·专题报道——积极行动，共抗丙肝·

广州市 99 例注射吸毒者 HCV 基因分布及耐药性分析

蒋力云，刘方华，吴昊，黎庆梅，陈希，韩志刚

广州市疾病预防控制中心艾滋病预防控制部，广州 510440
通信作者：韩志刚，E-mail：zhiganghan616@163.com

【摘　要】目的　了解广东省广州市注射吸毒者（IDUs）感染丙型肝炎病毒（HCV）基因型分布及耐药特征。**方法**　2023 年 8 月—2024 年 1 月，收集 99 例确诊为 HCV 感染的 IDUs 血浆样品，提取 RNA，对非结构蛋白 5B 区（NS5B）扩增和测序，使用 MEGA11.0.13 软件采用最大似然法构建基因进化树，上传 HCV 耐药监测数据库进行耐药位点分析。**结果**　99 例 IDUs HCV 感染者中，男性 86 例，女性 13 例，年龄>50 岁占 89.89%（89 例）。测得 NS5B 序列 96 条，检出 6a、3a、1b 和 3b 基因型 4 种基因型，分别占 45.83%、30.21%、20.83% 和 3.13%。在男性 IDUs 中，4 种基因型的分布差异有统计学意义。1b 基因型序列均检测出耐药突变 C316N。**结论**　广州市 IDUs 中 HCV 感染以 6a 基因型为主，各基因型的输入来源复杂，男性与女性 IDUs 中基因型流行情况存在有差别，中老年 IDUs 是需要关注的 HCV 感染重点人群，同时需要加强对 1b 基因型耐药性的关注。

【关键词】 丙型肝炎病毒；非结构蛋白 5B 区；基因型；耐药突变；注射吸毒者；广州市

Genotype distribution and drug resistance of hepatitis C virus among 99 intravenous drug users in Guangzhou

JIANG Liyun, LIU Fanghua, WU Hao, LI Qingmei, CHEN Xi, HAN Zhigang (*Department of AIDS Control and Prevention*, *Guangzhou Center for Disease Control and Prevention*, *Guangzhou* 510440, *China*)
Corresponding author: HAN Zhigang, E-mail: zhiganghan616@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the genotype distribution and drug resistance of hepatitis C virus (HCV) among intravenous drug users (IDUs) in Guangzhou**. Methods** Plasma samples were collected from 99 IDUs diagnosed with HCV infection between August 2023 and January 2024. RNA was extracted, and the non-structural protein 5B (NS5B) region was amplified and sequenced. Phylogenetic trees were constructed via the maximum likelihood method in MEGA11.0.13 software, and the sequences were uploaded to the HCV resistance surveillance database for drug resistance site analysis. **Results** Among the 99 HCV-infected IDUs, 86 were male and 13 were female, with 89.89% (89) of the cases aged over 50 years. A total of 96 NS5B sequences were obtained, revealing four genotypes: 6a, 3a, 1b, and 3b, which accounted for 45.83%, 30.21%, 20.83%, and 3.13%, respectively. The distribution of the four genotypes showed statistically significant differences among male IDUs. All 1b genotype sequences carried the clinically proven drug resistance mutation C316N. **Conclusions** The predominant HCV genotype among IDUs in Guangzhou is 6a, with complex sources of genotype introduction. The prevalence of genotypes differs between male and female IDUs, and middle-aged and elderly IDUs are a key population for HCV infection. Additionally, increased attention should be paid to the drug resistance of the 1b genotype.

【Keywords】 hepatitis C virus (HCV); nonstructual 5B (NS5B) region; genotype; drug resistance mutation; intravenous drug users; Guangzhou city

世界卫生组织（World Health Organization, WHO）统计显示，2022 年全球约有 5 000 万丙型肝炎病毒（hepatitis C virus, HCV）感染者，其中 100 万人为新感染者；通过对 105 个国家，1995—2020 年的数据分析发现，注射毒品是 HCV 感染的主要途径之一，占新感染 HCV 的 43.6%；中国因注射毒品造成 HCV 感染的绝对人数居全球第 2[1]。《丙型肝炎防治指南（2022 年版）》[2] 指出，我国 2020 年 HCV 感染者约 948.7 万例，静脉药瘾共用注射器和不安全注射是目前新发感染 HCV 最主要的传播方式，注射毒品造成 HCV 感染的形势不容忽视。泛基因型直接抗病毒治疗药物（direct antiviral agents, DAAs）的使用，对实现 WHO 实现“2030 年消除病毒性肝炎作为公共卫生威胁”的

开放获取：CC BY-NC-ND 4.0 DOI：10.11847/zgggws1147094
基金项目：广州市科技计划项目（2024B03J0821）
第一作者：蒋力云（1980—），主任技师，本科，研究方向：病毒病原学和分子生物学。
收稿日期：2025-02-13　修回日期：2025-02-24　录用日期：2025-08-13
利益冲突：不存在　伦理审查：已获取　出版授权：全体作者已与编辑部签署作者贡献声明及版权转让协议

目标具有积极意义。然而，DAAs 治疗方案并非适用于所有基因型，需根据当地基因型分布选择合适的治疗策略[2]。掌握 HCV 基因型的流行情况，选取有效的基因治疗方案，才能保障 WHO 目标的顺利实现。既往对于广州市注射吸毒者（intravenous drug users, IDUs）感染 HCV 情况报道较少，本研究通过对该人群感染 HCV 非结构蛋白 5B（nonstructual 5B, NS5B）区进行序列测定，并进行 HCV 感染基因型研究和耐药突变分析，为本地区规范采取基因型特异治疗方案提供参考，对控制 HCV 传播和实现公共卫生目标有重要意义。

1 资料与方法

1.1 样本来源　收集 2023 年 8 月—2024 年 1 月在广州医科大学附属第三医院确诊的 99 例 HCV 感染的 IDUs 血浆样本，诊断标准按照《丙型肝炎诊断：WS213—2018》[3]，病例信息来源于中国疾病预防控制信息系统传染病报告信息管理系统。本研究广州市疾病预防控制中心伦理委员会审批（审批编号：GZCDC-ECHR-2025P0001）。

1.2 HCV NS5B 基因序列测定　参考文献引物[4]，针对 HCV 的 NS5B 基因进行扩增，使用 PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2 试剂（北京，宝日医生物技术有限公司），反应条件为：50 ℃ 反转录 30 min，94 ℃ 预变性 6 min，94 ℃ 30 s，55 ℃ 30 s，72 ℃ 3 min，扩增循环 30 次，72 ℃ 延伸 7 min，产物送广州天一辉远公司测序。

1.3 HCV 基因分型及进化分析　测得的 NS5B 基因序列全部上传至 GenBank，并从 GenBank 中下载参考序列，使用 MEGA11.0.13 软件采用最大似然法（Maximum Likelihood）构建基因进化树，步长设为 1 000，基因型分类参考 Simmonds 的分类标准[5]。

1.4 HCV 耐药分析　将测序结果上传到 HCV 耐药监测数（https://hcv.geno2pheno.org/index.php）[6] 进行耐药位点分析。

1.5 统计分析　使用 Excel 2010 和 SPSS 27.0 软件进行数据整理和统计分析，计算按照年龄中位数，并按照年龄中位数划分为 2 个年龄组，计算不同基因型在两个年龄组及男女性别中是否存在显著性差异，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结　果

2.1 确诊病例信息　本研究共纳入 99 例确诊为 HCV 感染的 IDUs，其中男性 86 例，女性 13 例，男女比例为 6.62:1。年龄范围为 39～70 岁，年龄中位数为（60.00±5.66）岁，其中>50 岁的病例占 89.89%（89 例）。结果表明，在广州市 IDUs 中，中老年是感染 HCV 的主要人群。

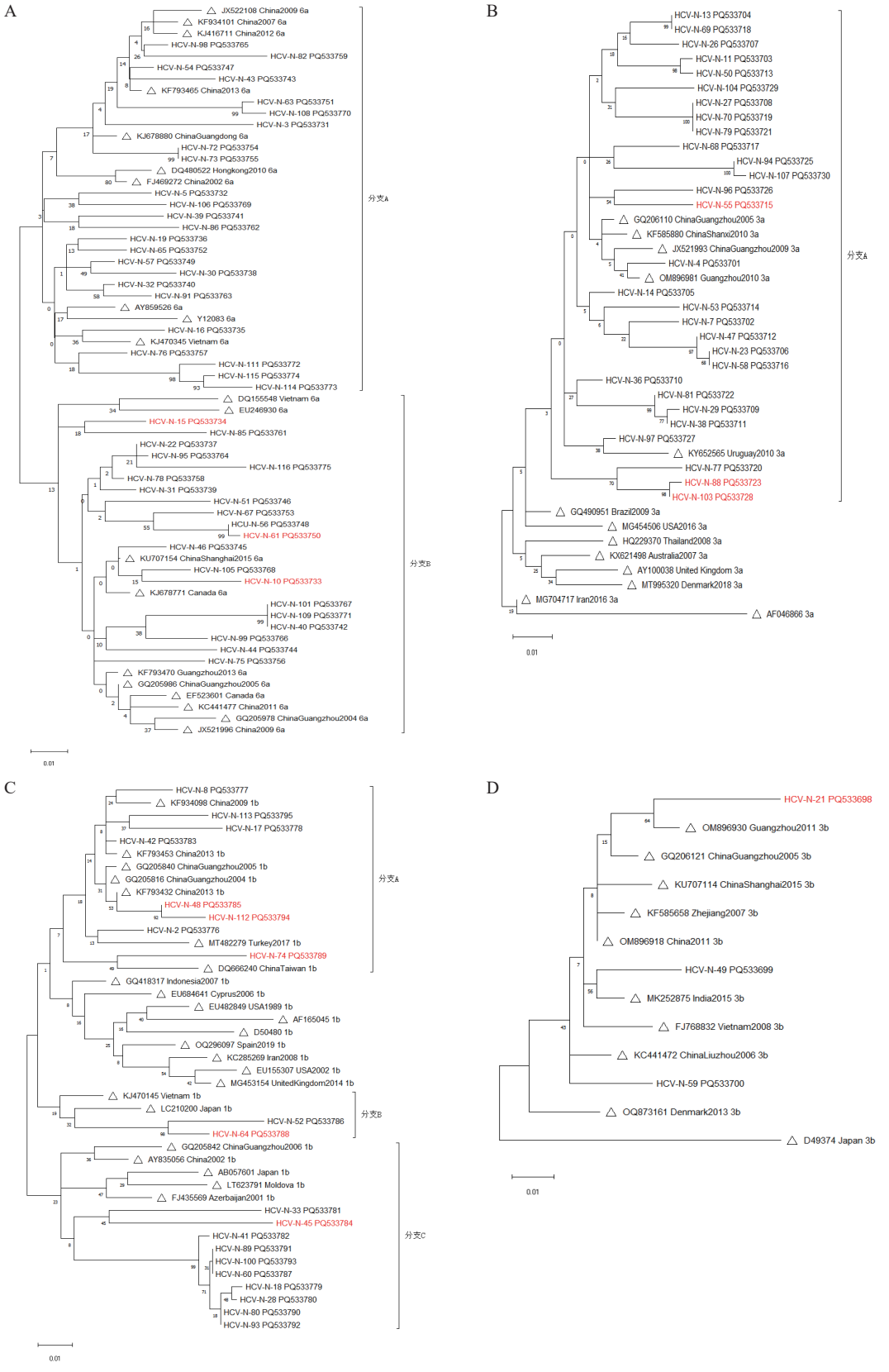
2.2 基因分型结果及人口学特征（表 1）　成功测得 NS5B 序列 96 条（96/99，96.96%），上传至 GenBank，序列号为 PQ533698–PQ533723，PQ533725–PQ533759，PQ5337761–PQ533795。基因分型结果显示，6a、3a、1b 和 3b 基因型分别占 45.83%（44 例）、30.21%（29 例）、20.83%（20 例）和 3.13%（3 例），具体分布见表 1。以年龄中位数划分为 2 组，结果显示 2 组基因型差异无统计学意义（F=3.446，P=0.322）。基因型分布在不同性别中存在显著差异：男性 IDUs 中，6a 基因型的比例显著高于其他基因型（χ^2=52.190，P=0.000），而女性 IDUs 中基因型分布差异无统计学意义（F=3.480，P=0.360）。

表 1　不同性别吸毒人群 HCV 基因亚型分布（例数，百分比/%）
Table 1　Distribution of HCV genotypes among different genders of intravenous drug users

基因型	男性								女性							
	31～40岁		41～50岁		51～60岁		61～70岁		31～40岁		41～50岁		51～60岁		61～70岁	
	n	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%
HCV-6a	0	0.00	5	5.81	17	19.76	19	22.09	0	0	1	7.69	2	15.38	0	0.00
HCV-3a	1	1.16	2	2.32	12	13.95	11	12.79	0	0	0	0.00	2	15.38	1	7.69
HCV-1b	0	0.00	1	1.16	10	11.62	4	4.65	0	0	0	0.00	4	30.76	1	7.69
HCV-3b	0	0.00	0	0.00	2	2.32	0	0.00	0	0	0	0.00	1	7.69	0	0.00
无测序结果	0	0.00	0	0.00	1	1.16	1	1.16	0	0	0	0.00	1	7.69	0	0.00

2.3 HCV NS5B 进化分析（图 1）　将测得的 NS5B 序列与 GenBank 中的参考序列比对并构建基因进化树，测得的序列用原始编号和 GenBank 序列号表示，参考序列以 GenBank 序列号、国家（地区）、年份和基因亚型表示，女性 IDUs 序列以红色字体显示。广州市 IDUs 中 6a 基因型可以进一

步分为分支 A 和 B(图 1A)，3 条女性 IDUs 序列均归属于分支 B。3a 基因型与国内既往序列和乌拉圭的序列归属于同一分支(图 1B)，与美洲、欧洲以及东南亚地区的序列亲缘性较远。1b 基因型可分为 3 个分支，分化度较高(图 1C)。3b 基因型仅有 3 条序列，归属于 1 个分支(图 1D)。



注：图中用△标示参考序列，红色字体的序列为女性 IDUs 序列。A：6a 基因型 NS5B 基因进化树；B：3a 基因型 NS5B 基因进化树；C：1b 基因型 NS5B 基因进化树；D：3b 基因型 NS5B 基因进化树。

图 1　HCV NS5B 基因进化树

Fig. 1　Phylogenetic trees of HCV based on NS5B gene

2.4 HCV NS5B 耐药基因突变分析　在 20 条 1b 基因型序列中，均检测出已被临床证实的耐药突变 C316N，突变率为 100%。其余基因型未检出已被临床证实的耐药突变。

3 讨　论

本研究对广州市 99 例 IDUs 感染 HCV 的基因型分布及耐药性进行分析，初步了解了该人群 HCV 感染的基因型特征及耐药突变情况。广州市 IDUs 中 HCV 感染以 6a 基因型为主，占比 45.83%，其次为 3a 基因型（30.21%）、1b 基因型（20.83%）和 3b 基因型（3.13%）。这一结果与既往广东省 IDUs 感染 HCV 的调查结果一致[7]，表明 6a 基因型在广州市 IDUs 中已成为优势基因型，提示在广州市制定 DAAs 治疗方案时，应优先考虑对 6a 基因型有效的药物。

HCV 基因型的分布具有明显的地域性差异。本研究结果显示，广州市 IDUs 中 6a 基因型的流行率最高，而 1b 基因型的流行率相对较低，这与全国其他地区的基因型分布有所不同。例如，江苏省、甘肃省和云南省等地的 IDUs 中，3 型基因型（尤其是 3 a 和 3b）占主导地位[8]。广州市作为我国重要的沿海城市，对外贸易和人员交流频繁，6a 基因型的流行可能与中国香港、越南等地区的输入有关。通过基因进化树分析，广州市 6a 基因型序列与中国香港、越南的序列具有较近的亲缘性，进一步支持了这一推测[4, 9–10]。此外，广州市 6a 基因型序列与加拿大流行的基因序列也有一定的亲缘性，提示不排除为加拿大输入毒株的可能性。3 型基因型在 IDUs 中也较为常见[11]，广州市流行的是 3a 和 3b 基因型。发达国家以 3a 基因型流行为主，南亚地区以 3a 和 3b 基因型流行为主[12]。对广州市 3a 基因型进化树分析发现，本地序列与英国、丹麦等发达国家序列不在同一分支上，却与乌拉圭的序列亲缘性相近；3b 基因型进化树显示，广州市 3b 序列与印度和越南的序列基因型相近。这进一步说明了不同地区间 HCV 基因型的传播和演化存在复杂的联系，也体现了对本地 HCV 基因型分布研究的重要性。1b 基因型在我国曾长期占据优势地位[4]，但近年来在广东地区已被 6a 基因型取代。本次研究中 1b 基因型占比虽低于 6 a 和 3a 基因型，但其在广州市已存在和流行较长时间，且呈现较高的分化度。

研究发现，广州市男性 IDUs 中，6a 基因型的流行率显著高于其他基因型，而女性 IDUs 中基因型分布差异无统计学意义。这一结果与既往研究中女性 IDUs 主要流行 1b 基因型的结论有所不同[13]，可能是由于本次研究中女性样本量较少所致。尽管如此，本研究仍提示性别因素可能影响 HCV 基因型的分布，未来研究应扩大女性 IDUs 的样本量，进一步验证该结果。

本研究中，>50 岁的 IDUs 占 89.89%，显示中老年群体是 HCV 感染的高危人群。全国医院感染监控网的监测结果也显示，50～60 岁年龄组的 HCV 阳性率最高，>40 岁人群的感染率显著高于≤40 岁人群[14]。中老年 IDUs 的高感染率可能与多种因素有关，包括长期注射毒品、婚外性行为以及多性伴等[15–16]。近年来，中老年人群的高危性行为普遍且多样，性传播风险较高，但相关知识知晓率较低[17–18]。因此，在防控 HCV 传播时，除了关注血液传播途径外，还应加强对中老年人群性传播的干预措施。

广州市 1b 基因型占比 20.83%，低于 6a 和 3a 基因型。尽管如此，1b 基因型的耐药性分析显示，所有 1b 基因型序列均检测出 C316N 耐药突变，突变率为 100%。亚洲地区 C316N 位点突变率较全球高[19]，我国该位点突变率高于亚洲平均水平，达 94.2%～100%[20–22]。C316N 突变可能导致 NS5B RNA 依赖性聚合酶的结构变化，进而影响索磷布韦等直接抗病毒药物（DAAs）的疗效[23]。因此，在对广州市 IDUs 进行 DAAs 治疗时，应特别关注 1b 基因型的耐药性，以提高治疗方案的有效性。

本研究样本量有限，尤其是女性 IDUs 的样本量较少，可能影响结果的代表性。此外，本研究仅对 NS5B 区进行了基因分型和耐药性分析，未来研究可考虑对 HCV 全基因组进行测序，以获取更全面的基因型信息和耐药突变情况。

综上所述，广州市 IDUs 中 HCV 感染以 6a 基因型为主，各基因型的输入来源复杂。中老年 IDUs 是 HCV 感染的高危人群，需加强防控措施。1b 基因型的 C316N 耐药突变率高达 100%，提示在 DAAs 治疗中应加强对 1b 基因型耐药性的关注。未来研究应扩大样本量，尤其是女性 IDUs 的样本量，以进一步验证本研究的结果，并为 HCV 的防控和治疗提供更全面的参考依据。

数据可用性声明　本研究中的病例相关数据来源于对人类受试者的研究，涉及个人敏感信息。在进行研究之前，研究团队已按照国际伦理准则和国家相关法律法规的要求，向广州市疾病预防控制中心伦理委员会提交了详细的研究方案并获批准。由于数据的敏感性以及保护参与者隐私的需要，无法公开提供原始数据。

参考文献

[1] WHO. Global hepatitis report 2024: action for access in low- and middle-income countries[EB/OL]. (2024-04-09). https://www.who.int/

publications/i/item/9789240091672.

[2] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 丙型肝炎防治指南 (2022 年版)[J]. 中华传染病杂志, 2023, 41(1): 29-46.

[3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 丙型肝炎诊断: WS 213—2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.

[4] Lu L, Nakano T, He Y S, et al. Hepatitis C virus genotype distribution in China: predominance of closely related subtype 1b isolates and existence of new genotype 6 variants[J]. Journal of Medical Virology, 2005, 75(4): 538-549.

[5] 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.

[6] 朱燕涛, 杨壁珲, 张念, 等. 云南省部分地区 HIV/HCV 共感染患者 NS5B 基因遗传进化及 C316 N 耐药位点分析 [J]. 中国艾滋病性病, 2023, 29(9): 1033-1035.

[7] 王敏, 许茹, 廖峭, 等. 广东 HCV 进化与注射吸毒者 HCV NS5B 区正向选择位点的分析研究 [J]. 中国输血杂志, 2022, 35(6): 597-601.

[8] 陈兵, 马仲慧, 常浩, 等. 我国部分地区静脉吸毒人群 HCV 基因型分布的探讨 [J]. 中国艾滋病性病, 2017, 23(8): 691-694.

[9] Noppornpanth S, Lien T X, Poovorawan Y, et al. Identification of a naturally occurring recombinant genotype 2/6 hepatitis C virus[J]. Journal of Virology, 2006, 80(15): 7569-7577.

[10] Pham D A, Leuangwutiwong P, Jittmittraphap A, et al. High prevalence of Hepatitis C virus genotype 6 in Vietnam[J]. Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology, 2009, 27(2/3): 153-160.

[11] Ju W, Yang S, Feng S H, et al. Hepatitis C virus genotype and subtype distribution in Chinese chronic hepatitis C patients: nation-wide spread of HCV genotypes 3 and 6[J]. Virology Journal, 2015, 12(1): 109.

[12] Messina J P, Humphreys I, Flaxman A, et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes[J]. Hepatology, 2015, 61(1): 77-87.

[13] 廖亚龙, 姚亚男, 张莉澉, 等. 广州地区 259 例丙型肝炎病毒患者 HCV 基因分型研究 [J]. 标记免疫分析与临床, 2024, 31(1): 48-51.

[14] 文细毛, 任南, 李福琴, 等. 2020 年全国医院感染监控网丙型肝炎病毒感染监测报告 [J]. 中国感染控制杂志, 2024, 23(1): 1-8.

[15] 杨翌, 张冠群, 陈思东, 等. 吸毒人群丙型肝炎病毒感染危险因素的研究 [J]. 中国公共卫生, 1999(6): 29-30.

[16] 褚天新, 李桂英, 刘海林, 等. 北京地区吸毒人群人口学和行为学特征改变研究 [J]. 中华流行病学杂志, 2003, 24(4): 281-283.

[17] 金怡晨, 汤后林, 秦倩倩, 等. 2015—2022 年我国报告 60 岁及以上 HIV 感染者流行特征和变化趋势 [J]. 中华流行病学杂志, 2023, 44(11): 1673-1678.

[18] 邹华春, 何纳. 中老年人群性健康 [J]. 中华流行病学杂志, 2023, 44(12): 1864-1868.

[19] Alves R, Queiroz A T L, Pessoa M G, et al. The presence of resistance mutations to protease and polymerase inhibitors in Hepatitis C virus sequences from the *Los Alamos* databank[J]. Journal of Viral Hepatitis, 2013, 20(6): 414-421.

[20] 阳光, 苏明华, 江建宁, 等. 广西地区 HCV 1b 型感染者 NS5B 区基因耐药多态性分析 [J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(5): 992-995.

[21] Wang Y, Rao H Y, Xie X W, et al. Direct-acting antiviral agents resistance-associated polymorphisms in Chinese treatment-naïve patients infected with genotype 1b hepatitis C virus[J]. Chinese Medical Journal, 2015, 128(19): 2625-2631.

[22] 张翠, 乔瑞娟, 李健, 等. 甘肃省某市哨点监测人群 HCV 基因分型及 NS5B 聚合酶抑制剂耐药相关替代突变分析 [J]. 中国艾滋病性病, 2024, 30(9): 894-899.

[23] Donaldson E F, Hsarrington P R, O'Rear J J, et al. Clinical evidence and bioinformatics characterization of potential hepatitis C virus resistance pathways for sofosbuvir[J]. Hepatology, 2015, 61(1): 56-65.