

表 1 洗手及不同消毒剂作用手部前、后菌落数变化

消毒剂	试验次数 (n)	洗手前平均菌 落数(cfu/cm <sup>2</sup> )	洗手后平均菌 落数(cfu/cm <sup>2</sup> )	降低程度 (倍数)
0.1% 苯扎氯铵	20	40.4	2.2	18.36
1% 有效碘碘伏	27	43.5	2.7	16.11
75% 乙醇	21	39.3	4.2	9.36
0.2% 过氧乙酸	25	50.0	2.0	25.00
肥皂和流水	30	45.8	9.9	4.63

### 3 讨 论

一般外科系统手术室属于 II 类区域,《消毒技术规范》规定 II 类区域医务人员手细菌菌落总数卫生学标准为小于或等于 5 cfu/cm<sup>2</sup>。目前,在外科系统手术室较常使用的肥皂碘伏刷牙消毒,其效果显著,洗手后平均菌落数下降了 16.11 倍,为 2.2 cfu/cm<sup>2</sup>,符合操作要求。但需要注意的是,消毒完成后不能用水或乙醇冲洗,否则皮肤上的碘伏膜将会被破坏。另外碘伏的颜色深浅与其杀菌作用成正比,使用时应保证其杀菌效力,因为碘伏的稀释液不稳定,2 d 后有效碘会下降 50%,故宜在使用前配制,且要避免接触银、铝等金属制品。

0.1% 苯扎氯铵属新洁尔灭类化学消毒剂,是一种阳离子表面活性剂,用于外科系统手术人员手的消毒效果较好。现在新型的负压包装摩丝状泡沫充分覆盖手部作用 5 min 后,平均菌落数下降了 18.36 倍,具有使用方便的优点,其高效、易行的消毒方式更容易普及并被医务人员接受<sup>[4]</sup>。但使用中不得与肥皂或其他阴离子洗涤剂合用,长期使用会引起皮肤干裂。

75% 乙醇用于外科洗手可有效减少皮肤上的细菌,达到消毒目的,但因为其挥发性和对组织细胞的刺激性和毒性,现在一般用于非挥发性消毒剂的溶剂及注射前等普通的治疗操作。

过氧乙酸对真菌和病毒均有较强的杀灭作用,其作用强弱的顺序为细菌繁殖体、真菌、病毒、结核分枝杆菌和芽孢。由于一般的化学消毒剂对病毒的杀灭作用差,因此当明显受乙肝患者血液污染时,应采用 0.2% 过氧乙酸或含氯溶液浸泡消毒<sup>[5]</sup>。

虽然外科手术前会使用化学消毒剂严格消毒,但用“肥皂和流水”洗刷手的重要性仍然不容忽视,因为未经洗刷的手可

• 经验交流 •

能带有大量油污脏物,他们犹如一层保护膜,妨碍消毒剂的渗入,影响消毒效果。

医护人员双手的消毒是控制感染的一个十分重要的环节。医护人员双手在诊疗活动中经常接触不同患者含有大量细菌的体液、分泌物、排泄物、引流物等,很容易引起患者之间的交叉感染<sup>[6-7]</sup>。医务人员对正确洗手的依从性及认知情况都亟待加强<sup>[8]</sup>,手部皮肤的清洁与消毒对广大临床医务人员来说,实践性很强而且意义重大,应当继续加强医护人员感染知识的教育,增强其防止交叉感染和自我保护的意识<sup>[9]</sup>。医院感染监测工作者也应加强对这一工作的监测和督促,健全规章制度,增大设施投入,强化知识培训<sup>[10]</sup>,尽可能消灭或减少通过手部传播疾病的危险性。

### 参考文献

- [1] 牟遇英,王新,李君. 不同病区护士手检测调查与分析[J]. 中华医院感染学杂志,2003,13(5):440-441.
- [2] 王荣之,龚明助,放淑清,等. 医务人员手微生物监测及消毒方法[J]. 中华医院感染学杂志,2000,10(1):46.
- [3] 游建萍,黄庆,傅伟灵,等. 手卫生所致医院感染的预防和控制措施的探讨[J]. 中华医院感染学杂志,2005,15(4):426-428.
- [4] 杨翠芳,张顺玲,罗少儒,等. 几种方法对手清洁消毒的监测[J]. 中华医院感染学杂志,2003,13(3):245-246.
- [5] 刘建国.《医院感染管理办法》实施手册[M]. 北京:中国医药科学出版社,2006:191-222.
- [6] 郑辉,李卫凯,黄小霞,等. 医院病区内环境细菌存在情况的研究[J]. 国际检验医学杂志,2007,28(3):271-272.
- [7] 李巧凤,刘华飞,刘爱敏. 医务人员清洁洗手与清洁消毒后手的细菌监测[J]. 中华医院感染学杂志,2006,16(6):638-638.
- [8] 彭湛贤,李晓燕,刘燕芳,等. 医护人员洗手依从性与认知情况的调查[J]. 实用预防医学,2007,14(4):1094-1096.
- [9] 叶芬,李小霞. 院内物体表面细菌检测结果及分析[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(2):160.
- [10] 朱晓萍,李娅,唐嘉. 乡镇卫生院医务人员手卫生执行现状调查[J]. 重庆医学,2010,39(12):1620-1621.

(收稿日期:2010-10-09)

## 粤北地区葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症基因突变频率研究

周海燕

(广东省韶关市职业病防治院内科,韶关 512026)

**摘要:**目的 研究广东粤北地区葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏症基因的突变类型及突变频率。方法 应用聚合酶链反应(PCR)-反向点杂交法,检 128 例粤北地区 G6PD 缺乏症患者中的 G1376T、G1388A、A95G、G392T、A493G 5 种基因突变情况。结果 128 例标本中检出 G1376T 47 例(36.7%)、G1388A 35 例(27.3%)、A95G 17 例(13.3%)、G392T 8 例(6.3%)、A493G 5 例(3.9%),未检出 16 例(12.5%)。结论 G1376T、G1388A、A95G、G392T、A493G 5 种基因突变型是粤北地区最常见的 G6PD 基因突变型,对疾病基因突变型和突变频率的研究有助于在以后的工作中有针对性地对患者进行基因诊断。

**关键词:**葡萄糖磷酸脱氢酶缺乏症; 聚合酶链反应-反向点杂交法; 基因突变频率

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.09.049

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2011)09-1011-03

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase,G6PD)缺乏症是全球最常见的一种 X 连锁不完全显性遗传病之一,全球估计有 4 亿人受累。该病的高发区包括地中海沿岸、非洲、东南亚及中国的南部省区。中国的基因频率为 4.5%<sup>[1]</sup>,其中广东省的发病率高达 4.2%<sup>[2]</sup>。G6PD 缺乏症临床上表现为新生儿黄疸、蚕豆病、药物性溶血、感染性溶血和非球

形细胞溶血性贫血等疾病,在儿童及婴幼儿期集中表现为蚕豆病和新生儿黄疸,往往病情较重,如不及时救治将危及患儿生命。

目前,已知的 G6PD 基因位于 X 染色体长臂 2 区 8 带(Xq28)。基因长约 18 Kb,有 13 个外显子和 12 个内含子,由 515 个氨基酸组成<sup>[3]</sup>。在已发现的数百种基因突变中,中国人

最常见的有 G1376T、G1388A、A95G、G392T、A493G 等。因此,本研究采用聚合酶链反应(PCR)-反向点杂交的方法检测粤北地区 5 种突变的发生情况,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器 DNA 提取使用 QIAGEN 公司的全血 DNA 快速提取试剂盒, Taq 酶采用 QIAGEN 公司的 HotstarTaq DNA 聚合酶,三磷酸脱氧核糖核苷(dNTP)使用 Promega 公司产品,引物、探针由 Invitrogen 公司合成,尼龙膜使用 Pall 公司的尼龙 C 膜。基因扩增仪(德国 Eppendorf Mastercycler Gradient); Combi-H12 型分子杂交仪(韩国 FINEPCR)。

1.1.2 样品收集 收集来本院就诊并且经 G6PD/6PGD 比值法<sup>[4]</sup>诊断为 G6PD 缺乏症阳性的患者全血样品 128 例,收集这些患者完整的临床资料。

1.2 方 法

1.2.1 样品处理 采用 QIAGEN 公司的全血 DNA 快速提取试剂盒提取样品的基因组 DNA。

1.2.2 引物设计 根据 Genebank 上查询到的人基因组序列,在拟检测位点的两边设计扩增引物、序列,见表 1。

表 1 扩增引物序列

引物名称	序列	扩增产物长度(bp)
1F	5'-GGAGGGCGTCTGAATGATG-3'	408
1R	5'-GCAAGGTGGAGGAAGTAC-3'	
2F	5'-ACACGTCATGGCAGAGC-3'	182
2R	5'-GCATGGAGCAGGCACTTC-3'	
3F	5'-GCCACCCAGAGGAGAAG-3'	399
3R	5'-GAAGCAGAGCGAAAGGC-3'	
4F	5'-GGCCCTGCATACCTGT-3'	197
4R	5'-CCACCCCTTCCTCACCTG-3'	

1.2.3 PCR 扩增 每个样品分 2 管进行扩增,每管 50 μL 的 PCR 反应液包括如下成分:5U Taq 酶、10×PCR 缓冲液 5 μL、5×Q 缓冲液 10 μL、2.5 mmol/L 缓冲液 dNTP 4 μL、10 μmol/L 的引物各 0.5 μL 及待检患者基因组 DNA 样品 2 μL,加水补齐至 50 μL。PCR 扩增在 MJ Research 的 PTC-100 仪器上进行,扩增程序为:96 °C 预变性 15 min;95 °C 30 s,55 °C 30 s,72 °C 30 s,循环 35 次;72 °C 延伸 5 min。

1.2.4 电泳检测 取 5 μL PCR 产物点加在 1.5% 的琼脂糖凝胶上,在 5 V/cm 的电压下电泳 30 min。

1.2.5 探针设计 根据拟检测的突变位点,分别设计正常和突变寡核苷酸杂交探针,具体序列见表 2。

表 2 寡核苷酸杂交探针序列

探针名称	序列
95N	5'-GTCGGATACACATATTC-3'
A95G	5'-GTCGGATACACGCATATTC-3'
392N	5'-CCTCCACCTGGGGTCA-3'
G392T	5'-CCTCCACCTGGTGTCA-3'
493N	5'-TGGAACCGCATCATCGT-3'
A493G	5'-TGGGACCGCATCATCGT-3'
1376N	5'-CGACGAGCTCCGTGAG-3'
G1376T	5'-CGACGAGCTCCTTGAG-3'
1388N	5'-GGCGTATTTTCACCCCA-3'
G1388A	5'-GGCATATTTTCACCCCA-3'

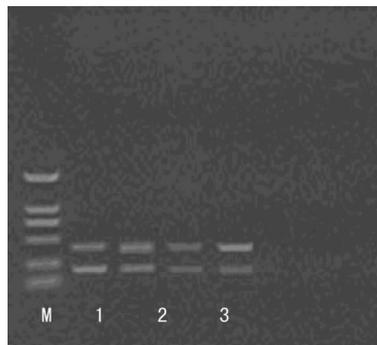
1.2.6 杂交膜条制备 将尼龙膜用活化剂乙基二甲氨基丙基碳二亚胺(EDC)处理,活化其表面基团;将探针点加在膜条相

应位点上;待干燥后,再用 NaOH 封闭膜条。

1.2.7 杂交检测 将每个样品 2 管剩余的 PCR 产物(约 45 μL)加入到 5 mL 的 A 液[(2×SSC,0.1% 十二烷基硫酸钠(SDS),pH 7.4)]中,放入沸水浴变性 10 min,转入 42 °C 杂交箱中杂交 2 h;取出膜条,移至装有预热的 B 液(0.5×SSC,0.1% SDS,pH 7.4)中,于 42 °C 轻摇洗涤 15 min;将膜条转移至 0.125 U/mL 的 Streptavidin-POD 溶液中,室温浸泡 30 min;再用 A 液洗 2 次;放入显色液[0.1 mol/L 枸橼酸钠,5% 体积比乙醇,0.1 mg/mL 的四甲基联苯胺(TMB),0.003% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]中避光显色 10 min,即可观察结果。

2 结 果

2.1 电泳结果 每个样品 2 管 PCR 产物各有 2 条带,第 1 管为 408 bp、182 bp,第 2 管为 399 bp、197 bp,见图 1。



M:DNA Markers DL2000(从上到下条带分别为 2 000 bp、1 000 bp、750 bp、500 bp、250、100 bp);1:1 号样品的两管;2:2 号样品的两管;3:2 管空白对照。

图 1 扩增电泳结果图

2.2 各突变类型统计 在所检测的 128 例样品中,最常见的为 G1376T、G1388A 和 A95G 3 种基因型,其中检出 G1376T 47 例(36.7%),G1388A 35 例(27.3%)和 A95G 17 例(13.3%),占检测总数的 77.3%,另两种分别为 G392T 8 例(6.3%)、A493G 5 例(3.9%),还有 16 例(12.5%)未检出以上 5 种突变型,可能为这 5 种以外的基因变异。结果见表 3。

表 3 G6PD 基因突变型统计结果

基因型	检出例数(n)	比例(%)
G1376T	47	36.7
G1388A	35	27.3
A95G	17	13.3
G392T	8	6.3
A493G	5	3.9

3 讨 论

目前,临床上常用的 G6PD 缺乏症检测方法包括高铁血红蛋白还原试验、G6PD 活性试验、G6PD 定量比值法等。这些生化检测方法过程简单、价格低廉,适宜在基层医院开展,但准确性较差,存在较高的假阳性或假阴性率,特别是对隐性携带者的孕妇易漏诊,影响婴儿患者的检出,未对患儿进行必要的临床指导,危及患儿的健康或生命。

自从 1989 年 Saiki 等<sup>[5]</sup>提出反向点杂交方法后,该技术已在科研和临床领域得到了充分的应用。该技术方法应用的前提是检测位点为已知突变,将设计的突变探针固定在膜条上,与待检的 PCR 片段进行杂交,再通过化学显色反应使杂交位点显示肉眼可见的斑点信号。

本研究是基于 PCR-反向点杂交技术的检测方法,具有准确性高、特异性强、能检出基因隐性携带者等优点。现已发现

上百种 G6PD 基因突变类型<sup>[6]</sup>,但本法采用低密度基因芯片技术进行常见位点突变检测,可能导致有一定比例的漏检率<sup>[7]</sup>。因此,应联合应用化学分析法和基因分析检测方法,提高临床诊断的特异性与准确性,然后对 G6PD 缺陷的患者建立遗传病档案,及时向患者或其监护人说明该病潜在的危险性,避免服用氧化药物、过量食用蚕豆等,以防患于未然,保护儿童的健康成长。

参考文献

[1] 卢桂森,陈琼俊,陶元均. 中国人 G6PD 缺乏性疾患[M]. 南宁:广西出版社,1994:73  
 [2] Du CS, Xu YK, Hua XY, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase variants and their frequency in Guangong, China[J]. Hum

Genet, 1988, 80(4):385-388.  
 [3] Beutler. G6PD Deficiency[J]. Blood, 1994, 84:3613-3616.  
 [4] 杜传书. 红细胞葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症检测的 G6PD/6PGD 比值法[J]. 优生与遗传, 1991(4):1-3.  
 [5] Saiki RK, Walsh PS, Levenson CH, et al. Genetic analysis of amplified DNA with immobilized sequence-specific oligonucleotide probes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86:6230-6234.  
 [6] 张华. 中国人 G6PD 基因突变情况[J]. 华夏医学, 2001, 14(6):392-395.  
 [7] 徐芸. 我国 G6PD 缺乏症基因突变的研究现状[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2009, 14(3):143-145.

(收稿日期:2010-10-09)

• 经验交流 •

## 尿 mAlb、尿 NAG 及尿 $\gamma$ -GGT 对接铅作业人员早期肾损伤的探讨

周永忠, 丁慧红<sup>△</sup>, 杨 一, 徐 金

(首钢水钢总医院检验科, 贵州六盘水 553028)

**摘要:**目的 探讨生化指标改变与接铅作业人员早期肾损伤的关系。方法 收集 187 例接铅作业人员及 110 例健康对照者清晨尿液, 分别作尿铅、尿微量清蛋白(mAlb)、尿 N-乙酰- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)、尿  $\gamma$ -谷氨酰转移酶( $\gamma$ -GGT)测定。结果 110 例健康对照:尿 mAlb 为(20.6 $\pm$ 3.2) $\mu$ g/mg、尿 NAG 为(10.1 $\pm$ 1.0)U/L、尿  $\gamma$ -GGT 为(35 $\pm$ 4.07)U/L。187 例接铅作业人员中, 41 例尿铅水平高于正常参考值, 即尿铅阳性组; 146 例尿铅水平在正常参考值以内, 即尿铅阴性组。尿铅阳性组:尿 mAlb 为(26.3 $\pm$ 4.31) $\mu$ g/mg、尿 NAG 为(12.25 $\pm$ 1.3)U/L、尿  $\gamma$ -GGT 为(61.0 $\pm$ 6.82)U/L; 尿铅阴性组:尿 mAlb 为(25.8 $\pm$ 4.2) $\mu$ g/mg、尿 NAG 为(12.0 $\pm$ 1.1)U/L、尿  $\gamma$ -GGT 为(60.0 $\pm$ 6.5)U/L, 两组差异无统计学意义( $P>$ 0.05)。结论 在高铅环境中工作的人员, 存在早期肾损伤的可能性。

**关键词:**  $\gamma$ -谷氨酰转移酶; 铅; 尿微量白蛋白; N-乙酰- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷酶

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.09.050

**文献标识码:**B

**文章编号:**1673-4130(2011)09-1013-02

接铅作业人员长期接触铅,或在铅含量过高的空气环境中工作,长期吸入大量的铅,对血液系统、肝脏、肾脏和神经系统都有较大损害。本研究测定 187 例接铅作业人员尿铅、尿微量清蛋白(mAlb)、尿 N-乙酰- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)、尿  $\gamma$ -谷氨酰转移酶( $\gamma$ -GGT)指标,充分讨论铅环境下工作者的早期损伤的状况。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 接铅作业人员 187 例,其中男 166 例,女 21 例,年龄 23~54 岁,平均(38 $\pm$ 8)岁。健康对照组 110 例,其中男性 68 例,女性 42 例,年龄 22~56 岁,平均(38 $\pm$ 8)岁。187 例接铅作业人员与 110 例健康对照者排除其他疾病。

### 1.2 方法

**1.2.1 检测方法** 尿 mAlb、NAG、 $\gamma$ -GGT 及尿铅测定均留取晨尿,用干净清洁无铅容器留取送检。

**1.2.2 仪器与试剂** 仪器:美国雅培 C8000 全自动生化分析仪。试剂:mAlb 试剂(朗道公司,批号:192682);NAG 试剂(批号:09-1021p)、GGT 试剂(批号:10-0406p),均由北京九强公司生产。尿铅采用《职业病国家标准汇编》1992 版 GB11504-89 方法进行测定。

**1.3 统计学处理** 用 SPSS11.0 统计软件进行统计分析,计算资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,采用  $t$  检验和相关分析。

### 2 结果

以尿铅水平分组,尿铅阳性组 41 例与尿铅阴性组 146 例,尿 mAlb、NAG、 $\gamma$ -GGT 水平两组比较差异无统计学意义( $P>$

0.05),见表 1。分析 187 例接铅作业人员以尿 mAlb 大于 30  $\mu$ g/mg 为异常。尿 NAG 大于 12 U/L 为异常, $\gamma$ -GGT 大于 62 U/L 为异常;高于尿 mAlb、NAG、 $\gamma$ -GGT 参考值上限例数分别为 47、52、75 例;高于尿 mAlb、NAG、 $\gamma$ -GGT 正常参考值上限 2 倍例数分别为 14、14、10 例。

表 1 3 组尿 mAlb、NAG、 $\gamma$ -GGT 结果比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	mAlb( $\mu$ g/mg)	NAG(U/L)	$\gamma$ -GGT(U/L)
健康对照组	110	20.60 $\pm$ 3.20	10.10 $\pm$ 1.00	35.00 $\pm$ 4.07
尿铅阳性组	41	26.30 $\pm$ 4.31	12.25 $\pm$ 1.30	61.00 $\pm$ 6.82
尿铅阴性组	146	25.80 $\pm$ 4.20	12.00 $\pm$ 1.10	60.00 $\pm$ 6.50

### 3 讨论

尿 mAlb 的排出增加,反应肾脏、肾小球滤过膜通透性增加,超过肾小管对清蛋白的吸收能力,提示早期肾损伤。尿 NAG 是一种位细胞溶酶体内的酸性水体酶,相对分子质量为  $140\times 10^3$ ,尿中的 NAG 并不是来源于血浆,主要来源于肾小管。肾小管损伤时,尿中 NAG 活性明显升高。 $\gamma$ -GGT 主要分布于肾脏、脑、前列腺、胰、肝脏等组织,以肾脏含量最高,尿  $\gamma$ -GGT 增高常提示各种原因导致的肾小管炎症性病变。某些重金属中毒引起的中毒性肾损伤常导致  $\gamma$ -GGT 增高<sup>[1-2]</sup>。

接铅作业人员长期接触铝粉尘,铅蒸汽就会造成吸入大量铅离子进入体内,大量的铅就会对造血系统、神经系统、肝脏和肾脏造成损害,体内铅含量增高,尿铅排出量就会增加。本研究通过对 187 例接铅作业人员的尿铅及尿 mAlb、NAG、 $\gamma$ -

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: dhh\_2003@163.com.