

• 论 著 •

血性宫颈脱落细胞标本对人乳头瘤病毒 DNA 检测结果的影响

王克迪¹, 徐东江², 苏建荣^{1△}

(1. 首都医科大学附属北京友谊医院临床检验中心, 北京 100050; 2. 北京积水潭医院检验科, 北京 100035)

摘要:目的 探讨血红蛋白对人乳头瘤病毒(HPV)DNA 检测结果的影响程度及有效的干预措施, 为临床工作提供参考依据。**方法** 收集 2019 年 1 月就诊于北京友谊医院妇科门诊的女性患者宫颈脱落细胞标本, 其中 20 例未溶血, 且 HPV-DNA 检测为阳性的标本作为 HPV 阳性组, 20 例未溶血, 且 HPV-DNA 检测为阴性的标本作为 HPV 阴性组, 再根据试验需要, 制备成含不同水平(0.0、2.5、5.0、10.0、20.0 g/L)的血红蛋白标本。采用荧光定量 PCR 对 HPV-DNA 进行定性和定量检测, 并进行组间比较。**结果** 定性检测结果显示, HPV 阳性组中, 血红蛋白水平为 2.5 和 5.0 g/L 时, HPV-DNA 结果均为阳性, 符合率为 100%, 血红蛋白水平为 10.0 和 20.0 g/L 时, HPV-DNA 分别有 13 个和 0 个阳性结果, 符合率分别为 65% 和 0%。定量检测结果显示, HPV 阳性组中, 血红蛋白水平为 2.5 和 5.0 g/L 时, 所有标本 HPV-DNA 扩增循环阈值(Ct 值)的偏倚均小于 7.5%, 血红蛋白水平为 10.0 和 20.0 g/L 时, 分别有 40% 和 95% 标本 HPV-DNA 扩增 Ct 值的偏倚超过 7.5%。HPV 阴性组中, HPV-DNA 定性和定量检测结果在不同水平血红蛋白标本中均一致。**结论** 血性宫颈脱落细胞标本在一定程度上会影响 HPV-DNA 检测结果, 严重血性标本应预先处理后再进行检测。

关键词:人乳头瘤病毒; DNA; 血红蛋白; 偏倚; 符合率
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.03.016 **中图法分类号:**R737.33
文章编号:1673-4130(2020)03-0318-05 **文献标识码:**A

Influence of blood cervical exfoliated cells on the detection of human papilloma-virus DNA

WANG Kedi¹, XU Dongjiang², SU Jianrong^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory Center, Beijing Friendship Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Beijing Jishuitan hospital, Beijing 100035, China)

Abstract: Objective To explore the influence of hemoglobin on the detection of human papillomavirus (HPV)DNA and the effective intervention measures, so as to provide reference for clinical work. **Methods** The cervical exfoliated cell samples of female patients in the gynecological clinic of Beijing Friendship Hospital in January 2019 were collected. Among them, 20 were not hemolytic, and the samples with positive HPV-DNA test were HPV positive group, 20 were not hemolytic, and the samples with negative HPV-DNA test were HPV negative group. According to the needs of the test, different concentrations of hemoglobin samples (0.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 g/L) were prepared. Quantitative and qualitative detection of HPV-DNA were carried out by fluorescence quantitative PCR, and the results were compared among groups. **Results** The results of qualitative test showed that HPV-DNA was positive when the hemoglobin concentration was 2.5 and 5.0 g/L, and the coincidence rate was 100%. When the hemoglobin concentration was 10.0 and 20.0 g/L, HPV-DNA had 13 and 0 positive results, respectively, and the coincidence rate was 65% and 0%. The results of quantitative analysis showed that when the hemoglobin concentration was 2.5 and 5.0 g/L, the bias of HPV-DNA amplification cycle threshold(Ct) of all samples was less than 7.5%. When the hemoglobin concentration was 10.0 and 20.0 g/L, the bias of HPV-DNA amplification CT of 40% and 95% of samples was more than 7.5%. In the HPV negative group, the results of qualitative and quantitative detection of HPV-DNA were consistent in different concentrations of hemoglobin samples. **Conclusion** The results of HPV-DNA detection can be affected by the blood cervical exfoliated cells to a certain extent. The serious blood samples should be pretreated before detection.

Key words: human papillomavirus; DNA; hemoglobin; bias; coincidence rate

作者简介:王克迪,女,主治医师,主要从事临床检验诊断学方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: youyilab@163.com.

本文引用格式:王克迪,徐东江,苏建荣. 血性宫颈脱落细胞标本对人乳头瘤病毒 DNA 检测结果的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(3): 318-322.

人乳头瘤病毒(HPV)属于乳头瘤病毒科的乳头瘤病毒属,为球形无包膜的双链 DNA 病毒,能引起人体皮肤黏膜鳞状上皮细胞增殖。99%宫颈癌病例都与生殖系统的 HPV 感染有关^[1-2]。目前,HPV 基因检测已成为筛查宫颈癌的有效手段之一。荧光定量 PCR 技术具有特异度和灵敏度高等优势,是目前 HPV-DNA 检测最常用的方法。血性宫颈脱落细胞标本中含有一定量的血红蛋白,而血红蛋白会抑制 PCR 反应,造成假阴性结果。但是,血性标本中血红蛋白的水平对 PCR 检测结果的影响尚不明确,本文拟通过比较不同血红蛋白水平的宫颈脱落细胞标本中 HPV-DNA 定性和定量结果,探讨血红蛋白对 HPV-DNA 检测结果的影响程度及有效的预处理措施。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2019 年 1 月就诊于北京友谊医院妇科门诊的女性患者宫颈脱落细胞标本。其中 20 例未溶血,且 HPV-DNA 检测为阳性的标本作为 HPV 阳性组,20 例未溶血,且 HPV-DNA 检测为阴性的标本作为 HPV 阴性组,年龄 25~55 岁,平均(38.5±5.2)岁。

1.2 仪器与试剂 HPV-DNA 提取分别采用全自动核酸提取仪(购自瑞士罗氏公司,型号 Cobas x480)和之江全自动核酸提取仪(购自中国上海之江生物科技股份有限公司);HPV-DNA 荧光定量检测分别采用罗氏全自动荧光定量 PCR 分析仪(购自瑞士罗氏公司,型号 Cobas z480)和宏石全自动荧光定量 PCR 仪(购自中国上海宏石医疗科技有限公司,型号 SLAN-96P);所用试剂分别购自瑞士罗氏产品诊断有限公司和中国上海之江生物科技股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 所有标本均经本人知情同意,严格按照宫颈脱落细胞标本采集规范采集,采集后标本尽快送检。采集的标本置于 4℃ 冰箱保存,24 h 内检测。

1.3.2 含血红蛋白的宫颈脱落细胞标本制备 收集 10 个重度溶血的宫颈脱落细胞标本,检测血红蛋白水平以确定所制备溶血标本的血红蛋白水平范围。根据试验需要,将血红蛋白分为 5 个水平梯度 0.0、2.5、5.0、10.0、20.0 g/L。收集 1 个体检健康者 EDTA-K₂ 抗凝的 O 型全血标本 4 mL,加入 10 mL 离心管,2 000 r/min 离心 5 min 后弃去血浆,加入 10 mL 0.9% NaCl 缓冲液并震荡混匀。2 000 r/min 离心 5 min 后去上清,重复洗涤 2 次。加入 0.9% NaCl 缓冲液悬浮红细胞,使红细胞悬液的血红蛋白水平达到 120 g/L,−30℃ 与常温 10 min 分别冻融 1 次,制成含部分未裂解红细胞的血红蛋白悬液。取原始标本 1 000 μL,分别加入 500.00、468.75、437.50、375.00、250.00 μL 0.9% NaCl 缓冲液,再分别加入 0.00、

31.25、62.50、125.00、250.00 μL 血红蛋白悬液并混匀,得到血红蛋白终水平分别为 0.0、2.5、5.0、10.0、20.0 g/L 而 HPV 水平相同的模拟溶血标本。

1.3.3 含血红蛋白的宫颈脱落细胞标本预处理 采用红细胞裂解液对不同水平血红蛋白的宫颈脱落细胞标本进行预处理,操作流程如下:向含血红蛋白的宫颈脱落细胞标本中加入 500 μL 红细胞裂解液,充分混匀,静置 5 min,2 000 r/min 离心 5 min 后去上清。向沉淀中加入 10 mL 0.9% NaCl 缓冲液并充分混匀,2 000 r/min 离心 5 min 后去上清,重复洗涤 2 次,去除残余的血红蛋白。向沉淀中加入 1 500 μL 0.9% NaCl 缓冲液,充分混匀备用。

1.3.4 HPV-DNA 检测步骤 主要检测步骤包括 HPV-DNA 提取和荧光定量 PCR 检测,每一步均严格按照试剂说明书进行操作。

1.3.5 结果判断 HPV-DNA 检测结果根据 PCR 扩增曲线的循环阈值(Ct 值)进行判断,判断标准参照 HPV 核酸检测试剂盒操作。Cobas z480 系统检测结果为定性结果,报告格式为 HPV-DNA 阳性/阴性,SLAN-96P 系统软件检测结果为相对定量结果,报告格式以 HPV-DNA 的拷贝数(copies/10⁴ 细胞)表示。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行数据处理分析,参照《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》^[3],定量结果用偏倚来表示,偏倚=(Ct_{实验组}−Ct_{靶值})/Ct_{靶值}×100%,至少 80% 样品测量结果偏倚<7.5%,即为可接受判断标准。定性结果用符合率表示,符合率>80%,即为可接受判断标准。

2 结果

2.1 不同水平血红蛋白对 HPV-DNA 定性检测结果的影响 HPV 阳性组中,当宫颈脱落细胞标本中血红蛋白水平为 2.5 和 5.0 g/L 时,HPV-DNA 阳性标本数为 20 个,符合率为 100%,在可接受范围内;当血红蛋白水平达到 10.0 和 20.0 g/L 时,HPV-DNA 阳性标本数分别为 13 个和 0 个,符合率分别为 65%和 0%,不在可接受范围内。HPV 阴性组中,HPV-DNA 在不同水平血红蛋白间均为阴性,符合率为 100%,在可接受范围内。见表 1。

2.2 不同水平血红蛋白对 HPV-DNA 定量检测结果的影响 HPV 阳性组中,当宫颈脱落细胞标本中血红蛋白水平为 2.5 和 5.0 g/L 时,所有标本 HPV-DNA 扩增 Ct 值的偏倚均小于 7.5%,在可接受范围内。当宫颈脱落细胞标本中血红蛋白水平达到 10.0 和 20.0 g/L 时,分别有 40%和 95%标本 HPV-DNA 扩增 Ct 值的偏倚超过 7.5%,不在可接受范围内。HPV 阴性组中,HPV-DNA 均无扩增曲线,定量检测结果为 0,偏倚也为 0,在可接受范围内。见表 2。

2.3 预处理后的含血红蛋白标本中 HPV-DNA 检测结果 向血红蛋白水平为 2.5、5.0、10.0、20.0 g/L

标本中加入红细胞裂解液进行预处理,再进行 HPV-DNA 载量检测。不同水平血红蛋白组的标本经过预处理后,HPV-DNA 定性检测结果与血红蛋白水平为 0.0 g/L 一致,符合率 100%,定量检测结果 Ct 值偏倚均小于 7.5%,在可接受范围内。见表 3、4。

表 1 不同水平血红蛋白对 HPV-DNA 定性检测结果的影响

血红蛋白水平(g/L)	HPV-DNA 阳性			HPV-DNA 阴性		
	阳性标本数(n)	阴性标本数(n)	符合率(%)	阳性标本数(n)	阴性标本数(n)	符合率(%)
0.0	20	0	—	0	20	—
2.5	20	0	100	0	20	100
5.0	20	0	100	0	20	100
10.0	13	7	65	0	20	100
20.0	0	20	0	0	20	100

表 2 不同水平血红蛋白对 HPV-DNA 定量检测 Ct 值的影响

序号	A Ct	B		C		D		E	
		Ct	偏倚(%)	Ct	偏倚(%)	Ct	偏倚(%)	Ct	偏倚(%)
1	20.80	21.20	1.92	21.30	2.40	21.79	4.76	23.23	11.68*
2	30.80	31.30	1.62	31.80	3.25	31.94	3.70	34.70	12.66*
3	22.21	22.35	0.63	22.44	1.04	22.72	2.30	25.12	13.10*
4	17.90	17.85	—0.28	18.04	0.78	20.18	12.74*	22.11	23.52*
5	16.50	16.65	0.91	16.58	0.48	16.80	1.82	18.60	12.73*
6	26.20	26.50	1.15	27.00	3.05	28.64	9.31*	28.94	10.46*
7	19.26	19.80	2.80	20.40	5.92	21.65	12.41*	22.61	17.39*
8	28.22	28.23	0.04	28.33	0.39	29.46	4.39	30.58	8.36*
9	27.80	28.40	2.16	28.90	3.96	31.34	12.73*	32.07	15.36*
10	23.90	24.10	0.84	24.04	0.59	24.32	1.76	24.70	3.35
11	21.80	22.05	1.14	22.29	2.25	22.61	3.73	24.40	11.91*
12	25.10	25.38	1.12	25.76	2.61	26.63	6.09	27.21	8.41*
13	23.65	24.15	2.13	24.23	2.46	25.06	5.96	25.61	8.29*
14	17.95	18.34	2.17	18.25	1.66	18.71	4.25	20.26	12.87*
15	28.20	28.51	1.11	29.01	2.87	30.56	8.37*	31.22	10.72*
16	26.54	27.37	3.11	27.63	4.12	29.41	10.83*	30.05	13.23*
17	20.11	20.34	1.15	20.82	3.51	21.33	6.08	21.81	8.45*
18	29.40	29.72	1.10	30.66	4.30	32.91	11.94*	33.62	14.35*
19	17.72	18.28	3.17	18.28	3.18	18.75	5.81	19.17	8.20*
20	29.91	30.24	1.10	31.20	4.33	32.86	9.88*	33.57	12.24*

注:A表示血红蛋白水平为 0.0 g/L;B表示血红蛋白水平为 2.5 g/L;C表示血红蛋白水平为 5.0 g/L;D表示血红蛋白水平为 10.0 g/L;E表示血红蛋白水平为 20.0 g/L;*表示偏倚大于 7.5%。

表 3 预处理后的含血红蛋白标本中 HPV-DNA 定性检测结果

血红蛋白水平/ 预处理(g/L)	HPV-DNA 阳性			HPV-DNA 阴性		
	阳性标本数(n)	阴性标本数(n)	符合率(%)	阳性标本数(n)	阴性标本数(n)	符合率(%)
0.0	20	0	—	0	20	—
2.5	20	0	100	0	20	100
5.0	20	0	100	0	20	100
10.0	20	0	100	0	20	100
20.0	20	0	100	0	20	100

表 4 预处理后的含血红蛋白标本中 HPV-DNA 定量检测结果

序号	A	B		C		D		E	
	Ct	Ct	偏倚(%)	Ct	偏倚(%)	Ct	偏倚(%)	Ct	偏倚(%)
1	20.80	21.60	3.85	20.50	−1.44	21.75	4.57	21.33	2.55
2	30.80	30.20	−1.95	31.30	1.62	31.66	2.79	31.42	2.01
3	22.21	21.35	−3.87	21.06	−5.18	23.11	4.05	23.12	4.10
4	17.90	17.50	−2.23	17.44	−2.57	18.36	2.57	18.45	3.07
5	16.50	16.80	1.82	16.07	−2.61	16.85	2.12	17.22	4.36
6	26.20	26.40	0.76	26.50	1.15	26.90	2.67	26.94	2.82
7	19.26	19.66	2.08	19.90	3.32	20.04	4.05	19.66	2.08
8	28.22	27.90	−1.13	27.83	−1.38	29.13	3.22	29.58	4.82
9	27.80	26.90	−3.24	28.50	2.52	28.63	2.99	28.67	3.13
10	23.90	23.50	−1.67	23.54	−1.51	24.35	1.88	24.67	3.22
11	21.80	21.51	−1.33	22.13	1.49	22.59	3.63	22.63	3.79
12	25.10	24.65	−1.81	25.11	0.03	25.85	2.99	25.52	1.67
13	23.65	23.27	−1.62	24.17	2.19	24.42	3.25	24.07	1.79
14	17.95	17.85	−0.54	18.18	1.28	18.43	2.67	18.39	2.46
15	28.20	27.59	−2.16	28.11	−0.31	28.91	2.53	29.19	3.51
16	26.54	26.01	−1.99	27.16	2.35	27.27	2.76	26.96	1.57
17	20.11	19.90	−1.02	20.27	0.81	20.32	1.06	19.94	−0.86
18	29.40	28.73	−2.28	29.27	−0.43	30.39	3.36	30.10	2.38
19	17.72	17.63	−0.49	17.96	1.34	18.03	1.75	17.62	−0.56
20	29.91	29.21	−2.33	30.35	1.48	30.60	2.32	30.93	3.41

注:A 表示血红蛋白水平为 0.0 g/L;B 表示血红蛋白水平为 2.5 g/L;C 表示血红蛋白水平为 5.0 g/L;D 表示血红蛋白水平为 10.0 g/L;E 表示血红蛋白水平为 20.0 g/L; * 表示偏倚大于 7.5%。

3 讨 论

目前,已发现的 HPV 型别多达 118 种,其中与人类生殖道黏膜感染相关的约 40 种,与宫颈癌及其癌前病变密切相关的仅有 13~18 种^[4-7]。一项来自国际癌症研究机构的多中心病例对照研究显示,高危型 HPV 感染患者罹患宫颈癌的风险是非感染者的 158.2 倍^[8]。因此,HPV 基因型的检测对于宫颈癌的预防、早期识别、治疗和预后都有非常重要的意义。

HPV 在体外很难进行培养,而且并不是所有的 HPV 感染患者都有明显的体液免疫反应,因此,通过病原学和免疫学方法很难诊断 HPV 感染。核酸检测是一种灵敏度和特异度高的检测手段,适用于 HPV 感染检测。目前,应用于 HPV 分型检测的方法主要包括多重荧光定量 PCR 法、核酸杂交捕获法以及 PCR 结合核酸杂交法,本研究中的两种 HPV-DNA 检测方法都是应用多重荧光定量 PCR 法检测多种高危型 HPV。PCR 技术具有特异度高、灵敏度高、快速、方便等优势,是目前 HPV-DNA 定量检测最常用的方法,普遍应用于 HPV 感染的诊断和动态监测^[9-11]。

荧光定量 PCR 是监测原始待测核酸模板的扩增过程,任何干扰 PCR 扩增的因素,都会影响扩增效率

和定量的准确性。血红蛋白是 DNA 聚合酶的抑制剂,当标本中存在红细胞时,红细胞破坏释放出血红蛋白,血红蛋白则会不同程度地影响 PCR 过程,造成假阴性结果^[12-14]。在临床工作中,很多妇科疾病,如宫颈炎性反应、宫颈癌等,常伴有阴道不规则出血,宫颈脱落细胞标本中就会含有不同量的红细胞,可能会造成实验结果的假阴性。但是,能够影响 HPV-DNA 检测结果的血红蛋白水平下限以及不同水平的血红蛋白对 HPV-DNA 检测结果影响是否一致的报道较少。葛燕梅等^[15]报道,血性宫颈脱落细胞标本有可能导致流式荧光杂交法 HPV 分型检测假阴性结果,未见关于血红蛋白对荧光定量 PCR 法检测 HPV-DNA 的影响。

本文通过制备不同水平血红蛋白的宫颈脱落细胞标本,检测各组 HPV-DNA 的载量,比较不同水平血红蛋白对 HPV-DNA 检测结果的影响,发现血红蛋白水平低于 5.0 g/L 时,HPV-DNA 定性结果与原始标本完全一致,符合率为 100%,定量结果中所有标本的 Ct 值偏倚均小于 7.5%,均在可接受范围内。当血红蛋白水平达到 10.0 g/L 时,HPV-DNA 定性结果有 35%与原始标本结果不一致,符合率仅为 65%,定量结果中有 40%标本 Ct 值偏倚超过 7.5%,不在可

接受范围内。当血红蛋白水平达到 20.0 g/L 时, HPV-DNA 定性结果全部为阴性, 与原始标本的符合率为 0%, 定量结果中有 95% 标本 Ct 值偏倚超过 7.5%, 二者均不在可接受范围内。全自动核酸提取仪一般采用磁珠法进行核酸提取, 首先将游离的核酸分子特异地吸附到磁性颗粒表面, 与蛋白质等杂质分离, 在磁场作用下经过 2 次洗涤, 血红素中的卟啉环和黏蛋白等干扰物均能被有效去除, 从而保证核酸提取的高纯度。由此可见, 当标本中血红蛋白水平低于 5.0 g/L 时, HPV-DNA 定性和定量检测结果均不受影响; 当标本中血红蛋白水平高于 10.0 g/L, HPV-DNA 定性和定量检测结果均受到明显干扰, 定性结果出现假阴性, 定量结果 Ct 值明显增大, 检测结果不可靠。

对于血性的宫颈脱落细胞标本, 本研究进行了预处理实验, 即通过加入红细胞裂解液破坏红细胞, 生理盐水洗涤去除残留血红蛋白, 并对预处理后的标本进行检测, 发现所有预处理后的标本中 HPV-DNA 定性和定量检测结果均与原始标本一致, 符合率和偏倚均在可接受范围内, 因此, 该方法适合于严重溶血的宫颈脱落细胞标本的预处理。此外, 本研究还纳入了 20 例 HPV-DNA 阴性组, 发现无论血红蛋白水平多少, 均不会对其结果产生影响。

本研究从临床送检标本中选取了 10 个溶血程度较严重的标本进行血红蛋白水平检测, 得到血红蛋白水平均小于 10.0 g/L, 提示临床送检的宫颈脱落细胞标本中所含的血红蛋白水平对 HPV-DNA 检测结果影响不大, 但是如果肉眼观察到溶血程度较严重的标本应给予重视, 有必要进行标本预处理, 降低待测标本中血红蛋白的水平, 保证检测结果的准确性。

4 结 论

血红蛋白在一定程度上会影响荧光定量 PCR 法检测宫颈脱落细胞标本中 HPV-DNA 的载量, 轻度溶血标本, 即血红蛋白水平低于 5.0 g/L 时, 标本无需进行预处理, 当标本中血红蛋白水平超过 10.0 g/L 时, 需要采用红细胞裂解液预处理标本后再进行检测, 以排除血红蛋白对 HPV-DNA 检测结果的影响。

参考文献

[1] RONCO G, SEGNA N. HPV testing for primary cervical cancer screening [J]. Lancet, 2007, 370(9601): 1740-1742.

[2] 刘立明, 李永利, 马洪, 等. 人乳头瘤 529 例病毒基因分型检测及临床分析[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版),

2012, 6(23): 7770-7772.

[3] 中国合格评定国家认可委员会. 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: CNAS-CL02-A009[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.

[4] WENTZENSEN N, ARBYN M. HPV-based cervical cancer screening-facts, fic-tion, and misperceptions [J]. Prev Med, 2017, 98: 33-55.

[5] VILLIERS E M, FAUGUET C, BROKER T R, et al. Classification of papillomaviruses [J]. Virology, 2004, 324(1): 17-27.

[6] VELENTZIS L S, CARUANA M, SIMMS K T, et al. How will transitioning from cytology to HPV testing change the balance between the benefits and harms of cervical cancer screening? Estimates of the impact on cervical cancer, treatment rates and adverse obstetric outcomes in Australia, a high vaccination coverage country [J]. Int J Cancer, 2017, 141(12): 2410-2422.

[7] SIMMS K T, HALL M, SMITH M A, et al. Optimal management strategies for primary hpv testing for cervical screening: cost-effectiveness evaluation for the national cervical screening program in australia [J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0163509.

[8] MUÑOZ N, BOSCH FX, SANJOSE S, et al. Epidemiologic classification of hu-man papillomavirus types associated with cervical cancer [J]. N Engl J Med, 2003, 348(6): 518-527.

[9] 曲守方, 于婷, 孙楠, 等. 人乳头瘤病毒核酸检测试剂盒评价 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(2): 181-182.

[10] 钱思宇. 人乳头瘤病毒检测方法研究 [J]. 实用医技杂志, 2016, 23(8): 859-861.

[11] ABREU A L, SOUZA R P, GIMENES F, et al. A review of methods for detect human Papillomavirus infection [J]. Virology Journal, 2012, 9: 262.

[12] WATERS D L, SHAPTER F M. The polymerase chain reaction (PCR): general methods [J]. Methods Mol Biol. 2014, 1099: 65-75.

[13] 晋向芳. 标本溶血、储存时间及温度对乙肝病毒 DNA 生化检测的结果影响分析 [J]. 中外医学研究, 2013, 11(11): 44-45.

[14] 沈克锋, 杨默, 江千里. 血液和骨髓标本中常见 PCR 反应抑制物的探究与分析 [J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(3): 842-846.

[15] 葛燕梅, 袁杭, 樊苏逸, 等. 血性宫颈脱落细胞标本对 HPV 核酸分型检测结果影响的研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(11): 1499-1501.

(收稿日期: 2019-06-25 修回日期: 2019-10-30)