

查的 58 例 ASCUS 患者,经阴道镜下组织活检,病理诊断为慢性宫颈炎伴鳞状上皮化生与增生 23 例,占 39.66%,CIN I 31 例,占 53.45%,4 例被诊断为宫颈高度病变(CIN II 3 例、CIN III 1 例),占 6.90%。而在细胞学结果为炎症,但临床高度可疑的 30 例患者,经阴道镜下活检,病理诊断有 7 例 CIN I,1 例 CIN II。所以对于 ASCUS 和临床可疑患者,应行阴道镜下多点活检,以免漏诊,延误病情。

液基薄层技术与传统巴氏涂片同样可以作为筛查和诊断子宫颈癌前病变的可靠手段。而这些病变则是没有症状或症状不明显、大体没有改变或改变很小的病例。在涂片质量的满意度评估方面,液基薄层细胞涂片优于传统涂片。更为重要的是,TCT 技术可以提高上皮细胞异常(LSIL,HSIL,SC)的检出率,明显提高宫颈病变的检出率,减少了漏诊率,在临床细胞病理诊断中具有有良好的应用背景。

参考文献

[1] 李秋霞,张玉英,石青岭,等.巴氏涂片与液基细胞学

(TCT)宫颈检查结果分析[J].中国现代药物应用,2010,4(9):95-96.

[2] 顾美皎.TBS 系统中异常上皮细胞的诊断和处理[J].中国实用妇科与产科杂志,2003,19(8):466-467.

[3] 常正义,吴惠珍,黄燕,等.桂西地区 HPV 感染与宫颈病变关系探讨[J].中国妇幼保健,2007,22(22):3053-3056.

[4] 王玉兰,邹赛英,张培谊,等.新柏式薄层细胞技术及 TBS 分类法在宫颈上皮病变筛查中的应用[J].西北国防医学杂志,2005,26(1):62-63.

[5] 罗晓璐,钟丽军.液基薄层细胞学技术在宫颈病变诊断中的应用[J].检验医学与临床,2008,5(14):868-869.

(收稿日期:2010-09-16)

鄂东南、鄂西、鄂西北地区乙型肝炎病毒亚型分布探讨

周建平¹,王 鸣¹,杨红梅²,张 莉¹,杨继先³,吕 静⁴,徐军强^{4△}(1.湖北省咸宁市疾病预防控制中心 437100;2.湖北省十堰市疾病预防控制中心 442000;3.湖北省恩施州疾病预防控制中心,湖北恩施 445000;4.湖北省疾病预防控制中心,武汉 430000)

【摘要】 目的 对鄂东南、鄂西、鄂西北地区从业人员体检人群乙型肝炎病毒(HBV)基因亚型分布状态进行分析比较。**方法** 以鄂东南、鄂西、鄂西北地区体检的从业人员为对象,每人静脉采血 5 mL 并分离血清,通过巢式 PCR 方法对 HBV 亚型进行分型。**结果** 共检测 HBV 阳性血清标本 29 份(鄂东南 9 份,鄂西、鄂西北各 10 份),其中 B 型 18 份(62.06%)、C 型 1 份(3.44%)、BC 混合型 3 份(10.34%)、A 型 3 份(10.34%)、AC 混合型 1 份(3.44%)。**结论** 29 份 HBV 阳性血清标本中 B 型基因 18 份,占 62.06%,数据显示 B 型为该地区 HBV 流行优势基因型,其结果与相关报道相一致。

【关键词】 乙型肝炎病毒; 基因型; 聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.05.059 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)05-0617-03

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus,HBV)感染在世界各地有不同程度的流行,但地区差异非常明显^[1]。国家间和国内各地区间流行程度的差异除与卫生状况、生活习惯、人体免疫、遗传特征等因素明显相关外,还与病毒本身生物学特性(基因型、血清亚型、基因变异等)也相关^[2]。目前,根据 HBV 全基因组序列差异大于或等于 8%或 S 基因序列大于或等于 4%,将 HBV 分为 A、B、C、D、E、F、G、H 等 8 个基因型。有研究表明,包含中国、日本和东南亚在内的亚洲地区主要流行 B、C 两种基因型^[2]。本研究是应用基因型特异性引物聚合酶链反应(PCR)扩增 HBV DNA,根据扩增产物的大小判断其基因型。该法与 INNO-LIPA 法比较,操作相对较简便,分型准确率高,并能检测到 B 与 C 基因型混合感染。作者采用该法对湖北省鄂东南、鄂西、鄂西北从业人员 HBV 基因型分布状态进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 血清标本 选取湖北省鄂东南、鄂西、鄂西北从业人员体检 HBsAg 阳性血清标本 29 份,置-20℃冰箱保存备用。用常规试剂盒提取 HBV 核酸。

1.2 酶联免疫吸附测定(ELISA) 采用上海科华生物工程股份有限公司的 HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb ELISA 检测试剂盒(批号 200910062)进行以上 5 项指标的检测。实验步骤与结果判定严格按试剂盒说明书进行。

1.3 HBV 核酸的提取 采用 QIA-amp 公司核酸提取试剂盒进行 HBV DNA 模板的提取。将 200 μL 待测血清加入 20 μL 蛋白酶 K 中混匀,加 A1 裂解液(来自试剂盒)200 μL,56℃金属浴 30 min 取出,每管加无水乙醇 200 μL,混合物分别移入蛋白柱(约 650 μL)中,8 000 g 离心 1 min(台式离心机 QIAGEN 公司),分别加入 AW1 洗液(来自试剂盒)500 μL,14 000 r/min 离心 1 min,弃去管外没有吸附的液体;分别加入 AW2 洗液(来自试剂盒)500 μL,14 000 r/min 离心 1 min,弃去管外没有吸附的液体;分别加入 100 μL Buffer water(试剂盒备),盖上内管盖,室温静置 5 min 后,14 000 r/min 离心 1 min;为 DNA 模板,-20℃备用。

1.4 HBV 常规 PCR 检测 常规 PCR 检测的引物选自 HBV 基因组核心基因内一段高度保守序列。正向引物的序列:5'-CCT TGG GTG GCT TTG GGG CA-3';反向引物序列:3'-

GGG CAT TTG GTG GTC TAT A-3'。选择 20 μL 体系,PCR 扩增(PCR 扩增仪,美国 BIO-RAD)的反应参数为 94 ℃ 30 s→55 ℃ 30 s→72 ℃ 1 min,设定 35 个循环,72 ℃ 延伸 10 min。于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,用凝胶成像仪观察 PCR 产物大小。

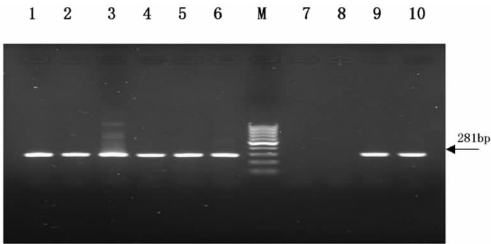
1.5 特异分型引物的设计和 HBV 的分型 参照 Naito 等提供的方法设计一组 Nested PCR 引物用于临床样品的分型^[3]。在这一组分型引物中,用于第 1 轮扩增的通用外部引物序列分别为 P1-F:5'-TCA CCA TAT TCT TGG GAA CAA-3';S1-2-R:5'-CGA ACC ACT GAA CAA ATG GC-3',可以从 A~F 6 种基因型中扩增出特异片段。在第 2 轮 PCR 扩增过程中分别制备两种不同的引物混合液,Mix A 中含 A、B、C、D、E 5 种基因型共有的特异引物序列 B2-F:5'-G GCT CMA GTT CAG GAA CAG T-3';A 基因型分型引物 BA 1-R:5'-CTC GCG GAG ATT GAC GAG ATG T-3';B 基因型分型引物 BB1-R:5'-CAG GTT GGT GAG TGA CTG GAG A-3';C 基因型分型引物 BC1-R:5'-GGT CCT AGG AAT CCT GAT GTT G-3'。MixB 含 D、E 和 F 基因型共有的特异引物 B2-R:5'-GGAG GCG GAT CTG CTG GCA A-3';D 基因型分型引物 BD1-F:5'-GCC AAC AAG GTA GGA GGT-3';E 基因型分型引物 BE1-F:5'-CAC CAG AAA TCC AGA TTG GGA-3';F 基因型分型引物 BF1-F:5'-GTT ACG GTC CAG GGT TAC CA-3'。

在下列条件下完成第 1 轮 PCR:在 20 μL 反应体系中含有 20 μg 外部引物 P1-F 和 S1-2-R,200 imol/L dNTPS,1 μL Hot-start AmpliTaq DNA polymerase,在 1×PCR 缓冲液中含有 1.5 mmol/L MgCl₂。第 2 轮分型 PCR 分两个反应体系完成。将 1 μL 第 1 轮 PCR 产物分别加入两个不同的 PCR 反应体系。第一反应体系由通用正向引物 B2-F 和能区分 A、B、C 3 种基因型的 Mix A 组成,第二反应体系由通用反向引物 B2-R 和能区分 D、E、F 3 种基因型的 Mix B 组成,在 20 μL 反应体系中含有的引物浓度和其他成分与第 1 轮一致。通过琼脂糖凝胶电泳,鉴定两个不同反应体系的 PCR 扩增产物,根据产物的分子质量大小判定不同的基因型,其中 68 bp 为 A 型、281 bp 为 B 型、122 bp 为 C 型。

2 结 果

2.1 共检测乙型肝炎阳性血清标本 29 份(鄂东南 9 份,鄂西、鄂西北各 10 份),其中 B 型 18 份(62.06%)、C 型 1 份(3.44%)、BC 混合型 3 份(10.34%)、A 型 3 份(10.34%)、AC 混合型 1 份(3.44%)。

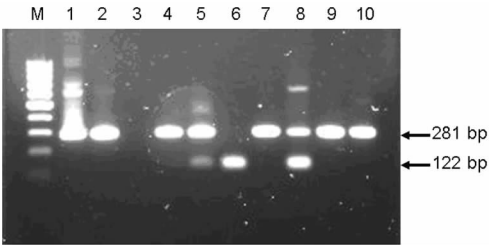
2.2 鄂东南即咸宁市温泉地区健康人群体检 HBsAg 阳性标本 HBV 基因型检测结果均为 B 型,见图 1。



注:泳道 1、2、3、4、5、6、10 为 B 基因型;M 为 100 bp DNA ladder。
图 1 鄂东南体检人群 HBsAg 阳性标本 HBV 基因分型

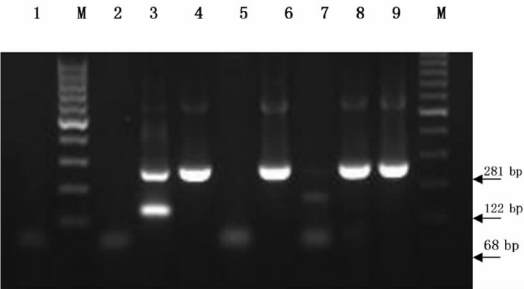
2.3 鄂西北即十堰市城区健康人群体检 HBsAg 阳性标本 HBV 基因型检测结果有 B 型、C 型、BC 混合型 3 种基因型,见图 2。

2.4 鄂西地区体检人群 HBsAg 阳性标本 HBV 基因型检测结果有 B 型、A 型、BC 混合型、AC 混合型 4 种基因型,见图 3。



注:泳道 1、2、4、7、9、10 为 B 基因型,5、8 为 B 基因型和 C 基因型混合感染,6 为 C 基因型;M 为 100bp DNA ladder。

图 2 鄂西北体检人群 HBsAg 阳性标本 HBV 的基因分型



注:泳道 4、6、8、9 为 B 基因型,1、2、5 为 A 基因型,3 为 B 基因型与 C 基因型混合感染,7 为 C 基因型和 A 基因型混合感染;M 为 100 bp DNA ladder。

图 3 鄂西体检人群 HBsAg 阳性标本 HBV 的基因分型

3 讨 论

从图 1~3 中看出,鄂东南、鄂西北、鄂西地区 HBV B 型(62.06%)为优势基因型,同时也存在 A 型、C 型、AC 及 BC 混合基因型。与 Orito 等研究的中国主要以 HBV B 和 C 基因型感染为主,其中南方地区 B 型为优势基因型,北方地区 C 型为优势基因型,也存在 D 型及 B+C 型混合感染数据基本相似。

有关通过对基因平均 100 个核苷酸置换频数的研究提示,HBsAg 基因相当保守^[3]。对基因型 B 及相应的 adw2 血清亚型的研究发现,B 基因型可变性明显高于基因型 C 及相应的 adr 血清亚型,由此得出这是否是我国南方地区乙型肝炎流行更为严重的病原生物学基础的预示^[3]。本文数据显示鄂东南地区的 HBV 基因型均为 B 型,是本文作者下一步的研究重点。

HBV 基因型的分布有一定的地域性,A 型主要分布在欧洲北部、西部和非洲撒哈拉沙漠地带。我国 A 基因型报道不常见,本研究图 3 PCR 泳道显示部分人群感染 HBV A 基因型,此人群在恩施州位于鄂西,是否与地域相关有待进一步研究。

有关研究报道,我国 B 基因型 HBV 感染者中以 Ba、Bj 亚型为主,C 基因型以 C2、非 C1/C2 型为主,本文研究的 HBV 感染者中 B、C 基因型的亚型和出现的 HBV A 基因型的亚型

是否与有关报道相符,是否与地域有关是作者下一步研究的重点,并有待于亚型分型及核酸测序等相关数据证实。

参考文献

[1] 夏国良,龚健,王继杰,等. 重组乙型肝炎疫苗阻断乙型肝炎病毒母婴传播方案的保护效果评价[J]. 中华流行病学杂志,2003,24(5):362-365.

[2] 夏国良, Omana V Nainan, 贾志远,等. 乙型肝炎病毒基

因型和血清亚型在我国部分地区的分布及其特点[J]. 中华流行病学杂志,2001,22(5):348-351.

[3] 李雅娟,庄辉,李杰,等. 乙型肝炎病毒感染者病毒基因型和亚型分布及其临床意义[J]. 中华肝脏病杂志,2005,13(10):724-729.

(收稿日期:2010-09-13)

498 例达斡尔族中老年人血脂测定与分析

曾庆海,黄 欢(内蒙古自治区莫力达瓦达斡尔族自治旗人民医院检验科,内蒙古莫旗 162850)

【摘要】 目的 了解达斡尔族、汉族 45 岁以上人群血脂水平现状,探讨其是否存在民族间的差异。**方法** 对 2008 年 11 月至 2010 年 1 月进行健康体检、年龄 45 岁以上的达斡尔族居民 498 人和汉族居民 200 人进行血脂水平测定。**结果** 达斡尔族中老年男性组三酰甘油显著高于女性组($P<0.05$);达斡尔族和汉族中老年人血脂水平组间差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 达斡尔族中老年人和汉族中老年人血脂水平差异无统计学意义。

【关键词】 血脂; 达斡尔族; 中老年人

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.05.060 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2011)05-0619-01

高脂血症是当今危害中老年人身体健康的疾病之一,因为高血脂可以引发多种疾病,如冠心病、糖尿病、脑动脉硬化、脂肪肝等^[1]。为了解本地区达斡尔族、汉族大于或等于 45 岁人群血脂水平现状作了如下统计,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008 年 11 月至 2010 年 1 月来本院体检的健康体检者。达斡尔族 498 人,其中男 203 人,女 295 人,年龄 45~85 岁,平均 55.1 岁。汉族 200 人,其中男 100 人,女 100 人,年龄 45~88 岁,平均 55.6 岁。

1.2 仪器与试剂 HITACHI7060 全自动生化分析仪,中生公司生产检测试剂和校准品及长征复星生物有限公司生产质控血清(批号 578un、416ue)。总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)采用氧化酶法,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)采用直接法。

1.3 方法 检查者均空腹 12 h,于次日清晨抽取静脉血 2 mL。仪器对低、高质控品测定,在各主要检测项目均在控的条件下按照仪器操作规程进行检测。分别测定达斡尔族、汉族中老年人男、女性血脂水平。

1.4 数据处理 利用 SPSS17.0 for windows 软件进行统计分析,按民族和性别进行 t 检验。

2 结 果

达斡尔族中老年男性组 TG 显著高于女性组($P<0.05$);达斡尔族和汉族中老年人血脂水平差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 达斡尔族、汉族中老年人血脂结果($\bar{x}\pm s$,mmol/L)						
民族	性别	<i>n</i>	TC	HDL-C	LDL-C	TG
达斡尔族	男	203	4.99±0.99	1.33±0.37	2.85±0.77	2.06±1.41
	女	295	5.01±0.93	1.40±0.34	2.79±0.69	1.74±1.04

续表 1 达斡尔族、汉族中老年人血脂结果($\bar{x}\pm s$,mmol/L)						
民族	性别	<i>n</i>	TC	HDL-C	LDL-C	TG
汉族	男	100	5.05±0.87	1.36±0.38	2.93±0.77	2.10±1.66
	女	100	5.15±0.93	1.43±0.32	2.89±0.80	1.99±1.61
参考值 ^[2]	—	—	≤5.17	>1.04	≤3.12	≤1.71

注:—表示无数据。

3 讨 论

本次统计结果表明,达斡尔族中老年人和汉族中老年人血脂水平有所差异但没有统计学意义。影响不同民族血脂水平的因素主要有先天性的遗传基因和后天性的生活方式两个因素^[3]。血脂代谢异常 60%以上由遗传决定^[4],不同民族遗传基因不同,不同的遗传基因控制和影响着不同个体的脂质代谢过程。生活方式的影响主要来自社会环境、个人的经济状况和生活饮食习惯。达斡尔族人饮食习惯有一定特点,但随着经济发展和 社会进步,达斡尔族人的生活也发生了巨大的变化,饮食结构、生活习惯也受到了汉族人影响,现在基本和汉族人的饮食习惯相近。

参考文献

[1] 陈灏珠,金雪娟. 我国人群血脂水平现状及其对策[J]. 中国工程科学,2002,4(11):1-6.

[2] 陈文彬. 诊断学[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社,2003:414-416.

[3] 马慧敏,姚惠敏. 新疆博州 3 828 例汉、维、蒙、哈族血脂调查分析[J]. 新疆医学,2006,36(3):13-17.

[4] 蔡海江. 动脉粥样硬化基础与临床[M]. 南京:江苏科技出版社,1996:71.

(收稿日期:2010-09-21)