



下图箭头①:IVS-II-654 纯合子(c. 316-197C>T);下图箭头②: SNP 位点(c. 316-185C>T)。

图 4 IVS-II-654 位点的熔解曲线以及纯合突变 PCR 产物测序结果

3 讨 论

准确、快速的实验室基因诊断方法对于防止重型 β 地中海贫血患儿出生具有重要意义。珠蛋白基因测序虽然是诊断地中海贫血的金标准,也是国外普遍应用于地中海贫血基因诊断的方法,但因 DNA 测序设备、试剂昂贵,以及对实验室人员技术要求都较高,无法在临床广泛开展,因此,国内外关于地中海贫血基因诊断的研究报道不少。例如,多重等位基因特异性 PCR(MASPCR)进行 β 地中海贫血的基因诊断^[6],该方法克服了 RDB 操作繁杂的缺点,但是只能诊断少数几种常见 β 地中海贫血,无法诊断较少见的突变类型,不适合临床应用。将荧光定量 PCR 用于 β 地中海贫血基因检测的方法^[7]与常规 PCR 不同之处在于它能精准地判断是否具有某种点突变,因此可以用来检测以点突变为主的 β 地中海贫血,但是与 MASPCR 类似的是该方法同样不能检测未知突变,而且如果针对已知两百多种突变都设计探针的话,成本又太高,因此该方法也无法普遍用于临床作为独立的基因诊断方法。基因芯片也可以用于诊断 β 地中海贫血基因诊断,虽然解决了通量和精确性问题,可以一次性检测多种突变类型,但由于目前没有国产的芯片,成本明显高于现有诊断方法,难以普遍推广。

HRM 技术以其灵敏度高,检测通量高的优势,近年来在基因突变筛查领域应用逐渐广泛。本研究在长期从事地中海贫血基因诊断的工作基础上,利用积累的大量各种基因型标本,将常见的 5 种点突变利用 HRM 技术进行分析,结果显示无论纯合或者杂合突变均可以较好的区分于野生型。因为其原理是不同 DNA 解链温度不同,扩增片段一般限制在 100~

200 bp 范围之内,每一个碱基的突变均导致一个变性峰的出现。在研究过程中,发现了 5 种常见突变以外的未知突变,经过 PCR 产物测序发现该突变为 IVS-II-666(c. 316-185 C>T),经过后期增加测序数据(尚未报道)发现该突变在人群中普遍存在,目前依据已有数据一般将其定义为多态变异,但其是否与其他位点之间存在协同效应尚需要进一步研究。

本研究针对广东地区常见的五种点突变 β 地中海贫血基因型,利用 PCR-HRM 技术对 β 地中海贫血进行基因筛查,建立了实验室快速检测的方法,可以明显缩短检测周期。因其检测突变依据变性峰的差异,必须依赖于 DNA 测序作为最后判断标准。作为一种快速的筛查手段,PCR-HRM 技术可以成为临床地中海贫血基因诊断有效的方法学备份。

参考文献

- [1] 朱学海,魏代奎.地中海贫血的基因诊断分析[J].中国实用医药,2008,3(13):126-127.
- [2] Xu XM,Zhou YQ,Luo GX,et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassaemia in Guangdong Province; implications for the future health burden and population screening[J]. J Clin Pathol,2004,57(5):517-522.
- [3] Martino A,Mancuso T,Rossi AM. Application of high-resolution melting to large-scale, high-throughput SNP genotyping; a comparison with the TaqMan method[J]. J Biomol Screen,2010,15(6):623-629.
- [4] Wittwer CT. High-resolution DNA melting analysis: advancements and limitations[J]. Hum Mutat,2009,30(6):857-859.
- [5] Vossen RM,Aten E,Roos A,et al. High-Resolution melting analysis(HRMA)-More than just sequence variant screening human mutation[J]. Hum Mutat,2009,30(6):860-866.
- [6] 田晶,王峰,薛金凤,等.2 型重组腺病毒介导的 β -地中海贫血基因治疗实验[J].上海交通大学学报:医学版,2011,31(1):9-14.
- [7] 潘婷.广西重型 β -地中海贫血 BCL11A 基因多态性与 HbF 及 γ -珠蛋白表达的相关性研究[D].广西:广西医科大学,2012.
- [8] Takahashi N,Hiyama K,Kodaira M,et al. An improved method for the detection of genetic variations in DNA with denaturing gradient gel electrophoresis[J]. Mutat Res,1990,234(2):61-70.

(收稿日期:2013-10-01)

• 检验技术与方法 •

BV 三联检测在细菌性阴道病诊断中的应用

徐慧丽,吴冬生,钟 桥

(苏州市立医院本部检验科,江苏苏州 215002)

摘 要:目的 探讨 BV 三联检测在妇科患者诊断细菌性阴道病中的临床价值。方法 对 3 300 例妇科患者行阴道分泌物 BV 三联(唾液酸苷酶、过氧化氢酶、白细胞酯酶)检测及显微镜阴道分泌物常规检测,并统计细菌性阴道炎、滴虫性阴道炎及霉菌性阴道炎在临床妇科炎症中的发生率。结果 根据临床表现和 BV 三联检测及阴道分泌物常规检测结果显示,细菌性阴道病发生率为 32.6%,显著高于滴虫性阴道炎 3.6%及霉菌性阴道炎 12.2%,其中 20~49 岁的育龄妇女均为 BV 高发年龄,其他年龄段也有一定的阳性率。结论 BV 在妇科门诊的发病率较高,应加强 BV 三联检测在妇科门诊的推广与应用。

关键词:细菌性阴道病; 阴道分泌物; BV 三联试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.23.046

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)23-3203-03

细菌性阴道病(BV)的发病原因主要是阴道中正常菌群的

优势被厌氧菌群所取代,如加特纳菌、棒状杆菌、嗜血杆菌等引

起的无明显阴道黏膜炎症表现的疾病,常无明显临床症状,可通过性途径传播,是育龄妇女最常见的阴道感染性疾病之一。为了解门诊患者细菌性阴道病发病情况及 BV 三联检测的临床应用价值,对本院 2011 年 7 月至 2012 年 6 月 3 300 例妇科门诊患者 BV 三联检测结果和阴道分泌物常规镜检结果进行总结分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 7 月至 2012 年 6 月本院妇科门诊就诊妇女 3 300 例,年龄 17~62 岁。取材前 24 h 内无性生活、无阴道灌洗或阴道用药。标本由妇科医生采集,用无菌棉拭子取阴道后壁下 1/3 部位分泌物,停留 15 s,旋转 1 周,再停留 15 s,使棉签充分吸收分泌物,每位患者在相同部位收集两份阴道分泌物,一份用于阴道分泌物常规检查,一份用于 BV 三联检测,采样后立即送检。

1.2 方法 阴道分泌物常规检查按照《全国临床检验操作规程》^[1]进行。BV 检测采用北京中生金域诊断技术有限公司提供的 BV 三项联合测定试剂盒,严格按试剂操作说明书进行。BV 三联检测结果判断标准:三项全部阳性或唾液酸苷酶阳性同时 H_2O_2 浓度异常确诊为 BV;唾液酸苷酶阳性同时白细胞脂酶阳性或唾液酸苷酶单独阳性表明致病病菌入侵繁殖,如有临床症状经妇科医生综合鉴定可诊断为 BV。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据分析;计数资料以百分率比较,组间比较采用卡方检验;显著性检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 BV 与霉菌、滴虫检出结果分析 3 300 例妇科门诊 BV 患病率为 32.6% (1 076/3 300),显著高于霉菌性阴道炎 12.2% (403/3 300),差异有统计学意义 ($\chi^2=394.68, P<0.05$)及滴虫性阴道炎 3.6% (119/3 300) ($\chi^2=935.84, P<0.05$),是引起妇科炎症的首要致病因素,同时有 69 例为 BV 与霉菌混合感染 (2.1%),40 例为 BV 与滴虫混合感染 (1.2%)。

2.2 BV 检出率与阴道清洁度的关系 总的 BV 检出率为 32.6% (1 076/3 300);当阴道清洁度为 I~IV 度, BV 检出率分别为 24.1% (317/1 313)、37.7% (343/911)、42.6% (284/667)、32.3% (132/409)。当阴道清洁度为 II、III 度时, BV 检出率较高。

2.3 不同年龄妇科患者的 BV 检出率 纳入研究的妇女中,小于 20 岁的, BV 检出率为 12.5% (3/24);20~<30 岁的, BV 检出率为 36.2% (420/1 161);30~<40 岁的, BV 检出率为 32.0% (426/1 331);40~<50 岁的, BV 检出率为 30.8% (201/653);≥50 岁的, BV 检出率为 19.8% (26/131)。20~<50 岁为妇女 BV 感染高发年龄,其中 20~<30 岁、30~<40 岁、40~<50 岁,三组分别与小于 20 岁、≥50 年岁比较差异均有统计学意义 ($\chi^2=6.04\sim13.885, P<0.05$)。

3 讨论

细菌性阴道病 (BV) 是育龄妇女最常见的阴道感染性疾病之一,以阴道微生态环境紊乱为特征,未经及时治疗可导致盆腔炎、子宫内膜炎、不孕症、不良妊娠、泌尿系统感染等多种疾病,并且使感染 HIV 及患宫颈癌的风险增高^[2]。妊娠合并 BV 可增加母婴感染概率,导致羊膜炎、新生儿感染、术后感染、早产、流产、死胎等并发症^[3-4],除了阴道分泌物常规检测外, BV 三联检测是现在临床诊断生殖道炎症的一项指标,它对阴道分泌物进行 H_2O_2 浓度、唾液酸苷酶、白细胞酯酶的联合测定。

阴道分泌物中 H_2O_2 浓度可以帮助医生了解患者阴道内产 H_2O_2 的乳酸杆菌的生态状况,分析阴道微生态是否正常;白细胞酯酶阳性是阴道黏膜受损或已有炎症的标志,检测白细胞酯酶可以帮助了解患者阴道壁有无实质性黏膜受损;唾液酸苷酶是由阴道菌群中引发 BV 的病原体分泌的,其活性与病原菌数量成正比,检测唾液酸苷酶活性可以了解病原体定居和繁殖的情况,原因是 BV 患者阴道内厌氧菌产生大量唾液酸苷酶,使其阴道内分泌物唾液酸苷酶活性显著增高,而非 BV 患者的阴道分泌物中唾液酸苷酶活性正常。本文 3 300 例妇科门诊患者阴道分泌物常规及 BV 三联检测结果结合临床症状显示细菌性阴道病占 32.6%,显著高于霉菌性阴道炎 12.2% 及滴虫性阴道炎 3.6%,与朱竑等^[5]研究报道结果相符,是引起妇科炎症的首要致病因素,本研究中有 2.1% 的 BV 与霉菌混合感染,1.2% 的 BV 与滴虫混合感染,原因可能是由于 BV 患者阴道微生态环境的破坏,大量致病性厌氧菌取代了正常乳酸杆菌,黏附在上皮细胞表面使细胞溶解,形成了特有的线索细胞,同时其代谢产物导致 pH 升高,此时引起感染的细菌所分泌的酶会侵蚀上皮,使阴道上皮失去防御功能,抵抗力下降,从而使霉菌入侵;而滴虫可消耗阴道内糖原,降低乳酸浓度,使阴道内 pH 转为中性或碱性,使得大量厌氧菌繁殖,因此两者可相互促进^[6-7]。

细菌性阴道病可不典型,常呈多样性,其临床表现为白带增多、面糊样黏稠、有异味而无明显阴道黏膜炎症表现。本文通过对 3 300 例妇科门诊患者 BV 三联检测发现,当阴道清洁度 II 度、III 度时 BV 阳性率分别为 37.7% (343/911)、42.6% (284/667),阴道清洁度 IV 度时 BV 为 32.2% (132/409),提示 BV 与阴道清洁度不一定相关,与朱丽莎等^[8]报道的阴道清洁度相关性相符,进一步强调了把 BV 纳入常规检测的重要性。

本文对 BV 在年龄段中的分布作了分析统计,表 3 表明 20~49 的妇女均为细菌性阴道病的高发年龄,其中 20~<30 岁组为 36.2%、30~<40 岁组为 32.0%、40~<50 岁组为 30.8%,三组分别与小于 20 岁组、≥50 年岁组比较差异有统计学意义,说明细菌性阴道病的发生与性生活活跃、分娩、放置宫内避孕器、流产等情况有关。更年期及老年妇女由于雌激素水平的降低,阴道内局部抵抗能力下降,当大量致病菌进入阴道或阴道处有外伤时,也会造成细菌感染引起细菌性阴道炎,本研究中大于或等于 50 岁组有 19.8% 的 BV 阳性率,故而在注重育龄妇女的生殖健康时,也不能忽视对更年期及老年妇女的生殖健康宣传与保健。

BV 三联检测具有快速简便指标客观的优点^[9-10],结合显微镜阴道分泌物常规检查可以提高阴道炎的诊断率,而目前医生往往注重阴道分泌物常规检查而忽略 BV 三联检测,对非霉菌或滴虫性阴道炎及与 BV 的混合感染造成漏诊及治疗不彻底,从而造成患者病情反复,增加患者负担,同时 BV 的发生发展与支原体感染之间也存在相关性^[11-12],因此加强对 BV 的早期诊断和治疗,了解阴道微生态,对妇女的生殖健康、妇科疾病的预防及治疗有重要意义。

参考文献

- [1] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:324.
- [2] Klebanoff MA, Hillier SL, Nugent RP, et al. Is bacterial vaginosis a stronger risk factor for preterm birth when it is diagnosed earlier in gestation? [J]. Am J Obstet Gynecol, 2005, 192(2): 470-477.

- [3] 薛凤霞. 妇产科学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 261-262.
- [4] 熊海燕, 张克霞, 王朝, 等. 微生态检测在细菌性阴道病诊断中的评价[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(1): 124-125.
- [5] 朱竑, 樊宪梅, 李长平. 妇科门诊阴道分泌物检测与分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2012, 11(15): 1208-1210.
- [6] 钟凌, 李炎鑫, 黄文芳. 细菌性阴道病四联快速检测卡的临床应用及意义[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(3): 421-424.
- [7] 吴蓉丽, 姚红瑛. 阴道分泌物细菌性阴道病检测 1 820 例结果分析[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(16): 3071-3072.
- [8] 朱丽莎, 王凤玲, 冉训, 等. 1 000 例妇科门诊细菌性阴道病联合检

- 测的结果及分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(3): 349-350.
- [9] 王昌壁, 唐燕, 许慧, 等. 细菌性阴道病联合测定试剂盒对细菌性阴道病的诊断价值[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(16): 2740-2742.
- [10] 丁金龙, 楼秀敏, 沈瑛, 等. BV 三联法在细菌性阴道病诊断中的应用与评价[J]. 中国微生态学杂志, 2006, 18(5): 407-408.
- [11] 余理智, 陈会, 邓林强, 等. 细菌性阴道病与支原体感染的相关性探讨[J]. 江西医学检验, 2007, 25(2): 145-145.
- [12] 奚少勇, 黄远真, 苏国生. 细菌性阴道病患者支原体和衣原本检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(10): 1255-1256.

(收稿日期: 2013-09-28)

• 检验技术与方法 •

多项生化指标在常见肝病诊断中的价值

李 萍¹, 史 茜², 王 波¹, 徐维家¹

(1. 大连市中心医院检验科, 辽宁大连 116033; 2. 大连医科大学检验系 2008 级, 辽宁大连 116044)

摘 要:目的 初步探讨和评估天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、线粒体型天冬氨酸氨基转移酶(m-AST)、腺苷脱氨酶(ADA)、清蛋白(ALB)、胆碱酯酶(CHE)、前清蛋白(PA)、5'-核苷酸酶(5'-NT)、碱性磷酸酶(ALP)、γ-谷氨酰转肽酶(GGT)、总胆汁酸(TBA)、总胆红素(TBIL)、α-L-岩藻糖苷酶(AFU)共 13 项生化指标在常见肝病诊断中的意义。方法 采用全自动生化分析仪对 268 例急性肝炎、慢性肝炎、肝硬化、肝癌患者和 212 例健康体检者血清中的上述指标进行检测, 对数据进行统计分析。结果 急性肝炎、慢性肝炎、肝硬化、肝癌患者与健康对照组相比, 13 项生化指标的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。ALT、AST、m-AST、ADA、ALP、GGT、5'-NT、TBA、TBIL、AFU 在各组肝病中均有不同程度升高, 而 ALB、CHE、PA 则有不同程度下降。结论 对肝脏疾病的诊治及预后判断, 应选择具有特异性、互补性的指标进行联合检测。急性肝炎优先考虑 ALT、AST、m-AST、TBA、TBIL。慢性肝炎优先考虑 AST、ALT、m-AST、CHE、GGT。肝硬化优先考虑 ADA、CHE、TBA、TBIL、ALB。肝癌优先考虑 AFU、GGT、5'-NT、ALP、m-AST。

关键词:肝病; 生化指标; 诊断

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 23. 047

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)23-3205-03

肝脏是人体最大的代谢器官之一, 持续肝功能异常会导致功能障碍和病理改变, 极大危害了人体健康。目前临床医学研究的一个前沿方向就是建立一套敏感性高、特异性强的检测方法, 以提高疾病诊断的正确率。本研究通过对 268 例急性肝炎、慢性肝炎、肝硬化、肝癌患者的天冬氨酸氨基转移酶(AST)、前清蛋白(PA)、5'-核苷酸酶(5'-NT)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、线粒体型天冬氨酸氨基转移酶(m-AST)、腺苷脱氨酶(ADA)、清蛋白(ALB)、胆碱酯酶(CHE)、碱性磷酸酶(ALP)、γ-谷氨酰转肽酶(GGT)、总胆汁酸(TBA)、总胆红素(TBIL)、α-L-岩藻糖苷酶(AFU)共 13 项生化指标的检测结果进行回顾性分析, 初步探讨和评估这些生化指标在诊断中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 268 例肝病均为大连市中心医院 2011 年 1 月至 2012 年 9 月期间的患者, 其中男 145 例、女 123 例, 平均年龄 55.7 岁。其中急性肝炎 64 例, 慢性肝炎 96 例, 肝硬化 68 例, 肝癌 40 例。全部病例都以 2000 年西安会议诊断标准为标准^[1]。同时选择本院健康体检者 212 例, 男 63 例, 女 49 例, 平均年龄 56.2 岁, 均排除肝脏、胆囊、肾脏、心脏、肺等疾病。

1.2 仪器与试剂 SIEMENS ADVIA 2400 型全自动生化分析仪。AST、ALT、CHE、GGT、AFU、ALP 试剂由北京利德曼

公司提供; PA、TBIL 试剂由上海科华公司提供; 5'-NT、ADA 试剂由浙江康特公司提供; m-AST 试剂由日本第一化学公司提供; ALB、TBA 试剂由烟台澳斯邦公司提供。质控均在控。

1.3 方法 对全部受检者禁食 12 h, 于次日清晨经肘静脉采血 3 mL 立即分离血清备用。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件分析处理数据, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较使用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同肝病组血清的各项生化指标的检测结果 ALT、AST、m-AST、ADA、ALP、GGT、5'-NT、TBA、TBIL、AFU 在各组肝病中均有不同程度升高, 而 ALB、CHE、PA 则有不同程度下降。不同肝病组生化指标与健康对照组相比, 各项指标的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同肝病组血清的各项生化指标的阳性检出率 ALT > 40 U/L, AST > 40 U/L, ADA > 24 U/L, ALP > 135 U/L, GGT > 50 U/L, 5'-NT > 17 U/L, ALB < 35 g/L, CHE < 5 kU/L, PA < 180 mg/L, TBA > 10 μmol/L, TBIL > 19 μmol/L, AFU > 40 U/L, m-AST > 15 U/L 为阳性, 统计各项生化指标的阳性率, 见表 2。各组阳性率排名前 5 的指标依次如下, 急性肝炎组: ALT、AST、m-AST、TBA、TBIL, 慢性肝炎组: AST、ALT、m-AST、CHE、GGT; 肝硬化组: ADA、CHE、TBA、