

## 桂西壮族人群乙肝病毒基因型研究\*

黄重敏\*\*, 覃亚勤, 覃后继, 卢东, 何延专, 覃雪英

(右江民族医学院附属医院, 广西百色 533000)

Study on Hepatitis B Virus Genotypes in Groups of the Zhuang  
Nationality in Western Guangxi

HUANG Chong-Min, QIN Ya-Qin, QIN Hou-Ji, LU Dong, HE Yan-Zhuan, QIN Xue-Ying

(Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Beishe 533000, Chian)

**Abstract:** To study the distribution characteristics of *Hepatitis B virus* (HBV) genotypes in groups of the Zhuang nationality of Baishe in Guangxi, the PCR sandwich hybridization-ELISA technique was used to determine the genotypes in 30 patients of Zhuang nationality with hepatitis B. Genotype B, C, D and non A~F were found in this group, in which 56.6% of them were type D, 46.6% type C, 33.3% type A~F, 20% type B. Most patients were found with types C+D, D+B or C+B. It is suggested that there are genotypes D, C, B and non A~F in this area, and the major one was genotype D. There are mixture of genotypes C+D, B+C, D+B in this region, so the HBV genotype might be associated with area and nationality.

**Key words:** *Hepatitis B virus*; Genotype; Zhuang nationality

关键词: 乙型肝炎病毒; 基因型; 壮族

中图分类号: R512.6

文献标识码: A

文章编号: 1003-5152(2004)02-0177-02

为了解广西西部壮族人群乙型肝炎病毒(*Hepatitis B virus*, HBV)基因型分布特点, 本文运用 PCR 微板核酸杂交-ELISA 技术对 30 例壮族慢性乙型肝炎病人进行了 HBV 基因型检测, 现初步报告如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 病例选择

为 2001 年 1 月至 2002 年 2 月本院住院和门诊病人 30 例。全部病人 HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA 阳性, 包括慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化, 年龄 18~65 岁, 男 21 例, 女 9 例。诊断标准符合 2000 修订的病毒性肝炎防治方案。

### 1.2 HBV DNA 基因分型检测

采用第一军医大学基础部生物医学诊断研究中心研制的 PCR 微板核酸杂交-ELISA 技术进行基

因分型 (由该中心负责分型检测)。

标本处理: 取处理液 100 $\mu$ L 于 0.5mL 离心管内, 加待测血清 100 $\mu$ L, 混匀, 100 $^{\circ}$ C 煮沸 15min, 12000r/min 离心 5min, 取上清液待用。

基因扩增: 取上清液 12 $\mu$ L 于反应液管内, 弹匀, 10000r/min, 离心 10s, 上机, 预变性 94 $^{\circ}$ C 2min, 循环条件: 94 $^{\circ}$ C 50s, 53 $^{\circ}$ C 50s, 72 $^{\circ}$ C 65s, 共循环 35 次, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 3min。

探针包被与封闭: 在 37 $^{\circ}$ C 下, 用碳酸盐缓冲液 (pH9.6) 等将包被探针在微板孔上包被 14h。用封闭剂封闭微板孔非特异性结合位点。

杂交: 各取杂交液 90 $\mu$ L (或 3 滴)、乙变性产物 20 $\mu$ L、各型核酸探针 23 $\mu$ L (每一型加一孔), 分别加入反应孔内, 轻轻摇动混匀, 50 $^{\circ}$ C 水浴 60min, 倒净液体。于每孔中加入洗液 200 $\mu$ L (或 8 滴), 37 $^{\circ}$ C

收稿日期: 2003-10-13, 修回日期: 2003-12-09

\* 基金项目: 广西自然科学基金课题资助 (桂科自 0249015)

\*\* 通讯作者: 黄重敏 (1957-), 男, 广西壮族, 副教授, 主要从事病毒性肝炎防治研究。

Corresponding author. Tel: 13707769098, E-mail: zhongminhuang@MSN.com

3-5min, 倒净再重复洗 1 次。于每孔中加入酶标抗体 100 $\mu$ L (或 2 滴), 37 $^{\circ}$ C 30min 后, 倒尽, 每孔加入洗液 200 $\mu$ L (或 8 滴), 置室温 3-5min, 再重复洗 2 次, 每孔加入显色剂 A、B 各 1 滴, 避光, 置室温 10min 后, 加入 2mol/L 硫酸溶液 1 滴, 于 450nm 波长测 A 值。

结果判断:  $P/N \geq 2.1$  为 HBVDNA 阳性,  $P/N$  值  $< 2.1$  为阴性 (阴性对照 A 值小于 0.05, 按 0.05 计算;  $P/N$  比值=标本 A 值/阴性对照 A 值)。6 型杂交孔中, 呈阳性结果者即为所检病毒基因型。

## 2 结果与讨论

30 例壮族乙型肝炎患者分为 B、C、D 型, 尚有非 A~F 型, 其中以 D 型为主, 占 56.6% (17/30) 其次为 C 型, 占 46.6% (14/30), 非 A~F 型 23.3%, B 型最少, 占 20% (6/30)。详见表 1。

表 1 30 例广西百色壮族人 HBV 基因型检测结果  
Table 1 HBV genotypes in 30 patients of the Zhuang nationality in Beishe Guangxi

Genotype	A	B	C	D	E	F	C+D	C+B	B+D	No
										A~F
Patients	0	2	2	5	0	0	10	2	2	7
%	0	6.6	6.6	16.7	0	0	36.7	6.6	6.6	23.3

近几年来, 国内外的研究表明<sup>[1]</sup>, HBV 基因型呈地理区域性分布。A 型主要分布在欧洲北部、西部及非洲撒哈拉沙漠地区, B、C 型主要分布在远东东部、亚洲南部地区, 但各地报道其优势基因型存在一定的差异, D 型分布最广, 主要分布于地中海和远东, 也发现于亚洲少数地区, E 型主要分布于非洲撒哈拉沙漠地区, F 型主要分布在美国, G 型发现于法国和美国, 而 Orito 等<sup>[2]</sup>报道, 在东亚地区慢性 HBV 感染者则以基因型 B、C 为主, 这种地域性分布反映了 HBV 感染史中发生的变异特点。我国是 HBV 感染高发区, 人群 HBsAg 携带率达 10% 以上, 加强对我国 HBV 基因型分布研究, 了解其分布特点和与疾病进展相关性, 对了解我国 HBV 变异特点和 HBV 感染的预防与控制有着重要意义。我国医学工作者近年来也相断开展了 HBV 基因型

研究, 有报道<sup>[3]</sup>认为我国共发现 B、C、D 三型, 以 C 型和 B 型为主, 北方主要是 C 型, 深圳特区为 B、C、D 三型, 以 B 型为主, 还有 CB、CD 两种混合形式, 刘映霞等<sup>[4]</sup>报道湖南省 HBV 基因型为 B、C 两型, 以 B 型为主, 朱冰等<sup>[5]</sup>报道广州地区 HBV 基因型为 B、C、BC、未分型, 以 B 型为主, 而王虹等报道<sup>[6]</sup>, 用 PCR 微板核酸杂交-ELISA 法对广州地区人 HBV 感染者进行基因分型研究, 结果发现 HBV 分为 A、B、C、D、E、F 六型, 以 B 型为主, 还有多种混合形式。本初步研究发现, 桂西 (广西西部) 壮族人群 HBV 基因型有 B、C、D 型, 其中以 D 型最多见, 其次为 C 型, 未分型排第三位, 与国内其他报道不一致。表明, 桂西壮族人群 HBV 基因型分布及其优势基因型与国内其他地方人群比较, 有一定的特殊性和自身特点规律, 可能与地域和民族有关。本研究还显示, 本地壮族人群存在 CD、BD、BC 混合形式, 且混合存在比 D、B、C 单纯感染多见, 原因未明。此外, 本文未分型比例较高, 是否为 G 型或是尚未发现的基因型等有待进一步深入研究。

致谢: 本研究得到第一军医大学基础部生物医学诊断研究中心王虹教授等支持, 在此表示感谢。

## 参考文献

- [1] 李天一. 乙型肝炎病毒基因分型及其临床意义[J]. 临床肝胆杂志, 2002, 18(1): 9-10.
- [2] Orito E, Ichida T, Sakugawa H, *et al.* Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan[J]. *Hepatology*, 2001, 34: 590-594.
- [3] 苏冬娜, 吴诗品, 石之磷. HBV 基因分型的检测及其意义[J]. 临床荟萃, 2002, 17(22): 1303-1304.
- [4] 刘映霞, 胡国龄, 谭德明. 湖南省乙型肝炎病毒基因型分布及临床意义[J]. 湖南医科大学学报, 2002, 27(1): 29-31.
- [5] 朱冰, 仇瑞珍, 苏燕莉, 等. 广州地区小儿无症状乙型肝炎病毒携带者的基因型研究[J]. 现代临床医学生物工程学杂志, 2002, 8 (1): 3-4.
- [6] 王虹, 万成松, 王省良, 等. 采用 PCR 微板核酸杂交-ELISA 技术进行 HBVDNA 基因分型的研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2001, 21(2): 234-236.