维普资讯 http://www.cqvip.com

Effect of Hugu capsule on bone mineral contenAndbone metabolism in postmenopausalwomen

Liu Qifen, et al
Department of obstetrics and gynecology, the second college of clinical medicine

Eighty postmenopausal or artificial postmenopausal women treated with hugu capsule were observed for bone mineral content(BMC),urine calcium and urine Hop/Cr. The results showed that the scort of urine Ca/Cr,urine Hop/Cr was decreased after hugu cap sule treatment($P<0.05$, $P<0.05$)and that the value of BMC after treatment with hugu capsule was higher than that before treatment. However ,there was no statistical significance($P>0.05$). Similar response was found in the control group treated with Netestriol. The results suggest that hugu capsule regulates bone metabolism by inhibiting bone resorplion and reducing bone loss.IT is useful for osteoporosis.

KEY WORDS Osteoporosis; Postmenopausal; Urine calcium; Urine hydroxyproline

382-384

(18)

糖原测定法诊断女性生殖道沙眼衣原体感染

R711.304
R374.1

基础医学院微生物学教研室 杨 春* 朱道银

提 要 用糖原测定法诊断生殖道沙眼衣原体(Ct)感染.用蒽酮法检测女性生殖道上皮细胞内糖原的含量,并与诊断沙眼衣原体感染的聚合酶链反应(PCR)法作比较.320例宫颈标本的检测结果与PCR比较,糖原测定法诊断Ct感染的敏感性为84.8%,特异性为96.5%。糖原测定法是一种简便、快速的诊断Ct感染的方法,适宜基层医疗单位采用.

关键词 糖原; 聚合酶链反应; 沙眼衣原体
中图分类号 R374

女性 · 生殖系统

沙眼衣原体(Chlamydia trachomatis,Ct)是专性细胞内寄生的病原体,除引起沙眼外,还是常见的性传播疾病中的重要病原体之一,在国内传播有上升趋势。Ct的诊断主要有两类方法:一是细胞培养;二是非细胞培养方法,包括免疫荧光、免疫酶法及聚合酶链反应(RCR)等。以上诊断方法费时复杂,且受条件限制。本文根据Ct能自身合成糖原,特别是其增殖形成的包涵体中有大量糖原堆积的特点[1,2],设计出糖原测定法。该法通过测定待检宫颈上皮细胞中的糖原含量来诊断Ct感染,具有快速简便、经济实用等优点。

1 材料和方法

1.1 病例来源及标本采集

1996年3月至1997年6月从本校附属第一医院妇产科门诊收集标本共320例。采集方法为暴露子宫颈,用棉拭拭去宫颈分泌物,将消毒刮片伸入宫颈管内1～2cm刮取上皮细胞,置于无菌生理盐水试管内,一式两份。

1.2 PCR

Ct质粒PCTT1引物由上海实生生物技术公司合成。引物1序列为5′－GTT TAA GTG TTC CCA TCA TAA

* 女,1964－08出生,讲师

维普资讯 http://www.cqvip.com

AAA CAT ATTC－3′;引物2序列为5′－ATC CTT GTA TCC TGT TGG GAA GCC ATC AAAG－3′,扩增片段为503bp[4]。将临床标本4000×g离心10分钟弃上清后加入50μg/ml蛋白酶K、0.45%NP～40、0.45%Tween－20、EDTA 1mmol/L,置56°C温育1小时后煮沸10分钟,此即经处理的样品DNA。25μl反应体积中含样品DNA 5μl、dnTP100μmol/L、$MgCl_2$2mmol/L、引物0.1μmol/L及10×Tris－HCl缓冲液,加30μl石蜡油覆盖液面。94°C预变性10分钟后加入Taq DNA聚合酶1.5U(Promega产品)。设94°C50秒、50°C50秒、72°C50秒为一个循环,共35个循环,最后72°C延伸10分钟,在DNA热循环仪(PTG51B)上完成。将PCR产物在2%琼脂糖凝胶中电泳,经溴化乙锭染色后,在紫外核酸检测仪上,对照PBR 322/BSTNI标准分子量确定扩增产物的大小,判定结果。

1.3 糖原测定

将临床标本用等量生理盐水4000×g离心5～10分钟洗涤二次,恢复体积至0.5ml,白细胞计数板上计数,使标本细胞数约为1×10^5个/ml。加等量30%KOH沸水浴20分钟,冷却。加1.5倍体积的无水乙醇,4000×g离心15分钟。弃上清,加蒸馏水0.5ml和0.2%蒽酮试剂1ml(0.2g蒽酮中加入95%$H_2SO_4$100ml,用时新鲜配制),沸水浴15～20分钟,冷却后在分光光度计上比色,测波长为620nm的OD值。

1.4 葡萄糖曲线

称定量葡萄糖作系列稀释,加蒽酮试剂测定不同浓度葡萄糖的OD值。

1.5 计算方法 糖原测定法敏感性、特异性的计算方法为:敏感性即PCR阳性本中,糖原测定法和PCR均为阳性的百分率;特异性即PCR阴性标本中,糖原测定法和PCR均为阴性的百分率。

2 结果

320名患者的宫颈上皮标本中,PCR阳性92例,阴性228例,PCR检出阳性率为28.8%。糖原测定OD值分布如图。PCR阳性组平均OD值为0.60,PCR阴性组平均OD值为0.09,PCR阳性组OD值明显高于PCR阴性组($P<0.0005$)。根据标本OD值分布,我们将OD值＞0.3判为糖原测定法阳性来计算结果。在PCR阳性的92份标本中,糖原法阳阳性78例,阴性14例;PCR阴性的228份杯本中,糖原法阴性220例,阳性8例。根据计算出糖原测定法的敏感性为84.8%(78/92);特异性为96.5%(220/228)。

葡萄糖稀释度为50μg/ml、25μg/ml、12.5μg/ml、6.25μg/ml、3.12μg/ml、1.6μg/ml的OD值分别为0.88、0.4、0.26、0.10、0.05。该法可测得1.6μg/ml葡萄糖含量,换算为糖原含量[4],其灵敏度可达1.44μg/ml。

3 讨论

Ct感染对人类健康的危害日渐受到重视,它不仅可引起男、女泌尿生殖道炎症,还经孕期感染垂直传播危及胎儿、新生儿健康。如流产、低体重儿、新生儿肺炎、结膜炎等[5]。泌尿生殖道Ct感染有两种情况:一种为持续性感染,Ct在细胞内潜伏,患者常无明显症状;另一种为症状性感染,Ct在细胞内增殖,引起明显炎症。目前诊断Ct感染主要靠实验室检查。方法有细胞培养、免疫荧光法、免疫酶法及PCR等。这些方法操作复杂费时,且受条件限制,在国内基层医疗单位应用有一定困难。

Ct在发育周期中的各阶段(原体、始体、中间体)均能合成糖原,但以原体最常见。用碘染色在光镜下检查糖原是鉴别Ct与衣原体其它种的重要特征[1]。Chiappino等研究证实Ct包涵体的糖原来源于Ct本身,而不是宿主细胞[1],尚未见有其它微生

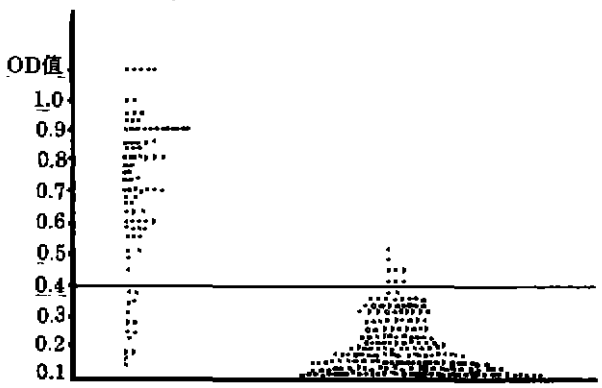


图 糖原测定与PCR的比较

维普资讯 http://www.cqvip.com

物在宿主细胞中合成糖原的报道。因此检测生殖道上皮细胞中糖原的含量，可协助Ct感染的诊断。迄今国内外未见有关报道。

由于糖原不溶于乙醇，故用无水乙醇沉淀糖原。浓H_2SO_4使糖原脱水生成糠醛衍生物，后者再和蒽酮作用形成蓝色化合物，显色后即可在分光光度计上测出糖原的OD值[4]。为评估糖原测定法的灵敏度，我们对定量葡萄糖测定显示，该法可测得1.44μg/ml糖原，有较高的灵敏度。PCR法中，我们选用的质粒引物本室曾经与Ct细胞培养比较，敏感性为90.6%，特异性为98.1%。该结果与Østergaard等[3]对该引物用同样方法评估，敏感性为100%，特异性为93%的结果相似。表明该质粒引物有很高的敏感性和特异性，可以作为糖原检测法的参考方法。

根据受检者的糖原含量的OD值分布，将临界OD值定为0.3，与PCR法比较，糖原测定法诊断Ct感染的敏感性为84.8%，特异性为96.5%。在PCR阳性的92份标本中，糖原法阳性78例，出现14例假阴性。其原因可能是由于PCR法非常敏感，能检出极少的原体，而糖原法需Ct在宿主细胞内增殖产生较多原体，合成一定量的糖原时才能被检出[1]。所以在Ct处于潜伏感染时，PCR法可能阳性而糖原测定法可能阴性。从另一角度而言，糖原测定法阳性更能代表Ct的症状性感染。在PCR阴性的228份标本中，糖原法阴性220例，出现假阳性的原因，可能由于个别患者宫颈分泌物含有其它糖类而影响结果。

糖原测定法是一种简便、快速的诊断Ct感染的方法。在同类方法中，碘染色法一般用于细胞培养的Ct检查而不用于临床标本检查，姬姆萨染色法敏感性很低，据报道对宫颈标本的敏感性为40%，对尿道标本仅为15%[6]。近年常用的免疫荧光法、PCR等，敏感性、特异性较高，成本也高，并受条件限制。本法有较高的敏感性和特异性，且成本低廉，若稍加标化，可省去光密度测定而采用目测比色协助诊断，适宜基层医疗单位采用。

参 考 文 献

1.Chiappino, ML, et al. J.Bacterio. 1995;177:5358
2.Weigent DA et al. Infect. Immun. 1978;20:632
3.Østergaard L, et al. J. Clin. Microbiol 1990;28:1254
4.张昌颖，等.生物化学实验指导.北京:人民生卫出版社 1987;89
5.朱道银，等.重庆医科大学学报 1993;18:229
6.Mark G, et al. Obstet Gynecol Clin Nor Am 1989;16:659

(收稿日期 1998－01－21)

Glycogen assay for diagnosis of female genital Chlamydia trachomatis infection

Yang Chun, et al
Department of microbiology, clinical of basic medical sciences

Glycogen assay was used to diagnose female genital Chlamydia trachomatis infection. Glycogen content of female genital epithelial cells was detected by anthrone and the resuits were compared with PCR .320 cervical samples were examined and the sensitivity and specificity of glycogen assay were 84.8% and 96.5% respectively. Glycogen assay is a quick, convenient and simple method to diagnose Chlamydia trachomatis infection and suitable to be applied to basic medical units.

KEY WORDS Glycogen; Polymerase chain reaction; Chlamydia trachomatis