

• 经验交流 •

某地区妇女 HPV 感染情况及基因型的分布

廖 兵,张双庆,魏祥松
(重庆市第九人民医院检验科 400700)

摘 要:**目的** 了解重庆北部地区妇女人乳头瘤病毒(HPV)感染的状况和基因型的分布情况,为宫颈癌防治提供理论依据。**方法** 采用基因芯片技术对重庆北部地区 1 228 例妇女进行 HPV 检查,并对各亚型感染情况进行对比分析。**结果** 1 228 例妇女中共检出 HPV 阳性者 262 例,阳性率 21.3%,其中高危亚型占 71.9%,以 HPV 基因型为 16、52、33、58 型为主;低危型占 28.1%,以 HPV-43、6 型多见;单一感染为 201 例,占感染 76.7%;多重感染 61 例,占 23.3%;20~40 岁之间感染率为 74.8%。**结论** 基因芯片技术对检测 HPV 可一次检测多种亚型,有利于对 HPV 多重感染的诊断和宫颈癌的防治,可作为宫颈癌筛查的有效手段。

关键词:寡核苷酸; 宫颈肿瘤; HPV 分型; 人乳头瘤病毒
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.04.034 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2011)04-0498-02

宫颈癌是全球范围内女性第二大常见恶性肿瘤,发病率仅次于乳腺癌。近年来,中国宫颈癌的发生有明显上升和年轻化趋势,发病以每年 2%~3% 的速度增长^[1],现已证实,高危型人乳头瘤病毒(HPV)持续感染是导致宫颈癌和宫颈上皮内瘤变(CIN)发生的关键病因^[2]。HPV 为一组双链 DNA 无包膜病毒,已发现 100 多种不同的亚型,其中超过 35 种可以感染人类的生殖器官,约 30 种与肿瘤有关。为了解重庆北部地区女性 HPV 感染情况,为宫颈癌的防治提供重要的理论依据,本研究应用基因芯片技术对 916 例重庆北部地区女性 HPV 进行检测,现将检测结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 3~12 月期间到本院进行妇科检查的重庆北部地区妇女 1 228 例。年龄大多数集中在 20~60 岁,最小者 18 岁,最大者 74 岁。每例均检测 HPV 23 个亚型。
1.2 主要试剂 专用的 HPV 采样刷擦取宫颈处的表皮脱落细胞,检测试剂盒和阅读仪器由亚能生物技术(深圳)有限公司提供。
1.3 方法 (1)样本 DNA 提取:充分洗脱宫颈刷,把 1 mL 洗脱液全部转移到 1.5 mL 离心管中,以离心半径 8 cm,13 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,保留管底的细胞沉淀。然后加入 50 μ L 裂解液悬浮沉淀,沸水浴加热 10 min,以离心半径 8 cm,13 000 r/min 离心 10 min,保留上清液待用。(2)PCR 扩增:取 PCR 反应管于 5 000 r/min,离心 2 s,分别加入已提取的待测样品 DNA 5 μ L,反应总量为 25 μ L。按以下条件进行扩增:50 $^{\circ}$ C 15 min;95 $^{\circ}$ C 10 min;94 $^{\circ}$ C 30 s;42 $^{\circ}$ C 90 s;72 $^{\circ}$ C 30 s;40 循环;72 $^{\circ}$ C 5 min。(3)杂交:取 15 mL 塑料离心管,加入 A 液 5~6 mL 及 PCR 产物 25 μ L,放入沸水中加热 10 min 后放入 51 $^{\circ}$ C 杂交箱杂交 1.5 h 以上。取 50 mL 塑料管,加入 50 mL B 液于 51 $^{\circ}$ C 杂交箱中进行预热。(4)洗膜:取出膜条,移至装有预热 B 液的 50 mL 管中,于 51 $^{\circ}$ C 轻摇洗涤 5 min。(5)显

色:取出膜条,置于 A 液和 POD 为 2 000:1 的孵育液中,室温轻摇孵育 30 min,弃去孵育液。用 A 液在室温中摇洗 2 次,每次 5 min。用 C 液在室温中洗膜 1~2 min,同时配制显色液。将膜条浸泡于显色液中避光显色 30 min 后;用 HPV 分型阅读仪判断结果。

2 结 果

2.1 基因分型检测结果 在 1 228 例样本中共检出阳性 262 例,阳性检出率为 21.3%。其中高危亚型占 71.9%,以 HPV 基因型为 16、52、33、58 型为主;低危型占 28.1%,以 HPV 基因型为 43、16 型多见; HPV 基因型为 39、44、MM4 型未检出。结果见表 1。

表 1 HPV 各亚型感染及构成情况(各亚型总和 370 次)						
组别	HPV 亚型	<i>n</i>	构成比(%)	HPV 亚型	<i>n</i>	构成比(%)
高危型	16	71	19.2	53	8	2.2
	18	10	2.7	56	16	4.3
	31	14	3.8	58	31	8.4
	33	32	8.6	59	8	2.2
	35	8	2.2	66	18	4.9
	39	0	0.0	68	8	2.2
	45	1	0.3	73	2	0.5
	51	4	1.1	83	1	0.3
	52	34	9.2	MM4	0	0.0
	6	30	8.1	43	42	11.4
低危型	11	18	4.7	44	0	0.0
	42	14	3.8			

2.2 亚型多重感染情况 262 例病例中单一感染为 201 例,占 76.7%;多重感染 61 例,占 23.3%,主要以二重感染为主,以高危型和混合型多见,结果见表 2。

表 2 HPV 多重感染情况[n(%)]

类型	单一感染	二重感染	三重感染	四重感染	五重感染	六重感染	七重感染	总计
低危型	58(22.1%)	3(1.1%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	49(23.2%)
高危型	143(54.5%)	22(8.4%)	3(1.1%)	1(0.4%)	1(0.4%)	0(0.0%)	0(0.0%)	127(64.8%)
低与高混合型	—	12(4.6%)	8(3.1%)	4(1.5%)	3(1.1%)	2(0.8%)	2(0.8%)	30(11.9%)

—:表示无数据。

2.3 HPV 感染年龄分布情况 HPV 感染年龄分布主要在 18~40 岁,共占 74.8%,结果见表 3

表 3 HPV 感染年龄分布情况

年龄段	<i>n</i>	百分比(%)
18~30	83	31.7
>30~40	113	43.1
>40~50	44	16.8
>50	22	8.4

3 讨 论

在健康妇女人群中,HPV 的感染率为 20%~46%^[3],而高危型 HPV 的持续性感染是宫颈癌患病的关键病因,HPV 导致宫颈癌是目前人类所有癌症病变中明确的致病因子,宫颈癌也是少有明确病因的肿瘤之一^[4]。宫颈癌中 HPV DNA 的检出率可高达 99%^[5]。因此,对 HPV 进行检测和基因分型对宫颈癌的早期防治有非常重要的意义。本研究显示,重庆北部地区妇女 HPV 感染率为 21.3%,高危亚型占感染病例的 71.9%,其中 HPV-16 型 71 例(19.2%)最多,依次为 52、33、58 型,本地区 HPV-52 型位居第 2,与赖燕燕等^[6]的报道不一致,这可能 HPV 的分布存在明显的地区差异。

HPV 多重感染与宫颈病变呈正相关性,随宫颈病变级别的增加而多重感染增加,宫颈癌除外^[7],单一 HPV 感染使宫颈癌的患病风险增加 19.9 倍,而多重 HPV 感染使该风险增加到 31.8 倍^[8]。本研究显示多重感染 61 例,占 23.3%,主要为二重感染,以高危型和混合型多见。

在妇女人群中,HPV 感染的高峰年龄在 18~40 岁年龄阶段,此感染率为 78.4%,统计学上与 40 岁以上的妇女有明显差异($P<0.05$),但该阶段的感染一般可在 8~10 个月消失,此阶段感染为暂时性。然而 35 岁后仍为高危 HPV 的持续感

• 经验交流 •

染,将有更高的风险患上宫颈癌,从感染 HPV 到宫颈癌的潜伏期为 1.5~5 年左右。因此,宫颈癌病变的早期筛查与 HPV 检测成为筛查宫颈癌的主要手段,对早期诊断、治疗、预测病变进展和指导治疗有重要价值。了解 HPV 感染的情况及 HPV 亚型分布,对发现 HPV 感染的高危人群,积极控制 HPV 感染和有效治疗,降低宫颈癌的发生率,具有重要意义。

参考文献

[1] 赵文辉,乔有林. 宫颈癌及其癌前病变筛查方法现状[J]. 中国医学科学院学报,2001,23 (6):638

[2] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide [J]. J Pathol, 1999, 189(1):12-19.

[3] Meisels A, Fortin R, Roy M. Condylomatous lesions of the cervix. II. cytologic, colposcopic and histopathologic study[J]. Acta cyt-ol, 1977, 21(3):379-390.

[4] Hausen H. Cervical carcinoma and human papillomavirus: on the road to preventing a major human cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2001, 93(4):252-253.

[5] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papilloma virus is a necessary cause of invasive cervical cancerworld-wild [J]. J Pathol, 1997, 189(12):12-18.

[6] 赖燕燕,林海英,等. 1 241 例门诊就诊者 HPV 检测结果分析[J]. 海南医学, 2010, 21(22):42-43.

[7] 陶萍萍,卞美璐,李敏,等. HPV 多重感染与宫颈病变关系探讨 [J]. 妇产科临床杂志, 2006, 7(2):94-96.

[8] Lee SA, Kang D, Seo SS, et al. Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPV DNA chip[J]. Cancer Lett, 2003, 198 (2):187-190.

(收稿日期:2010-05-10)

因子与校准品校准在血清酶检测中的应用比较

程茂玲, 乔 刚

(山东省胶南市人民医院检验科 266400)

摘 要:**目的** 探讨因子与校准品校准在血清酶检测中的差异。**方法** 应用速率法,采用因子校准与校准品校准 2 种校准方式,对肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)等 5 种酶进行检测,室内定值质控血清批内各测 20 次,随机标本 50 份分别进行检测,在 1 h 内完成,对 2 种校准结果进行比较。**结果** CK、LDH、ALT、AST、GGT 表现为因子校准结果明显低于校准品校准结果。室内定值质控血清因子校准均值分别为 CK 191.4 U/L、LDH 178.5 U/L、ALT 29.0 U/L、AST 32.8 U/L、GGT 50.6 U/L,校准品校准均值分别为 CK 212.2 U/L、LDH 183.4 U/L、ALT 32.0 U/L、AST 35.4 U/L、GGT 55.9 U/L;随机标本检测因子校准均值分别为 CK 110.6 U/L、LDH 208.1 U/L、ALT 80.3 U/L、AST 99.8 U/L、GGT 84.1 U/L,校准品校准均值分别为 CK133.2 U/L、LDH 215.0 U/L、ALT 95.8 U/L、AST 115.6 U/L、GGT 94.8 U/L。两法比较差异有统计学意义(P 均小于 0.001)。**结论** 通过对定值质控血清及随机标本所测酶结果的分析,认为酶活性因子校准有较大的系统误差,校准品校准能更好地反应结果的准确性。

关键词: 校准; 酶; 因子; 校准品; 系统误差

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.04.035 文献标识码:B 文章编号:1673-4130(2011)04-0499-03

酶是临床应用最广泛的检测项目,因校准方式不同和检测系统的差别,不同实验室测定结果往往有较大差异^[1],在同一实验室检测系统一致的条件下,不同的校准方式对结果也有较大影响。酶速率法检测多以因子校准,相关报道多为因子校准

的结果^[2-4]。2002 年国际临床化学学会(IFCC)提出肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)等酶活力检测必须使用完整的检测系统,依靠校准品定值,以实现酶的量值溯源,使检测