

# cobas 4800 与 careHPV 用于人乳头瘤病毒检测的对比研究

陈 凤,林春青,王 红,刘 畅,崔剑峰,刘 彬,付春静,康乐妮,于露露,陈 汶  
(中国医学科学院肿瘤医院,北京 100021)

**摘 要:**[目的] 比较 cobas 4800 检测和 careHPV 人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 检测方法用于宫颈癌筛查的有效性和一致性。[方法] 本研究纳入 856 名研究对象, 采用 cobas 4800 和 careHPV 检测方法对宫颈脱落细胞标本进行 HPV DNA 检测。以病理组织学为金标准, 评估 careHPV 和 cobas 4800 检出宫颈上皮内瘤变 2 (cervical intraepithelial neoplasia grade 2, CIN2) 及以上病人的有效性和准确性。采用 McNemar 检验对两种检测方法进行一致性检验。[结果] 最终 853 例妇女的有效检测结果纳入统计分析。careHPV 和 cobas 4800 检出 HPV DNA 阳性率分别是 37.1% (316/853) 和 39.3% (335/853)。cobas 4800 检测和 careHPV 检出 HPV DNA 一致率为 83.2% (710/853), Kappa=0.65 (95%CI: 0.59~0.70)。careHPV 和 cobas 4800 检出 CIN2+ 的敏感度和特异性分别为 94.4% (95%CI: 81.3%~99.2%) 和 65.5% (95%CI: 62.1%~68.7%), 94.4% (95%CI: 81.3%~99.2%) 和 63.2% (95%CI: 59.7%~66.5%)。在最后纳入统计分析的 853 名妇女中 HPV16 和 HPV 18 的感染率分别为 13.1% 和 2.6%, 而在 36 例 CIN2+ 的病人中, HPV16 和 HPV18 的感染率分别为 77.8% 和 2.8%。[结论] careHPV 和 cobas4800 作为初筛方法检出 CIN2+ 的一致性较好, 然而两种方法又有其不同的优势, 应该根据当地的经济水平来选择用于筛查的 HPV DNA 检测方法。

**关键词:** careHPV; cobas 4800; 人乳头瘤病毒; 宫颈癌

**中图分类号:** R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2014)09-0770-05

**doi:** 10.11735/j.issn.1004-0242.2014.09.A014

## A Comparative Study of careHPV and cobas 4800 for Detecting Human Papillomavirus

CHEN Feng, LIN Chun-qing, WANG Hong, et al.

(Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China)

**Abstract:** [Purpose] To compare effectiveness and accuracy of careHPV test and cobas 4800 test for detecting human papillomavirus (HPV) DNA in the cervical cancer screening. [Methods] A total of 856 women were enrolled in this study. HPV DNA of cervical cell specimens was detected by cobas 4800 and careHPV. With the pathological results as golden standard, the effectiveness and accuracy of careHPV and cobas 4800 for detecting cervical intraepithelial neoplasia grade 2 (CIN2) or greater were evaluated. McNemar test was used to evaluate the agreement of careHPV and cobas 4800 for detecting HPV DNA. [Results] A total of 853 women with valid testing results were included in the analysis. The positive rates of HPV detected by careHPV testing and cobas 4800 testing were 37.1% (316/853) and 39.3% (335/853), respectively. The total agreement of these two methods was 83.2% (710/853) with Kappa value=0.65 (95%CI: 0.59~0.70). The sensitivity and specificity of careHPV and cobas 4800 for detecting CIN2+ were 94.4% (95%CI: 81.3%~99.2%) and 65.5% (95%CI: 62.1%~68.7%), 94.4% (95%CI: 81.3%~99.2%) and 63.2% (95%CI: 59.7%~66.5%), respectively. The rate of HPV 16 and HPV 18 of 853 women were 13.1% and 2.6% respectively. Among the 36 women with CIN2+, the rate of HPV 16 and HPV 18 were 77.8% and 2.8% respectively. [Conclusion] There is good agreement between careHPV and cobas 4800 for detecting CIN2+. Due to different advantages of careHPV and cobas 4800, the tests used for detecting HPV DNA in cervical cancer screening should be chosen according to the levels of local economy.

**Key words:** careHPV; cobas 4800; human papillomavirus; cervical cancer

宫颈癌是威胁女性健康的第二大恶性肿瘤, 持续

性感染高危型人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 是宫颈癌发生的主要原因<sup>[1]</sup>。在一些发达国家 HPV DNA 检测联合细胞学检查应用于宫颈癌及癌

收稿日期: 2014-04-02; 修回日期: 2014-05-10

通讯作者: 陈汶, E-mail: chenwen@cicams.ac.cn

前病变的筛查<sup>[2]</sup>。一项前瞻性研究结果显示感染 HPV16 和 HPV18 的妇女 10 年内宫颈上皮内瘤变的累积发生率分别为 17.2% 和 13.6%<sup>[3]</sup>。目前全国开展的宫颈癌筛查项目中,采用巴氏涂片和醋酸染色/复方碘染色(VIA/VILI)进行宫颈癌及癌前病变的筛查。在中国,HPV DNA 检测还没有应用于大规模的人群筛查。在 HC2(Hybrid Capture II,凯杰公司,美国)基础上研发的 careHPV(凯杰公司,美国)是一种简单、快速、有效和廉价的 HPV DNA 检测方法<sup>[4]</sup>。cobas 4800(罗氏公司,美国)是一种基于聚合酶链反应(PCR)技术的 HPV DNA 检测方法。cobas 4800 检测技术在检测 14 种高危型别的基础上还可以特异性对 HPV16 和 HPV18 进行分型。本研究将对 careHPV 和 cobas 4800 检测技术用于 HPV DNA 检测进行对比分析,为 HPV DNA 检测技术广泛应用于全国人群宫颈癌筛查提供科学依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

2011 年 3 月至 6 月在河南省新密市选择 2 个高发乡镇(平陌镇和超化镇),通过 HPV DNA 检测和醋酸碘染色法等方法对其进行宫颈癌筛查,收集宫颈脱落细胞标本。本研究纳入 856 名研究对象,其中包括宫颈癌筛查初筛阳性的妇女和 10% 随机阴性者。研究对象年龄 25~65 岁、有性生活史、目前未怀孕或孕妇妊娠结束后 8 周、无宫颈上皮内瘤变、无宫颈癌、无子宫切除且无消耗性疾病。所有参加本研究的妇女均签署知情同意书。

### 1.2 标本采集

妇科医生使用凯杰宫颈采样刷从子宫颈外口处刷取宫颈脱落细胞标本放入 DCM 缓冲液中,储存在 DCM 保存液中的标本用于 careHPV 检测。同时取细胞学采样刷收集一份标本储存在细胞学保存液中用于 cobas 4800 检测。

### 1.3 HPV DNA 检测

#### 1.3.1 cobas 4800 检测

cobas 4800 高危型人乳头瘤病毒检测是一种通过 PCR 扩增进行体外检测的技术,能够检测 HPV16、HPV18 和其他 12 种高危型 HPV(31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 和 68)。cobas 4800 检测主

要包括两个过程,首先通过自动化样品制备同时提取细胞及 HPV DNA,然后通过 PCR 引物对 HPV 和  $\beta$ -球蛋白目标 DNA 序列进行扩增,扩增的目标 DNA 序列与其相应的荧光探针结合,该检测的荧光探针有 4 种,分别是 HPV16、HPV18、 $\beta$ -球蛋白及 12 种其他高危型 HPV,探针分别用不同的荧光染料标记,通过实时监测荧光信号确定样本中 HPV 的种类和含量。 $\beta$ -球蛋白为内对照,保证足够量的标本用于 HPV DNA 检测。HPV18 和 12 种其他高危型别循环阈值(cycle threshold cutoffs)  $\leq 40$  判定检测为阳性结果, $>40$  且  $\beta$ -球蛋白检测有效则判定为阴性结果,否则视为无效结果。HPV16 循环阈值  $\leq 40.5$  判定为阳性结果, $>40.5$  且  $\beta$ -球蛋白检测有效则判定为阴性结果,否则视为无效结果。每一检测批次分别设置一个阴性对照和一个阳性对照。

#### 1.3.2 careHPV 检测

careHPV 是一种利用生物体外核酸杂交检测技术,通过荧光信号放大的手段,在微孔检测板上进行检测。careHPV 可以检测出 14 种高危 HPV 型别(16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66 和 68)。当样本中含有高危型 HPV DNA 时,HPV DNA 便会与混合探针中的互补性 RNA 探针进行杂交形成 DNA:RNA 杂交物。载有抗 DNA:RNA 杂交物抗体的磁珠可将 DNA:RNA 杂交物捕获,从而使其与非杂交物分离。进而,一种含有碱性磷酸酶的抗 DNA:RNA 杂交物抗体,与被捕获的 DNA:RNA 杂交物偶合。经清洗,去掉非偶合物质后,在磁珠上留下按比例偶合的含有碱性磷酸酶的抗 DNA:RNA 杂交物抗体,这一比例与杂交的 HPV-DNA 量一致。最后,磁珠上偶合物中的碱性磷酸酶和底物反应,使底物水解发光,通过比较样本的光信号强度与阈值之间的关系来确定样本性质。每份标本经处理后,都会得出一个数值即相对光度单位(relative light units, RLU),将之与对照的最小阳性值即临界值(cutoff, CO)相比得到一个比值(RLU/CO),该值可以用来判定检测结果。当 RLU/CO  $< 1.0$  即判定为 HPV 阴性,RLU/CO  $\geq 1.0$  则判定为 HPV 阳性。

### 1.4 病理诊断

所有妇女接受电子阴道镜检查,若镜下发现病变,则进行直接活检,如未发现异常,在 2、4、8、10 处进行随机活检或者颈管搔刮术。所有病理标本先由当地一名病理学医生进行初次阅片,然后再由中国

医学科学院肿瘤医院的另一名病理医生再次阅片,两次结果不一致时需要另一位中国医学科学院肿瘤医院的病理医生进行仲裁。病理医生在不知道其他临床数据和其他检查结果的情况下进行诊断。

### 1.5 统计学处理

采用 SAS9.0 统计软件对数据分析,计算 Kappa 值和一致率,比较 careHPV 和 cobas 4800 检测 HPV DNA 一致性。以病理诊断结果为金标准,计算 careHPV 和 cobas 4800 检测 CIN2+敏感度和特异性。

## 2 结果

本研究纳入了 856 名妇女,但是由于 cobas 4800 检测有 3 例标本检测不合格,最终 853 名研究对象纳入了统计分析。cobas 4800 和 careHPV 检测结果配对四格表见 Table 1。careHPV 和 cobas 4800 检出 HPV DNA 阳性率分别是 37.1%(316/853) 和 39.3%(335/853)。对 14 种高危型 HPV DNA 一致率为 83.2%(710/853),Kappa=0.65(95%CI:0.59~0.70)。经病理诊断共有 771 例正常,46 例 CIN1,10 例 CIN2 和 26 例 CIN3。

cobas 4800 HPV 检测技术和 careHPV 检测技术筛查效力比较:careHPV 检出 CIN2+的敏感度为 94.4%(95%CI:81.3%~99.2%),特异性为 65.5% (95%CI:62.1%~68.7%)。cobas 4800 检出 CIN2+的敏感度为 94.4% (95%CI:81.3%~99.2%),特异性为 63.2% (95%CI:59.7%~66.5%)。病理诊断结果与 careHPV 和 cobas 4800 检测结果见 Table 2。careHPV 和 cobas 4800 ROC 曲线下面积分别 0.80 (95%CI:0.77~0.83)和 0.79(95%CI:0.76~0.82)(Figure 1)。careHPV 和 cobas 4800 ROC 曲线下面积的差值为 0.01 (95%CI: -0.08~0.10,  $P=0.80$ )。

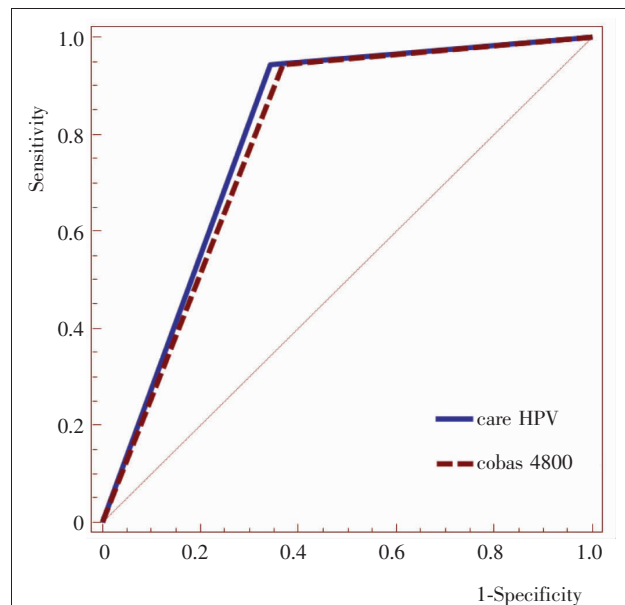
通过 cobas 4800 检测出 HPV16 112 例(13.1%), HPV18 22 例(2.6%),其他高危 HPV 有 262 例(30.7%)。在 CIN2+的 36 例标本中检出 HPV16 28 例(77.8%), HPV18 阳性 1 例(2.8%),其他高危型 HPV 11 例(30.6%) (Table 3)。对 81 例 care HPV 阴性/cobas 4800 阳性标本进行 HPV16、18 分型,结果显示 HPV16、18 和其他高危型 HPV 阳性例数分别为 22、0 和 63 例。

**Table 1 careHPV test and cobas test in 853 women**

| cobas 4800 | careHPV  |          | Total |
|------------|----------|----------|-------|
|            | Positive | Negative |       |
| Positive   | 254      | 81       | 335   |
| Negative   | 62       | 456      | 518   |
| Total      | 316      | 537      | 853   |

**Table 2 Results of biopsy and careHPV,cobas 4800 test**

| Test       | ≥CIN2 | <CIN2 |
|------------|-------|-------|
| careHPV    |       |       |
| Positive   | 34    | 283   |
| Negative   | 2     | 537   |
| cobas 4800 |       |       |
| Positive   | 34    | 301   |
| Negative   | 2     | 516   |



**Figure 1 ROC curve of careHPV and cobas 4800 for CIN2 or greater**

**Table 3 Results of cobas 4800 test**

| Genotype            | Total (n=853) | ≥CIN2(n=36) |
|---------------------|---------------|-------------|
| HPV 16              | 112(13.1%)    | 22(77.8%)   |
| HPV 18              | 22(2.6%)      | 1(2.8%)     |
| Other high risk HPV | 262(30.7%)    | 11(30.6%)   |
| HPV negative        | 518(60.7%)    | 2(5.6%)     |

## 3 讨论

本研究中 careHPV 和 cobas 4800 两种检测方法检出高危型 HPV DNA 的阳性率分别是 37.1%

(316/853)和39.3%(335/853)。我国一项全国多中心研究显示一般人群高危型 HPV DNA 的阳性率为12.4%<sup>[5]</sup>。由于参加的妇女包括宫颈癌初筛结果阳性者,所以 careHPV 和 cobas 4800 检出高危型 HPV DNA 的阳性率要高于普通人群。

careHPV 和 cobas 4800 两种检测方法检出高危型 HPV DNA 的一致率为 83.2%(Kappa=0.65),相比较低于 cobas 4800 与 HC2 两种检测方法的一致性<sup>[6]</sup>。有研究结果显示,在 HC2 阳性/cobas 4800 阴性的标本与 HC2 阴性/cobas 4800 阳性标本相比低危型 HPV 检测出率更高一些,而 HC2 阴性/cobas 4800 阳性的标本比 HC2 阳性/cobas 4800 阴性的标本高危型 HPV 的检出率要高<sup>[7]</sup>。本研究对 81 例 careHPV 阴性/cobas 4800 阳性标本进行 HPV16 和 HPV18 分型,结果显示 HPV16、HPV18 和其他高危型 HPV 阳性例数分别为 22、0、63 例,其中 2 例为 HPV16 和其他高危型 HPV 同时为阳性。有相关研究表明,与 HC2 检测相比,以 PCR 技术为基础的 cobas 4800 检测可以检测出更多的高危型 HPV DNA<sup>[8]</sup>。

本研究以病理组织为金标准, careHPV 检出 CIN2+敏感度和特异性分别为 94.4%(95%CI:81.3%~99.2%)和 65.5%(95%CI:62.1%~68.7%)。张荣等<sup>[9]</sup>发表的 careHPV 检出 CIN2+敏感度为 90.9%(95%CI:81.0%~96.6%),特异性为 82.0%(95%CI:78.0%~85.6%),两项研究差异可能是由于纳入研究对象的病理诊断结果分布不同所致。我们 careHPV 检出 CIN2+敏感度与其他研究有差异,可能原因是由于入选研究对象的纳入标准不同所致<sup>[10]</sup>。本研究 cobas 4800 检出 CIN2+敏感度和特异性分别为 94.4%(95%CI:81.3%~99.2%)和 63.2%(95%CI:59.7%~66.5%),与陈汶等<sup>[6]</sup>研究结果相似。在本研究中 careHPV 和 cobas 4800 两种检测 CIN2+ ROC 曲线下面积无统计学差异。虽然 careHPV 和 cobas 4800 作为初筛方法检测 CIN2+一致性较好,但是两种方法又有其不同的优势,应该根据当地经济水平来选择用于宫颈癌筛查。

HPV16 和 HPV18 在宫颈癌的发生发展过程中起着重要的作用。全国多中心横断面研究显示在宫颈鳞癌的病例中 HPV16 和 HPV18 占了 84.5%<sup>[11]</sup>。前瞻性研究结果显示感染 HPV16 和 HPV18 的妇女发生高度宫颈癌前病变及癌的风险明显增高<sup>[3]</sup>。基

于 HPV16 与 HPV18 与宫颈癌发生密切相关,而 cobas 4800 又能够特异性区分 HPV16 和 HPV18 这两种型别,因此 cobas 4800 被推荐应用于临床上细胞学的转诊分流和宫颈癌的筛查<sup>[12]</sup>。采集一份细胞学标本可以同时进行细胞学诊断和 cobas 4800 HPV DNA 检测。careHPV 检测是一种快速、简单、方便、低价的 HPV DNA 检测方法。一项大样本以人群为基础研究结果显示 careHPV 检测检出 CIN2+的敏感度和特异性可达 95.8(95%CI:91.2%~98.5%)和 87.3%(95%CI:86.5%~88.1%)<sup>[13]</sup>。careHPV 有望应用于欠发达地区大规模的宫颈癌筛查<sup>[10,14,15]</sup>。

本研究局限性是对 careHPV 和 cobas 4800 检测不一致的标本没有进行 HPV 分型,无法对 cobas 4800 阴性/careHPV 阳性和 care 阴性/cobas 4800 阳性的标本的型别分布进行具体的分析;其次入选对象为初筛阳性者而非一般人群,对于两种方法进一步对比分析还需要通过大样本的普通人群的研究来完成,为将来大规模宫颈癌筛查策略的制定提供依据。

综上所述, careHPV 和 cobas 4800 作为初筛方法检测 CIN2+的一致性较好,为 HPV DNA 广泛用于宫颈癌的筛查提供参考依据。

## 参考文献:

- [1] Munoz N, Bosch X, Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. N Engl J Med, 2003, 348(6): 518-527.
- [2] Wright TC, Massad LS, Dunton CJ, et al. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests [J]. Am J Obstet Gynecol, 2007, 197(4): 346-355.
- [3] Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice [J]. J Natl Cancer Inst, 2005, 97(14): 1072-1079.
- [4] Qiao YL. Perspective of cervical cancer prevention and control in developing countries and areas [J]. Chin J Cancer, 2010, 29(1): 1-3. [乔友林. 在发展中国家与地区开展子宫颈癌防治的前景[J]. 癌症, 2010, 29(1): 1-3.]
- [5] Wu EQ, Liu B, Cui JF, et al. Prevalence of type-specific human papillomavirus and pap results in Chinese women: a multi-center, population-based cross-sectional study [J]. Cancer Causes Control, 2013, 24(4): 795-803.



- [6] Chen W, Yu LL, Wang H, et al. Evaluation of cobas 4800 high-risk HPV test as a tool in cervical cancer screening and cytology triage [J]. Zhonghua Zhong Liu Za Zhi, 2012, 34(7):543-548. [陈汶, 于露露, 王红, 等. cobas4800 高危型人乳头瘤病毒检测技术在子宫颈癌前病变筛查和细胞学转诊中的应用[J]. 中华肿瘤杂志, 2012, 34(7): 543-548.]
- [7] Lindemann ML, Dominguez MJ, Antonio JC, et al. Analytical comparison of the cobas HPV test with Hybrid capture 2 for the detection of high-risk HPV genotypes[J]. J Mol Diagn, 2012, 14(1):65-70.
- [8] Cui M, Chan N, Liu M, et al. Clinical performance of Roche cobas 4800 HPV test [J]. J Clin Microbiol, 2014, Apr 9.[Epub ahead of print]
- [9] Zhang R, Zhao FH, Chen W, et al. The evaluation study of validity and reliability of care HPV™ as a screening test for cervical cancer and precancerous lesion [J]. Oncology Progress, 2012, 10:506-510. [张荣, 赵方辉, 陈汶, 等. careHPV™ 筛查宫颈癌及癌前病变的有效性和可靠性评价研究[J]. 癌症进展, 2012, 10:506-510.]
- [10] Qiao YL, Sellors JW, Eder PS, et al. A new HPV-DNA test for cervical-cancer screening in developing regions: a cross-sectional study of clinical accuracy in rural China[J]. Lancet Oncol, 2008, 9(10):929-936.
- [11] Chen W, Zhang X, Molijn A, et al. Human papillomavirus type-distribution in cervical cancer in China: the importance of HPV 16 and 18 [J]. Cancer Causes Control, 2009, 20(9):1705-1713.
- [12] Guo M, Gong Y, Wang JP, et al. The role of human papillomavirus type 16/18 genotyping in predicting high-grade cervical/vaginal intraepithelial neoplasm in women with mildly abnormal Papanicolaou results [J]. Cancer Cytopathol, 2013, 121(2):79-85.
- [13] Zhao FH, Jeronimo J, Qiao YL, et al. An evaluation of novel, lower-cost molecular screening tests for human papillomavirus in rural China [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2013, 6(9):938-948.
- [14] Shi JF, Canfell K, Lew JB, et al. Evaluation of primary HPV-DNA testing in relation to visual inspection methods for cervical cancer screening in rural China: an epidemiologic and cost-effectiveness modelling study[J]. BMC Cancer, 2011, 11:239.
- [15] Jeronimo J, Bansil P, Lim J, et al. A multicountry evaluation of careHPV testing, visual inspection with acetic acid, and papanicolaou testing for the detection of cervical cancer[J]. Int J Gynecol Cancer, 2014, 24(3):576-585.

## 2014 华东胸部肿瘤论坛优秀论文名单

### 一等奖(2篇)

- (1) A Phase II Study of Endostatin in Combination with Paclitaxel, Carboplatin, and Radiotherapy in Patients Unresectable Locally Advanced Non-small Cell Lung Cancer//第一作者: Xiang-Jiang Sun
- (2) 微泡介导的 microRNAs 传递对乳腺癌细胞化疗耐药的影响//第一作者: 陈伟贤 (\* 通讯作者)

### 二等奖(4篇)

- (1) 基于多西他赛为基础的方案在晚期食管鳞癌二线治疗中的疗效//第一作者: 张沂平 (\* 通讯作者)
- (2) 转染 microRNA-330-5p 对肺癌细胞侵袭和迁移能力的影响//第一作者: 王剑 (通讯作者: 陈清勇)
- (3) microRNA-181a 靶向 Bcl-2 调节乳腺癌细胞对阿霉素药物的敏感性//第一作者: 朱滢
- (4) 62 例乳腺癌患者外周血 CTC 的检测结果分析//第一作者: 刘健 (\* 通讯作者)

### 三等奖(6篇)

- (1) 食管癌手术左胸径路下的双喉返神经淋巴结链清扫//第一作者: 胡振东
- (2) RNA 干扰 c-Met 基因表达对非小细胞肺癌侵袭和转移及顺铂敏感性的影响//第一作者: 沈青 (通讯作者: 徐立群)
- (3) Enhancement of Cell Proliferation Inhibitory by Mild Hyperthermia at 43°C with Paris Saponin I on Lung Adenocarcinoma Cell Line PC-9//第一作者: Hao Jiang (通讯作者: Sheng-Lin Ma)
- (4) MiR-452 逆转人乳腺癌 MCF-7/DOC 细胞对多西他赛耐药性及其机制研究//第一作者: 胡清
- (5) Association of the MDR1 Polymorphism 3435C>T with Response and Hematologic Toxicities in Breast Cancer Patients Treated with Taxanes-based Preoperative Chemotherapy//第一作者: Jian Li
- (6) 早期乳腺癌腋窝前哨淋巴结导航的淋巴结群切除替代腋清与腋清术的随机对照研究//第一作者: 俞星飞 (通讯作者: 杨红健)