

京:人民卫生出版社,2007:738-741.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [S]. Wayne: CLSI, 2008.

[4] Hufnagel M, Burger A, Bartelt S, et al. Secular trends in pediatric bloodstream infections over a 20-year period at a tertiary care hospital in Germany[J]. Eur J Pediatr, 2008, 167(44):1149-1159.

[5] Greenberg D, Moser A, Yagupsky P, et al. Microbiological spectrum and susceptibility patterns of pathogens causing bacteraemia in paediatric febrile neutropenic oncology patients: comparison between two consecutive time periods with use of different antibiotic treatment protocols[J]. Int J Antimicrob Agents, 2005, 25(14): 469-473.

[6] 汤贝贝, 何贵元, 曹阳, 等. 2 256 例血培养标本病原菌分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(11):1326-1327.

[7] 曹三成, 贾凯, 王娟, 等. 某市新生儿败血症病原学及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(3):331-334.

[8] Piette A, Verschraegen G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease[J]. Vet Microbiol, 2009, 134(2):45-54.

[9] Beckmann SE, Diekema DJ, Doern GV, et al. Determining the clinical significance of coagulase negative staphylococci isolated from blood cultures infect control[J]. Hosp Epidemiol, 2005, 26(6): 559-566.

[10] 刘智勇, 府伟灵. 2003~2007 年西南医院流感嗜血杆菌临床分布及药敏情况分析[J]. 重庆医学, 2009, 38(2):144-147.

[11] Cavalcanti SM, Franca ER, Cabral C, et al. Prevalence of staphylococcus a UI-US introduced into intensive care units of a University Hospital[J]. Braz J Infect Dis, 2005, 9(1):56-63.

• 调查报告 •

某地区 HBV 感染者乙型肝炎病毒分子流行病学调查^{*}

林毅胜¹, 张志珊², 蒋燕成², 王文杰¹, 林慧英¹, 张璇¹, 吴福林¹

(1. 福建省泉州市中心血站 362000; 2. 福建省泉州市第一医院检验科 362000)

摘要:目的 调查泉州地区献血者人群 HBV 感染者 HBV 基因型、基因亚型及血清型的分布情况。方法 对 139 例献血者 HBsAg 筛查阳性的样本进行 S 区聚合酶链反应扩增测序, 应用 MEGA 3.1 软件通过与标准序列比对分析其基因型和基因亚型, 应用 Magnus 和 Norder 法进行血清型分析。结果 139 例样本中, 检测出 B 基因型 89 例 (64.0%), 其中 Ba 亚型 76 例 (85.4%), B3 亚型 11 例 (12.3%), B4 亚型 2 例 (2.3%); C 基因型 59 例 (36.0%), 其中 C2 亚型 47 例 (94.0%), C1 亚型 1 例 (2.0%), C5 亚型 1 例 (2.0%), 有 1 例属于未知亚型。血清型以 adw2 和 adr_q+ 为主, 分别为 78 例和 45 例, 2 例血清型未见报道。结论 泉州地区献血者人群 HBV 感染者中, 以 Ba 和 C2 亚型占优势, 血清型以 adw2 和 adr_q+ 为主。

关键词: 肝炎病毒; 乙型; 献血者; 基因型; 基因亚型; 血清型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.18.025

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)18-2101-03

根据乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 全基因组序列差异大于或等于 8%, 或 S 基因序列大于或等于 4%, HBV 可分为 8 个基因型 (A~H)^[1]。在基因型的基础上, 根据全基因组序列差异大于或等于 4%, HBV 又分为不同的基因亚型, 如 A 型可分为 Aa 和 Ae 亚型, B 型可分为 B1 (Bj)、B2 (Ba)、B3 和 B4 亚型, C 型可分为 C1 (Cs)、C2 (Ce)、C3~C7 亚型等^[1-3]。此外, HBV 分类还包括血清型分析。外膜主蛋白上的一些残基 (如 aal39~147, aal22 和 aal60) 决定 HBV 的血清亚型, 目前有 ayw1、ayw2、ayw3、ayw4、adw2、adw4、ayr、adr_q+ 和 adr_q-

[12] 代洪, 范学工. 金黄色葡萄球菌万古霉素耐药与凝固酶活性[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(1):19-22.

[13] Wang Z, Cao B, Liu YM, et al. Investigation of the prevalence of patients cocolonized or infected with methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant enterococci in China: a hospital-based study[J]. Chin Med J, 2009, 122(11):1283-1288.

[14] Han SH, Chin BS, Lee HS, et al. Vancomycin-resistant enterococci bacteremia: risk factors for mortality and influence of antimicrobial therapy on clinical outcome[J]. J Infect, 2009, 58(3):182-190.

[15] 朱英, 陈兰. 医院感染耐药菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(12):1789-1791.

[16] 陆红, 朱丽青, 吴庆, 等. 血液感染大肠埃希菌的耐药率及其产超广谱 β_2 -内酰胺酶分析[J]. 浙江检验医学, 2009, 7(2):17-19.

[17] 向延根, 石燕, 陈拥军, 等. 1 465 份血液普通细菌培养的病原菌分布及耐药率分析[J]. 实用预防医学, 2008, 15(6):1950-1953.

[18] Koh EM, Lee SG, Kim CK, et al. Microorganisms isolated from blood cultures and their antimicrobial susceptibility patterns at a university hospital during 1994-2003[J]. Korean J Lab Med, 2007, 27(4):265-275.

[19] Garcia JA, Cooper TR, Schneider VF, et al. Rapid detection of microorganisms in blood cultures of newborn infants utilizing an automated blood culture system[J]. Pediatrics, 2000, 105(3):523.

[20] Cockerill FR, Wilson JW, Vetter EA, et al. Optimal testing parameters for blood cultures[J]. Clin Infect Dis, 2004, 38(16):1724-1730.

(收稿日期:2011-03-16)

共 9 种类型^[4]。自从 1998 年我国全面实行无偿献血以来, 每年献血者已达 1 000 万例次, 掌握献血者人群 HBV 的分子生物学信息, 对于分析该地区“健康”携带者 HBV 的分子流行病学情况, 以及对于研究和预防 HBV 的输血传播具有重要的意义。本研究调查了泉州地区无偿献血者 HBV 的基因型、基因亚型及血清型分布情况, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 1 月至 2010 年 12 月泉州市中心血站收集的无偿献血者 HBsAg 阳性的标本共 139 例, 其中男 96

^{*} 基金项目: 泉州市科技项目 (2010Z62)。

例,女 43 例,年龄 18~55 岁,平均 31.3 岁。收集血浆置于-20℃保存。

1.2 仪器与试剂 PCR 扩增仪(ependorf 公司);凝胶成像系统(Bio-Rad 公司);PCR 缓冲液,Taq DNA 聚合酶均为 Takara 公司产品。

1.3 引物的设计 应用 Primer 5.0 软件,根据 HBV DNA (AY206391)设计两对引物。外侧引物:5'-CCT CCT GCT GGT GGC TCC AGT TC-3'(nt22~77),5'-GGC GGC AAA CCC CAA AAG ACC C-3'(nt1004~1025);内侧引物:5'-CTA GGA CCC CTG CTC GTG TTA CA-3'(nt181~203),5'-ATT ACA TAT CCC ATG AAG TTA AG-3'(nt870~892)。引物由上海生工生物技术服务有限公司合成。

1.4 病毒 DNA 的提取 取血浆 50 μL,加入 50 μL 裂解液,100℃保温 10 min,13 000 r/min 离心 5 min,上清液即为 HBV DNA。

1.5 S 基因的扩增 采用套式 PCR 法进行扩增,反应条件:94℃ 5 min,94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 60 s,共 35 个循环,72℃ 5 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳鉴定后,送上海生物工程股份有限公司进行测序。

1.6 基因型和基因亚型的分析 (1)从 DNA 数据库(Genbank)中获取已知基因型(A~I)的 HBV 病毒参考株的核苷酸序列,基因号为 AP007263、AY206391、AB113876、AB267090、GQ161834、DQ899150、AF160501 和 AY090454。(2)将获得的 139 条病毒序列(BD01~BD139)用 Sequencher 软件进行编辑、校正后,使用 clustal X 软件与参考毒株序列进行多重排列、比较和同源性分析,并计算出其共享序列;用 Bioedit 软件将序列长度编辑一致并进行格式转换后,利用 Mega 软件中 NJ(Neighbor-Joining)法进行系统进化树的构建(Bootstrap 1 000 次)及分析基因型。(3)基因亚型的分析:从 Genbank 中获取 B1~B4、C1~C7 基因亚型的 HBV 参考株序列,构建系统进化树,方法同上。

1.7 血清型的分析 采用 Magnus 和 Norder 的方法进行血清型分析^[4]。

2 结 果

2.1 HBV 基因型和基因亚型的分布 将测得的 139 例 HBV S 基因序列与 Genbank 中的 8 种已知基因型(A~H)的参考序列进行比较,确定样品 DNA 的基因型并进行系统进化分析,共有 B 型 89 例(64.0%),C 型 50 例(36.0%),未发现其他基因型。89 例 B 基因型的序列与 B1~B4 基因亚型的参考序列进行比对,构建系统进化树,结果显示 B2(Ba)亚型 76(85.4%)、B3 亚型 11 例(12.3%)、B4 亚型 2 例(2.3%)。50 例 C 基因型的序列与 C1~C7 基因亚型的参考序列进行比对,构建系统进化树,确定 C1(Cs)亚型 1(2.0%)、C2(Ce)亚型 47 例(94.0%)、C5 亚型 1 例(2.0%),有 1 例(BD23)可能属于未知亚型。

2.2 HBV 血清型的分布 采用 Magnus 和 Norder 的方法进行血清型分析,测得 adw2 78 例(56.1%)、adrq+ 45 例(32.4%)、ayw2 13 例(9.3%)、ayr 1 例(0.7%)。确定血清型 w1~w4 的 S 基因编码的蛋白质第 127 位氨基酸分别是脯氨酸(Pro、w1 或 w2)、苏氨酸(Thr、w3)、亮氨酸或异亮氨酸(Leu/Ile、w4),但第 74 位和第 138 位两个样本此位点分别变异为丝氨酸,导致血清型无法确定,表明可能是对亚型 w 的补充或是一种新的血清亚型,在此用 new 来标示。B 基因型的血清型以 adw2 为主(83.1%),C 基因型以 adrq+ 为主(90.0%),

血清型分布及与基因型的对应关系见表 1。

表 1 139 例 HBV 血清型和基因型的分布情况

基因型	例数(n)	基因型百分比(%)	血清型	例数(n)	血清型百分比(%)
B	89	64	adw2	74	53.2
			ayw2	1	9.3
			new	2	1.4
C	50	36	adrq+	45	32.4
			adw2	4	2.9
			ayr	1	0.7

3 讨 论

目前,HBV 基因型的检测主要包括全基因分析或 S 基因测序法、限制性片段长度多态性(RFLP)、型特异性引物 PCR、型特异性探针核酸杂交分析、微板核酸分子杂交-酶联免疫吸附测定和基因芯片法等,而测序法则是基因分型的金标准^[5-6]。本研究采用 S 基因直接测序法对 139 例 HBsAg 筛查阳性的献血者样本进行 HBV 基因分型,结果显示,泉州地区献血者人群 HBV 携带者的 HBV 基因型以 B 型占优势(64.0%),其余为 C 型。以往的研究表明,HBV 的基因型分布存在明显的地域差别,在我国,慢性乙型肝炎感染者中,北方以 C 基因型为主,南方以 B 基因型为主^[7-8]。而董菲等^[9]报道,昆明和洛阳两地的献血者人群中 HBV 携带者的 HBV 基因型都以 C 型为主,B 型次之。两者的研究结果略有出入,提示表观健康的献血者其 HBV 优势基因型可能与已发病的乙型肝炎患者的优势基因型存在一定的差别。而本组的调查结果显示,泉州地区献血者中 HBV 携带者的优势基因型与以往报道的泉州地区慢性乙型肝炎患者的优势基因型一致,均以 B 型为主^[10-11]。

亚型的分布也具有明显的地域特点,B1(Bj)亚型在日本 B 基因型 HBV 感染者中占很高的比例,B2(Ba)流行于所有亚洲国家^[2,12],C1 亚型主要分布于越南、缅甸、韩国和泰国等东南亚国家,C2 亚型主要分布于日本、韩国、孟加拉国和中国等远东亚国家^[13]。国内对基因亚型分布的研究很少,且只能对 B1/B2 和 C1/C2 亚型进行区分,尚未见对献血者中 HBV 携带者的基因亚型进行分析。本研究结果还显示,89 例 B 基因型样本中,以 Ba 亚型为主(85.4%),有少量 B3(12.3%)和 B4 亚型(2.3%)。50 例 C 基因型样本中,以 C2(Ce)亚型为主(94.0%),C1(Cs)亚型和 C5 亚型各 1 例,还有 1 例(BD23)可能属于未知亚型。此外,本研究还显示,泉州地区献血者人群 adw2 和 adrq+ 各占 56.1%和 32.4%,B 基因型的血清型以 adw2 为主(83.1%),C 基因型以 adrq+ 为主(90.0%)。HBV 的血清型除了流行病学意义外,与临床症状有无相关性有待于进一步研究。

总之,泉州地区献血者人群 HBV 基因型以 B、C 型为主,血清型以 adw2 和 adrq+ 为主,基因亚型以 Ba、C1 亚型占优势。获得的这些无症状携带者的 HBV 分子流行病学资料,为进一步研究 HBV 基因型、基因亚型及血清型与不同临床表型的乙型肝炎患者的关系,提供了对照资料,也为研究和预防 HBV 的输血传播提供理论依据。

参考文献

[1] Tanaka Y, Hasegawa I, Kato T, et al. A case control study for differences among hepatitis B virus infections of genotypes A

- (subtypes Aa and Ae) and D[J]. *Hepatology*, 2004, 40(3): 747-755.
- [2] Sugachi F, Kumada H, Sakugawa H, et al. Two subtypes of genotype B(Ba and Bj) of hepatitis B virus in Japan[J]. *Clin Infect Dis*, 2004, 38(9): 1222-1228.
- [3] Mulyanto H, Depamede SN, Surayah K, et al. A nationwide molecular epidemiological study on hepatitis B virus in Indonesia: identification of two novel subgenotypes, B8 and C7[J]. *Arch Virol*, 2009, 154(7): 1047-1059.
- [4] Magnus LO, Norder H. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene[J]. *Intervirology*, 1995, 38(2): 24-34.
- [5] 吴赞, 孙余健, 沈佐君. 乙型肝炎病毒的国内研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(7): 703-704.
- [6] 黄文瑶, 张水兰, 周敏, 等. 基因芯片技术在乙型肝炎病毒耐药和分型检测中的价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2009, 30(7): 677-679.
- [7] 范金水, 庄辉, 李远贵, 等. 我国八城市 HBsAg 阳性和阴性乙型肝炎患者的病毒血清型和基因型分析[J]. *中华微生物和免疫学杂志*, 1998, 18(2): 88-91.
- [8] 夏国良, Omaha, 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[J]. *中华流行病学杂志*, 2001, 22(5): 348-351.
- [9] 董菲, 王憬惶, 杨通汉, 等. 昆明、洛阳两地献血者人群 HBV 携带者的 HBV 基因型分布[J]. *中国输血杂志*, 2009, 22(7): 552-554.
- [10] 许正锯, 黄以群, 张启华, 等. 泉州地区乙型肝炎病毒基因型分布特点及临床意义[J]. *中华传染病杂志*, 2004, 22(6): 393-395.
- [11] 张志珊, 苏智军, 林毅胜, 等. 泉州地区慢性乙型肝炎患者 HBV 基因型、基因亚型及血清型分布调查[J]. *中国人兽共患病学报*, 2010, 26(11): 1037-1040.
- [12] Norder H, Courouee AM, Coursaget P, et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes and HBsAg subtypes[J]. *Intervirology*, 2004, 47(6): 289-309.
- [13] Huy TT, Ushijima H, Quang VX, et al. Genotype C of hepatitis B virus can be classified into at least two subgroups[J]. *J Gen Virol*, 2004, 85(2): 283-292.

(收稿日期: 2011-05-22)

• 调查报告 •

1 254 例健康体检者血脂和血糖检测结果分析

包凌娟, 任 君, 史新辉

(中国人民解放军第三二四医院检验科, 重庆 400020)

摘要:目的 了解体检人群血脂中总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、血糖(GLU)水平分布情况, 为本地区心脑血管疾病、糖尿病的预防提供依据。方法 对 1 254 例健康体检者按年龄共分为 6 组(其中 20~29 岁组 216 例, 30~39 岁组 264 例, 40~49 岁组 234 例, 50~59 岁组 204 例, 60~69 岁组 180 例, 70 岁以上组 156 例), 并且对 TC、TG、HDL、LDL 和 GLU 检测结果进行统计分析。结果 不同年龄组间的血脂、血糖比较差异有统计学意义, 30~49 岁血脂异常率偏高, 30~59 岁血糖异常率偏高。结论 高脂血症、糖尿病发病率的增高与生活习惯、工作性质和年龄结构有一定关系; 高血糖、高血脂有年轻化的趋势。提倡人们健康合理饮食, 早期发现和干预高血脂、高血糖, 对减少心脑血管疾病和糖尿病及其并发症有着重要意义。

关键词:血脂; 血糖; 数据收集

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 18. 026

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)18-2103-03

随着社会的进步, 人们生活水平的提高和膳食结构的改变, 不注意平衡饮食, 导致人群中血脂、血糖代谢紊乱的人数逐年增多, 而血脂代谢紊乱与动脉粥样硬化引起的冠心病关系密切, 高血糖是糖尿病的主要因素。据报道, 中国现阶段心血管疾病死亡率占第一, 脑血管疾病死亡率占第二^[1]。因此, 检测血清中的总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)和血糖(GLU)的目的在于监测心、脑和全身动脉血管, 高血糖引起的系列疾病以及查明疾病的原因, 具有重要的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 11 月至 2011 年 1 月在该院进行体检者的血脂、血糖数据, 共 1 254 例, 其中男 779 例, 女 475 例, 年龄最小 21 岁, 最大 72 岁, 平均 43 岁。按年龄分为 6 组: 20~29 岁组 216 例, 30~39 岁组 264 例, 40~49 岁组 234 例, 50~59 岁组 204 例, 60~69 岁组 180 例, 70 岁以上组 156 例。

1.2 检测方法 所有体检者检测前一晚禁油腻食物, 空腹 12 h 以上, 清晨采静脉血 3 mL, 分离血清。TG 采用 GPO-PAP 法, TC 采用 CHOD-PAP 法, HDL 和 LDL 采用直接法, GLU 采用 GOD-PAP 法。试剂均由上海科华生物有限公司提供, 采

用东芝 TBA-120FR 全自动生化分析仪检测, 所有血脂、血糖指标每天测试均带质控监控, 标本在抽血后 4 h 内测试完成。

1.3 结果判断 本实验室的正常参考值区间 TC: 3.1~5.7 mmol/L; TG: 0.57~1.46 mmol/L; HDL: 1.2~1.68 mmol/L; LDL: 2.51~4.1 mmol/L; GLU: 3.9~6.1 mmol/L。

1.4 统计学处理 全部数据输入计算机用 SPSS 统计软件进行分析。

2 结 果

2.1 不同年龄组血脂、血糖的检测结果 血脂、血糖总的趋势和年龄呈正相关($P < 0.01$)。TC、GLU 在 30~39 岁组上升明显, 与 20~29 岁组比较差异有统计学意义($P < 0.01$), TC 在 50~59 岁组达到峰值, 60~69 岁组开始下降, HDL 与年龄关系不明显($P > 0.05$), LDL 与年龄关系呈正相关。见表 1。

2.2 不同年龄组血脂、血糖升高情况 不同年龄组中 TC、TG、HDL、LDL、GLU 异常发生率比较, TC、TG、LDL、GLU 升高在各年龄组间的比较差异有统计学意义。20~29 岁组血脂、血糖异常率较低, 从 30~39 岁组开始, 血脂、血糖异常率开始增高, 特别是 30~39 岁组异常率最高。TG、HDL、LDL 在 50~59 岁组下降到最低, 60~69 岁组血脂异常率略有上升。