

PCR 检验在高危型人乳头瘤病毒中的效果

彭梅

衡水市第四人民医院 河北 衡水 053000

【摘要】目的: 采用聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 检测高危型人乳头瘤病毒的效果评价。方法: 本研究对象为 100 例高危型人乳头瘤病毒患者, 以上患者均采取 PCR 检验及第 2 代杂交式捕获法 (Hybrid Capture II, HC2) 检验。对比分析两种方法检验效果。结果: 100 例患者不同程度宫颈上皮内瘤变占比为 48.00%, 鳞状上皮病变及慢性宫颈炎占比为 44.00%, 未检出占比为 8.00%。PCR 检验对鳞状上皮病变、慢性宫颈炎检出率相比较 HC2 检验更高 ($P < 0.05$), 在宫颈病变检出率中, 两种检验方法比较差异较小 ($P > 0.05$)。PCR 检验 HPV 阳性检出率为 75.00%, HC2 检验 HPV 阳性检出率为 59.00%; PCR 检验的诊断准确率为 75.00%、特异性为 77.36%、敏感性为 72.34%; HC2 检验的诊断准确率为 59.00%、特异性为 54.72%、敏感性为 63.83%。可见 PCR 检验的诊断准确率、特异性相比较 HC2 检验较高 ($P < 0.05$), 敏感性比较差异较小 ($P > 0.05$)。结论: 在高危型人乳头瘤病毒患者检验中采取 PCR 检验效果明显, 其具有较高的特异性及敏感性, 在诊断高危型人乳头瘤病毒疾病中具有较高的价值。

【关键词】聚合酶链反应 (PCR); 高危型人乳头瘤病毒; 杂交捕获; 诊断价值

The Effect of PCR Detection in High-risk Human Papillomavirus

Mei Peng

Hengshui Fourth People's Hospital Hebei Hengshui 053000

Abstract: Objective: To analyze the effect of polymerase chain reaction (PCR) in the detection of high-risk human papillomavirus. Methods: The selected subjects of this study were high-risk human papillomavirus patients, with a total of 100 cases from February 2020 to February 2022. The above patients were tested by PCR and Hybrid Capture II (HC2). Compare and analyze the test results of the two methods. Results: The proportion of cervical intraepithelial neoplasia of different degrees in 100 patients was 48.00%, the proportion of squamous epithelial lesions and chronic cervicitis was 44.00%, and the undetected proportion was 8.00%. Compared with HC2 test, PCR test has a higher detection rate for squamous epithelial lesions and chronic cervicitis ($P < 0.05$). The positive detection rate of HPV by PCR was 75.00%; The positive rate of HPV in HC2 test was 59.00%. The positive detection rate of HPV by PCR was higher than that by HC2 test ($P < 0.05$). The diagnostic accuracy, specificity and sensitivity of PCR were 75.00%, 77.36% and 72.34% respectively. The diagnostic accuracy, specificity and sensitivity of HC2 test were 59.00%, 54.72% and 63.83%, respectively. It can be seen that the diagnostic accuracy and specificity of PCR test are higher than that of HC2 test ($P < 0.05$). The difference in sensitivity was small ($P > 0.05$).

Keywords: Polymerase Chain Reaction(PCR); High Risk Human Papillomavirus(HR-HPV); Hybridization Capture; Diagnostic value

人乳头瘤病毒 (Human Papillomavirus, HPV) 是一种双链环状 DNA 病毒, 基因组由 8000 个碱基对组成, 包括 6 个早期基因 (E1、E2、E4、E5、E6、E7)、2 个晚期基因 (L1 和 L2) 和 1 个非编码区。其存在多种基因亚型, 按照基因型风险性的不同, 将其可分为低危型和高危型 2 类。低危型 HPV 主要引起人的寻常疣和尖锐湿疣等多种性传播疾病, 如 HPV 6、HPV 11、HPV 42 等亚型; 而高危型 HPV 常和宫颈癌及癌前病变密切相关, 例如 HPV 16、HPV 18、HPV33 等亚型。在临床上检测该病毒多采取 HC2 的分子 ELISA 技术, 此种方法可获得一定的诊断效果, 但其阳性检出率不高, 为了能够提升诊断准确率, 需要采取一种有效方法。伴随分子诊断技术的持续发展, PCR 检测于临床上得到了较好的应用, 可对 HPV 检测起到重要的作用, 有助于提升诊断准确率^[2]。因此, 本研究选入 100 例 2020 年 2 月 -2022 年 2 月期间的高危型人乳头瘤病毒感染者, 结合其宫颈细胞学病变来分析 HR-HPV 检测中采取 PCR 技

术的效果。

1 材料与方法

1.1 研究对象

本实验所选入的研究对象为 2020 年 2 月 -2022 年 2 月期间高危型人乳头瘤病毒患者 100 例。上述患者基础资料完整, 经向患者表明此次研究意义后可积极参与研究中。排除存在生殖疾病者、精神疾病者、认知障碍者, 以及因其他因素无法配合本次研究者。患者年龄在 24-61 岁, 均值范围 (46.54±3.21) 岁, 其中有 37 例低度鳞状上皮内病变, 23 例高度鳞状上皮内病变, 40 例不典型鳞状细胞特征。

1.2 试剂与仪器

人乳头瘤病毒 (23 个型) 核酸分型检测试剂盒 (荧光 PCR 法, 国械注准 20153401700), 为潮州凯普生物化学有限公司产品; 高危型人乳头瘤病毒 (HPV) 核酸检测试剂盒 (杂交捕获 - 化学发光法, 国械注准 20163401209) 为凯杰生物工程 (深圳) 有限公司。SLAN-96S 为上海宏石

医疗科技有限公司; HC2HPV 检测系统为凯杰生物工程(深圳)有限公司。

1.3 方法

对所有患者进行采集样本后进行 PCR 检测及 HC2 检测。方法如下:

(1) 样本采集及处理: 使用扩阴器将患者宫颈口予以扩张, 以棉拭子对阴道分泌物予以擦净, 于宫颈口放入宫颈刷, 随后进行转动 4 到 5 周, 以对宫颈脱落细胞予以收集, 随后把脱落细胞宫颈刷放入洗脱管内, 标记好。通过高速离心, 去除上清液, 加入裂解液 (50uL) 悬浮沉淀, 100°C 热裂解 10 分钟, 离心沉淀蛋白杂志, 上清用于检测。

(2) PCR 检验: 使用荧光 PCR 仪及核酸扩增试剂盒, 操作严格按试剂操作标准流程及说明书进行, 经荧光定量 PCR 仪扩增检测标本核酸, 遵照试剂说明书要求对各分型 HPV 的 Ct 值和阴阳性结果予以判读。

(3) HC2 检验: 获得样本 DNA 双链解链, 采取 RNA 探针将其杂交获得 DNA-RNA 杂交体, 杂交体联合特异性抗体, 以使得抗体磷酸化产生信号, 经检测发光强度大小, 对特异性结合 DNA-RNA 杂交体含量予以检测。操作人员严格按照试剂盒说明书进行操作。在 HPV 负荷量大于等于 1.0pg/ml 为阳性。

1.4 疗效标准

1.4.1 检出率

比较两种检测方法在不同程度宫颈病变中 (CINI 级、CINII 级、CINIII 级及慢性宫颈炎) 的 HPV 检出率。

1.4.2 诊断效能

观察比较两种方法的诊断效能, 其中诊断准确率计算方法为真阴性加上真阳性比上总例数乘以 100%; 特异性计算方法为真阴性 (真阴性 + 假阳性) 乘以 100%; 敏感性计算方法为真阳性 (真阳性 + 假阴性) 乘以 100%。

1.5 统计学方法

试验数据均采用 SPSS23.0 软件进行统计处理。(x ±s) 用于表示计量资料, 用 t 检验; (%) 用于表示计数资料, 用 (x²) 检验。当所计算出的 P < 0.05 时则提示进行对比的对象之间存在显著差异。

2 结果

2.1 两种检测方法对不同程度宫颈病变中的检出率比较分析

100 例患者有 48 例不同程度宫颈上皮内瘤变, 占比为 48.00%, 44 例鳞状上皮病变及慢性宫颈炎, 占比为 44.00%, 8 例未检测出, 占比为 8.00%。表 1 显示, PCR 检验对鳞状上皮病变、慢性宫颈炎检出率相比较 HC2 检验更高 (P < 0.05), 在宫颈病变检出率中, 两种检验方法比较差异较小 (P > 0.05)。

表 1 两种检测方法对不同程度宫颈病变中的检出率比较分析 [n, (%)]

组别	宫颈病变分级			鳞状上皮病变、慢性宫颈炎 (n=44)
	CIN I级 (n=20)	CIN II级 (n=12)	CIN III级 (n=16)	
PCR 检验	19 (95.00%)	11 (91.67%)	16 (100.00%)	36 (81.82%)
HC2 检验	18 (90.00%)	10 (83.33%)	16 (100.00%)	25 (56.82%)
x ²	0.360	0.381	0.000	6.465
P	0.548	0.537	1.000	0.011

2.2 两种检测方法的 HPV 阳性检出率对比分析

表 2 可见, PCR 检验 HPV 阳性检出率为 75.00% (75/100); HC2 检验 HPV 阳性检出率为 59.00% (59/100)。得知 PCR 检验 HPV 阳性检出率相比较 HC2 检验较高 (P < 0.05)。

表 2 两种检测方法的 HPV 阳性检出率对比分析 [n, (%)]

组别	例数	阴性	阳性	阳性检出率 (%)
PCR 检验	100	25	75	75.00%
HC2 检验	100	41	59	59.00%
x ²	-	-	-	5.789
P	-	-	-	0.016

2.3 两种检测方法的效能对比分析

PCR 检验的诊断准确率为 75.00% (75/100); 特异性为 77.36% (41/53); 敏感性为 72.34% (34/47)。HC2 检验的诊断准确率为 59.00% (59/100); 特异性为 54.72% (29/53); 敏感性为 63.83% (30/47)。χ² 检验值: 诊断准确率 (χ²=5.789, P=0.016); 特异性 (χ²=6.057, P=0.014); 敏感性 (χ²=0.783, P=0.376)。可见 PCR 检验的诊断准确率、特异性相比较 HC2 检验更高 (P < 0.05),

敏感性比较并无显著性差异 (P > 0.05)。

3 讨论

HPV 感染宿主的过程中, 由于机体免疫系统具有保护和清除功能, 病毒颗粒可随脱落的细胞排出体外, 该过程诱发宫颈病变或病变进展的风险极低^[6]。80% 的女性存在 HPV 一过性感染迹象, 约 17% 的女性会发展为高度鳞状上皮内病变或侵袭性宫颈癌。因此, 干预持续性感染, 做到早诊早治是可以降低持续性感染的风险^[3]。

在医学技术不断提高的今天, PCR 检验在 HPV 检验当中得到了广泛的应用, 其具有较高的诊断价值, 这种方法简单易行, 检测时间短, 且价格相对便宜, 一定程度上能提高检测 HPV 感染的及时性、有效性和广泛性。PCR 检验通过荧光信号的累积来监控整个 PCR 进程, 荧光染料穿透 DNA 双链释放荧光信号保证了荧光信号随 PCR 产物的增多而同步变化, 有着很高的特异性、敏感性, 有别于传统检验方法, 其检验结果相关性更好, 可大大提高诊断的准确率^[4]。

此次研究结果显示, PCR 检验的诊断准确率为 75.00%、特异性为 77.36%、敏感性为 72.34%。HC2 检验的诊断准确率为 59.00%、特异性为 54.72%、敏感性为

63.83%。可见 PCR 检验的诊断准确率、特异性相比较 HC2 检验较高 ($P < 0.05$)。笔者分析认为, 添加荧光基团并利用荧光信号对反应物的监控, 可以由 PCR 循环获得扩增数据, 然后精确地确定循环的阈值, 此外扩增产物的分析也在封闭管内完成, 可避免污染, 继而保证检验准确性。采用 PCR 全自动分析诊断 HPV 患者时, 可简化过程, 简化操作者相关操作, 同时可避免人为因素造成的误差^[5]。此外, PCR 检验对鳞状上皮病变、慢性宫颈炎检出率相比较 HC2 检验更高 ($P < 0.05$), 与陈娟^[6]等研究结果基本一致(陈娟需+文献支撑)。

综上所述, 在高危型人乳头瘤病毒患者检验中采取 PCR 检验效果明显, 其具有较高的特异性及敏感性, 在诊断高危型人乳头瘤病毒疾病中具有较高的价值。

参考文献:

[1] 唐昕. 实时 PCR 检验在高危型人乳头瘤病毒中的诊

断价值分析 [J]. 西藏医药, 2021, 42(06): 21-23.

[2] 戚华文, 刘爵杰, 吴铭华. 高危型人乳头瘤病毒诊断中实时 PCR 检验的应用研究 [J]. 中国实用医药, 2020, 15(17): 79-81.

[3] 时秀云, 于欣, 马苏琳. 荧光标志技术与 PCR 检验技术相结合在高危型人乳头瘤病毒诊断中的应用研究 [J]. 中国现代药物应用, 2019, 13(19): 6-8.

[4] 许琰, 韩丹. 实时 PCR 检验在高危型人乳头瘤病毒中的诊断价值研究 [J]. 中外女性健康研究, 2019(03): 79+145.

[5] 谢前进, 付少君. 实时荧光 pcr 在高危型人乳头瘤病毒检验的诊断价值评价 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(65): 164.

[6] 陈娟. 液基细胞学和高危型 HPV DNA 16.18 检测对宫颈癌前病变筛查的作用 [J]. 浙江中医药大学学报, 2008, 32(3): 327-328.