

- 危因素分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2010, 12(8): 622-624, 629.
- [6] 石玉玲, 廖扬, 曾珠, 等. 血清降钙素原在下呼吸道感染疾病中的诊断与应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(1): 44-46.
- [7] 王欢, 沈定霞, 张有江, 等. 降钙素原与血培养诊断血流感染比较[J]. 军医进修学院学报, 2010, 31(7): 695-696, 711.
- [8] 王莉莉, 秦发伟, 马惠芳. 导管相关性血流感染危险因素分析及干预措施[J]. 齐鲁护理杂志, 2010, 16(21): 3-4.

- [9] 洪亮. 急性胰腺炎患者血清降钙素原的变化及临床意义[J]. 山东医药, 2008, 48(7): 20.
- [10] 李杏崧, 李绮慈, 吕春梅, 等. PICC 置管对危重症患者中心静脉导管相关性血流感染的影响[J]. 现代医院, 2010, 10(12): 78-80.

(收稿日期: 2012-11-09)

• 经验交流 •

176 例男性尿道口细胞中 HPV 感染基因型分布的研究*

龙秀荣¹, 耿建祥^{2△}, 李丽², 王志蕙², 施启丰², 夏林², 王宏景², 王晓红², 夏思钧²

(1. 江苏省南京市六合区人民医院病理科, 江苏南京 211500; 2. 南京中医药大学附属第三医院病理科 HPV 协作组, 江苏南京 210001)

摘要:目的 探讨苏州市男性生殖器尖锐湿疣患者尿道口细胞中人乳头瘤病毒(HPV)不同基因型别感染情况及其临床意义。方法 从 176 例男性生殖器尖锐湿疣患者尿道口细胞标本中提取 23 种 HPV DNA, 采用基因扩增结合基因芯片杂交技术对其进行 HPV 基因型别的检测, 并对受检者进行基因型别的分析。结果 176 例男性受检者中检出 HPV 感染者 110 例, 总阳性率为 62.50%(110/176)。其中单一型别的 HPV 感染者 72 例, 占 40.91%(72/176), 单一型别的感染中, HPV6 型感染者 26 例, 阳性率为 14.77%(26/176), 是单一型别最主要的感染类型, 其次分别为 HPV11 型 24 例、16 型 8 例、58 型 3 例、18 型 2 例、56 型 2 例, 感染率分别为 13.64%(24/176)、4.55%(8/176)、1.71%(3/176)、1.14%(2/176)。混合型 HPV 感染者 38 例, 占 21.59%(38/176), 其中二型混合感染者 25 例, 占混合型感染的 65.79%(25/38), 三型感染者 9 例, 占混合型感染的 23.68%(9/38)。结论 HPV 6 型、11 型、16 型、18 型、58 型和 56 型是苏州市男性生殖器尖锐湿疣患者尿道口细胞感染的主要基因型别, 基因扩增结合基因芯片检测技术是一种比较适合临床对男性进行 HPV 分型检测的敏感性高、特异性强的诊断方法, 尤其适合开展男性尿道口细胞中 HPV 感染的分子流行病学的研究。

关键词:人乳头瘤病毒; 尿道口; 基因型; 男性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.06.043

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2013)06-0723-03

目前, 全世界的人乳头瘤病毒(HPV)研究者都将主要目光聚焦在女性宫颈病变的 HPV 研究上, 而男性生殖器 HPV 感染的专题研究且浅而少见, 更缺乏多中心、大样本、多角度的深入研究。男性在女性 HPV 感染过程中起到了 HPV 传播的“载体”作用^[1-6]。从这个意义上来说, 对男性开展多中心、大样本、多角度的 HPV 基因分型研究很有必要, 应对男性自然人群中 HPV 感染的流行度, 流行趋势, 流行型别以及各流行型别的比率进行研究。因为对男性采取干预治疗要比对女性更简单易行, 如果能够对男性 HPV 感染者实行有效的管理和干预治疗, 阻断男性这条 HPV 传播链, 在宫颈癌的防治上将起到事半功倍的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 1 月至 2012 年 4 月江苏省苏州市苏州大学附属第一医院泌尿外科的 176 例男性的尿道口上皮细胞标本, 受检男性均为生殖器尖锐湿疣患者(尿道口尖锐湿疣患者除外), 年龄 20~61 岁, 平均 32.10 岁。将其以 10 岁为一年龄组分成 5 组, 并对 HPV 感染率及型别进行比较, 其中年龄 20~29 岁 87 例, 30~39 岁 54 例, 40~49 岁 25 例, 50~59 岁 7 例, 60~69 岁 3 例。由 2 位经验丰富的技术员按照说明书规范操作。

1.2 仪器与试剂 基因扩增仪为新加坡生产的 Gene Amp PCR system 2400 型; 分子杂交仪为江苏省兴化市分析仪器厂生产的 FYY-3 型; 高速冷冻离心机为德国生产的 eppendorf 5810R 型; 生物安全柜为江苏省苏州市安泰空气技术有限公司

生产的 BHC-1300 II A2 型; 青岛海尔有限公司生产的 -20℃ 冰箱等。HPV 基因分型检测试剂盒, 由亚能生物技术(深圳)有限公司提供。显色液须新鲜配制, 使用时所需浓度加蒸馏水配制。

1.3 方法

1.3.1 标本的采集及保存 检查者用戴有无菌手套的手将受检者尿道口充分暴露, 用一次性男性专用拭子置于尿道口, 顺时针旋转拭子 4~5 圈, 慢慢抽出, 以获得足够的尿道口上皮细胞标本, 将拭子头部放入洗脱管中, 旋紧洗脱管盖, 做好标本标识, 保持采集管直立, 放入 -20℃ 冰箱保存待测。

1.3.2 DNA 的提取 将拭子头充分漂洗后, 把洗脱液全部转移至 1.5 mL 的离心管中, 13 000 r/min 离心 10 min 后, 弃去上清液, 保留管底的细胞。随后加入裂解液 50 μL, 充分振荡混匀, 在金属浴中加热 100℃ 10 min, 立即 13 000 r/min 离心 10 min 后, 取中间层 DNA 溶液待用。

1.3.3 PCR 扩增 将 PCR 反应管(20 μL)3 000 r/min 离心 4 s 后依次编号, 分别加入 2 μL 矿物油和已提取的 DNA 样品、空白对照、阳性对照各 5 μL, 反应体系总体积 27 μL, 3 000 r/min 离心 4 s, 上机扩增。扩增条件为 50℃ 15 min; 95℃ 10 min; 94℃ 30 s; 42℃ 90 s; 72℃ 30 s; 共 40 个循环, 72℃ 5 min。

1.3.4 杂交、孵育和显色 取 15 mL 离心管, 放入标有样本编号的膜条, 加入 5~6 mL A 液(2×SSC, 0.1% SDS)及所有 27 μL PCR 产物, 拧紧管盖, 将离心管放入沸水浴中变性 10

min(确保 A 液液面完全位于沸水浴液面之下),取出并立即放入 51 ℃杂交箱内杂交 1.5 h,同时取 50 mL 离心管,加入 50 mL B 液(0.5×SSC,0.1%SDS),于杂交箱预热。取出膜条,转移至已预热的 B 液中,51 ℃轻摇洗涤 5 min,将膜条转移至孵育液(A 液:POD=2 000∶1,4 张膜可用 6 μL POD 配制成 12 mL 孵育液)中室温孵育 30 min,弃去孵育液,用 A 液室温轻摇洗涤 2 次,每次 5 min,再用 C 液(0.1 mmol/L 柠檬酸钠)轻摇洗涤 2 min;显色液(C 液 19 mL, TMB 1 mL,30% H_2O_2 2 μL)中显色至少 30 min;转移至去离子水中浸泡即可观察结果。

1.4 统计学处理 应用统计软件包 SPSS 13.0,对相关数据进行统计学处理,率的比较采用 χ^2 检验或确切概率法。

2 结 果

176 例男性受检者尿道口上皮细胞标本中,检出 110 例 HPV 感染阳性者,总阳性率为 62.50%(110/176)。其中单一型别的 HPV 感染者 72 例,占 40.91%(72/176),单一型别的感染中,HPV6 型感染者 26 例,阳性率为 14.77%(26/176),是单一型别最主要的感染类型。混合型 HPV 感染者 38 例,占 21.59%(38/176),其中二型 HPV 混合感染者 25 例,阳性率为 14.21%(25/176),是混合型最主要的感染类型。一重 HPV 感染者 72 例其感染型别为 6 型 26 例,11 型 24 例,43 型 1 例;16 型 8 例、18 型 2 例、33 型 1 例、35 型 1 例、45 型 1 例、51 型 1 例、52 型 1 例、56 型 2 例、58 型 3 例、68 型 1 例。25 例二重 HPV 感染者,型别分别为 6+11 型 1 例,6+16 型 2 例,6+18 型 1 例,6+31 型 1 例,6+35 型 2 例,6+43 型 1 例,6+52 型 2 例;11+16 型 1 例,11+18 型 2 例,11+33 型 1 例,11+51 型 1 例,11+52 型 2 例,11+56 型 1 例,11+58 型 3 例,11+59 型 1 例,11+68 型 1 例;18+35 型 1 例,56+58 型 1 例。9 例三重 HPV 感染者分别为 6+16+35 型 1 例,6+18+59 型 1 例,6+35+58 型 1 例,6+52+59 型 1 例,11+18+51 型 1 例,11+18+58 型 1 例,11+31+45 型 1 例,11+33+51 型 1 例,11+33+56 型 1 例。3 例四重 HPV 感染者分别为 6+11+16+18 型 1 例,6+11+16+56 型 1 例,6+16+18+56 型 1 例。1 例五重 HPV 感染者为 11+33+35+52+56 型 1 例。将 176 例男性受检者按 10 岁分组,依据 HPV 阴性及阳性分成 5 组进行比较(见表 1),其 χ^2 值为 0.006~3.82, $P>0.05$,HPV 感染率 5 组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。表明 HPV 感染在本研究各个年龄段无统计学差异。

表 1 176 例男性尿道口细胞标本中 HPV 感染的年龄组分布

年龄分组(岁)	<i>n</i>	阳性数	阴性数	阳性率(%)
20~30 组	87	51	36	58.62
>30~40 组	54	33	21	61.11
>40~50 组	25	20	5	80.00
>50~60 组	7	4	3	57.14
>60~69 组	3	2	1	66.67

3 讨 论

HPV 感染很普遍的,有数据显示 4%~20%的健康者都有感染,甚至超过 20%以上,终身积累感染的概率已达到 60%~70%,甚至超过 70%以上^[1,4,7]。几乎所有的宫颈癌(99%)都与 HPV 感染有关。如何切断 HPV 在两性之间的传播,尤其切断男性在 HPV 传播上的“桥梁”作用,意义深远^[1,4,7]。

本研究表明,176 例男性尿道口上皮细胞标本中 23 种

HPV 基因分型检测检出了 15 种 HPV 感染的基因型别,HPV 阳性感染者 110 例,阴性者 66 例,总的 HPV 感染率为 62.50%(110/176)。研究结果显示:(1)中国苏州市尖锐湿疣男性患者尿道上皮细胞中即有单一型别的 HPV 感染,也有多型别的 HPV 混合感染,以单一型感染为主,混合型感染为辅,单一型(72 例)和混合型(38 例)之比为 1.90∶1,超过女性宫颈一般人群 HPV 感染单一型和混合型之比 3∶1 的比例,说明男性尖锐湿疣患者尿道上皮细胞中 HPV 单一型和混合型之比的差距在缩小。由于男性在 HPV 传播上起着重要的“桥梁”作用,因此,男性混合型感染者的增加,就会使得女性宫颈癌和癌前病变中混合型感染者的数量也呈现出上升的趋势。从 HPV 协作组对深圳市女性宫颈细胞的分型研究检出的五重、六重及七重 HPV 感染来看,就近一步说明了混合型 HPV 感染正呈现出不断增加的趋势^[8]。(2)本文 176 例男性受检者尿道口 HPV 感染率为 62.50%,表明男性尿道口是又一个 HPV 易感染部位。所有 110 例 HPV 阳性的男性中除 21 例一重感染及 2 例二重感染外都伴有 6 型或 11 型 HPV 感染,其中 57 例受检者有高危型别的 HPV 感染(32.39%,57/176),而高危型别的 HPV 感染往往是上皮性恶性肿瘤的重要诱发因素,也是引发宫颈癌、肛门癌及外生殖器癌的重要诱因。(3)由于高危型 HPV 感染是宫颈癌发病的主要致病因素。然而女性的 HPV 感染又来自于何处,研究发现男性在 HPV 传播上起着至关重要的作用。因此,如何打断男性在 HPV 传播上的作用是降低女性宫颈癌发病率和病死率的关键^[1,4-5]。但是,将 HPV 检测应用到我国男性筛查中,目前还缺乏基础研究数据,其中包括我国各地区和种族中一般男性群体 HPV 感染率及感染基因谱的分布状况,干预治疗及预防等问题都需要逐一解决。现阶段,对我国自然男性人群开展 HPV 感染基因谱分布规律的大样本、多中心和多角度的分子流行病学研究是一项非常紧迫且重要的任务。(4)为了阻遏性传播性疾病的在我国的传播,我国也与国际接轨,在公共场所配备安全套以便需求者容易获得或买到。(5)目前,HPV 研究者们都将主要的精力集中于女性宫颈病变的 HPV 研究上,而男性的 HPV 研究知之甚少,全世界尚没有大样本、多中心和多角度的男性 HPV 感染分型研究的数据资料。在女性 HPV 感染中不同的国家和地区以及各民族之间存在着一定的差异性,这种差异性在男性 HPV 感染中是否存在,这需要多地、大样本的 HPV 基因分型研究后方能得出结论。(6)在 176 例男性受检者尿道口上皮细胞单一型别的感染中,HPV6 型感染者 26 例,阳性率为 14.77%(26/176),是单一型别最主要的感染类型,其次分别为 HPV11 型 24 例、16 型 8 例、58 型 3 例、18 型 2 例、56 型 2 例,感染率分别为 13.64%(24/176)、4.55%(8/176)、1.71%(3/176)、1.14%(2/176)。混合型 HPV 感染者 38 例,占 21.59%(38/176),其中二型混合感染者 25 例,占混合型感染的 65.79%(25/38),三型感染者 9 例,占混合型感染的 23.68%(9/38)。本文结果显示尖锐湿疣男性尿道口细胞 HPV 感染,单一型别以低危型 HPV 感染为主,而混合型别中高危型 HPV 感染出现频率超过低危型别,且高危型和多重混合型 HPV 感染呈现出上升的趋势。(7)本研究男性 HPV 感染出现频率前 6 位的型别为 HPV 11 型 45 人次、HPV 6 型 43 人次、HPV 16 型 15 人次、HPV18 型 11 人次、HPV58 型 9 人次、HPV56 型 8 人次,这 6 种 HPV 型别是苏州市尖锐湿疣男性患者尿道口细胞感染出现频率最高的类型。由于高危型 HPV 致癌力是低危型 HPV 的 10 倍,在关注和监测低危型 HPV 的同时,更应该监控

HPV16 型、18 型、58 型和 56 型,尤其是中国在研发 HPV 疫苗时,考虑到 HPV58 型和 56 型在我国呈现出不断上升的流行趋势,应覆盖 HPV58 型和 56 型。(8)据报道,HPV 单一型别的感染可使宫颈癌的发病风险增加 19.9 倍,而多重型别的 HPV 混合感染可使宫颈癌的发病风险增加 31.8 倍^[6]。HPV 多重型别的混合感染载量要高于单一型别的 HPV 感染,癌变相关风险更大,是宫颈癌及其相关癌症发生的一个非常重要的危险因素,且致病力也更强,病变发展更快,复发率更高^[7-10]。本研究高危 HPV18 型(9/2)、58 型(6/3)、56 型(6/2)其混合型别的感染超过单一型别的感染,值得重视和关注。医生更应该加强对男性多重型别 HPV 感染者的管理、治疗和跟踪检测工作。

虽然 HPV 仍然有许多问题有待继续探索和研究,由于高危型 HPV 的持续感染是宫颈癌发生的最主要的病因^[10-13],且 HPV 又可在两性之间互相传播,所以男孩也该接种宫颈癌疫苗。如何打断男性 HPV 的传播链,这是尽可能减少 HPV 在两性之间传播的非常重要的一个环节。通过给男孩接种宫颈癌疫苗,对性活跃期的男性行 HPV 监控,对 HPV 阳性的男性给予及时管理和治疗,并在性事时采用安全套等措施,这样就可以降低男性和女性的 HPV 感染率,宫颈癌及其他癌的发病率也会随之下降。同时也要加强女性宫颈癌的筛查。如果这些措施都能够落实到位,宫颈癌将会成为人类第一个可进行有效预防的恶性肿瘤,这将造福于广大的女性^[14]。

参考文献

[1] 耿建祥,王旭波.人乳头瘤病毒检测及其临床应用[M].北京:人民卫生出版社,2009:381-427.
[2] 兰建云,邵伟伟,袁苏娟,等.外耳道乳头状瘤中的人乳头瘤病毒检测及其临床意义[J].医学研究生学报,2010,23(4):391-393.
[3] 张金浩,耿建祥,吴崑崙,等.结直肠肿瘤中人乳头瘤病毒感染的

基因分析[J].医学研究生学报,2011,24(2):154-157.
[4] 李海,邓志勇,张阳,等.人乳头状瘤病毒在阴茎鳞癌组织中的表达及意义[J].现代实用医学,2010,22(9):1037-1038.
[5] 唐永发,耿建祥,张金浩,等.196 例肛门及肛管尖锐湿疣病变中 HPV 感染的研究[J].国际检验医学杂志,2012,33(11):1303-1304,1307.
[6] 范文生,李亚里,杨怡卓,等.基因芯片技术检测宫颈病变中 HPV 感染的临床研究[J].中华医院感染学杂志,2009,19(7):745-747.
[7] 董云灿,耿建祥,张劲松,等.1722 例已婚女性宫颈细胞中人乳头瘤病毒基因的分型[J].国际检验医学杂志,2012,33(7):817-818,820.
[8] 任晓慧,耿建祥,李海,等.某市 2109 例女性宫颈细胞中 HPV 基因型别的研究[J].国际检验医学杂志,2012,33(13):1542-1544.
[9] 严粉琴,耿建祥,肖微,等.已婚女性宫颈上皮细胞中人乳头瘤病毒基因分型 2000 例分析[J].实用妇产科杂志,2012,28(5):390-393.
[10] Giuliano AR, Tortolero-Luna G, Ferrer E, et al. Epidemiology of human papillomavirus infection in men, cancers other than cervical and benign conditions[J]. Vaccine, 2008, 26 Suppl 10(1):K17-K28.
[11] Zhao R, Zhang WY, Wu MH, et al. Human papillomavirus infection in Beijing, People's Republic of China: a population-based study[J]. Br J Cancer, 2009, 101(9):1635-1640.
[12] Jiang P, Liu J, Zeng X, et al. Association of TP53 codon 72 polymorphism with cervical Cancer risk in Chinese women[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2010, 197(2):174-178.
[13] 郎景和.妇科肿瘤临床诊治的挑战与对策[J].中国癌症防治杂志,2012,4(1):1-4.
[14] McLaughlin-Drubin ME, Münger K. Oncogenic activities of human papillomaviruses[J]. Virus Res, 2009, 143(2):195-208.

(收稿日期:2012-11-0)

• 经验交流 •

无偿献血者 HBsAg 酶免筛查结果分析

刘 颖¹, 马丽媛²

(1. 辽宁省大连市血液中心检验, 辽宁大连 116001; 2. 辽宁省大连市第二人民医院, 辽宁大连 116001)

摘要:目的 了解 2006~2010 年大连地区无偿献血者血液乙肝病毒感染情况。方法 采用酶联免疫法对 245 833 名献血者血液标本进行 HBsAg 检测。结果 历年 HBsAg 不合格率男女比较差异无统计学意义($P>0.05$);4 个年龄组中,18~25 岁的 HBsAg 不合格率最高,HBsAg 复检不合格数占本组献血人数的 0.40%,不同年龄组的 HBsAg 总不合格率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 加强 HBsAg 初筛人员培训,杜绝人为因素造成的不合格,同时探讨建立适宜的检测模式,既防止漏检,又最大限度降低由假阳性反应导致的血液不合理淘汰。

关键词:献血者; 肝炎表面抗原,乙型; 酶联免疫吸附测定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.06.044

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2013)06-0725-03

乙型肝炎病毒(HBV)引起的病毒性肝炎,给世界各地带来严重的公共卫生问题^[1]。作为乙型肝炎病毒感染的最主要检测指标之一的 HBsAg,是采供血机构筛查血液的必检项目。笔者对 2006~2010 年大连地区无偿献血者血液 HBsAg 酶免筛查结果进行回顾性分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2006 年 1 月 1 日至 2010 年 12 月 31 日大连市无偿献血者的血液标本,献血前按照卫生部《献血者健康检查标准》,对所有的献血者进行健康调查和体检,并进行转氨

酶、乙型肝炎表面抗原和血红蛋白的快速血液筛查,检测结果合格后采集血液,总计 245 833 人次。

1.2 仪器与试剂 AT plus 全自动加样仪(瑞士哈美顿公司);FAME 24/20 酶免处理系统(瑞士哈美顿公司);全自动生化分析仪(HITACHI7080);乙型肝炎病毒表面抗原诊断试剂盒(上海科华、厦门新创),所有试剂均为批批检合格,并在有效期内使用。

1.3 方法 采集后的血液标本采用 ELISA 原理进行 HBsAg 检测,两种试剂检测两次,严格按照试剂盒说明书操作。酶免