

有显著的相关性($P < 0.05$)(见表 1)。

表 1 HPV 阳性组与 HPV 阴性对照组的 HSV-Ⅱ 的检测结果

HPV 分组	n	HSV-Ⅱ 阳性[n(%)]
阳性组	49	10(20.4)*
阴性组	40	3(7.5)

*:与 HPV 阴性组比较 $P < 0.05$ 。

3 讨论

宫颈癌是严重影响妇女的身体之一,发病率居全球恶性肿瘤第 2 位,仅次于乳腺癌。HPV 分低危和高危型,不同的地区其分布和不同年龄阶段女性的其阳性率有一定差异,与宫颈癌相关的型别也不尽相同。笔者前期研究表明,筛查人群在小于或等于 20 年龄段感染率较高,然后至 31~35 岁年龄段下降至最低,而后又于大于或等于 50 达到高峰,出现双峰现象,各年龄段 HPV 感染检出率差异有显著性意义^[6]。

林美姗等^[7]通过荧光 PCR 检测表明粤东地区 HSV-Ⅱ 的阳性率为 12.9%;正常妇女的宫颈 HSV-Ⅱ 的阳性率为 6.7%^[8]。本文采用荧光定量 PCR 检测 HPV 阳性组的 HSV-Ⅱ 的阳性率分别为 20.4%(10/49)和 7.5%(3/40),HPV 阳性组其 HSV-Ⅱ 的感染率明显高于 HPV 阴性对照组,说明 HPV 和 HSV-Ⅱ 的感染具有明显的相关性。

HSV-Ⅱ 可能在宫颈疾病的进程上起到协同致病因子的作用,当一种病原体感染以后会破坏生殖道的内环境,使患者的免疫状态发生改变,从而使另一种病原体易感,并抑制了宿主免疫系统的清除作用。因此,当发现有 HPV 或 HSV-Ⅱ 阳性的患者,应考虑是否有另一种病原菌感染合并感染。尽早发现,早治疗,防止多种病原体相互作用而加速宫颈病变进程,以更加积极的方式延缓疾病进程和预防宫颈癌的发生,对于有效

• 经验交流 •

广西钦州地区女性感染人乳头瘤病毒基因型分析

刘宁毅,陈良军,谢武琼,农 婷

(钦州市第二人民医院检验科,广西钦州 535000)

摘要:目的 了解广西钦州地区人乳头瘤病毒(HPV)感染及其型别分布情况,为 HPV 预防感染诊断和宫颈癌防治提供依据。**方法** 采用核酸扩增和反向点杂交技术检验 1 211 例临床怀疑 HPV(低危型:HPV6、11、42、43、44),高危型:HPV(16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、88、MM4)感染样本中 23 种 HPV 型别,对检测结果进行统计分析。**结果** 1 211 例检出 HPV 阳性 355 例,阳性率为 29.31%,其中低危型别感染率为 6.35%,高危型别感染率为 13.8%,单一型别感染率为 20.15%。两种型别混合感染率为 5.78%,3 种以上型别混和感染率为 3.39%,各种 HPV 型别检出患者在单一型别感染患者中所占的比例超过 5%的有 8 种:HPV16 型 14.34%、HPV6 型 11.07%、HPV18 型 10.25%、HPV43 型 10.25%、HPV58 型 9.84%、HPV33 型 8.6%、HPV11 型 8.2%、HPV52 型 6.56%,其余型别为 20.89%。HPV44、HPV39、HPV73、HPV83 和 MM4 未检出。宫颈癌 HPV 阳性率明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** HPV16、6、18、43、58、33、11、52 型是钦州地区主要感染类型,了解钦州地区人乳头瘤病毒(HPV)感染及其型别分布情况,为 HPV 预防感染诊断和宫颈癌防治提供依据。

关键词:人乳头瘤病毒; 基因分型; 宫颈疾病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.05.044

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2013)05-0610-02

人乳头瘤病毒(HPV)是定向感染人体皮肤及黏膜复层鳞状上皮细胞的一类乳头瘤病毒,可分为高危型和低危型。大量的研究证明 HPV,特别是高危型人乳头瘤病毒感染,在宫颈疾病的发生和发展中起着重要的作用。不同地区 HPV 的人群感染率不同,所携带的型别不同,与宫颈癌相关的型别也不尽

保障女性的身体健康具有十分重要的作用。

参考文献

- [1] Bosch FX, Lorincz A, Mufloz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and 是 cervical cancer[J]. J Clin Pathol, 2002, 55(4): 244-265.
- [2] 向华国, 曾锦婷, 何婉意. PCR-反向点杂交技术在女性下生殖道乳头瘤病毒感染分型检测的应用研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2012, 7(5): 367-368.
- [3] Liu SS, Leung RC, Chan KK, et al. Evaluation of a newly developed GenoArray human papillomavirus (HPV) genotyping assay and comparison with the Roche Linear Array HPV genotyping assay[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(3): 758-764.
- [4] Oh JK, Franceschi S, Kim BK, et al. Prevalence of human papillomavirus and Chlamydia trachomatis infection among women attending cervical Cancer screening in the Republic of Korea[J]. Eur J Cancer Prev, 2009, 18(1): 56-61.
- [5] 庄贤, 林莹. HPV, HSV2 感染及 C-erbB-2 表达与宫颈癌关系[J]. 汕头大学医学院学报, 2002, 15(4): 197-198.
- [6] 向华国, 黎国, 曾锦婷, 等. PCR-反向点杂交技术在女性下生殖道乳头瘤病毒感染分型检测的应用研究[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(8): 916-917.
- [7] 林美姗, 陈林兴, 林广玲, 等. 粤东地区四种性传播疾病病原感染的流行状况[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2009, 36(6): 162-164.
- [8] Csángó PA, Skuland J, Nilsen A, et al. Papillomavirus infection among abortion applicants and patients at a sexually transmitted disease clinic[J]. Sex Transm Dis, 1992, 19(3): 149-153.

(收稿日期:2012-11-23)

相同^[1-2]。随着对 HPV 研究的深入,分子生物学方法已成为目前临床实验室检测 HPV 感染的主要手段。本文应用近年建立的可以同时检测 23 种 HPV 型别的核算扩增和反向点杂交技术^[3]对 1 211 例患者样本进行了检测和分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 1 211 例患者标本取自本院门诊或住院疑似 HPV 感染的女性患者, 年龄 17~60 岁, 平均 38 岁。用专用宫颈脱落细胞采集器采集子宫颈脱落细胞、疾病部位分泌物或脱落细胞, -20 °C 以下保存, 10 d 内检测。

1.2 仪器与试剂 亚能生物技术(深圳)有限公司提供的 HPV 基因分型检测试剂盒及 HPV 基因芯片阅读仪; 凯普生物科技有限公司提供的基因扩增仪; 亚能生物技术(深圳)有限公司提供的 FYY-3 型分子杂交仪; 台式振荡器。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取 充分洗脱宫颈刷, 并在管壁上挤干。把 1 mL 洗脱液全部转移到 1.5 mL 离心管中, 13 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 保留管底的细胞沉淀。加入 50 μ L 裂解液悬浮沉淀, 沸水浴加热 10 min。13 000 r/min 离心 10 min, 保留上清液待用。

1.3.2 核酸扩增 取出 PCR 反应管, 在管盖上做好标记, 低速离心数秒, 分别加入已提取的待测样本 DNA 5 μ L, 反应总体系为 25 μ L, 低速离心数秒。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。扩增条件为 50 °C 15 min, 95 °C 10 min, 而后以 94 °C 30 s, 42 °C 90 s, 72 °C 30 s 进行 40 个循环, 最后 72 °C 延伸 5 min。

1.3.3 反向点杂交、显色及结果判定 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 杂交仪中杂交 1.5 h, 膜条转移至已于杂交仪中预热到 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 5 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 5 min, 再用 C 液室温轻摇 1~2 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。根据蓝色斑点出现的有无即可判断 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、显色等各环节操作正常, 此时结果真实有效。

1.3.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析, 计数资料以率表示, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV 感染率分析 1 211 例患者检出 355 例, 感染率为 29.31%, 其中低危型感染率为 6.35%(77/1 211), 高危型 HPV 感染率为 13.8%(167/1 211), 从感染的 HPV 型别看, 单一型别感染者占 20.15%(244/1 211), 两种型别混合型感染者占 5.78%(70/1 211), 3 种或以上型别混合感染者占 3.39%(41/1 211)。

2.2 HPV 各单一型别感染分布 各种 HPV 型别检出患者在单一型别感染的 224 例患者中所占的比例超过 5% 的有 8 种: HPV16 型 14.34%、HPV6 型 11.07%、HPV18 型 10.25%、HPV43 型 10.25%、HPV58 型 9.84%、HPV33 型 8.6%、HPV11 型 8.2%、HPV52 型 6.56%, 其余型别为 20.89%。HPV44、HPV39、HPV73、HPV83 和 MM4 未检出。

3 讨论

据统计, HPV 引起的生殖系统感染疾病近年来逐步攀升,

跃居为我国性病的第 2 位^[4]。HPV 可分为低危型和高危型, HPV 低危型常引起外生殖器湿疣、子宫颈上皮内轻度非典型增生(CIN I)等良性病变, 可治愈; HPV 高危型持续感染科与子宫颈上皮内瘤样高度病变(CIN II/CIN III)的发生相关, 尤其是 HPV16、18 型^[5-6]; 因此, 对 HPV-DNA 进行检测和基因分型对宫颈癌的早期防治有非常重要的意义。HPV 感染的亚型分布具有一定的地域性差异。从全球范围看主要是 16 型, 其次是 18 型, 分别占 51% 和 16.2%, 再次是 45、31、33 型。在宫颈细胞学诊断正常的人群中, 欧洲地区的型别分布以 HPV16、31、18 为主, 亚洲地区以 HPV16、18、33 为主, 南美地区以 HPV16、58、18 为主^[7]; 本调查结果显示, 广西钦州地区 HPV 亚型检出率前 8 位分别是: HPV16 型 14.34%、HPV6 型 11.07%、HPV18 型 10.25%、HPV43 型 10.25%、HPV58 型 9.84%、HPV33 型 8.6%、HPV11 型 8.2%、HPV52 型 6.56%, 其中以 HPV16 型最为常见, 提示钦州地区 HPV 高危型感染以 16、18、58、33 及 52 亚型为主, HPV 低危型主要以 6、43、11 亚型为主。本研究显示, 广西钦州地区女性感染人乳头瘤病毒基因亚型基本符合亚洲地区分布趋势, 但 HPV58 (9.84%) 占比例比 HPV33 (8.61%) 大, 还是存在一定的地域差异。另外, HPV44、HPV39、HPV73、HPV83 和 MM4 未检出是由于 HPV 型别分布具有地域性, 与方法学无关。

本文调查 HPV 感染单一型有 244 例(20.15%), 两种型别混合感染 70 例(5.78%), 3 种以上型别混和感染 41 例(3.39%), 随着宫颈病变级别的增加, 多重感染也呈增加趋势。多重感染可能预示机体对病毒清楚不全, Lee 等^[8]认为多重感染发生宫颈癌的危险性比单一型别的感染者高。

综上所述, 钦州地区 HPV 高危型感染以 16、18、58、33 及 52 亚型为主, 这项研究对 HPV 感染诊断和宫颈癌等疾病的防治是十分必要的。同时也指导本地区 HPV 疫苗的研究。

参考文献

- [1] Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer [J]. N Engl J Med, 2003, 348(6): 518-527.
- [2] Einstein MH, Goldberg GL. Human papillomavirus and cervical neoplasia [J]. Cancer Invest, 2002, 20(7/8): 1080-1085.
- [3] 何进才, 周小梅, 黄涛, 等. 反向杂交法检测 23 种人乳头瘤病毒型别的研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(1): 44-47.
- [4] 叶顺章, 邵长庚. 性病诊疗与预防 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 252-254.
- [5] Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer [J]. J Clin Pathol, 2002, 55(4): 244-265.
- [6] 郑英, 王春萍, 刘玉玲, 等. 宫颈/阴道液基细胞学 [M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2009.
- [7] Clifford GM, Smith JS, Plummer M, et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis [J]. Br J Cancer, 2003, 88(1): 63-73.
- [8] Lee SA, Kang D, Seo SS, et al. Multiple HPV infection in cervical Cancer screened by HPV DNA Chip [J]. Cancer Lett, 2003, 198(2): 187-192.