

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	$3.82 \pm 0.63$	$4.04 \pm 0.48$
对倍稀释血清	$3.93 \pm 0.32$	$4.00 \pm 0.24$
计算实际血钾	$3.86 \pm 0.65$	$4.00 \pm 0.47$

### 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<sup>[3]</sup>。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<sup>[4]</sup>。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<sup>[5]</sup>。乳糜可造成血浆浑浊,脂浊使血清分布呈现非均一性<sup>[6]</sup>。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<sup>[7]</sup>。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 •

## 586 例宫颈疾病患者 HPV 检测结果分析

孙 眯

(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<sup>[1]</sup>。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<sup>[2]</sup>。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

(收稿日期:2015-01-08)

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 μL/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  $\chi^2$  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	人次数(n)	构成比(%)	HPV 亚型	人次数(n)	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  $\chi^2$  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<sup>[4]</sup>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<sup>[5]</sup>,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<sup>[7]</sup>。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%<sup>[8]</sup>,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 •

# 湖南郴州地区 $\alpha$ 、 $\beta$ 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  $\alpha$ 、 $\beta$  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  $\alpha$  地贫 594 例, 基因携带率 5.16%, 主要为  $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$  两种基因型;  $\beta$  地贫 558 例, 基因携带率 4.84%, IVS-II-654、CD41/42、CD17 为常见突变类型, 占所有检出突变位点的 81.89%。结论 湖南郴州地区人群  $\alpha$ 、 $\beta$  地贫携带率较高,  $\beta$  地贫检出率与  $\alpha$  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,  $\alpha$  和  $\beta$  地贫携带率分别为 8.3%、15.2% 和 3.4%、5.8%。临幊上主要分为  $\alpha$  地贫和  $\beta$  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%<sup>[1]</sup>, 但缺乏本省大规模调查的流行病学资料。了解本地区  $\alpha$ 、 $\beta$  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  $\alpha$  和/或  $\beta$  地贫基因分析。

**1.2.2 基因型分析** 外周血 2~3 mL EDTA 抗凝,  $\alpha$  地贫采用 Gap-PCR 法检测  $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$  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

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] 蔡娱乐, 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)

$\alpha$  地贫及 17 种  $\beta$  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  $\alpha$  地贫检测** 检出  $\alpha$  地贫 594 例, 阳性率为 5.16%, 其中标准型( $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ )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  $\alpha$  地贫的 6.91%, 本研究还检测到非缺失型  $\alpha$  地贫 15 例, 以 Hb WS 和 Hb CS 为主, 见表 1。

**2.2  $\beta$  地贫检测** 检出  $\beta$  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  $\alpha$  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
	$\alpha^{\text{WSM}}\alpha/\alpha\alpha$	6	1.01
	$\alpha^{\text{CSM}}\alpha/\alpha\alpha$	7	1.18
	$\alpha^{\text{QSM}}\alpha/\alpha\alpha$	1	0.17
标准型	$-\text{SEA}/\alpha\alpha$	429	72.22
	$-\alpha^{3.7}/-\alpha 3.7$	1	1.68
中间型	$-\alpha^{3.7}/-\text{SEA}$	31	5.22
	$-\alpha^{4.2}/-\text{SEA}$	9	1.52
	$-\text{SEA}/\alpha^{\text{QSM}}\alpha$	1	0.17
合计		594	100.00