

615例门诊就诊者HPV基因检测结果分析

林丽华, 钟娜, 乔凤, 张丽芬

(海南省皮肤性病防治中心, 海南 海口 570206)

【摘要】 目的 了解海口地区人乳头瘤病毒(HPV)感染的情况,为HPV感染患者的治疗及监测提供科学依据。**方法** 采用实时荧光定量PCR方法(FQ-PCR)对海口地区615例性病门诊就诊者泌尿系分泌物标本的HPV6,11型和HR-HPV(8个型)进行检测。**结果** 615例样本中检出HPV阳性者302例,感染率为49.11%(302/615),其中HPV6,11-DNA阳性130例,阳性率为21.14%(130/615),HR-HPV-DNA阳性126例,阳性率为20.49%(126/615),HPV6,11型合并HR-HPV阳性46例,占7.48%(46/615)。HPV6,11低危型与HR-HPV混合高危型比较差异无统计学意义($P>0.05$)。302例HPV感染者中尖锐湿疣(CA)患者187例,占61.92%(187/302),检出HPV6,11-DNA阳性126例,占67.38%(126/187),HR-HPV-DNA阳性19例,占10.16%(19/187),HPV6,11型和HR-HPV混合感染42例,占22.46%(42/187)。CA患者感染以HPV6,11低危型为主,HPV6,11/HR-HPV次之,少部分为高危混合型HR-HPV感染,各组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** 尖锐湿疣主要的基因型感染是低危型HPV6,11,高危型HPV感染多以混合感染形式存在。荧光定量PCR方法检测尖锐湿疣患者HPV基因型具有快速、准确的优点,是临床HPV感染分型检测的有效方法。

【关键词】 人乳头瘤病毒;FQ-PCR;感染率;尖锐湿疣

【中图分类号】 R373 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2015)18-2723-02

Human papillomavirus gene analysis of 615 out-patients. LIN Li-hua, ZHONG Na, QIAO Feng, ZHANG Li-fen. Hainan Provincial Center for STD/Skin Disease Control and Prevention, Haikou 570206, Hainan, CHINA

【Abstract】 Objective To explore human papillomavirus (HPV) infection in people in Haikou, China, and provide a basis for the treatment and monitoring of HPV-infected patients. **Methods** The urinary secretion specimens of 615 patients from Out-patient Department of Venereal Diseases were analyzed with real-time fluorescent quantitation PCR (FQ-PCR) for HPV6,11 and HR-HPV (8 types). **Results** Of the 615 specimens, 302 (49.11%, 302/615) were positive of HPV, including 130 (21.14%, 130/302) positive of HPV6,11 DNA, 126 (20.49%, 126/302) positive of HR-HPV DNA, and 46 (7.48%, 46/302) positive of both HPV6,11 and HR-HPV DNA. There was no statistically significant difference between the low-risk group (HPV6,11) and the high-risk group (HPV6,11 combined with HR-HPV), $P>0.05$. Of the 302 HPV-infected patients, 187 (61.92%, 187/302) had condyloma acuminata (CA), out of which 126 (67.38%, 126/187) were positive for HPV6,11 DNA, 19 (10.16%, 19/187) positive for HR-HPV DNA and 42 (22.46%, 42/187) positive for both HPV6,11 and HR-HPV DNA. Infection with low-risk HPV6,11 was mostly seen in these CA patients, followed by mixed infection with both HPV6,11 and HR-HPV and then by high-risk infection with HR-HPV, where the differences among groups were significant ($P<0.01$). **Conclusion** The main genotype of CA is low-risk HPV6,11, while the high-risk genotype of HPV often exists in a mixed status. Being rapid and precise in the determination of HPV genotype in CA patients, fluorescent quantitation PCR is an effective clinical method for classifying HPV infection.

【Key words】 Human papillomavirus; Fluorescent quantitation PCR; Infection rate; Condyloma acuminata

人乳头瘤病毒(HPV)是一种小分子双链DNA病毒,对人皮肤、黏膜有高度亲嗜性,根据其基因序列多态性,目前已经发现200余种亚型,约有40种涉及生殖道感染^[1]。根据不同基因型与癌发生危险性的高低分为高危型和低危型,高危型HPV与宫颈癌和宫颈上皮内瘤变有关,包括16、18、31、33型等;低危型HPV与外生殖器尖锐湿疣等良性病变有关,包括6、11、42、43型等^[2-3]。为了解海口地区HPV感染的情况,我们采用实时荧光定量-PCR法对615例性病门诊就诊者进行HPV6,11-

DNA和HR-HPV-DNA检测,现将结果报道如下:

1 资料与方法

1.1 标本来源 选取我院2012年3月至2015年2月性病门诊就诊者615例,男性396例,女性219例。其中尖锐湿疣(CA)患者187例。

1.2 标本采集 男性尿道分泌物的采集用无菌棉拭子插入尿道2~3 cm轻轻转动后取出立即置于采集管中;女性按常规消毒采集宫颈脱落细胞,置无菌采集管立即送检。尖锐湿疣患者标本的采集用无菌

棉拭子刮取包皮、尿道口、大小阴唇、阴道口和肛周赘生物组织液,密闭送检。

1.3 仪器与试剂 使用罗氏公司生产的 LightCycler2.0 基因扩增仪;HPV6,11 型核酸检测试剂盒,HR-HPV (8 个型)核酸检测试剂盒(包含 16、18、31、33、45、52、56、58 型)。试剂盒与质控品均为中山大学达安基因股份有限公司产品。

1.4 DNA 提取及检测 将标本洗脱在 1 ml 灭菌生理盐水的 1.5 ml 离心管中,12 000 次/min 离心 5 min,弃去上清液,于沉淀物中加入 50 μ l DNA 提取液充分混匀,100℃ 恒温水浴中处理 10 min,12 000 次/min 离心 5 min,吸取上清液 2 μ l 加入毛细反应管中进行 PCR 反应。扩增参数及结果判定严格按照试剂盒说明书进行。

1.5 统计学方法 采用 SPSS15.0 统计学软件进行数据分析,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 615 例性病门诊就诊者 HPV-DNA 检测结果 615 例样本共检出 HPV 阳性 302 例,感染率为 49.11% (302/615),其中 HPV6,11 型阳性 130 例,阳性率为 21.14% (130/615),HR-HPV 混合型阳性 126 例,阳性率为 20.49% (126/615),HPV6,11 型合并 HR-HPV 阳性 46 例,占 7.48% (46/615)。HPV6,11 低危型与 HR-HPV 混合高危型感染率比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.08, P > 0.05$)。

2.2 187 例 CA 患者 HPV-DNA 检测结果 302 例 HPV 感染者中 CA 患者 187 例,占 61.92% (187/302),其中检出 HPV6,11 型阳性 126 例,占 67.38% (126/187),HR-HPV 混合型阳性 19 例,占 10.16% (19/187),HPV6,11 型和 HR-HPV 混合感染 42 例,占 22.46% (42/187)。CA 患者感染以 HPV6,11 低危型为主,HPV6,11/HR-HPV 次之,少部分为高危混合型 HR-HPV 感染,各类型 HPV-DNA 检测结果比较差异有显著统计学意义 ($\chi^2 = 128.95, P < 0.01$)。

3 讨论

HPV 是一种小分子双链 DNA 病毒,对人体的皮肤和黏膜具有高度亲和力^[4]。按其致癌性可分为高危型和低危型两大类,流行病学调查研究发现,HPV 感染型别与地区和人群差异有关,分析感染情况以及基因型分布可以有效判断患者预后,具有十分重要的临床价值^[5]。本文通过对 615 例海口地区性病门诊就诊者的泌尿系分泌物样本,用荧光定量 PCR 技术进行 HPV6,

11-DNA 和 HR-HPV (8 个型) DNA 检测,共检出 HPV 阳性 302 例,感染率为 49.11%,其中 HPV6,11-DNA 阳性 130 例,阳性率为 21.14%,HR-HPV-DNA 阳性 126 例,阳性率为 20.49%,明显高于王小伦等^[6]报道的江西萍乡 HPV 感染率(29.6%)。这可能与检测的对象、采用的检测技术不同有关,临床上应给予重视。

CA 是 HPV 引起的一种性传播疾病(STD),以瘤样增生性皮损为主要临床表现。海口地区 302 例 HPV 感染者中有 187 例为 CA 患者,发病率高达 67.36%,其中 121 例为男性,经调查发现男男同性恋者占 30%,相关部门须引起重视,加强宣传教育,制订科学的干预措施,阻断 HPV 感染途径,降低 CA 发病率。

目前 HPV 检测方法有聚合酶链反应(PCR)、实时荧光 PCR、PCR-反向定点杂交法、导流杂交法、流式荧光杂交法,我们采用了实时荧光定量-PCR 方法,该法是一种较简单的分子生物学技术,具有特异性强、敏感度高、步骤简单、自动化程度高、操作快速、结果准确等优点^[7],为临床早期提供可靠的诊断依据,值得推广应用。

本文结果初步反映了性病门诊就诊者 HPV 感染的情况,为临床对 HPV 感染患者的治疗监测及预后判断等提供重要的科学依据。

参考文献

- [1] Culton DA, Morrell DS, Burkhar CN. The management of condyloma acuminata in the pediatric population [J]. *Pediatr Ann*, 2009, 38 (7): 368-372.
- [2] Jimenez-Vieyra CR. Prevalence of condyloma acuminata in women who went to opportune detection of cervicouterine cancer [J]. *Gineclo Obset Mex*, 2010, 78(2): 99-102.
- [3] Lee CB, Choe HS, Hwang SJ, et al. Epidemiological characteristics of genital herpes and condyloma acuminata in patients presenting to urologic and gynecologic clinics in Korea [J]. *J Infect Chemother*, 2011, 17(3): 351-357.
- [4] Scherpenisse M, Mollers M, Schepp RM, et al. Detection of systemic and mucosal HPV-specific IgG antibodies in adolescent girls one and two years after HPV vaccination [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2012, 9(2): 543-546.
- [5] Giuliano AR, Lazcano Ponce E, Villa LL, et al. The human papillomavirus infection in men study: human papillomavirus prevalence and type distribution among men residing in Brazil, Mexico, and the United States [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008, 17 (8): 2036-2043.
- [6] 王小伦,谭亚林,许琦.人乳头瘤病毒检测筛查早期宫颈癌的意义[J]. *中国医药指南*, 2013, 11(33): 191-192.
- [7] 赖迪辉,朱威,连石.单纯疱疹病毒实验室检测方法的研究进展[J]. *中国计划生育学杂志*, 2010, 6(177): 380-381.

(收稿日期:2015-05-10)