

• 实验研究与卫生检验 •

高危型人乳头瘤病毒核酸(分型)检测试剂的临床应用初步评价

陈艳敏¹, 王利军², 陈梅卫³, 周建⁴, 邓中平⁵¹ 广州医科大学附属深圳沙井医院, 广东 深圳 (1+!'; #; % 深圳市福田区妇幼保健院, 广东 深圳 (1+!'; #;⁵ 圣维尔医学检验中心, 湖南 长沙 #!'%' (# 湖南省核酸诊疗工程技术研究中心, 湖南 长沙 #!'%' (

摘要: 目的 通过对正常人群样本、宫颈癌样本的检测, 评估市售实时荧光定量 FDE 方法学高危型 HF I 分型检测试剂临床应用性能。方法 分别采用两种荧光 FDE 检测试剂(J 试剂与 X 试剂) 对 ! ' ' ' 例的体检样本、# + 例宫颈鳞癌样本和 ! + 例宫颈腺癌样本进行 HF I KCJ 检测并对比其结果, 评价其临床应用性能。结果 J 试剂与 X 试剂检测体检样本阳性率分别为 ! + % (c 和 ! & % (c 。! # 种 HF I 型别阳性一致性百分比为 ") % () c , 阴性一致性百分比为 " + % () + c , 总一致性百分比为 " + % () + c 。J 试剂与 X 试剂检测 # + 例宫颈鳞癌样本阳性率分别为 ! ' ' c 和 " (% + \$ c , 其中 HF I ! & 型(& & % (c) 、(+ 型(! # % & c) 、! + 型(! ' % # c) 所占比例较高。! + 例宫颈腺癌样本阳性率分别为 + \$ % \$ % c 和) % () + c , HF I ! & 型(' c) 、! + 型(%) % (c) 和 (! 型(! ! % ! c) 所占比例较高。通过比较发现 J 试剂在宫颈癌和腺癌样本中的阳性检出率较 X 试剂高。结论 通过检测对比, 两种试剂一致性较好, 而 J 试剂检测下限更低, 检测性能更好, 更适用于人群宫颈病变的早期检测与筛查, 具有较高的临床应用价值。

关键词: 高危型人乳头瘤病毒; HF I KCJ; 荧光定量 FDE; 宫颈癌**中图分类号:** E\$)%\$ \$ \$ **文献标识码:** X **文章编号:** ! ' ' & * \$! ! ' (% ' ! ') ! ' ' ! % &) * ' # KTA: ! ' % \$ " & " : YG / < < NG ! ' ' & * \$! ! ' % ' ! ' % ! ' % ' \$ %

2 # " & \$ (\$ = % # > " F % & A %) \$ < = < = @ & \$ = \$ @ % & % ' ' & \$ @ %) \$ < = < E 1 \$ D 1 * # \$ * O 1 A (% =

' % ' \$ & < (% F \$ # A * ; , / (D " = <) > ' ") ? \$ % D = < *) \$ @ O \$)

DH, C a . N * - / N ! , g J C ^ \ / * Y Q N # , DH, C @ O / * ; O / # , f H T m J / . N # , K, C ^ f 28 N W * 3 / N W #

! U G (50 D (50 G (, V ' O 1 + B R = ' S , / # 7 7 ' / , \$ S A S B %) , O 1 D (B) 2 5 A ' M , / " O ' Q 5 - R ' S : , G (50 D (50 , %) , O 1 A B O 1 (! + ! ' # , C (' O , ;

% U 2 , \$ 5 - O , / , O A C (' A + 5 , / S (+ B R = ' S , / B 7 @) S ' , O ! ' R S - M S , G (50 D (50 , %) , O 1 A B O 1 (! + ! ') , C (' O , ;

\$ U G , O H , : C / ' O ' M , / ; , J B - , S B - ' 5 R ? O M U , C (, O 1 R (, , +) O , O # ! ' % ' (, C (' O , ;

U +) O , O P - B Q ' O M ' , / E 5 R 5 , - M (C 5 O 5 5 - 7 B - 9 5 M (O B / B 1 ' 5 R 7 B - \$) M / 5 ' M # M ' A * F , R 5 A ! , 1 O B R S ' M R , O A 9 (5 - , = 5) S ' M R , C (, O 1 R (, , +) O , O # ! ' % ' (, C (' O ,

C B - 5 R = B O A ' O 1 ,) \$ (B - : ! 3 \$ % * (B O 1 * = ' O 1 , 3 * I , ' / : A D = % ' ') K M 4 ! & \$ U M B I

/ B *) # % @) : C B Z " @) \$ F " _ 8 O 5 . O Q . 9 O 9 2 O 7 0 / N 7 . 0 . 3 3 O / 7 . 9 / 8 N 3 O U > 8 U - . N 7 O 8 > - . U ' O 9 O V 7 8 - - O U 7 / . 0 2 / W 2 * U / < ' 2 Q - . N 3 . 3 / 0 0 8 - . 5 / U Z

Q < (HF I) KCJ (W O N 8 9 = 30) V / . W N 8 < 9 / 7 ' / 9 < R . < O V 8 N U O . 0 * 9 / - O > Q 8 U O < 7 O N 9 i Q . N 9 / 9 . 9 / 5 O F D E - O 9 2 8 V R = 9 O < 9 / N W N 8 U - . 0 3 8 3 Q 0 . 9 / 8 N

< . - 3 0 0 < . N V 7 O U 5 / 7 . 0 7 . N 7 O U < . - 3 0 0 < 6 : ") 1 < ? * _ ; 8 ' / N V < 8 > HF I V / . W N 8 < 9 / 7 ' / 9 < (U O . W O N 9 < J . N V X) R . < O V 8 N > Q 8 U O < 7 O N 9

i Q . N 9 / 9 . 9 / 5 O F D E ; O U O < 0 3 . U . 9 0 0 = Q < O V 9 8 V O 9 0 7 9 HF I KCJ / N ! , ' ' ' 3 2 = < / 7 . 0 O ? . - / N . 9 / 8 N < . - 3 0 0 < , # + 7 O U 5 / 7 . 0 < i Q . - 8 Q < 7 0 0 0 7 . U Z

7 / N 8 - . < . - 3 0 0 < . N V ! + 7 O U 5 / 7 . 0 . V O N 8 7 . U 7 / N 8 - . < . - 3 0 0 < , 9 2 O U O < Q 0 9 < ; O U O 7 8 - 3 . U O V . N V 9 2 O 7 0 / N 7 . 0 . 3 3 O / 7 . 9 / 8 N 3 O U > 8 U - . N 7 O < 8 >

9 2 O 9 ; 8 U O . W O N 9 < ; O U O 0 5 . O Q . 9 O V 6 " * A &) * _ 2 O 3 8 < 9 / 5 O U . 9 O < 8 > 9 2 O 3 2 = < / 7 . 0 O ? . - / N . 9 / 8 N < . - 3 0 0 < V O 9 0 7 9 O V R = U O . W O N 9 < J . N V X

; O U O ! + % (c . N V ! & % (c U O < 3 O 7 9 / 5 O 0 = 6 _ 2 O 3 8 < 9 / 5 O , N O W . 9 / 5 O . N V 9 8 9 . 0 7 8 / N 7 / V O N 7 O U . 9 O < 8 > ! # ' / N V < 8 > HF I W O N 8 9 = 30 < ; O U O

") % () c , " + % () + c . N V " + % () + c U O < 3 O 7 9 / 5 O 0 = 6 _ 2 O 3 8 < 9 / 5 O U . 9 O < 8 > # + 7 O U 5 / 7 . 0 < i Q . - 8 Q < 7 0 0 0 7 . U 7 / N 8 - . 9 / < < Q O < . - 3 0 0 < V O 9 0 7 9 O V R =

U O . W O N 9 < J . N V X ; O U O ! ' ' c . N V " (% + \$ c U O < 3 O 7 9 / 5 O 0 = , 8 > ; 2 / 7 2 HF I 9 = 30 < ! & (& & % (c) , (+ (! # % & c) . N V ! + (! ' % # c) . 7 7 8 Q N Z

9 O V > 8 U . 2 / W 2 O U 3 U 8 3 8 U 9 / 8 N 6 _ 2 O 3 8 < 9 / 5 O U . 9 O < 8 > ! + 7 O U 5 / 7 . 0 . V O N 8 7 . U 7 / N 8 - . 9 / < < Q O < . - 3 0 0 < V O 9 0 7 9 O V R = U O . W O N 9 < J . N V X ; O U O

+ \$ % \$ % c . N V)) % () + c U O < 3 O 7 9 / 5 O 0 = , 8 > ; 2 / 7 2 HF I 9 = 30 < ! & (' c) , ! + (%) % (c) . N V (! (! ! % ! c) . 7 7 8 Q N 9 O V > 8 U . 2 / W 2 O U 3 U 8 3 8 U Z

9 / 8 N 6 _ 2 O 7 8 - 3 . U / < 8 N U O < Q 0 9 < U O 5 O . 0 O V 9 2 . 9 9 2 O 3 8 < 9 / 5 O U . 9 O < 8 > 7 O U 5 / 7 . 0 < i Q . - 8 Q < 7 0 0 0 7 . U 7 / N 8 - . . N V . V O N 8 7 . U 7 / N 8 - . 9 / < < Q O < . - 3 0 0 <

V O 9 0 7 9 O V R = U O . W O N 9 J ; O U O 2 / W 2 O U 9 2 . N 9 2 8 < O V O 9 0 7 9 O V R = U O . W O N 9 X 6 + < = @ & A * \$ < = * J 7 8 - 3 . U / < 8 N 8 > 9 2 O V O 9 0 7 9 / 8 N U O < Q 0 9 < / N V / Z

7 . 9 O < 9 2 . 9 9 2 O 9 ; 8 U O . W O N 9 < . U O / N W 8 8 V 7 8 N < / < 9 O N 7 = 6 E O . W O N 9 J < 2 8 ; < . 0 8 ; O U V O 9 0 7 9 / 8 N O / - / 9 . N V R O 9 9 O U V O 9 0 7 9 / 8 N 3 O U > 8 U - . N 7 O , / 9 / <

- 8 U O < Q / 9 . R 0 O > 8 U 9 2 O . U 0 = V O 9 0 7 9 / 8 N . N V < 7 U O O N / N W 8 > 7 O U 5 / 7 . 0 0 0 < 8 N < / N 3 8 3 Q 0 . 9 / 8 N , ; 9 2 2 / W 2 7 0 / N 7 . 0 . 3 3 O / 7 . 9 / 8 N 5 . 0 Q O 6

_ " > I < # ? * : 2 / W 2 * U / < ' 2 Q - . N 3 . 3 / 0 0 8 - . 5 / U Q < ; HF I KCJ ; > Q 8 U O < 7 O N 9 i Q . N 9 / 9 . 9 / 5 O F D E ; 7 O U 5 / 7 . 0 7 . N 7 O U

作者简介: 陈艳敏, 女, 本科学历, 主管技师, 主要从事分子生物学及临床血液学检验工作。**通信作者:** 邓中平, * - . / 0 : V 1 3 % ' ') ' 7 4 ! & \$ 6 7 8 - . <http://www.cnki.net>

人乳头瘤病毒(2011年3月3日世界卫生组织,WHO)是一类分子量较小的无包膜的双链环状DNA病毒,专性感染和寄生人体生殖器官及其它组织器官的上皮细胞。人乳头瘤病毒型别约有100多种,在临床上,根据WHO不同基因型致病力大小或致癌危险

V 结 果

%G ! 两种方法检测阳性率和各型别比例 J 试剂和

X 试剂检测体检样本,检测阳性率以及各型别所占比例见表 1。

表 1 J 试剂和 X 试剂检测 HF1 各型别结果分析(c)

试剂种类	阳性	!& 型	!+ 型	\$! 型	\$ \$ 型	\$ (型	\$" 型	# (型	(! 型	(% 型	(\$ 型	(& 型	(+ 型	(" 型	&& 型	&+ 型	+ % 型
J 试剂	!+G (	#G &	!G !	!G #	!G +	'G &	!G !	!	%+	#G !	%'	\$G %	\$G "	!G "	'G +	%)	*
X 试剂	!&G (	#G %	!	!G %	!G +	'G (	!G !	'G "	%+	\$G "	*	\$G %	\$G +	!G +	'G "	%&	'G %

通过两种试剂对 111 例样本进行检测,J 试剂阳性率为 !+G (c ,X 试剂阳性率为 !&G (c ,其中 !& 型、(% 型、(+ 型、(& 型、(! 型、&+ 型和 (\$ 型在各型别中所占比例较高。J 试剂检测出 !% 例 (\$ 型单型感染,还有 + 例 (\$ 型与其他高危型的混合感染,X 试剂检测出 % 例 + % 型单型感染,通过测序复核,结果一致。

%G % 两种方法检测试剂结果比较 排除 (\$ 型和 + % 型,根据检测结果将临床样本分为 HF1 !# 种高危型阳性组和阴性组,统计结果见表 %。

表 % J 试剂与 X 试剂对 !# 种高危型 HF1 型别的检测结果

实验		X 试剂		合计
		高危 !# 种型别阳性	高危 !# 种型别阴性	
J 试剂	高危 !# 种型别阳性	!&!	!'	!)!
	高危 !# 种型别阴性	#	+!!	+!(
总数		!&(	+%!	" +&

对比 J 试剂与 X 试剂的检测结果,对符合试验方案要求的受试者样本数据进行数据统计分析,计算二者的 HF1 !# 种高危型阳性一致性百分比、阴性一致性百分比、阴阳性检测总一致性百分比和 HF1 !# 种高危型分型一致性百分比。HF1 !# 种高危型阳性一致性百

分比 k !&! : (!&! t #) o !' ' c k ")G () c ; HF1 !# 种高危型阴性一致性百分比 k + !! : (!' t + !!) o !' ' c k " +G) + c ; HF1 !# 种高危型阴阳性检测总一致性百分比 k (!&! t + !!) : (!&! t # t !' t + !!) o !' ' c k " +G (+ c ; 通过对上述 !# 例样本测序,其中有 !! 例与 J 试剂结果相符,有 \$ 例样本测序结果与 X 公司结果一致。应用 h.33. 评价方法对 J 试剂和 X 试剂检测结果进行诊断一致性分析,h.33. 值 k 'G "(, P k 'G ' ' '。 & k 'G '(检验水准下,X 试剂与 J 试剂检测结果的一致性有统计学意义,阴阳性诊断一致性好。统计 HF1 !# 种高危型分型一致性数据,两种试剂分型结果完全一致样本数为 !# (例,而两种试剂均检测为阳性的样本总数为 !&! 例,两种试剂的 HF1 !# 种高危型分型一致性百分比为 "'G ' & c。对该 !& 例分型结果不相符的样本进行测序,测序结果有 !% 例与 J 公司检测一致,有 # 例与 X 公司检测结果一致。

%G \$ 两种试剂检测宫颈鳞癌和宫颈腺癌检测 J 试剂和 X 试剂检测宫颈癌组织样本,检测阳性率以及各型别所占比例见表 \$。

表 \$ J 试剂和 X 试剂检测宫颈癌病例中 HF1 结果及型别分析(c)

宫颈癌种类	阳性	!& 型	!+ 型	\$! 型	\$ \$ 型	\$ (型	\$" 型	# (型	(! 型	(% 型	(\$ 型	(& 型	(+ 型	(" 型	&& 型	&+ 型	+ % 型
鳞癌 * J 试剂	! ' 'G ' ' ' &&G)	! 'G #	&G \$	#G %	:	:	:	:	:	+G \$	#G %	:	!#G &	:	%G !	#G %	:
鳞癌 * X 试剂	" (G + \$ &#G &	! 'G #	&G \$	#G %	:	:	:	:	:	&G \$	:	:	!%G (	:	%G !	#G %	:
腺癌 * J 试剂	+ \$G \$ \$ ('G ' %G)	:	:	:	:	:	:	G (	!!G !	:	:	:	:	:	:	G (	:
腺癌 * X 试剂	)G) + ##G # %G %G %	:	:	:	:	:	:	G (	!!G !	:	:	:	:	:	:	G (	:

通过两种试剂对 #+ 例宫颈鳞癌样本进行检测,J 试剂阳性率为 !' ' c ,X 试剂阳性率为 " (G + \$ c ,其中 !& 型、(+ 型、!+ 型在各型别中所占比例较高,其中 (+ 型与 !& 型混合感染较多,存在 % 例 (\$ 型与其他型混合感染,而未检测到 + % 型。另外,对 !+ 例宫颈腺癌样本进行检测,J 试剂检测阳性率为 + \$G \$ \$ c ,X 试剂为))G) + c ,其中 !& 型、!+ 型和 (! 型在腺癌样本中所占比例较高。

%G # 两种方法检测试剂检测宫颈癌样本结果分析 采用两种试剂对宫颈鳞癌和腺癌检测,J 试剂的宫颈鳞癌和宫颈腺癌阳性检出率比 X 试剂高。在宫颈鳞癌样本中,J 试剂 HF1 核酸均检测为阳性,X 试剂存在少量 HF1 阴性情况。而在宫颈腺癌中 HF1 检测阴性率

相对较高。在宫颈鳞癌中排名前三位的型别分别为 !& 型、(+ 型、!+ 型。在宫颈腺癌中排名前三位的型别分别为 !& 型、!+ 型、(! 型,说明各型别在不同病理诊断结果样本中所占比例有所不同。

^ 讨 论

目前国内临床上主要采用煮沸法、磁珠法等对 HF1 核酸进行提取^[4],上述方法需要高速离心,去废液,多次开关盖管等操作,样本处理耗时长,其中煮沸法还需经过煮沸裂解,KCJ 存在损耗,同时还容易造成气溶胶污染。在本研究中,J 试剂采用的免核酸提取法(一步法)与 X 试剂煮沸法相比,每个病例只需取少量宫颈细胞样本且处理时间短,无需加热、离心、去废

液等操作,大大减少污染环节。因此,J 试剂具有快速、简便、高灵敏、高通量、易开展、低成本、全程质控等特点,更加适用于国宫颈癌筛查的普及,并且大幅提升筛查质量。

J 试剂和 X 试剂 HFI 检测阳性率分别为 14.6% (c 和 14.6% (c。其中,HFI 14.6%型、(14.6%型、(+ 14.6%型、(& 14.6%型、(! 14.6%型、