

• 论 著 •

15 种高危型人乳头瘤病毒核酸检测方法验证及人群感染情况调查*

王萌萌¹, 孔凡虹², 宗曾艳^{1,2}, 张水兰², 阚丽娟², 汤花梅², 张秀明^{1,2}, 熊 丹^{1,2△}

(1. 安徽理工大学医学院, 安徽淮南 232000; 2. 深圳大学第三附属医院医学检验科, 广东深圳 518001)

摘要:目的 对实时荧光定量 PCR(qPCR)方法检测高危型人乳头瘤病毒(HPV)核酸进行方法学评价,同时对本院妇产科 15 种高危型 HPV 感染情况进行调查。方法 参考相关文件对性能评价的要求,验证检测方法的重复性、准确度、测定下限和抗干扰能力。对 2018 年 6 月至 2019 年 4 月份深圳市罗湖区医学检验中心妇产科 23 276 例 HPV 送检标本检测结果进行分析。结果 HPV 高危分型试剂盒批内及批间阴阳性符合率均≥95.00%, 室间质评结果符合率为 100.00%, 临界阳性标本重复性检测的阳性检出率为 100.00%。HPV 不同型别之间及与多种生殖道常见微生物之间无交叉反应,红细胞浓度达 4.00%对检测结果无内源性干扰。HPV 总体感染率为 19.77%。高危型 HPV 感染年龄呈“U”形分布,≤25 岁年龄段感染率最高(28.70%),其次为≥56 岁年龄段(27.63%)。总体感染率排名前 5 位的 HPV 基因型别依次为 56、58、16、51、68 型。各年龄组以单一感染最多见。结论 qPCR 方法是一种快速、便捷、准确、稳定检测 HPV 的方法,适用于大规模的临床 HPV 样本检测。深圳市罗湖区 HPV 感染亚型分布存在地区特异性,5 个年龄组不同 HPV 感染状况亦有差异。流行病学调查结果可为 HPV 感染的临床诊断和防治提供参考依据。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因分型; 性能验证; 流行病学调查

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.01.001

中图法分类号:R737.33

文章编号:1673-4130(2020)01-0001-06

文献标识码:A

Verification of 15 high risk human papillomavirus nucleic acid detection methods and investigation of population infection*

WANG Mengmeng^{1,2}, KONG Fanhong^{1,2}, ZONG Zengyan^{1,2}, ZHANG Shuilan², KAN Lijuan², TANG Huamei², ZHANG Xiuming^{1,2}, XIONG Dan^{1,2△}

(1. Medical College, Anhui University of Science and Technology, Huainan, Anhui 232000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Third Affiliated Hospital of Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong 518001, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the method of real-time fluorescent quantitative PCR (qPCR) for the detection of high-risk human papillomavirus (HPV) nucleic acid, and to investigate 15 kinds of high risk HPV infection. **Methods** Refer to the requirements of relevant documents for performance evaluation, the repeatability, accuracy, lower limit of measurement and anti-interference ability of the detection method were verified. From June 2018 to April 2019, 23 276 HPV samples from the Department of Gynecology and Obstetrics of Luohu District Medical Test Center in Shenzhen were analyzed. **Results** The coincidence rate within group and between groups were both≥95.00%. The coincidence of external quality assessment was 100.00%. The positive detection rate of critical positive samples was 100.00%. There was no cross reaction between different types of HPV and common microorganisms in the genital tract, and there was no endogenous interference to the test results when the concentration of RBC reached 4.00%. The overall infection rate of HPV was 19.77%. The age of high-risk HPV infection was U-shaped distribution, the highest infection rate was in the age group ≤25 years old (28.70%), and the second was in the age group ≥56 years old (27.63%). The top five HPV genotypes in the overall infection rate were 56, 58, 16, 51 and 68. Single infection was the most common in all age groups. **Conclusion** qPCR is a rapid, convenient, accurate and stable method for detection of

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81772921);深圳市科技创新自有探索项目(JCYJ20180306172209668);深圳市卫生计生委学科建设能力提升项目(SZXJ2017018);深圳市医疗卫生三名工程(SZSM201601062)。

作者简介:王萌萌,女,硕士研究生在读,主要从事肿瘤病毒和外泌体方面的研究。△ 通信作者, E-mail: sunny543@126.com。

本文引用格式:王萌萌,孔凡虹,宗曾艳,等. 15 种高危型人乳头瘤病毒核酸检测方法验证及人群感染情况调查[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(1):1-5.

HPV, which is suitable for large-scale clinical HPV sample detection. The distribution of HPV subtypes in Luohu District of Shenzhen is region specific, and there are also differences among the five age groups. The results of epidemiological investigation provide reference for clinical diagnosis and prevention of HPV infection.

Key words: human papillomavirus; real-time quantitative PCR; performance verification; epidemiological survey

人乳头瘤病毒(HPV)是一种球形无包膜的环状双链 DNA 病毒,主要通过性传播感染人皮肤和黏膜上皮。HPV 感染易引发多种疾病,其中高危型 HPV 的持续感染是引起女性宫颈癌及癌前病变的主要原因;低危型 HPV 感染主要引起生殖器疣^[1]。宫颈癌是世界上发病率位居第二的妇科肿瘤,仅次于乳腺癌。据调查,约 99.7% 的宫颈癌患者有人乳头瘤病毒(HPV)感染,因此,了解我国不同地域 HPV 基因型的分子流行病学概况,对 HPV 早期、快速、准确检测和相关疾病的诊断与治疗具有重要意义^[2]。本研究依据 CNAS-CL02:《医学实验室质量和能力认可准则》对医学实验室检测系统性能评价的相关要求和 CNAS-CL02-A009:《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》,CLSI-MM03 和 CNAS GL-039《分子诊断检验程序性能验证指南》等文件,对实时荧光定量 PCR(qPCR)方法检测 HPV-DNA 试剂盒的重复性、准确度、检测下限和抗干扰能力进行评价,为使用该检测方法的实验室提供参考,并通过对深圳市罗湖区人民医院妇产科 HPV 感染情况的调查分析,了解深圳罗湖地区 HPV15 种高危基因型别的分子流行病学特征,为宫颈病变的早期防治提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 6 月至 2019 年 4 月在深圳市罗湖区人民医院(下称本院)妇产科就诊的门诊和住院女性患者剔除给药后复查的检测结果,共 23 272 例,年龄为 11~73 岁,中位数为 34 岁。纳入标准:自愿进行宫颈筛查的女性;无宫颈手术治疗史;近期末服用过抗生素或其他抗感染药物。排除标准:用药治疗后复查患者;有子宫切除或宫颈病变史;有其他重症疾病或癌症的患者。按年龄分为 5 个年龄段,分别为≤25 岁,26~35 岁,36~45 岁,46~55 岁,≥56 岁。

1.2 仪器与试剂 上海之江 Autrax192 全自动核酸提取仪,上海宏石 SLAN-96S 荧光定量 PCR 仪,上海之江高危型 HPV 分型核酸测定试剂及其配套耗材。

1.3 检测方法 依据 CLSI-MM03 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》以及厂家试剂说明书对 qPCR 方法检测 HPV 试剂进行重复性、准确度、最低检出限、分析特异度,抗干扰能力性能验证。并按照仪器和试剂盒操作 SOP,对 2018 年 6 月至 2019 年 4 月在本院妇产科门诊和住院就诊的患者的宫颈脱落上皮细胞标本 15 种高危型

HPV(16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、62、68、82)检测结果大样本调查,根据厂家说明书判读实验结果。样本 Ct≤38,且扩增曲线呈典型的 S 型时,为阳性;Ct 显示“No Ct”时为阴性;Ct 值在 38~40 之间,须重测,如仍在 38~40 之间,且扩增曲线呈典型的 S 型时为阳性;若呈非典型 S 型曲线则为阴性。若样本在所有混合液中均为阴性;或样本在混合液 I (含 IC)的通道 Ct 值>32 或显示“No Ct”,且在混合液 I 的其余通道以及其余混合液的各通道 Ct 栏都显示“No Ct”,无法判断结果,说明提取过程或 PCR 检测存在问题,需重复试验。

1.3.1 重复性 对 Autrax 全自动核酸提取仪及 SLAN-96S 荧光定量 PCR 仪全面维护保养,确保仪器正常工作状态。依据广州邦德盛生物科技有限公司的《标准物质、第三方质控产品目录手册》中相关产品浓度换算,分别取 1 例 HPV16 型强阳性样本(20≤Ct≤26)(编号:HY,样本类型为宫颈脱落上皮细胞)、1 例 HPV58 型临界阳性样本(31≤Ct≤36)(编号:LY,样本类型为宫颈脱落上皮细胞)和 1 例 HPV 阴性(无扩增)样本(编号:YX,样本类型为宫颈脱落上皮细胞),每次 5 个重复,分 4 批测定,共计 20 个数据,记录每次检测结果,如为阳性,则记录相应亚型的 Ct 值。阈值设为默认值。根据相应阳性样本的阳性型别 Ct 值,计算均值、SD 值、CV 值。计算 4 次实验的总阴阳性符合率,依据 CLSI-MM17A 文件关于重复性指标要求,可知要求 4 次实验的总阴阳性符合率均≥95.00%,且每次实验相应阳性样本的阳性型别的 Ct 值的 CV 值≤5.00%。

1.3.2 准确度 通过分析本实验室参加 2018 年卫生部临床检验中心室间质评结果,从室间质评统计结果评价实验室定性检测结果的一致性,从而评价和验证实验室检测结果的准确性。上海之江高危 HPV 试剂盒室间质评的样本中仅涉及到 HPV16、31、52 以及低危型 HPV6 和阴性样本的型别,故本实验的室间质评通过检测已知的这 5 个标准物质样本,进行准确度评估。依据 CLSI-MM17A 和 CNAS GL-039 文件关于准确度指标要求可知,阴阳性符合率≥95.00%,则准确度符合要求。

1.3.3 测定下限 检测下限的实验设计依据上海之江高危型 HPV 试剂盒说明书和《感染性疾病个体化医学分子检测技术指南》,具体方法取 1 例阳性对照品稀释至 Ct 值约等于 35(浓度约在 10 000 copy/mL,厂家声称的检测下限)进行 10 次扩增,记录每次

检测结果,如为阳性,则记录相应的 Ct 值。评判标准参考 CNAS GL-039 文件关于检测下限的标准可知,10 次扩增结果,检测出的总阳性符合率均≥95%,则符合标准。

1.3.4 分析特异度 分别选取约 3×10^4 copy/mL (Ct 值为 29~31) 的 HPV16 型阳性样品,HPV18 型阳性样品,HPV52 型阳性样品和 HPV 阴性的标本,加入包含 HPV11 型、HPV6 型、HPV42 型、HPV43 型、HPV44 型、HPV73 型、HPV26 型、HPV53 型、沙眼衣原体、解脲支原体、淋球菌、人型支原体、生殖支原体、白色念珠菌、HIV-1 和 B 组链球菌的质粒,质粒浓度约 5×10^6 copy/mL,然后进行检测,重复 2 次。参考 CLSI-MM03 和 CNAS GL-039 对于分析特异度评价标准,阴阳性符合率≥95%,则结果符合标准。

1.3.5 抗干扰能力

1.3.5.1 抗交叉反应 上海之江公司提供一个包含 HPV11、6、42、43、44、73、26、53 型、沙眼衣原体、解脲支原体、淋球菌、人型支原体、生殖支原体、白色念珠菌、HIV-1、B 组链球菌的质粒,质粒浓度约 5×10^6 copy/mL,分别加入到 10 例 HPV 分型阴性标本内,进行扩增。依据上海之江高危型 HPV 试剂盒说明书和 CNAS GL-039 标准要求 10 例 HPV 分型阴性标本的扩增结果,检测出的总阴性符合率≥95%。

1.3.5.2 内源性干扰 依据上海之江高危型 HPV

试剂盒说明书和《标准物质、第三方质控产品目录手册》取一份 HPV16 型阳性样本分成 4 份,各 300 μL,每份标本加入健康者的红细胞 0、6、10、12 μL 的样本进行提取,提取 DNA 后再进行复孔扩增,重复 3 次。依据 CNAS GL-039 标准,要求每个样品的 Ct 值 CV 值均≤5%,并评判符合性。

1.4 流行病学调查 对 2018 年 6 月至 2019 年 4 月本院妇产科送检样本,共 23 272 例,年龄 11~73 岁,按年龄分为 5 个年龄段,分别为≤25、26~35 岁,36~45 岁,46~55 岁,≥56 岁,进行调查分析。

1.5 统计学处理 采用 Excel 与 SPSS22.0 软件,通过 χ^2 检验对本院 2018 年 6 月至 2019 年 4 月妇产科 5 个年龄组 HPV 感染的阳性检出率进行统计与分析, $P < 0.05$ 认为不同年龄段之间的 HPV 的感染率差异存在统计学意义。

2 结 果

2.1 重复性 每次实验的每个亚型的阴阳性符合率及 4 次实验每个亚型总阴阳性符合率均为 100%。每次实验相应阳性样本的阳性型别的 Ct 值的 CV 值均≤5%,见表 1。该试剂批内及批间重复性良好,满足临床要求。

2.2 准确度 5 个样本检测的不同型别的 HPV 检测结果和室间质评结果均一致,符合率为 100%(5/5),HPV 基因分型检测准确度符合要求。见表 2。

表 1 HPV-DNA 重复性验证实验结果

项目	第一批		第二批		第三批		第四批	
	强阳性	弱阳性	强阳性	弱阳性	强阳性	弱阳性	强阳性	弱阳性
Ct 值	21.03	29.33	20.99	29.25	20.68	28.74	20.71	28.56
s	0.05	0.12	0.23	0.22	0.08	0.07	0.07	0.12
CV%	0.24	0.42	1.11	0.75	0.37	0.25	0.34	0.41

表 2 HPV 基因分型一致性比对结果

样本编号	HPV 基因分型		结果一致程度判断
	本实验检测结果	室间质评结果	
1811	HPV 高危型、HPV16	HPV 高危型、HPV16	一致
1812	HPV 高危型、HPV52	HPV 高危型、HPV52	一致
1813	阴性	阴性	一致
1814	HPV 高危型、HPV31	HPV 高危型、HPV31	一致
1815	HPV 低危型、HPV6	HPV 低危型、HPV6	一致

注:批次为 2018 年第 11 次室间质评实验的 5 个样本。

2.3 测定下限 15 种型别阳性 10 次测得均值均为阳性,阳性符合率为 100.00%(10/10),符合临床检测要求,见表 3。

2.4 分析特异度 加入干扰物之前后,同一样本,同一型别的 HPV 检测结果 Ct 值均值显示,阳性结果($Ct \geq 38$)和阴性结果(无 Ct 值)的符合率均为 100.00%,符合临床检测要求。见表 4。

2.5 抗干扰能力

2.5.1 抗交叉反应 10 例 HPV 阴性标本加入干扰物前后扩增后检测结果均为阴性,阴性符合率 = 100.00%(10/10),表明无交叉反应,符合本实验室要求。

2.5.2 内源性干扰 当标本中红细胞的浓度达到 4.00%,每个样品的 Ct 值 CV 值均≤5.00%,表示对

检验结果依然没有影响。说明当标本中红细胞的浓度为 4%,对检测结果没有干扰。

表 3 测定下限实验结果			
项目	Ct	s	CV(%)
HPV16	31.990	0.830	2.6
HPV18	33.309	0.920	2.8
HPV31	32.712	0.660	2.0
HPV33	32.982	0.540	1.6
HPV35	32.568	0.810	2.5
HPV39	33.603	0.730	2.2
HPV45	32.041	0.660	2.1
HPV51	31.770	0.560	1.7
HPV52	33.626	0.710	2.1
HPV56	32.915	0.960	2.9
HPV58	33.855	0.860	2.5
HPV59	34.892	1.400	4.0
HPV66	34.946	1.370	3.9
HPV68	32.666	0.670	2.1
HPV82	34.819	0.840	2.4

表 4 分析特异性实验结果(Ct 值)							
样本类型	加入干扰物质前			加入干扰物质后			是否符合
	重复 1	重复 2	均值	重复 1	重复 2	均值	
HPV16 型	28.7	28.57	28.63	28.53	28.57	28.55	符合
HPV18 型	30.21	30.5	30.35	30.81	30.76	30.785	符合
HPV52 型	31.32	31.77	31.55	31.71	31.56	31.635	符合
HPV 阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	符合

2.6 感染情况调查

2.6.1 HPV 感染总体情况及亚型结果 本次研究调查的 23 272 例 15 种 HPV 高危亚型就诊女性当中,有 4 601 例感染 HPV,感染率为 19.77%,其中以单一亚型感染率高达 3 443 例,占总感染率的 74.83%;多重感染有 1 158 例,占总感染率的 25.17%。同时感染 HPV 基因型种类可高达 7 种亚型(HPV16、33、45、52、56、58、66 型)。感染率居前 5 位亚型分别为 HPV56(5.00%)、HPV58(3.00%)、HPV16(2.70%)、HPV51(2.30%)、HPV68(2.00%)。

2.6.2 不同年龄段 HPV 感染及亚型分析 受检者按年龄不同分为 5 组:≤25 岁组、26~35 岁组、36~45 岁组、46~55 岁组、≥56 岁组。≤25 岁组 HPV 感染率为 28.70%(594/2 070);26~35 岁组 HPV 感染率为 20.41%(1 468/7 192);36~45 岁组感染率为 17.89%(2 364/13 211),46~55 岁组感染率为 20.56%(133/647),≥56 岁组感染率为 27.63%(42/152),HPV 总感染率在 26 岁以下最高,形成第一个高峰,随之逐渐降低,在 36~45 岁达最低,在 46~55

岁有所抬高,各年龄组感染率成“U”形分布。见图 1。≥56 岁组与≤25 岁组和 45~55 岁组间的 HPV 总感染率比较差异无统计学意义($P>0.05$),此外 46~55 岁组与 26~35 岁组以及 36~45 岁组之间的差异也没有统计学差异($P>0.05$)。其余两两比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。

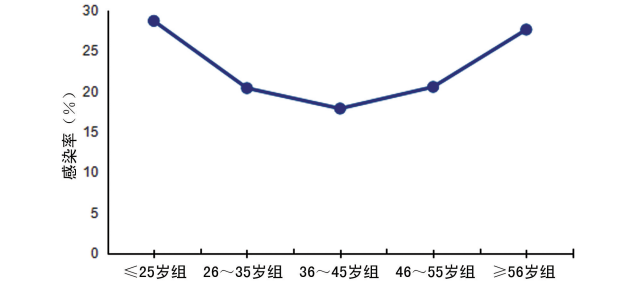


图 1 各年龄组 HPV 总感染率分布

3 讨论

宫颈癌在女性肿瘤发病率中居第 2 位,是女性最常见的恶性肿瘤之一^[3-5]。HPV 感染是目前确认的宫颈癌发生的重要因素^[6-7],几乎所有的宫颈癌中均可检测到 HPV 感染^[8-9]。高危型 HPV 持续感染与宫颈癌发生密切相关,主要包括 HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68、26、53、66、67、69、73、82 等型别^[10-11]。因此,高危 HPV 检测对宫颈癌筛查具有重要意义。新试剂和新项目引进之前需要进行性能验证,本实验室采用上海之江生物的 Autrax192 全自动核酸提取仪和上海宏石 SLAN-96S 荧光定量 PCR 仪,依据 CNAS-CL02:《医学实验室质量和能力认可准则》,对医学实验室检测系统性能评价的相关要求和 CNAS-CL02-A009:《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》,CLSI-MM03,CLSI-MM17A 和 CNAS GL-039 等文件,对上海之江 HPV 高危分型试剂盒的重复性、准确度、检测下限和抗干扰能力进行了评估。研究结果显示,HPV 高危分型试剂盒每次实验的每个亚型的阴阳性符合率及 4 次实验每个亚型总阴阳性符合率均≥95.00%,且每次实验相应阳性样本的阳性型别的 Ct 值的 CV 值均≤5.00%,参与室间质评结果符合率为 100.00%,表明该试剂盒测定重复性和准确度良好,满足临床检测要求。将 1 例阳性对照品稀释至 Ct 值约等于 35(浓度约在 10 000 copy/mL,厂家声称的检测下限),重复性检测,阳性检出率为 100.00%,符合临床对临界阳性标本的检测要求。分别选取 HPV16、HPV18、HPV52、HPV 阴性标本,加入包含 HPV11 型、HPV6 型、HPV42 型、HPV43 型、HPV44 型、HPV73 型、HPV26 型、HPV53 型、沙眼衣原体、解脲支原体、淋球菌、人型支原体、生殖支原体、白色念珠菌、HIV-1 和 B 组链球菌的质粒进行检测,加入干扰物质后检测的阴阳性符合率≥95.00%,检测特异性良好,各型别之间及与其他微生物之间无交叉反

应,符合临床要求。当标本中红细胞的浓度达到 4.00%,对检验结果依然没有影响,符合率 100.00%,带血标本对检测无影响。说明该 HPV 高危分型试剂盒具有良好的重复性、准确度、检测下限和抗干扰能力,可满足临床和科研对宫颈拭子的分析需求,并可广泛使用于各等级医院进行的 HPV 感染的早期筛查和大范围使用。

妇产科就诊患者为 HPV 的高发人群,本研究使用实时荧光定量 PCR 方法对 2018 年 6—12 月以及 2019 年 1—4 月本院妇产科送检标本进行大样本调查。结果显示本院就诊女性 HPV 感染率为 19.77%,低于 WANG 等^[12]对中国的 HPV 总感染率的调查,与江等对深圳福田地区 HPV 感染率调查相近,但远高于江卫红等^[13]对福田区女性 HPV 10.60% 的感染率初步认为该差异是由收集病例群体和标本例数导致的。此外不同地区的 HPV 感染率也存在很大差异。如李军等^[14]对陕西地区 HPV 总感染率调查为 32.14%,重庆地区 HPV 的总感染率为 25.38%^[15],福州地区为 15.70%^[16],可能与地域位置、当地经济条件、生活习俗及人口迁徙等有关。笔者认为可能由于受调查人群,气候条件,区域卫生条件,生活习俗及人口迁徙因素影响。

本次调查显示不同年龄段高危型 HPV 感染率呈“U”型分布,≤25 和 ≥56 岁 HPV 感染率最高,这与 XUE 等研究结果一致^[17],与朱丹玲等^[18]报道的 <30 岁组 HPV 高危亚型感染率最低不同,可能与样本调查量有关。在 ≤25 是感染高峰期,可能是因为年轻女性宫颈发育不成熟,自身防御机能较差导致感染概率增高。随后,在 26~35 岁开始下降,36~45 岁 HPV 感染率降到最低,可能由于女性宫颈发育成熟,机体抵抗病毒能力较强。46~55 岁感染率开始上升直至 56 岁以上女性 HPV 感染率形成另一个高峰期,可能是绝经期激素变化引起的机体免疫系统功能紊乱,对病毒抵抗力降低,导致病毒的持续性感染或处于潜伏期的 HPV 被激活^[19]。因此应该加强深圳罗湖地区 ≤25 岁和 ≥50 岁女性 HPV 筛查力度,以减低降低宫颈病变风险。本次调查结果显示,深圳市罗湖区 HPV 高危型感染各年龄段高发的亚型均为 HPV56、HPV58、HPV16、HPV51、HPV68,故接种九价疫苗可有效预防宫颈癌发生。但针对本地区最常见的前 5 位高危亚型,九价疫苗仅涵盖 58、16 型,而 56、68、51 型等则未涵盖。因此通过了解我国不同地区的 HPV 的基因型感染情况,从而研发针对本国国情的多价疫苗,降低 HPV 的感染率具有重要意义。

4 结 论

本实验室所用的 HPV 高危分型试剂盒具有良好的重复性、准确度、检测下限和抗干扰能力,可满足临床和科研对宫颈拭子的分析需求,并可广泛使用于各等级医院。且通过对本地区 HPV 感染流行病学分析

建议加大 56 岁以上的妇女 HPV 的筛查力度,普及 26 岁以下的妇女 HPV 九价疫苗注射。

参考文献

- [1] BHARTI A C, SINGH T, BHAT A, et al. Therapeutic strategies for human papillomavirus infection and associated cancers[J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2018, 10(1):15-73.
- [2] BAUDU A, PRÉTET J L, Riethmuller D, et al. Prevalence and risk factors of human papillomavirus infection types 16/18/45 in a cohort of French females aged 15-23 years[J]. *J Epidemiol Glob Health*, 2014, 4(1):35-43.
- [3] LIU Y, LU Z, XU R, et al. Comprehensive mapping of the human papillomavirus (HPV) DNA integration sites in cervical carcinomas by HPV capture technology[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(5):5852-5864.
- [4] PALUKU J L, CARTER TE, LEE M, et al. Massive single visit cervical pre-cancer and cancer screening in eastern Democratic Republic of Congo[J]. *BMC Womens Health*, 2019, 19(1):43.
- [5] ZHANG Y, LI T, ZHANG L, et al. Targeting the functional interplay between endoplasmic reticulum oxidoreductin-1α and protein disulfide isomerase suppresses the progression of cervical cancer[J]. *E Bio Med*, 2019, 41:408-419.
- [6] TSAKOGIANNIS D, GARTZONIKA C, LEVIDIOTOU STEFANO S, et al. Molecular approaches for HPV genotyping and HPV-DNA physical status[J]. *Expert Rev Mol Med* 2017, 19(1):e1.
- [7] BOGAARDS J A, MOOIJ S H, XIRIDOU M, et al. Potential effectiveness of prophylactic HPV immunization for men who have sex with men in the Netherlands: A multi-model approach [J]. *PLoS Med*, 2019, 16(3): e1002756.
- [8] REBOLJ M, RIMMER J, DENTON K, et al. Primary cervical screening with high risk human papillomavirus testing: observational study[J]. *BMJ*, 2019, 364:l240.
- [9] ARBYN M, SMITH S B, TEMIN S, et al. Detecting cervical precancer and reaching underscreened women by using HPV testing on self samples: updated meta-analyses [J]. *BMJ*, 2018, 363:k4823.
- [10] 王月云, 林威, 吴波, 等. 2014—2016 年深圳市子宫颈癌筛查中 HPV 阳性者 HPV 高危亚型分布及相关因素[J]. *中华预防医学杂志*, 2018, 52(5):480-485.
- [11] JING L, ZHONG X, HUANG W, et al. HPV genotypes and associated cervical cytological abnormalities in women from the Pearl River Delta region of Guangdong province, China: a cross-sectional study[J]. *BMC Infect Dis*, 2014, 14(1):388.
- [12] WANG R, GUO X L, WISMAN G B A, et al. Nationwide prevalence of human papillomavirus infection and viral genotype distribution in 37 cities in China[J]. *BMC Infect Dis*, 2015, 15(1):257.

功能。

参考文献

[1] EGUCHI K, IMAIZUMI Y, KAIHARA T, et al. Comparison of valsartan and amlodipine on ambulatory blood pressure variability in hypertensive patients[J]. Clin Exp Hypertens, 2016, 38(8): 721-724.

[2] HOSAKA M, INOUE R, SATOH M, et al. Effect of amlodipine, efonidipine, and trichlormethiazide on home blood pressure and upper-normal microalbuminuria assessed by casual spot urine test in essential hypertensive patients[J]. Clin Exp Hypertens, 2018, 40(5): 468-475.

[3] OHIRA T, ISHIMITSU T, YABE A, et al. Comparisons of increasing calcium channel blocker dose and adding thiazide diuretic in hypertensive patients given medium-dose angiotensin II receptor blocker and amlodipine [J]. Dokkyo J Med Sci, 2017, 44(3): 209-216.

[4] World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus[R]. Geneva: World health organization, 1999.

[5] 刘力生. 中国高血压防治指南 2010[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2011, 3(5): 42-93.

[6] RAMIREZ A J, SANCHEZ M J, SANCHEZ R A. Diabetic patients with essential hypertension treated with amlodipine: blood pressure and arterial stiffness effects of canagliflozin or perindopril[J]. J Hypertens, 2019, 37(3): 636-642.

[7] 奚艳, 唐海沁, 蒋品, 等. 厄贝沙坦联合氨氯地平对糖尿病高血压合并高尿酸血症患者降压及降尿酸疗效的 Meta 分析[J]. 中国临床保健杂志, 2018(1): 36-39.

[8] MOURAD J J, AMODEO C, DE CHAMPVALLINS M, et al. Blood pressure-lowering efficacy and safety of perindopril/indapamide/amlodipine single-pill combination in patients with uncontrolled essential hypertension: a multicenter, randomized, double-blind, controlled trial [J]. J

Hypertens, 2017, 35(7): 1481-1495.

[9] RUILOPE L M, SEVITENSION Study Investigators. Fixed-combination olmesartan/amlodipine was superior to perindopril + amlodipine in reducing central systolic blood pressure in hypertensive patients with diabetes[J]. J Clin Hypertens (Greenwich), 2016, 18(6): 528-535.

[10] 李洪平. 苯磺酸氨氯地平联合贝那普利治疗高血压的临床疗效分析[J]. 海峡药学, 2018, 30(11): 137-138.

[11] 傅帅. 贝那普利联合氨氯地平治疗高血压的临床疗效分析[J]. 心理医生, 2019, 25(2): 125-126.

[12] 苟婷婷. 氨氯地平联合厄贝沙坦治疗糖尿病合并高血压疗效观察[J]. 西南国防医药, 2016, 26(3): 246-249.

[13] HORR S, NISSEN S. Managing hypertension in type 2 diabetes mellitus [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2016, 30(3): 445-454.

[14] BARZILAY J I, DAVIS B R, GHOSH A, et al. Rapid eGFR change as a determinant of cardiovascular and renal disease outcomes and of mortality in hypertensive adults with and without type 2 diabetes[J]. J Diabetes Complications, 2018, 32(9): 830-832.

[15] 温丽平. 氨氯地平联合缬沙坦治疗老年原发性高血压合并糖尿病的疗效观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(10): 1146-1148.

[16] RAKUGI H, SHIMIZU K, NISHIYAMA Y, et al. A phase III, open-label, multicenter study to evaluate the safety and efficacy of long-term triple combination therapy with azilsartan, amlodipine, and hydrochlorothiazide in patients with essential hypertension [J]. Blood Press, 2018, 27(3): 125-133.

[17] FUJIWARA T, HOSHIDE S, YANO Y, et al. Comparison of morning vs bedtime administration of the combination of valsartan/amlodipine on nocturnal brachial and central blood pressure in patients with hypertension[J]. J Clin Hypertens (Greenwich), 2017, 19(12): 1319-1326.

(收稿日期: 2019-06-12 修回日期: 2019-09-20)

(上接第 5 页)

[13] 江卫红, 范世珍, 莫莉, 等. 深圳市福田区 18 749 例妇女宫颈人乳头瘤病毒分型检测结果的分析[J]. 中国实验诊断学, 2017, 21(7): 1201-1205.

[14] 李军, 王一羽, 南星, 等. 陕西省咸阳地区人乳头瘤病毒的基因分型及亚型分布特征[J]. 检验医学, 2017, 32(3): 194-198.

[15] 霍兆群, 吴晓辉, 李嘉燕, 等. 2015—2017 年重庆地区感染 HPV 各基因型及分布特点[J]. 国际检验医学杂志, 2019(1): 74-79.

[16] 杨阳, 陈良远, 曹鹏驹, 等. 福州地区体检女性 HPV 感染及基因亚型分析[J]. 检验医学, 2019, 34(2): 144-147.

[17] XUE Y, ZHANG W, CHEN M, et al. “U” shape of age-

specific prevalence of high-risk human papillomavirus infection in women attending hospitals in Shanghai, China [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2009, 145(2): 214-218.

[18] 朱丹玲, 马健, 廖慧霞, 等. 深圳市福田区人乳头瘤病毒感染情况调查分析[J]. 中国初级卫生保健, 2016, 30(4): 26-28.

[19] ALTHOFF K N, POUL P, BURKE A E, et al. Correlates of cervicovaginal human papillomavirus detection in perimenopausal women[J]. J Women's Health, 2009, 18(9): 1341-1346.

(收稿日期: 2019-06-18 修回日期: 2019-09-25)