

南通地区乙型肝炎病毒基因型分布特点

曹亚丽, 陈琳, 吴月平, 赵建华, 吴玉兰 (江苏省南通市第三人民医院检验科 226006)

【摘要】 目的 了解南通地区乙型肝炎病毒(HBV)基因型分布情况及其临床特点。方法 选取南通地区 HBV 感染者共 125 例, 其中无症状携带者(ASC)31 例, 慢性乙型肝炎(CHB)46 例, 乙型肝炎肝硬化(HLC)23 例, 原发性肝细胞癌(HCC)25 例。应用实时荧光 PCR 试剂盒进行血清 HBV 基因分型测定。结果 对 HBV-DNA 阳性的 116 例标本进行 HBV 基因分型, 其中 B 基因型 35 例(30.17%), C 基因型 76 例(65.52%), B+C 混合基因型 5 例(4.31%), 未检出非 B 非 C 型。其中 ASC 组 HBV-DNA 定量阳性患者中以 B 型为主(86.36%); 而其余 3 组感染者中以 C 型基因居多: CHB 患者中 C 型为 80.43%, HLC 患者中 C 型为 69.57%, HCC 患者中 C 型为 80%。结论 南通地区 HBV 基因型主要以 C 型为主, 其次为 B 型。HBV 基因 C 型与 B 型各有显著的临床特点, 可为临床诊断及指导临床抗乙肝病毒药物治疗提供依据。

【关键词】 乙型肝炎; 乙型肝炎病毒; 基因型

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.037 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)13-1610-02

乙型肝炎病毒(HBV)是严重威胁人类健康的病原体之一, 全世界约有 HBV 感染患者 20 亿, 其中有超过 3.5 亿发展为慢性感染患者, 且每年约有 60 万人死于慢性或急性乙型肝炎。我国是乙型肝炎的高发区, HBV 感染者约占总人口的 10%, 其中慢性乙型肝炎(HB)患者人数高达 3 000 万。HBV 感染后的临床过程多种多样, 除了宿主的免疫状况、感染方式等, 与感染病毒株的基因型种类也关系密切。研究表明, 基因型的分布与地理因素、人种差异有关, 同时也与肝病活动、预后和治疗的疗效相关^[1-2], 本研究采用荧光定量 PCR 方法, 应用商品化 HBV 基因分型试剂盒, 对南通地区的 HBV 基因型流行情况进行初步调查, 以明确本地区 HBV 基因型的分布情况, 探讨不同 HBV 基因型感染者的临床特点, 以期为临床诊断及指导临床抗乙肝病毒药物治疗提供依据。

1 材料与方 法

1.1 研究对象 所选 125 例 HBV 感染者为 2009 年 6 月至 2010 年 12 月间在本院住院患者, 其中男 79 例, 女 46 例, 年龄 22~68 岁。其中无症状携带者(ASC)31 例; CHB 46 例; 乙型肝炎肝硬化(HLC)23 例, 原发性肝细胞癌(HCC)25 例。所选病例均排除甲、丙、丁、戊等其他类型肝炎病毒感染及其他可导致肝脏病变的疾病, 诊断均符合 2000 年第十次全国(西安)病毒性肝炎会议修订的病毒性肝炎诊断标准^[8]。抽取患者静脉血 3 mL, 离心后取血清, -20 °C 冰箱冻存备用。采血同时收集临床资料。

1.2 血清病毒学标记物检测 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)、抗-HBs、乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)、抗-Hbe、抗-HBc, 试剂由英科新创(厦门)科技有限公司提供, 操作按照试剂盒说明书进行。采用荧光定量 PCR 方法检测血清 HBV-DNA 拷贝数, 以截止值大于或等于 1×10^3 copy/mL 为阳性。HBV-DNA PCR 检测试剂盒由中山大学达安基因股份有限公司提供。

1.3 基因型的检测 HBV 基因分型测定试剂盒由上海复星医学科技发展有限公司提供, 采用特异性荧光实时 PCR 方法进行 HBV 基因分型, 操作严格按试剂盒说明书进行。

2 结 果

31 例 ASC 中 22 例 HBV-DNA 定量阳性, 其他 3 种 HBV 感染者 HBV-DNA 定量全部阳性。对 HBV-DNA 阳性的 116 例标本进行 HBV 基因分型, 其中 B 基因型 35 例(30.17%), C

基因型 76 例(65.52%), B+C 混合基因型 5 例(4.31%), 未检出非 B 非 C 型。其中 ASC 组 HBV-DNA 定量阳性患者中以 B 型为主(86.36%); 而其余 3 组感染者中以 C 型基因居多: CHB 患者中 C 型为 80.43%, HLC 患者中 C 型为 69.57%, HCC 患者中 C 型为 80%。各组 HBV-DNA 阳性患者基因型分布特点见表 1。

表 1 南通地区 116 例 HBV-DNA 阳性患者基因型分布特点[n(%)]

组别	n	HBV-DNA	B 型	C 型	B+C 型
ASC	31	22(70.97)	19(86.36)	3(13.64)	0(0.00)
CHB	46	46(100.00)	7(15.22)	37(80.43)	2(4.35)
HLC	23	23(100.00)	5(21.74)	16(69.57)	2(8.69)
HCC	25	25(100.00)	4(16.00)	20(80.00)	1(4.00)
合计	125	116(92.80)	35(30.17)	76(65.52)	5(4.31)

3 讨 论

HBV 属于嗜肝 DNA 病毒科, 其基因组为部分闭合双链环状 DNA, 全长约 3.2 kb。根据 HBV 全基因组序列大于 8% 的差异, HBV 可以分为 A~H 8 个亚型。HBV 基因型呈一定的地理区域性分布: A 型主要分布于西欧、北欧、北美洲及非洲地区; B 型和 C 型主要分布于亚洲、澳大利亚地区; D 型是地中海地区的主要基因型; E 型主要分布非洲; F 型主要分布美国。我国 HBV 基因型主要为 B 和 C 型为主, D 型仅见于西部及少数民族地区, A 型较为罕见, 也存在某些基因型的混合感染, 但不同地区也存在差异。研究表明, HBV 基因型与临床表现、预后判断、治疗应答均有一定关系。通过对不同地区乙肝病毒基因型的流行特点进行动态研究可以跟踪乙肝病毒的流行趋势、耐药特点及其变异情况, 并可为乙肝病毒的防治策略的更新、新药研制及疫苗研发提供及时可靠的实验依据^[3-4]。

南通地区乙肝病毒基因型的流行特点尚未有报道。本研究采用荧光定量 PCR 方法对本地区乙肝病毒基因型进行了初步分析, 31 例无症状携带者中有 22 例 HBV-DNA 定量为阳性, 其他 3 种 HBV 感染者 HBV-DNA 定量全部为阳性。对 HBV-DNA 阳性的 116 例标本进行 HBV 基因分型, 其中 B 基因型 35 例(30.17%), C 基因型 76 例(65.52%), B+C 混合基因型 5 例(4.31%), 未检出非 B 非 C 型。其中 ASC 组 HBV-DNA 定量阳性患者中以 B 型为主(86.36%); 而其余 3 组感染

者中以 C 型基因居多。CHB 患者中 C 型为 80.43%，HLC 患者中 C 型为 69.57%，HCC 患者中 C 型为 80%。南通地区 HBV 基因型主要以 C 型为主，其次为 B 型。HBV 基因 C 型与 B 型各有显著的临床特点，可为临床诊断及指导临床抗乙型肝炎药物治疗提供依据。

研究发现，HBV 基因型与临床表现、预后、治疗应答均有一定关系，不同基因型具有不同的致病性。随着疾病严重程度的增加，C 型所占的比例升高，而 B 型所占比例降低，C 型对肝脏的损伤比 B 型更严重，更易发展成为肝硬化^[5-6]。本研究发现 HBV 基因型与疾病的活动性可能存在一定的关系，慢性乙型肝炎、肝硬化、原发性肝癌患者中 C 基因型比例明显高于无症状 HBV 携带者，B 基因型则在无症状 HBV 携带者比例较高。本文可以推测 C 基因型 HBV 感染者较 B 基因型更易发展成肝硬化，甚至原发性肝癌。

参考文献

[1] 梅晓莉. 慢性乙型病毒性肝炎的治疗研究进展[J]. 临床和实验医学杂志, 2009, 8(2): 131-133.

[2] 刘磊. 乙型肝炎表面抗原携带者乙肝血清学标志物模式转变分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(11): 1301-1304.
 [3] Yuan HJ, Lee WM. Molecular mechanisms of resistance to antiviral therapy in patients with chronic hepatitis B [J]. *Curr Mol Med*, 2007, 7(2): 185-197.
 [4] Yuen MF, Sablon E, Yuan HJ, et al. Significance of hepatitis B genotype in acute exacerbation, HBeAg seroconversion, cirrhosis-related complications, and hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2003, 37(3): 562-567.
 [5] Hou J, Wang Z, Cheng J, et al. Prevalence of naturally occurring surface gene variants of hepatitis B virus in non-immunized surface antigen-negative Chinese Carriers[J]. *Hepatology*, 2001, 34(5): 1027-1034.
 [6] Atalay MA, Gokahmetoglu S, Aygen B. Genotypes of hepatitis B virus in Central Anatolia, Kayseri, Turkey[J]. *Saudi Med J*, 2011, 32(4): 360-363.

(收稿日期: 2011-12-28)

• 临床研究 •

金标斑点法及酶联免疫试验对 HIV 患者的临床测定效果对比

高友林, 张小红(江苏省如皋市人民医院检验科 226500)

【摘要】 目的 探讨研究金标斑点法(DIGCA)与酶联免疫吸附试验(ELISA)作为临床筛选人类免疫缺陷病毒(HIV)患者方法的有效性与适用范围。**方法** 对本院 2006 年 12 月至 2010 年 11 月间入院并申请输血的 14 325 例输血对象进行了输血前 HIV 抗体检查, 将抗 HIV 快速诊断 DIGCA 与 ELISA 进行了结果对比。**结果** 成功检出 8 例阳性样本, 两种方法的敏感性和特异性均为 100%。而对 14 325 例临床输血患者所得的血清样本进行了酶联免疫法 ELISA 初筛得到阳性例数 8 例, 使用 DIGCA 进行检测则得到阳性例数 10 例, 后将所有经两种方法筛选呈阳性的血清样本送至本市疾控中心艾滋病确认实验室进行了阳性鉴定, 最终显示共有 5 例患者的血清样本呈现 HIV 抗体阳性, HIV 阳性率为 0.035%。对于经 ELISA 检测结果呈阳性的 5 例样本平行进行 DIGCA 检测结果均呈阳性, 而除此 5 例之外, DIGCA 另检出了有 2 例血清样本 HIV 检测结果呈阳性, 但这 2 例血清样本后经市疾控中心艾滋病确认实验室进行了 HIV 阳性鉴别结果为假阳性。**结论** DIGCA 比较适用于急症患者及小型实验室 HIV 抗体初筛检测, 但不太适宜于大批量样本检测^[4]。因此 ELISA 恰恰相反, 它更加适用于样本量较大的检测情况, 而对于临床急症患者和样本量较少的情况应回避使用。

【关键词】 酶联免疫吸附试验; 金标斑点法; 获得性免疫缺陷综合征; 人类免疫缺陷病毒

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.038 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)13-1611-02

艾滋病即获得性免疫缺陷综合征(AIDS)是一种以破坏人体免疫系统方式导致人体免疫力降低而致死的疾病, AIDS 在 1981 年在美国得以确认以来, 已经跻身为 21 世纪最为严重威胁人类健康的疾病之一^[1]。我国自 1985 年首例发现 AIDS 患者以来, 为防和杜绝因输血后患 AIDS 等血源性疾病引起的临床医疗事故, 出台法律明确规定受血者在被输注血液制品前均必须接受人类免疫缺陷病毒(HIV)的抗体检查^[2]。而在血液检查中如何准确快速地筛选出艾滋病毒 HIV 携带者, 已成为能否有效控制艾滋病的传播与危害的关键环节^[1]。在目前的学术界, 对于酶联免疫吸附试验(ELISA)已经成为目前分析化学领域中的前沿课题, 它是作为一种在免疫酶技术基础上发展起来的一种新型的试剂分析方法^[3]。为进一步探讨研究临床筛选 HIV 患者的有效方法及其临床作用, 本文对本院 2006 年 12 月至 2011 年 11 月间入院并申请输血的 14 325 例输血对象进行了输血前 HIV 抗体检查, 将抗-HIV 快速诊断试剂金标斑

点法(DIGCA)与 ELISA 进行了结果对比。并对所得临床数据进行了回顾式收集整理并进行了分析总结, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取了本院 2006 年 12 月至 2011 年 11 月间收治的 14 325 例住院需要输血的患者为研究对象, 患者中男 10 237 例, 女 4 088 例; 研究对象的年龄跨度范围为 17~72 岁, 平均年龄(47.6±103)岁; 研究所有患者均在输血前抽取 4~6 mL 左右静脉血共计 14 325 例血样。

1.2 材料与方法

1.2.1 材料与试剂 双抗原夹心酶联免疫法试剂盒及质控血清由厦门新创生物技术有限公司提供, 均有国家卫生部批准文号, “批检”合格且均在有效期内使用, HIV 抗体诊断试剂盒(北京万泰生物药业股份有限公司出产); HIV 金标试纸条(美国 EY 公司香港易佳科技公司提供且严格按说明书进行操作)。评价用质控血清 20 例选自卫生部血站系统免疫检验用样本。上