

• 论 著 •

液体培养法检测泌尿生殖道支原体感染的准确性评价

蒲清泉, 吴文耀, 杜 丽, 杨 蜜, 夏 云[△]

(重庆医科大学附属第一医院检验科 400016)

摘要:目的 通过液体-固体培养结合聚合酶链反应(PCR)法来评价目前临床所广泛应用的液体培养检测泌尿生殖系统支原体感染的准确性,进一步对液体培养法检测支原体的优、缺点进行探讨,并为临床诊断泌尿生殖系统支原体感染提供更为准确可靠的实验数据和方法。**方法** 收集临床所用液体培养法已诊断为人型支原体感染、解脲支原体感染及人型和解脲双重支原体感染的临床标本的培养液,用准确性更高的液体-固体法进行传代培养,所得菌液再用 PCR 法扩增并测序,进一步鉴定菌种具体种属,并对比两次鉴定结果是否一致。**结果** 临床上诊断为支原体属的 61 株菌液中,在该试验中仅 23 株确疹为支原体,25 株为污染菌生长,13 株为阴性。**结论** 仅用液体培养法检测泌尿生殖道相关支原体感染情况,存在较高假阳性,应结合固体培养法以及分子测序方法以提高检测准确性。

关键词:解脲支原体; 人型支原体; 固体培养法; 液体培养法; 聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.18.015 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)18-2694-04

The value of liquid culture for detection of mycoplasma infection in urogenital tract

PU Qingquan, WU Wenyao, DU Li, YANG Mi, XIA Yun[△]

(Department of Laboratory, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To evaluate thsse liquid culture in detection of mycoplasma from genitourinary tract, find the advantages and disadvantgages, and provide more accurate data for clinical diagnosis. **Methods** Combination of liquid culture, solid culture and PCR were used to detect these specimens which were assumd to be the mycoplasma. **Results** The method of combining positive for 23 in the 61 strains which were assumd to be the mycoplasma, 25 strains were polluted and 13 were negative. **Conclusion** Detetion of mycoplasma can not lean on the liquid culture, it shuld be combine the solid culture and the PCR.

Key words: Ureaplasma urealyticum; Mycoplasma hominis; solid culture; liquid culture; polymerase chain reaction

支原体,又名霉形体,是目前发现的一类大小介于病毒与细菌之间、无细胞壁、呈高度多形性、能通过滤菌器的最简单的原核生物之一。目前已发现的寄居于人体的支原体至少 16 种,其中 7 种为条件致病菌,而又以这 7 种中的人型支原体(MH)和解脲支原体(UU)最为常见,能在约 70% 的性活跃人群的泌尿生殖系统中检测到。泌尿生殖道支原体作为导致非淋菌性尿道炎及宫颈炎的第二大致病菌,约有 20%~30% 的非淋菌性尿道炎是由 UU 及 MH 感染引起。该细菌感染甚至还可以引起宫颈炎、产后感染、自发性流产乃至不孕不育等严重后果。故快速准确地诊断泌尿生殖道支原体感染,并对其进行针对性抗感染治疗有很高实用价值和临床意义^[1-2]。现有的支原体检测方法有培养法,血清法,生化法等,而其中的液体培养法是一种依据 MH 分解精氨酸、UU 分解尿素产氨导致 pH 值上升,当在较高细菌浓度($10^4 \sim 10^5$ /mL)下,其代谢产物足以使液体培养基中 pH 值偏碱性直至其中的酚红指示剂变成红色,从而明确存在相关支原体感染的检测方法。因此法具有快速、敏感、经济、操作简便,同时亦能进行药敏试验检测的特点,故而在临床上广泛应用于泌尿生殖道支原体感染的检测,并可以联合药敏检测以指导临床用药。因此,明确此法检测支原体的准确度,评价此法对于临床支原体感染的诊断及相应治疗的指导意义极为重要。而目前,重庆市区尚未有对此临床诊断方法的准确性能有较为详细的研究与评价。根据泌尿生殖道支原体在固体培养基上形成典型煎蛋样或海胆样形态的特性,固体培养法一直以来被认为是检测相关支原体的金标准^[3],而 DNA 扩增测序法则能从基因水平进一步明确支原体

具体分型。因此,本研究采用液体培养法,固体培养法及 16srRNA 扩增测序法相结合的方法对其临床检测阳性的标本加以验证,以评价目前液体培养法检测结果的准确性^[4-6]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 临床所用支原体培养液试剂盒(UU/MH 培养鉴别定量药敏试剂盒)购自其昌达生物科技(上海)有限公司;本试验所用支原体液体培养基(UU/MH 鉴定液体培养基)及支原体固体培养基 A7 琼脂均购自中国广东江门市凯琳贸易有限公司;标准菌株(ATCC)MH:23114, UU:UPA(微小脲原体, UU 亚型) 3700970(由广东江门市凯琳贸易有限公司提供)。标本来源:临床 61 株阳性标本来源均取自重庆医科大学附属第一医院生殖与不孕科、妇科,年龄 23~45 岁的中青年女性患者的宫颈分泌物,由临床医生用咽拭子刮取少量分泌物送检。

1.2 方法

1.2.1 质量控制 各取 100 μ L 标准 MH(ATCC, 23114), UU(UPA, ATCC3700970)转种于本次试验所需同批号液体培养基及 A7 固体培养基,并加以扩增测序鉴定菌种。证实本次试验环境、所选材料、试剂、准确可靠。

1.2.2 临床液体培养法具体步骤及判断标准 由临床检验人员将咽拭子洗脱于液体培养基并混匀,再于配套药敏板中每孔先后加入 50 μ L 培养液及石蜡油 1 滴,并标明时间,其中石蜡油用于隔绝空气。在药敏板中,有未加抗生素的上下两孔各自作为 UU 和 MH 药敏阴性对照孔。再将液体培养基与配套药敏板放入 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中进行增菌培养,并于 24、48

h 取出以观察、记录培养液及阴性对照孔(本研究暂不记录支原体药敏结果)颜色及透明度变化(由于支原体本身菌体小,不易形成能改变液体透光度的絮状物或沉淀物):培养液及阴性对照孔 48 h 内不变色即临床诊断为阴性,表明无支原体感染;培养基 24 h 内由黄色转变为澄清红色,同时 UU 对照孔也转变为红色即临床诊断为 UU 阳性;培养基 24~48 h 内转为红色澄清,同时 MH 对照孔也转变为红色即临床诊断为 MH 阳性;培养基 48 h 内转为红色澄清,同时 UU、MH 药敏阴性对照孔均转变为红色即临床诊断为 MH+UU 阳性;培养基及药敏孔无论有无颜色变化,一旦培养基变浑浊,以及仅培养基变色而无对照孔变色或仅有对照孔变色而无培养基变色,此 3 种情况均判定为杂菌污染。

1.2.3 阳性标本收集 收集临床上诊断为支原体阳性的液体培养菌液(尽量在其刚由黄色转变为澄清红色时收集),混匀后吸取 500 μL 于无菌的 EP 管中并存放于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中以备用。

1.2.4 菌落液体-固体培养 将收集的菌液复温,混匀后,各取 100 μL 转种于新的液体培养基中并再次混匀放入 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养^[7],分别于 12、24、36、48、72、96、100、124、148 h 后观察培养基颜色与澄清度变化并记录。培养 7 d 仍未有颜色变化的,记录为支原体阴性。当颜色刚由黄变澄清红时,立即从液体培养基中吸取 30 μL 菌液点种于固体培养基中放入 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温、5% CO_2 培养箱培养。24~100 h 后^[8],观察是否有菌落生成,以及菌落形态。并挑取疑似菌落再次转种于液体培养基中培养,待颜色刚开始由黄变澄清红时即转存入留菌管中置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存^[9-11]。

1.2.5 PCR 方法 将留菌管取出复温,混匀,并吸取 400 μL 培养液用煮沸法提取 DNA^[12-13],以 16 srRNA(BAKLLW:5'-AGT TTG ATC (A/C) TGG CTC AG-3;BAK25-GGACTAC (C/T/A) AGGGTATCTAAT-3)为引物进行扩增^[5,14-17]。扩增产物立即送立非生物技术有限公司进行测序分析,测序结果经 BLAST 软件比对鉴定从而得出菌种的具体种属。

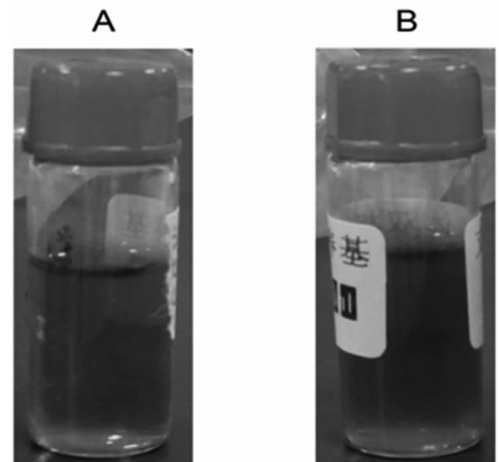
2 结 果

2.1 液体转种培养结果 临床确诊为支原体感染阳性的 61 株菌液中,经第一次转种液体培养,有 13 株在培养 7 d 后仍无颜色变化,判断为支原体阴性(阳性:明确有支原体感染;阴性:无支原体感染)。余 48 株在 48 h 内均有颜色变化。其中 13 株为红色浑浊,判定为杂菌污染。另 35 株经 A7 培养基培养 5 d 后,形成海胆样或油煎蛋样或非典型菌落,这些菌株后经提取 DNA 进行扩增、比对后,证实其中 23 株为支原体属,12 株为其他菌属。

本试验中,临床证实为阳性的 61 株标本中,仅 23 株经鉴定确证为支原体阳性。其临床鉴定特异性仅为 23/61。表明液体培养鉴定支原体虽然敏感性高,但同时假阳性也较高,而造成液体培养法高假阳性率的原因可能是:(1)尽管液体培养基内有一定抗菌药物和抗真菌的药物,但因人体生殖道菌群结构复杂多样,且随着抗菌药物的滥用,产生越来越多耐药性菌属,而目前现有的液体培养基中所含抗菌药物或抗真菌药物不能完全覆盖,从而使其抑菌效果不佳,干扰结果;(2)许多非支原体细菌也会含有某些能分解尿素、精氨酸的物质,从而导致 pH 值升高,培养基变色,或是某些微生物代谢过程中产生能使液体 pH 值升高的产物或本身产红色代谢物,均能使培养基变色影响判断^[18];(3)当微生物菌含量过高,或是液体培养基中的抗生素随着时间推移或其他因素导致效价下降,从而致使

杂菌生长影响结果判读;(4)液体培养法主要依靠检验人员肉眼鉴别,主观性强,易出现随意误差。

本试验中,临床 13 株菌株诊断有支原体感染,而经再次转种却无颜色变化,可能与以下几种原因有关:(1)UU 在液体培养基中大多在 6~24 h 生长变红,MH 在液体培养基中大多在 12~72 h 生长变红,但临床仍有一定数量支原体生长高峰时间超过上述范围,因而对于确定最佳收集时间进行标本采集及转种存在一定难度。当液体培养液明显变红时提示 pH 值已明显上升。同时,随着时间延长,培养液中营养物质锐减,支原体在不适宜的 pH 及缺乏营养物质的情况下会出现死亡。而依据液体培养法的鉴定原理,只有成活的支原体才能导致液体变色,以上情况均有可能导致收集不到满意的转种液,从而导致再次转种失败;(2)可由于人为判读导致诊断失误可能,而误判为阳性;(3)在较低浓度细菌($10^2\sim 10^3/\text{mL}$)的液体培养基中,液体仍呈黄色,无明显变色;(4)经临床经验发现,UU 菌株本身多次转种后,存活率明显降低。但现阶段尚无明确的相关报告予以证实。本研究主要为证实液体培养法的临床实用性,而出现此种情况,表明液体培养法的重复性差,已再无固体培养基转种、鉴定意义。见图 1。



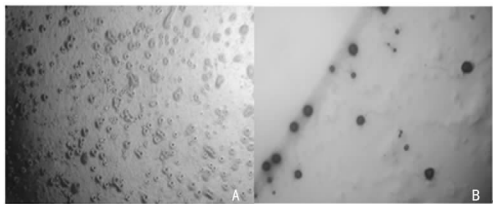
注:A 为未变色的液体培养基;B 为刚开始变色的液体培养基

图 1 液体培养基的变色情况

2.2 固体培养特异性较高 本试验发生颜色变化的 48 株菌株中,有 13 株为红色浑浊,可判定为杂菌污染经 A7 培养基培养 5 d 后,取菌落行革兰染色涂片后,经显微镜下观察,进一步证实为 4 株真菌,9 株革兰阴性球菌。另 35 株经 A7 培养基培养 5 天后,形成海胆样或油煎蛋样或非典型菌落,后经 PCR 法扩增并测序鉴定后证实为粪肠球菌 2 株,大肠杆菌 1 株,假单胞菌 6 株,红球菌 1 株,乳酸菌 2 株,支原体属 23 株,故固体培养法检测支原体特异性为 23/35,较液体培养法特异性高。

从固体培养结果可知,较液体培养法,固体培养法特异性进一步提高,但仍有一定假阳性。造成这种现象的原因可能是:(1)固体培养基上,UU 和 MH 菌落的形态多为油煎蛋样或海胆样等典型性,且固体培养对 UU 和 MH 破坏较小,即使存在轻度污染,也不会对 UU 和 MH 的观察和生长造成影响^[19];(2)菌体含量较少,加之固体培养基随着时间变化而致水分流失或抑制杂菌能力减弱,仍有可能导致试验结果不准确,特异性及敏感性降低^[20];(3)微生物界,仍有少量菌种仅靠显微镜下菌落形态差异难以与支原体属相鉴别,从而造成假阳性;(4)尽管 A7 固体培养基为选择性培养基,但仍有和液体培养基一样无法完全抑制所有其他非支原体微生物生长的缺陷;(5)当存

在杂菌生长时,由于营养物质的争夺,有可能使杂菌呈优势生长,而支原体本身因营养物质的缺乏而无法生长形成菌落;(6)此种方法仍以检验人员人为判定为主,人为误差不能避免。见图 2。



注:A 为 Mh 在 A7 培养基上形成的菌落形态(煎荷包蛋样);B 为 UU 在 A7 培养基上形成的菌落形态(黑色海胆样)

图 2 培养基上形成的菌落形态

2.3 3 种鉴定方法对于支原体分型鉴定的差异 本次收集的 61 株阳性标本中:临床诊断为 UU 的有 20 株,但经 PCR 法确定为 UU 类仅 8 株,余下 12 种经鉴定确证为 MH,两种方法分型结果不符;临床诊断为 MH 的菌株共 2 株,而经本次试验鉴定确证为 MH,结果相符;临床诊断为混合感染的菌株经本次试验方法鉴定仅为 MH 菌株。造成此误差的原因可能是:(1)在临床鉴定中,将液体培养 24 h 内由黄色变为澄清红色的菌株均归为 UU,而 24~48 h 内发生颜色变化的菌株归为 MH,但此时间段并不能涵盖所有支原体最佳生长时间范围;(2)仅靠颜色变化指示 PH 值变化的生化鉴别方式太过单一,人为误差不可避免;(3)本次实验中,由于临床鉴定为 MH 的菌株数偏小,暂不能明确液体培养法对于鉴定 MH 的可靠性是否优于对 UU 型的鉴别。本试验在一定程度上也可反映出目前临床上液体培养法依靠 24、48 h 节点出现的颜色变化,以及单纯的生化反应来鉴定支原体种类,其准确度较差。

本研究中,有 35 株经 A7 培养基培养 5 天后,形成了海胆样或油煎蛋样或非典型菌落,后经 PCR 法扩增并测序鉴定后证实为支原体属仅 23 株,余为杂菌。出现此结果的可能性为:(1)仍有少量菌种仅靠显微镜下菌落形态差异难与支原体属相鉴别;(2)此种方法仍以检验人员人为判定为主,对检验人员有较高要求。

3 讨 论

本试验中,经临床所用液体培养法判断为支原体阳性的 61 株菌中,仅 23 株确证为支原体菌株,说明单纯的液体培养法检测支原体存在很高的假阳性。由前分析可知,这可能是由于液体培养发本身的检测原理太过单一,人为鉴别主观性强易造成误差以及液体培养基本身的条件限制所致。

从本试验及以往研究结果中不难看出,3 种检测方法各有其优缺点:(1)液体培养法有其快速、经济、敏感、操作简便的优势,但如前分析,其同时存在假阳性高,准确性差的缺点。同时此法只能针对尚有活性支原体进行检测,从而对临床标本的采集、送检均有较高要求。而液体培养法重复性差,并在标本中混有产酸微生物能对 pH 值的改变产生干扰,或是转种时间不佳的情况下,均会导致假阴性可能。(2)A7 固体培养法较于液体培养法,有更好的抗污染能力,特异性更高,并且能形成单个菌落,因而对于支原体的纯化及下一步研究非常有利。但临床上仍有不典型的支原体菌落^[21-22]存在的可能性,同时如本试验可知,固体培养基内所含抗菌药物仍不能覆盖所有杂菌,尚有一定其他菌种菌落形态可对支原体判断造成干扰,而支原体本身菌落小,需靠显微镜观察,甚至个别不典型菌落可能被

作为培养基渣子而忽略。因而对于临床检验人员对支原体的形态鉴别能力及临床实践经验有较高的要求,初级人员难以快速掌握辨别并加以区分,进而导致假阴性;同样,此种方法是需有活性支原体接至固体培养基,因而对于标本本身也有与液体培养法一样的高要求:接种时间过长易致假阴性、接种时间过短则可能导致没有支原体的最佳生长期,菌量太少,阳性率偏低。(3)PCR 是一种体外扩增 DNA 片段的方法,经由特异的引物进行引导,可在极短时间内使极微量的核酸片段成几何倍数扩增,并能将支原体进行进一步分型,具有简便快速、特异性强、灵敏度高、并能更加准确指导临床治疗及科研研究的优势,也因此哪怕极少量的核苷酸片段都有可能造成污染,从而影响实验结果。此法还对实验室的配制、检验人员操作技术及理论知识均有更高的要求,加之泌尿生殖道支原体本身属于条件致病菌,在健康人体中都有可能存在少量寄生情况,而仅为携带者,并不一定致病更无须治疗。而此法由于其敏感性极高,有可能将健康带菌者也归为患者一类,进而导致误诊误治,加深抗菌药物滥用的危害,因而不适于临床大范围的健康筛查。且此法不能同时做药敏实验,因而无法指导临床合理使用抗菌药物;同时,此方法仍存在花费较高,程序繁琐等问题尚待解决。

根据以往文献可知,临床泌尿生殖道支原体感染中,以 UU 的感染率较高^[23],而本研究却是 MH 感染率高于 UU 的感染率,虽然有可能是由于本实验所测定菌株较少,但也不能排除支原体感染的型别地域差异的可能性。此现象可以作为重庆市以后相关支原体型别鉴定的一种研究方向。

在以往的试验研究中,一方面对于液体培养法检测泌尿生殖道支原体感染的准确性的评价多单纯依赖于固体培养法,或是仅运用 PCR 鉴定验证,而很少通过两种检测手段加以结合的方式进行验证^[24]。而本研究将两者实验方法结合,使两种方法优势互补,从而使验证法本身的准确性大大提高,对于评价及检测液体培养法结果的准确度更有说服力和可靠度;另一方面,在此之前,重庆范围内尚未对用于临床上的检测泌尿生殖道支原体的试验方法的可靠性进行专业的评价研究,而本试验的出现弥补了这方面的缺憾,同时对于重庆范围内在此方向的临床和实验探讨上有一定开创性和借鉴意义。

综上所述,在未来临床发展中,对于支原体感染的检测应该是将快速、经济、敏感度较高但假阳性率也高、重复性差的液体培养法与更准确但假阴性率相对较高且较为繁复、耗时的固体培养法相结合以实现优势互补,进而提高准确率。同时 PCR 的加入将更能保证菌种分型鉴定的准确性。因此,应改变单靠液体培养法诊断支原体的方法,而选用联合液体及固体培养法,必要时联合 PCR 的手段以准确鉴定支原体具体种属,从而进一步准确指导临床诊断和治疗。

参考文献

- [1] 张岱. 支原体与妇产科感染性疾病[J]. 国际妇产科学杂志, 2011, 38(6): 494-499.
- [2] 刘淑荣, 张洪文. 解脲支原体致病性与治疗决策[J]. 医学与哲学(临床决策论坛版), 2009, 10(30): 6-8.
- [3] 黄秀荣, 张群先, 刘爱菊, 等. 支原体固体培养与液体培养在支原体感染诊断中的应用效果比较[J]. 广西医学, 2016, 28(10): 1455-1457.
- [4] Yager JE, Ford ES, Boas ZP, et al. Ureaplasma urealyticum continuous ambulatory peritoneal dialysis-associated

- peritonitis diagnosed by 16S rRNA gene PCR[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(11): 4310-4312.
- [5] 马寒, 陆春, 朱国兴, 等. 运用 PCR 方法检测解脲脲原体生物群在临床实际应用的探讨[J]. 中国艾滋病性病, 2009, 15(1): 44-46.
- [6] 叶称连, 许恒, 毅, 王力均, 等. 聚合酶链式反应在常见阴道炎检测中应用的研究进展[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(26): 4573-4577.
- [7] 夏乾峰, 程玉兰, 覃西, 等. 液体法与固体培养法检测解脲脲原体和人型支原体的比较[J]. 海南医学院学报, 2010, 16(5): 638-640.
- [8] Miranda C, Camacho E, Reina G, et al. Isolation of Mycoplasma hominis from extragenital cultures[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2005, 24(5): 334-337.
- [9] 李育兰, 向小虎. 固体培养基分离解脲支原体和人型支原体探讨[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(1): 17-19.
- [10] Kunds RB, Parreno A, Poulin S. Significance of appropriate techniques and media for isolation and identification of Ureaplasma urealyticum from clinical specimens[J]. J Clin Microbiol, 1978, 8(4): 445-453.
- [11] Shepard MC, Lunceford CD. Differential agar medium (A7) for identification of Ureaplasma urealyticum (human T mycoplasmas) in primary cultures of clinical material[J]. J Clin Microbiol, 1976, 3(6): 613-625.
- [12] 盛敏玲, 濮跃晨, 朱长太, 等. 解脲脲原体的 DNA 模板制备方法的研究比较[J]. 实用医技杂志, 2006, 13(6): 894-896.
- [13] 邹冬冬, 向梅, 吴书磊, 等. 解脲脲原体 DNA 提取方法的比较[J]. 中国妇幼保健, 2009, 24(8): 1099-1100.
- [14] 龚伟明, 莫小辉, 陆海空, 等. 运用 PCR 扩增技术检测解脲脲支原体生物群的临床应用[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(10): 1848-1850.
- [15] Payne MS, Tabone T, Kemp MW, et al. High-resolution melt PCR analysis for genotyping of Ureaplasma parvum isolates directly from clinical samples[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(2): 599-606.
- [16] Wei HB, Zou SX, Yang XL, et al. Development of multiplex real-time quantitative PCR for simultaneous detection of Chlamydia trachomatis and Ureaplasma parvum[J]. Clin Biochem, 2012, 45(9): 663-667.
- [17] 陈小兰, 白帆, 何穗芬, 等. PCR 检测衣原体及支原体感染的临床意义[J]. 哈尔滨医药, 2016, 36(6): 237-238.
- [18] 张红升, 韩晶. 支原体液体培养法假阳性原因探讨[J]. 检验医学, 2012, 27(4): 316-318.
- [19] 王晓霞, 伍启康, 皮肖冰, 等. A7 琼脂固体和液体培养联合应用检测泌尿生殖道解脲脲原体[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2005, 4(1): 34-36.
- [20] 周良佳, 连大帅, 许锴, 等. 现有液体培养法检测解脲脲原体效果的评价[J]. 中国医药导人兽共患病学报, 2015, 31(1): 16-20.
- [21] 周运恒, 马红霞, 曹广亚, 等. 两种培养方法检测解脲脲原体及其菌落形态学的比较研究[J]. 检验医学, 2013, 28(5): 362-365.
- [22] Razin S, Masover G K, Palant M, et al. Morphology of ureaplasma urealyticum (T-mycoplasma) organisms and colonies[J]. J Clin Microbiol, 1977, 130(1): 464-471.
- [23] Kong F, Ma Z, James G, Gordon S, et al. Species identification and subtyping of Ureaplasma parvum and Ureaplasma urealyticum using PCR-based assays[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(3): 1175-1179.
- [24] 吴清坛, 蒲荣. 固体与液体培养法在鉴别支原体感染的差异性研究[J]. 中国医药导报, 2011, 8(6): 69-71.

(收稿日期: 2017-05-01 修回日期: 2017-06-09)

(上接第 2693 页)

- development[J]. Arch Med Res, 2009, 40(6): 466-470.
- [5] Arbyn M, Dillner J. Review of current knowledge on HPV vaccination: An Appendix to the european guidelines for quality assurance in cervical cancer screening[J]. J Clin Virol, 2007, 38(3): 189-197.
- [6] Denny L, Adewple I, Anorlu R, et al. Human papilloma-virus prevalence and type distribution in invasive cervical cancer in sub-Saharan Africa[J]. Int J Cancer, 2014, 134(6): 1389-1398.
- [7] Reiter PL, McRee AL, Kadis JA, et al. HPV vaccine and adolescent males[J]. Vaccine, 2011, 34(29): 5595-5602.
- [8] Johnson D C, Bhatta M P, Gurung S, et al. Knowledge and awareness of human papillomavirus (HPV), cervical cancer and HPV vaccine among women in two distinct Nepali communities[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(19): 8287.
- [9] Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, et al. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: End of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test[J]. Gynecol Oncol, 2015, 136(2): 189-197.
- [10] 罗福康, 余娟春, 李蒙, 等. 某市 801 例宫颈人乳头瘤病毒感染快速检测及其意义[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(17): 1934-1936.
- [11] Clifford GM, Gallus S, Herrero R, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis[J]. Lancet, 2005, 366(9490): 991-998.
- [12] 李洁, 刘宝印, Zur HH, 等. 中国妇女宫颈癌组织中人乳头瘤病毒感染及其地理分布[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 1996, 10(1): 50-55.
- [13] 石菊芳, 吴瑞芳, 刘植华, 等. 深圳妇女人乳头瘤病毒的型别分布[J]. 中国医科学院学报, 2006, 28(6): 832-836.
- [14] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.

(收稿日期: 2017-03-23 修回日期: 2017-05-31)