

11 625 名长沙市女性人乳头瘤病毒检测结果分析

龚亚芳, 薛敏(中南大学湘雅三医院妇科, 长沙 10013)

【摘要】目的 了解人乳头瘤病毒(HPV)基因亚型在长沙市女性人群中的感染情况、型别分布和年龄分布等特点。**方法** 选择 2012 年 9 月至 2013 年 6 月中南大学湘雅三医院体检的长沙市女性共 11 625 例,应用导流杂交基因芯片技术对其进行分型检测,分析 HPV 感染率及感染亚型。**结果** HPV 总感染率为 14.8%, HPV 亚型感染率从高到低依次为 52 型(4.0%), 58 型(2.4%), CP8304 型(2.1%), 16 型(2.0%), 53 型(1.7%)。其中单一型别感染率为 11.9%, 2 型混合感染率为 2.4%, 3 型(包括 3 型)以上多亚型感染率为 0.5%。不同年龄段 HPV 感染率比较,差异有统计学意义($\chi^2=16.48, P<0.01$),随着年龄的增加, HPV 的感染率逐渐增加。**结论** 长沙市女性人群中 HPV 感染率不高, 50~60 岁的感染率稍高。以单一亚型感染为主,其中 HPV52 为高危型 HPV。

【关键词】 人乳头状瘤病毒; 分型; 女性人群

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.19.013 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)19-2676-03

Analysis on human papillomavirus in 11 625 Changsha City female GONG Ya-fang, XUE Ming (Department of Gynecology, the Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan 410013, China)

【Abstract】Objective To explore the status of infection, the type distribution and age distribution of Human papillomaviruses (HPV) in women of Changsha. **Methods** 11 625 samples were detected and genotyped with gene-chips. The data were analyzed by the statistical software SPSS18.0. **Results** 14.8% of 11 625 samples were detected positive as HPV infection. While subtype infection were HPV52 (4.0%), HPV58 (2.4%), CP8304 (2.1%), HPV 16 (2.0%), HPV53 (1.7%). 11.9% were infected with single HPV genotype, while 2.4% were infected with two genotypes, 0.5% were infected with three or more genotypes. The HPV infection rate was significant different between different ages ($\chi^2=16.48, P<0.01$). HPV infection rates increased gradually as the age increased. **Conclusion**

HPV infection rate among women of Changsha was not high and most of them were single infection. Among the high risk HPV infections, HPV52 prevalence was highest. HPV infection rate was high for 50 to 60 years women.

【Key words】 human papillomaviruses; types distribution; female

人乳头瘤病毒(HPV)有多种基因型,由于 HPV 不同亚型致病性各有差异,故 HPV 分型检测对宫颈病变的早期筛查,防治及预后判断具有重要的临床意义。许多国家已将 HPV 检测纳入妇女宫颈癌筛查计划^[1],今年国家卫计委在全国开展宫颈癌筛查,以 HPV 检测为首检技术,本院承担了此项目,但 HPV 感染具有地域性、民族性且感染差异性大等特点^[2]。因此,研究各地区 HPV 基因型有很大的现实意义。本次通过对长沙市女性进行 HPV 基因型的检测,探讨该地区女性人群 HPV 感染的基因谱,各亚型感染率及不同年龄段感染率情况。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 9 月至 2013 年 6 月本院体检的长沙市女性共 11 625 例,年龄 21~76 岁,平均年龄(45.2±11.3)岁。

1.2 仪器与试剂 杭州博日 BIOER life Express PCR 仪;高速离心机(长沙湘仪离心机有限公司);HybriMax 医用核酸分子快速杂交仪和 HPV 分型检测试剂盒均由凯普生物科技有限公司生产。

1.3 方法 导流杂交基因芯片技术能检测 21 种 HPV 基因型别,其中 16 种高危亚型:16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、

56、58、59、66、68、CP8304;5 种低危亚型:6、11、42、43、44。

1.3.1 宫颈细胞 DNA 分离提取 取 800 μL 标本 14 000 转离心 5 min,去除上清液,加 400 μL 溶液 I 混匀,100 $^{\circ}\text{C}$ 金属浴加热 15 min,加 400 μL 溶液 II 震荡混匀静置 2 min,14 000 转离心 5 min,去除上清液,加 60 μL 溶液 III 震荡混匀,离心 1 min 提取 1 μL 上清液至 PCR 反应管。

1.3.2 PCR 扩增 取 Premix 液 23.25 μL ,Taq 酶 0.75 μL ,待检上清液 1 μL ,PCR 反应总体积为 25 μL ,按试剂盒说明书进行 40 个循环扩增。

1.3.3 PCR 产物杂交 扩增产物 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min,迅速放入冰水浴,加 800 μL 杂交液预杂交 2~5 min,把变性好的产物和 500 μL 杂交液加入反应池,杂交 10 min,冲洗,加 500 μL 封阻液进行预封阻,预封阻完后加入 500 μL 封阻液进行封阻 7 min,排干封阻液加入 500 μL 酶标液,反应 3.5 min,排干,溶液 A 冲洗 4 次,加入 500 μL 显色液,避光显色 5~10 min,溶液 B 冲洗 3 次,判读结果。

1.3.4 结果判定 杂交膜具体探针位置,其中 Biotin 为杂交反应对照点,IC 点为 PCR 扩增反应对照点。正常结果这两个点都会显色,其他为阳性结果点。HPV 单一感染时,在导流杂交膜芯片上相应的 HPV 亚型探针位点处可见一黑色圆点,多

亚型感染时,在膜上可见 2 个或 2 个以上的显色斑点。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件对数据进行统计学分析,计数资料采用百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HPV 总阳性率及各基因型阳性率 在 11 625 例标本中,HPV 阳性共 1 722 例,总阳性率为 14.8%。在高危亚型中阳性检出率最高的分别为 52 型(4.0%)、58 型(2.4%)、CP8304 型(2.1%)、16 型(2.0%)、53 型(1.7%)。低危亚型中阳性检出率最高的是 6 型(0.3%),各基因阳性率详见表 1。

表 1 HPV 总阳性率及不同亚型阳性率[n(%)]

HPV 亚型	HPV 阳性率	HPV 亚型	HPV 阳性率
高危亚型		58 型	279(2.4)
16 型	229(2.0)	59 型	33(0.3)
18 型	75(0.7)	66 型	65(0.6)
31 型	61(0.5)	68 型	95(0.8)
33 型	118(1.0)	CP8304 型	246(2.1)
35 型	14(0.1)	低危亚型	
39 型	70(0.6)	6 型	37(0.3)
45 型	12(0.1)	11 型	19(0.2)
51 型	41(0.4)	42 型	29(0.2)
52 型	466(4.0)	43 型	0(0.0)
53 型	197(1.7)	44 型	22(0.2)
56 型	40(0.3)	—	—

注:某基因型阳性率指该基因型单独或与其他型共同出现的阳性率,多重感染重复计算。如某患者检测结果为 HPV16、18 二重感染,计算时分别在 HPV16 和 HPV18 中各计数 1 次。—表示无数据。

2.2 HPV 多亚型感染的比例 在 1 722 例阳性结果中,单亚型感染 1 379 例,占感染比例的 80.1%,2 型、3 型、4 型与 5 型感染分别为 282 例、46 例、9 例和 6 例,分别占总感染率的 16.4%、2.7%、0.5%和 0.3%。

2.3 HPV 感染与年龄分布 HPV 感染在 50~60 岁组阳性率最高,为 16.0%,各年龄段的 HPV 阳性率之间比较,差异具有统计学意义($\chi^2=16.48, P<0.01$)。见表 2。

表 2 HPV 感染与年龄分布[n(%)]

年龄(岁)	n	HPV 阳性率
21~30	870	102(11.7)
>30~40	3 572	509(14.2)
>40~50	3 917	619(15.8)
>50~60	1 820	292(16.0)
>60	1 331	172(12.9)

注:年龄缺失 115 例,未列入年龄分组。

2.4 高感染率 HPV 亚型与年龄分布 根据上述 HPV 感染不同亚型的感染率分析结果排序,选取高危亚型中感染率最高的前 5 种 HPV,进行年龄分层分析,其中 52 型和 58 型在 50~60 岁感染率较高,分别为 5.1%和 3.1%,但 16 型感染率最高的年龄在 21~30 岁,为 2.4%,见表 3。

表 3 HPV 常见亚型与年龄分布[n(%)]

年龄(岁)	n	52 型	58 型	16 型	53 型	CP8304 型
21~30	870	24(2.8)	15(1.7)	21(2.4)	13(1.5)	12(1.4)
>30~40	3 572	129(3.6)	72(2.0)	77(2.2)	54(1.5)	71(2.0)
>40~50	3 917	161(4.1)	93(2.4)	75(1.9)	72(1.8)	98(2.5)
>50~60	1 820	92(5.1)	57(3.1)	29(1.6)	27(1.5)	45(2.5)
>61	1 331	53(4.0)	39(2.9)	20(1.5)	27(2.0)	17(1.3)
总计	11 510	459(4.0)	276(2.4)	222(1.9)	193(1.7)	243(2.1)

3 讨 论

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,其在女性生殖道中具有较高的感染率,目前大量研究已证实持续感染同一亚型 HPV 是宫颈癌发生的重要条件^[3]。HPV 筛查近年成了宫颈癌筛查的重要手段,但大多数病毒感染者并不进展为癌,有报导称从持续高危 HPV 感染开始至宫颈癌的发生时间大约为 15 年^[4],单一的 HPV 阳性可能导致一过性 HPV 感染者过度关注和忧虑,频繁检查,甚至接受不必要的治疗。如何从这些感染者中筛选出高危患者就显得更为重要,找到更敏感、更有效的检测指标以提高罹患宫颈癌的风险预测就更有意义了。

本研究结果显示,长沙市女性人群 HPV 感染率为 14.8%,低于国内报道的一般门诊感染率,如聂妹芳等^[5]阳性总检出率为 44.5%,海南地区阳性率为 59.2%^[6],侯萌等^[7]调查的感染率为 37.2%,张东红和林美珊^[8]的平均感染率为 46.5%。这可能与地域差异有关,而且也与本研究选择的是体检人群而不是门诊或住院患者有关。在本研究中,排在前 5 位的 HPV 亚型分别是 52、58、CP8304、16 和 53 型。武汉常见的亚型是 16、58、52、33 型^[9];浙江省感染率最高的 5 种型别是 HPV52、16、58、68 和 81 型^[10],在东莞地区主要以 16、52 和 53 型感染为主^[11]。鲍彦平报道 HPV16、58、52 型在亚洲(尤其是中国高发区)人群中具有重要的意义^[12]。这说明在各个地区 HPV 流行的亚型是有差异的,这对疫苗的研发具有指导意义。目前第一代疫苗只针对 HPV16 和 18 型,在新一代的疫苗研发中,世界卫生组织专家提出如果增加 HPV31、33、35、45、52 和 58 型,可以在预防 70%的宫颈癌基础上增加约 20%的预防能力^[12],与此同时我国 HPV 疫苗的研发还应该对 HPV58 和 52 型予以足够重视。这次对长沙市女性人群的筛查发现,感染率最高的是 52 型,其次是 58 型、CP8304 型,感染类型以单一亚型感染为主,占总感染数的 80.1%,这表明不同人群感染 HPV 亚型不同,如对于普通人群实施疫苗接种首先考虑 52 型,这样有人群针对性的接种,可以提高疫苗使用效率,也可节约国家医疗资源。

HPV 在年轻女性中感染率最高,认为这和年轻女性性生活活跃有关。但也有研究认为 HPV 在 20 岁以下和 50 岁以上的患者阳性检出率最高^[13]。在本研究中,随着年龄增长感染率增加,表明不同研究结果的差异可能是由于所选择人群的年龄不同所导致。

综上所述,长沙市女性人群中 HPV 感染率不高,50~60 岁的感染率稍高。以单一亚型感染为主,其中 HPV52 为高危型 HPV。应该加强筛查工作,对减少宫颈癌的发生有着重要

作用。

参考文献

[1] 钟伟明,黄善忠,韦干芬. HPV 病毒与宫颈癌的研究进展[J]. 中国社区医师:医学专业,2011(17):95.
 [2] 赵蓉,张为远,张沁文,等. 2006~2008 年北京地区 25~54 岁育龄妇女 HPV 亚型感染状况的调查[J]. 中华妇产科杂志,2011,46(3):184-187.
 [3] Huang MZ, Li HB, Nie XM, et al. An analysis on the combination expression of HPV L1 capsid protein and p16INK4a in cervical lesions[J]. Diagn Cytopathol, 2010, 38(8):573-578.
 [4] Josefsson AM, Magnusson PK, Ylitalo N, et al. Viral load of human papilloma virus 16 as a determinant for development of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study[J]. Lancet, 2000, 355(9222):2189-2193.
 [5] 聂妹芳,李登清,黄民主,等. 11 461 例妇科门诊患者 HPV 亚型感染状况的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2011,21(27):3434-3438.
 [6] 钟威达,林丽华,文蛟龙,等. 海南地区妇女 TCT 及 HPV 亚型感染的研究[J]. 中国现代医学杂志,2012,22(12):47-50.

[7] 侯萌,李娜,朱广霞,等. 妇科门诊患者宫颈人乳头瘤病毒的感染情况分析[J]. 西安交通大学学报:医学版,2013, 34(2):229-232.
 [8] 张东红,林美珊. 人乳头瘤病毒在国人宫颈病变中感染及型别分布特征的 Meta 分析[J]. 中国全科医学,2010,13(12):1287-1290.
 [9] 邱琳,张雅琪,周爱芬,等. 1 955 例武汉市农村妇女 HPV 感染状况与危险因素分析[J]. 实用妇产科杂志,2013,29(9):662-666.
 [10] Jing Ye, Xiaodong cheng, Xiaojing chen, et al. Prevalence and risk profile of cervical human papillomavirus infection in Zhejiang Province, southeast China: a population-based study[J]. Virol J, 2010, 7(66):1-11.
 [11] 高宇琳. 广东省东莞市 2628 例妇科患者人乳头状病毒感染调查分析[J]. 中国医药导报,2013,10(7):134-135.
 [12] 鲍彦平. 山西阳城县妇女子宫颈中人乳头瘤病毒(HPV)型别研究及中国和亚洲妇女子宫颈中 HPV 型别分布的 Meta 分析[D]. 北京:中国协和医科大学,2007:85.
 [13] 唐良菡,冷若冰. 人乳头瘤病毒疫苗的临床应用[J]. 实用妇产科杂志,2013,29(3):172-174.

(收稿日期:2014-01-07 修回日期:2014-05-30)

(上接第 2675 页)

通过回顾性分析,发现两次入院的药敏结果由敏感转变耐药的有妥布霉素、阿米卡星、庆大霉素、头孢吡肟、哌拉西林-他唑巴坦、替卡西林-克拉维酸及哌拉西林等 7 种,说明该患者在第一次住院期间大量使用这 7 种抗菌药物。而复方磺胺甲噁唑和复方氨苄西林由耐药转为敏感却值得进一步探讨。从本文中可以看出,当前复方磺胺甲噁唑和复方氨苄西林已不适合本院铜绿假单胞菌感染的抗菌治疗。

本研究结果显示,亚胺培南和美洛培南在不同疾病及男女间比较,差异均无统计学意义($U=1.53, P>0.05; U=1.76, P>0.05. U=0.30, P>0.05; U=0.17, P>0.05$)。说明近年来这两种抗菌药物的敏感率不断下降,耐药变得更加严峻^[6]。本研究结果还显示,阿米卡星在男性中敏感率为 92.75%,而在女性中为 100.00%,两者比较,差异具有统计学意义($U=2.74, P<0.01$)。说明不同感染菌及不同性别中的抗菌药物应根据药敏结果对症下药,切勿盲目用药及经验用药^[7],这也再次验证本科建立细菌耐药预警系统的重要性和必要性。本研究中内科和综合科占有全院 69.20% 的铜绿假单胞菌,多为脑出血等脑部疾病的老年患者,高龄、合并其他疾病、免疫功能下降、长期使用抗菌药物等各种原因,导致这类患者感染机会增加^[8-10]。

综上所述,本院铜绿假单胞菌的耐药性已十分严重,应引起临床医生高度关注。结合本院细菌耐药预警监测系统,并根据药敏结果合理使用抗菌药物,避免滥用抗菌药物,对于临床治疗和减少耐药菌株的发生具有重要意义。

参考文献

[1] 叶应妩,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.

[2] 黄学忠,金彬彬,林佩佩,等. 细菌耐药监测预警系统的设计与应用[J]. 东南国防医药,2012,14(4):301-304.
 [3] 黄学忠,刘瑾,林初希. 利用 Excel 操作平台创建检验危急值报告检索系统[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(19):2288-2290.
 [4] 张鸿,申建维,孙秀琴,等. 医院感染铜绿假单胞菌的耐药性变迁分析[J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(2):449-451.
 [5] 左虹. 铜绿假单胞菌医院感染现状及耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2013,10(2):159-160.
 [6] 黄学忠,林佩佩,陈晓飞. 痰标本铜绿假单胞菌 224 株 5 年耐药变迁[J]. 检验医学与临床,2013,10(5):560-561.
 [7] 雷明德,黄学忠,陈晓飞,等. 临床分离大肠埃希菌体外药敏试验检测结果分析[J]. 检验医学与临床,2014,11(3):350-352.
 [8] 刘永芳,张浩,周云,等. 外排泵抑制剂对铜绿假单胞菌碳青霉烯类抗菌药物敏感性的影响[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(5):841-843.
 [9] 韦英海,吴振宏,张帮献,等. 住院脑出血患者肺部感染的病原菌分布及危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(13):2819-2821.
 [10] 胡锡浩,许小敏,冯伟云,等. 烧伤科铜绿假单胞菌 20 种 β -内酰胺酶基因与膜孔蛋白 oprD_2 基因研究[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(21):4419-4422.

(收稿日期:2014-02-13 修回日期:2014-05-06)