

• 论 著 •

人乳头状瘤病毒 HPV 感染的临床实验结果分析

冯程娟¹, 苏东梅¹, 刘丽娥¹, 黄颜清²

(广东省茂名市中医院/广州中医药大学附属茂名中医院:1. 检验科, 2. 病理科, 广东茂名 525000)

摘要:目的 探究感染了人乳头状瘤病毒(HPV)人群与疾病发生的相关性情况,为人们认识此疾病提供依据及一些合理建议。方法 使用 PCR-反向点杂交法分别对 2012 年 8 月至 2013 年 8 月来本院进行就诊的 2 508 例可疑患者进行了 23 种 HPV 基因亚型检测,包括 18 种高危亚型(HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、83 和 MM4)和 5 种低危亚型(HPV6、11、42、43 和 44)。并且通过医院信息管理系统及检验科信息系统对病例进行病历信息追踪。结果 HPV 检出率为 12.26%,其中高危型以 HPV52 最多见,占阳性比 12.66%,其次为高危型 HPV58、16 型。低危型主要以 43、6、11 型较多见,占阳性比分别为 14.61%、10.39%和 8.44%。追踪观察阳性患者的转归情况,感染 HPV52、16 型者,两年内复查结果反复出现同型阳性现象。追踪分析了 157 例高危型(分别是 52、58、16、18、66、33、56 和 68 型别)HPV 感染患者的 TCT(膜式液基薄层细胞学检查)结果,高危型 HPV 感染与 CIN I、CIN II、癌变病变呈密切相关性。追踪感染者的白带常规结果,表现为轻到中度炎症。结论 高危型 HPV 亚型感染与宫颈病理学 CIN I、CIN II、癌变密切相关。而白带常规显示为轻、中度的炎症表现,因此患者只进行简单的白带常规分析,已不能真实反映患者感染状态,应寻求与上级医院合作的方法,及时检测 HPV 感染情况,并对 HPV 阳性者进行定期的跟踪,是防治宫颈上皮内瘤变(CIN)与宫颈癌的有效途径。

关键词:人乳头状瘤病毒; 宫颈上皮内瘤变; 白带常规

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.07.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)07-0903-03

Analysis on results of clinical trials of HPV infection

Feng Chengjuan¹, Su Dongmei¹, Liu Li'e¹, Huang Yanqing²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Pathology, Maoming Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine/Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Maoming, Guangdong 525000, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between human papilloma virus (HPV) infected population and disease occurrence in order to provide evidence and some reasonable suggestions for people understanding this disease. **Methods** A total of 2 508 suspected patients in our hospital from August 2012 to August 2013 were performed the HPV subtype detection by using PCR-reverse dot blot(RDB), including 18 kinds of high risk HPV subtypes(HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 83, MM4) and 5 kinds of low risk HPV subtypes (HPV6, 11, 42, 43, 44). Finally, the patients condition was tracked through the hospital information management system and the clinical laboratory information systems. **Results** The HPV detection rate was 12.26%, in which the high risk type was mainly HPV 52, accounting for 12.66%, followed by HPV 58, 16. The low risk types were mainly HPV 43, 6, 11, accounting for 14.61%, 10.39% and 8.44% respectively. By the follow up observation of clinical outcomes, the homotype positive phenomena were repeatedly appeared in the patients infected by HPV 52, 16 within 2 years. At the same time, the thinprep cytologist test(TCT) results in 157 cases of high risk HPV infection (genotype 52, 58, 16, 18, 66, 33, 56, 68) were performed the tracking analysis, indicating that high risk HPV infection was closely associated with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) I, CIN II and canceration. Meanwhile, their leucorrhea routine detection were followed up, which manifested by mild to moderate inflammation. **Conclusion** High risk HPV subtype infection is closely associated with CIN I, CIN II and canceration, while the leucorrhea routine shows mild, moderate inflammation. Therefore, only conducting the simple leucorrhea routine analysis can not really reflect the infection status, it is necessary to look for the ways to cooperate with the superior hospital for timely detecting HPV infection situation, moreover regular follow up of people with HPV positive is the effective pathway to prevent CIN and cervical cancer.

Key words: human papilloma virus; cervical intraepithelial neoplasia; leucorrhea routine

近 10 年来,关于人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV)在妇女宫颈发生感染的病例越来越多见,其感染与妇女的宫颈癌变有着密切的关系。尤其是高危型的 HPV 病毒感染,并且对患者的疾病有重要的预后相关性。而处于基层医院(一级、二级医院)的妇科医生,由于医院的检验技术相对落后,诊断妇科疾病仅靠白带常规的检验结果,对一些感染性疾病可能显得不够依据。探讨目前开展 HPV 检测的临床意

义和必要性,给基层医院妇科医生们提供一些合理性建议。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 8 月至 2013 年 8 月在本院就诊,并在检验系统中保留有存档结果 2 508 例患者。

1.2 仪器与试剂 基因扩增仪为美国伯乐 S-1000 型 PCR 扩增仪,杂交仪为 Combi-h12;样本采集使用专用宫颈脱落采集器并严格按说明书采集;组织病理学诊断进行常规制片。

HPV 基因分型试剂盒由亚能生物技术(深圳)有限公司提供(PCR-反向点杂交法),能同时检测 23 种亚型,包括 18 种高危亚型(HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、83 和 MM4)和 5 种低危亚型(HPV6、11、42、43 和 44)。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取 将漂洗标本后的盐水全部转移到微量离心管中,13 000 r/min 离心 10 min,去上清液,留管底沉淀物,加入 50 μL 裂解液悬浮沉淀,0 °C 加热 10 min,13 000 r/min 离心 10 min,取上清液待检。

1.3.2 PCR 扩增 取 PCR 反应管 1 支,做好标记,5 000 r/min 离心 2 s,分别加入已提取的待测样品 DNA 5 μL,反应总体积 25 μL,每次实验必须设置一个阴性对照及阳性对照,处理方法同标本,PCR 反应条件为 50 °C,5 min,95 °C,10 min;循环 35 次(94 °C,30 s;42 °C,90 s;72 °C,30 s);72 °C 延伸 5 min。

1.3.3 杂交和显色 将 PCR 产物和固定有 23 种 HPV 分型探针的膜条放入 5 mL A 液(2 倍 SSC,质量分数 0.1% SDS,PH7.4)管中,沸水浴 10 min 后于 51 °C 杂交箱中杂交 1 h,膜条转移至已于杂交箱中预热到 51 °C 的 40 mL B 液(0.5 倍 SSC,0.1% SDS,PH7.4)管中,于 51 °C 轻摇洗涤 15 min(每管 40 mL,最多可同时洗涤 4 张膜)。弃液体,膜条置于 POD 溶液中室温轻摇孵育 30 min,弃 POD 溶液,用 A 液室温轻摇 2 次,每次 5min,再用 C 液室温轻摇 1 min~2 min,最后膜条置于新鲜配制的显色液中避光显色 15 min,显色完毕后将膜条浸泡在水中清洗,取出膜条装入封口袋于 4 °C 避光保存。

1.3.4 结果判读 根据膜条上蓝色斑点出现的有无及位置即可判断 HPV 是否感染及基因亚型,当对照膜条 PC 点出现蓝色斑点时提示 PCR、杂交、显色等各个环节操作正常,此时结果真实有效。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件包进行统计分析。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 亚型分布情况 对 2 508 例患者进行 HPV 分型检测,结果显示:阳性例数为 308 例,阳性率为 12.28%(其中男性阳性例数仅占 3 例),在与宫颈癌密切相关的高危型感染中,HPV52 检出率最高,占有 HPV 感染者的 12.66%,其次为 58、16 型,分别占 9.42% 和 8.44%。低危亚型以 43、6、11 型多见,占感染者的 14.61%、10.39% 和 8.44%。各型别分布特点见表 1。

表 1 308 例 HPV 感染者亚型分布

型别	n	百分率(%)	型别	例数	百分率(%)
43	45	14.61	53	7	2.27
52	39	12.66	35	6	1.95
6	32	10.39	42	6	1.95
58	29	9.42	59	5	1.62
16	26	8.44	51	4	1.30
11	26	8.44	73	4	1.30
18	16	5.20	39	3	0.97
66	15	4.87	45	3	0.97
33	14	4.55	83	2	0.65
56	9	2.92	MM4	0	0.00
68	9	2.92	44	0	0.00
31	8	2.60	—	—	—

—:无数据。

2.2 追踪了阳性患者的转归情况 2011 年 8 月至 2013 年 8 月的 2 年时间里,对 2 508 例患者进行了追踪观察,其中有 55 例患者连续进行过 2 次以上的复检。从复检的结果分析,3 个月内复检者,2 次检出的亚型都基本相同,部分会出现比上一次检出的亚型多了其他亚型或少了一个亚型。而间隔 6 个月进行复检者有 40 例,15 例出现阳转阴,8 例出现转变为其他型感染,17 例高危型(52、16、58)感染者重复出现同型阳性。感染 HPV52 型、16 型者,2 年内复查结果反复出现同型阳性现象。

2.3 追踪了 157 例高危型(分别是 52、58、16、18、66、33、56 和 68 基因型)HPV 感染患者的 TCT(膜式液基薄层细胞学检查)结果,凡表现为 CIN I、CIN II、癌变的 TCT 结果均进一步对照宫颈活体组织常规石蜡切片检查证实,见表 2。

表 2 157 例高危型 HPV 感染者宫颈病理学 CIN I、CIN II 及癌变情况

HPV 亚型	类症	CIN I	CIN II	腺癌	鳞癌
52	15	17	5	1	1
58	18	8	4	0	0
16	17	5	3	1	0
18	11	4	1	0	0
66	9	5	1	0	0
33	7	6	1	0	0
56	5	3	0	1	0
68	5	4	0	0	0
总例数	87	51	15	3	1

2.4 追踪观察了 HPV 感染者其白带常规的结果,普遍表现为白细胞+~++/高倍视野,上皮细胞+~++/高倍视野,清洁度为 I~II 度(II 度较多见),呈慢性炎症表现。

3 讨 论

人乳头状瘤病毒(HPV)是一种可引起女性黏膜组织良性及恶性肿瘤的病毒,其中某些 HPV 的亚型是宫颈癌的病原体^[1]。依据不同型 HPV 与癌症发生的危险高低分为低危型和高危型,而高危型 HPV 感染与宫颈高度鳞状上皮内瘤变和宫颈浸润之间有着密切的相关性^[2]。本研究从 HPV 感染的型别分布进行了分析,HPV 低危型感染以 43、6、11 型多见,占感染者的 14.61%、10.39% 和 8.44%。与宫颈癌密切相关的高危亚型以 HPV52 型最多,占感染者 12.66%,其次为 58、16 型,分别占 9.42%、8.44%。本调查中,单一型感染占约 60% 比例,大于或等于双重感染占约 40% 比例,与国内一些地区报道基本一致^[3]。其中有 1 例男性患者 HPV 九重感染,且合并有淋球菌感染。可能与不洁性行为或患者有多个性伙伴有关^[4]。

对 2 508 例患者进行了追踪观察,其中有 55 例患者连续进行过 2 次以上的复检。从复检的结果分析,3 个月内复检者,两次检出的亚型都基本相同,有部分会出现比上一次检出的亚型更多了其他亚型或少了一个亚型。而间隔 6 个月进行复检者有 40 例,15 例出现阳转阴,8 例出现转变为其他型感染,17 例高危型(52、16、56)感染者重复出现同型阳性。感染 HPV(52、16 亚型)者,两年内复查结果反复出现同型阳性,表现为持续感染。通常 HPV 在感染后的 6~12 个月内会自行清除,1 年后 HPV 感染率降为 30%,2 年后渐下降仅为 10%。

只有 HPV 持续感染才是激发宫颈癌最重要的危险因素^[5]。

追踪了 157 例高危型 HPV 感染者的 TCT(膜式液基薄层细胞学检查)结果以及宫颈活体组织常规石蜡切片检查结果。数据显示,高危型 HPV(52、58、16、18、66、33、56 和 68 亚型)感染者 TCT 及病理活检结果出现不同程度的 CIN 改变,人们将能发展到浸润癌的宫颈病变称为宫颈不典型增生,在病理学上称为 CIN,这个过程可存在多年。39 例 HPV52 型别感染者中,有 2 例出现了癌变(1 例为腺癌、1 例为鳞癌);26 例 HPV16 型感染者中,有 1 例 TCT 结果为腺癌;9 例 HPV56 型感染者中有 1 例 TCT 诊断为腺癌。国外的研究亦显示,高危型 HPV 感染与宫颈癌和 CIN 之间有密切相关性^[6-7]。这可能与高危型 HPV(如 52、16 和 56 型)易持续性感染有关。宫颈癌的发生、发展有一个由量变到质变、渐变到突变的过程,这个过程可存在多年,这是早期发现宫颈癌及癌前病变的绝好时机^[8]。如果能在癌前病变阶段被确诊并进行治疗和监测,可以有效地降低宫颈浸润癌的发生率和病死率。

HPV 感染患者,白带常规结果分析显示,普遍白细胞十~++/高倍视野,上皮细胞十~++/高倍视野,清洁度为 I~II 度(II 度多见),呈慢性炎症表现。对于目前我国基层医院(一级、二级医院)的条件所限,能够开展 PCR 等检测技术较难。但仅凭白带常规进行妇科疾病诊断又显得依据不够充分,不能及时诊断清楚癌前病变的一些感染指标,因此会造成一些慢性炎症患者未能及时采取提前干预措施,最终导致癌变发生。

因此,建议基层医院(一级、二级)的管理者,在本院未能开展 HPV 筛查之时,最好能够主动与上级有诊疗条件的机构合作,及时检测 HPV 感染情况,并对 HPV 阳性者进行定期的跟踪,是防治宫颈上皮内瘤变(CIN)与宫颈癌的有效途径。寻求

更多的诊疗依据,为实现及时、全面、准确地为患者诊断疾病而努力。

参考文献

[1] Hausen H. Papilloma viruses in the causation of human cancers a brief historic al account[J]. *Virology*, 2009, 384(2): 260-265.
 [2] Castellsague X, Drudis T, Csnsdas MP, et al. Human Papilloma virus (HPV) infection in pregnant women and mother-to child transmission of genital HPV genotypes; a prospective study in Spain[J]. *BM C Infect Dis*, 2009, 9(1): 74-76.
 [3] 王红旗,郭远瑜,汪敏,等. 6 868 例妇科门诊病人 HPV 感染状况及基因型分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(5): 1204-1206.
 [4] 何建方,钱福初,王翔,等. 人乳头状瘤病毒 23 种基因型的分子流行病学调查[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(3): 428-431.
 [5] Woodman CB, Collins S, Winter H, et al. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women; longitudinal cohorts study[J]. *Lancet*, 2001, 357(17): 1831-1836.
 [6] Tsuda H, Hashiguchi Y, Nishimura S, et al. Relationship between HPV typing and abnormality of G1 cell cycle regulators in cervical neoplasm[J]. *Gynecol Oncol*, 2003, 91(4): 476-485.
 [7] Yoon JH, Yoo SC, Kim WY, et al. Role of HPV DNA testing for detection of high-grade cervical lesions in women with atypical squamous cells of undetermined significance; a prospective study in a Korean population[J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2009, 30(3): 271-274.
 [8] Denny L, Kuhn L, Pollack A, et al. Evaluation of alternative methods of cervical cancer screening for resource-poor settings[J]. *Cancer*, 2000, 89(8): 826.

(收稿日期:2014-11-28)

(上接第 902 页)

万古霉素 100%敏感,可作为重症感染的首选用药^[12],应引起足够的重视。

本组资料显示,泌尿系感染中真菌占 14.61%,刘少娟等^[13]曾报道真菌性尿路感染占 24.81%,证实近年来泌尿系真菌感染确实明显增高。说明了真菌感染率的上升,该类患者多存在长期应用免疫抑制剂、抗肿瘤药物、广谱抗菌药物及体内留置各种导管等,可见真菌感染者明显增多,与临床长期不合理使用广谱抗菌药物引起机体菌群失调有关。

综上所述:泌尿系感染中以革兰阴性杆菌为主,大肠杆菌为最常见的病原菌,但在不同的地区和医院,病原菌种类的检出率和细菌的耐药性均存在差异性。因此,检验科应定期监测并及时通报本院细菌谱及耐药谱的变化,为临床医生规范、合理使用抗菌药物提供实验数据。不参考药敏结果直接选用抗菌药物进行治疗是绝对不可取的,根据药敏结果合理选用抗菌药物对泌尿系感染的治愈与耐药菌株的控制有重要意义。

参考文献

[1] 孔繁林,储从家,管新龙,等. 某医院 1999~2008 年临床分离细菌种群分布与变迁[J]. *中国感染控制杂志*, 2010, 9(3): 196-199.
 [2] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:743-744.
 [3] 王红,叶嗣颖. 人体泌尿系微生物感染及宿主状态分析[J]. *中国微生态学杂志*, 2011, 23(2): 151-153.
 [4] 李曼玲,韩学旭,曹艳,等. 南京地区 2006~2009 年中段尿培养病

原菌分布及耐药性变迁[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(3): 592-595.
 [5] 张水娥,彭勤,叶祖峰. 泌尿系感染病原菌的分布及耐药性分析[J]. *牡丹江医学院学报*. 2011, 32(1): 25-27.
 [6] 王君,赵棉. 泌尿系感染病原菌分布及耐药性分析[J]. *当代医学*, 2011, 17(24): 1-2.
 [7] 张水娥,彭琴,叶祖峰,等. 泌尿系感染病原菌的分布及耐药性分析[J]. *牡丹江医学院学报*, 2011, 32(1): 25-27.
 [8] Burgess DS, Rapp RP. Bugs versus drugs: addressing the pharmacist's challenge[J]. *Am J Health syst Pharm*, 2008, 65(9 suppl 2): S4-15.
 [9] Wagenlehner FM, Weidner W, Naber KG. Antibiotics in urology: new essentials[J]. *Urol Clin North Am*, 2008, 35(1): 69-79.
 [10] Miftode E, Domeanu O, Leca D, et al. Antimicrobial resistance profile of Esherichia coli and Klebsiella spp. from urine in the infectious diseases hospital Iași[J]. *Rev Med Chir SocMed Nat Iasi*, 2008, 112(2): 478-482.
 [11] 胡方兴. 尿路感染病原菌分布及耐药性分析[J]. *实用预防医学*, 2010, 17(1): 145-147.
 [12] 林艳,杨振强. 356 株尿路感染病原菌分布及耐药情况[J]. *浙江预防医学*, 2008, 20(6): 20.
 [13] 刘少娟,彭湘明,何雅军,等. 泌尿系感染病原菌分布及耐药性分析[J]. *广州医药*, 2006, 37(6): 55-58.

(收稿日期:2014-11-18)