

88.5% (54/61)。

**2.3.2 下消化道出血** 化学法阳性 15 例,占 44.1% (15/34); 血红蛋白法阳性 26 例,占 76.5% (26/34); 转铁蛋白法阳性 22 例,占 64.7% (22/34); 免疫双联法任一种阳性 34 例,占 100% (34/34)。

### 3 讨 论

隐血试验是检测消化道出血的重要方法之一<sup>[2]</sup>。在隐血的检测中,化学法的原理是基于血红蛋白中的含铁血黄素部分能催化试剂中的过氧化氢,分解释放新生态氧,氧化上述色原物质而呈色,通过呈色的深浅来反映血红蛋白含量的多少。而实际应用中外源性食物和药物对检测结果影响较大,测试前要求测试者控制饮食和药物。其价格低廉、操作方便,所以很多医院仍然采用,比如匹拉米酮法、邻甲联苯胺法、联苯胺法等。其后普遍应用的是血红蛋白单克隆抗体免疫法,该方法利用抗人血红蛋白与胶体金结合,可检测微量的出血,对人体无症状的消化道微量出血更敏感且不受食物、肉类等的干扰,但大量出血时容易发生滞留反应而造成假阴性结果,也可因药物刺激等因素产生的微量出血而产生阳性反应,因此临床应用有一定的局限性。部分学者对血红蛋白以外的血液成分如转铁蛋白、结合血红素等作为出血示踪物进行了深入研究,发现转铁蛋白具有消化道出血的特异性和对抗细菌分解的稳定性,联合检测血红蛋白和转铁蛋白就能大大减少假阴性反应的出现,提高临床诊断准确率<sup>[3]</sup>。

从表 1~3 中化学法、血红蛋白法、转铁蛋白法同时检测的结果可以看出,血红蛋白/转铁蛋白双联法灵敏度较高,血红蛋白法、转铁蛋白法单独检测时不及前两者。对于 3 种方法的特异性从上表中不难看出,免疫法的结果已明显优于化学法。血红蛋白、转铁蛋白法采用的是人类特异抗原进行反应,所以不

### • 临床研究 •

## 自贡地区妇科就诊患者 HPV 检测及结果分析

毛晓雪

(自贡市第四人民医院检验科,四川自贡 643000)

**摘要:**目的 探讨自贡地区妇科就诊者 HPV 检测的结果。**方法** 采用 HPV-PCR 扩增技术对 2 286 例妇科就诊可疑 HPV 感染者进行 HPV 分型检测。**结果** 2 286 例样本中,检出 HPV 阳性者 589 例,总阳性率为 25.77%,其中 2011、2012、2013、2014 年阳性率分别为 20.80%、27.10%、28.50% 及 27.1%。4 年中 HPV 阳性者总共检出 HPV 感染亚型 734 例,高危型 HPV 总共 588 例(占 80.11%),检出低危型 146 例(占 19.89%)。所有 HPV 阳性患者亚型感染率前 3 种分别为 HPV-31、HPV-52、HPV-16。**结论** 自贡地区妇科就诊者 HPV 感染率与我国其他地区报道的大致相同,但是感染亚型有区域性。根据 2012 年 AS-CP 指南提到不同 HPV 感染类型其治疗方法不同,本调查对本地区临幊上选择治疗方法上有提示作用。

**关键词:**HPV 分型; 宫颈癌; 结果分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.07.054

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)07-0990-03

宫颈癌是全世界妇女最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率在全球妇女肿瘤中位列第二。大量的流行病学研究和分子生物学研究已经证明 HPV 感染是宫颈鳞癌和上皮内瘤变发生的必要因素,没有持续的 HPV 感染,女性发生宫颈鳞癌的可能性几乎为零<sup>[1]</sup>。据报道,目前已完全鉴别到的 HPV 亚型有超过 200 种,型与型之间的差异在于基因结构的不同,有 54 种可感染生殖道黏膜,约 20 余种与肿瘤有关<sup>[2-3]</sup>。高危性 HPV 除引起外生性疣类病变外,主要引起外生殖器癌、宫颈癌及高度子宫颈癌<sup>[4]</sup>。低危性 HPV 主要引起肛门皮肤及

受食物、动物血红蛋白及药物等的影响,而化学法不可避免<sup>[4]</sup>。从表 4 可以看出,血红蛋白和转铁蛋白法联合检测及单独转铁蛋白法对上消化道出血的阳性检出率明显高于单独的血红蛋白法; 血红蛋白法对下消化道出血的阳性检出率明显高于转铁蛋白法,联合免疫法阳性检出率又明显高于单一免疫法。而实际操作中,由于消化道细菌和消化酶的作用相对复杂,血红蛋白或转铁蛋白含量较低时仍有假阴性结果出现,因此要多次多部位取样,结合临床表现进行综合分析。由于临床有部分低蛋白血症患者如肿瘤、肾病、恶病质,其转铁蛋白含量较低<sup>[5]</sup>,易致假阴性,所以为了满足临床的检测需求,我们需要联合检测粪便的血红蛋白和转铁蛋白,对于特殊样本应参考化学法进行综合判断。

### 参 考 文 献

- [1] 叶应婉,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:310-311.
- [2] Lieberman DA. One-time screening for colorectal cancer with combined fecal occult-blood testing[J]. N Engl J Med, 2001, 345 (8):555.
- [3] 杨明,丛玉隆,章子其,等.转铁蛋白与血红蛋白同时检测消化道出血[J].临床检验杂志,2003,21(1):83-84.
- [4] 李林海,黄晓燕,张云虎,等.三种粪便隐血试验试剂实验效果观察[J].临床检验杂志,2004,22(2):113.
- [5] Finlay A, Macrae D, James B, et al. Relationship between patterns of Bleeding and Hemoccult sensitivity in patients with Colorectal Cancers or Adenomas[J]. Gastoren Terology, 1991, 82(1):89-91.

(收稿日期:2015-10-28)

男性外生殖器、女性大小阴唇、尿道口、阴道下段的外生性疣类病变和低度子宫颈上皮肉瘤,其自然缓解率高,仅有少数概率可以进展为宫颈癌<sup>[5]</sup>。本文中调查自贡地区 2011~2014 年 4 年中 2 286 例妇科就诊可疑 HPV 感染者的宫颈拭子,进行以 PCR 为基础的液态芯片技术检测并进行分型,旨在分析自贡地区的妇科就诊患者可疑 HPV 感染者其 HPV-DNA 阳性率及结果分析,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2011~2014 年在自贡第四人民医院及

自贡市妇幼保健院可疑 HPV 感染就诊者,共计 2 286 例,年龄 16~70 岁,平均(38.3±2.4)岁。入选条件排除:妊娠、无异常阴道流血、无白带异常等临床症状者。

**1.2 仪器与试剂** TEGEN TC-96/T/H(a) PCR 扩增仪;丹瑞 HHW-420 高速离心机;时代北利 GT16-3 恒温水箱;博日 HB-H100 恒温金属浴;XH-B 型漩涡混匀器;Ⅱ级生物安全柜;透景 DNA 提取试剂和 HPV 扩增试剂,采用液芯微球技术,同时检测 26 种人乳头病毒(HPV)亚型(包括 19 种高危型 HPV-16、HPV-18、HPV-26、HPV-31、HPV-33、HPV-35、HPV-39、HPV-45、HPV-51、HPV-52、HPV-55、HPV-56、HPV-58、HPV-59、HPV-66、HPV-53、HPV-68、HPV-82、HPV-83 及 7 种低危型 HPV-6、HPV-11、HPV-40、HPV-42、HPV-44、HPV-61、HPV-73)。

### 1.3 研究方法

**1.3.1 标本采集** 临床医生将采样刷插入宫颈,轻轻搓动采样刷使其沿顺时针方向转动 5 圈,取出采样刷后立即置于专用的细胞保存液中,轻轻摇动液体洗涤采样刷以获得更多的宫颈脱落细胞。4℃冰箱保存待用。

**1.3.2 DNA 的提取** 取洁净的 1.5 mL 离心管,编号,对应的加入 200 μL 宫颈脱落细胞悬液,14 000 r/min 离心 3 min;吸弃上清液,每管中加入 200 μL 的提取缓冲液,震荡均匀,放入 100℃金属浴中保温 15 min;将 EP 管取出 14 000 r/min 离心 5 min;将 EP 管从离心机中取出,取 5 μL 上清液进行扩增。

**1.3.3 HPV-DNA 的扩增** 按比例将 PCR 预反应液 10 μL、引物 5 μL 及酶 0.8 μL 配制反应液,加入 5 μL 抽提的上清液上机进行扩增,扩增程序:95℃孵育 5 min;95℃孵育 30 s;58℃孵育 30 s;68℃孵育 30 s,循环 5 次;95℃孵育 30 s,55℃孵育 30 s,68℃孵育 30 s,循环 35 次;68℃孵育 10 min。

**1.3.4 杂交** 检测孔中加入 22 μL 微球杂交液、PCR 扩增产物 3 μL,混匀;PCR 仪中 98℃变性 5 min,48℃30 min 使探针与扩增产物结合;再加入 75 μL 链霉亲和素标记的藻红蛋白(SP),48℃孵育 15 min;最后放入 Luminex200 多功能流式点阵仪进行检测。并判读结果,共检测 26 种 HPV 亚型,具体包括高危型 HPV-16、HPV-18、HPV-26、HPV-31、HPV-33、HPV-35、HPV-39、HPV-45、HPV-51、HPV-52、HPV-55、HPV-56、HPV-58、HPV-59、HPV-66、HPV-53、HPV-68、HPV-82、HPV-83;低危型 HPV-6、HPV-11、HPV-40、HPV-42、HPV-44、HPV-61、HPV-73。

**1.4 统计学处理** 采用 Excel 2007 进行统计分析,分析方法包括一般频数分布。

## 2 结 果

**2.1** HPV 检测结果在被检查的 2 286 例女性中,HPV 阳性共计 589 例,总阳性率为 25.00%,单一感染 471 例(20.06%),混合感染 118 例(5.16%)。其中所有感染阳性标本(589 例)中,总共检出感染亚型有 734 例,其中高危型感染 588 例(78.71%),低危型感染 95 例(21.29%)。

**2.3 HPV 亚型分布** 各亚型分布由表 2 可见,4 年中 2 286 例女性 HPV 感染的各亚型分布中其感染频度前 6 位依次为 HPV31 型(20.00%)、HPV52 型(12.00%)、HPV16 型(12.00%)、HPV6 型(8.00%)、HPV11 型(11%)、HPV58 型(7.00%)。

**2.2 HPV 检测结果** 中 2014 年、2013 年、2012 年、2011 年阳性率分别为 27.10%、20.80%、27.10% 和 28.50%。其中 4 年

中 2 286 例女性中,单一感染及混合感染具体见表 1。

表 1 自贡地区 2011~2014 年 HPV 单一感染与混合感染分布

年份	总人数	感染数 (n)	单一感 染数(n)	混合感 染数(n)	当年 感染(%)	单一 感染(%)	混合 感染(%)
2011	572	119	97	22	20.80	81.51	18.49
2012	487	132	103	29	27.10	78.03	21.97
2013	393	112	90	22	28.50	80.36	19.64
2014	834	226	181	45	27.10	80.00	20.00

表 2 自贡地区 2011~2014 年 HPV 感染者亚型分布

分型	2014 年 (n)	2013 年度 (n)	2012 年度 (n)	2011 年度 (n)	总计 (n)	阳性率 (%)
HPV-31	58	15	57	17	147	20
HPV-52	26	18	24	17	85	12
HPV-16	36	18	14	22	90	12
HPV-6	18	18	11	15	62	8
HPV-11	15	13	11	14	53	7
HPV-58	26	7	8	13	54	7

## 3 讨 论

女性感染 HPV 受地区、年龄、相关疾病、个人卫生等影响<sup>[6]</sup>,其感染类型各个区域内明显不同,HPV 不同亚型的致病性及疾病预后均有差异<sup>[7-8]</sup>。通过参考国内外其他文献,自贡地区感染率(总阳性率 25.77%)与国内其他地区报道相似,由于 HPV 相对便捷且优于传统宫颈癌细胞学检查方法<sup>[9]</sup>,故大量开展 HPV 监测,以便及时发现早期病变。全球 25 个国家的宫颈癌患者中以 HPV-16 占比为 57.4%,HPV-18 次之<sup>[10]</sup>,其中亚洲国家以 HPV-52 和 HPV-58 型更常见<sup>[8]</sup>。北京感染频率则依次为 HPV-16、HPV-18、HPV-68、HPV-58 和 HPV-33 型,上海以 HPV-52、HPV-58 为主,重庆感染频率依次是 HPV-16、HPV-52、HPV-31<sup>[11-14]</sup>。自贡地区,感染亚型前三为 HPV-31、HPV-52、HPV-16,呈现明显的地域特点。据 2012 年 ASCP 指南,本文通过调查 2011 年至 2014 年本院妇科就诊患者 HPV 的感染率及感染亚型情况,可以指导本地区没有开展 HPV 分型单位的临床医师经验用药,也能根据 HPV 感染亚型概率对患者进行随访观察以尽早发现癌前病变,同时也可作为自贡地区流行病学调查为今后本地区进一步引进疫苗提供依据。

## 参 考 文 献

- [1] 陈占国,周武,许张晔,等. 导流总杂交方法检测人乳头瘤病毒分型的临床应用[J]. 中华医院感染学杂志,2008,18(9):1345-1348.
- [2] 叶顺章. 性传播疾病的实验室诊断[M]. 北京:科学出版社,2001:96-97.
- [3] 赵夏峰,杨小华,杨庆峰. 547 例外科门诊就诊者 HPV 基因分型结果的回顾分析[J]. 临床医学工程,2010,4(2):145-146.
- [4] 杨丽. 宫颈 HPV 检测在宫颈癌前病变筛选中的临床意义[J]. 中国临床研究,2011,24(2):129-130.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 北京:

- 人民卫生出版社,2012.
- [6] Rode R, Wu TC. How will HPV vaccine affect cervical cancer[J]. Natrue Rev, 2006, 6(2): 253-263.
- [7] Arbyn M, Dillner J. Review of current knowledge on HPV vaccination: an appendix to the European guidelines for quality Assurance in cervical cancer screening[J]. J Clin Virol, 2007, 38(3): 189-197.
- [8] Brady MT, Byington CL, Davies HD, et al. HPV Vaccine Recommendations. Committee on infectious diseases [J]. Pediatrics, 2012, 129(3): 602-605.
- [9] Ronco G, Dillner J, Elfström KM, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials[J]. Lancet, 2014, 69(8): 524-532.
- [10] 朱一剑, 丁显平, 周仲春, 等. 妇科疾病中人乳头瘤病毒感染的分子流行病学调查[J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(1): 49-50.
- [11] Munoz N, Bosch FX, de Sanjosé S. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. N Engl J Med, 2003, 348(6): 518-527.
- [12] 陶萍萍, 卞美璐, 欧华, 等. 导流杂交基因芯片技术在人乳头瘤病毒检测中的应用研究[J]. 中华妇产科杂志, 2006, 41(1): 43-47.
- [13] 陶萍萍, 卞美璐. 女性生殖道人乳头状瘤病毒基因型研究进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2005, 21(8): 507.
- [14] 张燕, 黄恒柳. 采用液态芯片技术调查重庆地区妇女 HPV 感染及亚型分布[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(20): 2703-2704.

(收稿日期:2015-12-03)

## • 临床研究 •

# 宫颈癌及癌前病变患者高危型 HPV 感染情况分析

杨贊平, 张宏鹏<sup>△</sup>

(重庆市妇幼保健院, 重庆 400010)

**摘要:**目的 研究宫颈癌及癌前病变患者高危型 HPV 感染现状, 为 HPV 疫苗的应用提供流行病学资料。方法 采集 2013 年 8 月至 2015 年 1 月于该院就诊的门诊妇女宫颈细胞标本, 并利用核酸分子杂交技术对 HPV-DNA 进行基因分型, 综合年龄等信息进行  $\chi^2$  检验等统计分析。结果 在 188 例宫颈癌及癌前病变标本中, HPV 感染率为 55.8%, 其中, 16 型(19.15%)最常见, 其次为 52 型(7.98%)。HPV 感染以单一型别感染(102 例, 96.2%)为主, 其余全为双重感染。结论 宫颈癌及癌前病变患者高危型 HPV 感染具有明显的亚型分布, 在 30~39 岁年龄层分布多, 提示 HPV 疫苗的使用需要考虑分型以及年龄的因素。

**关键词:**人乳头瘤状病毒高危型; 宫颈癌; 年龄; 人乳头瘤状病毒疫苗

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.07.055

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)07-0992-02

目前有研究表明, 人乳头瘤状病毒(human papillomavirus, HPV)感染可能诱导多种肿瘤的发生, 例如头颈部肿瘤、结膜鳞状细胞癌、食管癌、肺癌、乳腺癌、直肠癌、子宫颈癌、前列腺癌、阴茎癌等; 而目前已证实持续高危型 HPV 感染与宫颈上皮内瘤变、宫颈癌的发生有直接关系。宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤, 居女性恶性肿瘤的第二位。宫颈癌的发病率和死亡率在世界范围内均是较高的, 我国每年逾 13 万的新发病例, 给社会和家庭造成了严重的负担。而人乳头瘤状病毒疫苗的研发使宫颈癌可防范于未然。目前在某些国家, HPV 疫苗已经试点应用于临床, 但大量的国内外研究表明人乳头瘤状病毒的型别有明显的年龄和地区分布特异性<sup>[3]</sup>。因此, 临幊上 HPV 疫苗的使用应考虑此问题, 而目前我国对宫颈癌及癌前病变患者 HPV 感染状况分析的研究报道较少。因此, 本课题组对此进行分析, 望能为 HPV 疫苗在人群中的使用提供流行病学参考资料。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2013 年 8 月至 2015 年 1 月于本院就诊的 188 例宫颈癌及癌前病变的女性患者, 回顾性的收集本院患者的相关临床信息。

**1.2 标本采集及保存方法** 用无菌棉签将宫颈口表面分泌物擦拭干净, 然后用宫颈刷于宫颈口, 顺时针的采集 5 周, 将采集好的标本置于细胞保存液内, 拧紧瓶盖, 1 h 内送检。

**1.3 仪器与试剂** 广东省潮州凯普生物化学有限公司生产的 HPV 分型检测试剂盒, thermal cycler S1000 PCR 基因扩增仪以及 Hybrimax 医用的核酸分子快速杂交仪。

**1.4 PCR 基因扩增** 按试剂说明书进行扩增, 其反应条件为 95 °C, 9 min; 94 °C, 20 s; 55 °C, 30 s; 72 °C, 30 s; 循环反应 40 次; 72 °C, 5 min。

**1.5 结果判定** 按试剂说明书操作, 测 HPV 基因亚型: 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68、6、11、4、43、44、53、66、Cp8304, 共 21 种型别, 并尽快分析结果。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS19.0 统计软件包进行数据分析, 计量资料使用  $\bar{x} \pm s$  表示, 用  $t$  检验来分析两组之间的差异, 使用  $\chi^2$  检验分析在不同组别 HPV 感染率的差异,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 HPV 的检测结果** 188 例宫颈癌及癌前病变患者中, 106 例为阳性, 阳性率为 56.4%, 全部为高危型别。其中 102 例为单一型感染, 4 例为双重感染, 见表 1。

表 1 高危型 HPV 感染率分析

高危亚型感染	感染例(n)	感染率(%)	百分比(%)
单一	102	54.3	96.2
双重	4	2.1	3.8