

素相关。关于 Uu 的致病性目前尚无统一观点,钟山等^[7]认为不同生物群(基因群)的 Uu 与 NGU 和宫颈炎无关,曹玉璞和叶元康^[8]则认为 Uu 生物 2 群为男性尿道感染的潜在病原体,Uu 生物 1 群较 2 群对男性生育力的破坏强^[8-9],而徐小平等^[10]研究发现女性 Uu 感染与寄居均以 Uu 生物 1 群为主,Uu 生物 2 群与妇女 NGU 发病率具有显著相关^[10-11]。Uu 可一过性存在(或寄生)在人体泌尿生殖道而无临床症状,临床检查到 Uu 并不能判断是携带状态还是感染状态,因此患者的临床症状和体征对本病的诊断及是否需要治疗有重要指导作用。本实验中男性患者的标本中 Uu 生物 1 群、2 群的检出率与患者的临床症状和体征的阳性率无统计学差异($\chi^2=0.77, P>0.05$);而女性患者生物 1 群的检出率以及临床症状和体征的阳性率显著高于生物 2 群($\chi^2=4.81, P<0.05$),结果提示:Uu 生物 1 群、2 群对男性致病性无差异,而生物 1 群则是女性 Uu 感染中的优势菌群。

Uu 分群有助于临床明确诊断,同时还可以用于指导临床用药,国内外均有学者报道,不同 Uu 生物群对药物的敏感性不同,Uu 生物 1 群对治疗 Uu 的一线药物如大环内酯类的耐药率比 Uu 生物 2 群高^[4,12]。因此,开展临床 Uu 生物群的检测,区别对待 Uu 不同生物群感染的治疗,对合理地处理患者、减少临床不合理使用抗菌药物、避免耐药菌株产生与播散等具有重要意义。下一步我们将扩大样本量,采用 PCR 技术对不同 Uu 生物群进行分型,并结合 Uu 培养鉴定、体外药敏试验及临床治疗效果,进一步深入研究 Uu 生物群与泌尿生殖道感染的相关性。

参考文献

[1] Kong F, James G, Ma Z, et al. Phylogenetic analysis of *Ureaplasma urealyticum* support for the establishment of a new species, *Ureaplasma parvum*[J]. Int J Syst Bacteriol, 1999, 49(4): 1879-1889.

• 检验技术与方法 •

实时荧光核酸恒温扩增技术检测尿液中淋球菌的分析

高志华, 金 印, 陈 峰

(广东省东莞市南方医科大学广济医院检验科 523690)

摘要:目的 评价实时荧光核酸恒温扩增技术(SAT)检测淋球菌(NG)的特异性和敏感性。方法 对 218 例疑似患者生殖道拭子行 SAT、PCR 和 NG 培养检测,同时对对应的 218 份尿液标本行 SAT 检测。结果 SAT 平行检测同一来源的拭子标本和尿液标本,检测结果完全一致。与 NG 培养法相比,SAT 对尿液/拭子标本的检测灵敏度为 100.00%,特异性为 99.27%;与 PCR 法相比,SAT 对尿液/拭子标本的检测灵敏度为 100.00%,特异性为 97.08%。SAT 法对拭子标本和尿液标本检测结果的符合率为 100.00%,经卡方检验,差异无显著性($\chi^2=0, P>0.05$)。结论 SAT 技术检测拭子及尿液中的 NG 具有很高的灵敏度和特异性,与 NG 培养相比耗时短,与 PCR 相比其可用于判愈,防止过度治疗。为 NG 的实验室诊断提供新的检测方法。

关键词:尿分析; 实时荧光核酸恒温扩增技术; 聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.04.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)04-0463-02

实时核酸恒温扩增检测技术(simultaneous amplification and testing, SAT)是建立在 RNA 恒温扩增和实时荧光检测技术基础上的第二代核酸检测技术^[1]。其基本原理是同一温度下,首先通过 M-MLV 逆转录酶产生靶标核酸(RNA)的 1 个双链 DNA 拷贝,然后利用 T7 RNA 多聚酶从该 DNA 拷贝上产生多个(100~1 000 个)RNA 拷贝;每个 RNA 拷贝再从逆转录开始进入下一个扩增循环;同时,带有荧光标记的探针和

[2] 任翊,刘朝晖,朱学骏.妇科门诊人群宫颈解脲支原体检出情况及分群分型[J].中国皮肤性病学杂志,2002,16(3):155-157,166.

[3] 袁红梅,柯建良,钟山,等.性病门诊患者解脲支原体分离株的分子分群及血清分型[J].国际检验医学杂志,2009,29(9):845-847.

[4] 卢荣标,陆春,马寒,等.不同生物群解脲支原体对红霉素耐药基因的分布差异[J].中国皮肤性病学杂志,2010,24(8):699-701.

[5] 张帝开,李秀云,覃春容,等.健康妇女下生殖道解脲支原体及其分群分型研究[J].中国微生态杂志,2007,19(3):288-292.

[6] 蒋娟,曹宁校,王荷英,等.解脲支原体不同基因群与男性非淋菌性尿道炎相关性的研究[J].中华皮肤科杂志,2006,39(5):298-280.

[7] 钟山,黄谢杰,柯建良,等.解脲支原体基因群与非淋菌性尿道炎(宫颈炎)相关性研究[J].岭南皮肤性病科杂志,2006,13(2):333-335.

[8] 曹玉璞,叶元康.支原体与支原体病[M].北京:人民卫生出版社,2000:131.

[9] Zeighami H, Peerayeh SN, Yazdi RS, et al. Prevalence of *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* in semen of infertile and healthy men[J]. Int J STD AIDS, 2009, 20(2):387-390.

[10] 徐小平,李卓成,艾辉,等.解脲支原体分群分型在妇女非淋菌性尿道炎诊断中的应用[J].中国现代医学杂志,2007,17(21):2647-2650.

[11] De Francesco MA, Negrini R, Pinsi G, et al. Detection of *Ureaplasma biovars* and polymerase chain reaction-based sub-typing of *Ureaplasma parvum* in women with or without symptoms of genital infections[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2009, 28(6):641-646.

[12] 马寒,陆春,朱国兴,等.解脲支原体生物群与体外抗菌药物敏感性关系的初步研究[J].中国皮肤性病学杂志,2008,22(3):415-417.

(收稿日期:2011-10-15)

这些 RNA 拷贝特异结合,产生荧光。该荧光信号可由荧光检测仪器实时捕获,实时反映扩增循环情况。该技术具有高灵敏度、高特异性、低污染、反应稳定等优点。该技术作为新一代的核酸扩增检测技术能够广泛地应用到病原体检测、血液病毒筛查和环境微生物检测等领域。本文以尿液作为样本,用 SAT 法、PCR 法及淋球菌培养法进行检测,以评价 SAT 检测技术在淋球菌诊断中的应用价值。

1 材料与方法

1.1 仪器及试剂 淋球菌 SAT 检测试剂盒由上海仁度生物科技有限公司提供,PCR 试剂盒由深圳匹基生物工程有限公司提供,淋球菌培养皿由郑州博赛股份有限公司提供,实时荧光核酸扩增仪为杭州博日科技有限公司生产。

1.2 标本来源 2010 年 6 月至 2010 年 12 月来本院就诊的疑似患者,其中男 85 例,女 133 例,每份患者取 3 份分泌物拭子标本和 1 份尿液标本。

1.3 标本采集 取材方法按常规操作^[2],即男性患者由尿道口内 3 cm 处、女性患者由宫颈口内 1~1.5 cm 处取材。棉拭插入取材处后,转动并停留数秒钟。第 1 个拭子用于淋球菌培养;第 2 个拭子取后洗于 1 mL 0.9% 盐水,−20 ℃ 冰箱保存,作 PCR 测定用,第 3 个拭子取后洗于 1.5 mL 0.9% 盐水,取 1 mL 混合液至专用尿液保存液中(试剂盒提供),混匀,−20 ℃ 冰箱保存,用于 SAT 测定。采集前 2 h 不排尿,取 1 mL 首段尿液至专用尿液保存液中(试剂盒提供),混匀,−20 ℃ 冰箱保存,用于 SAT 测定。

1.4 检测 尿液和拭子标本同时行 SAT 检测,按照试剂盒说明书进行操作。

1.5 淋球菌培养 见参考文献^[2]。

1.6 统计学处理 用 SPSS 10.0 软件对数据进行卡方检验。

2 结果

2.1 SAT、PCR 及淋球菌培养检测结果(表 1)。SAT 检测尿液标本与拭子标本的检测结果完全一致,1 例 SAT 阳性而淋球菌培养阴性,4 例 SAT 阴性而 PCR 阳性。尿液标本不适用于 PCR 和淋球菌培养,故均以拭子结果为参照。

表 1 SAT、PCR 及淋球菌培养检测结果(n)

方法	(n)	培养		PCR	
		阳性	阴性	阳性	阴性
SAT 阳性	81	80	1	81	0
SAT 阴性	137	0	137	4	133
合计	218	80	138	85	133

2.2 SAT 检测法的敏感性 & 特异性 以淋球菌培养结果作为参照,SAT 尿液/拭子标本的检测灵敏度为 100.00% (80/80),特异性为 99.27% (137/138), $\chi^2 = 0.01, P > 0.05$ 。以 PCR 结果作为参照,SAT 尿液/拭子标本的检测灵敏度为 100.00% (81/81),特异性为 97.08% (133/137);经卡方检验,差异均无统计学意义($\chi^2 = 0.02, P > 0.05$)。

2.3 SAT 法对拭子标本和尿液标本检测结果的符合率分析 SAT 法对 218 例患者的拭子标本和尿液标本进行检测,2 组标本检测结果的符合率为 100%,经卡方检验,差异无统计学意义($\chi^2 = 0, P > 0.05$)。

3 讨论

淋病是最常见的性病之一,近年来淋病的发病率呈直线上升趋势,此外,淋球菌感染可增加艾滋病感染的风险达 5 倍以上^[3-4]。目前 NG 检测都是以患者的泌尿生殖道分泌物作为检测标本,容易增加患者的取样痛苦,降低患者的检测意愿,同时在敏感性和特异性上都有不足。培养法一直被世界卫生组织推荐为用于诊断淋球菌感染的“金标准”,淋球菌培养的敏感性和特异性都较好,但是耗时长,而且容易造成女性患者尿道感

染的漏检^[5-6]。PCR 敏感性高,对采集标本的要求并不那么严格,但是 PCR 不能够区分病原体是死菌还是活菌,不宜用作判愈,患者经治疗后病菌死亡、症状消失即可判为治愈,如果要等体内死菌也全部排完,PCR 转阴,势必造成过度治疗^[7-8]。本研究中有 4 例 PCR 阳性而 SAT 及淋球菌培养阴性,说明以 PCR 作判愈易造成过度治疗。SAT 能够对患者泌尿生殖道分泌物及尿液标本进行检测,尿液作为一种非侵入性的取样标本,也很有临床价值。与 PCR 相比,该方法只检测病原体 RNA,因活菌中才有完整的 RNA 片段,故能排除患者治疗后病灶处残留的 DNA 对检测结果的影响,RNA 在死亡的病原体中快速降解,有利于临床用药后的疗效监测及判愈。RNA 在环境中极不稳定,容易降解,大大降低了交叉污染引起的假阳性问题,污染概率小^[9-10]。

本研究显示,利用 SAT 检测来源相同患者的拭子和尿液标本,结果完全一致,表明尿液标本可以代替拭子标本。在 218 例标本中有 1 例 SAT 阳性,而淋球菌培养阴性,这可能由淋球菌培养敏感性不足所致,这例标本经 PCR 检测后得到验证。也证明了 SAT 的高灵敏度。有 4 例 PCR 阳性而 SAT 及淋球菌培养阴性,这说明 SAT 作为判愈的优越性。总之,SAT 在临床应用中,表现出采样方便、耗时短、低污染、结果准确可靠等优点,为淋球菌的实验室诊断提供新的采样方式和检测方法,是一种值得推广的检测方法。

参考文献

[1] 顾伟鸣,杨阳,吴磊,等. 实时荧光核酸恒温扩增技术检测泌尿生殖道沙眼衣原体感染[J]. 临床检验杂志,2010,28(2):271-272.

[2] 叶顺章. 性传播疾病的实验室诊断[M]. 北京:科学出版社,2001:73-81.

[3] 张伟,刘坤,姜德玉,等. 淋球菌 LOS 2C7 表位筛选及其与 HBc 融合蛋白的原核表达[J]. 免疫学杂志,2010,26(6):498-506.

[4] Gopalakrishnakone D, Appan DP, Singh K. Prevalence of Chlamydia trachomatis in Singaporean women undergoing termination of pregnancy[J]. Ann Acad Med Singapore,2009,38(5):457-460.

[5] Peeling RW, Toye B, Jessamine P, et al. Pooling of urine specimens for PCR testing: a cost saving strategy for Chlamydia trachomatis control programmes [J]. Sex Transm Inf,1998,74(1):66-70.

[6] 徐杰伟,何艳妮. 三种方法检测淋病奈瑟菌的结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(12):1301-1303.

[7] 叶顺章,王千秋,王荷英,等. PCR 检验技术在性病临床标本实验诊断中应用价值的研究[J]. 中国皮肤性病学杂志,2002,16(1):6-8.

[8] 黄培忠,马超,黄静. 淋病奈瑟菌 3 种检测方法结果分析[J]. 检验医学与临床,2009,6(20):1750-1751.

[9] 苏敬泽,汤全贵. 拭子培养、尿沉渣培养和聚合酶链反应-杂交梳检测淋球菌[J]. 中华皮肤科杂志,2001,43(2):178-180.

[10] Lawe P. Comparison of the gen-probe Aptima CAMBO 2 assay to the AMPLICOR CT/NG assay for detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in urine samples from Australian men and women [J]. J Clin Microbio,2006,44(18):2619-2621.