

病菌的基本流行病学及其对各种常规抗菌药物的敏感性,科学合理地指导临床用药。常规医疗活动中严格执行多重耐药防控规范,对关键感染科室做到重点管理,严格实施病房消毒隔离措施,最终做到有效控制多重耐药菌的传播。

## 参考文献

- 陈雪华. 控制多耐药细菌医院内感染任重道远[J]. 中国实用内科杂志, 2012, 25(4): 318-320.
- Hwang S, Moon M, Kim S, et al. Neuroprotective effect of ghrelin is associated with decreased expression of prostate apoptosis response-4[J]. Endocr J, 2009, 56(4): 609-617.
- 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-second informational supplement. CLSI document M100-S22[S]. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.
- 汪复, 朱德妹, 胡付品, 等. 2008 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2009, 9(5): 321-329.
- 林宇岚, 杨滨, 陈守涛, 等. 2008~2012 年福建省 5 907 株

鲍曼不动杆菌临床分布及耐药性分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(4): 383-386.

- 肖永红, 沈萍, 魏泽庆, 等. Mohnarin 2011 年度全国细菌耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(22): 4946-4952.
- 杨自副, 陆琼慧, 朱晓燕. 某院 2010 年细菌耐药性监测结果[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(22): 2824-2826.
- 虞洪斌. 耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌感染分布监测与对策[J]. 浙江医学, 2013, 22(9): 801-802.
- 徐一鸣, 王蓓, 蒋晓飞. 2008~2012 年鲍曼不动杆菌临床感染分布及耐药特征分析[J]. 检验医学, 2014, 29(3): 245-248.
- 李国钦. 耐碳青霉烯鲍曼不动杆菌研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2008, 7(2): 140-143.
- Montero A, Ariza J, Corbella X, et al. Efficacy of colistin versus beta-lactams, aminoglycosides, and rifampin as monotherapy in a mouse model of pneumonia caused by multiresistant *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(6): 1946-1952.

(收稿日期: 2016-02-20 修回日期: 2016-05-12)

## • 临床研究 •

# 实时荧光定量聚合酶链反应联合检测 6 种性病病原微生物的研究

王晓东, 王然, 李凤焕, 向鑫

(中国人民解放军第二五四医院检验科, 天津 300142)

**摘要:** 目的 探讨实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)同时检测多种性病病原体的可行性和临床意义。方法 采用 FQ-PCR 方法对 716 例患者生殖道标本的淋球菌(NGH)、沙眼衣原体(CT)、解脲支原体(UU)、梅毒螺旋体(TP)、人乳头瘤病毒(HPV)6/11 型及 16/18 型等 6 种微生物或亚型进行定量检测, 并与定性聚合酶链反应(PCR)进行比较。结果 2 种 PCR 方法对 6 种病原体检测的总符合率分别为 94.83%、96.16%、95.29%、100%、94.37%、94.12%。阳性率差异分别为 1.29%、1.45%、2.18%、0.704%、0.98%, HPV6/11-DNA FQ-PCR 法阳性率高于 PCR( $P < 0.01$ ), 其他 5 项指标检测结果比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。阳性标本定量平均拷贝数对数分别为  $(6.71 \pm 3.36)$ 、 $(5.56 \pm 2.48)$ 、 $(6.83 \pm 3.17)$ 、 $(4.89 \pm 3.52)$ 、 $(5.75 \pm 3.13)$ 、 $(4.95 \pm 2.68)$ 。结论 FQ-PCR 操作简便、快速, 高效, 并能准确定量, 对性病的诊断、发展和预后监测、疗效评价、指导用药具有重要的临床意义。

**关键词:** 聚合酶链式反应, 荧光定量; 奈瑟氏球菌, 淋病; 衣原体, 沙眼; 支原体, 解脲; 梅毒螺旋体; 乳头瘤病毒

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.051

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)20-2919-03

实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测通常扩增不同目的 DNA 片段, 设计不同的特异引物及温度参数, 在同一扩增参数条件下, 同时检测多种病原微生物<sup>[1]</sup>。有关调查显示, 性传播疾病发病率在我国正逐年上升<sup>[2]</sup>, 人群结构以中青年为主, 与受教育的文化程度呈负相关, 为性传播疾病得到及时、有效的治疗, 以及加强流行病防控, 因此选择快速、敏感、特异、高效的检测手段非常重要。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 716 例标本来自 2010 年 5 月至 2015 年 5 月该院泌尿外科、妇科、皮肤性病门诊的泌尿生殖系统感染及有高危性接触史患者, 男 332 例, 年龄 16~59 岁, 平均 32 岁; 女 353 例, 年龄 15~51 岁, 平均 27 岁。

**1.2 仪器与试剂** DA-7600 基因扩增仪及荧光定量 PCR 试剂, 分别购自达安基因和华美生物技术有限公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 模板制备** 女性宫颈及阴道分泌物拭子或男性尿道拭子的无菌试管中, 加入 1.5 mL 生理盐水并旋涡混匀器, 充分震荡, 将混悬液倒入无菌 EP 管, 10 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 沉淀加 50  $\mu$ L DNA 提取液, 混匀后置金属热浴, 100 °C 10 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 分别取 5  $\mu$ L 模板 DNA 置入相对应的 6 种目的 DNA 荧光定量扩增管。

**1.3.2 FQ-PCR 扩增参数** 包含引物、荧光探针、底物 dNTP、Taq 聚合酶、离子 buffer 和模板的反应体系 50  $\mu$ L, 94 °C 预变性 120 s, 然后 94 °C 20 s, 55 °C 20 s, 72 °C 30 s, 35

个循环,72℃延伸过程读取荧光,扩增结束导入标准曲线,定量超过100 copy/ml为阳性。

**1.3.3 PCR扩增参数** 包含引物、底物dNTP、Taq聚合酶、离子buffer的40 μL PCR扩增体系内加入5 μL模板DNA,预变性98℃180 s,加入2 U Taq酶,94℃30 s,54℃45 s,72℃60 s,35个循环,72℃5 min。取扩增产物10 μL进行1.5%琼脂糖电泳,溴化乙锭做指示剂,5~6 V/cm电泳2 h,凝胶置254 nm波长紫外透照仪下参照,Marker比对荧光条带位置。

**1.4 统计学处理** 采用SPSS13.0统计软件进行数据分析,计量资料应用 $\bar{x}\pm s$ 表示,计数资料以例数和百分率表示,组间比较使用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 FQ-PCR检测结果** 716例标本申请6、5、4、3、2、1项性病病原体DNA检测,分别为43、62、207、365、369、286例。见表1。

表1 FQ-PCR检测6种性病病原体DNA结果

检测项目	n	FQ-PCR 阳性率 [n/n(%)]	$\lg\bar{x}\pm s$ (copy $\mu$ L)
NGH	415	68/415(16.39)	6.69±3.36
CT	562	87/562(15.48)	3.86±1.78
UU	837	302/837(36.08)	6.83±3.17
TP	324	31/324(9.57)	4.89±2.42
HPV6/11	721	163/721(22.61)	5.29±1.88
HPV16/18	656	83/656(12.65)	4.63±2.57

表2 FQ-PCR与PCR检测结果的比较[n/n(%)]

检测项目	FQ-PCR 阳性率	定性PCR 阳性率	P
NGH	18/78(23.08)	17/78(21.79)	>0.05
CT	13/69(18.84)	12/69(17.39)	>0.05
UU	40/92(43.48)	38/92(41.30)	>0.05
TP	6/56(10.71)	6/56(10.71)	>0.05
HPV6/11	24/71((33.80)	21/71(29.58)	<0.05
HPV16/18	14/51(27.45)	13/51(25.49)	>0.05

**2.2 2种检测方法的结果比较** 性病病原体DNA检出率依次为解脲支原体(UU)、6/11型人乳头瘤病毒(HPV)、淋球菌(NGH)、沙眼衣原体(CT)、HPV16/18型、梅毒螺旋体(TP),与有关报道接近<sup>[3-6]</sup>。阳性率和定量拷贝值最高为UU,54例标本定量超过10<sup>8</sup> copy/μL,阳性定量水平最低为CT,平均低于10<sup>4</sup> copy/μL,最高上限未超过10<sup>6</sup> copy/μL。在进行荧光定量检测的同时,从DNA模板分别随机抽取对应78、69、92、56、71、51份DNA模板,分别进行NGH、CT、UU、TP、HPV6/11、HPV16/18 PCR扩增,总符合率94.83%,阳性率差异1.29%;CT-DNA总符合率96.16%,阳性率差异1.45%;UU-DNA总符合率95.29%,阳性率差异2.18%;TP-DNA总符合率100%;HPV6/11-DNA总符合率95.77%,阳性率差异4.22%;HPV16/18-DNA总符合率94.12%,阳性率差异

0.98%。2种方法检测HPV6/11-DNA阳性率比较,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),其他比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表2。

## 3 讨 论

性传播疾病的病原微生物种类较多,常见的细菌感染主要是NGH,可引起泌尿生殖系统的急性炎性或化脓性感染<sup>[7]</sup>。本研究结果表明,感染率最高的病原微生物是UU,支原体无细胞壁,不能维持固定的形态而呈现多形性,不易细胞培养。感染泌尿生殖道的衣原体主要种类是CT,它是严格的活细胞内寄生的微生物,具有独特的发育周期。UU和CT引起的泌尿生殖道感染症状类似,是主要的非淋菌性尿道炎,依靠FQ-PCR准确诊断病原微生物,选择敏感药物有针对性地进行有效治疗。TP近年来在我国增长迅速,显性和隐性梅毒患者均可是传染源,且潜伏TP居多,已成为报告病例数较多的性病之一。HPV是一种属于乳多空病毒科的乳头瘤空泡病毒A属,能引起人体皮肤、黏膜的鳞状上皮增殖。最多见的是低危6/11型及高危16/18型,高危型HPV持续感染也被证明是导致宫颈癌的主要危险因素<sup>[8-10]</sup>。近年来性传播疾病发病率越来越高,发病年龄却逐年降低。防治性病更应教导青少年尊崇传统的道德伦理观念,加强青春期正确性教育和性病预防知识,培养良好的卫生习惯,从根本上减少性传播疾病的发生。

FQ-PCR反应体系中有2条普通的特异性引物,1条荧光标记探针,这条探针的5'端和3'端分别标记供体荧光报告基团和受体荧光淬灭基团,探针完整时,供体报告基团发射的荧光能量传递给相近的受体荧光染料并被吸收,进而激发出另一波长并能同时淬灭供体基团发射的荧光;TaqDNA聚合酶不仅有延伸DNA的引物活性,还有5'~3'外切核酸酶活性,扩增循环过程中,Taq酶的外切酶活性将探针酶切降解,使报告和淬灭2个荧光基团分离,荧光信号得到释放,自动监测系统可接收到发射荧光,扩增目的DNA链越多,荧光分子释放越多,实现荧光信号的累积与PCR产物的形成完全同步。由于PCR扩增指数时期,模板CT值和该模板的起始拷贝数存在线性关系,所以成为定量依据。多种病原微生物在同一反应条件下同时进行扩增检测,显著提高效率,在保障敏感性和特异性的前提下,不仅检测出感染病原微生物的种类,而且提示局部病原微生物的感染量级水平,对病情发展和预后能够进行有针对性的治疗及监测。

## 参考文献

- [1] 苏学飞,左中越,程钢,等. 荧光定量PCR检测性病病原体的临床价值[J]. 实用医学杂志,2001,17(6):561-562.
- [2] 龚向东,叶顺章,张君炎,等. 1991~2001年我国性病流行病学分析[J]. 中华皮肤科杂志,2002,35(3):178-182.
- [3] Gupta V, Dhawan B, Khanna N, et al. Detection and biovar discrimination of Ureaplasma urealyticum in Indian patients with genital tract infections[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2008, 60(1):95-97.
- [4] 周文明,赵建龙,杨森,等. DNA芯片检测泌尿生殖道病原体及耐药的研究[J]. 中华皮肤科杂志,2005,38(2):108-111.

- [5] 姚兵,杨岳琴,朱启锭. 套式聚合酶链反应结合直接荧光法检测女性生殖道沙眼衣原体[J]. 中华医学检验杂志, 1998,21(6):17-20.

[6] 李彦,肖瑜,刘燕飞,等. 泌尿生殖道解脲脲支原体与沙眼衣原体感染分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 26(20):4642-4644.

[7] 金必文,扬丽,丁金龙. 151 株淋病奈瑟菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(10):2504-2506.

[8] Stormo AR, Espey D, Glenn J, et al. Findings and lessons learned from a multi-partner collaboration to increase cervical cancer prevention efforts in Bolivia[J]. Rural Remote Health, 2013,13(4):2595.

[9] Zhao R, Zhang WY, Wu MH, et al. Human papillomavirus infection in Beijing, People's Republic of China: a population-based study[J]. Br J Cancer, 2009, 101 (9): 1635-1640.

[10] Jiang P, Liu J, Zeng X, et al. Association of TP53 codon 72 polymorphism with cervical cancer risk in Chinese women[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2010, 197(2): 174-178.

(收稿日期:2016-02-16 修回日期:2016-04-14)

• 临床研究 •

## 连续性血液净化对肾前性肾衰竭伴低血压的安全性和疗效观察

许洪波

(北京市昌平区医院 ICU 室 102200)

**摘要:**目的 探讨连续性血液净化对肾前性肾衰竭伴随低血压的安全性和临床疗效。方法 选取该院 2014 年 1 月至 2015 年 1 月收治的 78 例肾前性肾衰竭伴低血压患者,根据治疗手段的差异,将 78 例患者分为对照组与研究组,每组 39 例,对照组患者采取常规内科治疗,研究组在对照组的基础上增加连续性血液净化治疗,比较 2 组患者的临床效果。结果 治疗 48 h 后,研究组患者血清肌酐 (SCr)、血尿素氮 (BUN)、碳酸根阴离子 ( $\text{HCO}_3^-$ )、钾离子 ( $\text{K}^+$ )、血乳酸及血 pH 指标明显优于对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 连续性血液净化对肾前性肾衰竭伴低血压患者的临床效果显著,安全性较高,值得临床推广及应用。

关键词:连续性血液净化; 低血压; 肾前性肾衰竭

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.052

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)20-2921-02

肾前性肾衰竭是肾内科较常见的疾病<sup>[1]</sup>。现探讨使用2种方法对肾前性肾衰竭伴低血压患者进行临床治疗,比较临床效果,报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取该院 2014 年 1 月至 2015 年 1 月收治的 78 例肾前性肾衰竭伴低血压患者作为研究对象,入选患者均符合肾后性急性肾衰竭(PARF)的诊断标准。根据治疗手段的差异,将患者平均分为研究组( $n=39$ )和对照组( $n=39$ )。研究组男 23 例,女 16 例,年龄 16~73 岁,平均年龄(38.4±3.7)岁;对照组男 22 例,女 17 例,年龄 17~73 岁,平均年龄(40.5±4.9)岁。2 组患者的年龄、性别等一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

**1.2 方法** 对照组患者采用常规内科治疗。研究组患者在对照组的基础上增加连续性血液净化<sup>[2]</sup>。具体治疗如下：首先使

用 Seldinger 技术经患者颈内静脉(锁骨下静脉)及股静脉下置管,并建立相应的静脉通道,采取无肝素、低分子肝素及普通肝素抗凝的方式对患者进行治疗<sup>[3-4]</sup>。

1.3 观察项目 治疗结束后 48 h 对 2 组患者的临床效果进行比较,主要包括血清肌酐(SCr)、血尿素氮(BUN)、碳酸根阴离子( $\text{HCO}_3^-$ )、钾离子( $\text{K}^+$ )、血乳酸及血 pH 各指标的差异。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较使用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义

2 结 果

治疗 48 h 后,研究组患者 SCr、BUN、 $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{K}^+$ 、血乳酸及血 pH 指标明显优于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 2 组患者治疗后各指标检测结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )