

• 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⁵

¹ 广州医科大学附属深圳沙井医院 广东 深圳 (!+' #; % 深圳市福田区妇幼保健院 广东 深圳 (!+' !);

² 圣维尔医学检验中心 湖南 长沙 #!'%' (#G 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 HFI 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 111 例的体检样本、8 例宫颈鳞癌样本和 14 例宫颈腺癌样本进行 HFI 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 14% (C 和 14% (C。1# 种 HFI 型别阳性一致性百分比为 100%) (C 阴性一致性百分比为 100%)+C 总一致性百分比为 100%。J 试剂与 X 试剂检测 8 例宫颈鳞癌样本阳性率分别为 100% 和 100%+C, 其中 HFI 11 型(11% (C)、11 型(11% (C)、11 型(11% (C) 所占比例较高。14 例宫颈腺癌样本阳性率分别为 100% (C 和 100%+C, HFI 11 型(11% (C)、11 型(11% (C) 和 11 型(11% (C) 所占比例较高。通过比较发现 J 试剂在宫颈鳞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; HFI KCJ; 荧光定量 FDE; 宫颈癌

中图分类号: E5)\$\$ 文献标识码: X 文章编号: !' & * \$! ! ' (% ! !) ! ' * ! % &) * * # KTA: !' G \$ " : YG / < < NG ! ' ' & * \$! ! ' G ! ! ' G ! ' G \$ %

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 @ 0 / * ; 0 / \$, f H T m] / . N \$, K, C ^ f 28 N W * 3 / N W #

! U G (5 0 D (5 0 G (, N O 1 + B R = S , / # 7 / ' , S 5 A S B %) , 0 1 D (B) 2 5 A M , / " 0 ' 0 5 - R ' S : , G (5 0 D (5 0 , %) , 0 1 A B O 1 (! + ! ' # , C (' 0 ;

% U 2 , S 5 - 0 , / , O A C (' A + 5 , / S (+ B R = S , / B 7 @) S ' , 0 ! ' R S - M S , G (5 0 D (5 0 , %) , 0 1 A B O 1 (! + !) , C (' 0 ;

S U G , O H , : C / ' O ' M , / ; , J B - , S B - ' 5 R ? O M U , C (, 0 1 R (, +) 0 , 0 # ! ' % ' (, C (' 0 ;

U +) 0 , 0 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 0 B R 5 ' M R , O A 9 (5 - , = 5) S ' M R , C (, 0 1 R (, +) 0 , 0 # ! ' % ' (, C (' 0 ,

C B - 5 R = B O A ' 0 1 ,) S (B - : ! 3 \$ % * (B O 1 * = ' 0 1 , 3 * 1 , ' / : A D = % ' ') K M 4 ! & \$ U M B 1

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

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

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

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

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

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

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

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

U 0 . W O N 9 < J . N V X ; O U 0 ! ' ' C . N V " (6 + \$ C U 0 < 3 0 7 9 / 5 0 0 = , 8 ; 2 / 7 2 H F I 9 = 3 0 < ! & (& & 6) C) , (+ (! # 6 & C) . N V ! + (! ' 6 # C) . 7 7 8 Q N Z

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

+ \$ 6 \$ \$ C . N V)) 6) + C U 0 < 3 0 7 9 / 5 0 0 = , 8 ; 2 / 7 2 H F I 9 = 3 0 < ! & (' C) , ! + (%) 6) C) . N V (! ! ! 6 ! C) . 7 7 8 Q N 9 0 V > 8 U . 2 / W 2 0 U 3 U 8 3 8 U Z

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

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

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

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

_ " > ! < # ? * : 2 / W 2 * U / < ' 2 Q - . N 3 . 3 / 0 0 8 - . 5 / U Q < ; H F I K C J ; > Q 8 U 0 < 7 0 N 9 i Q . N 9 / 9 . 9 / 5 0 F D E ; 7 0 U 5 / 7 . 0 7 . N 7 0 U

人乳头瘤病毒(HPV)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HPV不同基因型致病力大小或致癌危险

V 结果

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 HFI 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。

分比 k!&!:(!&! t#) o!' ' c k")G ()c; HFI !# 种高危型阴性一致性百分比 k +!!:(!' t +!!) o!' ' c k "+G)+c; HFI !# 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"(' ,Pk'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 HFI !# 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 HFI !# 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。

%% 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 HFI !# 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 HFI 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	!&(+%!	"&

%\$ 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 \$。

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 HFI !# 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 HFI !# 种高危型分型一致性百分比。HFI !# 种高危型阳性一致性百

表 \$ J 试剂和 X 试剂检测宫颈癌病例中 HFI 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%	:
鳞癌 * X 试剂	"(G+\$	&#G&	!'G#	&G\$	#G%	:	:	:	:	&G\$:	:	!%G	:	%!	#G%	:
腺癌 * J 试剂	+G\$G\$	('G'	%G)	:	:	:	:	G(!!G!	:	:	:	:	:	:	G(:
腺癌 * X 试剂)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\$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。

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。

%# 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 HFI 核酸均检测为阳性 X 试剂存在少量 HFI 阴性情况。而在宫颈腺癌中 HFI 检测阴性率

^ 讨论

目前国内临床上主要采用煮沸法、磁珠法等对 HFI 核酸进行提取^[1] ,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!+6(C和!&6(C。其中,HFI!&型、(%型、(+型、(&型、(!型、