

普遍易感^[5]。由于 MP 无细胞壁,作用于细胞壁的抗菌药物对其无杀伤作用,故 MP 感染的治疗与其他细菌和病毒感染的治疗方案不同。因此,及时、有效的 MP 感染实验室诊断十分重要,可为临床早诊断、早治疗提供帮助,减少并发症的发生^[6]。

MP 感染实验室诊断方法大致分为 MP 分离培养、MP IgM 检测及 MP DNA 检测等^[7]。MP 分离培养虽然是最可靠的确诊依据,但存在临床标本中病原体含量少、呼吸道污染的杂菌较多、耗时及阳性率低等缺点,不能用于临床快速诊断。本研究采用 IFA 和 RT-PCR 检测 1 846 例患儿痰液标本和血清标本,并根据年龄进行比较,结果显示(<1~3)岁组患儿 MP IgM 阳性率高于其他组,而部分组间 MP DNA 阳性率差异有统计学意义,说明不同年龄段患儿 MP IgM 的产生可能不同;血清学检测存在年龄阶段差异,而分子生物学方法检测则受年龄的影响小^[8]。

本研究中,MP DNA 阳性率为 13.43%,高于 MP IgM 阳性率($P<0.05$),与国内报道一致^[9]。MP IgM 阳性率低可能与 MP 感染者早期血清中 IgM 水平较低,且存在时间较短,受年龄、时间、B 细胞功能及检测灵敏度等因素影响有关,而 RT-PCR 检测速度更快,且不受病程的影响,在疾病的早期即可检出。因此,对高度怀疑 MP 早期感染的患者可选择 RT-PCR 进行诊断筛选。Beersma 等^[10]也认为 IFA 联合 PCR 检测可提高 MP 感染诊断阳性率,有效避免漏诊。

参考文献

[1] 徐桂芳,费德琼,李敏. 儿童呼吸道支原体的发展趋势及其临床特点[J]. 实用儿科临床杂志,2003,18(8):618-619.

[2] 杨春. 儿童肺炎支原体检测方法和感染状况的分析[J]. 中外医学研究,2011,9(27):55-56.

[3] 廖春盛,戴小波,刘建军. 呼吸道感染患者肺炎支原体检测的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(13):1474-1475,1477.

[4] 庞艳,韩卫全. 武汉地区儿童肺炎支原体感染流行病学调查[J]. 浙江临床医学,2011,13(9):1059-1060.

[5] 黄瑛,郭柳薇,叶满. 梧州市 916 例下呼吸道感染儿童肺炎支原体感染临床分析[J]. 重庆医学,2009,38(20):2615-2616.

[6] 郭素华,罗先琼,王波,等. PA 实验与实时 PCR 检测肺炎支原体感染的对比研究[J]. 中山大学学报:医学科学版,2008,29(3):83-85.

[7] 孙炜,赵勇. 四种抗肺炎支原体抗体检测方法应用比较[J]. 医学检验与临床,2007,18(5):34-35.

[8] 方红,杨雪香,陈冬莲. 不同年龄段儿童呼吸道感染肺炎支原体 IGM 与 DNA 的相关性研究[J]. 中华医院感染学杂志,2007,17(8):1024-1025.

[9] 钟天鹰. 荧光定量 PCR 法检测呼吸系统感染儿童肺炎支原体 DNA 的分析[J]. 临床儿科杂志,2002,20(3):137-139.

[10] Beersma MF, Dirven K, van Dam AP, et al. Evaluation of 12 commercial test and the complement fixation test for Mycoplasma pneumoniae-specific immunoglobulin G (IGG) and IGM antibodies, with PCR used as the “gold standard”[J]. Clin Microbiol, 2005, 43(5):2277-2285.

(收稿日期:2011-12-09)

噬菌体生物扩增法在白带标本结核分枝杆菌检测中的应用价值

钟金成

(广东省增城市新塘医院检验科 511340)

摘要:目的 探讨噬菌体生物扩增法在检测白带标本结核分枝杆菌中的应用价值。方法 应用噬菌体生物扩增法检测 30 例女性生殖器结核疑似患者白带标本,以改良罗氏培养法为对照,评价噬菌体生物扩增法检测白带标本中结核分枝杆菌的应用价值。结果 30 例白带标本中,噬菌体生物扩增法检测阳性率为 20.00%(6/30),改良罗氏培养法阳性率为 13.33%(4/30),2 种方法检测结果阳性符合率为 75.00%(3/4),阴性符合率为 88.46%(23/26);总符合率为 86.67%(26/30)。2 种方法检测结果比较差异无统计学意义($\chi^2=0.25, P>0.05$)。结论 噬菌体生物扩增法检测白带标本中的结核分枝杆菌具有较高的特异度和准确度,适于临床推广应用。

关键词:噬菌体; 分枝杆菌,结核; 白带

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.037

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)05-0587-02

近年来,随着肺结核发病率不断上升,女性生殖器结核发病率也在逐渐升高^[1-2]。由于多数女性生殖器结核患者缺乏明显临床症状和阳性体征,因而辅助检查对于该病的诊断极为重要,尤其是以白带标本检测查找病原体^[3]。遗憾的是,目前常用结核分枝杆菌检测方法都存在不足。传统的涂片和培养法虽然特异性很好,但涂片法敏感性较低,培养法则耗时较长;分子生物学方法有着较好的敏感性,但由于需要特殊的仪器和昂贵的试剂也难以得到广泛应用^[4-5]。噬菌体生物扩增法是一种新的结核分枝杆菌快速检测方法,在痰标本的检测中显示了很好的方法学特性^[6-7]。本研究拟将该方法用于白带标本的检测,并对其应用价值进行初步评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院收治的女性生殖器结核疑似患者 30 例,年龄 22~46 岁,平均 27 岁。由临床医生用棉拭子通过无菌操作采集患者子宫颈内侧壁上 1/3 处分泌物,立即送检。

1.2 方法 噬菌体生物扩增法检测采用上海金浩公司结核分枝杆菌噬菌体裂解法检测试剂盒(FASTPlaqueTBTM),严格按试剂盒说明书进行操作。每次检测临床标本的同时设阴性对照和阳性对照。结果判读标准:平板上菌斑数为 0~19 个时判为阴性;菌斑数超过 19 个或更多,甚至全部融合时判为阳性。对照检测方法为改良罗氏法培养,质控菌株为 H37Rv 标准株(ATCC27294)。

1.3 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析;两种方法检测结果的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结 果

噬菌体生物扩增法阳性率为 20.00%(6/30);改良罗氏培养法阳性率为 13.33%(4/30)。2 种方法检测结果阳性符合率为 75.00%(3/4),阴性符合率为 88.46%(23/26);总符合率为 86.67%(26/30)。2 种方法检测结果比较差异无统计学意义($\chi^2=0.25, P>0.05$)。详见表 1。

表 1 噬菌体生物扩增法和改良罗氏培养法检测结果比较(n)

改良罗氏培养法	噬菌体生物扩增法		合计
	阳性	阴性	
阳性	3	1	4
阴性	3	23	26
合计	6	24	30

3 讨 论

女性生殖器结核是由结核分枝杆菌引起的生殖器炎症,是全身性结核病的一种表现,常继发于其他部位的结核,如肺结核、肠结核、腹膜结核、肠系膜结核等,约 10%肺结核患者伴有生殖器结核^[9-10]。多数女性生殖器结核患者缺乏明显临床症状和阳性体征,少数患者有发热、盗汗、乏力、消瘦、月经失调、下腹坠痛和白带增多等症状,但都缺乏特异性,易被误诊为生殖器肿瘤或其他妇科炎症。诊断女性生殖器结核的常见辅助检查包括病理学检查、影像学检查、内窥镜检查及实验室检查,但现有的各种方法在适用性、敏感性、特异性和准确性方面都存在一定程度缺陷,而噬菌体生物扩增法作为结核分枝杆菌检测新方法为女性生殖器结核的诊断提供了新的思路。噬菌体生物扩增法基本原理是:结核分枝杆菌噬菌体只能感染活的结核分枝杆菌,当结核分枝杆菌与噬菌体混合孵育时,噬菌体感染结核分枝杆菌,再加入强效杀毒剂杀死培养基内所有游离噬菌体,而菌体内的噬菌体不受影响。进入靶菌体内的噬菌体繁殖并裂解菌体释放出子代噬菌体,这些子代噬菌体又感染和裂解随后加入的指示菌(耻垢分枝杆菌),在琼脂培养基上形成清晰可见的噬菌斑,而噬菌斑数量与标本中活的结核分枝杆菌的数量呈正比,由此可判断标本中是否存在活的结核分枝杆菌,若标本中没有活的结核分枝杆菌,则噬菌体全部被杀死,培养基上不会出现噬菌斑。本研究应用噬菌体生物扩增法和改良罗氏培养法共同检测了 30 例白带标本,噬菌体生物扩增法检测

阳性率为 20.00%(6/30),改良罗氏培养法阳性率为 13.33%(4/30),显示噬菌体生物扩增法阳性率略高于改良罗氏培养法。此外,两种方法检测阳性符合率为 75.00%(3/4),阴性符合率为 88.46%(23/26),总符合率为 86.67%(26/30),两种方法检测结果比较差异无统计学意义($\chi^2=0.25, P>0.05$)。以改良罗氏培养法为参考方法,噬菌体生物扩增法检测白带标本结核分枝杆菌的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确度分别为 75.00%(3/4)、88.46%(23/26)、50.00%(3/6)、95.83%(23/24)、86.67%(26/30)。3 例标本噬菌体生物扩增法阳性而改良罗氏培养法阴性,其所形成的噬菌斑数量均较少,说明噬菌体生物扩增法的检测下限低于改良罗氏培养法。噬菌体生物扩增法阴性而改良罗氏培养法阳性 1 例,说明存在导致前者假阴性结果的影响因素,有待进一步研究以明确。以上结果说明噬菌体生物扩增法检测白带中结核分枝杆菌有着较高的特异度和准确度,其检测极限也低于培养法,可作为常规方法应用于临床检测。

参考文献

[1] 余艳红,陈雷宁. 女性生殖器结核与不孕[J]. 实用妇产科杂志, 2006,22(11):647-650.

[2] 魏丽惠. 子宫内膜结核及宫颈结核[J]. 实用妇产科杂志, 2006,22(11):644-645.

[3] 范雪梅,唐小丽,熊丁. 女性生殖器结核的临床诊断分析[J]. 西南军医, 2007,9(6):107-108.

[4] 张辉,孔北华. 女性生殖器结核的诊断方法[J]. 实用妇产科杂志, 2006,22(11):642-643.

[5] Dinnes J, Deeks Kunst H, Gibson A, et al. A systematic review of rapid diagnostic tests for the detection of tuberculosis infection [J]. Health Technol Assess, 2007, 11(3):1-196.

[6] Mc Nerney R, Kambashi BS, Kinkese J, et al. Development of a bacteriophage replication assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(5):2115-2120.

[7] Alcaide F, Gali N, Dominguez J, et al. Usefulness of a new mycobacteriophage-based technique for rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(7):2867-2871.

[8] 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断实验室检验规程[M]. 北京:中国教育文化出版社, 2006:52-68.

[9] 朱兰,俞梅. 输卵管卵巢结核[J]. 实用妇产科杂志, 2006, 22(11):645-647.

[10] 王文学. 女性生殖器结核的诊治进展[J]. 职业与健康, 2008, 24(10):982-984.

(收稿日期:2011-11-23)

(上接第 575 页)

between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 2008, 100(16):1134-1143.

[17] Paik YH, Kim JK, Kim DY, et al. Clinical efficacy of a 24-month course of lamivudine therapy in patients with HBeAg negative chronic hepatitis B: a long-term prospective study[J]. J Korean Med Sci, 2010, 25(6):882-887.

[18] Ntziora F, Paraskevis D, Haida C, et al. Quantitative detection of the M204V hepatitis B virus minor variants by amplification refractory mutation system real-time PCR combined with molecular

beacon technology[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(8):2544-2550.

[19] Chen Y, Wei H, Sun R, et al. Increased susceptibility to liver injury in hepatitis B virus transgenic mice involves NKG2D-ligand interaction and natural killer cells[J]. Hepatology, 2007, 46(3):706-715.

[20] 杨凯,徐元宏,管世鹤. 乙型肝炎病毒抵抗 α -干扰素治疗研究进程[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3):142-143.

[21] 孙慧,吴金明. 乙型病毒性肝炎肝细胞损伤机制的研究进展[J]. 医学综述, 2008, 14(21):3296-3300.

(收稿日期:2011-12-09)