

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	n	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, 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 cancer world-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 -谷氨酰转氨酶(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 CK 133.2 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 -谷氨酰转氨酶(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

结果具有广泛可比性。因子校准与校准品校准结果差异性的报道尚不多,对此我们做了一些初步探讨。

1 材料与与方法

1.1 材料 (1)仪器和试剂:HITACHI 7170S 型全自动生化分析仪,日本日立公司生产。CK、LDH、ALT、AST、GGT 所用试剂均为上海复星长征医学科学有限公司生产。临床化学校准血清(批号:329 UN/1)、临床化学质控血清(批号:311 UN/9)由上海复星长征医学科学有限公司生产。(2)标本及概况:门诊患者随机标本 50 例,因子校准结果分别为 CK 32~789 U/L、LDH 115~1 028 U/L、ALT 10~682 U/L、AST 14~499 U/L、GGT 10~588 U/L。

1.2 方法 应用速率法,按照 7170S 型全自动生化分析仪要求及上海复星长征医学科学有限公司提供的 7170 生化分析仪专用分析参数,设置各检测项目的工作程序,在各程序参数不变的条件下,分别采用因子(长征公司提供的 K 值,分别为 CK 4 127、LDH 8 199、ALT -3 333、AST -3 333、GGT 3 395)及校准品(长征公司定值分别为 CK 214 U/L、LDH 200 U/L、ALT 40 U/L、AST 41 U/L、GGT 61 U/L)2 种校准方法,对定

值质控血清(长征公司定值靶值为 CK 218 U/L、LDH 186 U/L、ALT 34 U/L、AST 37 U/L、GGT 57 U/L)及 50 例随机标本分别检测 CK、LDH、ALT、AST、GGT,定值质控血清批内各测 20 次,以上检测在 1 h 内完成。

1.3 统计学处理 采用配对 *t* 检验进行数据处理。

2 结果

2.1 质控结果 室内定值质控血清 CK、LDH、ALT、AST、GGT 2 种校准方法批内 20 次检验结果见表 1(*s* 为标准品的标准差)。校准品校准结果更接近靶值,2 种方法比较差异有统计学意义(*P* 均小于 0.001)。

2.2 随机标本结果 50 例门诊患者随机标本 CK、LDH、ALT、AST、GGT 2 种校准方法结果均表现为因子校准结果明显低于校准品校准结果,酶活力越高,差异越大。在高活性标本中,CK 2 种方法相差高达 170 U/L,LDH 相差 34 U/L,ALT 相差 106 U/L,AST 相差 79 U/L,GGT 相差 72 U/L。2 种方法比较差异有统计学意义(*P*<0.001),见表 2(*s* 为因子校准的标准差)。

表 1 定值质控血清 5 种酶 2 种校准方法批内结果的比较(U/L)

项目	次数	允许报告范围	靶值	\bar{x}		校准品校准差(<i>s</i>)	<i>P</i> 值
				因子校准	校准品校准		
CK	20	190~247	218	191.4	212.2	1.42	<0.001
LDH	20	160~213	186	178.5	183.4	1.55	<0.001
ALT	20	29~40	34	29.0	32.0	0.83	<0.001
AST	20	32~43	37	32.8	35.4	0.94	<0.001
GGT	20	50~63	57	50.6	55.9	1.02	<0.001

表 2 随机标本 5 种酶 2 种校准方法结果的比较(U/L)

项目	<i>n</i>	\bar{x}		因子校准差(<i>s</i>)	<i>P</i> 值
		因子校准	校准品校准		
CK	50	110.6	133.2	34.0	<0.001
LDH	50	208.1	215.0	5.7	<0.001
ALT	50	80.3	95.8	23.9	<0.001
AST	50	99.8	115.6	26.1	<0.001
GGT	50	84.1	94.8	15.1	<0.001

2.3 室内质控结果 参加山东省室内质控活动,应用校准品和因子校准方法分别检测 CK、LDH、ALT、AST、GGT 各批次质控物所得室内质评(VIS)分值见表 3(栏内左侧为校准品校准的、右侧为因子校准的)。按照中国室内质控评价方法,表中对比可以清楚的看出应用校准品校准的除 2006-30112 批号 CK 为合格外,其余各批次各项目均为优良。

表 3 山东省 2006 上半年室内质控 5 种酶各批号 VIS 分值

项目	2006-030111	2006-030112	2006-030113	2006-030114	2006-030115
CK	43 78	122 152	43 78	58 89	25 99
LDH	74 128	41 76	57 92	62 100	43 72
ALT	14 55	30 60	4 52	17 65	9 40
AST	54 80	67 89	46 78	24 55	62 81
GGT	11 60	59 79	0 42	37 70	7 56

3 讨论

随着检验医学的不断发展,临床对检验结果的要求越来越

高^[5]。酶是医学实验室检测最多的项目,由于酶检测方法的特殊性,也是最易产生误差的检测项目。通常酶检测多以因子校准,计算公式:因子=TV×10³/(ε×SV×L)。式中 TV 为总反应体积,ε 为待测物摩尔吸光系数,SV 为样本体积,L 为比色杯光径,由公式可见因子是不计检测系统固有系统误差的纯理论值。有资料报道,对 3 台 HITACHI 7150 型自动生化分析仪测 AST 的因子,理论值约为实测值的 1.12 倍。本仪器实测 340 nm 波长光度检查值为 14 762(日立公司规定值<19 000 为合格),应用 11.10 mmol/L 葡萄糖标准液(葡萄糖试剂及标准液均为长征公司生产,批号 0060628)对仪器进行精密密度检测,批内 *n*=20, \bar{x} =11.16 mmol/L,*s*=0.09,变异系数(CV)=0.8%。长征公司提供的 7170 生化分析仪的因子(*K* 值)分别为 CK 4 127、LDH 8 199、ALT -3 333、AST -3 333、GGT 3 395,而本仪器实测因子为 CK 3 786、LDH 7 960、ALT -3 030、AST -3 058、GGT 3 059。理论因子分别是 CK 实测因子的 1.09 倍、LDH 的 1.03 倍、ALT 的 1.10 倍、AST 的 1.09 倍、GGT 1.11 倍。显然,不同检测系统之间和同一检测系统的任何误差,都将使实测因子与理论因子不一致^[6]。当系统误差为正时,酶检测结果增高,反之酶检测结果降低。

2002 年 IFCC 提出酶活力检测必须用完整的检测系统,依靠校准品定值,以实现酶的量值溯源,提高酶检测结果的准确性和广泛可比性,国内有关文献对校准品校准方法做了相关报道^[7]。应用校准品校准,消除了不同检测系统之间及同一检测系统本身固有系统误差的影响^[8-9],实现了酶检测结果的准确传递,值得推广。

参考文献

[1] 郑松柏, 庄俊华, 张秀明. 临床酶学参考系统研究进展[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(4): 309-311.
 [2] 叶应妩, 王毓三. 全国临床操作规程[M]. 2 版. 南京: 东南大学出版社, 1997: 204-234.
 [3] 康格非. 临床生物化学和生物化学检验[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 398-421.
 [4] 潘彤, 张孝山, 李研, 等. 献血者丙氨酸氨基转移酶不同方法的探究[J]. 中国医学检验杂志, 2004, 5(1): 29-30.
 [5] 汪宏良, 陈丽峰, 胡芳. 生物化学分析仪检测结果的临床评价[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(6): 558-559.

[6] 王传新, 王国礼. 现代检验医学技术及质量控制[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2004: 233-234.
 [7] 张克坚, 苏增留, 张传宝. 建立自动化生化分析仪室内质控时应注意的几个问题[J]. 世界医疗器械, 2000, 6(8): 10-15.
 [8] 严旻瑜, 陆华, 姚震. 以质控品为校准品的尝试[J]. 上海医学检验杂志, 2001, 16(5): 227-228.
 [9] 传良敏, 黄文方, 饶绍琴. Beckman 校准品经检测系统量值传递后用于校正 AU2700/中生试剂系统[J]. 检验医学, 2004, 5(7): 413-415.

(收稿日期: 2010-05-10)

• 经验交流 •

多耐药肺炎克雷伯菌同时携带 16S rRNA 甲基化酶和氨基糖苷类修饰酶基因

陈 菁, 孙桂芹

(浙江省绍兴市人民医院检验科 312000)

摘要:目的 调查肺炎克雷伯菌中 16S rRNA 甲基化酶基因和氨基糖苷类修饰酶基因(AMEs)的存在情况。方法 收集绍兴市人民医院 2007 年 10 月到 2009 年 6 月患者标本中分离的肺炎克雷伯菌共 20 株, 采用聚合酶链反应(PCR)及序列分析的方法分析 6 种 16S rRNA 甲基化酶基因 (armA、rmtA、rmtB、rmtC、rmtD、npmA) 和 14 种 AMEs 基因 [aac(3)-I、aac(3)-II、aac(3)-III、aac(3)-IV、aac(6')-I b、aac(6')-II、ant(2'')-I、ant(3'')-I、aadA4/5、aadA6/16、ant(4'')-I、aph(3'')-I、aph(3'')-II a、aph(3'')-II b]。结果 20 株肺炎克雷伯菌共检出 1 种 16S rRNA 甲基化酶基因:rmtB 8 株(40.0%); 5 种氨基糖苷类修饰酶基因:aac(3)-II 17 株(85.0%), ant(3'')-I 12 株(60.0%), aph(3'')-I 6 株(30.0%), aac(6')-I b 2 株(10.0%), aadA5 2 株(10.0%), 其余 14 种基因未检出。20 株菌均检出 16S rRNA 甲基化酶基因或氨基糖苷类修饰酶基因, 与庆大霉素全部耐药的表型相符。8 株 rmtB 阳性株同时携带氨基糖苷类修饰酶基因, 可分为 4 种阳性检出模式, 其中 [rmtB+aac(3)-II+ant3'')-I] 模式检出率最高, 共 4 株(20.0%)。结论 在多耐药肺炎克雷伯菌中发现同时携带 16S rRNA 甲基化酶和氨基糖苷类修饰酶基因的菌株国内鲜见报道。携带 16S rRNA 甲基化酶和氨基糖苷类修饰酶基因是本组菌对氨基糖苷类药物耐药的主要原因。

关键词:克雷伯菌, 肺炎; 抗药性, 多药; 16S rRNA 甲基化酶基因; 氨基糖苷类修饰酶基因

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.04.036

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2011)04-0501-03

多耐药肺炎克雷伯菌(multidrug-resistant klebsiella pneumoniae, MDRKP)已是医院感染的重要病原菌。近年来, 尽管国内已有部分肺炎克雷伯菌的相关基因研究报道, 但上述报道所涉及耐药相关基因较少^[1-2]。为了解本院 MDRKP 的氨基糖苷类药物各种耐药相关基因存在状况, 本文对 20 株分离自绍兴市人民医院 2007 年 10 月至 2009 年 6 月住院患者的 MDRKP 进行了 6 种 16S rRNA 甲基化酶基因和 14 种氨基糖苷类修饰酶基因检测, 结果发现了同时携带 16S rRNA 甲基化酶和氨基糖苷类修饰酶基因的菌株, 现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 菌株来源及鉴定 20 株 MDRKP 均分离自绍兴市人民医院 2007 年 10 月至 2009 年 6 月住院患者送检标本, 其中分离自痰液 13 株、尿液 6 株、伤口分泌物 1 株。采用法国生物梅里埃公司微生物鉴定系统(VITEK2 COMPACT)鉴定菌种。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、大肠埃希菌 ATCC35218、铜绿假单胞菌 ATCC27853、肺炎克雷伯菌 ATCC700603。

1.2 药敏试验 系微量肉汤稀释法。采用法国生物梅里埃公司产品 AST-GN13 药敏试验卡。仪器对药敏卡自动分析判定药敏结果。

1.3 细菌处理 挑纯培养菌落置入 0.5 mL 离心管内(内预

置 200 ng/mL 蛋白酶 K 溶液 200 μ L), 56 $^{\circ}$ C 水浴 2 h, 改 95 $^{\circ}$ C 水浴 10 min, 离心(15 000 r/min)30 s。上清液即为基因检测的模板液, -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

1.4 基因检测 6 种 16S rRNA 甲基化酶基因和 14 种氨基糖苷类修饰酶基因检测均为 PCR 法。插入 PCR 引物由无锡市克隆遗传技术研究所糜祖煌、江苏大学临床医学院糜家睿完成设计, 生物信息学数据处理由虎马信息工作室完成, 并获授权使用, 各种靶基因 PCR 扩增体系均为: 每反应体系 P1 引物 1 μ L(1.0 μ mmol/L)、P2 引物 1 μ L(1.0 μ mmol/L)、dNTPs 2 μ L(2 mmol/L)、10 倍缓冲液 2 μ L[KCl 10 mmol/L, (NH₄)₂SO₄ 8 mmol/L, MgCl₂ 2 mmol/L, Tris-HCl (pH9.0) 10 mmol/L, NP40 0.5%, BSA 0.02% (wt/vol)], Taq DNA pol 1U(不计体积), 超纯水 9 μ L, 模板液 5 μ L, 总反应体积 20 μ L。PCR 扩增热循环参数为: 93 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 然后 93 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 55 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 60 s, 循环 35 周期, 最后 1 个 72 $^{\circ}$ C 延长至 5 min。PCR 产物长度大于 500 bp 者 PCR 扩增热循环参数为: 93 $^{\circ}$ C 预变性 2 min, 然后 93 $^{\circ}$ C 60 s \rightarrow 55 $^{\circ}$ C 60 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 60 s, 循环 35 周期, 最后 1 个 72 $^{\circ}$ C 延长至 5 min。产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳, 出现与阳性对照分子相当的条带为目的条带为阳性。检测试剂盒和阳性对照 DNA 由无锡市克隆遗传技术研究所提供。

1.5 阳性基因测序 PCR 阳性产物为 PCR 直接全自动荧光