

适配体 Antibac1 和 Antibac2 检测结果的差异,可能是因为两个适配体的 qPCR 扩增、洗脱条件不同,需要进一步优化 Antibac2 与细菌结合条件以及 PCR 扩增条件。下一步将合成荧光标记的适配体序列,在荧光显微镜下确认适配体与菌体的结合,佐证适配体结合的特异度。另外,qPCR 扩增时增加“内参序列”,并加入其对应的引物序列一起扩增以监测扩增体系的稳定性,确保整个扩增过程的标准化的。

近年来在诊断领域,核酸适配体广泛应用于特异性地识别和结合多种类型的靶标,包括活细胞或细菌。适配体作为小分子,化学性质稳定、生产成本低、生产不存在批间差,另外,其对 pH 值和温度等环境变化具有很强的适应性,并且在结构设计中具有显著的灵活性。因此,基于适配体的生物传感器能够克服传统的抗体生物传感器的一些缺点,目前已经开发了多种用于微生物病原体检测的适配体传感器^[9]。

总之,本研究证实,靶向细菌肽聚糖的 ssDNA 适配体能够识别败血症几种相关的革兰阳性与阴性细菌,Antibac1 可用于开发生物传感器探针,在临床中快速检测细菌,亦可联合使用不同的核酸适配体,提高对于不同类型细菌的检测效率,加速诊断和治疗,提高败血症患者的生存率。

参考文献

[1] DELLINGER R P,LEVY M M,CARLET J M, et al.

• 短篇论著 •

Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock[J]. Crit Care Med,2008,36(1):296-327.

[2] LI W,ZHAO M,YAN H,et al. Aptamer oligonucleotides as potential therapeutics in hematologic diseases[J]. Mini Rev Med Chem,2019,19(10):788-795.

[3] PAZOS M,PETERS K. Peptidoglycan[J]. Subcell Biochem,2019,92(1):127-168.

[4] FERREIRA I M,LACERDA C M,DE FARIA S L,et al. Selection of peptidoglycan-specific aptamers for bacterial cells identification[J]. Appl Biochem Biotechnol,2014,174(7):2548-2556.

[5] GRAZIANI A C,STETS M I,LOPES A L K,et al. High efficiency binding aptamers for a wide range of bacterial sepsis agents[J]. J Microbiol Biotechnol,2017,27(4):838-843.

[6] MARTON S,CLETO F,KRIEGER M A,et al. Isolation of an aptamer that binds specifically to E. coli[J]. PLoS One,2016,11(4):e0153637.

[7] SU L,JIA W,HOU C, et al. Microbial biosensors: a review[J]. Biosens Bioelectron,2011,26(5):1788-1799.

[8] 李莉,刘静. 重症监护病房患者医院感染病原菌分布与耐药性分析[J]. 实用医技杂志,2020,27(4):478-479.

[9] LI W. Prospective application of aptamer-based assays and therapeutics in bloodstream infections[J]. Mini Rev Med Chem,2020,20(10):831-840.

(收稿日期:2021-01-25 修回日期:2021-08-02)

尿液细菌培养与尿沉渣细菌定量计数在泌尿系统感染筛查中的对比分析

侯素君,闫秀中,王晓梅,周绪云,焦 玲
山东省日照市中医医院,山东日照 276800

摘要:目的 研究比较尿液细菌培养与尿沉渣细菌定量计数筛查泌尿系统感染的准确率。方法 选取 2019 年 3 月至 2020 年 2 月该院就诊的疑似泌尿系统感染患者 200 例,收集患者的中段尿,分别采用尿液细菌培养与尿沉渣细菌定量计数进行检测,以尿液细菌培养结果为金标准。对比两种检查方法的检验结果。结果 尿液细菌培养及尿沉渣细菌定量计数的标本检测阳性率分别为 63.00%、64.50%,差异无统计学意义($P>0.05$);尿液细菌培养结果显示,阳性标本中以革兰阴性菌所占比例最高(70.63%);尿沉渣细菌定量计数与尿液细菌培养结果相比,阳性标本、阴性标本符合率分别为 96.90%、97.18%,两种方法符合率比较差异无统计学意义($P>0.05$);尿沉渣细菌通道检测革兰阳性球菌和革兰阴性杆菌的符合率、灵敏度、特异度分别为 88.00%、60.00%、92.94%和 88.50%、77.53%、97.30%。结论 尿沉渣细菌定量计数法的筛查速度更快,在泌尿系感染患者的早期针对性选择抗菌药物方面有更好的参考价值,尤其在革兰阴性杆菌引起的泌尿系感染中有更高的参考价值。

关键词:泌尿系统感染; 尿液细菌培养; 尿沉渣细菌定量计数
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.18.026 **中图法分类号:**R691.3
文章编号:1673-4130(2021)18-2286-04 **文献标志码:**A

泌尿系统感染(UTI)是一种常见且多发的感染性疾病^[1-2],是由病原菌侵犯泌尿系统、引发炎症反应

所致,其主要临床表现为尿频、尿急、尿痛、尿液浑浊、蛋白尿等。临床诊断泌尿系统感染的主要方法为实验室检查,尿液细菌培养为金标准^[3-5],在泌尿系统感染的诊断中应用价值高,但常规的中段尿细菌培养需 2~3 d 才能作出报告,会耽误早期诊断以及治疗的最佳时机,甚至可能会出现慢性感染或败血症,临床医生往往在尿培养正式报告之前先经验治疗。故此,选择一种快捷且准确的筛查方式意义重大。本研究将尿液细菌培养和尿沉渣细菌定量计数联合尿沉渣白细胞检验进行对比分析,旨在促进泌尿系统感染诊断准确率的提高,缓解抗菌药物滥用情况,满足临床快速诊断的需求。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 3 月至 2020 年 2 月本院收入的疑似泌尿系统感染患者 200 例为研究对象,其中男性 120 例,女性 80 例,年龄 42~75 岁,平均(58.5±0.5)岁。

1.2 仪器与试剂 Sysmex UF-1000i 全自动尿沉渣分析仪及配套试剂,质控品购自伯乐生物技术有限公司;VITEK-2 Compact 全自动微生物分析仪及相应鉴定板,质控菌株大肠埃希菌 ATCC 25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853、金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、肺炎克雷伯菌 ATCC 700603、大肠埃希菌 ATCC 700323、粪肠球菌 ATCC 51299、粪肠球菌 ATCC 29212、大肠埃希菌 ATCC 35218、腐生葡萄球菌 ATCC 750、金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 和白色假丝酵母菌 ATCC 90028,均由山东省临床检验中心提供。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 按照文献[6]参考标准指导患者留取清洁中段尿液 20~30 mL,分别装在两个无菌有盖容器中,立即送往实验室,2 h 内完成尿液细菌培养接种和尿沉渣细菌定量计数。

1.3.2 尿液细菌培养法 使用 10 μL 无菌定量接种环接种血琼脂平板、麦康凯平板,35℃培养 18~24 h,有细菌生长则对菌落数量进行计算,采用法国生物梅里埃公司 VITEK-2 Compact 全自动微生物分析仪进行菌株鉴定,无细菌生长继续培养 24 h。判断标准参考文献[6]:革兰阴性菌,细菌数≥10⁵ CFU/mL,说明标本为感染菌尿;细菌数在 10⁴~10⁵ CFU/mL,表明标本为疑似感染菌尿,可结合临床症状判断或复查;细菌数低于 10⁴ CFU/mL,提示临床意义不大。革兰阳性菌:感染菌尿、无感染菌尿的标准分别为细菌数≥10⁴ CFU/mL、<10⁴ CFU/mL;真菌:感染菌尿、无感染菌尿的标准分别为细菌数≥10⁴ CFU/mL(两次培养以上)、<10⁴ CFU/mL。

1.3.3 尿沉渣细菌定量计数法 使用 UF-1000i 全自动尿沉渣分析仪(日本 sysmex 公司生产)对标本中的细菌数进行检测,仪器每天用专用质控品(2 种浓度级别)进行质控监测。细菌数>100/μL 且白细胞>

10/μL 确定为感染菌尿^[7-8];细菌数>8/HP、>10/HP 分别与尿液细菌培养中>10² CFU/mL、>10⁵ CFU/mL 相当。若患者有泌尿系感染症状出现,而细菌检验未得出检测,提示可能存在衣原体感染。

1.4 观察指标 观察两种检测方法的阳性率。观察尿液细菌培养阳性标本中的病原菌分布情况。以尿液细菌培养结果为金标准,对尿沉渣细菌定量计数法于泌尿系统感染中的诊断效能进行评价。同时对尿沉渣细菌通道检测革兰阳性球菌和革兰阴性杆菌的结果进行比较。

1.5 统计学处理 将两组各项观察指标数据录入统计学软件 SPSS21.0 中进行处理,计数资料以例数或百分率形式表示,总符合率=100%×[(真阳性+真阴性)/总标本数];灵敏度=100%×[真阳性/(真阳性+假阴性)];特异度=100%×[真阴性/(真阴性+假阳性)],行χ²检验,P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检测结果比较 200 例患者的尿液标本中,尿沉渣细菌定量计数测定阳性 129 例,阳性率 64.50%(129/200);尿液细菌培养阳性 126 例,阳性率 63.00%(126/200);两种方法检测阳性率比较,差异无统计学意义(χ²=0.097,P>0.05)。

2.2 尿液细菌培养阳性标本中的病原菌分布情况 126 例阳性患者标本中共检出病原菌 126 株,革兰阴性菌、革兰阳性菌、真菌的构成比分别为 70.63%(89/126)、23.81%(30/126)、5.56%(7/126);革兰阴性菌以大肠埃希菌 51.59%(65/126)为主,革兰阳性菌以屎肠球菌 8.73%(11/126)为主。见表 1。

表 1 尿液细菌培养阳性标本中的病原菌分布情况		
病原菌	株数(n)	构成比(%)
革兰阴性菌	89	70.63
大肠埃希菌	65	51.59
肺炎克雷伯菌	7	5.56
奇异变形杆菌	4	3.17
阴沟肠杆菌	3	2.38
铜绿假单胞菌	3	2.38
产气肠杆菌	2	1.59
其他	5	3.97
革兰阳性菌	30	23.81
屎肠球菌	11	8.73
粪肠球菌	6	4.76
无乳链球菌	5	3.97
金黄色葡萄球菌	3	2.38
其他	5	3.97
真菌	7	5.56
合计	126	100.00

2.3 尿沉渣细菌定量计数在泌尿系感染诊断中的效果评价 以尿液细菌培养结果为金标准,将尿沉渣细菌定量计数检测结果中的 129 份阳性标本和 71 份阴性标本进行尿液细菌培养,对比评估两种方法的符合

率。尿沉渣细菌定量计数和尿液细菌培养的阳性标本符合率为 96.90%(125/129),假阴性率 0.31%(4/129),阴性标本符合率为 97.18%(69/71),假阳性率 0.28%(2/71);两种方法符合率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 尿沉渣细菌定量计数与尿液细菌培养检测结果比较(n)			
尿沉渣细菌定量计数法	尿液细菌培养		检测份数
	符合份数	不符合份数	
阳性	125	4	129
阴性	69	2	71
合计	194	6	200

2.4 尿沉渣细菌通道检测革兰阳性球菌 以尿液细菌培养结果为金标准,尿沉渣细菌通道检测革兰阳性球菌的符合率为 88.00%,灵敏度为 60.00%(18/30),特异度为 92.94%(158/170)。尿沉渣细菌通道与尿液细菌培养检测革兰阳性球菌结果见表 3。

表 3 两种检测方法检测革兰阳性球菌的结果(n)			
尿沉渣细菌通道	尿液细菌培养		合计
	阳性	阴性	
阳性	18	12	30
阴性	12	158	170
合计	30	170	200

2.5 尿沉渣细菌通道检测革兰阴性杆菌 以尿液细菌培养结果为金标准,尿沉渣细菌通道检测革兰阴性杆菌的符合率为 88.50%,灵敏度为 77.53%(69/89),特异度为 97.30%(108/111)。尿沉渣细菌通道与尿液细菌培养检测革兰阴性杆菌结果见表 4。

表 4 两种检测方法检测革兰阴性杆菌的结果(n)			
尿沉渣细菌通道	尿液细菌培养		合计
	阳性	阴性	
阳性	69	3	72
阴性	20	108	128
合计	89	111	200

2.6 尿沉渣细菌通道检测革兰阳性球菌与革兰阴性杆菌结果比较 以尿液细菌培养结果为金标准,尿沉渣细菌通道检测革兰阳性球菌与革兰阴性杆菌的符合率、灵敏度和特异度,革兰阴性杆菌检测结果均优于革兰阳性球菌。见表 5。

表 5 尿沉渣细菌通道检测革兰阳性球菌与革兰阴性杆菌结果比较(%)			
细菌类别	符合率	灵敏度	特异度
革兰阳性球菌	88.00	60.00	92.94
革兰阴性杆菌	88.50	77.53	97.30

3 讨论

95%以上的泌尿系统感染是由单一细菌引起的,主要病原菌为大肠埃希菌,其次是肠球菌^[9-10]。泌尿系统感染的早期症状不明显,若未得到及时的诊断和治疗,病情会向菌血症或败血症进展^[4,11],因此早期诊断泌尿系统感染十分重要。尿液细菌培养与尿沉渣细菌定量计数检测的意义在于检测人体泌尿系统是否有病原菌存在,对于存在细菌感染的患者,均进行抗菌药物敏感试验,从而为临床医生选择合理的抗菌药物提供参考^[12]。

尿液作为机体的排泄物之一,可对肾脏器官的病理变化情况进行反映^[13]。正常尿液无菌,而人体泌尿生殖道外存在细菌,且女性阴道内一般情况下无致病细菌存在,但存在条件致病菌。pH 值的改变会导致正常菌群状况失衡,因此进行尿培养时应注意排除外界细菌干扰。尿液细菌培养是泌尿系统感染的诊断金标准,其过程步骤较多,检查耗时长,阳性率低,不利于患者尽早接受治疗,因此,需要采用更加便捷、准确的检测方法。尿沉渣细菌定量计数是一种全自动尿沉渣分析仪进行细菌检测的方法,具有设备简单、操作简便的特点,在基层医疗单位以及大规模筛查中具有显著作用^[14-16]。

尿沉渣是尿液中的有形成分,是原尿经过离心后形成的沉渣,也是尿液有形成分质和量的组合。尿沉渣细菌定量计数能够对泌尿系统疾病进行诊断、鉴别、定位,其能够监测药物治疗效果;另外尿沉渣细菌定量计数检测包括多种技术,半导体激光、特异性核酸荧光染色和流式细胞技术,细菌检测使用专用通道和特异性染液,最大限度地消除干扰物质对细菌检测的影响,其能够利用激光将细胞及有形成分激发,促使散射光、荧光等光信号产生^[17-18],再将其向电信号转化,有助于对各种有形成分进行定量分析,因此具有较高的检测准确率,且及时高效,大量的尿液标本筛查采用尿沉渣细菌计数比较合适。尿沉渣细菌定量计数采用 UF-1000i 全自动尿沉渣分析仪检测尿液标本,该分析仪配有专用的细菌检测通道,由红色半导体激光发射红褐色激光、照射经过核酸染色后在鞘流贯流分析池中形成鞘流标本,对尿中各个粒子进行多角度散射光 and 不同级别的荧光检测,能够将尿液中其他微小成分的影响减轻^[19],从而获得高精密、高可信度的分析数据,细菌检验的特异度可得到提高。

本研究中,对尿沉渣细菌定量计数检测结果与临床诊断金标准尿液细菌培养检测结果进行比较,200 例中段尿标本细菌培养检测结果显示,阳性率为 63.00%,尿沉渣细菌定量计数显示,阳性率为 64.50%,两种检测方法的阳性率相近,说明了尿沉渣细菌定量计数的准确性较高。200 例中段尿检测标本中,尿沉渣细菌定量计数与尿液细菌培养的阳性标本符合率为 96.90%,阴性标本符合率为 97.18%;假阴

性率 0.31%，假阳性率 0.28%；阳性及阴性标本的符合率均高达 95% 以上，说明两种检测方法应用在泌尿系统感染诊断中均具有较高的价值。分析本研究中出现假阴性结果的原因可能与检测前使用抗菌药物和抗菌药物滥用有关，以及与尿液残存低浓度的抗菌药物抑制细菌生长、检测前大量饮水、留取尿液前使用消毒液清洗尿道等因素有关；而假阳性结果的出现则与留取尿液时被污染相关。使用 UF-1000i 细菌计数则受抗菌药物和培养方法干扰较小，可以弥补金标准尿液培养结果阳性率较低的不足。

同时 UF-1000i 尿沉渣分析仪可以提供直观的细菌检测散点图和泌尿系感染诊断信息，通过图形分析可以初步判断检出细菌为阳性球菌、阴性杆菌或混合细菌感染^[9]。本研究结果显示 UF-1000i 的细菌通道与金标准尿液细菌培养相比，革兰阳性球菌和革兰阴性杆菌的符合率、特异度均较高，说明 UF-1000i 尿沉渣分析仪在鉴别诊断泌尿系感染患者是革兰阳性球菌感染还是革兰阴性杆菌感染方面准确率较高，临床医生可以根据 UF-1000i 报告的革兰阳性球菌或革兰阴性杆菌，再结合泌尿系感染常见病原菌的临床分布情况和耐药情况，指导尿液细菌培养结果不明情况下的临床经验治疗用药，辅助临床医师选择合理有效的抗菌药物，减轻患者病痛和降低诊疗费用。UF-1000i 尿沉渣细菌通道检测革兰阳性球菌与革兰阴性杆菌结果相比较，符合率、灵敏度、特异度，差异均有统计学意义($P < 0.05$)，说明 UF-1000i 对于革兰阴性杆菌的检测能力优于革兰阳性球菌，泌尿系感染的主要病原菌为革兰阴性杆菌^[9-10]，这种优势检测能力对临床医师经验治疗起到了良好指导作用。

总而言之，尿沉渣细菌定量计数同尿液细菌培养相比，阳性率相近，阳性率较高；阳性标本及阴性标本符合率均较高；设备简单、操作方便，筛查速度快，可以作为临床诊断泌尿系感染的参考依据，更适合应用在基层筛查泌尿系统感染中。同时尿沉渣细菌通道在泌尿系感染患者的早期针对性选择抗菌药物方面有较好的参考价值，特别是革兰阴性杆菌引起的泌尿系感染，有更高的参考价值。

参考文献

- [1] 李艳花. 细菌培养和尿沉渣细菌对定量诊断尿路感染的临床价值观察[J]. 临床研究, 2018, 26(9): 145-147.
- [2] YU Y, KWON K, TSTRIN T, et al. Characterization of early-phase neutrophil extracellular traps in urinary tract infections[J]. PLoS Pathog, 2017, 13(1): e1006151.
- [3] 何云霄. 尿沉渣细菌定量计数筛查对于泌尿系感染诊断

- 的临床价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(16): 2010-2011.
- [4] 张玉鹏. 中段尿标本尿沉渣细菌定量对尿路感染的诊断价值[J]. 内蒙古医学杂志, 2018, 50(2): 194-196.
- [5] 毛志刚, 王霞, 金咏梅, 等. 应用受试者工作特征曲线探讨 UF-1000i 尿沉渣分析仪在快速筛检泌尿系统感染中的应用[J]. 华西医学, 2014, 29(6): 1092-1095.
- [6] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [7] 李静芳, 文丽, 周友全, 等. 尿沉渣细菌定量检查与尿培养检测结果的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(1): 2538-2540.
- [8] 刘春燕, 马小龙, 张晓阳. 尿沉渣及尿液干化学联合检测在泌尿系统感染快速诊断中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(22): 3313-3314.
- [9] 冯玉青, 黄素素, 罗靖, 等. UF-1000i 全自动细菌尿液分析仪的细菌通道检测与中段尿培养的符合率分析[J]. 检验医学, 2018, 33(1): 60-62.
- [10] 高胜利. 细菌定量计数联合尿沉渣白细胞检测与尿细菌培养诊断尿路感染对比分析[J]. 河南医学高等专科学校学报, 2015, 27(2): 192-193.
- [11] 朱文波, 戴蕾, 张葵. 尿白细胞、细菌及亚硝酸盐的联合检测在诊断尿路感染中的应用[J]. 医疗卫生装备, 2016, 37(5): 78-80.
- [12] 钟文, 杨晓冬, 林桂花. 细菌培养和尿沉渣细菌对定量诊断尿路感染的临床价值[J]. 西藏医药, 2017, 38(2): 6-8.
- [13] 郭玺, 段焱星, 祖雄兵. 尿液菌落计数在儿童泌尿感染筛查中的应用[J]. 中国微生态学杂志, 2018, 30(7): 825-827.
- [14] 沈张平, 樊春笋. Sysmex UF-1000i 尿液分析仪细菌通道参数在诊断尿路感染中价值[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(21): 3094-3099.
- [15] 冯敏亚, 史伟峰. UC-3500 与 UF-5000 流水线分析系统在诊断尿路感染中的价值[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(12): 1737-1740.
- [16] 沈振华, 陈蓉. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱直接检测尿路感染病原菌性能评价[J]. 检验医学, 2019, 34(5): 447-450.
- [17] 张亚莉. 尿沉渣细菌定量分析在尿路感染疾病诊断中的应用价值分析[J]. 医药论坛杂志, 2019, 10(40): 164-166.
- [18] 耿新惠. 细菌培养与尿沉渣细菌定量分析对 28 例尿路感染患者临床诊断价值分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(79): 154-156.
- [19] 吴苑, 郑薇, 李靖, 等. 尿液中肝素结合蛋白和白介素 6 及白细胞计数水平对细菌性尿路感染的应用价值[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(4): 312-317.

(收稿日期: 2020-11-23 修回日期: 2021-08-06)