

- 815-819.
- [6] 俞卓伟, 阮清伟. 衰弱、衰老和共患病 [J]. 老年医学与保健, 2015, 21 (6): 325-327.
- [7] 陈传波, 路雪芹, 黄霞, 等. 农村失能老年人生活质量及影响因素调查分析 [J]. 中华护理杂志, 2013, 48 (8): 710-713.
- [8] 杨付英, 郝晓宁, 薄涛, 等. 我国老年人失能现状及其影响因素分析——基于 CHARLS 数据的实证分析 [J]. 卫生经济研究, 2016 (11): 7-10.
- [9] 李利平, 孙建萍. 老年慢性病患者失能预防的研究进展 [J]. 护理学杂志, 2018, 33 (21): 100-105.
- [10] Abuladze L, Kunder N, Lang K, et al. Associations between self-rated health and health behaviour among older adults in Estonia: a cross-sectional analysis [J]. BMJ Open, 2017, 7 (6): e013257.
- [11] Deimling G T, Pappada H, Ye M, Nalepa E, et al. Factors affecting perceptions of disability and self-rated health among older adult, long-term cancer survivors [J]. J Aging Health, 2019, 31 (4): 667-684.

## • 调查报告 •

# 厦门地区 10 761 例女性高危型人乳头瘤病毒分型检测分析

福建省厦门市中医院 (厦门 361009) 张玉凤 罗巧 雷丽云 林云

**【摘要】目的** 分析厦门地区女性高危型人乳头瘤病毒 (HPV) 感染的情况、各亚型的分布以及跟年龄组的关系。**方法** 采用实时荧光 PCR 法对 2018 年 7 月至 2020 年 11 月在我院妇科门诊就诊 10 761 名女性患者的宫颈脱落细胞进行高危型 HPV 基因检测, 分析受检者 HPV 亚型分布特点, 单一、多重感染分布情况, 以及不同年龄组间 HPV 感染情况。**结果** 10 761 例患者中高危型 HPV 阳性 1 575 例, 检出率为 14.64%。小于 20 岁年龄组检出率最高, 达 39.66%; 其次是 ≥70 岁年龄组, 检出率为 24.14%; 21~29 岁组与 41~49 岁年龄组检出率分别为 17.16% 和 17.14%。高危型 HPV 感染从高到低依次为 HPV 混合型、52 型、58 型、16 型、18 型、33 型。高危型 HPV 感染以单一感染为主, 占总感染的 33.26%, 多重感染包括二重感染及二重以上的感染, 占总感染人数的 20.83%。**结论** 采用实时荧光 PCR 技术检测女性高危型 HPV 感染快速准确, 应重视厦门地区女性人群的高危型 HPV 筛查, 尤其是 HPV52、58、16 这 3 种常见高危型的筛查, 以有效降低宫颈癌的发生率。

**【关键词】** 实时荧光 PCR; 人乳头瘤病毒; 高危型; 厦门地区

**【中图分类号】** R737.3 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2022)02-0133-03

宫颈癌是中国女性常见的癌症之一, 根据国家癌症中心 2016 年公布的数据显示, 宫颈癌是我国第二大女性恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。有研究证实几乎所有宫颈癌患者都能检测出高危型人乳头瘤病毒 (HPV) 感染, HPV 感染是目前公认的宫颈癌致病因素, 主要是高危型病毒导致宫颈上皮内高度瘤样病变和宫颈癌的发生<sup>[2]</sup>; 各种 HPV 亚型的致病力是不一样的, 而且 HPV 亚型的地域分布也是不一样的; 为了对宫颈癌的早发现 and 早干预, 对本区域女性进行高危型 HPV 病毒的检测有非常重要的意义。本文对我院 10 761 例患者的宫颈脱落细胞采用实时荧光定量 PCR, 对常见的 14 型高危型 HPV 病毒进行检测, 分析厦门地区女性 HPV 感染的情况、各亚型的分布以及跟年龄组的关系。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料:** 选取 2018 年 7 月至 2020 年 11 月在我院妇科门诊就诊并自愿进行 HPV 高危型检测的女性患者 10 761 例, 年龄 17~87 岁, 平均 (36.7±7.5) 岁。入选标准: 1) 无宫颈癌、宫颈手术史、盆腔放射治疗史, 目前无妊娠; 2) 在取样前 48 h 内无性生活。排除标准: 1) 生殖系统出血者; 2) 3 d 内存在阴道用药史与阴道冲洗史者; 3) 凝血功能障碍者或严重器官功能衰竭者; 4) 1 年内复查感染型别与前次相同者。本研究均获得患者的知情同意, 同时也经过厦门市中医院医学伦理委员会审核。

## 1.2 方法:

**1.2.1 标本采集:** 先把宫颈口的分泌物擦去, 再用宫颈刷紧贴宫颈口顺时针方向转动 4~5 周, 然后取出宫颈刷, 放入装有细胞保存液的洗脱管中, 沿刷柄折痕折断宫颈刷, 将宫颈刷留在洗脱管内, 旋紧管盖, 1 周内通过实时荧光 PCR 方法对所送宫颈脱落细胞样本进行检测, 判定各年龄组患者的高危型 HPV 感染情况, 各亚型的分布情况以及单一感染及多重感染情况。

**1.2.2 试剂与仪器:** HPV (16/18/52/58/33) 分型试剂盒 (批号 20A002) 和核酸提取试剂 (批号 20A001) 均为上海透景生命科技股份有限公司提供; 离心机 (型号 Centrifyge 5810R) 为 Eppendorf 厂家提供; 实时荧光 PCR 仪 (型号 SLAN-96S 型) 为上海宏石医疗科技有限公司提供; 金属浴 (型号 MK-10) 为杭州奥盛仪器有限公司提供。

**1.2.3 PCR 样本处理:** 1) 将装有宫颈刷的样本瓶振荡混匀, 取 1 000 μL 脱落细胞样本放入 1.5 mL 洁净 EP 管内, 以 14 000 rpm 离心 3 min; 2) 吸弃上清液, 加入 200 μL 无菌生理盐水, 14 000 rpm 离心 3 min; 吸弃生理盐水, 加入 200 μL 核酸提取试剂 (吸取前摇匀), 振荡混匀, 放入 100 °C 金属浴中加热 15 min; 3) 从金属浴中取出 EP 管, 14 000 rpm 离心 5 min, 取 5 μL 上清液用于 PCR 扩增。

**1.2.4 PCR 扩增体系:** 包括每个检测样本包括 A 管反应液

和 B 管反应液各 20  $\mu\text{L}$  (反应液含 PCR 反应组分, 寡核苷酸引物, 荧光标记探针), 其中 A 管反应液检测 HPV 亚型为 16 型、18 型、52 型, B 管反应液检测 33 型、58 型和 HPV 混合型 (包括亚型为 31 型、35 型、39 型、45 型、51 型、56 型、59 型、66 型、68 型。其设计原理为根据这 9 型 HPV 亚型中均含有一段相同序列的基因设计一对引物, 通过实时荧光 PCR 扩增后采集荧光数据进行检测, 样本中存在 9 种 HPV 亚型中 1 种或多种亚型感染均显示阳性)。待检上清 5  $\mu\text{L}$ , 总反应体积 25  $\mu\text{L}$ , 经 2 000 rpm 转速离心 10 s, 使反应液体集中在 PCR 反应管底部并确保反应液中无气泡。

1.2.5 PCR 扩增程序: 95  $^{\circ}\text{C}$  10 min, 1 个循环; 95  $^{\circ}\text{C}$  25 s, 67  $^{\circ}\text{C}$  20 s, 10 个循环; 95  $^{\circ}\text{C}$  20 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  35 s (采集荧光), 35 个循环。

1.2.6 结果判定: 判定  $\beta$ -Globin (Cy5 通道) 的曲线为明显 S 型扩增曲线且 Ct 值  $\leq 32$ , 则测试结果有效可进行其它通道分析, 若 Ct 值为 Undet 或者 Ct 值  $> 32$ , 样本则该样本需重新检测。判定 FIM、VIC、ROX 通道的 Ct 值为 Undet 或者 Ct 值  $> 30$ , 样本为 HPV 阴性, 判定曲线为明显的 S 型扩增曲线且 Ct 值  $\leq 30$  的样本为 HPV 阳性。

1.3 统计学分析: 采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析。计数资料以百分数比较, 组间比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不同年龄组 HPV 基因型感染情况分布: 10 761 例患者中检出阳性者 1 575 例, 阳性率为 14.64%;  $< 20$  岁年龄检出率最高, 为 39.66%, 显著高于其他年龄组患者, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 75.504$ ,  $P < 0.001$ ); 其次是  $\geq 70$  岁年龄组, 检出率为 24.14%; HPV 阳性患者人数以 30~39 岁年龄组所占比最高, 为 32.32%, 其次是 21~29 岁年龄组, 为 26.98%, 第三为 40~49 岁年龄组, 其所占比为 25.52%。这 3 个年龄组所占比合计为 84.82%。见表 1。

表 1 10 761 例患者的年龄分布和 HPV 阳性率的情况

年龄/岁	筛查数/ [例 (%) ]	HPV 阳性数/ [例 (%) ]	检出率/%
$< 20$	116 (1.08)	46 (2.92)	39.66
20~29	2 477 (23.02)	425 (26.98)	17.16
30~39	4 099 (38.09)	509 (32.32)	12.42
40~49	2 929 (27.22)	402 (25.52)	13.72
50~59	916 (8.51)	157 (9.97)	17.14
60~69	195 (1.81)	29 (1.84)	14.87
$\geq 70$	29 (0.27)	7 (0.44)	24.14
合计	10 761	1 575	14.64

2.2 不同 HPV 高危亚型检出例数分布情况: 1 575 例 HPV 阳性患者的亚型分布从高到低依次为 HPV 混合型、52 型、58 型、16 型、18 型、33 型, 其检出数分别为 723 例 (45.90%)、552 例 (35.05%)、262 例 (16.63%)、229 例 (14.54%)、83 例 (5.27%)、71 例 (4.51%)。

2.3 单一感染和多重感染分布情况: 1 575 例 HPV 阳性患者中, 以单一感染为主, 感染 524 例, 占 33.26%; 多重感

染 328 例, 占 20.83%。因 HPV-混合型感染不能确定感染型别是单一感染, 故未列入单一感染统计。

## 3 讨论

HPV 病毒是一种具有宿主特异性和组织特异性的最小 DNA 病毒, 其基因组为双股环状 DNA, 能引起人类皮肤多种乳头状瘤或疣及黏膜生殖道上皮增生性损伤<sup>[3]</sup>。HPV 病毒感染生殖道是一个长期的过程, 但在 1~2 年内机体免疫系统可以将其清除, 高危亚型 HPV 的持续感染会导致女性患宫颈癌的风险增加<sup>[4]</sup>。

不同年龄段对高危型 HPV 的易感性有明显差别。结合本文,  $< 20$  岁年龄段女性检出率最高, 高达 39.66%, 高于深圳地区报道的 26.39%<sup>[5]</sup>, 与成都地区报道的 40% 接近<sup>[6]</sup>。本文中高检出率说明厦门地区高危型 HPV 病毒对女性患者感染偏于低龄化, 可能由于女性性生活开始年龄逐渐提早, 对性健康相关知识了解不够, 和无保护措施性生活开展有一定关系; 也有研究表明 HPV 病毒对低龄女性的易感, 可能由于年轻女性生殖道黏膜的免疫系统未发育完全成熟而导致。另一检出高峰年龄段是  $\geq 70$  岁年龄段的女性, 有研究表明感染高危型 HPV 的妇女如果不能在绝经前清除 HPV 感染, 那么她们在绝经后更容易发展成宫颈癌<sup>[7]</sup>, 这一年龄段高检出率可于由于女性在绝经后其体内的雌激素水平会发生明显的变化, 免疫力降低, 导致 HPV 感染高发<sup>[8]</sup>。

大量的研究报道证明 HPV 感染型别有一定的区域性。在我国南部地区人群中, 高危型 HPV 感染率为 21.12%, 而我国云南感染率达到 32.4%<sup>[9]</sup>, 均高于本文的 14.64%。本文中可分型亚型分布前 3 位为 HPV52、HPV58 和 HPV16 3 种亚型, 与吴凯<sup>[10]</sup>报道中居前 3 位高危型亚型一致, 与国内其他学者报道有所不同, 但 HPV 感染率排名前 5 的亚型中高危亚型均包含有 52 型、16 型、58 型<sup>[11]</sup>。

在就诊患者中 HPV 感染的情况具有多样性。结合本文, 高危型 HPV 感染主要以单一感染为主, 与国内张丽敏等<sup>[12]</sup>报道相似; 多重感染包括二重感染及二重以上的感染, 与高超等<sup>[13]</sup>学者报道多重感染相近, 但在高超等学者报道中多重感染的亚型包括 15 种高危型和 6 种低危型; 有报道示高危型 HPV 单一感染可以使宫颈鳞癌的患病风险增加 19.9 倍, 而多重感染使该风险增加至 31.8 倍<sup>[14]</sup>; 因此, 多重感染对人体危害可能更大。

宫颈癌是女性中常见的恶性肿瘤之一, 我国一项以医院为基础的全国多中心大样本研究结果显示, 子宫颈鳞癌患者中高危型 HPV 感染率为 97.6%, 子宫颈腺癌患者中高危型 HPV 感染率为 74.5%<sup>[15]</sup>; 因此, 展开对高危型 HPV 病毒感染的筛查, 通过早期发现积极治疗对宫颈癌的预防治疗均有积极意义。

总之, 采用实时荧光 PCR 技术检测女性高危型 HPV 感染快速准确, 应重视厦门地区女性人群的高危型 HPV 筛查, 尤其是 HPV52、58、16 这 3 种常见高危型的筛查, 以有效降低宫颈癌的发生率。

识多加指点, 指导老师可以为他们提供很多的教学资源, 从而使得住院医师能够有更好的学习效果。

**3.2 指导老师的综合考评情况:** 数据显示, 指导老师总体平均分达  $(83.11 \pm 5.64)$  分, 说明了医院目前“全程导师制”的实施总体情况良好。但也发现外科基地评分最低, 可能是由于外科医生日常手术工作量繁重, 导致在外科的指导老师并不能抽出很多时间去指导住院医师, 整体工作表现相对较低。而通过数据分析发现, 指导老师的不同特征差异会导致评分差异, 值得注意的是副高职称或本科学历的指导老师反而能够获得更高的分数, 这可能的原因是正高级职称或学历相对较高的指导老师通常在医院担任一定的行政职务, 且往往身兼科研工作, 相对较繁忙, 一定程度上影响了对住院医师的指导; 此外女性导师及 45 岁以上导师分数相对更高, 也可能与女性导师在与学生的接触中大多更具亲和力, 男性导师往往更为严格有关, 而年轻导师往往更缺乏带教经验。

**3.3 建议:** 1) 持续加强实施“全程导师制”培养: 培训基地应持续实施导师制培养, 导师制的实施关键在于指导老师的素质, 有必要增强指导老师的指导能力。增加导师的薪酬红利, 正向激励指导老师, 让指导老师更加关注住院医师的培训动态。在住院医师方面, 需要提高住院医师配合指导老师的意识, 加强思想教育, 提高认可度, 推动导师制效果。2) 注重指导老师的考核与评价: 评价指标会影响到考评结果的真实性与相关性, 没有准确合适的评价指标就不会有真实可靠地考评结果<sup>[5-6]</sup>。导师的考评应为多维度、多方面的考评, 而在考评中的主要角色是住院医师, 住院医师的评价会在很大程度上反应指导老师的优缺点, 在未来对导师的考评中, 有必要考虑住院医师在对导师的评价过程中是否存在敷衍, 或出于其对老师的尊重而在评价过程中没有真正进行

客观评价, 从而影响评价结果的真实性。3) 高度重视实施过程中的管理问题: 一方面导师的指导内容应全面, 需加强导师对住院医师技能操作的关注。同时重视部分专业基地管理是否存在的问题, 在后期的管理过程中需要多加以关注与督查<sup>[7]</sup>。此外, 有必要考虑指导老师的工作配置是否合理, 在本身就有其他重要职务时是否能够再胜任指导老师是值得注意的。

## 参考文献

- [1] Crowley R S, Elizabeth L, Olga M, et al. Evaluation of an intelligent tutoring system in pathology: effects of external representation on performance gains, metacognition, and acceptance [J]. Journal of the American Medical Informatics Association, 2007, 14 (2): 182-190.
- [2] 陈少锐, 刘鹏, 吴映莉, 等. 中山大学八年制医学生全程导师制的实践与探索 [J]. 中国高等医学教育, 2019 (2): 123-124.
- [3] 黎建文, 周建平, 罗林翼, 等. 全程导师制结合临床型研究生培养模式应用于外科住院医师规范化培训的初步探讨 [J]. 中国继续医学教育, 2019, 11 (32): 79-81.
- [4] 江凌, 高炜, 陈文, 等. 导师制在超声专业住院医师规范培训的探索 [J]. 基础医学与临床, 2016, 36 (5): 711-714.
- [5] 姚铁祥, 罗月芬, 陈瑞莲. 全程导师制教学模式在医学影像本科实习教学中的运用思考 [J]. 中外医学研究, 2013, 11 (27): 145-146.
- [6] 吴晓华, 罗顺祥, 丁雯欣, 等. 住院医师对“全程导师制”教学效果评价反馈分析 [J]. 中国毕业后医学教育, 2020, 4 (6): 540-544.
- [7] 彭航娅, 林楚文, 黄琴. 全程导师制在住院医师规范化培训中的应用现状分析 [J]. 卫生职业教育, 2021, 39 (2): 157-159.

(上接第 134 页)

## 参考文献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66 (2): 115-132.
- [2] 陈静, 徐晶晶, 何淑珍, 等. 女性人乳头瘤病毒感染的基因型分布及临床意义 [J]. 河北医药杂志, 2017, 39 (7): 1026-1028.
- [3] 李金明. 实时荧光 PCR 技术 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2007: 240-255.
- [4] Li W P, Shuang T, Wang P, et al. The characteristics of HPV integration in cervical intraepithelial cells [J]. J Cancer, 2019, 10 (12): 2783-2787.
- [5] 许晓清, 张水兰, 阚丽娟, 等. 深圳市罗湖区 8 071 例女性人乳头瘤病毒感染情况及亚型分析 [J]. 广东医学, 2019, 40 (12): 1706-1710.
- [6] 李霞, 何跃东. 成都地区 HPV 感染情况分析 [J]. 四川医学, 2018, 39 (4): 435-437.
- [7] 温江涛, 王芙蓉, 朱红楠, 等. 苏州西部地区女性人乳头瘤病毒感染情况调查分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40 (21): 2684.
- [8] 刘艳琼. 1 702 例妇女宫颈人乳头瘤病毒的检测与基因分型 [J]. 中外医疗, 2019, 38 (9): 180-182.
- [9] Zhao JW, Xu JJ, Yan M, et al. Prevalence and genotype distribution of human papilloma virus: implications for cancer screening and vaccination in henan province, China [J]. Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical, 2016, 49 (2): 237.
- [10] 吴凯. 福建地区女性 HPV 感染的流行病学特征与宫颈早期病变的关系 [J]. 临床合理用药, 2019, 12 (8): 165-167.
- [11] 胡志军, 朱娟娟, 潘晓龙, 等. 铜陵市 2 815 例女性高危型 HPV 感染状况及基因型分布特征 [J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32 (3): 323.
- [12] 张丽敏, 吕虹, 陈柯霖, 等. 妇科门诊患者宫颈感染人乳头瘤病毒基因分型检测特征分析 [J]. 中国实验诊断学, 2020, 24 (1): 122.
- [13] 高超, 赵丹青, 孙磊, 等. 505 例女性体检人群人乳头状瘤病毒感染情况及基因型分布 [J]. 贵州医科大学学报, 2019, 44 (11): 1331-1332.
- [14] Felice P, Pistilli R, Lizio G, et al. Inlay versus onlay iliac bone grafting in atrophic posterior mandible: a prospective controlled clinical trial for the comparison of two techniques [J]. Clin Implant Dent Relat Res, 2010, 11 (1): 69-82.
- [15] Chen W, Molijn A, Enqi W, et al. The variable clinicopathological categories and role of human papilloma virus in cervical adenocarcinoma: a hospital basednation-wide multi-center retrospective study across China [J]. Int J Cancer, 2016, 139 (12): 2687-2697.