·论　　著·

高危型人乳头瘤病毒检测联合薄层液基细胞学检查在宫颈疾病筛查中的应用

叶　波，宋晓玉

（四川省肿瘤医院检验科，四川成都 610041）

摘　要：目的　进行高危型人乳头瘤病毒（HR-HPV）检测，分析液基薄层细胞学（TCT）检测与组织病理学诊断结果的符合情况，探讨二者联合检测对宫颈癌及癌前病变的筛查价值和意义。**方法**　对 1 374 例妇瘤科就诊患者，进行 HR-HPV、TCT 联合检测，对结果进行对比分析。**结果**　684 例意义不明的不典型鳞状细胞（ASCUS）患者病理学诊断结果中，炎症占 51.3%，不典型增生轻度（CINⅠ）占 47.4%；375 例低度鳞状上皮内病变（LSIL）患者病理学诊断结果中，CINⅠ占 48.5%，CINⅡ～Ⅲ占 21.3%；294 例高度鳞状上皮内病变（HSIL）患者病理学诊断结果中，CINⅠ占 24.5%，CINⅡ～Ⅲ占 62.9%；20 例 SCC 患者病理学诊断结果中，CINⅡ～Ⅲ占 20%，宫颈癌占 80%。统计学分析显示，TCT 诊断与组织病理学诊断构成比差异有统计学意义（$P<0.05$）。HR-HPV 阳性率为 74.3%，阴性率为 25.7%。HR-HPV 阳性率随病理级别的升高而显著升高。HR-HPV 阳性组与阴性组病理诊断级别构成比差异有统计学意义（$P<0.05$）。TCT 与高危型 HPV 联合检测时，其灵敏度为 76.5%，特异度为 80.3%，联合检测的灵敏度和 TCT 差异有统计学意义（$P<0.05$），联合检测的特异度和 HR-HPV 差异有统计学意义（$P<0.05$）。**结论**　HR-HPV 检测与 TCT 联合能够提高宫颈病变的检出率，是一种较为理想的宫颈癌筛查方法。

关键词：高危型；　人乳头瘤病毒；　液基薄层细胞学；　宫颈癌

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2015.16.029　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2015)16-2358-02

Application of combined detection of HR-HPV and TCT in screening for cervical cancer and precancerous lesions

Ye Bo, *Song Xiaoyu*

(*Department of Clinical Laboratory*, *the Cancer Hospital of Sichuan*, *Chengdu*, *Sichuan* 610041, *China*)

Abstract: Objective　To study the status of coincidence of high-risk human papillomavirus (HR-HPV) test and thinprep cytology test with biopsy histopathologic diagnosis. And to investigate the value of combined detection in the diagnosis of the cervical cancer and precancerous lesions. **Methods**　High-risk HPV test and thinprep cytology test were taken simultaneously in 1374 patients visiting department of gynecological oncology. The diagnostic value of combination assay of these indices was evaluated. **Results**　In 684 patients with ASCUS pathology diagnosis, inflammation accounted for 51.3% and CINⅠ accounted for 47.4%. Among the 375 patients with LSIL pathology diagnosis, CINⅠ accounted for 48.5% and CINⅡ－Ⅲ accounted for 21.3%. Among the 294 patients with HSIL pathological diagnosis, CIN accounted for 24.5%, and CINⅡ－Ⅲ accounted for 62.9%. Among 20 patients with SCC pathology diagnosis, CINⅡ－Ⅲ accounted for 20% and cervical cancer accounted for 80%. Statistical analysis showed the difference of diagnostic results between thinprep cytology test and histopathologic diagnosis was statistically significant ($P<0.05$). The positive rate of high-risk HPV was 74.3%, and the negative rate was 25.7%. The positive rate of high-risk HPV significantly increased along with the rise of pathological level. The difference of pathologic diagnosis results between high-risk HPV positive group and negative group was statistically significant ($P<0.05$). When thinprep cytology test combined with high-risk HPV test, its sensitivity was 76.5%, and the specificity was 80.3%. The difference of the sensitivity between joint detection and thinprep cytology test was statistically significant ($P<0.05$). The difference of the specificity between joint detection and high-risk HPV test was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion**　Combined thinprep cytology test and high-risk HPV test will improve the detection rate of cervical lesions and it is an ideal method to screen for cervical cancer.

Key words: high-risk;　human papillomavirus;　thinprep cytology test;　cervical cancer

宫颈癌是一种妇科常见的恶性肿瘤，是一个由癌前病变进展为癌的连续病理过程。防治的关键在于对癌前病变的筛查，及早诊断和治疗癌前病变，阻断癌前病变发展为宫颈癌的过程，就可以控制宫颈癌的发生发展。TCT 联合高危型 HPV 检测可提高宫颈癌筛查的效率，目前是国际推荐的筛查方案[1]。本文将两种方法联合检测应用，以期探讨其在宫颈癌筛查中的应用价值。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选择 2014 年 2～7 月来本院妇瘤科就诊患者 1 374 例，年龄 19～68 岁，平均（36±6.7）岁。临床表现包括白带异常、接触性出血、外阴瘙痒，妇科检查发现宫颈糜烂；所有患者均进行 TCT 和 HR-HPV 检查，以及电子阴道镜下的宫颈活检，活检结果作为诊断标准。1 374 例患者中炎症 491 例，轻度不典型增生（CINⅠ）578 例；中度及重度不典型增生（CINⅡ～Ⅲ）278 例；宫颈癌（CA）27 例。

1.2　方法

1.2.1　TCT 检查方法　采用宫颈细胞学检查，受检者应避开月经期，24 h 内禁止性行为，检查前 3 d 不可以冲洗阴道、使用阴道内药物。将液基细胞塑料取材刷插入宫颈，于宫颈鳞柱交界部位顺时针旋转 5～8 圈，然后将采集的脱落细胞装入专用

作者简介：叶波，男，主管检验技师，主要从事临床检验工作。

的液基细胞保存液中，经 ThinPrep2000 系统程序化处理后制成薄片，巴氏染色，封片后镜检。诊断标准采用国际癌症协会推荐的 TBS2001 分类标准，分为：(1)正常或炎症；(2)意义不明的不典型鳞状细胞(ASCUS)、(3)鳞状上皮内病变(SIL)，包括低度鳞状上皮内病变(LSIL)、高度鳞状上皮内病变(HSIL)；(4)鳞状细胞癌和腺癌。

1.2.2 HR-HPV 检测方法　将细胞学检查后剩余在保存液中的标本进行 HPV 检测，仪器为美国 Digene 公司生产的 DML-2000 基因杂交扩增仪，可检测 16、18、31、33、35、45 等型，HPV DNA≥1.0 pg/L 定为检测阳性。

1.2.3 病理活检　采用电子阴道镜进行，以世界卫生组织(2006 版)《乳腺与女性生殖系统肿瘤病理与遗传学》为标准：(1)炎症；(2)轻度不典型增生(CINⅠ)；(3)中度不典型增生(CINⅡ)；(4)重度不典型增生(CINⅢ)；(5)鳞状细胞癌(SCC)。病理活检在 CINⅠ及以上为阳性。

1.3 统计学处理　运用 SPSS15.0 统计学软件分析处理所得数据，计数资料率的比较采用 χ^2 检验，$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结　果

2.1 TCT 阳性诊断结果与病理学诊断结果　由表 1 可见，684 例 ASCUS 患者病理学诊断结果中，炎症占 51.3%(351/684)，CINⅠ占 47.4%(324/684)；375 例 LSIL 患者病理学诊断结果中，CINⅠ占 48.5%(184/375)，CINⅡ～Ⅲ占 21.3%(80/375)；294 例 HSIL 患者病理学诊断结果中，CINⅠ占 24.5%(72/294)，CINⅡ～Ⅲ占 62.9%(185/294)；20 例 SCC 患者病理学诊断结果中，CINⅡ～Ⅲ占 20%(4/20)，宫颈癌占 80%(16/20)。统计学分析显示 TCT 检测与组织病理学诊断级别构成比差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1　TCT 阳性诊断结果与病理结果比较[n(%)]

TCT 检测项目	炎症	CINⅠ	CINⅡ～Ⅲ	宫颈癌
ASCUS	351(51.3)	324(47.4)	9(1.3)	0(0.0)
LSIL	113(30.1)	182(48.5)	80(21.3)	0(0.0)
HSIL	27(9.1)	72(24.5)	185(62.9)	11(3.7)
SCC	0(0.0)	0(0.0)	4(20.0)	16(80.0)

2.2 HR-HPV 检测结果与病理诊断结果　由表 2 可见，HR-HPV 阳性率为 74.3%，阴性率为 25.7%。病理学确诊的 27 例宫颈癌癌中 HR-HPV 阳性病例占 96.3%(26/27)；278 例 CINⅡ～Ⅲ级病变中 HR-HPV 检测阳性病例占 97.1%(270/278)；578 例 CINⅠ级病变中 HR-HPV 检测阳性病例占 76.6%(443/578)，HR-HPV 检测阳性率随病理级别的升高而显著升高。HR-HPV 检测阳性组与阴性组病理诊断级别构成比差异有统计学意义($\chi^2=62.334$，$P=0.000<0.05$)。

表 2　HR-HPV 检测结果[n(%)]

高危型 HPV	炎症	CINⅠ	CINⅡ～Ⅲ	宫颈癌
阳性	283(57.6)	443(76.6)	270(97.1)	26(96.3)
阴性	208(42.4)	135(23.4)	8(2.9)	1(3.7)

2.3 TCT、HR-HPV 单独检测及联合检测在宫颈病变中的评价　由表 3 可见，联合检测的灵敏度和 TCT 检测差异有统计学意义($P<0.05$)，联合检测的特异度和 HR-HPV 检测差异有统计学意义($P<0.05$)

表 3　TCT、HR-HPV 检测结果分析(%)

组别	灵敏度	特异度
TCT	62.3*	71.5
HR-HPV	83.7	42.4#
TCT+ HR-HPV	76.5	80.3

*：$P<0.05$，与联合检测比较；#：$P<0.05$，与联合检测比较。

3 讨　论

宫颈癌的发生率仍高居中国女性生殖系统恶性肿瘤的首位，而且在部分地区有宫颈癌前病变及宫颈癌年轻化的趋势。从 CIN 发展到宫颈癌时间较长，早期筛查、诊断和治疗 CIN，是防治宫颈癌发生的关键。近年来美欧国家发病率有明显降低趋势，TCT 联合 HR-HPV 检测可提高癌前病变和宫颈癌筛查的效率，是目前国际推荐的最佳筛查方案[1-2]。

目前 TCT 已经成为比较成熟的宫颈癌筛查技术，对于宫颈癌及宫颈高度病变有较高的灵敏度和特异度[3]。本研究中，TCT 诊断为宫颈癌的病例与病理学诊断有 80%的符合率，TCT 诊断为 HSIL 的病例有 62.9%，与 CINⅡ～Ⅲ相符，而诊断为 LSIL 的病例仅有 48.5%，与 CINⅠ诊断结果相符。这说明了 TCT 对于宫颈高度病变以及宫颈癌的敏感性较高，但在宫颈较低病变时敏感性不高，这与文献[4]报道较一致。其中在病理诊断为 CINⅡ～Ⅲ及以上病例的灵敏度为 70.8%，特异度为 90.7%，但是在 CINⅠ的灵敏度却仅为 43.9%，特异度为 87.7%。TCT 虽然提高了检测特异度，但是灵敏度却不能让临床满意。在 ASCUS 和 LSIL 病例中，由于炎性细胞、异常细胞以及不典型角化细胞形态变化多样，容易使缺乏经验的阅片者产生误诊，可能导致一定的假阴性，与组织病理学诊断相比存在一定的差异。本研究中 TCT 结果为高度病变，与宫颈癌和组织病理学诊断的符合率较高，而与 ASCUS 组诊断符合率最低。由此可见，TCT 诊断并不能代替组织病理学诊断结果，其二者间存在一定的差异，TCT 筛查对于程度较低的宫颈病变，诊断符合率较低，存在一定的假阳性及假阴性。

HR-HPV 被认为是 CIN、宫颈癌的明确致病因素。研究表明，99%以上的宫颈癌患者可检出 HPV 感染。HPV 检测是一种较客观、可重复的检测手段，可避免不同检测者之间的主观差异，减少细胞学检查的假阴性结果[5]。本研究中 HPV 阳性检出率随病理学诊断级别的升高而明显升高，CINⅠ阳性率为 76.6%，CINⅡ～Ⅲ阳性率达到了 97.1%。对于宫颈癌及宫颈癌前病变，HR-HPV 检测阳性可以起到有效的预警作用。HPV 虽然敏感性好，但特异度较低，由于年轻妇女中 HPV 感染很常见，且大部分 1～2 年内可被机体清除，其宫颈癌的发生率很低，所以存在较高的假阳性率[5-6]。因此单独应用 HR-HPV 筛查宫颈癌有其局限性。

从表 3 可以看出，TCT 在 CINⅠ及以上的灵敏度为 62.3%，特异度为 71.5 %，均不是最高值；单项检测 HR-HPV 灵敏度最高为 83.7%，但特异度(42.4%)最低；而 TCT 与 HR-HPV 联合检测的灵敏度(76.5%)高于 TCT，差异有统计学意义($P<0.05$)；特异度(80.3%)明显高于 HR-HPV 检测，差异有统计学意义($P<0.05$)。由此可见，HR-HPV、TCT 联合检测诊断准确性最高。其他研究者其结果与本结果相似[3,7-8]。联合检测既具有较高的灵敏度，又提高了特异度。

综上所述，联合检测 HR-HPV、TCT 可提高宫颈病变及早期宫颈癌的诊断水平，对预防宫颈癌和处(下转第 2362 页)

能确保实验结果的准确。临床基因扩增检验是中国临床检验技术中目前唯一需要审核准入的技术。ISO15189 和 CAP 认可要求中规定在开展某一检测项目前需进行方法学验证。由此可见，方法学性能验证是临床实验室开展 PCR 项目前必须进行的工作。许多学者对检测系统的性能评价做过研究，大多集中在精密度、准确度、灵敏度、特异度和多系统比较等性能参数[2-4]。基本没有进行干扰实验和线性的验证。同时，也有文献指出，对于多点校准的检测项目，一般不需要进行分析测量范围来评价实验[5]。但笔者认为，多点校准的检测项目，在多个校准点之间的测量范围是不需要进行评价实验，但一般试剂厂家给出的测量范围超过多个校准点的上限和下限，对于超出上限的测量范围和低于校准下限的测量范围是需要进行实验确认的。

2014 年修订的《医学实验室质量和能力认可准则在分子诊断领域的应用说明》中规定定量检测方法和程序的分析性能验证中增加了干扰实验，说明干扰物质在分子诊断项目中越来越被重视，但分子诊断所涉及的方法也很多，随着生物技术和个体化医学的发展，分子诊断使用的方法和标本种类也明显增多，而每种方法可能被影响的干扰物质也不尽相同，而哪些干扰物质会对所开展的检测项目产生影响也并不明确，需要实验进行确认。HBV-DNA 定量项目所使用的血清标本，实验证实血红蛋白浓度 41 g/L 时对血清标本没有影响，而一般血液标准溶血＋＋＋＋时，血红蛋白的浓度都小于 15 g/L，所以笔者认为溶血对 HBV-DNA 检测没有影响。至于脂血是否有影响，需收集到合适的标本来进一步确认。

对于不精密度的评价，以往没有明确的判断标准，大多数实验室使用 *CV* 来判断，而 *CV* 的标准没有明确的要求。2014 年新修订的应用说明给出的检测系统不精密度要求判断指标是：重复性精密度小于 3/5 TEa，中间精密度小于 4/5 TEa。这就意味着新的标准使用 SD 来判断不精密度，重复性精密度小于 0.24 对数值，中间精密度小于 0.32 对数值，但这个标准准确性有待验证。本次实验室用来判断的标准是依据 95% 的置信区间重复性精密度小于 3/5TEa，中间精密度小于 4/5Tea。笔者觉得这样的标准更加合理。

对于本分子诊断项目方法学性能验证的方法其设计均按照最新版《医学实验室质量和能力认可准则》(ISO15189：2012)文件和《医学实验室质量和能力认可准则在分子诊断领域的应用说明》的要求进行，参考了生化定量学科的方法，具有很强的实用性，但其设计也存在一些缺陷：(1)在线性验证中，由于没有 1.00×10^8 IU/mL 的标准物质，故采用临床标本来验证，而笔者使用的 1.10×10^8 IU/mL 的临床标本是通过稀释样本检测乘以稀释倍数计算出来的浓度，由于样本的稀释和检测都可能存在误差，所以 1.10×10^8 IU/mL 为可接受的检测结果而非真值，故其实验只能证明线性范围上限能达到厂家描述的 1.00×10^8 IU/mL，但并没有得到具体的本实验室上限的值。(2)在干扰实验验证中仅仅完成了溶血实验，其他的感染因素因标本原因未能完成。

综上所述，分子诊断项目的方法学性能验证是 ISO15189 认可要求要完成的内容，也是实验室开展分子项目的工作，目的是让实验室清楚所开展检测项目的性能情况，以更好的服务临床工作。以前性能验证的具体内容没有明确规定，随着新版《医学实验室质量和能力认可准则》(ISO15189：2012)文件和《医学实验室质量和能力认可准则在分子诊断领域的应用说明》的出台，实验室工作者清楚了要验证的具体内容，但仍然对如何进行这些指标的验证不是很明确和统一，笔者实验室提出了一套验证的方法可有效的明确性能的具体情况，能够很好地用于项目的方法学评价。

参考文献

[1] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Ep9-A2 N Method comparison and bias estimation using patient samples: approved guideline-second edition[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.

[2] Zacher BJ, Moriconi F, Bowden S, et al. Multicenter evaluation of the elecsys hepatitis B surface antigen quantitative assay[J]. Clin Vaccine Immunol, 2011, 18(11): 1943-1950.

[3] 蒋玲丽，王雪亮，王华梁，等. 实时荧光定量 PCR 检测病毒核酸方法学性能验证程序的探讨[J]. 分子诊断与治疗杂志，2012，4(5)：28-32.

[4] 巢薇. 比对两台荧光定量 PCR 仪检测 HBV-DNA 结果一致性研究[J]. 国际检验医学杂志，2013，34(16)：2162-2163.

[5] 杨有业，张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京：人民卫生出版社，2008：168.

(收稿日期：2015-03-02)

(上接第 2359 页)

理癌前病变有重要意义。

参考文献

[1] Jin-liang Wang, Yi-zhuo Yang, Wei-Wei Dong, et al. Application of Human Papillomavirus in Screening for CervicalCancer and Precancerous Lesions[J]. Asian Pacific J Cancer Preven, 2013, 14(5), 2979-2982.

[2] Cuzick J, Szarewski A, Mesher, et al. Long-term follow-up of cervical abnormalities among screened by HPV testing and cytology: result from the Hammersmith study[J]. Int J Cancer, 2008, 122(5), 2294-2300.

[3] 郑文华，李可瑜，唐璇霓. 薄层液基细胞学联合 HPV 检测在宫颈癌筛查中的应用[J]. 广东医学，2013，34(14)：2189-2190.

[4] 王金华，宋光耀，刘英霞. TCT 联合 HC2 在宫颈癌筛查中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志，2012，33(17)：2119-2121.

[5] Balbi G, Napolitano A, Giordano F, et al. Role of the association of high-risk HPV identified by real-time PCR in cervical preneoplastic lesions. Eur J Gynaecol Oncol, 2012, 33(6): 467-471.

[6] 孙笑非，顾依群，王爱春，等. 高危型人乳头瘤病毒检测结合薄层细胞学检查在宫颈癌筛查中的价值评估[J]. 中华实验和病毒学杂志，2013，27(4)：273-276.

[7] 佟锐，王纯雁. HPV、TCT 联合检测在宫颈癌中的诊断价值[J]. 中国实验诊断学，2014，18(4)：580-581.

[8] 朱军，林颖，阮海波，等. 浙江沿海地区宫颈病变患者中高危型 HPV 检测及其临床价值[J]. 中华实验和病毒学杂志，2014，27(3)：212-214.

(收稿日期：2015-05-22)