

# 41 例吸毒人员慢性丙型肝炎基因型分析

刘剑荣, 黄永建, 夏洪娇, 张 勇(江西省萍乡市人民医院检验科 337055)

**【摘要】** 目的 分析 41 例吸毒人员慢性丙型肝炎患者的丙型肝炎病毒(HCV)基因型, 为吸毒人员慢性丙型肝炎的诊断及治疗提供有力的依据。方法 本院吸毒人员血清 HCV 抗体阳性标本, 并经荧光定量聚合酶链反应检测 HCV RNA 阳性的 41 例标本, 用基因芯片进行基因分型检测。结果 共检出 5 种基因亚型, 分别为 1b 30 例, 占 73.2%; 1b+2a 4 例, 占 9.8%; 6 型 3 例, 占 7.3%; 2a 2 例, 占 4.9%; 3a 及 1b+3a 各 1 例, 占 2.4%。20 岁以下 1 例, 占 2.4%,  $\geq 20 \sim 30$  岁 22 例, 占 53.7%,  $> 30 \sim 40$  岁 17 例, 占 41.5%, 40 岁以上 1 例, 占 2.4%。男 30 例, 占 73.2%; 女 11 例, 占 26.8%。无业人员 35 例, 占 85.4%, 其他人员 6 例, 占 14.6%。结论 萍乡地区吸毒人员 HCV 基因型主要为 1b, 混合基因型感染较多。

**【关键词】** 吸毒人员; 丙型肝炎病毒; 基因分型

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.23.055 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2011)23-2914-02

丙型肝炎病毒(HCV)是造成慢性丙型肝炎、肝硬化及肝癌的主要原因之一。HCV 病毒基因有较强的变异性, 变异位点可以发生在基因组的各个区域, 根据变异位点的不同将 HCV 分为不同型别。由于 HCV 的感染严重程度和预后均与其分型关系密切, 本研究拟通过分析 41 例吸毒的慢性丙型肝炎患者 HCV 病毒基因分型, 了解本地区吸毒人员丙型肝炎分布及流行情况, 为丙型肝炎的临床诊断和疾病预防提供一定实验依据。

## 1 资料与方法

**1.1 标本来源** 本院 2007~2010 年吸毒人员血清 HCV 抗体阳性标本, 并对荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测 HCV RNA 阳性的 41 例标本进行基因分型检测。

**1.2 实验仪器** ABI7300 型全自动 PCR 扩增仪, 美国 1285REL # 6 生物安全柜, 日本三洋 VIP SERIES -86 °C 超低温冰箱。

**1.3 实验试剂** 采用中山大学达安基因股份有限公司试剂, 基因芯片检测技术由上海中国科学院提供。

**1.4 方法**(严格按宁波瑞芯生物科技有限公司提供试剂说明书操作)

**1.4.1 RNA 提取与逆转录** 将血清与 Trizol 混匀经氯仿提取, 上清液与等量的异丙醇混匀, 离心沉淀, 弃上清液, 加 75% 乙醇颠倒混匀数次后离心, 吸干上清液, 空气干燥 5 min。然后加入 10  $\mu$ L RT-Mix, 4  $\mu$ L RT 酶于沉淀中, 混合均匀后, 置于恒温器上 42 °C 保温 60 min。

**1.4.2 PCR 扩增** 取逆转录产物加入 Taq 酶, 混匀, 于 PCR 仪上进行扩增, 循环程序 I: 37 °C 10 min; 94 °C 4 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 循环 30 次; 72 °C 5 min。取分装 PCR-MIX 与 1  $\mu$ L UNG 酶按照程序在 PCR 仪上运行: 37 °C 10 min; 97 °C 10 min。然后将管子取出加入 2  $\mu$ L Taq 酶、上述扩增产物 0.5  $\mu$ L 混合均匀后, 于 PCR 仪上进行扩增, 循环程序 II: 94 °C 4 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 循环 30 次; 72 °C 5 min。

**1.4.3 HCV 芯片杂交与显色** (1) 杂交: 将 2  $\mu$ L 的扩增产物、10  $\mu$ L 的杂交液, 充分混匀, 置 98 °C 中变性 5 min, 然后迅速转移至冰浴中放置 5 min, 充分混匀后滴于芯片的点样区, 盖上盖玻片, 置于 42 °C 预热的杂交盒中杂交 30 min。(2) 显色: 从湿盒中取出芯片, 将醋纤膜覆盖于芯片的点样区, 迅速盖上盖玻片, 轻轻压实, 置湿盒中, 于 37 °C 恒温箱中静置 10~20 min 显色。将膜扫描后在电脑上分析试验结果。

## 2 结果

**2.1 检测吸毒人员 HCV 感染标本 41 例, 共检出 5 种基因亚型, 分别为 1b 30 例, 占 73.2%; 1b+2a 4 例, 占 9.8%; 6 型 3 例, 占 7.3%; 2a 2 例, 占 4.9%; 3a 及 1b+3a 各 1 例, 占 2.4%。**

**2.2 按照年龄分组, 20 岁以下 1 例, 占 2.4%;  $\geq 20 \sim 30$  岁 22 例, 占 53.7%;  $> 31 \sim 40$  岁 17 例, 占 41.5%; 40 岁以上 1 例, 占 2.4%。**

**2.3 按性别及职业分组, 男 30 例, 占 73.2%; 女 11 例, 占 26.8%。无业人员 35 例, 占 85.4%; 其他人员 6 例, 占 14.6%。**

## 3 讨论

静脉吸毒可传播 HCV、乙型肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒等多种病毒。HCV 是黄病毒科肝炎病毒属成员, 其基因组为单股正链 RNA, 由于 HCV 的复制所依赖的多聚酶缺乏校对功能, 而且对环境适应性强, 逃避宿主免疫监视作用, 易发生突变<sup>[1]</sup>。HCV 以血液和性传播为主要传播手段, 发病隐匿, 症状不典型, 加之公众对其认知水平较低, 因此病毒的传播不易控制, 患者也容易因不能及时诊断而错过治疗的最佳时机。我国 HCV 感染高发时间在 20 世纪 80 年代末至 90 年代初, 20 世纪 90 年代流行病学调查显示 HCV 抗体流行率约 3.2%, 高于世界平均水平<sup>[2]</sup>。

不同 HCV 型别之间的核苷酸序列差异很大, 不同基因型之间的全基因序列差异大于 30%, 同一基因型里不同亚型之间的序列差异在 20%~25%<sup>[3]</sup>。HCV 按照核苷酸序列的相似性分为 6 型以及 60 多个亚型<sup>[4]</sup>。本次对 41 例吸毒人员检出 5 种基因亚型, 分别为 1b 30 例, 占 73.2%; 1b+2a 4 例, 占 9.8%; 6 型 3 例, 占 7.3%; 2a 2 例, 占 4.9%; 3a 及 1b+3a 各 1 例, 占 2.4%, 1b 及 1b+2a 共 34 例, 占 83%, 为本地区吸毒人员感染的主要基因亚型。

HCV 基因分型对于流行病学调查和临床诊断、治疗方案的选择和预后的判断以及丙型肝炎发病机制的研究都有重要意义。已证明 HCV 的基因型能影响抗病毒治疗的效果, 感染 HCV 基因 1 型或基因 4 型的患者对使用干扰素和病毒唑(三氮唑核苷, ribavirin)的标准治疗反应较差, 至少需延长治疗期 1 年; 而且感染基因 1 型和基因 4 型的患者比其他基因型能更快地发展成慢性肝病<sup>[5-6]</sup>。病例调查显示, 在诸多可能的影响因素中, HCV 只有基因型与肝硬化更相关, 同时也与肝细胞癌相关。目前更多 HCV 感染者出现了临床表现, 在我国传染病报告中丙型肝炎的报告率逐渐增多, 感染所带来的严重后果正日益显现<sup>[2]</sup>。控制 HCV 传播、提高丙型肝炎的治疗效果需

要依赖于及时、准确的实验室诊断。

参考文献

[1] 严艳,李卓.丙型肝炎病毒基因型的研究进展[J].国际病毒学杂志,2007,14(6):169-173.  
 [2] 魏来,杨瑞锋.丙型肝炎病毒实验室诊断的现状与存在的问题[J].中华检验医学杂志,2008,31(8):845-848.  
 [3] Simmonds P,Bukh J,Combet C,et al.Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes[J].Hepatology,2005,42(4):962-973.

[4] 张厚勤.丙型肝炎病毒基因型的研究进展[J].中国现代医生,2007,45(15):144-145.  
 [5] 谢青,董志霞,项晓刚.乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒共感染的临床特征及治疗[J].内科理论与实践,2009,4(2):92-96.  
 [6] 张瑞,杜绍财,邱国华,等.中国丙型肝炎病毒基因型研究新进展[J].中国生物工程杂志,2004,24(9):93-94.

(收稿日期:2011-06-14)

## 镜检法与仪器法检查尿液细胞成分的对比分析

张红芬(云南省昆明市第二人民医院重机厂医院检验科 650203)

**【摘要】 目的** 对比显微镜检查与尿干化学分析仪检测尿液细胞成分的符合情况。**方法** 采用 uritest150 干化学分析仪和显微镜检查 1 240 份尿液,对白细胞和红细胞阳性标本检测结果进行对比。**结果** 以镜检法为标准,干化学分析仪白细胞符合率 92.4%,红细胞符合率 87.1%。**结论** 临床尿液检验中应重视镜检,以免造成误诊和漏诊。

**【关键词】** 显微镜检查; 尿液; 干化学分析

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.23.056 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)23-2915-02

尿液分析仪在临床检验中已广泛应用。在实际工作中,有些检验人员在尿液有形成分形态学检查时过分依赖自动化仪器而忽视了显微镜检查,由此导致产生了错误的报告<sup>[1-3]</sup>。用尿沉渣镜检(镜检法)和 uritest150 干化学分析仪(仪器法)对 1 240 份尿液标本进行检测,现将实验与分析结果报道如下。

### 1 材料与与方法

**1.1 材料** 取自本院门诊和住院患者 1 240 份随机尿液,及时送检,2 h 内完成检测。

**1.2 仪器** uritest150 尿分析仪及其配套试纸条,Olympus 光学显微镜。

**1.3 方法** 将试纸条浸入 10 mL 尿液中 2 s 后取出,上机测定,然后用 1 500 r/min 离心 10 min,弃去上清液 9.8 mL,留 0.2 mL 沉渣混匀后涂片镜检,观察 10 个视野,白细胞 0~5 个/高倍视野,红细胞 0~3 个/高倍视野为正常,超出范围为阳性。

### 2 结果

**2.1** 在 1 240 份尿液标本中以镜检白细胞小于 5 个/高倍视野为正常,>5 个/高倍视野为异常,则仪器法测定白细胞的敏感性 92.1%(212/230),特异性 91.9%(1 024/1 114),符合率 92.4%(1 146/1 240),见表 1。

表 1 仪器法与镜检法白细胞测定结果(n)

仪器法	镜检(个/高倍视野)			
	0~5	6~15	16~30	>30
-	1 024	10	8	0
±	50	22	6	4
+	28	24	14	8
++	10	12	8	8
+++	2	4	2	10

注:-表示阴性,±表示弱阳性,+表示阳性。

**2.2** 1 240 份尿液标本中用尿液分析仪测出隐血阳性 442 份,

阴性 756 份。在隐血阳性标本中镜检无红细胞者 78 份,不符合率 17.6%(78/442)。在隐血阴性的标本中镜检发现红细胞者 94 份,符合率 87.6%(664/758),见表 2。

表 2 仪器法与镜检法红细胞测定结果比较

仪器法	n	镜检(个/高倍视野)			
		0~5	6~15	16~30	>30
-	660	68	19	7	0
±	44	64	29	5	5
+	17	44	44	10	12
++	12	24	19	24	15
+++	5	7	15	20	32

注:-表示阴性,±表示弱阳性,+表示阳性。

### 3 讨论

**3.1** 由表 1 可以看出,仪器检查白细胞阳性低于镜检白细胞检出率。

**3.2** 隐血阴性主要分布在红细胞含量很少的尿液中,但即使仪器检查阳性,也不能排除镜检有红细胞的可能<sup>[4]</sup>。本文 1 240 份尿液标本红细胞中隐血阴性的有 758 份,其中 664 份镜检无红细胞阴性,可靠值为 87.6%,95 份镜检有意义。其中 68 份尿液标本中红细胞镜检在 0~5 个/高倍视野,19 例镜检在 6~15 个/高倍视野,7 例镜检在 16~30 个/高倍视野。由此可知在隐血阴性的情况下,尿沉渣镜检这一步骤也是必不可少的,否则会造成漏诊。

**3.3** 先进的检测仪器大大提高了检验人员工作效率,使检验结果更为准确,为临床提供了许多新的参数和诊断标准,但由于尿液成分的复杂性,会造成检验结果出现假阴或假阳结果,造成漏检或误诊。金标准的镜检法有“体外肾活检”之称,不可因为多种新的仪器予以忽视。所以仪器法和镜检法联合应用,即使尿液分析仪测定结果全部正常也应该认真镜检,减少假阴性,以免造成误诊和漏诊,为临床提供更全面、更可靠的检验