

## 慢性宫颈炎患者 HPV 感染状况、 基因型分布及其与阴道微生态指标的相关性研究

张海琴, 刘娟娟, 娄俊丽, 雷申琼

铜川市妇幼保健院妇产科, 陕西 铜川 727000

**【摘要】** 目的 研究慢性宫颈炎患者人乳头瘤病毒(HPV)感染状况、基因型分布及其与阴道微生态指标的相关性。方法 选取 2018 年 1 月至 2020 年 12 月于铜川市妇幼保健院妇科门诊收治的 140 例慢性宫颈炎患者作为病例组,另选取同期在我院体检的 60 例正常健康妇女作为正常组,比较两组妇女的不同 HPV 基因型分布、HPV 感染情况和阴道微生态指标(乳酸杆菌、阴道 pH、白细胞酯酶、唾液酸甘酶),采用 Spearman 相关分析高危型 HPV 感染与慢性宫颈炎患者阴道微生态指标之间的相关性。结果 病例组患者检出 HPV 阳性 72 例(51.43%),其中 59 例为单一感染,13 例为多重感染;病例组患者的 HPV6、HPV16 检出率明显高于正常组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );病例组患者的乳酸杆菌多分布、阴道 pH>4.5 占比分别为 62.86%、60.00%,均高于正常组的 36.67%、43.33%,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );病例组患者的白细胞酯酶阳性率、唾液酸甘酶阳性率分别为 69.29%和 61.43%,明显高于正常组的 48.33%和 45.00%,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );高危型患者的乳酸杆菌多分布占比为 34.78%,明显低于低危型患者的 66.67%,差异有统计学意义( $P<0.05$ );高危型患者的白细胞酯酶、唾液酸甘酶阳性率分别为 56.52%和 60.87%,明显高于低危型的 27.78%和 33.33%,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );高危型 HPV 感染与慢性宫颈炎患者的乳酸杆菌、白细胞酯酶、唾液酸甘酶呈正相关( $r=0.684, 0.523, 0.621, P<0.05$ )。结论 慢性宫颈炎患者 HPV 感染率较高,以单一感染为主,复合型感染以高危型多重感染为主,且慢性宫颈炎患者存在阴道微生态失衡,高危型 HPV 感染与阴道微生态指标存在较强的相关性。

**【关键词】** 宫颈炎;人乳头瘤病毒;基因型;乳酸杆菌;阴道 pH;白细胞酯酶;唾液酸甘酶

**【中图分类号】** R711.32 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2022)04-0464-04

**HPV infection, genotypes distribution of patients with chronic cervicitis and their correlation with vaginal micro-ecology indexes.** ZHANG Hai-qin, LIU Juan-juan, LOU Jun-li, LEI Shen-qiong. Department of Obstetrics and Gynecology, Tongchuan Maternal and Child Health Hospital, Tongchuan 727000, Shaanxi, CHINA

**【Abstract】 Objective** To study human papillomavirus (HPV) infection, genotypes distribution in patients with chronic cervicitis and its correlation with vaginal micro-ecology indexes. **Methods** During the period from January 2018 to December 2020, 140 patients with chronic cervicitis admitted to Department of Obstetrics and Gynecology, Tongchuan Maternal and Child Health Hospital were enrolled as the study group, while 60 healthy women undergoing physical examination were enrolled as control group. The distribution of different HPV genotypes, HPV infection and vaginal micro-ecology indexes (Lactobacillus, vaginal pH, leukocyte esterase, neuraminidase) were compared between the two groups. The correlation among high-risk HPV infection and vaginal micro-ecology indexes was analyzed by Spearman correlation analysis. **Results** In the 140 patients with chronic cervicitis, there were 72 cases (51.43%) with positive HPV, including 59 cases (42.14%) with single infection and 13 cases (9.29%) with multiple infection. The detection rates of HPV6 and HPV16 in the study group were significantly higher than those in the control group ( $P<0.05$ ). The multi-distribution of Lactobacilli, vaginal pH>4.5 in the study group were 62.86% and 60.00%, significantly higher than 36.67% and 43.33% in the control group ( $P<0.05$ ). The positive rates of leukocyte esterase and neuraminidase in the study group were 69.29% and 61.43%, significantly higher than 48.33%, 45.00% in the control group ( $P<0.05$ ). The multi-distribution of Lactobacillus in high-risk patients were significantly lower than that in low-risk patients: 34.78% vs 66.67%,  $P<0.05$ . The positive rates of leukocyte esterase and neuraminidase in high-risk patients were 56.52% and 60.87%, significantly higher than 27.78% and 33.33% in low-risk patients ( $P<0.05$ ). High-risk HPV infection was positively correlated with vaginal micro-ecology indexes (Lactobacillus, leukocyte esterase, neuraminidase) in patients with chronic cervicitis ( $r=0.684, 0.523, 0.621, P<0.05$ ). **Conclusion** The incidence of HPV infection is relatively higher in patients with chronic cervicitis, mainly single infection. Compound infection mainly includes high-risk multiple infection. There is vaginal micro-ecology imbalance in patients with chronic cervicitis. Significant correlation is found between high-risk HPV infection and vaginal micro-ecology indexes.

**【Key words】** Cervicitis; Human papillomavirus; Genotypes; Lactobacillus; Vaginal pH; Leukocyte esterase; Neuraminidase

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)作为一种嗜上皮性病毒<sup>[1]</sup>,属于乳头多瘤空泡病毒科乳头瘤病毒属,分布广泛,宿主特异性高。不同类型 HPV 的致病程度差异明显<sup>[2]</sup>,高危型 HPV 感染是宫颈癌、宫颈上皮内瘤病变的主要发病原因<sup>[3]</sup>,而低危型 HPV 感染与生殖器尖锐湿疣等密切相关<sup>[4]</sup>。慢性宫颈炎是妇科门诊较常见的疾病,多合并 HPV 感染,同时慢性宫颈炎导致的宫颈糜烂,使病毒较易进入细胞,增大 HPV 感染风险。近年来,阴道微生物的相关研究是宫颈病变领域的关注热点<sup>[5-6]</sup>,许多妇科类疾病均与阴道微生物的状态有紧密联系<sup>[7-8]</sup>。有鉴于此,本研究分析慢性宫颈炎患者 HPV 感染分型的筛查结果,并探讨其与阴道微生物相关指标的相关性,以期为临床宫颈疾病的筛查、防治提供理论依据。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月至 2020 年 12 月于铜川市妇幼保健院妇科门诊收治的 140 例慢性宫颈炎患者为研究对象(病例组),年龄 18~65 岁,平均(34.56±10.82)岁,体质指数(22.49±2.74) kg/m<sup>2</sup>。纳入标准:①符合临床上宫颈炎的诊断标准<sup>[9]</sup>,经临床宫颈组织病理学检查确诊;②有既往性生活史;③患者对研究了解知情,并签署同意书。排除标准:①近 3 d 用药清洗阴道者;②有子宫切除手术史;③妊娠、孕期妇女;④近期有服用免疫抑制剂者;⑤患免疫缺陷疾病,如艾滋病等。另选取同期在我院体检的健康妇女 60 例作为正常组,年龄 18~60 岁,平均(33.70±9.56)岁,体质指数(22.75±2.93) kg/m<sup>2</sup>。两组受检者的年龄、体质指数比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性,本研究经医院医学伦理委员会批准。

1.2 检测方法 全部受试者接受阴道微生物检查与 HPV 感染筛查。HPV 检测方法:使用无菌窥阴器,经生理盐水润滑后缓慢放入患者阴道内,轻拭去宫颈口黏液,宫颈充分暴露后,使用样本刷在宫颈管 2 cm 处和宫颈外口旋转 3 圈,停留 15 s,作为样本置于小管中,分离提取样本的 HPV-DNA,使用试剂盒(迪安生物技术公司提供)采用聚合酶链式反应(PCR)法扩增和杂交,然后通过反向杂交技术证实扩增产物和杂交结果,定性检测碱性磷酸酶系统,同时可鉴别 HPV-16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68 和 6、11、43、44 等不同基因型,试剂盒由上海信裕生物科技公司提供。阴道微生物检测:患者使用生理盐水冲洗外阴,使用无菌棉签由阴道壁上 1/3 取得阴道分泌物,棉签上可见清晰的阴道分泌物即为取样成功,采用细菌性阴道炎(BV)三联法检测分泌物中的白细胞酯酶、唾液酸甘酶,使用显微镜观察分泌物中乳酸杆菌、滴虫等的检出情况,使用 pH 试纸测定阴道分泌物 pH 值。

1.3 观察指标 (1)根据相关标准<sup>[10]</sup>检测所有受试者的阴道微生物指标(白细胞酯酶、唾液酸甘酶、pH 值、乳酸杆菌)并进行诊断。阴道微生物正常:唾液酸甘酶阴性,优势菌为乳酸杆菌,  $pH \leq 4.5$ , 阴道分泌物中未发现滴虫、菌丝;白细胞酯酶阳性:  $pH \leq 4.5$ , 阴道分泌物未发现滴虫、菌丝,白细胞酯酶阳性。(2)检测所有受试者的 HPV 基因型分布及患者的 HPV 多重感染情况。

1.4 统计学方法 应用 SPSS20.0 统计学软件进行数据分析。计量资料符合正态分布,以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用  $t$  检验;计数资料组间比较采用  $\chi^2$  检验,采用 Spearman 相关分析高危型 HPV 感染与慢性宫颈炎患者阴道微生物指标的相关性。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 病例组患者的 HPV 多重感染情况 病例组患者中检出 HPV 阳性 72 例,其中 59 例为单一感染,占 42.14%,13 例为多重感染,占 9.29%,以高危型多重感染为主,见表 1。

表 1 病例组患者的 HPV 多重感染情况[例(%)]

| 类型  | 单一感染       | 二重感染     | 三重感染     | 四重感染     | 总计         |
|-----|------------|----------|----------|----------|------------|
| 低危型 | 36 (25.71) | 5 (3.57) | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 41 (29.29) |
| 高危型 | 23 (16.43) | 2 (1.43) | 3 (2.14) | 0 (0.00) | 28 (20.00) |
| 复合型 | 0 (0.00)   | 1 (0.71) | 1 (0.71) | 1 (0.71) | 3 (2.14)   |
| 总计  | 59 (42.14) | 8 (5.71) | 4 (2.86) | 1 (0.71) | 72 (51.43) |

2.2 两组妇女的 HPV 分型检出率比较 病例组患者的 HPV6、HPV16 检出率高于正常组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 两组妇女的 HPV 分型检出率比较[例(%)]

| HPV 分型 | 病例组(n=140) | 正常组(n=60) | $\chi^2$ 值 | P 值   |
|--------|------------|-----------|------------|-------|
| 高危型    |            |           |            |       |
| HPV16  | 14 (10.00) | 1 (1.67)  | 4.204      | 0.040 |
| HPV18  | 4 (2.85)   | 1 (1.67)  | 0.244      | 0.621 |
| HPV31  | 1 (0.71)   | 0 (0.00)  | 0.431      | 0.512 |
| HPV33  | 1 (0.71)   | 1 (1.67)  | 0.385      | 0.535 |
| HPV35  | 0 (0.00)   | 0 (0.00)  |            |       |
| HPV39  | 1 (0.71)   | 0 (0.00)  | 0.431      | 0.512 |
| HPV45  | 0 (0.00)   | 0 (0.00)  |            |       |
| HPV51  | 0 (0.00)   | 0 (0.00)  |            |       |
| HPV52  | 1 (0.71)   | 0 (0.00)  | 0.431      | 0.512 |
| HPV56  | 0 (0.00)   | 0 (0.00)  |            |       |
| HPV58  | 0 (0.00)   | 0 (0.00)  |            |       |
| HPV59  | 0 (0.00)   | 0 (0.00)  |            |       |
| HPV68  | 1 (0.71)   | 1 (1.67)  | 0.385      | 0.535 |
| 低危型    |            |           |            |       |
| HPV6   | 27 (19.29) | 4 (6.67)  | 5.106      | 0.024 |
| HPV11  | 6 (4.29)   | 2 (3.33)  | 0.099      | 0.753 |
| HPV43  | 2 (1.43)   | 1 (1.67)  | 0.016      | 0.899 |
| HPV44  | 1 (0.71)   | 0 (0.00)  | 0.431      | 0.512 |

2.3 两组妇女的阴道微生态指标比较 病例组患者的乳酸杆菌多分布、阴道 pH>4.5 占比分别为 62.86%、60.00%，明显高于正常组的 36.67%、43.33%，差异均有统计学意义( $P<0.05$ )；病例组患者的白细胞酯酶阳性率、唾液酸甘酶阳性率分别为 69.29% 和 61.43%，明显高于正常组的 48.33% 和 45.00%，差异均有统计学意义( $P<0.05$ )；而两组受检者的滴虫阳性率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )，见表 3。

表 3 两组妇女的阴道微生态指标比较[例(%)]

| 阴道微生态指标 | 病例组(n=140) | 正常组(n=60)  | $\chi^2$ 值 | P值    |
|---------|------------|------------|------------|-------|
| 乳酸杆菌分布  |            |            | 6.532      | 0.011 |
| 多       | 88 (62.86) | 22 (36.67) |            |       |
| 少       | 52 (37.14) | 38 (63.33) |            |       |
| 阴道 pH   |            |            | 4.714      | 0.030 |
| >4.5    | 84 (60.00) | 26 (43.33) |            |       |
| ≤4.5    | 56 (40.00) | 34 (56.67) |            |       |
| 白细胞酯酶   |            |            | 7.910      | 0.005 |
| 阳性      | 97 (69.29) | 29 (48.33) |            |       |
| 阴性      | 43 (30.71) | 31 (51.67) |            |       |
| 滴虫      |            |            | 0.801      | 0.371 |
| 阳性      | 91 (65.00) | 35 (58.33) |            |       |
| 阴性      | 49 (35.00) | 25 (41.67) |            |       |
| 唾液酸甘酶   |            |            | 4.612      | 0.032 |
| 阳性      | 86 (61.43) | 27 (45.00) |            |       |
| 阴性      | 54 (38.57) | 33 (55.00) |            |       |

2.4 不同 HPV 基因型患者的阴道微生态指标比较 高危型患者的乳酸杆菌多分布占比为 34.78%，明显低于低危型患者的 66.67%，差异有统计学意义( $P<0.05$ )；高危型患者的白细胞酯酶、唾液酸甘酶阳性率分别为 56.52% 和 60.87%，明显高于低危型患者的 27.78% 和 33.33%，差异均有统计学意义( $P<0.05$ )；而两组受检者的阴道 pH、滴虫阳性率比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )，见表 4。

表 4 不同 HPV 基因型患者的阴道微生态指标比较[例(%)]

| 阴道微生态指标 | 高危型(n=23)  | 低危型(n=36)  | $\chi^2$ 值 | P值    |
|---------|------------|------------|------------|-------|
| 乳酸杆菌分布  |            |            | 5.748      | 0.017 |
| 少       | 15 (65.22) | 12 (33.33) |            |       |
| 多       | 8 (34.78)  | 24 (66.67) |            |       |
| 阴道 pH   |            |            | 0.485      | 0.486 |
| >4.5    | 13 (56.52) | 17 (47.22) |            |       |
| ≤4.5    | 10 (43.48) | 19 (52.78) |            |       |
| 白细胞酯酶   |            |            | 4.875      | 0.027 |
| 阳性      | 13 (56.52) | 10 (27.78) |            |       |
| 阴性      | 10 (43.48) | 26 (72.22) |            |       |
| 滴虫      |            |            | 0.202      | 0.653 |
| 阳性      | 16 (69.57) | 23 (63.89) |            |       |
| 阴性      | 7 (30.43)  | 13 (36.11) |            |       |
| 唾液酸甘酶   |            |            | 4.317      | 0.038 |
| 阳性      | 14 (60.87) | 12 (33.33) |            |       |
| 阴性      | 9 (39.13)  | 24 (66.67) |            |       |

2.5 高危型 HPV 感染与慢性宫颈炎患者阴道微生态指标的相关性 高危型 HPV 感染与慢性宫颈炎患者的乳酸杆菌、白细胞酯酶、唾液酸甘酶呈正相关( $r=0.684, P=0.018; r=0.523, P=0.025; r=0.621, P=0.020$ )。

### 3 讨论

阴道作为女性开放性的腔道，能反映妇女体内重要微生物群、宿主及环境的动态平衡。一般健康女性的阴道环境呈酸性，而阴道微生态的核心是阴道菌群，以乳酸杆菌为代表。既能维持阴道酸性环境、激活机体免疫力，也能作为屏障阻断外界菌种侵袭。HPV 是在妇女阴道中较为多见的病原体，正常情况不会造成感染；而当阴道微生态失调，HPV 持续感染，可导致宫颈上皮增生、甚至发展成宫颈癌。有报道指出<sup>[11]</sup>，长期的 HPV 感染是宫颈癌的重要病因；同时高危型 HPV 感染也极易导致宫颈癌发生<sup>[12]</sup>。所以本研究通过分析宫颈炎患者不同 HPV 基因型、感染情况以及与阴道微生态的关系，有助于完善早期筛查项目，为宫颈癌的临床防治提供可参考的建议。

本次研究结果发现，140 例慢性宫颈炎患者中，检出 HPV 阳性 72 例，其中 59 例为单一感染(42.14%)，13 例为多重感染(9.29%)，以高危型多重感染为主，这一结果与叶云等<sup>[13]</sup>的研究结果基本类似。同时，本研究还发现，病例组 HPV6、HPV16 检出率均高于正常组，与方美玉<sup>[14]</sup>的研究结果基本保持一致。

另一方面，本研究结果显示，病例组的乳酸菌分布情况、阴道 pH、白细胞酯酶阳性率、唾液酸甘酶阳性率与正常组之间存在明显差异；而两组滴虫阳性率比较，差异无统计学意义。提示相比正常妇女，慢性宫颈炎患者的阴道微生态明显失衡，而阴道微生态失衡，造成大量外来病菌侵袭，对宫颈上皮细胞产生不同程度的损害，可能是导致宫颈炎产生的重要原因。同时，本研究还表明，在不同 HPV 基因型患者的阴道微生态指标比较中，高危型患者与低危型患者的乳酸菌分布、白细胞酯酶阳性率、唾液酸甘酶阳性率比较，差异亦有统计学意义；但两组的阴道 pH、滴虫阳性率比较，差异无统计学意义。提示高危型 HPV 感染者的阴道微生态失衡状态比低危型 HPV 感染者更严重，GODOY 等<sup>[15]</sup>、谢建萍等<sup>[16]</sup>在报道中亦持相似观点。至于两组的阴道 pH 无明显差异，与之前病例组、正常组的结果不同，推测是样本量较少所致，同时阴道分泌物采集过程中亦存在一定差异，对此尚需今后做进一步深入研究。

最后对高危型 HPV 感染和慢性宫颈炎患者阴道微生态指标的相关性分析中，研究结果显示，高危型 HPV 感染与阴道微生态指标(乳酸杆菌、白细胞酯酶、唾液酸甘酶)均呈正相关，且相关性系数均大于 0.5，提示阴道微生态指标与慢性宫颈炎患者的高危型

HPV 感染具有较高的相关性。原因可能是乳酸杆菌下降,表现为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 缺乏,进而影响阴道酸性环境,抑制致病微生物的能力减弱,增加宫颈 HPV 尤其是高危型 HPV 感染风险。罗秀清等<sup>[17]</sup>在相关研究中同样表示阴道微生态失衡与高危 HPV 感染有一定关系;但同时也有研究显示<sup>[18]</sup>,高危型 HPV 感染的原因和危险因素可能包括过度的阴道冲洗、无保护措施性生活等,且高危型 HPV 感染率未伴随乳酸杆菌下降而增加,表明两者之间具体相关性亟待于大量临床实践予以证实。

综上所述,慢性宫颈炎患者 HPV 感染率较高,多为单一感染,复合型感染以高危型多重感染为主;且慢性宫颈炎患者存在阴道微生态失衡,高危型 HPV 感染与阴道微生态指标存在较强的相关性。但本研究仍存在不足之处,如针对高危型、低危型 HPV 感染与阴道微生态相关性研究样本不足,具体机制仍未完全清楚,今后应扩大样本量,多中心研究予以深入探明。

#### 参考文献

- [1] PRUE G, LAWLER M, BAKER P, et al. Human papillomavirus (HPV): making the case for 'Immunisation for All' [J]. *Oral Dis*, 2017, 23(6): 726-730.
- [2] 岳钊平,赵小玲. 女性宫颈疾病患者 HPV 分型检测结果分析[J]. *海南医学*, 2018, 29(13): 1836-1838.
- [3] MORENO-ACOSTA P, ROMERO-ROJAS AE, VIAL N, et al. Persistent high-risk HPV infection and molecular changes related to the development of cervical cancer [J]. *Case Rep Obstet Gynecol*, 2020, 2020: 6806857.
- [4] 王是,蔡光辉. 女性外阴尖锐湿疣患者人乳头状瘤病毒感染类型与复发的临床研究[J]. *中国性科学*, 2019, 28(8): 139-141.
- [5] 张朋云,王东红,张振东,等. 阴道微生态和高危型 HPV 感染与宫颈病变的相关性[J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(21): 3305-3307, 3311.
- [6] 秦勤,常淑芳,孙江川,等. 宫颈上皮内瘤变患者 HPV 感染与阴道微生态关系研究[J]. *重庆医科大学学报*, 2017, 42(5): 587-590.
- [7] 牛小溪,杨兴升. 阴道微生态与妇科恶性肿瘤相关性的研究进展[J]. *现代妇产科进展*, 2019, 28(2): 65-67.
- [8] GALEY MM, YOUNG AN, PETUKHOVA VZ, et al. Detection of Ovarian Cancer Using Samples Sourced from the Vaginal Microenvironment [J]. *J Proteome Res*, 2020, 19(1): 503-510.
- [9] 狄文,戴岚. 慢性宫颈炎的最新诊治策略[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2008, 24(1): 6-8.
- [10] 廖秦平. 女性阴道微生物图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 1-7.
- [11] CLIFFORD GM, TULLY S, FRANCESCHI S. Carcinogenicity of Human Papillomavirus (HPV) types in HIV-positive women: A meta-analysis from HPV infection to cervical cancer [J]. *Clin Infect Dis*, 2017, 64(9): 1228-1235.
- [12] ILISIU MB, HASHIM D, ANDREASSEN T, et al. HPV testing for cervical cancer in Romania: High-risk HPV prevalence among ethnic subpopulations and regions [J]. *Ann Glob Health*, 2019, 85(1): 89.
- [13] 叶云,游星兰,项艳. 宫颈炎患者人乳头瘤病毒感染状况及基因型的分布情况[J]. *中国妇幼保健*, 2020, 35(6): 1141-1143.
- [14] 方美玉,屠巧凤,沈宝珠. 宫颈病变患者人乳头状瘤病毒感染状况及其亚型分布的研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2012, 22(4): 685-687.
- [15] GODOY VF, ROMAGUERA J, ZHAO C, et al. Cervicovaginal fungi and bacteria associated with cervical intraepithelial neoplasia and high-risk human papillomavirus infections in a hispanic population [J]. *Front Microbiol*, 2018, 23(9): 2533.
- [16] 谢建萍,杨志红,伊芳,等. 宫颈高危型人乳头瘤病毒感染与阴道菌群及宫颈局部免疫功能的关系[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(10): 2336-2339.
- [17] 罗秀清,任保辉,谢芸. 阴道微生态检测与高危型 HPV 感染的 710 例临床报告分析[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2018, 19(5): 62-63.
- [18] 任婷玉,廖奕浪,黄婷婷,等. 深圳地区女性人乳头瘤病毒的检测和感染情况分析[J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(7): 140-144.

(收稿日期:2021-03-05)