

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000807

重庆地区梅毒螺旋体基因分型及其临床相关性研究

汤 镇¹, 周维康², 李 惠¹, 曾 丹², 唐 静², 杨 瑶²

(1. 重庆医科大学附属一院皮肤科, 重庆 400016; 2. 重庆市第三人民医院过敏反应科, 重庆 400010)

【摘要】目的:调查重庆地区梅毒螺旋体基因亚型的分布,初步探讨基因亚型与临床相关性。**方法:**收集 2010 年 6 月至 2013 年 10 月重庆地区 421 例梅毒标本,用巢式 PCR 检测梅毒螺旋体 DNA 多聚酶 I 基因(DNA polymerase I gene, polA),然后扩增阳性标本酸性重复蛋白基因(acid repeat protein, arp)和苍白密螺旋体重复家族基因(treponema pallidum repeat, tpr)及 TP0548 基因,分别根据 Pillay 标准基因分型和三基因分型法进行分型,利用双侧 Fisher's exact test 进行数据统计分析,初步探讨不同基因亚型与血清固定、梅毒复发和吉海反应的相关性。**结果:**163 例标本 polA PCR 检测阳性,arp、tpr 基因和 TP0548 基因亚型分别以 14 型、d 型和 f 型为主。正规驱梅治疗 12 月后,32 例患者血清固定,其中 tpr 基因 d 型(11 例)、a 和 b 型(各 2 例)和 f 型(1 例);3 例患者梅毒复发,其中 TP0548 基因 c 型(2 例)和 f 型(1 例);8 例发生吉海反应,其中 14f/f(4 例),14d/f(3 例)和未分型(1 例)。**结论:**重庆地区梅毒螺旋体以 14、d 和 f 型为优势型。梅毒血清固定可能与 tpr 基因 b 型相关,14f/f 基因型的二期梅毒患者易发生苯星青霉素治疗后的吉海反应。

【关键词】梅毒;基因型;血清固定;复发;吉海反应**【中图分类号】**R759.1**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2015-04-29Genotype of *Treponema pallidum* and its clinical correlation in ChongqingTang Zhen¹, Zhou Weikang², Li Hui¹, Zeng Dan², Tang Jing², Yang Yao²

(1. Department of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;

2. Department of Allergy, the Third People's Hospital of Chongqing)

【Abstract】Objective: To investigate the distribution of the subtype of *Treponema pallidum* (TP) in Chongqing, and to explore the clinical correlation of genotype. **Methods:** Four hundred twenty one specimens were collected from patients with seropositive syphilis from June 2010 to October 2013, and were screened by nested PCR targeted TP DNA polymerase I gene (polA). The acid repeat protein (arp), *treponema pallidum* repeat (tpr) and TP0548 genes were amplified with the positive specimens above. Then the strains were subtyped according to Pillay's criteria and subtyping method of targeted three genes. Analysis was made concerning the correlation of different genotypes with sero-resistance, syphilis recurrence and Jarisch-Herxheimer reaction by Fisher's exact test, respectively. **Results:** Totally 163 specimens were positive by PCR targeted polA gene. Of 116 TP positive specimens subtyped by arp, subtype 14 was the predominate genotype, while of 114 specimens subtyped by tpr gene, d was the most common genotype. Of 117 specimens subtyped by TP0548 gene, subtype f was predominate. At 12 months after standard treatment, 32 patients occurred sero-resistance including 11 subtype d, 2 subtype b, 2 subtype a and 1 subtype f. Three patients experienced syphilis recurrence including 2 TP0548 subtype c and 1 subtype f. Eight patients developed Jarisch-Herxheimer reaction, including 4 genotype 14f/f, 3 genotype 14d/f and 1 patient failing to subtype. There were statistical differences in the correlation of molecular subtypes with sero-resistance and Jarisch-Herxheimer reaction ($P=0.000$, $P=0.029$), while no statistical difference of the correlation of genotypes with syphilis recurrence was found ($P=0.333$). **Conclusion:** The predominate subtypes of TP in Chongqing is subtype 14, d and f. It is suggested that the sero-resistance be related with TP tpr subtype b and the second stage syphilis with 14f/f is more likely to develop a Jarisch-Herxheimer reaction following benzathine penicillin treatment.

作者介绍: 汤 镇, Email: tzlr2156@163.com,

研究方向: 性疾病的防治。

通信作者: 周维康, Email: zhoudz0506@163.com。

基金项目: 重庆市卫生局重点资助项目 (编号: 2010-1-49)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20151027.1007.002.html>

(2015-10-27)

【Key words】syphilis; genotype; sero-resistance; recurrence; Jarisch-Herxheimer reaction

近年来,我国梅毒发病率呈逐年上升趋势^[1],重庆地区梅毒总病例数和发病率从 1997 年也开始持续上升,2004 年至 2006 年梅毒发病率明显升高,居性传播疾病首位^[2]。Pillay 等利用 PCR 和限制性酶切片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism,RFLP)技术检测梅毒螺旋体酸性重复蛋白基因(acid repeat protein,arp)和苍白密螺旋体重复基因家族(treponema pallidum repeat,tpr)基因位点的异源性,成功创建了一种可用于梅毒螺旋体(treponema pallidum,TP)分子流行病学研究的双基因分型方法,并被美国疾病预防控制中心推荐作为梅毒螺旋体基因分型的标准方法^[3]。最近,Marra 等在双基因分型方法的基础上再加入 TP0548 基因序列的检测,对美国疾病与预防控制中心的双基因标准分型法进行了改良,进一步增强了基因分型的能力^[4],彭锐锐等利用临床标本验证了改良的三基因定位分型方法的敏感性、特异性和区分度,提示三基因分型法可能具有更高的临床应用价值^[5]。为了解重庆地区梅毒螺旋体基因型的分布特点及其临床相关性,本研究收集了 2010 年 6 月至 2013 年 10 月重庆地区的 TP 株 421 例,进行基因亚型分布特点的研究,并通过分析其中来自 3 所医疗机构的 169 例梅毒患者的治疗和随访情况,初步探讨不同基因亚型与血清固定、梅毒复发和吉海反应的相关性。

1 材料与方法

1.1 菌株及实验试剂和仪器

梅毒螺旋体 Nichols 标准株(购自南华大学),QIAamp blood DNA Mini kit (Qiagen),dNTPs、PCR 缓冲液、Taq 酶(Takara),DNA Maker(华美生物工程公司),Mse I 内切酶、Kpn2I 内切酶(购自上海生工工程技术有限公司),QIAquick PCR purification kit (Qiagen),PCR 扩增仪(PE-9700,美国基因有限公司),引物由上海生工工程技术有限公司合成。

1.2 基因分型研究和基因亚型与临床相关性研究临床标本和病例

1.2.1 基因分型临床标本 收集 2010 年 6 月至 2013 年 10 月重庆医科大学附属第一医院、重庆市第三人民医院、重庆市第一人民医院、重庆市疾控中心、重庆市中心血站和重庆市检疫局早期梅毒临床标本 421 例进行基因分型研究,其中来自非医疗机构(重庆市检疫局、重庆市中心血站和重庆市疾控中心)的梅毒标本 252 例,来自医疗机构(重庆医科大学

附属第一医院、重庆市第三人民医院和重庆市第一人民医院)的梅毒标本 169 例。入选病例均签署知情同意书并获得各单位伦理委员会批准。

1.2.2 基因亚型与临床相关性研究临床病例 收集基因分型研究中来自 3 所医疗机构(重庆医科大学附属第一医院、重庆市第三人民医院和重庆市第一人民医院)的 169 例早期梅毒患者临床病例资料。所有病例均未经治疗,且无心脏病、严重肝肾功能不全、血液系统疾病、自身免疫性疾病、慢性感染、恶性肿瘤、精神病、高血压病、糖尿病、HIV 感染等基础病史;无吸毒、酗酒史;无孕妇或哺乳期妇女。年龄范围 17~67 岁,其中男 85 例,年龄 17~67 岁,平均(35.45 ± 11.17)岁,女 84 例,年龄 17~65 岁,平均年龄(35.28 ± 11.09)岁。

1.3 标本采集和 DNA 提取

1.3.1 标本采集 硬下疳、扁平湿疣或湿润性皮疹、血液标本采集方法参考文献[6]。

1.3.2 DNA 提取 按 DNA Mini kit 试剂盒操作说明书进行 DNA 提取。

1.4 阳性标本筛选

根据参考文献[7]设计引物和进行巢式 PCR 扩增 polA 基因。

1.5 基因分型

1.5.1 半巢式 PCR 扩增 arp 基因 利用半巢式 PCR 扩增 polA 阳性标本 arp 基因。根据参考文献[8]设计引物和进行扩增 PCR 及凝胶电泳。

1.5.2 巢式 PCR 扩增 tpr 及 RFLP 分析 利用巢式 PCR 法扩增 polA 阳性标本 tpr 基因。引物设计和 PCR 扩增条件参考文献^[9],双基因分型:以 arp 基因重复数目表示该菌株的 arp 基因型;按 tpr 基因扩增产物的酶切图谱,根据文献标准^[3]进行分型。

1.5.3 分析双重基因分型阳性标本 TP0548 基因序列 根据文献^[4]设计引物和进行 PCR 扩增双基因分型阳性标本 TP0548 基因,将纯化后的阳性扩增产物交由重庆达晋盛勇生物有限公司测序。用 DNASTAR 5.0 软件将测序结果与标准序列进行比对,然后进行分型,三基因分型:结合双基因分型结果和 TP0548 基因型组成 1 个基因型,即[arp]/[tpr]/[TP0548]。

1.6 治疗与随访

1.6.1 治疗与随访 所有入选基因亚型与临床相关性研究的梅毒患者均按标准的梅毒治疗方案治疗,然后分别于治疗后 3 月、6 月、9 月和 12 月门诊随访患者血清滴度变化情况。

1.6.2 梅毒复发 正规驱梅治疗后血清 TRUST 升高或下降 ≥ 4 倍后再次升高 ≥ 4 倍,性伴侣经正规驱梅治疗,无不洁性交史,且治疗前基因型与血清滴度复升后基因型一致,定义为梅毒复发。

1.7 统计分析

利用 SPSS 18.0 进行统计分析,所有计量资料均用均值 $\pm$

标准差表示,计数资料用率表示,利用双侧 Fisher 确切概率法分析不同基因亚型与血清固定、梅毒复发和吉海反应的相关性,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 入选病例情况

421 例基因分型研究入选病例中,163 例 *polA* 基因扩增阳性,114 例分型成功;169 例基因亚型与临床相关性研究入选病例情况见表 1。

表 1 入选病例情况

Tab.1 Information of selected cases

病例数(例)	潜伏期	一期	二期	合计
基因分型入选病例	173	93	155	421
临床相关性分析入选病例	75	38	56	169
接受治疗病例	63	35	54	152
完成治疗	58	35	53	146
失访病例	14	7	8	29
完成随诊病例	44	28	45	117

2.2 随访情况

接受治疗的 146 例患者治疗后 3、6、9 和 12 月随访情况见表 2。

表 2 治疗后随访情况

Tab.2 Follow-up of patients after therapy

随访时间	TRUST 阳性(例)	TREUST 阴性(例)	失访病例
第 3 月	94	44	8
第 6 月	57	75	6
第 9 月	42	78	12
第 12 月	33	84	3

2.3 血清固定

早期梅毒患者正规治疗 6 月后血清滴度持续维持在 1:2~1:8 的较低水平,定义为血清固定。各期梅毒血清固定情况见表 3。

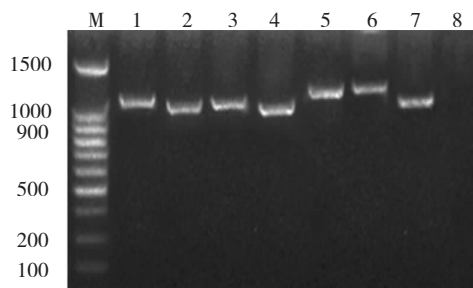
表 3 各期梅毒血清固定情况

Tab.3 The sero-resistance in each syphilis term

病例数(例)	潜伏期	一期	二期	合计
完成随诊病例	44	28	45	117
血清固定	19	3	10	32
未发生血清固定	25	25	35	85
血清固定百分比(%)	43.18	10.71	22.22	27.35

2.4 arp 基因分析

163 例 *polA* 基因阳性标本中,116 例 *arp* 基因扩增阳性,以 14 型为主(77 例,占 66.4%),其他基因型依次为 13 型(14 例,占 12.1%)、12 型和 15 型(各 11 例,占 9.5%)和 16 型(3 例,占 2.6%)。部分标本电泳结果见图 1。



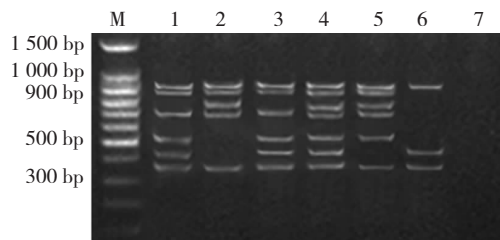
M 为 DNA Maker,1 为 Nichols 株(14 个重复序列),2 为 13 型(13 个重复序列),3、7 为 14 型(14 个重复序列),4 为 12 型(12 个重复序列),5 为 15 型(15 个重复序列),6 为 16 型(16 个重复序列),8 为阴性标本

图 1 arp 基因 PCR 扩增部分标本电泳图

Fig.1 Electrophoretogram of arp PCR products

2.5 tpr 基因分析

163 例 *polA* 基因阳性标本中,114 例 *tpr* 基因检测阳性,*Mse* I 酶切图谱以 d 型为主(78 例,占 68.4%),其他基因型依次为 f 型(14 例,占 12.3%)、a 型(11 例,占 9.6%)、b 型(6 例,占 5.3%)和 g 型(5 例,占 4.4%)。部分标本电泳图见图 2。



M 为 DNA Marker,1 为 Nichols 株,2 为 b 型,3 为 a 型,4 为 f 型,5 为 d 型,6 为 g 型,7 为阴性。

图 2 *Mse*I 酶切 *tpr* 基因 PCR 扩增产物 RFLP

Fig.2 RFLP of *tpr* PCR amplification enzyme-digested products by *Mse*I

2.6 双基因型分析

分析 114 例双基因阳性标本基因型,结果双基因型显示有 9 个:14d(50 例占 43.9%)、14f 和 13d(各 14 例占 12.3%)、15d(11 例占 9.6%)、12a 和 14b(各 6 例占 5.3%)、14a 和 12g(各 5 例占 4.4%)、16d(3 例占 2.6%)。见图 3。

2.7 TP0548 基因序列分析

分析 114 例 TP0548 基因序列,结果显示以 f 型为主(83 例,占 72.8%),其他基因型依次为 c 型(13 例,占 11.4%)、d 型(10 例,占 8.8%)、g 型(8 例,占 7.0%)。见图 4。

2.8 三基因分析

114 例双基因分型标本中均可用于三基因分型,结果显示三基因型有 14 个:14d/f(45 例占 39.5%)、14f/f(14 例,占 12.3%)、13d/d(10 例,占 8.8%)、15d/f(8 例,占 7.0%)、14b/c

(6 例,占 5.3%),14d/c、12a/f 和 12g/f(各 5 例,占 4.4%),13d/g(4 例,占 3.5%),14a/f、15d/g、和 16d/f(3 例,占 2.6%),14a/c(2 例,占 1.8%)和 12a/g(1 例,占 0.9%)。见图 5。

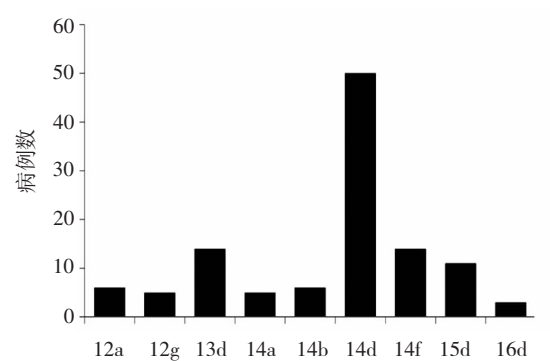


图 3 双基因分型及各基因分布特点

Fig.3 Distribution of each CDC genotype and its characteristics

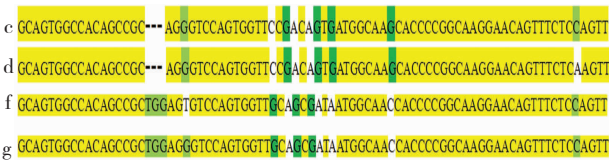


图 4 部分 TP 临床标本 TP0548 基因序列比对图

Fig.4 Gene sequence alignment of TP0548

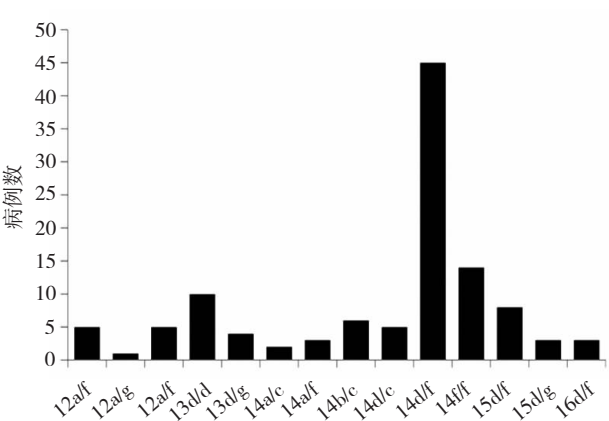


图 5 三基因分型及各基因分布特点

Fig.5 Distribution of each genotype targeted by three genes

2.9 梅毒螺旋体基因亚型与临床相关性

2.9.1 梅毒螺旋体基因亚型与血清固定相关性 治疗 12 个月,32 例血清滴度未转阴患者,其中 11 例为 tpr 基因 d 型,2 例为 b 型,2 例为 a 型,1 例为 f 型,16 例未成功分型。在发生梅毒血清固定的所有基因型中,b 型发生率最高(66.67%),利用双侧 Fisher's 确切概率法检验各基因型与血清固定发生率的差异具有统计学意义($P=0.000$)。见表 4。

2.9.2 梅毒复发与基因亚型相关性 正规治疗 12 月后,117 例有效病例中有 5 例治疗失败,其中 2 例因性伴侣未正规治

疗和随访期间有不洁性交史而再感染,另外 3 例否认不洁性交史且性伴侣均经正规驱梅治疗,治疗前和治疗后血清滴度上升 ≥ 4 倍且基因型一致,其中 2 例 TP0548 基因型为 c 型,1 例为 d 型,经双侧 Fisher's 确切概率法检验不同基因型与梅毒复发发生率的差异无统计学意义($P=0.333$)。见表 5。

表 4 tpr 各基因型与血清固定的相关性

Tab.4 Correlation of tpr genotype and sero-resistance			
tpr 基因型	血清固定阳性	血清固定阴性	血清固定百分比 (%)
a	2	4	33.33
b	2	1	66.67
d	11	19	36.67
f	1	5	16.67

表 5 梅毒复发患者治疗情况和基因型分布

Tab.5 Characteristic of treatment and genotype in patient with syphilis recurrence		
TP0548 基因亚型	复发病例数 (例)	未复发病例数 (例)
c	2	4
f	1	32

2.9.3 吉海反应与基因亚型相关性 8 例二期梅毒患者发生吉海反应,其中 4 例为 14f/f,3 例为 14d/f,1 例未成功分型,其中 14f/f 型发生率最高,经双侧 Fisher 确切概率法各基因型与吉海反应发生率的差异有统计学意义($P=0.029$)。吉海反应与基因亚型相关性分析,见表 6。

表 6 吉海反应与梅毒基因亚型相关性分析

Tab.6 Correlation of Jarisch-Herxheimer reaction and TP genotype			
基因型	发生吉海反应(例)	未发生吉海反应(例)	发生率 (%)
14f/f	4	2	66.67
14d/f	3	8	27.27

3 讨论

Pillay 等^[3]根据 arp 和 tpr 基因的同源性差异创建了一种双基因分型方法,该方法具有简单稳定和重复性好等优点,因此已被广泛应用于梅毒螺旋体的分子流行病学研究^[10-11]。多项研究结果表明,梅毒螺旋体基因亚型流行情况存在时间和空间差异,但目前大多数研究证据显示 14d 型为许多国家和地区梅毒螺旋体的优势基因型^[3-4,6,8,12-13],本研究结果也显示重庆地区梅毒螺旋体存在多基因亚型,其中 14d 为重庆地区主要的流行型,与国内外报道一致^[3,5-7],但其他基因亚型的分布与国内外其他研究

略有差异,可能与地区差异导致梅毒螺旋体进化差异不同有关。

随着梅毒分子流行病学研究的深入,发现双基因分型法具有不能区分临床常见的菌株基因型的缺陷,Marra 等^[4]在双基因分型法的基础上建立的三基因分型法可将 14 个双基因亚型进一步分为 25 个三基因亚型,具有更强的区分度。本研究显示三基因分型法可将临床常见菌株 14d 亚型进一步分为 14d/f 和 14d/c,证实了三基因分型法在梅毒螺旋体基因分型方面的优势,并明确了重庆地区以 14d 为优势型的菌株主要是 14d/f。

Marra 等^[4]研究发现 14d/f 可能与神经梅毒的易感性有关,Wu 等^[14]研究报道 14f/f 亚型在一期梅毒更常见,可能与 14f/f 亚型倾向于产生更明显或持续时间更长的硬下疳有关,但本研究发现 9 例 14f/f 型中以二期多见,潜伏期次之,一期最少,出现该差异的原因可能与地区差异导致的梅毒螺旋体优势基因型不同有关。本研究结果也证实 14f/f 型的二期梅毒患者在苄星青霉素治疗之后更易发生吉海反应,与 Wu 等^[14]研究结果一致,但发生率稍低,可能是因为两组研究中患者对苄星青霉素的治疗反应存在差异。还有研究发现梅毒菌株的大环内酯类耐药性与 TP0548 基因 g 型相关^[15],tpr 基因 i 型可能广州地区梅毒患者血清固定相关^[16],提示区分度更高的三基因分型方法对于研究梅毒螺旋体基因型与临床表现与治疗之间的关系具有更重要的意义。本课题组通过研究发现,32 例血清固定患者中 11 例为 tpr 基因 d 型,基因 b 型和 a 型各有 2 例,还有 1 例为基因 f 型,通过双侧 Fisher's exact test 检验各基因型与血清固定发生率的差异具有统计学意义,提示梅毒血清固定可能与 tpr 基因 b 相关,与广州地区梅毒血清固定基因亚型存在差别,但与国内其他报道基本一致^[17],导致此种差异的原因可能与入选病例标准不同有关,也可能与梅毒螺旋体的地区差异相关,尚需进一步研究证实。3 例梅毒患者出现治疗后血清滴度复升且无不洁性交史,其中 2 例为 TP0548 基因 c 型,1 例为 f 型,经双侧 Fisher's 确切概率法检验各基因型与梅毒复发发生率的差异均无统计学意义,可能与样本量较小和入选病例时存在一定偏倚有关。本研究中梅毒血清固定和梅毒复发患者临床样本量均较小,有待扩大临床样本量进

一步研究,有利于从分子水平阐明梅毒血清固定和复发的发生机制,并明确各种基因亚型的致病性是否存在地区差异,从而为地方性梅毒的防控提供更准确有效的理论依据。

此外,本课题组通过研究分析基因型与临床表现的相关性,发现潜伏期梅毒血清固定发生率最高,二期梅毒次之,一期梅毒最低,与国内报道一致^[18-19],本课题组认为造成各期梅毒血清固定发生率差异的原因可能与临床病例数有关,目前临床潜伏期患者最多,二期其次,一期最少,也可能与患者自身免疫状态有关,尚需进一步的研究予以证实。本研究结果与其他研究中各期梅毒血清固定发生率稍有差异,可能是入选病例和随访时间存在差异所致。本研究中未发现同一患者中同时存在多种基因亚型,可能与梅毒螺旋体各基因亚型之间存在相互抑制作用有关,文献中也仍未见类似研究报道,尚需进一步研究探讨。

虽然湿润性皮损、外周血细胞、血清、血浆、全血、耳垂血和脑脊液以及淋巴结等临床标本均可用于基因分型^[4,8,20-23],但湿润性皮损的敏感性最高,其他临床标本的敏感性均较低^[12,24-25],由于目前临床上具有湿润性皮损的临床病例已逐渐减少,从而限制了梅毒螺旋体基因分型的临床应用。PCR 扩增检测血液标本中梅毒螺旋体基因,可以确定血液中是否还存在活的梅毒螺旋体,对于判断梅毒的预后具有重要意义。通过设计特异性更强的梅毒螺旋体基因引物和探索敏感性更高的 PCR 方法,提高血液标本基因扩增的阳性率,将有助于梅毒的分子流行病学研究。

参 考 文 献

- [1] Chen ZQ,Zhang GC,Gong XD,et al.Syphilis in China:results of a national surveillance programme[J].Lancet,2007,369(9556):132-139.
- [2] 欧阳琳,丁贤彬.重庆市 1997 年-2006 年性病流行趋势分析[J].中国艾滋病性病.2008,14(1):66-67.
- [3] Pillay A,Liu H,Chen CY,et al.Molecular subtyping of *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*-m[J].Sex Transm Dis,1998,25(8):408-414.
- [4] Marra CM,Sahi SK,Tantalo L,et al.Enhanced molecular typing of *treponema pallidum*:geog-raphical distribution of strain types and association with neurosyphilis[J].J Infect Dis,2010,202(9):1380-1388.

- [5] 彭锐锐,尹乐平,魏万惠,等.三基因分型法检测梅毒螺旋体基因型别[J].中华皮肤科杂志,2011,44(11):779-781.
- [6] Workowski KA,Berman SM.Centers for disease control and prevention sexually transmitted disease treatment guidelines[J].Clin Infect Dis, 2011,53(3):S59-S63.
- [7] Bruisten SM.Protocols for detection and typing of treponema pallidum using PCR method-s[J].Methods Mol Biol,2012,903(10):141-167.
- [8] 郑和平,欧志英,胡玉山,等.梅毒螺旋体的巢式 PCR 检测与基因分型[J].中华皮肤科杂志,2005,38(9):546-548.
- [9] Sutton MY,Liu H,Steiner B,et al.Molecular subtyping of Treponema pallidum in Arizona County with increasing syphilis morbidity;use as specimens from ulcers and blood[J].J Infect Dis,2001,183(11):1601-1606.
- [10] Pillay A,Liu H,Ebrahim S,et al.Molecular typing of Treponema pallidum in South Africa cross sectional studies[J].J Clin Microbiol, 2002,40(1):256-258.
- [11] 曾铁兵,吴移谋,黄澍杰,等.衡阳和江门地区 TP 基因分型的初步研究[J].中华皮肤科杂志,2004,37(12):692-694.
- [12] Cole MJ,Chisholm SA,Palmer HM,et al.Molecular epidemiology of syphilis in Scotland[J].Sex Transm Infect,2009,85(6):447-451.
- [13] Muller EE,Paz-Bailey G,Lewis DA.Macrolide resistance testing and molecular subtyping of Treponema pallidum strains from southern Africa[J].Sex Transm Infect,2012,88(6):470-474.
- [14] Wu H,Chang SY, Lee NY,et al.Evaluation of macrolide resistance and enhanced molecular typing of treponema pallidum in patients with syphilis in Taiwan;a prospective multicenter study[J].J Clin Microbiol, 2012,50(7):2299-2304.
- [15] Tipple C,McClure MO,Taylor GP.High prevalence of macrolide resistant Treponema pallidum strains in a London centre[J].Sex Transm Infect,2011,87(6):486-488.
- [16] 杨文林,林文生,杨健,等.梅毒血清固定与梅毒螺旋体 tpr 基因亚型关系的初步研究[J].中国现代医学杂志,2011,21(16):1822-1825.
- [17] 王林娜,樊硕,郑和义,等.外周血检测梅毒螺旋体 DNA 及其分子亚型的初步观察[J].中华医学杂志,2014,94(12):928-931.
- [18] 杨文林,杨健,黄新宇.近 10 年梅毒血清固定患者临床分析[J].临床皮肤科杂志,2005,34(11):719-721.
- [19] 应作霖,王丰.梅毒患者血清固定临床分析[J].皮肤病与性病,2014,32(2):106-110.
- [20] Grange PA,Gressier L,Dion PL,et al.Evaluation of a PCR Test for detection of swabs and blood[J].J. Clin.Microbiol,2012,50(3):546-552.
- [21] Florindo C,Reigado V,Gomes JP,et al.Molecular typing of treponema pallidum clinical strains from Lisbon,Portugal[J].J.Clin.Microbiol,2008,46(11):3802-3803.
- [22] Molepo J,Pillay A,Weher B,et al.Molecular typing of Treponema pallidum strains from patients with neurosyphilis in Pretoria,South Africa[J].Sex Transm Infect,2007,83(4):189-192.
- [23] Castro R,Prieto E,Aguas MJ,et al.Molecular subtyping of treponema pallidum subsp. pallidum in Lisbon,Portugal[J].J.Clin.Microbiol,2009,47(8):2510-2512.
- [24] Castro R,Prieto E,Aguas MJ,et al.Detection of Treponema pallidum sp.pallidum DNA in latent syphilis[J].Int J STD AIDS,2007,18(12):842-845.
- [25] Wang LN,Li J,Huang W,et al.Detection of the Treponema pallidum gene and Variation of treponema DNA load before and after therapy[J].Int J STD AIDS,2012,23(3):e6-e8.

(责任编辑:冉明会)

《重庆医科大学学报》邮发代号:78-132