

0.001。另外有 5 例乳糜血测不出结果,未计算在内。

表 1 各组血钾测定结果比较($\bar{x}\pm s$,mmol/L)		
标本	非乳糜组($n=50$)	乳糜组($n=55$)
未稀释血清	3.82±0.63	4.04±0.48
对倍稀释血清	3.93±0.32	4.00±0.24
计算实际血钾	3.86±0.65	4.00±0.47

3 讨 论

血钾在维持酸碱平衡、水及电解质平衡和肌肉神经兴奋性方面起着重要作用,血钾异常将会严重影响机体的正常生理功能,甚至危及生命。血钾测定是诊断、治疗机体水及电解质平衡失调的重要实验室指标之一^[3]。目前国内大部分基层医院使用离子选择电极法测血钾,该法简便、快速、准确,是临床最常用方法。在临床生化检验工作的开展过程中,乳糜血问题将会对生化检验结果的准确性造成较大影响^[4]。少数患者血清常为乳糜状,特别是急诊时,空腹抽血的情况比较少。乳糜血血浆颜色呈乳白色或混浊状,表示血液中含有大量脂肪^[5]。乳糜可造成血浆浑浊,脂浊使血清分布呈现非均一性^[6]。血清中含有大量 TG 和胆固醇,特别是 TG,使血清浊度大大增加,肉眼可见浑浊云雾状。当血清流经电解质仪的气泡检测器时,检测器对电极管道中进样情况进行监测,如果光源的光线被浑浊的血清遮蔽,检测不到折射光时,仪器会不停的吸样,不能自动终止进样,进入下一步骤的检测,报警显示“吸液有气泡”,仪器进入自动清洗程序,血钾无法测得。

乳糜血是一种特殊的病理或生理现象,其中的乳糜微粒是造成结果偏高的重要原因之一^[7]。在实际工作中,不能采用化学方法去除掉乳糜颗粒,使用物理方法去除乳糜颗粒,对血清自身变化无影响。将血清 1∶1 稀释后,浊度下降,透光性增加,有助血钾浓度的测出。尽早回报血钾结果,尤其是危急值,

• 临床研究 •

对医生的诊断和患者病情的控制极为重要。如果 1∶1 稀释仍检测不出时,可适当增加稀释倍数,计算公式为: $K_3=aK_2-(a-1)4.00$,其中公式中 a:稀释倍数; K_2 :稀释后所测结果; K_3 :计算所得实际血钾浓度。但随着稀释倍数增加,所得结果会逐渐偏离真实值,结果仅可供参考。当患者为 V 型高脂蛋白血症时,血清中如含有大量运输外源性 TG 的乳糜颗粒,即使标本被稀释数倍,也有可能测不出结果,建议消脂处理后再测钾。

乳糜血标本是临床生化检测中最常见的不合格血液标本^[6]。对比稀释乳糜血,成本低廉,操作简便,特别适用于各基层医院检验科,在遇到相同情况时方便尽快处理问题,同时在一定程度上提高了检验科的工作效率和能力。

参考文献

[1] 金有余,郑铁生. 临床生化检验[M]. 南京:海洋出版社,1993:203-204.

[2] 李改,军王英. 嘉峪关市无偿献血者乳糜血报废原因分析[J]. 中国输血杂志 2013. 26(3):184.

[3] 陈泽恒,甄品悦,黄小玲,等. 健康人群血清钾、血浆钾及尿液钾相关性研究[J]. 现代医院,2012,12(10):61-62.

[4] 王建中,刘国翠,刘文平. 乳糜血对生化检验结果的影响[J]. 中国社区医师,2013,15(3):231.

[5] 孙曙华,韩丽红. 干化学和湿化学方法对乳糜血样本总胆红素测定比较[J]. 包头医学院学报,2010,26(1):27.

[6] 韩丽红,钱震华. 离心前后乳糜血标本清蛋白测定比较[J]. 中国临床研究,2010,223(8):713.

[7] 田薇薇,邢桂英,田敏丽,等. 乳糜血对血红蛋白测定的影响和去除方法的探讨[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(6):708-709.

(收稿日期:2015-01-08)

586 例宫颈疾病患者 HPV 检测结果分析

孙 晔

(上海市第六人民医院奉贤分院,上海 201499)

摘 要:目的 探讨宫颈疾病门诊患者人乳头瘤病毒(HPV)感染情况、亚型分布特点及 HPV-DNA 基因分型技术检测在宫颈癌防治方面的意义。方法 采用核酸分子快速杂交分型技术检测 21 种 HPV 亚型,分析受检妇女的 HPV 亚型感染情况及分布。结果 586 例样本中,检出 HPV 阳性者 121 例,总阳性率为 20.65%;检出高危亚型感染 105 例,占病例感染 86.78%;低危亚型感染 11 例,占感染病例 9.09%;高低危亚型混合感染 5 例,占感染病例 4.13%,以双重感染为主。最常见的 HPV 感染型别为 52、53、58、16 型,21~<30 岁年龄段阳性率最高。结论 利用核酸分子杂交技术进行 HPV 基因分型检测,可一次检测 21 种亚型,有利于 HPV 感染的诊断,有助于了解本地区 HPV 感染的亚型分布,作为宫颈癌筛查的手段之一。

关键词:人乳头瘤病毒分型; DNA 杂交技术; 宫颈癌筛查
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.060 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)12-1777-03

宫颈癌近几年来已逐渐成为全球妇女最常见的恶性肿瘤之一,尤其是患者年龄趋向年轻化,发病率以每年 2%~3% 的速度增长^[1]。人乳头瘤病毒(HPV)已明确为是导致宫颈癌的致病因子,宫颈癌也成为人类历史上少数几个找到明确病因的肿瘤之一^[2]。根据 HPV 致病性不同,可分为低危型 HPV(常见 6、11、42、43、44、CP8304 型),一般导致良性病变,如生殖器疣,高危型 HPV(常见 16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、

58、59、66、68 型),可导致恶性病变,最终可发展为浸润性宫颈癌。采用核酸分子快速杂交技术对本院 586 例宫颈疾病门诊就诊者的宫颈拭子进行 HPV-DNA 检测并分型,旨在了解本地区女性 HPV 的感染情况、亚型分布特点、积累分子流行病学资料。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1~12 月在上海六院奉贤分院宫颈

疾病门诊就诊者 586 例,年龄 21~77 岁,平均 39.7 岁。

1.2 仪器与试剂 ABI7500 基因扩增分析仪,HybriMax 核酸分子快速杂交仪,HPV 21 分型检测试剂盒(凯普生物化学科技公司)。

1.3 方法

1.3.1 宫颈脱落细胞的收集 标本要求 3 d 内不使用阴道内药物或对阴道进行冲洗;24 h 内不应有性行为;检查应在非月经期进行;检查阴道不进行醋酸或碘液涂抹;样本应放 4 ℃冰箱保存,两周内检测。

1.3.2 提取 HPV-DNA 提取分泌物中 HPV-DNA 严格按照 DNA 提取试剂盒(潮州凯普生物化学有限公司)操作步骤提取。

1.3.3 基因扩增仪将 HPV-DNA 扩增 将 PCR-Mix、Taq 酶和 DNA 模板按要求混匀,扩增反应体系为 25 微升/反应(Premix 23.25 μL,Taq 酶 0.75 μL,核酸模板 1 μL),混匀。试剂盒中同时提供了阴性对照与阳性对照,用于控制试验过程中可能由操作引起的假阳性问题。

1.3.4 取扩增产物进行杂交 取 PCR 产物 20 μL 在杂交孔内加入 0.5 mL 预热至 45 ℃的杂交液,温育至少 2 min,排出预杂交的杂交液,加入 0.3 mL 预热至 45 ℃的杂交液,混匀,然后加在薄膜上,盖上盖板温育 10 min 后开泵进行导流杂交。45 ℃条件下,用杂交液冲洗膜 3 次,每次 0.5 mL。

1.3.5 显色与结果判定 用 0.3 mL 封阻液封闭膜 5 min,泵出封阻液,加入 0.3 mL 酶标液,温育 3.5 min,用溶液 A 彻底洗膜 4 次,每次 0.5 mL,加入 0.3 mL NBT/BCIP 溶液,显色 3~5 min,用溶液 B 洗膜 3 次,每次 0.5 mL,再用 2 mL 蒸馏水漂洗。检测结果阳性点为清晰可见的蓝紫色圆点。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计学软件进行处理,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 基因分型检测结果 在本次研究的 586 名患者中共检出 HPV 阳性 121 例,总阳性检出率为 20.65%。感染以高危型为主,检出高危基因型感染(包括多重感染)的患者为 125 人次,构成比例依次为 HPV-52、53、58 和 16 型为主,其次为 HPV-33、31、39、68、66、18、35、45、56 和 59 型。低危型感染(包括多重感染)患者为 16 人次,其构成比由高到低依次为 HPV-CP8304、11、42、44 型。未检测到基因型 51、6、43。结果见表 1。

表 1 HPV 各亚型感染构成比					
HPV 亚型	人次	构成比(%)	HPV 亚型	人次	构成比(%)
16	15	10.64	56	1	0.71
18	4	2.84	58	16	11.35
31	9	6.38	59	1	0.71
33	13	9.22	66	5	3.55
35	1	0.71	68	7	4.96
39	7	4.96	11	3	2.13
45	1	0.71	42	1	0.71
52	27	19.15	44	1	0.71
53	18	12.76	CP8304	11	7.80

2.2 HPV 基因单一型与多重型别感染情况 在 121 例阳性标本中,单一型 HPV 感染病例为 103 例,占 85.12%,多重感

染病例数为 18 例,占 14.88%,在 18 例多重感染中,双重感染 16 例(88.89%),三重感染 2 例(11.11%),以双重感染为主,结果见表 2。

表 2 HPV 多重感染情况[n(%)]				
类型	单一感染	双重感染	三重感染	总计
低危型	11(9.09)	0(0.00)	0(0.00)	11(9.09)
高危型	92(76.03)	11(9.09)	2(1.66)	105(86.78)
高与低交叉型	0(0.00)	5(4.13)	0(0.00)	5(4.13)
合计	103(85.12)	16(13.22)	2(1.66)	121(100.00)

2.3 HPV 各年龄段感染情况 121 例 HPV 感染患者在 21~<30 岁、30~<40 岁、40~<50 岁、50~<77 岁年龄区间 HPV 的感染率分别为 29.91%、19.51%、18.29%和 15.73%。对各年龄组别进行 χ^2 检验,显示感染者的年龄比较差异有统计学意义($\chi^2=11.72,P<0.05$)。结果见表 3。

表 3 各年龄段 HPV 感染情况			
年龄(岁)	人数(n)	阳性(n)	阳性检出率(%)
21~<30	117	35	29.91
30~<40	205	40	19.51
40~<50	175	32	18.29
50~<77	89	14	15.73
合计	586	121	20.65

3 讨 论

HPV-DNA 基因分型技术是近年来发展起来的一种可同时检测 21 种高、低亚型的技术。有文献[3]报道高危亚型 HPV 的持续性或反复感染是宫颈癌发生的最主要原因,而 Lee 等[4]进一步研究分析了多重 HPV 感染与宫颈癌的关系,证实了单一 HPV 感染可以使宫颈癌的患病风险增加 19.9 倍,而多重 HPV 感染则使该风险增加到 31.8 倍。有报道指出 HPV 的多重感染对宫颈病变的发展有促进作用[5],因此对 HPV-DNA 基因分型的检测有利于对 HPV 多重感染的诊断,可用于宫颈癌的早期预警和诊断,以及预防宫颈癌的发生并了解 HPV 感染的转归。

在本次研究中,通过对 586 例宫颈疾病门诊患者进行 HPV 分型测定,共检出 121 例 HPV 阳性者,总阳性率 20.65%,其中高危型感染 105 例(86.78%),低危型感染 11 例(9.09%),混合感染 5 例(4.13%),足见高危型感染的严重性。在多型别感染中主要是两种型别的双重感染,占多型别感染的 88.89%。

有文献[6]报道宫颈癌患者最常见感染型别为 HPV16、18,而在亚洲国家 52 和 58 型感染更常见,在上海有 42.5%的宫颈癌标本存在 52、58 型感染[7]。本次研究中显示本地区高危型基因型别以 HPV52 型为主,其次是 53、58、16 型,依次占总感染型别的 19.15%、12.76%、11.35%、10.64%;检测出 21 型 HPV-DNA 中的 18 个型,高危型未检出 51 型,低危型未检出 6 和 43 型。

HPV 感染的潜伏期长短不一,一般为 3~6 个月,但也有长达 10 年者。本文统计显示,21~<30 岁年龄段为 HPV 感染高峰,阳性率为 29.91%,感染与年龄因素在统计学上差异有统计学意义($P<0.05$)。

从 HPV 感染发展到宫颈癌需要经历数年时间,早期治疗宫颈癌患者 5 年生存率高达 90%^[8],因此监控 HPV 感染状况已成为早期筛查、预防和诊治宫颈癌和癌前病变的有效手段之一。

参考文献

[1] 郎景和. 子宫颈上皮内瘤变的诊断与治疗[J]. 中华妇产科杂志, 2001. 36(5):261-263.

[2] Zur 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.

[3] 何君梅,尹格平. 21 种 HPV 亚型检测在宫颈疾病诊断及预测中的价值[J]. 山东医学, 2010, 50(15):35-36.

[4] Lee SA, Kang D, Seo SS, et al. Multiple HPV infection in cervical • 临床研究 •

cancer screened by HPV DNA chip[J]. Cancer Lett, 2003, 198 (2):187-192.

[5] 梁凤荣,汤玉美,刘燕,等. 宫颈病变患者 HPV 基因分型[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2010, 2(6):390-393.

[6] Lin M, Yang LY, Li LJ, et al. Genital human papillomavirus screening by geng Chip in Chinese women of Guangdong province [J]. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2008, 48(1):189-194.

[7] 陶美萍,卞美璐. 女性生殖道人乳头瘤病毒基因型研究进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2005, 21(8):507.

[8] 蔡娱飞,朱辉. 高危人乳头瘤病毒 DNA 检测在宫颈癌筛查中的作用[J]. 中国妇幼保健, 2006, 21(24):3234-3436.

(收稿日期:2015-03-28)

湖南郴州地区 α、β 地中海贫血发生率调查及突变类型分析

李彩云,侯 帅,张昊晴,陈丹婧,颜海英,雷冬竹
(湖南省郴州市第一人民医院产前诊断中心,湖南郴州 423000)

摘 要:目的 调查湖南郴州地区人群 α、β 地中海贫血(简称地贫)发生率和基因突变类型及其特征情况。方法 通过血常规、血红蛋白电泳等方法对该地区 11 518 人进行地贫筛查,受检样品 HbA2 异常和/或红细胞平均体积(MCV)、平均血红蛋白含量(MCH)偏低者进行基因检测,统计两种地贫的发生率及基因突变类型。结果 发现 α 地贫 594 例,基因携带率 5.16%,主要为 $-^{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 两种基因型;β 地贫 558 例,基因携带率 4.84%,IVS-II-654、CD41/42、CD17 为常见突变类型,占有检出突变位点的 81.89%。结论 湖南郴州地区人群 α、β 地贫携带率较高,β 地贫检出率与 α 地贫检出率相接近,地贫突变类型的构成情况与其他地区存在明显差异。该研究结果对开展地贫遗传咨询、基因检测及胎儿产前诊断具有重要的参考价值。

关键词:地中海贫血; 流行病学调查; 基因频率
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.061 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)12-1779-02

地中海贫血(简称地贫)是由于珠蛋白生成障碍引起的遗传性溶血性疾病,主要分布于我国南方,如广东、广西等,α 和 β 地贫携带率分别为 8.3%、15.2%和 3.4%、5.8%。临床上主要分为 α 地贫和 β 地贫,目前缺乏对重型地贫的有效治疗方法。携带者筛查和产前基因诊断是预防重型地贫患儿出生、提高人口素质的有效措施。郴州地区位于湖南最南面,紧邻地贫高发区广东、广西,从地域上推断也是地贫的高发区之一。2007 年深圳市妇幼保健院首次报道湖南省地贫的携带率为 4.13%^[1],但缺乏本省大规模调查的流行病学资料。了解本地区 α、β 地贫的携带率及基因突变特征对预防本地区出生缺陷具有重大意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 4 月至 2014 年 12 月期间郴州市第一人民医院门诊或住院患者 11 518 例,均为湖南省郴州市城乡户口,年龄 1~45 岁,以育龄女性为主,采血前 3 个月均无输血。

1.2 研究方法

1.2.1 地贫筛查 抽取外周静脉血 2~3 mL EDTA 抗凝,门诊五分类全自动血常规分析仪进行血液学检测;另取外周血 3 mL EDTA 抗凝,以血红蛋白自动分析仪进行血红蛋白定量分析。血常规异常和/或血红蛋白电泳异常者进行相应的 α 和/或 β 地贫基因分析。

1.2.2 基因型分析 外周血 2~3 mL EDTA 抗凝,α 地贫采用 Gap-PCR 法检测 $-^{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 这 3 种常见缺失型突变,采用 PCR-反向斑点杂交法(RDB)检测 3 种非缺失型

α 地贫及 17 种 β 地贫突变类型。试剂采用亚能生物技术(深圳)有限公司生产的地贫基因诊断试剂盒。

2 结 果

2.1 α 地贫检测 检出 α 地贫 594 例,阳性率为 5.16%,其中标准型($-^{SEA}/\alpha\alpha$)杂合子 429 例,占比例最高 72.22%,静止型中右缺失($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$)81 例(13.64%),HbH 病占全部 α 地贫的 6.91%,本研究还检测到非缺失型 α 地贫 15 例,以 Hb WS 和 Hb CS 为主,见表 1。

2.2 β 地贫检测 检出 β 地贫 558 例,阳性率为 4.84%,共检出 13 种突变类型,其中 IVS-II-654、CD41/42、CD17 这 3 种类型占 81.89%,见表 2。

表 1 α 地贫基因类型及频率			
临床分型	基因型	n	基因型频率(%)
静止型	$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	81	13.64
	$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	28	4.71
	$\alpha^{WSM}/\alpha\alpha$	6	1.01
	$\alpha^{CSM}/\alpha\alpha$	7	1.18
	$\alpha^{QSM}/\alpha\alpha$	1	0.17
标准型	$-^{SEA}/\alpha\alpha$	429	72.22
	$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$	1	1.68
中间型	$-\alpha^{3.7}/-^{SEA}$	31	5.22
	$-\alpha^{4.2}/-^{SEA}$	9	1.52
	$-^{SEA}/\alpha^{QSM}\alpha$	1	0.17
合计		594	100.00