

医疗机构中普及,但由于电极模块为选配件,需另外购买。本院和其他部分医院一样,并没有配备电极模块,而是使用了国产的电解质分析仪进行检测电解质,同时为便于保存及形成综合检验报告单,再把结果摘抄录入生化分析仪电脑中,工作繁琐,易出错,且不适用于大批量的标本操作,故本院选择用酶法来做大批量的标本,仅急诊或单独标本使用电极法。在方法学比较上,酶法测定 K^+ 与离子选择电极法有良好的相关性,且倚倚小 CLIA'88 允许误差,可用于临床检测^[2]。由表 1 可知 K^+ 校正前的均值和电解质分析仪的均值比对误差为 0.32,符合 CLIA'88 允许误差 0.50 的要求,结果可供临床参考应用。

3.2 在两种方法学中,用同一室内质控物检测虽然结果都在控,符合检测方法学的要求,但由于检测 K^+ 的两种测量系统不同,处于参考值两极的不同结果会给临床医生造成无法选择的结果。以健康成年人体检的标本作为参考品,在 AFT-500 电解质分析仪上的结果为日立 7180 生化分析仪的比对值,算出校正系数,经校正后日立 7180 生化分析仪 K^+ 的检测结果显示表 1,经 Z 检验,和 AFT-500 电解质分析仪检测结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。 K^+ 结果经临床验证为接受,临床对检验结果没有再提出质疑的反馈信息。结果显示对于检测相同项目的不同检测仪器,应比对校正分析后再出报告,以保持不同仪器检测结果的一致性。另外,选择合适的标准液,是获得准确结果的前提条件^[3]。由于两种仪器的校准品与质控品的基质差异、人血清样品和加工过校准品的基质差异,会导致结果的差异。作者用新鲜的健康人血清标本在一台已比对好的仪器上进行检测定标,作为需要比对仪器的靶值,对另一台仪器进行校对,减少了由于校准品及质控物的基质效应产生的结果差异。

3.3 作为比对仪器的电解质分析仪,应能使 K^+ 的测定区间

有效覆盖临床可能出现的高低值,以保证结果的准确性^[4],才能使比对的生化仪酶法结果准确一致。

3.4 酶法和离子选择电极法检测 K^+ 以其各自的优点在临床中被广泛应用。酶法试剂的稳定性差,试剂用前需要充分溶解,操作繁琐,同时对水质要求较高,价格偏贵^[5],但对于没有配备电极模块的大型生化分析仪来说,在大批量的标本检测中却很适用。电解质分析仪虽然电极使用寿命短,价格高,故障率高,但是由于其检测速度快,准确性好,精密度高,更适用于临床标本量小和急诊使用。二者在使用过程中应经常比对分析结果,使结果一致,特别是对于异常结果,应在不同仪器比对一致后再报结果,或者在同一台仪器上操作,以免对临床造成无法接受的结果。

参考文献

- [1] 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,2006:317-376.
- [2] 欧宁江,酶法测定血清钾与钠及化学法测定血清氯的方法学评价[J].检验医学与临床,2008,5(17):1054-1055.
- [3] 李国华,刘飞奇,廖得珍,等.高血钾症 144 例病因及治疗分析[J].医学理论与实践,2002,15(5):512-513.
- [4] 李云凤,朱雪花.电解质分析仪钾斜率定标及补正与标准液选择的研究[J].检验医学与临床,2011,8(12):1416-1418.
- [5] 洪国舜,王凤清,徐美华,等.新化学法检测血清 K^+ 、 Na^+ 的评价[J].临床检验杂志,2009,27(6):460-461.

(收稿日期:2011-10-08)

荧光定量聚合酶链反应在女性泌尿生殖道感染中的应用

窦莉伶(广西医科大第四附属医院检验科,广西柳州 545005)

【摘要】 目的 探讨荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测技术在女性泌尿生殖系沙眼衣原体(CT)、解脲脲原体(Uu)感染诊断中的应用。**方法** 用 FQ-PCR、普通 PCR 对 156 例患泌尿生殖感染的女性分泌物进行了 CT、Uu 的检测,并比较了其优劣。**结果** 156 例女性中,FQ-PCR 检出阳性标本 81 例。CT、Uu 的阳性检出率分别为 14.74%、37.18%;普通 PCR 法检出阳性标本 72 例,CT、Uu 的阳性检出率分别为 11.54%、34.62%。在 FQ-PCR 检测中,DNA 数量小于 7.0×10^3 copy/mL 者 12 例,普通 PCR 检测阴性。**结论** 应用 FQ-PCR 检测 CT、Uu 具有简便、快速、高特异性、高敏感度的优点,不仅可以准确诊断,而且其定量技术可指导临床用药,值得推广。

【关键词】 荧光定量聚合酶链反应; 聚合酶链反应; 支原体; 衣原体

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.07.048 文献标志码:B 文章编号:1672-9455(2012)07-0860-02

近年来,女性泌尿生殖系感染疾病的发病率呈逐年上升的趋势,但由于女性生殖系统解剖结构的特殊性,往往临床症状与感染程度不一致,故很难早期诊断。传统的病原微生物检测方法包括涂片、培养、免疫学技术等,但普遍存在检出率低、周期长、特异性差的缺点,给临床诊断带来了困难。目前荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)已被广泛应用核酸定量分析,该技术采用荧光技术和闭管检测,结果自动分析,减少了 PCR 扩增产物的污染,具有极高的使用价值^[1]。作者通过对本院门诊 156 例女性泌尿生殖系分泌物进行了沙眼衣原体(CT)、解脲脲原体(Uu)检测,并与普通 PCR 技术比较,现将结果分析如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 来自于本院 2011 年 4~10 月妇科和皮肤性病科门诊的患者 156 例,年龄 17~65 岁,平均 32.5 岁。

1.2 标本采集 由医生采集。用无菌生理盐水棉球洗去宫颈外分泌物,再用棉拭子插入宫颈内,停几秒钟后旋转棉拭子,采取宫颈分泌物,将棉拭子置于塑料离心管中,用棉球将离心管塞紧后送检。尿道取材:先用棉拭子擦净尿道口,再用另一个拭子插入尿道内 2 cm,轻轻转动后,取材送检。

1.3 仪器与试剂 (1)FQ-PCR:采用美国 ABI 公司生产的 ABI-7300 型全自动荧光定量 PCR 分析仪,试剂盒为中山医科大学达安基因诊断中心产品。(2)普通 PCR:采用 PTC-100 型

PCR 扩增仪(美国 MJ 公司),试剂为上海复星生物工程公司产品。

1.4 检测方法 具体操作方法和结果判定严格按各自试剂盒说明书进行。将采集的 PCR 标本,加入 1 mL 生理盐水,14 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,取沉淀物经过 DNA 提取液裂解,充分混匀,煮沸 10 min,1 000 r/min 离心 5 min,取上清液为制备好的 DNA 模板做 PCR,同时做标准曲线,并分别设立阳性、阴性对照。

1.5 结果判定 DNA 的拷贝数大于或等于 7.0×10^3 copy/mL 定为阳性,结果低于 7.0×10^3 copy/mL 或未能检出定为阴性。

1.6 统计学处理 运用 SPSS13.0 软件处理数据,以配对设计的 χ^2 检验进行率的比较。

2 结 果

2.1 156 例患泌尿生殖感染的女性分泌物,采用 FQ-PCR、普通 PCR 检测 CT、Uu,前者检出的阳性样本中其 DNA 含量为 $1.5 \times 10^3 \sim 9.0 \times 10^7$ copy/mL,两种方法阳性检出率经配对设计 χ^2 检验处理,FQ-PCR 较普通 PCR 高,差异有统计学意义($\chi^2=4.26, P<0.05$),见表 1、2。

2.2 FQ-PCR、普通 PCR 检测不同浓度标本,结果显示 DNA 数量小于 7.0×10^3 copy/mL 者 12 例,普通 PCR 检测为阴性。有 3 例普通 PCR 检测为阳性者,FQ-PCR 检测为阴性,再重复普通 PCR 检测亦为阴性,说明 FQ-PCR 有较高的敏感性、特异性,见表 3。

表 1 FQ-PCR 与普通 PCR 检测结果比较[n(%)]				
方法	n	阳性检出率	CT 检出率	Uu 检出率
FQ-PCR	156	81 (51.92)	23(14.74)	58(37.18)
普通 PCR	156	72 (46.15)	18(11.54)	54(34.62)

表 2 FQ-PCR 与普通 PCR 检测结果的比较(n)			
FQ-PCR	普通 PCR		合计
	+	—	
+	69	12	81
—	3	72	75
合计	72	84	156

表 3 不同浓度标本用两种方法检测结果

方法	$>7.0 \times 10^7$ copy/mL	7.0×10^6 copy/mL	7.0×10^5 copy/mL	7.0×10^4 copy/mL	$<7.0 \times 10^3$ copy/mL	阳性对照	阴性对照
FQ-PCR	+	+	+	+	+	+	—
普通 PCR	+	+	+	+	—	+	—

注: + 表示阴性, — 表示阳性

3 讨 论

CT 和 Uu 均为临床常见的性传播疾病病原体,不仅可导致阴道、尿道感染,上行的生殖道感染,还可累及子宫内膜、输卵管和邻近的盆腔结构,引起宫颈炎、盆腔炎及输卵管不育症等。孕妇生殖道被感染后还会损害胚胎的生长,引起胚胎发育停止而流产^[2]。近年来,由 CT、Uu 等引起的泌尿生殖道感染发病率呈上升趋势,据报道全世界每年有 5 千万人感染^[3],因此在泌尿系统感染的诊断中检测 CT、Uu 是有效控制其感染和流行的重要手段。

随着免疫学、微生物学、分子生物学诊断技术的发展,检测泌尿生殖道的病原体感染已由培养法、快速免疫法、PCR 发展到 FQ-PCR。FQ-PCR 不仅具有普通 PCR 高灵敏性的特点,而且由于荧光探针的应用,可以通过光电传导系统直接探测 PCR 扩增过程中荧光信号的变化以获定量结果;因此还具有 DNA 杂交的高特异性和光谱技术的高精确性,克服了普通 PCR 的许多缺点^[4-5],从根本上解决了 PCR 扩增产物污染和不能定量的问题,现已被临床检测广泛应用。本研究对 156 例泌尿生殖感染的女性分泌物做了 CT、Uu 的检测,结果 FQ-PCR、普通 PCR 检出 CT 的阳性率分别为 14.74%、11.54%;Uu 的阳性率分别为 37.18%、34.62%,这与胡茜等^[6]报道的结果基本一致。在 FQ-PCR 检测中,病原体 DNA 数量小于 7.0×10^3 copy/mL 者 12 例,普通 PCR 检测为阴性,说明低浓度的感染无法用普通 PCR 检测出。有 3 例普通 PCR 检测阳性者,FQ-PCR 检测则为阴性,再重复普通 PCR 亦为阴性。说明 FQ-PCR 的敏感性、特异性高于普通 PCR,对疾病的早期诊断和治疗可提供重要的参考依据。

综上所述,在女性泌尿生殖感染方面由于其本身结构的特

殊性,临床症状轻微,很难早期发现,由于内环境的特殊性,在普通 PCR 扩增时易出现假阳性,而 FQ-PCR 作为一项新的成熟技术,不但具有耗时少、灵敏度高、特异性强的特点,而且还可以监测扩增全过程,显示出其对 CT、Uu 感染诊断的明显优势,其定量技术可直接指导临床用药,值得推广使用。

参考文献

[1] 杨正林. 性病门诊患者淋球菌、沙眼衣原体、解脲支原体感染现状调查[J]. 中国皮肤性病学杂志, 1998, 12(3): 168-169.

[2] 吴晓岩. 临床免疫实验室室内质控影响因素分析[J]. 2001, 17(5): 277-280.

[3] Quinn TC, Welsh L, Lentz A, et al. Diagnosis by AM-PLICOR PCR of Chlamydia trachomatis infection in urine samples from women and men attending sexually transmitted disease clinics[J]. J Clin Microbiol, 1996, 34(6): 1401-1406.

[4] 邓君, 洪华, 饶绍琴, 等. 荧光定量 PCR 技术在性病临床标本实验诊断中的应用[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2003, 17(2): 120-121.

[5] 赖维, Chen CY, 苏向阳, 等. 荧光多重实时 PCR 检测单纯疱疹病毒[J]. 中华皮肤科杂志, 2004, 37(5): 273-275.

[6] 胡茜, 王玉丰. 实时荧光 PCR 检测女性生殖道 CT 和 Uu 结果分析[J]. 中国热带医学, 2007, 7(12): 2218.