

141.
- 质调查分析[J]. 中国卫生工程学, 2009, 6(3): 341-344.
- [7] 端海涛, 周燕华, 陈桂琼, 等. 2011~2013 年云南省通海县生活饮用水微生物检测结果[J]. 职业与健康, 2014, 30(8): 1123-1124. (收稿日期: 2015-03-10)
- [8] 金立坚, 刘祖阳, 张成云, 等. 四川省 2008 年农村饮水安全工程水
- 临床研究 •

湛江市 1 808 例女性宫颈脱落细胞 HPV 基因分型调查研究

梁华英, 黄 胜, 庞伟鸿, 陈亚珍
(广东省湛江中心人民医院检验科, 广东湛江 524037)

摘 要:目的 调查湛江市区 1 808 例女性宫颈脱落细胞中人乳头瘤病毒(HPV)基因各亚型感染现状。方法 采用核酸分子快速导流杂交分型技术, 对 1 808 例女性的宫颈脱落细胞进行核酸的提取和 HPV 基因分型检测。结果 1 808 例女性宫颈脱落细胞 HPV 阳性 511 例, 感染率 27.8%(511/1 808), 21 种基因型均被检出, 其中单纯高危型 354 例, 感染率 19.6%(354/1 808); 单纯低危型 93 例, 感染率 5.1%(93/1 808); 高、低混合感染型 64 例, 感染率 3.5%(64/1 808)。单一感染 367 例, 感染率 20.3%(367/1 808), 多重亚型感染 144 例, 感染率 8.0%(144/1 808)。感染率较高的 5 种亚型是 HPV52(6.6%, 120/1 808)、HPV16(4.8%, 86/1 808)、HPV18(4.3%, 78/1 808)、HPV58(3.7%, 67/1 808)、HPV8304(3.1%, 61/1 808)。50 岁以下女性人群感染率较高。结论 湛江市区女性宫颈脱落细胞 HPV 感染率为 27.8%, HPV52、16、18、58、8304 是常见的感染基因型, 高危型占阳性样本的 90.5%; 应加强 50 岁以下女性人群 HPV 的筛查。

关键词:人乳头瘤病毒; 宫颈癌; 感染
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.14.072 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)14-2109-03

人乳头瘤病毒(HPV)是导致宫颈癌的重要致病因子, 大约 99.7% 的宫颈癌患者中发现 HPV 感染。近年宫颈癌的防治研究中认为高危型 HPV 持续感染是宫颈癌发生的主要危险因素^[1-2]。所以, HPV 检测也成为宫颈癌筛查的必不可少的方法。本文研究通过核酸分子快速导流技术对湛江市区女性宫颈脱落细胞进行 HPV 基因分型检测, 分析湛江市区女性 HPV 的感染情况及亚型分布特点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 5 月至 2014 年 5 月来本院妇科门诊就诊的自愿接受宫颈脱落细胞 HPV 感染分型筛查的 1 808 例女性患者, 年龄 1~81 岁, 平均 36.5 岁, 均来自湛江市区及周边地区。

1.2 仪器及试剂 核酸分子快速杂交基因分型检测系统, 包括 DA7600PCR 扩增仪(广州达安), HHM-21 型医用核酸分子快速杂交仪(广东凯普), 基因组抽提试剂盒、聚合酶链反应(PCR)扩增试剂盒及杂交试剂盒由广东凯普生物科技有限公司生产。

1.3 方法

1.3.1 宫颈脱落细胞的采集 先用棉拭子将阴道及宫颈口过多的分泌物轻轻擦拭干净, 再用试剂盒提供的专用宫颈刷插入子宫颈外口, 顺时针或逆时针转动 5 圈采集宫颈脱落细胞, 然后将其放入含专用细胞保存液的试管中, 4℃冰箱保存。

1.3.2 DNA 提取与扩增 吸取 500 μL 细胞悬液标本, 14 000 r/min 离心 1 min, 弃去上清液, 然后按试剂盒的 DNA 提取步骤抽提 DNA。取 1 μL DNA 抽提液, 加入 HPV 扩增体系, 采用扩增仪扩增, 95℃预变性 10 min, 95℃变性 10 s, 55℃退火 30 s, 72℃延伸 45 s, 扩增 40 个循环, 最后 72℃延伸 5 min, PCR 扩增的产物立即杂交分型或-20℃保存备用。

1.3.3 分子杂交分型 PCR 扩增产物 95℃变性 5 min, 立即放入冰盒 2 min, 与 1 mL 预热至 45℃的杂交缓冲液混合, 在导流杂交仪上 45℃孵育 10 min 后导流杂交, 加入封阻液封闭, 酶标, 冲洗, 显色, 在 30 min 内查看分析结果, 每次试验必

须具备反应质控点, 杂交显色质控点, 阳性对照点显色, 阴性对照点不显色, 表示同时在控, 试验结果有效。

2 结 果

2.1 HPV 亚型分布 检测 1 808 份患者标本, 阳性标本 511 份, 总阳性率 27.8%, 共检出 21 分型, 其中单纯高危型 354 份, 单纯低危型 93 份, 高、低混合感染型 64 份, 各种基因型分布见表 1。

表 1 1 808 例女性宫颈脱落细胞 HPV 基因型别阳性感染率

HPV 基因型别	阳性例数(n)	阳性率(%)	占阳性标本中的比例(%)
HPV6	54	3.0	10.5
HPV11	41	2.3	8.0
HPV16	86	4.8	16.8
HPV18	78	4.3	15.3
HPV31	13	0.7	2.5
HPV33	26	1.4	5.1
HPV35	6	0.3	1.2
HPV39	19	1.1	3.7
HPV42	4	0.2	0.8
HPV43	1	0.0	0.2
HPV44	10	0.6	2.0
HPV45	8	0.4	1.6
HPV51	1	0.0	0.2
HPV52	120	6.6	23.5
HPV53	39	2.2	7.6
HPV56	13	0.7	2.5
HPV58	67	3.7	13.1
HPV59	11	0.6	2.2
HPV66	21	1.2	4.1
HPV68	26	1.4	5.1
HPV8304	61	3.4	11.9

2.2 各年龄段 HPV 感染率 见表 2。

2.3 HPV 单一、多重感染阳性率 见表 3。

表 2 各年龄段 HPV 单一、多重感染率[n(%)]

HPV 基因型别	<20(n=64)	20~<30(n=492)	30~<40(n=618)	40~<50(n=496)	50~<60(n=106)	≥60(n=32)
单一感染率	20(31.3)	103(20.9)	104(16.8)	118(23.8)	19(17.9)	3(9.4)
二重感染率	5(7.8)	31(6.3)	28(4.5)	30(6.0)	2(1.9)	3(9.4)
三重感染率	1(1.6)	8(1.6)	14(2.3)	7(1.4)	0(0.0)	0(0.0)
四重感染率	2(3.1)	2(0.4)	2(0.3)	2(0.4)	0(0.0)	1(3.1)
五重感染率	1(1.6)	0(0.0)		3(0.6)	0(0.0)	0(0.0)
六重感染率	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
七重感染率	1(1.6)	0(0.0)	1(0.2)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
总阳性率	30(47.0)	144(29.2)	149(24.1)	160(32.2)	21(19.8)	6(18.8)

表 3 HPV 单一、多重感染阳性率

HPV 基因型别	阳性例数(n)	阳性率(%)	占阳性标本中的比例(%)
单一感染率	374	20.7	73.2
二重感染率	97	5.4	18.9
三重感染率	29	1.6	5.7
四重感染率	7	0.4	1.4
五重感染率	3	0.2	0.6
六重感染率	0	0.0	0.0
七重感染率	1	0.1	0.2
总阳性率	511	28.4	100

2.4 各年龄段 HPV 亚型感染分布 见表 4。

表 4 各年龄段 HPV 亚型感染分布

HPV 基因型别	<20 (n=64)	20~<30 (n=492)	30~<40 (n=618)	40~<50 (n=496)	50~<60 (n=106)	≥60 (n=32)
HPV6	9	26	16	9	1	1
HPV11	7	11	7	17	3	0
HPV16	4	24	29	20	3	3
HPV18	4	39	13	23	2	0
HPV31	2	2	5	5	1	0
HPV33	2	6	7	10	0	1
HPV35	0	1	3	2	0	0
HPV39	2	5	5	8	0	1
HPV42	1	0	0	3	1	0
HPV43	0	0	0	1	0	0
HPV44	0	4	3	3	0	0
HPV45	1	1	6	1	0	0
HPV51	0	0	0	1	0	0
HPV52	9	33	42	35	7	1
HPV53	5	6	14	17	1	1
HPV56	1	4	5	4	0	0
HPV58	2	13	21	26	2	3
HPV59	1	4	4	3	0	0
HPV66	1	6	6	6	1	2
HPV68	4	5	10	9	1	0
HPV8304	3	10	24	22	2	0

3 讨 论

根据致病性 HPV 可分为高危型和低危型,低危型主要引起生殖器官尖锐湿疣,高危型 HPV 持续感染可导致女性、阴道、宫颈损害,甚至癌变;HPV 感染是宫颈癌的主要致病因素,99% 的子宫颈癌都与生殖器官感染高危型 HPV 有关^[3]。HPV 的基因亚型较多,不同基因型的危险性也差异较大。宫颈癌是目前唯一一个病因明确的妇科恶性肿瘤,即高危型 HPV 的持续感染,其引起的病变是一个多步骤的较长的过程,所以早期筛查及早发现病变是完全有可能的,对 HPV 感染筛查及亚型检测是现阶段预防和控制子宫颈癌的重要手段,对 HPV 进行检测和基因分型对宫颈癌的早期防治具有非常重要的意义。

核酸分子快速导流杂交技术通过寡核苷酸探针杂交可检出 15 种高危型别 HPV DNA,包括 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68 及 6 种低危型别 HPV DNA,分别是 HPV6、11、81(CP8304)、42、43 和 44。

本试验结果显示,采用核酸分子快速导流杂交技术对本地区 1 808 份女性宫颈脱落细胞进行分型分析,HPV 的 21 种基因型全部被检出,在 1 808 份中检出 511 份,阳性率 27.8%,低于北京地区的 57.1%^[4];不同国家和地区 HPV 的人群感染率不同,我国的北京、山西、新疆等地区,HPV 检出率为 10%~40%不等^[5-7]。这说明宫颈 HPV 感染阳性率存在地域性的差异。

本试验也显示高危型占总感染率的 90.5%,低危型占 9.5%。单一亚型感染 374 例,感染率为 20.7%,占阳性标本的 73.2%;多重亚型感染 137 例,感染率 7.7%,在阳性标本占 26.8%,说明感染以高危型为主,单一感染是主要的感染方式。表 2 结果显示,在各年龄段 HPV 感染者中以 20~<30 岁感染率最高,占该年龄段人数的 84.5%,其次为小于 20 岁的人群,占 48.5%,由此提示上述人群有更高风险患上宫颈癌。

本文结果还显示,HPV 各亚型感染率由高到低(前 7 位)依次为 HPV52、16、18、58、8304、6、11,与陈秀杰等^[8]报道的 HPV 感染率由高到低为 HPV16、58、18、45、33、59、52 有差别,可见 HPV 亚型分布存在地域和人群差异。

本研究显示 HPV52 是最常见的亚型,单纯高危 HPV 感染 354 例,感染率为 19.6%,单纯低危型 HPV 感染 93 例,感染率为 5.1%,高、低危混合型 HPV 感染 64 例,感染率为 3.5%。

陈玲等^[9]认为 HPV 多重混合感染易导致宫颈癌变,一定

程度上对宫颈癌的发生、发展起到了促进作用,多重感染检测可预测宫颈癌的发生风险。本研究显示多重混合感染占检测人数的 7.7%,占阳性标本的 26.8%,其中以二重感染为主。

表 4 结果显示,各年龄段 HPV 感染的型别略有不同。20 岁以下受检者感染人数较多的类型是 HPV6、52、11;20~<30 岁的是 HPV18、33、6;30~<40 岁的是 HPV52、16、8304;40~<50 岁的是 HPV52、58、18;40~<50 岁的是 HPV52、16、11;50~<60 岁的是 HPV52、11、16;60 岁及以上的是 HPV16、58、66。

综上所述,湛江市女性人群 HPV 感染率为 27.8%,多为高危型感染,主要感染型别依次为 HPV52、16、18、58、8304、6、11。HPV 感染的主要是 50 岁以下年龄的人群,所以要加强这一年龄段女性人群的 HPV 感染相关健康保健知识的普及,提高早期自我防护意识;同时也要加强宫颈 HPV 感染筛查,及时发现,早预防。

参考文献

- [1] Munoz N, Bosch FX. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. N Engl J Med, 2003, 348(5): 518-527.
- [2] Trottier H, Burchill AN. Epidemiology of mucosal human papillo-

- mavirus infect and associates[J]. Public Genomics, 2009, 12(3): 291-307.
- [3] 王玉丰,林玲,刘春雨,等. 三亚地区妇女人乳头瘤病毒感染的分子流行病学调查[J]. 检验医学, 2012, 27(8): 628-630.
- [4] 杨英捷,赵健,李雪倩,等. 2285 例女性下生殖道人乳头状瘤病毒感染筛查结果分析[J]. 中华实用妇科与产科杂志, 2006, 22(6): 444-445.
- [5] 李晓阳,郭学青. 北京石景山地区人乳头瘤病毒(HPV)感染的分子流行病学研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(8): 866-868.
- [6] Zou L, bao YP, Li N, et al. Life-style and genital human papillomavirus in a cross-sectional survey in Shanxi Province, China[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12(3): 781-786.
- [7] Chen Z, Meng W, Du R, et al. Genotype distribution and the relative risk factors for human papillomavir in Urumqi China [J]. Exp Ther Med, 2013, 6(1): 85-90.
- [8] 陈秀杰,李艳玲,曲芃芃. 459 例女性健康体检者 HPV 基因型及高危因素分析[J]. 天津医药, 2014, 43(2): 123-126.
- [9] 陈玲,赵银铃,耿晓星. HPV 感染种系型与宫颈瘤变的相关性研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2011, 16(10): 874-877.

(收稿日期:2015-02-21)

• 临床研究 •

血清 PCT 对急性发热患者菌血症的诊断效果探讨

陈池华,周 飞,黄汉常

(广东省中山市板芙医院检验科,广东中山 528459)

摘 要:目的 探讨血清降钙素原(PCT)水平对急性发热患者菌血症的诊断价值。方法 选取 386 例急性发热患者为研究对象,并分为菌血症组($n=52$)、局部感染组($n=276$)和非感染组($n=58$)。比较各组的血清 PCT、C 反应蛋白(CRP)水平及白细胞(WBC)计数,通过受试者工作特征(ROC)曲线的曲线下的面积(AUC)评价其诊断价值,并确定最佳临界值及其灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和 Youden 指数。结果 菌血症组血清 PCT 水平明显高于局部感染组和非感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。菌血症组 CRP 和 WBC 明显高于非感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。菌血症组血清 PCT <0.5 ng/ml 的比例明显低于局部感染组和非感染组,差异有统计学意义($P<0.05$),而 $0.5\sim<2.0$ ng/mL、 $2.0\sim<10.0$ ng/mL 的比例均明显高于局部感染组和非感染组,差异有统计学意义($P<0.05$)。革兰阳性菌感染患者血清 PCT 水平明显高于革兰阴性菌,差异有统计学意义($P<0.05$)。PCT、CRP 和 WBC 的 AUC 分别为 0.858、0.723、0.710,差异有统计学意义($P<0.05$)。对于菌血症,血清 PCT 水平的最佳阳性阈值为 0.4 ng/mL,其灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值及 Youden 指数分别为 90.4%、64.2%、49.5%、94.5%及 0.546。结论 在诊断菌血症方面,血清 PCT 水平具有较高的灵敏度和特异度,可作为一个快速且可靠指标。

关键词:降钙素原; 菌血症; 发热

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.14.073

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)14-2111-03

菌血症是外界的细菌或真菌在血液内繁殖并随血流在全身播散,目前血液培养是确诊菌血症的“金标准”,但难以进行快速诊断。降钙素原(PCT)是降钙素的前提,当体内出现较严重的细菌感染时外周血中的 PCT 水平会明显升高。本研究旨在探讨血清 PCT 水平对急性发热患者菌血症的诊断效果,为临床应用提供参考依据,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以 2013 年 6 月至 2014 年 12 月本院收治的 386 例急性发热患者为研究对象,其中男 219 例,女 167 例,年龄 19~86 岁,平均 (61.8 ± 20.1) 岁。纳入标准:(1)入院时体温不低于 38℃;(2)发热至入院时间不超过 48 h;(3)临床资料完整。排除标准:(1)3 d 内有创伤或烧伤史者;(2)合并甲状腺髓细胞癌或小细胞肺癌者;(3)不愿配合检查者。

1.2 检测方法及分组

1.2.1 培养仪器 梅里埃全自动血培养仪、梅里埃 ATB 半自动细菌鉴定仪、跃进牌隔水式电热恒温细菌培养箱和二氧化碳细菌培养箱及配套试剂。

1.2.2 PCT 测定 用 UPT-3A 上转发光免疫分析及配套试剂检测血清 PCT 水平,试剂盒推荐 PCT ≥ 0.5 ng/mL 为阳性。

1.2.3 C 反应蛋白(CRP)检测 用韩国 i-CHROMA READ-ER 免疫荧光分析仪及配套试剂检测 C 反应蛋白水平, >10 mg/L 为阳性。

1.2.4 白细胞(WBC)计数 用雅培 CD-3700 及配套试剂进行 WBC 计数,参考值 $(4\sim 10)\times 10^9$ /L。

1.2.5 方法 在患者高热寒战时采集肘静脉血 15 mL 进行血细菌培养,并行 PCT、CRP、WBC 检查。血培养阳性,将标本