

曲靖市某医院女性患者人乳头瘤病毒检测及基因分型结果分析

毛德超 孙继芹 陶娅琳 冷丽 包锐

作者单位: 655000 云南曲靖, 曲靖市第二人民医院检验科

通信作者: 毛德超, Email: 2205584068@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.01.007

【摘要】 目的 了解本院女性患者人乳头瘤病毒(HPV)感染情况及 HPV 基因型分布情况,为临床诊治 HPV 感染提供依据。方法 选取 2016 年 1 月 1 日—2018 年 11 月 30 日在曲靖市第二人民医院进行 HPV 检测的 20 岁及以上女性患者作为研究对象,采用聚合酶链反应(PCR)-反向点杂交技术定性检测 HPV 并进行基因分型。统计检测结果,分析 HPV 各年龄段感染率、人群分布以及基因型分布。结果 共纳入 3 221 例受检者,486 例患者感染 HPV,感染率 15.09%;其中 408 例感染高危型,感染率 12.67%。HPV 基因分型为 16 型的患者数量最多,为 106 例(占 21.81%);73 型最少,为 1 例(占 0.20%)。体检人群的 HPV 感染率明显低于门诊和住院患者(10.12% 比 18.36%、16.25%, $P < 0.05$)。不同年龄段 HPV 感染率差异不大, ≥ 60 岁年龄段人群的感染率最高(21.64%),与 30~39 岁、40~49 岁年龄段感染率(分别为 14.13% 和 14.46%)有明显差异($P < 0.05$),其他年龄段感染率均无明显差异(均 $P > 0.05$)。结论 本院体检人群的 HPV 感染率最低;老年人群的 HPV 感染率最高;高危型 HPV16 型、52 型、58 型以及低危型 HPV40 型、44 型是曲靖市女性 HPV 感染的主要基因分型。

【关键词】 曲靖市; 女性; 人乳头瘤病毒; 聚合酶链反应; 反向点杂交技术; 基因分型

Analysis of human papilloma virus detection and genotyping results of female patients in a hospital in Qujing City

Mao Dechao, Sun Jiqin, Tao Yalin, Leng Li, Bao Rui. Department of Medical Laboratory, the Second People's Hospital of Qujing City, Qujing 655000, Yunnan, China

Corresponding author: Mao Dechao, Email: 2205584068@qq.com

【Abstract】 Objective To understand human papilloma virus (HPV) infection and distribution of HPV genotypes in female patients in our hospital and provide evidence for clinical diagnosis and treatment of HPV infection. **Methods** From January 1, 2016 to November 30, 2018, female patients aged ≥ 20 with HPV testing in the Second People's Hospital of Qujing City were selected as research objects. The polymerase chain reaction (PCR) - reverse dot hybridization technique was used to qualitatively detect the HPV, and HPV genotyping was carried out for the patients. The test results were calculated, and the HPV infection rates, population distribution and the genotype distribution in patients' various age groups were analyzed. **Results** In 3 221 female patients aged 20 and over, there were 486 patients infected with HPV, the infection rate being 15.09%, and 408 HPV patients were of high-risk type, the incidence being 12.67%. Analysis of HPV genotyping showed the largest number of patients with 16 genotype (106 cases, 21.81%), and the least number of patients with 73 genotype (1 case, 0.20%). HPV infection rate in physical examination population was significantly lower than the rates in outpatients and inpatients (10.12% vs. 18.36%, 16.25%, both $P < 0.05$). The differences in HPV infection rates among different age groups were not great, the infection rate of ≥ 60 years old was the highest (21.64%), and the infection rate was significantly different from the rates in age of 30-39 years old and 40-49 years old groups (14.13%, 14.46%, both $P < 0.05$), but no significant differences in infection rate among other age groups (all $P > 0.05$). **Conclusion** The rate of HPV infection was the lowest among the population undergoing physical examination in our hospital; among the various age groups of HPV patients, the elderly group has the highest rate of HPV infection, the main genotypes of HPV infection in high-risk female patients were HPV16, 52, 58 types, while those of the low-risk ones were HPV40 and 44 in Qujing City.

【Key words】 Qujing city; Female; Human papilloma virus; Polymerase chain reaction; Reverse dot hybridization technique; Genotyping

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)的感染与宫颈癌的发生密切相关。有研究显示,在宫颈癌患者中,有 99.7% 检出 HPV 感染^[1],故检测 HPV 已成为宫颈癌筛查的重要指标。目前已发现超过 150 种 HPV 基因型,根据与宫颈癌发病风险关联程度的不同分为高危型和低危型^[2]。专家共识提出,HPV 高危型主要包括 HPV16、18、26、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82 等;低危型主要包括 HPV6、11、40、42、43、44、54、61、70、72、81、83 等^[3]。本研究采用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)-反向点杂交技术,定性检测 HPV 并进行 HPV 基因分型,为临床诊治 HPV 感染提供依据,现报告如下。

1 资料和方法

1.1 研究对象 选取 2016 年 1 月 1 日—2018 年 11 月 30 日在本院检测 HPV 及基因分型的 3 221 例女性受检者,年龄 20~78 岁,平均(40.46±10.16)岁。

1.2 仪器和试剂 基因扩增仪(7300 Real Time PCR System)购自 Applied Biosystems 公司;人乳头瘤病毒基因分型检测试剂购自广州安必平医药科技股份有限公司,该试剂可检测 18 种高危型基因和 10 种低危型基因;宫颈分泌物一次性使用采样盒(内含无菌采样毛刷和装有无菌盐水的无菌试管)购自江苏健友医疗科技有限公司;HPV16 型、18 型等质控样品购自广州邦德盛生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 标本采集 用采样毛刷按要求采集宫颈口部位的分泌物,置入无菌试管中,送检验科备检。当天不能检测的标本 4℃ 冰箱中保存,1 周内测完。

1.3.2 检测方法 采用 PCR-反向点杂交技术,实验操作和结果判读严格按照仪器和试剂说明书进行,每次实验同步监测 HPV16 型与 HPV18 型的室内质控。检测步骤主要包括:① 样本处理和 DNA 提取;② PCR 扩增;③ 杂交;④ 结果分析。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 *t* 检验;计数资料以例(率)表示,采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV 感染患者来源分布 门诊和住院患者的感染率均明显高于体检人群($\chi^2=36.24$, $\chi^2=11.59$, 均 $P<0.05$),而门诊患者和住院患者的感染率无明显差异($\chi^2=1.05$, $P>0.05$)。见表 1。

表 1 486 例 HPV 感染患者的来源分布

来源	总例数(例)	HPV 阳性数(例)	HPV 感染率(%)
体检人群	1 166	118	10.12
门诊患者	1 612	296	18.36 ^a
住院患者	443	72	16.25 ^a
合计	3 221	486	15.09

注:与体检人群比较,^a $P<0.05$

2.2 HPV 感染及高危型 HPV 感染患者在各年龄段的分布 共检出 HPV 感染 486 例,感染率 15.09%。其中 18 种高危型基因 408 例,占有受检者的 12.67%(408/3 221)。 ≥ 60 岁年龄段的感染率最高,与 30~39 岁、40~49 岁年龄段人群比较有明显差异($\chi^2=5.23$, $\chi^2=4.27$, $P<0.05$),其他年龄段之间的感染率比较均无明显差异(均 $P>0.05$)。见表 2。

表 2 HPV 感染阳性及高危型 HPV 感染患者在各年龄段的分布情况

年龄段(岁)	HPV			高危型 HPV		
	阴性(例)	阳性(例)	阳性率(%)	阴性(例)	阳性(例)	阳性率(%)
20~29	421	79	15.80	437	63	12.60
30~39	869	143	14.13 ^a	885	127	12.55
40~49	935	158	14.46 ^a	954	139	12.72
50~59	405	77	15.98	425	57	11.83
≥ 60	105	29	21.64	112	22	16.42
合计	2 735	486	15.09	2 813	408	12.67

注:与 ≥ 60 岁年龄段比较,^a $P<0.05$

2.3 HPV 感染患者基因检出情况 486 例 HPV 感染患者中,358 例检出 1 种 HPV 基因型,占 73.66%;128 例检出 2 种及以上基因型,占 26.34%。其中有 1 例患者共检出 9 种基因型。见表 3。

表 3 486 例 HPV 感染患者的基因检出情况

HPV 基因型感染类型	总例数(例)	最常见基因型		
		分型	例数(例)	所占比例(%)
1 种	358	16 型	82	22.91
2 种	90	52 型	24	26.67
3 种	18	52 型	7	38.89
4 种及以上	20	40 型	13	65.00

2.4 HPV 基因分型及亚型分布 486 例 HPV 感染患者覆盖 28 种基因型,包括 18 种高危型基因(HPV16 型、18 型、26 型等)以及 10 种低危型基因(6 型、11 型、40 型等)。除 73 型外,其他 27 型均在患者中单独检出;最常见基因型依次为 16 型、52 型、58 型、40 型、44 型。检出 2 种及以上基因的最常见亚型依次为 52 型、40 型、16 型、44 型、56 型、53 型。见表 4。

表 4 486 例患者的 HPV 基因分型及亚型分布情况

HPV 基因型	阳性数(例)		所占比例 [% (例)]	HPV 基因型	阳性数(例)		所占比例 [% (例)]
	单一基因型	2 种及以上基因型			单一基因型	2 种及以上基因型	
高危型基因				低危型基因			
16 型	82	24	21.81 (106)	68 型	15	12	5.55 (27)
18 型	9	14	4.73 (23)	73 型	0	1	0.20 (1)
26 型	3	5	1.65 (8)	82 型	2	2	0.82 (4)
31 型	6	8	2.88 (14)	合计	299	221	1.07 (520)
33 型	16	7	4.73 (23)	6 型	3	8	2.26 (11)
35 型	5	4	1.85 (9)	11 型	8	3	2.26 (11)
39 型	13	14	5.55 (27)	40 型	3	34	7.61 (37)
45 型	3	2	1.03 (5)	42 型	10	12	4.53 (22)
51 型	14	13	5.55 (27)	43 型	2	4	1.23 (6)
52 型	52	39	18.72 (91)	44 型	13	24	7.61 (37)
53 型	5	20	5.14 (25)	54 型	5	13	3.70 (18)
56 型	11	21	6.58 (32)	61 型	4	7	2.26 (11)
58 型	51	19	14.40 (70)	81 型	10	15	5.14 (25)
59 型	3	7	2.06 (10)	83 型	1	2	0.62 (3)
66 型	9	9	3.70 (18)	合计	59	122	37.24 (181)

3 讨论

宫颈癌是女性生殖道三大恶性肿瘤之一,目前在 我国有发病率高、病死率高、普查率低等特点^[4]。很多研究表明,HPV 感染与宫颈癌有因果关系,HPV 感染已明确为导致宫颈癌的病因^[5-6]。HPV 分为高危型和低危型,目前发现的 HPV 亚型有 150 余种^[2],低危型主要与尖锐湿疣密切相关,高危型主要与宫颈癌前病变及宫颈癌密切相关^[7]。因此,HPV 的检测和基因分型对治疗 HPV 感染以及预防宫颈癌都尤为重要。

本研究分析我院 2016—2018 年 3221 例 20 岁及以上女性患者的 HPV 检测结果,其中 486 例检出感染 HPV,感染率为 15.09%。低于杨君等^[8]报道的重庆 HPV 感染率(17.30%)和雷春菊^[9]报道的佛山 HPV 感染率(20.7%)。究其原因,可能与本研究将体检人群纳入分析有关,HPV 检测费用高导致普查率较低,普通人群参与检测多导致阳性率较低。另外,HPV 感染地区差异、不同实验室检测 HPV 项目数量差异、各医院 HPV 检测人群选择差异等都可能 导致不同地区 HPV 感染率的差异,这也反映了我国 HPV 普查率低的现状。

本研究 3 221 例受检者中,体检人群、门诊患者、住院患者的 HPV 感染率分别为 10.12%、18.36%、16.25%,体检人群的 HPV 感染率明显低于门诊和住院患者,这说明普通人群检测数量增加,感染率会有所降低。30~39 岁与 40~49 岁人群的 HPV 感染率相近,在分析样本中的感染率最低;20~29 岁与 50~59 岁人群的 HPV 感染率相近,高

于 30~39 岁与 40~49 岁的感染率;≥60 岁人群的 HPV 感染率最高(21.64%)。各地区报道的 HPV 感染率在不同年龄段人群中差异较大,可能由该项目的普及率较低以及各医院就诊人群差异大等原因所致^[8-10]。

HPV 基因分型的相关研究较多,表现为不同地区之间存在差异。赵健等^[11]发现北京地区 HPV 的主要基因型依次为 HPV16、58、52、33、53 等;吴玉萍等^[12]发现江西省 HPV 的主要基因型依次为 HPV16、58、33、31 等;杨君等^[8]发现重庆地区 HPV 主要基因型依次为 HPV16、43、58、52、6 等;蒋卫平等^[13]发现浙江丽水 HPV 的主要基因型依次为 HPV16、52、58、33、53 等;本院 HPV 主要基因型依次为 HPV16、52、58、40、44 等,HPV16 型检出率最高,与上述各地区的研究结果相同。说明 HPV16 型是我国各地区主要存在的基因型,无明显地区差异;上述各地区研究还显示,高危型基因以 HPV16、52、58 等为主,除 HPV16 型外,其他分型的感染率有地区差异;各地区 HPV 低危型基因的感染率差异很大,说明 HPV 基因型存在地区差异。

本研究检出 1 种基因型的 HPV 感染患者以 HPV16 型最常见;检出 2 种和 3 种基因型的 HPV 感染患者均以 HPV52 型最常见;检出 4 种及以上基因型的 HPV 感染患者以 HPV40 型最常见。

本研究只能定性检测 HPV 及进行 HPV 基因分型,无法对 HPV 病毒负荷量进行定量检测。李肖甫等^[14]的研究显示,高危型 HPV-DNA 阳性患者中,宫颈部位细胞学异常者占 79.01%,细胞学正常者占

20.99%,说明不是所有高危型 HPV 都会导致宫颈部位细胞学异常;另外,在细胞学异常组的宫颈组织中,高危型 HPV-DNA 负荷量明显高于良性病变组,证明高危型 HPV 与宫颈病变存在密切关系。该研究提示本实验室的方法存在局限性,还需要继续完善;同时提示临床在诊断高危型 HPV 阳性患者时,不能仅考虑 HPV 基因分型结果,还需要结合患者体征、宫颈细胞学和 HPV 病毒负荷量等进行判断。

本研究 3 221 例受检者的 HPV 检测结果显示, HPV 感染率为 15.09%;门诊患者 HPV 感染率最高,其次为住院患者和体检人群;各年龄段中,≥60 岁人群感染率最高,其次为 50~59 岁、20~29 岁、40~49 岁、30~39 岁人群。上述情况反映了我院 2016—2018 年 HPV 检测的实际情况。HPV16 型、52 型、58 型、40 型、44 型等明显高于其他基因分型,可反映曲靖市 HPV 感染的主要基因型。

参考文献

- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide [J]. J Pathol, 1999, 189(1): 12-19. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F.
- Priebe AM. 2012 cervical cancer screening guidelines and the future role of HPV testing [J]. Clin Obstet Gynecol, 2013, 56(1): 44-50. DOI: 10.1097/GRF.0b013e3182836b6a.
- 福建省海峡两岸精准医学协会 HPV 感染疾病专业委员会. HPV 感染疾病相关问题专家共识(2017)[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(12): 1238-1241. DOI: 10.16571/j.cnki.1008-8199.2017.12.002.

- 于莉. HPV 感染与宫颈癌及癌前病变相关性临床分析[J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(2): 53-54.
- Szarewski A. Cervarix®: a bivalent vaccine against HPV types 16 and 18, with cross-protection against other high-risk HPV types [J]. Expert Rev Vaccines, 2012, 11(6): 645-657. DOI: 10.1586/erv.12.42.
- Tunstall-Pedoe H Preventing chronic diseases. A vital investment: WHO global report.geneva: world health organization [J]. Int J Epidemiol, 2006, 35(1): 200-218.
- 耿建祥,王旭波. 人乳头瘤病毒检测及其临床应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 381-427.
- 杨君,周德平,陈凤娟,等. 重庆地区 2 497 例妇科就诊患者 HPV 感染状况分析[J]. 重庆医科大学学报, 2012, 37(4): 347-349. DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.04.016.
- 雷金菊. 佛山市 1 638 例女性 HPV 基因分型状况分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(3): 370-371. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.03.052.
- 邵淑娟,岳天孚,张丽琴. 女性 HPV 感染情况及对 HPV 和 HPV 疫苗的认知[J]. 天津医科大学学报, 2013, 19(2): 127-130. DOI: 10.3969/j.issn.1006-8147.2013.02.013.
- 赵健,杨英捷,廖秦平. 导流杂交基因芯片技术在人乳头状瘤病毒感染分型检测中的临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(12): 1148-1151. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2006.12.023.
- 吴玉萍,陈裕隆,李隆玉,等. 宫颈癌患者人乳头瘤病毒(HPV)主要型别及其感染研究[J]. 病毒学报, 2005, 21(4): 269-273. DOI: 10.3321/j.issn.1000-8721.2005.04.006.
- 蒋卫平,丁茂文,张晓梅,等. 浙江省丽水地区妇科患者 21 种人乳头状瘤病毒感染状况分析[J]. 浙江医学, 2009, 31(9): 1323-1324. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2785.2009.09.063.
- 李肖甫,李雁青,智艳芳,等. 高危型 HPV-DNA 负荷量与宫颈病变的相关性探讨[J]. 实用检验医师杂志, 2011, 3(1): 13-17. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2011.01.004.

(收稿日期: 2019-01-07)

(本文编辑: 张耘菲)

消 息

中华医学会第十五次全国检验医学学术会议

由中华医学会、中华医学会检验分会主办的中华医学会第十五次全国检验医学学术会议(简称 2019 年全国检验医学大会)将于 2019 年 8 月 29 日—31 日在江苏省苏州市举行。这是中华医学会检验分会举办的大规模检验学界学术会议,也将是 2019 年度我国检验医学的一次盛会。本次会议将涵盖临床检验和实验室管理各领域最新的研究成果和发展趋势,并将对检验医学所面临的新形势和新挑战进行广泛充分的交流探讨。届时将邀请国际、国内一流专家与会做专题报告。会议还将举办继续教育、检验摄影图片展、临床实验室设备新技术交流和展览会。全体参会者可获国家级医学继续教育学分。

1 现场报到日期: 2019 年 8 月 29 日

2 会议时间: 2019 年 8 月 29 日—31 日

3 会议地点: 苏州国际博览中心(苏州市吴中区苏州大道东 688 号, 0512-62580111)

4 会议征文主要内容范围: 生化新技术和新方法; 血液体液新技术和新方法; 免疫新技术和新方法; 微生物新技术和新方法; 实验室管理及其他检验医学相关内容。征文要求: ① 稿件要求提供 600 字摘要 1 份。包括目的、方法、结果和结论, 论文要求未在国内公开发行的刊物上发表, 文责自负, 概不退稿; ② 参加英文演讲比赛的第一作者要求: 1974 年 1 月 1 日之后出生, 从事检验工作; ③ 在线提交 400~500 个单词的英文摘要 1 份; ④ 本次大会只通过网上在线投稿, 不接受邮寄和 Email 投稿, 网上论文投稿请登录大会网站(www.cslm.org.cn); ⑤ 大会接受中文及英文投稿, 但是一篇论文不得同时递交中文和英文稿件

5 联系人: CSLM2019 秘书处, 地址: 北京东四西大街 42 号, 邮编: 100710, 邮箱: nclm2013@126.com