

treatment[J]. Foot Ankle, 1981, 2(2): 64-122.

[3] Bansal E, Garg A, Bhatia S, et al. Spectrum of microbial flora in diabetic foot ulcers[J]. Indian J Pathol Microbiol, 2008, 51(2): 204-208.

[4] Chopdekar KA, Ameeta A. Bacteriological analysis of diabetic foot infection[J]. Bombay Hospital Journal, 2011, 53(4): 706-711.

[5] 周丽杰, 张静萍, 张静. 糖尿病足深部感染的病原菌分布与耐药性变迁[J]. 中国医科大学学报, 2009, 38(2): 121-123, 129.

[6] 金虹飞, 蔡少平, 顾慧群, 等. 544 例糖尿病足感染患者的病原菌特点及药敏分析[J]. 检验医学, 2010, 25(5): 356-359.

[7] 徐灵芝, 杨叶虹, 叶红英, 等. 糖尿病足感染的细菌学特点与预后分析[J]. 浙江临床医学, 2008, 10(4): 451-452.

[8] 杨靖, 文芳. 68 例糖尿病足细菌培养及相关结果分析[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(16): 2500-2502.

[9] Moss SE, Klein R, Klein BE. The prevalence and incidence of lower extremity amputation in a diabetic population[Z], 1992: 610.

[10] Muhammad RK, Khaled A. Prevalence of ischemia in diabetic foot infection[J]. World J Surg, 2003, 27(1): 797-799.

[11] Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, et al. Risk factors for foot infections in individuals with diabetes[J]. Diabetes Care, 2006, 29(6): 1288-1293.

(收稿日期: 2012-12-18)

• 经验交流 •

女性人乳头状瘤病毒与单纯疱疹病毒Ⅱ型感染的相关性研究

向华国, 曾锦婷, 颜 容, 刘典浪, 刘小君, 高 丹
(广东省深圳市宝安区福永人民医院, 广东深圳 518103)

摘 要:目的 探讨女性生殖道人乳头状瘤病毒(HPV)与单纯疱疹病毒Ⅱ型(HSV-Ⅱ)感染的相关性。方法 对 427 例女性宫颈脱落细胞标本采用 PCR-反向点杂交进行 HPV-DNA 分型检测, 将其中的 49 例 HPV 阳性标本作为 HPV 阳性组, 同时随机选取 40 例 HPV 阴性标本组作为对照组, 再利用实时荧光 PCR 同时检测上述两组病例的 HSV-Ⅱ 感染情况。结果 HPV 阳性组及 HPV 阴性组的 HSV-Ⅱ 阳性率分别为 20.4%(10/49)和 7.5%(3/40), HPV 和 HSV-Ⅱ 的感染有显著的相关性($P < 0.05$)。结论 女性生殖道 HPV 与 HSV-Ⅱ 感染具有协同作用并密切相关, 早发现、早治疗对于预防宫颈癌具有十分重要的意义。

关键词:人乳头状瘤病毒; 单纯疱疹病毒Ⅱ型; 反向点杂交; 聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.05.043

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2013)05-0609-02

研究表明, 人乳头状瘤病毒(HPV)是宫颈上皮内瘤变和宫颈癌发生的必要条件和高危因素^[1-3]。而宫颈发生癌变亦与多种性传播疾病感染密切相关, 这些病原体可能与 HPV 协同作用从而加速宫颈的病变进程^[4]。流行病学调查显示, 单纯疱疹病毒Ⅱ型(HSV-Ⅱ)作为常见的性传播病原体, 亦会诱发宫颈癌^[5]。本文通过 PCR-反向点杂交(PCR-RDB)基因分型技术对女性宫颈脱落细胞标本进行 23 种 HPV 亚型检测; 然后再利用实时荧光 PCR 检测 HSV-Ⅱ, 从而对 HPV 与 HSV-Ⅱ感染的相关性进行探讨。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 2012 年 8 月 8 日至 2012 年 9 月 3 日, 采集就诊于深圳市宝安区福永人民医院妇科门诊的共 427 例女性患者的宫颈脱落细胞, 先通过 PCR-RDB 筛查 HPV 的感染情况, 然后将 HPV 阳性的标本和随机选取的 40 例 HPV 阴性标本分为 HPV 阳性组和 HPV 阴性组, 并采用实时荧光 PCR 技术检测其 HSV-Ⅱ 的感染情况。

1.2 仪器与试剂 人乳头状瘤病毒 PCR-反向点杂交法基因分型检测试剂由深圳亚能生物技术有限公司提供, HSV-Ⅱ 核酸扩增(PCR)荧光定量测定试剂由中山大学达安基因股份有限公司提供。ABI Steponeplus PCR 扩增仪由美国应用生物系统公司生产, FYY-3 分子杂交仪由江苏兴化分析仪器厂生产。

1.3 方 法

1.3.1 标本的采集 以窥阴器或阴道张开器暴露宫颈, 通过用棉拭子将宫颈口过多的分泌物擦去, 取出宫颈刷置于宫颈口, 单方向旋转转 4~5 圈以获得足量的上皮细胞样本, 然后将宫颈刷头部放洗脱管中, 沿刷柄折痕处将宫颈刷柄折断, 放入有专用细胞保存液的试管中, 于 4℃ 保存, 1 周内测定。

1.3.2 PCR-反向点杂交法的 HPV 分型 可同时检测 23 种 HPV 基因型, 包括 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、83、MM4 等 18 种高危型, HPV6、11、42、43、44 等 5 种低危型。HPV 分型检测步骤(1)HPV DNA 提取; (2)PCR 扩增; (3)杂交; (4)洗膜; (5)显色。结果判定: 实验的每张膜条在 PC 位点必须出现蓝色显色信号, 阴性质控品除 PC 位点出现显色信号外其余位点均不出现显色信号, 阳性质控品除 PC 位点出现显色信号外, 必须在相应 HPV 基因型位点出现显色信号。由斑点显色的位置即可判定 HPV 的亚型。

1.3.3 荧光定量 PCR 定量检测单纯疱疹病毒Ⅱ型 采用一对 HSV-Ⅱ 型特异性引物和一条单纯疱疹病毒Ⅱ型特异性荧光探针。实验步骤: (1)DNA 的提取; (2)PCR 扩增; 循环参数: 93℃ 预变性 2 min; 然后按 93℃ 45 s, 55℃ 60 s, 10 个循环; 再按 93℃ 30 s, 55℃ 45 s, 30 个循环。(3)结果判断: 按厂家说明书及提供软件来分析结果。

1.4 统计学处理 利用 SPSS10.0 软件进行 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 PCR-RDB 检测 HPV-DNA 的感染情况 通过对 427 例女性患者的宫颈脱落细胞标本采用 PCR-RDB 检测, 共检出 49 例 HPV 阳性, 22 种 HPV 亚型中共有 15 种被检出, 包括 HPV16、18、31、33、35、52、53、56、59、66、68 等 11 种高危型和 HPV6、11、42、43 等 4 种低危型。

2.2 HPV 阳性组和阴性组的 HSV-Ⅱ 的检测结果及其相关性分析 HPV 阳性组及阴性对照组其 HSV-Ⅱ 的阳性率分别为 20.4%(10/49)和 7.5%(3/40), HPV 阳性组其 HSV-Ⅱ 的感染率均明显高于 HPV 阴性对照组, HPV 和 HSV-Ⅱ 的感染

有显著的相关性($P<0.05$)(见表 1)。

表 1 HPV 阳性组与 HPV 阴性对照组的 HSV-Ⅱ 的检测结果

HPV 分组	<i>n</i>	HSV-Ⅱ 阳性[<i>n</i> (%)]
阳性组	49	10(20.4)*
阴性组	40	3(7.5)

* :与 HPV 阴性组比较 $P<0.05$ 。

3 讨 论

宫颈癌是严重影响妇女的身体之一,发病率居全球恶性肿瘤第 2 位,仅次于乳腺癌。HPV 分低危和高危型,不同的地区其分布和不同年龄阶段女性的其阳性率有一定差异,与宫颈癌相关的型别也不尽相同。笔者前期研究表明,筛查人群在小于或等于 20 年龄段感染率较高,然后至 31~35 岁年龄段下降至最低,而后又于大于或等于 50 达到高峰,出现双峰现象,各年龄段 HPV 感染检出率差异有显著性意义^[6]。

林美姗等^[7]通过荧光 PCR 检测表明粤东地区 HSV-Ⅱ 的阳性率为 12.9%;正常妇女的宫颈 HSV-Ⅱ 的阳性率为 6.7%^[8]。本文采用荧光定量 PCR 检测 HPV 阳性组的 HSV-Ⅱ 的阳性率分别为 20.4%(10/49)和 7.5%(3/40),HPV 阳性组其 HSV-Ⅱ 的感染率明显高于 HPV 阴性对照组,说明 HPV 和 HSV-Ⅱ 的感染具有明显的相关性。

HSV-Ⅱ 可能在宫颈疾病的进程上起到协同致病因子的作用,当一种病原体感染以后会破坏生殖道的内环境,使患者的免疫状态发生改变,从而使另一种病原体易感,并抑制了宿主免疫系统的清除作用。因此,当发现有 HPV 或 HSV-Ⅱ 阳性的患者,应考虑是否有另一种病原菌感染合并感染。尽早发现,早治疗,防止多种病原体相互作用而加速宫颈病变进程,以更加积极的方式延缓疾病进程和预防宫颈癌的发生,对于有效

• 经验交流 •

保障女性的身体健康具有十分重要的作用。

参考文献

[1] Bosch FX, Lorincz A, Mufloz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and 是 cervical cancer[J]. J Clin Pathol, 2002, 55(4): 244-265.

[2] 向华国, 曾锦婷, 何婉意. PCR-反向点杂交技术在女性下生殖道人乳头瘤病毒感染分型检测的应用研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2012, 7(5): 367-368.

[3] Liu SS, Leung RC, Chan KK, et al. Evaluation of a newly developed GenoArray human papillomavirus (HPV) genotyping assay and comparison with the Roche Linear Array HPV genotyping assay[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(3): 758-764.

[4] Oh JK, Franceschi S, Kim BK, et al. Prevalence of human papillomavirus and Chlamydia trachomatis infection among women attending cervical Cancer screening in the Republic of Korea[J]. Eur J Cancer Prev, 2009, 18(1): 56-61.

[5] 庄贤, 林莹. HPV, HSV2 感染及 C-erbB-2 表达与宫颈癌关系[J]. 汕头大学医学院学报, 2002, 15(4): 197-198.

[6] 向华国, 黎国, 曾锦婷, 等. PCR-反向点杂交技术在女性下生殖道人乳头瘤病毒感染分型检测的应用研究[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(8): 916-917.

[7] 林美姗, 陈林兴, 林广玲, 等. 粤东地区四种性传播疾病病原感染的流行状况[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2009, 36(6): 162-164.

[8] Csángó PA, Skuland J, Nilsen A, et al. Papillomavirus infection among abortion applicants and patients at a sexually transmitted disease clinic[J]. Sex Transm Dis, 1992, 19(3): 149-153.

(收稿日期: 2012-11-23)

广西钦州地区女性感染人乳头瘤病毒基因型分析

刘宁毅, 陈良军, 谢武琼, 农 婷

(钦州市第二人民医院检验科, 广西钦州 535000)

摘 要:目的 了解广西钦州地区人乳头瘤病毒(HPV)感染及其型别分布情况,为 HPV 预防感染诊断和宫颈癌防治提供依据。**方法** 采用核酸扩增和反向点杂交技术检验 1 211 例临床怀疑 HPV(低危型: HPV6、11、42、43、44),高危型: HPV(16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、88、MM4)感染样本中 23 种 HPV 型别,对检测结果进行统计分析。**结果** 1 211 例检出 HPV 阳性 355 例,阳性率率为 29.31%,其中低危型别感染率为 6.35%,高危型别感染率为 13.8%,单一型别感染率为 20.15%。两种型别混合感染率为 5.78%,3 种以上型别混和感染率为 3.39%,各种 HPV 型别检出患者在单一型别感染患者中所占的比例超过 5%的有 8 种: HPV16 型 14.34%、HPV6 型 11.07%、HPV18 型 10.25%、HPV43 型 10.25%、HPV58 型 9.84%、HPV33 型 8.6%、HPV11 型 8.2%、HPV52 型 6.56%,其余型别为 20.89%。HPV44、HPV39、HPV73、HPV83 和 MM4 未检出。宫颈癌 HPV 阳性率明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** HPV16、6、18、43、58、33、11、52 型是钦州地区主要感染类型,了解钦州地区人乳头瘤病毒(HPV)感染及其型别分布情况,为 HPV 预防感染诊断和宫颈癌防治提供依据。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因分型; 宫颈疾病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.05.044

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2013)05-0610-02

人乳头瘤病毒(HPV)是定向感染人体皮肤及黏膜复层鳞状上皮细胞的一类乳头瘤病毒,可分为高危型和低危型。大量的研究证明 HPV,特别是高危型人乳头瘤病毒感染,在宫颈疾病的发生和发展中起着重要的作用。不同地区 HPV 的人群感染率不同,所携带的型别不同,与宫颈癌相关的型别也不尽

相同^[1-2]。随着对 HPV 研究的深入,分子生物学方法已成为目前临床实验室检测 HPV 感染的主要手段。本文应用近年建立的可以同时检测 23 种 HPV 型别的核算扩增和反向点杂交技术^[3]对 1 211 例患者样本进行了检测和分析,现报道如下。