

性病门诊尖锐湿疣患者指尖 HPV 感染情况调查*

王建彬¹, 李雪萍¹, 曾维英², 程庆², 赖嘉希², 陈惠茹², 柯吴坚²

(1. 汕头市皮肤性病防治院, 广东汕头 515041; 2. 南方医科大学皮肤病医院, 广州 510009)

摘要:目的 明确尖锐湿疣(CA)患者手指尖人乳头瘤病毒(HPV)感染情况。方法 招募性病门诊确诊为CA的患者119例,采用PCR方法检测其指尖HPV感染情况。CA患者指尖HPV感染情况与性别比较采用卡方检验,与年龄、病程比较采用两个独立样本 t 检验。结果 119例指尖样本有31例HPV DNA阳性,阳性率为26.1%。男性CA患者中指尖HPV感染率为29.8%(17/57),高于女性的22.6%(14/62),差异无统计学意义($\chi^2=0.808, P=0.368$)。指尖HPV阳性者平均年龄为 31.74 ± 6.79 岁,低于阴性者的 33.98 ± 10.36 岁,差异无统计学意义($t=1.119, P=0.266$)。指尖HPV阳性者平均病程为 5.74 ± 4.40 月,高于阴性者的 4.41 ± 2.12 月,差异有统计学意义($t=2.213, P=0.029$)。结论 CA患者指尖HPV感染率高,提示HPV可能经手间接感染。性别和年龄与指尖HPV感染无关,而与病程长短有关,病程越长感染率越高。

关键词:尖锐湿疣;指尖;人乳头瘤病毒感染

中图分类号:R752.53;R446.5 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2018)03-148-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2018.03.038

Investigation of Fingertip HPV Infection in Patients with Condylomata Acuminate in STD Clinic

WANG Jian-bin¹, LI Xue-ping¹, ZENG Wei-ying², CHENG Qing², LAI Jia-xi², CHEN Hui-ru²,

KE Wu-jian² (1. Shantou Hospital of Skin Disease Prevention and Cure, Guangdong Shantou 515041, China; 2. Dermatology Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510009, China)

Abstract: Objective To investigate the fingertip human papillomavirus (HPV) infection in condylomata acuminata (CA) patients of sexually transmitted disease (STD) clinic. Methods 119 CA patients in STD clinic were recruited. The PCR method was used to detect HPV infection in their fingertips. The chi-square test was used to compare the fingertip HPV infection with gender. The two independent samples t -test was used to compare the fingertip HPV infection with age and the course of disease. Results 31 CA patients' fingertip were infected with HPV DNA, and the infection rate was 26.1%. The fingertip HPV infection rate in male CA patients was 29.8% (17/57), which higher than in women of 22.6% (14/62), and the difference was not significant ($\chi^2=0.808, P=0.368$). The average age in the fingertip HPV positive patients were 31.74 ± 6.79 years, which less than the negative patients of 33.98 ± 10.36 years, and the difference was not significant ($t=1.119, P=0.266$). The average course of disease in the fingertip HPV positive patients were 5.74 ± 4.40 months, which higher than the negative patients of 4.41 ± 2.12 months, and the difference was significant ($t=2.213, P=0.029$). Conclusion The fingertip HPV infection rate was high in CA patients, suggesting that HPV infection may be transmitted by hands. Gender and age fingertip HPV infection had nothing to do with the duration of disease-related, the longer the course of disease, the higher the fingertip HPV infection rate in CA patients.

Keywords: condylomata acuminata; fingertip; HPV infection

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染是全球最常见和最易感的性传播感染^[1,2]。性接触是HPV主要的传播方式,而间接接触引起的HPV感染近年来逐渐引起重视^[3]。Hernandez等^[4]为研究HPV是否会通过手-性器官接触传播,他们通过随访25对HPV感染的夫妇发现,引起肛门生殖器部位疾病的HPV还可以通过手-生殖器的接触感染性伴,提示手-性器官的接触可能在HPV感染中发挥作用。Winer等^[5,6]对女大学生

进行观察发现,性活跃女生指尖HPV感染率为14%,如果仅有手-性器官接触而没有插入性行为女生指尖HPV感染率为10%,而没有任何性接触女生指尖HPV阳性率仅为1%,该研究进一步提示手-性器官接触在HPV感染中发挥作用。我们通过对国内外文献检索发现,目前缺乏尖锐湿疣(condylomata acuminata, CA)患者指尖HPV感染数据。为此我们通过招募性病门诊确诊为CA的患者,采用PCR方法检测其指尖HPV感染情况,

* 基金项目:广东省医学科学技术研究基金项目(A2018248, A2017224)。

作者简介:王建彬(1982—),男,医学学士,主治医师,研究方向:性传播疾病, E-mail: 247741373@qq.com。

通讯作者:柯吴坚,男,医学博士,研究方向:性传播疾病, E-mail: kewujianstauch@163.com。

来明确 CA 患者手指尖 HPV 感染情况及其在 HPV 传播中的意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象和样本采集 入组 CA 患者诊断标准根据 2000 年卫生部性病专家咨询委员会制定的“性病诊疗规范和性病治疗推荐方案”并签署知情同意书。患者为 2014 年 2 月~2015 年 12 月期间来汕头市皮肤性病防治院性病门诊和南方医科大学皮肤病医院就诊者。119 例患者中男性 57 例, 女性为 62 例。年龄 18~64 岁, 平均年龄 33.4 岁。病程 1~18 个月, 平均 4.8 个月。ACW 排除标准: 已经接受治疗的 CA 患者、HIV 感染者、免疫功能低下者、长期系统服用免疫抑制剂或糖皮质激素、并发其他系统疾病和性传播疾病者或无法随访者。嘱患者避免洗手超过 4 h 后, 用细胞刷于患者十指指尖处反复 10 次刷取上皮细胞, 将其放入有患者编号的取样管中, 取样管内已加有专门细胞保存液, 拧紧瓶盖。标本采集后立即送检。4℃ 保存不超过 24 h, -20℃ 保存不超过 3 个月。标本运送采用低温保存运送。

1.2 试剂与仪器 细胞裂解液(HybriBio 公司), Go Taq Buffer(Promega 公司), dNTP(Thermo 公司), MgCl₂ (Sigma 公司), Go Taq Polymerase (Promega 公司), 分子水 (Sigma 公司), 琼脂糖 (Sigma 公司), PCR 扩增仪(Bio-Rad 公司)。

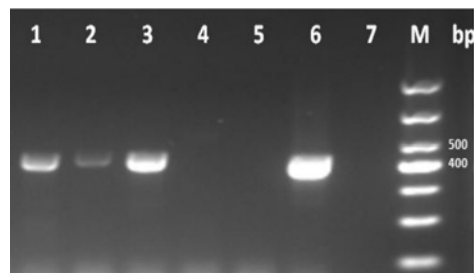
1.3 方法 参照细胞裂解液(HybriBio)试剂操作说明提取 DNA, 具体方法如下: 取 500 μl 临床样本 14 000 r/min 离心 1 min, 去上清。加入 400 μl 溶液 I(事先 45℃ 水浴中预热), 振荡混匀, 100℃ 加热 15 min, 室温下放置 2 min。点动离心, 加入 400 μl 溶液 II, 振荡混匀后, 室温下放置 2 min, 14 000 r/min 离心 5 min。去上清, 重复 2 次(务必去干净, 或可将上清倒入废液缸后, 14 000 r/min 离心 1 min, 用 200 μl 移液器调至 90 μl 量, 轻轻将剩余上清吸尽, 枪头切勿碰到离心沉淀方向, 以免吸掉 DNA)。室温放置 2 min, 加入 60 μl 溶液 III, 充分溶解。静置 10 min, 14 000 r/min 离心 1 min。取 1~2 μl 加入无菌水稀释至合适体积, 用紫外分光光度计检测 $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ 值。如果核酸溶液 $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ 比值在 1.8 左右(范围介于 1.7~2.0)时, 认为已达到所要求的纯度, 将提取好的 DNA 置于 -70℃ 冰箱保存备用。PCR 检测采用 HPV 通用引物 MY09/11(MY09: 5'-CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC-3'; MY11: 5'-GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG-3'; M: A/C; R: A/G; W: A/T; Y: C/T), 引物由上海生物科技有限公司合成并经 PAGE 纯化。扩增 HPV L1 片段

产物大小为 450 bp。PCR 反应总体体系包含 HPV 模板 DNA, 上下游引物, Go Taq Buffer (Promega), dNTP(Thermo), MgCl₂ (Sigma), Go Taq Polymerase(Promega)和分子水(Sigma)。PCR 反应条件: 95℃ 加热 2 min 后进入 40 个循环。循环条件为 95℃ 变性 1 min, 55℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min。最后 72℃ 延伸 10 min。产物鉴定: 1.5 g/dl 琼脂糖(Sigma)凝胶 70V 电泳 40 min, 于凝胶成像仪中观察并记录结果。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 16.0 统计软件对数据进行统计学分析, CA 患者指尖 HPV 感染情况与性别比较采用卡方检验, 与年龄、病程比较采用两个独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HPV DNA PCR 结果 119 份指尖样本中, 31 份 HPV DNA 阳性, 阳性率为 26.1%。HPV DNA PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图, 见图 1。



注: 1, 2, 3: 阳性样本; 4, 5: 阴性样本; 6: 阳性对照; 7: 阴性对照; M: Marker。

图 1 HPV DNA 的 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图

2.2 性别、年龄和病程对指尖 HPV 感染情况的影响 男性 CA 患者中指尖 HPV 感染率为 29.8% (17/57), 高于女性的 22.6% (14/62), 二者经卡方检验差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.808$, $P = 0.368$)。指尖 HPV 阳性者平均年龄为 31.74 ± 6.79 岁, 低于阴性者的 33.98 ± 10.36 岁, 二者经两个独立样本 *t* 检验差异无统计学意义 ($t = 1.119$, $P = 0.266$)。指尖 HPV 阳性者平均病程为 5.74 ± 4.40 月, 高于阴性者的 4.41 ± 2.12 月, 二者经两个独立样本 *t* 检验差异有统计学意义 ($t = 2.213$, $P = 0.029$)。结果提示 CA 患者的性别和年龄与指尖 HPV 感染无关, 而与病程长短有关, 时间越长感染率越高。

3 讨论 HPV 是乳头瘤病毒家族中能够感染人皮肤或黏膜角化上皮细胞的一种约 8 000 个碱基对的 DNA 病毒^[7]。HPV 病毒体通过上皮组织微损伤与其受体- α 整合素和层黏连蛋白结合并通过网格蛋白和/或小窝蛋白介导的内吞作用进入基底上皮细胞。全球 HPV 感染率高达 12%^[8]。目前

已有 170 种 HPV 型完成基因组测序^[9], 超过 40 种 HPV 型通过性行为传播^[10]。HPV 的传播途径包括性接触、母婴传播、密切接触、间接接触和医源性感染等。直接性行为在 HPV 感染中已经得到广泛证实, 但对于间接接触感染, 比如通过手-生殖器部位感染则研究不足。Hernandez 等^[4] 每隔一个月对 25 对夫妇的生殖器和优势手进行 HPV 检测, 平均随访 7.5 个月。研究发现有 2 对夫妇生殖器部位高危型 HPV 感染对方优势手, 2 例妻子优势手 HPV 传染到丈夫的生殖器, 1 例妻子生殖器 HPV 传染到丈夫的优势手, 各有 2 例丈夫和妻子自己生殖器 HPV 传染到自己的手。因此笔者认为手部 HPV 的自身或性伴接触可能在 HPV 感染过程中扮演重要角色。Winer 等^[5] 对大学女生指尖进行 HPV 检测发现, 性活跃者指尖 HPV 阳性率为 14%, 而 14 例无性行为女生指尖均未检出 HPV。Winer 等^[6] 另一项针对大学女生研究显示, 无插入性行为但有手-生殖器接触者指尖 HPV 阳性率为 10%, 而无任何性接触的 76 位女生仅 1 人指尖检出 HPV。因此研究者认为 HPV 可通过感染者及其性伴的手传染到生殖器部位。

CA 是由 HPV 感染引起的临床常见性传播疾病^[11,12], 而 HPV 的间接感染也时有报道。为了解 CA 患者手部 HPV 感染率以及 HPV 是否会通过 CA 患者手部进行传播, 我们通过对国内外文献检索发现, 目前国内外缺乏 CA 患者指尖 HPV 感染数据。为此我们通过招募性病门诊确诊为 CA 的患者, 采用 PCR 方法检测其指尖 HPV 感染情况。我们发现在 119 例 CA 患者中, 有 31 例指尖检出 HPV DNA, 阳性率为 26.1%, 其中男性和女性 HPV 指尖感染率分别为 29.8% 和 22.6%, 均明显高于 Winer 等^[5] 报道的大学女生性活跃者指尖 14% 的 HPV 感染率, 表明与无症状 HPV 感染者相比, CA 患者指尖 HPV 感染率更高, 更需要引起临床重视。此外我们对指尖 HPV 感染者的性别、年龄和病程进行统计分析发现: ①男性 CA 患者中指尖 HPV 感染率高于女性, 二者经卡方检验无统计学差异; ②指尖 HPV 阳性者平均年龄为 31.74 ± 6.79 岁, 低于阴性者的 33.98 ± 10.36 岁, 二者经两个独立样本 *t* 检验差异无统计学意义; ③指尖 HPV 阳性者平均病程为 5.74 ± 4.40 月, 明显高于阴性者的 4.41 ± 2.12 月, 二者经两个独立样本 *t* 检验差异有统计学意义; 结果提示 CA 患者的性别和年龄与指尖 HPV 感染无关, 而与病程长短有关, CA 病程越长指尖 HPV 感染率越高。

我们该项研究首次回答了 CA 患者指尖 HPV 感染情况以及感染相关危险因素, 为我们后续的夫

妻间手-生殖器交叉感染、HPV 型别与指尖 HPV 感染相关性研究提供数据支持, 也为防控经手 HPV 感染提供理论依据。

参考文献:

- [1] Rosenberg K, Mechcatie E. HPV vaccination and sexual behaviors in adolescents and young women[J]. Am J Nurs, 2018, 118(4):69.
- [2] Napolitano F, Navaro M, Vezzosi L, et al. Primary care pediatricians' attitudes and practice towards HPV vaccination: A nationwide survey in Italy[J]. PLoS One, 2018, 13(3):e0194920.
- [3] 赖嘉希, 柯吴坚, 刘 晗. 人乳头状瘤病毒非性行为传播途径的研究现状[J]. 护理研究, 2017, 31(19): 2319-2320.
- [4] Lai JX, Ke WJ, Liu H. Research status quo of non-sexual transmission of human papillomaviruses[J]. Nursing Research of China, 2017, 31(19): 2319-2320.
- [5] Hernandez BY, Wilkens LR, Zhu X, et al. Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples[J]. Emerg Infect Dis, 2008, 14(6): 888-894.
- [6] Winer RL, Hughes JP, Feng Q, et al. Detection of genital HPV types in fingertip samples from newly sexually active female university students[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010, 19(7): 1682-1685.
- [7] Winer RL, Lee SK, Hughes JP, et al. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students[J]. Am J Epidemiol, 2003, 157(3): 218-226.
- [8] Scheller NM, Pasternak B, Mølgaard-Nielsen D, et al. Quadrivalent HPV vaccination and the risk of adverse pregnancy outcomes[J]. N Engl J Med, 2017, 376(13): 1223-1233.
- [9] Schuster M. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, October 2014-Recommendations[J]. Vaccine, 2015, 33(36): 4383-4384.
- [10] Kulhan M, Kulhan NG, Seven Y, et al. Estimation of the prevalence and distribution of HPV genotypes and identification of related risk factors among Turkish women[J]. Contemp Oncol (Pozn, Poland), 2017, 21(3): 218-223.
- [11] Han JJ, Beltran TH, Song JW, et al. Prevalence of genital human papillomavirus infection and human papillomavirus vaccination rates among US adult men: National health and nutrition examination survey (NHANES) 2013 ~ 2014[J]. JAMA Oncol, 2017, 3(6): 810-816.
- [12] 杜伟平, 米思蓉, 王 丽, 等. 延安地区妇女 HPV 基因分型及临床相关研究[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(1): 109-111, 114.
- [13] Du WP, Mi SR, Wang L, et al. HPV genotyping and clinical studies of women in Yan'an area[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(1): 109-111, 114.
- [14] 原 荣, 李 军, 南 星, 等. 陕西省宝鸡和咸阳两地妇女 HPV 感染现状和类型分析[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(6): 145-146, 150.
- [15] Yuan R, Li J, Nan X, et al. HPV prevalence and subtypes analysis of women in Baoji and Xianyang area of Shaanxi province[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(6): 145-146, 150.

收稿日期: 2018-03-29

修回日期: 2018-05-01