隆测序证实为 TTV 基因型 1(TTV G1)和基因型 2(TTV G2)。用试剂盒提取重组质粒(上海生工生物公司产品),置 -20°C 保存备用。

(2)异源双链的形成:在 $0.5\ \text{ml}$ 离心管中加入 $4.5\ \mu\text{l}$ 第二轮 PCR 反应产物, $4.5\ \mu\text{l}$ 对照质粒的第二轮 PCR 产物(或 DEPC 水)和 $1\ \mu\text{l}$ 异源双链杂交液(heteroduplex annealing buffer, $100\ \text{mmol/L}$ NaCl, $10\ \text{mmol/L}$ pH 7.8 Tris, $2\ \text{mmol/L}$ EDTA), 94°C 水浴 2 min,迅速置于冰浴中 10 min,形成异源双链。

(3)聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE):加入 1/5 体积的 $5\times$ 点样缓冲液(25% Ficoll, 1% Orange G),点样至 5% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶(29:1 丙烯酰胺:双丙烯酰胺)胶厚 1.5 mm,胶面为 $17.5\ \text{cm}\times 15\ \text{cm}$ 的 V16 垂直冷凝胶电泳槽(北京六一厂),电泳液用 $1\times$ TBE($88\ \text{mmol/L}$ Trisorate, $89\ \text{mmol/L}$ 硼酸盐, $2\ \text{mmol/L}$ EDTA)。电泳条件为 100 V 电压 2 h,电泳后将凝胶浸入 $0.5\ \mu\text{g/ml}$ 溴化乙锭中染色 1 h,在紫外灯下观察结果。

(4)基因型确定:在一般情况下,TTV DNA 阳性样品与 G1 和 G2 标准对照质粒可分别形成 2 条或以上异源双链带和 1~2 条同源双链带。如样品与某基因型对照质粒形成的异源双链带位置一致,则为该基因型。如在水对照孔,形成 2 条以上异源双链带,同时与 G1 和/或 G2 标准对照质粒形成 2 条以上异源双链带者为混合感染。与 G1 和/或 G2 形成异源双链带较远者,为非 G1 和 G2 型。

5. PCR 产物克隆测序及基因进化树分析:① PCR 产物纯化和克隆,同对照质粒的构建;② DNA 序列测定,由上海生物工程公司用双脱氧末端终止法双向测序;③ 基因进化树分析采用 Vector NTI suite 7 和 TreeView 软件,将测序结果与 GenBank 收录的 TTV 序列进行核苷酸序列同源性比较,并分析基因进化树关系。

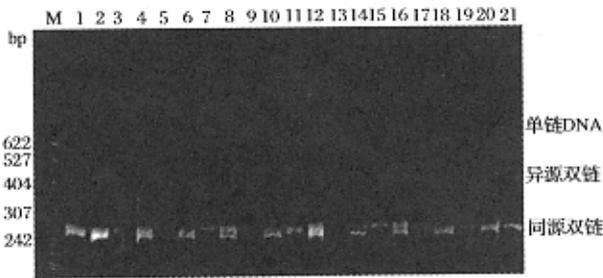
6. 统计学分析:应用 SPSS 10.0 软件进行统计学分析,率的比较采用 χ^2 检验。

结 果

1. 正常人和病毒性肝炎患者中 TTV DNA 检出及 HMA 基因分型 96 名正常人采用 nPCR 检测, 19 例 TTV DNA 阳性, 阳性率为 19.8%; 180 例病毒性肝炎患者中, 40 例 TTV DNA 阳性, 阳性率为 22.2%, 两者差异无显著性 ($\chi^2 = 0.220, P = 0.639$)。由表 1 可见, 在甲、乙、丙、戊型肝炎和非甲~戊型肝炎患者中分别检出 TTV 阳性者为 6 例 (20.0%)、5 例 (16.7%)、7 例 (23.3%)、11 例 (36.7%) 和 11 例 (18.3%)。该 40 例 TTV DNA 阳性标本经 HMA 法基因分型, 结果 G1 型 20 例 (50.0%), G2 型 7 例 (17.5%), 混合型 10 例 (25.0%), 3 例未能分型 (7.5%)。与 TTV G1 和 G2 型阳性质粒 PCR 产物经 HMA 分析见图 1 2。

表1 病毒性肝炎患者中 TTV 感染情况

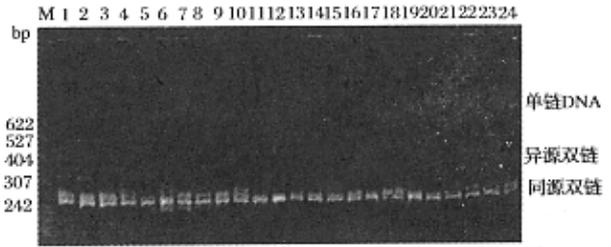
肝炎类型	例数	TTV DNA					合计	阳性率 (%)
		G1	G2	混合型	未分型			
甲	30	4	1	1	0	6	20.0	
乙	30	2	1	2	0	5	16.7	
丙	30	3	1	2	1	7	23.3	
戊	30	5	2	3	1	11	36.7	
非甲~戊	60	6	2	2	1	11	18.3	
合计	180	20	7	10	3	40	22.2	



1 3 5 7 9 11 13 15 17 19 分别为标本 BDH 1~10 与对照质粒 G1 的杂交 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 分别为标本 BDH 1~10 与水的杂交 21 为对照质粒 G1 与水杂交

图1 病毒性肝炎患者血标本 BDH 1~10 的 271 bp 的 HMA 结果

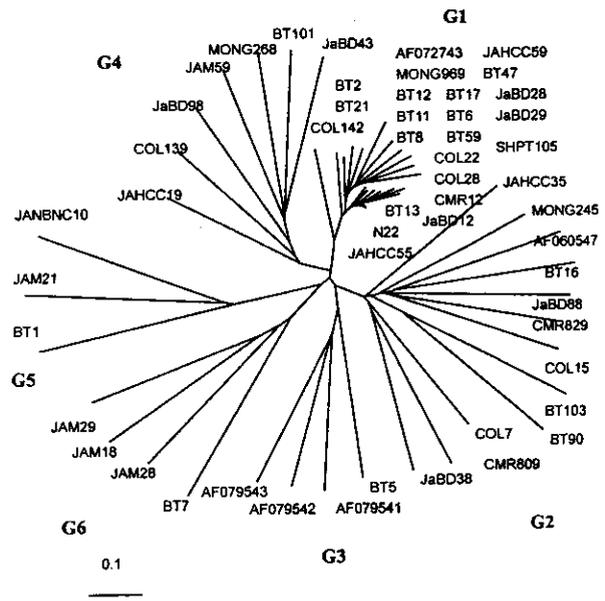
2. 基因进化树分析结果: 对 20 例 G1 型和 7 例 G2 型分别经克隆测序, 然后用基因进化树分析均符合。10 例混合型和 3 例未能分型标本经克隆测序及基因进化树分析表明, 5 例为 G1 和 G2, 3 例为 G1 和 G3, 1 例为 G1 和 G4, 1 例为 G2 和 G3, 1 例为 G1、G2 和 G3 混合感染; 3 例未能分型标本分别为 G3、G5 和 G6。



1~23 分别为标本 BDH 11~33 与对照质粒 G2 的杂交 24 为对照质粒 G2 与水杂交

图2 病毒性肝炎患者血标本 BDH 11~33 的 271 bp 的 HMA 结果

通过基因进化树分析, 从 GenBank 中筛选 12 株 G1 有代表性分离株 (AF072743, COL142, COL22, COL28, CMR12, JaBD12, JaBD28, JaBD29, JAHCC59, JAHCC55, MONG969, SHPT105); 9 株 G2 有代表性分离株 (COL15, COL7, CMR809, CMR829, AF060547, JaBD38, JaBD88, JAHCC35, MONG245); 3 株 G3 有代表性分离株 (AF079541, AF079542, AF079543); 6 株 G4 有代表性分离株 (COL139, JaBD43, JaBD98, JACHC19, JAM59, MONG268); 2 株 G5 有代表性分离株 (JANBNC10, JAM21); 3 株 G6 有代表性分离株 (JAM18, JAM29, JAM28) 并与本次研究中分离的 15 株 (BT2, BT6, BT8, BT12, BT13, BT21, BT47, BT59, BT16, BT90, BT103, BT5, BT101, BT1, BT7) 基因进化树分析, 结果见图 3。



BT 为北京 TTV 分离株

图3 53 个 TTV ORF1 区短片段基因进化树分析

讨 论

Ball 等^[11-13]报道,TTV 有较高的混合感染率,同一例患者可感染 2 个或以上 TTV 基因型。Takayama 等^[14]报道,7 例合并感染 TTV 的血友病患者中,3 例感染 3 种不同的 TTV 型,3 例感染 4 种不同的 TTV 型,1 例感染 5 种不同的 TTV 型。Prescott 等^[15]报道,在亚洲 TTV 感染率极高,且混合感染率也高。同一例患者可先后感染多种 TTV 型,提示一种 TTV 分离株的感染,并不能保护随后的其他 TTV 株(包括不同型)感染。本研究结果也证实这一点,在病毒性肝炎患者中 TTV 感染率为 22.2%(40/180),混合感染占 25.0%(10/40)。

目前,TTV 诊断主要依据 PCR,通常从 N22 区、读码框架 1 区(ORF1)和 5'非编码区(NCR)设计引物,前两区序列变异较大,检出率较低;后者较保守,检出率较高。本文采用 ORF1 区对正常人和病毒性肝炎进行 nPCR 检测,阳性率分别为 19.8% 和 22.2%,两者差异无显著性($\chi^2 = 0.220, P = 0.639$),与国外学者报道相符^[16]。

Tanaka 等^[3]对泰国慢性肝炎感染 TTV 的 82 株序列分析表明,TTV 可分为 6 个亚型(G1~G6),同时对来自日本和韩国的血清标本采用 PCR-RFLP 分型,在 ORF1 区先用内切酶 Nde I 和 Pst I 进行酶切分型,然后用内切酶 Nla III 或 Mse I 进行酶切,可将 TTV 分为 6 个亚型。He 等^[17]对来自中国大陆的 295 份血清标本(包括献血员、爆发性肝炎、慢性肝炎和 HBsAg 携带者)进行 TTV PCR-RFLP 分型,证实我国存在 TTV G1~G6 等 6 个基因型。本次实验根据国内外报道较多且较为确定的 6 个基因型进行研究,经测序分析与国外报道分型结果较一致。

HMA 用于 TTV 分型的主要原理是基于 DNA 分子的变性和复性过程。当双链 DNA 分子被加热到 100℃左右,两条互补链分离,此即变性作用;在适当温度和盐离子浓度作用下,变性的 DNA 能够通过碱基配对而重新形成双螺旋,此即复性作用。如在溶液中存在两种或以上具有一定同源性的核酸分子,在适当的盐离子浓度下,通过上述变性、复性过程,不同来源的两条 DNA 链的同源区域可借碱基配对形成双链,此即为异源双链。异源双链内由于存在碱基错配或不配区域,在链内局部可形成凸起(Bulges)或泡(Bubble),其分子构象发生改变。而在非变性 PAGE 中,DNA 分子相对迁移率不仅与

DNA 分子大小有关,而且与其构象有关。这样,在 PCR 反应中采用同一对引物,从不同来源扩增得到的 DNA 片段分子,通过变性、复性后,尽管可以形成大小相同的同源双链与异源双链,但由于异源双链中有构象改变,因此在非变性 PAGE 中,与同源双链泳动速率相比,异源双链电泳速度慢,迁移距离较短。异源双链泳动速度与其双链同源性成正比,同源性越高,泳动越快。基因型的确定正是根据样品与某一型形成的异源双链体的泳动率最快,确定该样品为其相应的基因型。HMA 操作虽相对简单,但为保证实验的稳定性、重复性和特异性,每次实验应有严格的质量控制,包括设立样品自身杂交对照,PAGE 电泳条件要相对恒定,电泳装置、凝胶浓度及缓冲液、电泳时间、电压一致。同时,电泳温度越高,异源双链体的泳动越慢,因此,需要在冰浴条件下进行电泳。

HMA 法用于艾滋病基因分型研究较为成熟,且有各基因亚型的标准质粒和商品试剂,而此法用于肝炎研究刚刚起步,仅见少量文献报道。经序列分析法证明,用 HMA 法对 TTV 分型结果可靠。但由于本项研究仅采用 TTV G1 和 G2 作为标准质粒对照,因此,只能分为 G1、G2、混合型和未分型 4 种,其中混合型和未分型只有经克隆测序后才能进一步定型。同时,由于检测 TTV DNA 的 nPCR 引物为参考 TTV 原型株序列设计,因此,所检测到的基因型大部分以 G1 和 G2 型,为了全面了解人群中 TTV 感染的基因型,今后用 TTV 分型引物或兼并引物,并增加其他型 TTV 的标准质粒对照,这样本方法将更有实用价值。

参 考 文 献

- 1 Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, et al. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 241:92-97.
- 2 Okamoto H, Nishizawa T, Kayto N, et al. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatol Res*, 1998, 10:1-16.
- 3 Tanaka Y, Mizokami M, Orito E, et al. New genotypes of TTV and a genotyping assay based on restriction fragment length polymorphism. *FEBS Letters*, 1998, 437:201-206.
- 4 Cong M, Nichols B, Dou XP, et al. Related TT virus in chimpanzees. *Virology*, 2000, 274:343-355.
- 5 Tanaka Y, Primi D, Wang RY, et al. Genomic and molecular evolutionary analysis of a newly identified infectious agent (SEN virus) and its relationship to the TT virus family. *J Infect Dis*,

- 2001, 183:359-367.
- 6 Delwart EL, Shpaer EG, Louwagie J, et al. Genetic relationships determined by a DNA heteroduplex mobility assay analysis of HIV-1 env genes. *Science*, 1993, 262: 1257-1261.
- 7 姚均, 潘品良, 邢辉, 等. 应用异源双链泳动分析法快速确定 (HIV-1) 基因亚型. *病毒学报*, 1999, 15: 296-304.
- 8 李晖, 曾常红, 陈伟师, 等. 采用异源双链泳动分析法进行 HIV-1 亚型分析的研究. *中国性病艾滋病防治*, 2000, 6: 19-21.
- 9 Chomezynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*, 1987, 162: 156-159.
- 10 何忠平, 冯惠忠, 周育森, 等. TT 病毒感染者外周血单个核细胞中 TT 病毒的研究. *中华医学杂志*, 2000, 80: 16-19.
- 11 Ball JK, Curran R, Berridge S, et al. TT virus sequence heterogeneity in vivo: evidence for co-infection with multiple genetic types. *J Gen Virol*, 1999, 80: 1759-1768.
- 12 Forns X, Hegerich P, Darnell A, et al. High prevalence of TTV infection in patients on maintenance hemodialysis: frequent mixed

- infections with different genotypes and lack of evidence of associated liver disease. *J Med Virol*, 1999, 59: 313-317.
- 13 White PA, Li ZP, Zhai XY, et al. Mixed viral infection identified using heteroduplex mobility analysis (HMA). *Virology*, 2000, 271: 382-389.
- 14 Takayama S, Yamazaki S, Matsuo S, et al. Multiple infection of TTV with different genotypes in Japanese hemophiliacs. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 256: 208-211.
- 15 Prescott LE, Morrison RS, Simmonds P. Global distribution of transfusion-transmitted virus. *N Engl J Med*, 1998, 339: 776-777.
- 16 Kondili LA, Pisani G, Beneduce F, et al. Prevalence of TTV in healthy children and Thalassaemic. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2001, 33: 629-632.
- 17 He C, Nomura F, Yukimasa N, et al. Transfusion-transmitted virus infection in China: prevalence in blood donor and in patients with liver diseases. *J Gastroenterol Hepatol*, 1999, 14: 899-903.

(收稿日期 2002-08-21)

(本文编辑:尹廉)

· 疾病控制 ·

青海高原出生缺陷流行病学调查

李庆业 周景芳 黄素霞 陈建华

1. 资料与方法: 为 2001 年 1 月 1 日至 12 月 31 日青海省五州一地三市, 共 16 个县 3 个市 46 家医院住院分娩的孕 28 周到生后 7 天的围产儿 (包括死胎、死产和 7 天内死亡的新生儿), 以及计划内引产的围产儿。采用描述流行病学的方法对资料进行回顾性分析研究, 使用 Excel、SPSS 统计软件进行统计学分析。

2. 结果与分析: ① 出生缺陷发生率: 2001 年共监测围产儿 15 457 例, 其中出生缺陷者 187 例。出生缺陷总发生率为 120.98/万, 高于全国水平 (109.87/万)。城市出生缺陷发生率为 108.14/万, 高于全国水平 (102.52/万); 农村为 129.79/万, 接近于全国水平 (127.22/万)。② 人群分布: 男性围产儿出生缺陷发生率为 111.75/万, 女性为 125.69/万。35~ 岁年龄段孕妇的出生缺陷发生率 (267.49/万) 及 < 20 岁年龄段孕妇的出生缺陷发生率 (200.67/万), 明显高于其他年龄段孕妇, 且差异有显著性 ($P < 0.05$)。③ 出生缺陷类型及其分布: 前五位出生缺陷为神经管缺陷、总唇裂、多指 (趾)、先天性脑积水、肢体短缩。其发生率分别为 36.23/万、23.94/万、14.88/万、14.23/万、12.29/万, 均明显高于全国水平 (分别为 11.95/万、14.07/万、12.45/万、7.10/万、5.79/万)。单发畸形占 78.61%, 多发畸形占 21.39%。单发与多发之比为 3.68:1。神经管畸形的发生率在农村 (50.17/万) 明显高于城市 (15.90/万) 为城市的 3.16 倍, 且差异有非常显著性 ($P < 0.01$)。多指 (趾) 畸形的发生率在城市 (23.85/万) 高于

农村 (8.73/万), 为农村的 2.73 倍, 且差异有显著性 ($P < 0.05$)。回族高发 (86.73/万), 多指 (趾) 在汉族中高发 (18.20/万), 且差异均有非常显著性 ($P < 0.01$)。神经管畸形在 35~ 岁年龄段的产妇中高发 (205.76/万), 且差异有极显著性 ($P < 0.01$); 总唇裂在 < 20 岁年龄段的产妇中高发 (66.89/万), 且差异有显著性 ($P < 0.05$)。④ 出生缺陷转归情况: 围产儿死亡率为 38.4‰。其中玉树州 (4 498 m) 高达 95.63‰, 黄南州 (3 600 m) 其次, 为 52.40‰, 海西州 (3 066 m) 第三, 为 51.01‰, 西宁市 (2 100 m) 最低, 为 20.07‰。且不同海拔的围产儿死亡率差异有非常显著性 ($P < 0.01$)。出生缺陷死亡专率、病死率及占总围产儿死亡的比例中出生缺陷死亡占围产儿死亡的 17.14% (城市 18.38%, 农村 16.59%)。出生缺陷死亡专率为 6.60‰, 农村高于城市, 且差异有非常显著性 ($P < 0.01$)。出生缺陷病死率为 54.55%。⑤ 出生缺陷的产前诊断: 产前诊断率仅占 18.65%。内脏畸形的产前诊断率 (34.83%) 高于体表畸形的产前诊断率 (4.81%)。⑥ 孕早期可能致畸因素: 孕妇患病占出生缺陷原因的 15.51%, 其中感冒占 8.02%、发烧占 3.74%、孕妇服药占 21.93%, 其中抗生素占 9.63%、感冒对症药占 3.74%、镇痛剂占 2.14%; 孕妇接触过的可疑致畸因素占 12.30%, 其中接触牲畜史占 3.74%、农药占 3.21%、化学药品占 2.67%、酒精占 1.07%; 有 2 例有家族遗传史, 有 2 例为近亲结婚, 共占致畸因素的 2.14%。

(收稿日期 2003-04-24)

(本文编辑:尹廉)