

• 论 著 •

人乳头状瘤病毒基因分型联合薄层液基细胞学检测 在宫颈病变筛查中的应用^{*}

温开镇¹, 张荣君², 吴淑玲³, 张贻荣¹, 白志敏¹

(福建省晋江市医院:1. 检验科;2. 病理科;3. 妇产科,福建晋江 362200)

摘要:目的 探讨人乳头状瘤病毒(HPV)基因分型联合薄层液基细胞学(TCT)检测在宫颈病变筛查中的应用价值。**方法** 采用导流杂交基因芯片法检测 473 例宫颈疾病患者 HPV 基因型别, TCT 做细胞学筛查, 同时行阴道镜活检, 以组织学为金标准, 对结果进行分析。**结果** 473 例患者共检出 HPV 阳性 169 例, 总感染率为 35.7%; 473 例患者高危型 HPV(HR-HPV)感染率为 32.1%, TCT 检测阳性率为 26.6%, 对宫颈病变筛查的灵敏度、特异度、漏诊率、阳性预测值和阴性预测值差异无统计学意义 ($\chi^2 = 3.444, P = 0.063$); HR-HPV 与 TCT 联合检测对宫颈病变筛查的灵敏度、特异度、漏诊率、阳性预测值、阴性预测值分别为 95.8%、77.7%、4.2%、52.3% 和 98.7%, 灵敏度和阴性预测值均较单独 HR-HPV 及 TCT 检测明显提高, 漏诊率明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** HPV 基因分型联合 TCT 检测能明显提高宫颈病变筛查的灵敏度和阴性预测值, 降低漏诊率, 更加有效地筛查宫颈病变。

关键词:人乳头状瘤病毒; 基因亚型; 液基细胞学; 宫颈病变

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.11.016

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)11-1518-03

Application of human papillomavirus genotype combined with thinprep cytologic test in diagnosis of cervical lesion^{*}

Wen Kaizhen¹, Zhang Rongjun², Wu Shulina³, Zhang Yirong¹, Bai Zhimin¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Pathology;

3. Department of Gynaecology and Obstetrics, Jinjiang Municipal Hospital of Fujian, Jinjiang, Fujian 362200, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical significance of human papillomavirus(HPV) genotype combined with thinprep cytologic test(TCT) in the diagnosis of cervical lesion. **Methods** A total of 473 patients were checked for 21 subtypes of HPV by diversion hybrid gene chip technology, TCT and colposcope biopsy were also detected at the same time. The histology was selected as a gold standard to analyze the tested results. **Results** The over all positive rate of HPV in 473 patients was 35.7%. The positive rate of high risk HPV(HR-HPV) was 32.1%, the positive rate of TCT was 26.6%, the sensibility, specificity, false negative rate, positive predictive value and negative predictive value between HR-HPV detection and TCT detection were no statistical significance ($\chi^2 = 3.444, P = 0.063$). The sensibility, specificity, false negative rate, positive predictive value and negative predictive value of combining test were 95.8%, 77.7%, 4.2%, 52.3% and 98.7%, the sensibility and negative predictive value improved notably, and the omission diagnose rate decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** HPV genotype combined with TCT detection could significantly improve sensibility and negative predictive value and decrease omission diagnose rate in diagnosis of cervical lesion.

Key words: human papillomavirus; genotype; thinprep cytologic test; cervical lesion

大量流行病学调查和实验研究表明, 高危型人乳头状瘤病毒(HR-HPV)持续感染是导致宫颈癌前病变和宫颈癌的主要原因^[1], 宫颈癌的形成有一个较长的可逆转癌前病变期, 宫颈上皮内瘤样变(CIN)发展为宫颈癌通常需要 3~20 年^[2], 因此预防宫颈癌是可以通过早期筛查和早期干预来实现的。本研究通过人乳头状瘤病毒(HPV)基因分型联合薄层液基细胞学(TCT)检测, 探讨其在宫颈病变筛查中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 1 月至 2014 年 4 月本院妇产科就诊行 HPV 基因分型检测、TCT 检测及阴道镜活检的女性患者 473 例, 年龄 20~77 岁, 平均(36.9±10.8)岁。

1.2 仪器与试剂 HPV 基因分型检测试剂盒、HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪为广东凯普生物科技有限公司产品, 聚

合酶链反应(PCR)扩增仪为美国 ABI 公司产品, TCT 检查采用意大利赛涂薄层液基制片系统。

1.3 检测方法

1.3.1 HPV 基因分型检测 窥阴器暴露宫颈后, 用棉球擦去宫颈表面分泌物, 再用宫颈刷刷取宫颈口脱落细胞, 放入细胞保存液中, 按说明书操作方法, 采用导流杂交基因芯片法一次性检测 21 种亚型, 包括 15 种高危亚型: 16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68 型; 6 种低危亚型: 66、11、42、43、44、CP8304 型。有感染高危型别的为 HPV 基因分型阳性。

1.3.2 TCT 检查 细胞学的评价方法采用 TBS 分级系统, 分为:(1)阴性, 无上皮内病变或恶性细胞(NLIM);(2)阳性, 按级别由低到高分为不明意义非典型鳞状细胞(ASCUS)、低

* 基金项目:晋江市科技局资助项目(2011-1-4-31)。 作者简介:温开镇,男,副主任检验师,主要从事临床微生物及分子生物学研究。

级别鳞状上皮内病变(LSIL)、高级别鳞状上皮内病变(HSIL)和鳞状细胞癌(SCC)。

1.3.3 宫颈组织病理学诊断 阴道镜下宫颈多点活检进行组织病理学诊断,分为:慢性宫颈炎,CIN I 期、CIN II 期、CIN III 期、SCC。将组织学为 CIN I 期及以上者视为宫颈组织病理学检测阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理及统计学分析,计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 基因型别分布 473 例患者共检出 HPV 阳性 169 例,总感染率为 35.7%,其中单独高危型 144 例,单独低危型 17 例,高、低危型混合感染 8 例;共检出 15 种基因亚型,其中单一亚型感染 143 例,双重亚型感染 19 例,三重及以上感染 7 例,最常见型别为 HPV16 型,各型别分布如下:HPV16 49 例,HPV58 34 例,HPV52 31 例,HPV18 17 例,HPV31 15 例,HPV11 13 例,HPV33 12 例,HPV6 9 例,HPV45 8 例,HPV56 8 例,HPVCP8304 3 例,HPV53 2 例,HPV39,HPV59 及 HPV68 各 1 例。

2.2 HPV 基因分型及 TCT 检测对宫颈病变的检出情况 在 473 例患者中,HR-HPV 感染 152 例(包括高、低危型混合感染 8 例),阳性率 32.1%,TCT 检测异常 126 例,阳性率 26.6%,二者差异无统计学意义($\chi^2 = 3.444, P = 0.063$);组织学异常者共 96 例,其中 HR-HPV(+) 且 TCT(−) 者 17 例,宫颈病变检出率为 17.7%,TCT(+) 且 HR-HPV(−) 者 9 例,宫颈病变检出率为 9.4%,二者差异无统计学意义($\chi^2 = 2.847, P = 0.092$),HR-HPV(+) 且 TCT(+) 者 66 例,宫颈病变检出率高达 68.8%,明显高于 HR-HPV 或 TCT 单一阳性时的检出率($\chi^2 = 50.955, P = 0.000; \chi^2 = 71.089, P = 0.000$);HR-HPV 在慢性宫颈炎、CIN I 期、CIN II 期、CIN III 期和 SCC 患者中的阳性率分别为 18.3%、78.4%、86.7%、95.0% 和 100.0%,随组织学病变级别升高,阳性率明显上升,差异有统计学意义($\chi^2 = 165.513, P = 0.000$)。见表 1。

表 1 HR-HPV 及 TCT 检测结果与组织学病变的关系(n)

病理诊断	HR-HPV(+) TCT(+)	HR-HPV(+) TCT(−)	HR-HPV(−) TCT(+)	HR-HPV(−) TCT(−)	合计
慢性宫颈炎	36	33	15	293	377
CIN I 期	20	9	5	3	37
CIN II 期	21	5	3	1	30
CIN III 期	16	3	1	0	20
SCC	9	0	0	0	9
合计	102	50	24	297	473

2.3 HPV 基因分型及 TCT 单独及联合检测的诊断价值比较 HPV 基因分型联合 TCT 检测较 2 种方法单独使用具有更高的灵敏度和阴性预测值,降低了漏诊率,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HPV 基因分型检测与 TCT 检测对宫颈病变筛查的灵敏度、特异度、漏诊率、阳性预测值和阴性预测值差异无统计学意义($\chi^2 = 3.444, P = 0.063$)。见表 2。

表 2 HPV 基因分型及 TCT 单独及联合检测的诊断价值比较(%)

方法	灵敏度	特异度	漏诊率	阳性预测值	阴性预测值
HPV 基因分型	86.5*	81.7	13.5*	54.6	96.0*
TCT	78.1*	86.5*	21.9*	59.5	94.0*
HPV 基因分型及 TCT 联合检测	95.8	77.7	4.2	52.3	98.7

*: $P < 0.05$, 与 HPV 基因分型及 TCT 联合检测比较。

3 讨 论

宫颈癌是严重危害女性健康的恶性肿瘤之一,居世界女性癌症病死率第二位,仅次于乳腺癌,宫颈癌又是目前唯一一种病因明确的可以预防和治愈的恶性肿瘤,HR-HPV 持续感染是宫颈癌发生的必要条件^[1],国际癌症研究中心指出,没有持续的 HR-HPV 感染,女性发生宫颈癌的可能性几乎为零^[3]。HR-HPV 感染率各地报道不一,本研究中 HR-HPV 感染率为 32.1%,高于张志珊等^[4]报道的本地区人群感染率,是否与纳入的研究对象不同有关有待进一步研究。HPV 的型别分布表现出一定的地域和人群差异,各亚型在不同地区和不同种族的分布不同,如 HPV52 和 HPV58 是亚洲特有的两个基因亚型,在中国、日本等亚洲国家有较高的检出率,而在世界其他地区很少或者没有检出,HPV58 在全国范围内都有较高的检出,而 HPV52 在中国东南沿海地区如浙江、福建、台湾、香港及广东一些地区的人群中具有较高的感染率^[5],本研究中前 5 位常见 HR-HPV 依次为 16、58、52、18 和 31,与文献^[6]报道基本一致。本研究结果显示,HR-HPV 在慢性宫颈炎、CIN I 期、CIN II 期、CIN III 期和 SCC 患者中的阳性率分别为 18.3%、78.4%、86.7%、95.0% 和 100.0%,随组织学病变级别升高,阳性率明显上升,可见,HR-HPV 感染与宫颈病变密切相关,在宫颈病变筛查中明确是否有 HR-HPV 感染至关重要,可以将高风险人群筛查出来,及时进行干预治疗。

宫颈细胞学检查是公认的宫颈癌筛查手段之一,传统的巴氏涂片在宫颈癌的筛查中曾经发挥非常重要的作用,近年来,随着 TCT 的应用,宫颈病变的检出率得到明显提高,但大部分学者仍认为细胞学检查的灵敏度较 HPV 检测的灵敏度低,认为应该用 HPV 检测替代细胞学检查^[7]。本研究结果显示,HPV 基因分型检测与 TCT 检查在宫颈病变筛查中差异无统计学意义($P > 0.05$),HPV 检测虽具有较高的灵敏度,但其特异度较低,二者联合应用对于宫颈疾病的筛查效果相比于 2 种检查方法单独使用具有更明显的优越性,极大地提高了筛查的灵敏度与阴性预测值,降低了漏诊率,因此,HPV 基因分型联合 TCT 检测是早期宫颈病变筛查的最佳选择,既可减少 HR-HPV 阴性女性的就诊率,又可在细胞学正常及不典型增生人群中,预警宫颈细胞癌变倾向,及时预防和治疗早期宫颈癌,最大限度地降低宫颈癌对女性健康的威胁。

参考文献

- [1] Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers-a brief historical account[J]. Virol, 2009, 384(2): 260-265. (下转第 1522 页)

与王同慧等^[10]报道鲍曼不动杆菌的阳性检出结果较一致。

本研究采用琼脂稀释法测定结果显示,68 株鲍曼不动杆菌中,adeB 阳性组的 MIC₅₀ 都高于阴性组,adeB 阳性组对 CRO、CIP、IMP、AMK 和 AZM 的耐药率较阴性组分别高出 22.0%、29.3%、24.7%、24.4% 和 31.7%, 表明鲍曼不动杆菌 adeB 基因高表达在抗菌药物产生耐药性中作用较大, 主动外排泵与鲍曼不动杆菌多重耐药存在密切关系。

外排泵抑制剂 CCCP 是一种非特异性抑制剂, 属强解偶联剂, 在分子解离的状态下, 负电荷分布于分子中的多个原子, 分子周围的电场弱, 可以在磷脂膜两旁进行扩散, 通过质子传递跨膜的电化学梯度, 从而破坏泵的能量来源抑制底物外排^[11]。增加药物在细菌体内的累积量, 从而恢复细菌对药物的敏感性。本实验中鲍曼不动杆菌对 CRO、CIP、IMP、AMK 和 AZM 具有较强的耐药性, 且为 adeABC 外排泵的作用底物^[12], 外排泵基因 adeB 作为 adeABC 外排泵标志, 所以选用外排泵抑制剂 CCCP 对 adeB 阳性鲍曼不动杆菌的药物敏感性变化进行研究。结果表明, 经 CCCP 处理后, 细菌对 CRO、CIP、IMP、AMK 和 AZM 的 MIC 有不同程度的改变, 分别有 31、34、38、35 和 30 株 adeB 阳性鲍曼不动杆菌在 10 μg /mL CCCP 条件下 MIC 值降低 4 倍或 4 倍以上, 与孙静娜等^[13]报道 CCCP 逆转鲍曼不动杆菌耐药性的结论较一致。说明破坏外排泵能量作用后, 可使鲍曼不动杆菌恢复对部分抗菌药物的敏感性。同时有 8 株 adeB 阳性菌株 MIC 未发生改变, 究其原因可能与泵能量来源有关, 除了质子动力势能外还存在其他能量来源, 如 ATP 能量、钠离子梯度等, 其发生改变的机制还有待进一步研究。

由于抗菌药物滥用等原因导致临床出现了严重的细菌耐药, 甚至细菌多重耐药, 迫切需要研究细菌耐药的发生机制和寻找针对性的治疗措施。外排泵抑制剂作为前景较为广泛的治疗策略, 可在体内增加抗菌药物的敏感性, 减少耐药菌株的产生, 外排泵抑制剂和抗菌药物合并使用时, 可减少抗菌药物的剂量并易于发挥抗菌治疗作用, 因此, 找到更安全、特异、稳定和高效的外排泵抑制剂具有重要的临床应用价值。

参考文献

- [1] Park S, Lee KM, Yoo YS, et al. Alterations of gyrA, gyrB, and parC and activity of efflux pump in fluoroquinolone-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Osong Public Health Res Perspect*, 2011, 2(3): 164-170.
- [2] Sorough S, Hagh-Ashtiani MT, Taheri-Kalani M, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial strain of *Acinetobacter baumannii* in Children's Medical Center of Tehran: a 6-year prospective study [J]. *Acta Med Iran*, 2010, 48(3): 178-184.
- [3] Mostofi S, Mirnejad R, Masjedian F. Multi-drug resistance in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from clinical specimens from three hospitals in Tehran-Iran [J]. *Afr J Microbiol Res*, 2011(21): 3579-3582.
- [4] Opazo AC, Mella SM, Domínguez MY, et al. Multi-drug efflux pumps and antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* [J]. *Rev Chilena Infectol*, 2009, 26(6): 499-503.
- [5] Zhang JP, Zhu W, Tian SF, et al. Molecular characteristics and resistant mechanisms of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Shenyang, China [J]. *J Microbiol*, 2010, 48(5): 689-694.
- [6] Ardebili A, Talebi M, Azimi L, et al. Effect of efflux pump inhibitor carbonyl cyanide 3-Chlorophenylhydrazone on the minimum inhibitory concentration of ciprofloxacin in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates [J]. *Jund J Microb*, 2014, 7(1): 8691.
- [7] Lee Y, Yum JH, Kim CK, et al. Role of OXA-23 and AdeABC efflux pump for acquiring carbapenem resistance in an *Acinetobacter baumannii* strain carrying the blaOXA-66 gene [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2010, 40(1): 43-48.
- [8] Wieczorek P, Sacha P, Czaban S, et al. Distribution of AdeABC efflux system genes in genotypically diverse strains of clinical *Acinetobacter baumannii* [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2013, 77(2): 106-109.
- [9] Marchand I, Damier-Piolle L, Courvalin P, et al. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system [J]. *Antim Agents Chem*, 2004, 48(9): 3298-3304.
- [10] 王同慧, 凌保东. 碳青霉烯类耐药鲍曼不动杆菌 adeB 外排泵基因表达与多重耐药相关的研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(11): 859-862.
- [11] 刘忆霜, 肖春玲. 细菌多重耐药外排泵抑制剂研究进展 [J]. 中国抗生素杂志, 2007, 32(4): 211-216.
- [12] Li XZ, Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update [J]. *Drugs*, 2009, 69(12): 1555-1623.
- [13] 孙静娜, 董威, 赵帅, 等. 多重耐药鲍曼不动杆菌外排泵表型和基因型的研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(10): 763-766.

(收稿日期: 2015-01-16)



(上接第 1519 页)

- [2] Rey-Ares L, Ciapponi A, Pichon-Riviere A. Efficacy and safety of human papilloma virus vaccine in cervical cancer prevention: systematic review and meta-analysis [J]. *Arch Argent Pediatr*, 2012, 110(6): 483-489.
- [3] 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.
- [4] 张志珊, 庄建良, 李爱禄, 等. 泉州地区女性人乳头状瘤病毒感染与宫颈病变的相关性探讨 [J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(7): 1367-1370.

- [5] 赵颖, 林敏, 潘美晨, 等. HPV 分型及高危八型定量检测在宫颈病变中的意义 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2013, 5(2): 102-106.
- [6] 张东红, 林美珊. 人乳头瘤病毒在国人宫颈病变中感染及型别分布特征的 Meta 分析 [J]. 中国全科医学, 2010, 13(12): 1287-1290.
- [7] 金善, 崔满华, 李冬, 等. TCT 及 HPV 检查对宫颈疾病筛查价值的 Meta 分析研究 [J]. 肿瘤学杂志, 2014, 20(3): 203-207.

(收稿日期: 2015-01-28)