	2021
推荐奖种	医学科学技术奖
项目名称	临床常见病原微生物快速检测方法的建立及致病耐药机制研究
推荐单位	<p>推荐单位：广东省医学会</p> <p>推荐意见：</p> <p>本项目致力于临床常见微生物快速检测方法的建立及耐药机制研究，建立了 LAMP 检测肺炎链球菌、淋病奈瑟菌、无乳链球菌、类鼻疽霍尔德菌、寨卡病毒等病原体的方法。将微滴式数字 PCR 技术用于对无乳链球菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌的检测。筛选出肺炎链球菌、幽门螺旋杆菌、沙眼衣原体以及 SARS-CoV-2 候选标志物，采用循证医学的方法评价了 LAMP、MALDI-TOF-MS、LFA、Xpert CT/NG、Xpert MTB/RIF 等技术对常见病原体的诊断效能。对鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌进行耐药监测，首次发现携带 mcr-4.3 的鲍曼不动杆菌。对腺病毒调研发现 E3 区突变的 6 型腺病毒株，分析出 C 亚属腺病毒分子主要通过高度突变区 hexon 和 fiber 基因重组进化。总结了 SARS-COV-2 病毒在结构及检测中的进展及生物传感器对 COVID-19 患者的即时检测的情况。证明液氮研磨破壁法是 MALDI-TOF-MS 鉴定丝状真菌良好的样本预处理方法，以及 BD Kiestra Inoqua 全自动标本处理系统能高效处理尿液及无菌体液标本。成功克隆并获得大量具有免疫原性和抗原性的日本血吸虫 SjCyPB 重组蛋白。在对肺炎链球菌致病机制研究中发现，粘附和毒力因子 A 可激活 AMPK/mTOR 信号通路参与肺泡上皮细胞自噬，在肺炎链球菌感染过程中发挥重要作用。</p> <p>基于上述研究共发表相关论文 48 篇，其中被 SCI 杂志收录的论文 34 篇，申请国际 PCT 专利 1 项；申请发明专利 13 项，授权 3 项；申请实用新型专利 2 项，授权 1 项，获广东医学科技奖三等奖，广东省挑战杯二等奖一项，国家自然科学基金一项，国家级大创立项 3 项，省级大创立项一项，参编国际指南 1 项，参编参译学术专著 3 部。</p> <p>我单位已认真审核项目填报各项内容，确保材料真实有效，经项目完成人所在单位公示无异议，推荐其申报 2021 年中华医学科技奖。</p>
项目简介	<p>随着抗生素的使用，细菌的耐药情况日趋严峻。细菌培养耗时、敏感度低。因此开发快速准确、低成本的病原体检测方法对临床的诊疗有重要作用。</p> <p>本项目已成功将 LAMP 及 ddPCR 技术应用到临床常见病原体的检测中，灵敏度和特异度较高。LAMP 对淋球菌的检测限为 1pg/ul、无乳链球菌为 300 pg/ul，而对肺炎链球菌检测限为 300pg/ul、嗜麦芽窄食单胞菌为 4.07×10^{-5}pg/ul、类鼻疽伯克氏菌为 0.65 pg/ul。LAMP 对寨卡病毒检测限为 3.3×10^3pg/ul，对真菌属为 1pg/ul。本项目建立了 ddPCR 对无乳链球菌绝对定量的方法，灵敏度达 5pg/ul，特异度 100%。团队通过加入尿嘧啶 DNA 糖基酶优化 LAMP 技术，并能检测尿液中 10^4CFU/ml 细菌数，灵敏性和特异性为 94.1%、95.0%。</p> <p>细菌耐药方面，首次分离出一株携带 mcr-4.3 基因的鲍曼不动杆菌，含有 mcr-4.3 的质粒可能通过水平转移而被鲍曼不动杆菌捕获。替加环素与舒巴坦联合使用对鲍曼不动杆菌的抑制效果具有协同和叠加作用。机械通气、留置导管及使用碳青霉</p>

	<p>烯类药物可能是影响铜绿假单胞菌住院患者预后的因素。产超广谱 β 内酰胺酶大肠埃希菌阳性菌株对多种抗菌药物的耐药趋势较稳定，耐药监测为临床合理用药及机制研究提供依据。</p> <p>在对肺炎链球菌致病机制研究中发现，粘附和毒力因子 A 可激活 AMPK/mTOR 信号通路参与肺泡上皮细胞自噬，在肺炎链球菌感染过程中发挥重要作用。</p> <p>筛选出了肺炎链球菌、幽门螺旋杆菌、沙眼衣原体以及 SARS-CoV-2 候选标志物，运用循证医学方法评估了 MALDI-TOF-MS 检测念珠菌；LFA 检测隐球菌及流感病毒；Xpert CT/NG 检测沙眼衣原体及淋病奈瑟菌；Xpert 检测结核分枝杆菌及多重耐药菌；Xpert MTB/RIF 检测淋巴结核病、结核性脑膜炎及胃液结核分枝杆菌；LAMP 检测脑膜炎奈瑟菌、乙型肝炎病毒、肺炎链球菌；T2 念珠菌对念珠菌感染；GM 检测曲霉菌；细胞角蛋白 19 片段对膀胱癌诊断；MPT64 检测结核分枝杆菌的诊断效能，对临床的诊疗有重要作用。</p>
--	--

知识产权证明目录

序号	类别	国别	授权号	授权时间	知识产权具体名称	发明人
1	中国发明专利	中国	ZL201710392521.X	2020-04-14	检测类鼻疽伯克霍尔德菌的引物、试剂盒	郭旭光，文金洲，夏勇
2	中国发明专利	中国	ZL201410406124.X	2016-05-04	一种检测肺炎链球菌的 LAMP 引物组、试剂盒和方法	郭旭光，夏勇，江镜全，陈琼，刘美玲，唐晓华
3	中国发明专利	中国	ZL201410404761.3	2016-05-04	一种淋球菌检测用引物组、含有该引物组的试剂盒及其应用	郭旭光，夏勇，江镜全，陈琼，刘美玲，唐晓华
4	中国实用新型专利	中国	ZL201520771483.5	2016-03-09	检测无乳链球菌试剂盒	郭旭光，夏勇，庄雅茹

代表性论文目录

序号	论文名称	刊名	年,卷(期)及页码	影响因子	通讯作者(含共同)	SCI 他引次数	他引总次数	通讯作者单位是否含国外单位
1	Rapid and reliable diagnostic method to detect Zika virus by real-time	AMB Express	2018, 8(1):60	2.499	王前	6	5	否

	fluorescence reverse transcription loop-mediated isothermal amplification							
2	Loop-mediated isothermal amplification of <i>Neisseria gonorrhoeae</i> porA pseudogene: a rapid and reliable method to detect gonorrhea.	AMB Express	2017, 7(1):48	2.499	郭旭光	2	2	否
3	Development and validation of a rapid and simple fluorescence real-time loop-mediated isothermal amplification assay for detection of <i>Burkholderia pseudomallei</i> .	International journal of clinical and experimental medicine	2018, 11(11) : 11981 - 11988	0.166	夏勇	0	0	否
4	Gram Stain and Molecular Method for the Diagnosis of Bacterial Pneumonia	Chinese medical journal	2016, 129(15): 1884	1.585	郭旭光	2	2	否
5	The rs5743708 gene polymorphism in the TLR2 gene contributes to the risk of tuberculosis disease.	International journal of clinical and experimental pathology	2015, 8(9): 11921 - 11928	0.252	郭旭光	10	10	否
6	Rapid detection of <i>Streptococcus pneumoniae</i> by real-time fluorescence loop-mediated isothermal amplification.	Journal of Thoracic Disease	2014, 6(9): 1193-1199	2.046	夏勇	13	13	否

7	Autophagy protects type II alveolar epithelial cells from Mycobacterium tuberculosis infection.	Biochemical and biophysical research communications	2013, 432(2) : 308-313	2.985	夏勇	15	15	否
8	艰难梭菌实验室诊断研究进展	国际检验医学杂志	2018, 39(16) :2043-2045.	0	夏勇	6	6	否
9	实时荧光环介导恒温扩增检测无乳链球菌方法的建立与评价	中华医院感染学杂志	2016. 4.01, 26 (10) : 2196-2198	0	夏勇	0	0	否
10	实时荧光环介导恒温扩增技术检测嗜麦芽窄食单胞菌方法的建立	广东医学	2016. 12.25, 37 (24) : 3663~3666	0	夏勇	0	0	否
11	产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌的临床特点及耐药监测	国际检验医学杂志	2016, 37(11) :1459-1461.	0	夏勇	1	1	否
12	MALDI-TOF-MS 检测分枝杆菌属正确率的荟萃分析	临床检验杂志	2016, 34(03) :233-236	0	夏勇	2	2	否
13	非发酵菌在不同类别痰标本的分布及其药敏分析	检验医学与临床	2015, 12(15) :2261-2263	0	郭旭光	2	2	否
14	淋病奈瑟菌 porA 基因实时荧光环介导等温扩增方法的建立	热带医学杂志	2015, 15(05) :617-620.	0	黄俊	0	0	否
15	不同指标对细菌性血流感染的诊断效能比	检验医学与临床	2014, 11(17)	0	夏勇	11	11	否

	较		:2375-2377					
16	RAPID DETECTION OF HAEMOPHILUS INFLUENZAE BY REAL-TIME FLUORESCENCE LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION	Respirology	2014, 19(SI3):211	4.880	郭旭光	0	0	否
17	RECIPROCAL REGULATION OF AUTOPHAGY BY MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN ALVEOLAR EPITHELIAL CELLS	Respirology	2013, 18(SI4):79	4.880	郭旭光	0	0	否
18	AUTOPHAGY IS A DEFENSE MECHANISM IN THE INFECTION OF LUNG EPITHELIAL CELLS FOR STREPTOCOCCUS PNEUMONIA	Autophagy	2013, 18(SI4):165	9.770	郭旭光	1	1	否

主要完成人和主要完成单位情况

主要完成人情况	<p>姓名：郭旭光</p> <p>排名：1</p> <p>职称：副主任技师,其他</p> <p>行政职务：微生物组长</p> <p>工作单位：广州医科大学</p> <p>对本项目的贡献：致力于临床常见微生物快速检测方法的研究，将新型的环介导等温扩增（LAMP）技术成功应用于病原菌的检测中。利用 LAMP 技术建立了肺炎链球菌、嗜麦芽窄食单胞菌、淋球菌、类鼻疽霍尔德菌、无乳链球菌及寨卡病毒的检测方法，为其在诊断病原菌感染的应用中提供实验依据。此外，还建立了解脲支原体、人型支原体、光滑念珠菌、热带念珠菌、嗜肺军团菌、艰难梭菌的快速检测方法。基于上述研究，共发表文章 40 余篇，申请发明专利 13 项，授权 3 项；申请实用新型专利 2 项，授权 1 项，申请国际 PCT 专利 1 项；获得广东医学科技奖三等奖；获广东省挑战杯竞赛二等奖一项，参编国际指南 1 项，参编参译学术专著 3 部。</p> <p>姓名：夏勇</p>
---------	--

排名：2

职称：主任技师,其他

行政职务：科室主任

工作单位：广州医科大学

对本项目的贡献：参与建立 LAMP 技术对无乳链球菌、类鼻疽霍尔德菌、嗜麦芽窄食单胞菌、毛癣菌属等的检测方法。比较 MALDI-TOF-MS 法鉴定不同丝状真菌样本的效果；将 BD Kiestra InoqulA 全自动标本处理系统应用于临床微生物检验中去。完成对含 mcr-4.3 基因鲍曼不动杆菌的研究；对 LAMP 技术进行优化。本项目中专利 1-9 完成人之一，代表性论文 3、5、12 通讯作者。

姓名：冀天星

排名：3

职称：副主任技师,其他

行政职务：无

工作单位：广州医科大学

对本项目的贡献：对本项目的主要学术(技术)贡献：发表 SCI 论文两篇，主要研究工作：调研了 2017 年间山西大同市儿童腺病毒分子流行的情况，发现了 E3 区突变的 6 型腺病毒株。同时，调研了 2017 年间华南地区（广东，广西，湖南）腺病毒分子流行情况，分离到了一株新型重重重组腺病毒。分子进化分析表明 C 亚属腺病毒分子进化主要通过高度突变区 hexon 和 fiber 基因的重组。

姓名：马芙蓉

排名：4

职称：技师,其他

行政职务：无

工作单位：广州医科大学

对本项目的贡献：首次在中国猪源样本中分离出一株携带 mcr-4.3 的鲍曼不动杆菌，并发现 mcr-4.3 基因位于一种新型质粒上，并对此菌株进一步研究发现，mcr4.3 可能通过水平转移被鲍曼不动杆菌捕获，说明对鲍曼不动杆菌进行 mcr 基因的监控的必要性。以第一作者发表 SCI 论文 1 篇，代表性论文 3 第一作者。

姓名：曾颖敏

排名：5

职称：技师,其他

行政职务：无

工作单位：广州医科大学

对本项目的贡献：对 LAMP 技术存在的缺点进行优化，建立了尿嘧啶-DNA-糖基酶辅助的 LAMP 技术，并应用于尿液样品的细菌检测，灵敏性和特异性分别为 94.1%和 95.0%，并降低了 LAMP 检测的假阳性率。以第一作者发表 SCI 论文 1 篇，代表性论文 5 第一作者。

姓名：邓穗燕

排名：6

职称：主管技师,其他

	<p>行政职务：无 工作单位：广州医科大学 对本项目的贡献：参与建立了 LAMP 技术检测类鼻疽霍尔德菌、毛癣菌属等；将 BD Kiestra InoqulA 全自动标本处理系统应用于临床微生物检验中去。发明专利 8 第五 参与人。</p> <p>姓名：林丽英 排名：7 职称：副主任技师,其他 行政职务：无 工作单位：广州医科大学 对本项目的贡献：参与洋葱伯克霍尔德菌巢式荧光定量 PCR 法建立，分析了某院 2014-2015 年产超广谱 β 内酰胺酶 (ESBLs) 大肠埃希菌阳性菌株及铜绿假单胞菌的耐药情况，为临床合理用药及耐药机制研究提供依据。发明专利 6 第五参与人。</p> <p>姓名：陈琼 排名：8 职称：讲师,其他 行政职务：无 工作单位：广州医科大学 对本项目的贡献：参与对产超广谱 β - 内酰胺酶大肠埃希菌的耐药监测。发明专利 2、3 第四参与人，发明专利 10 第六参与人。</p> <p>姓名：唐晓华 排名：9 职称：副主任技师,其他 行政职务：无 工作单位：广州医科大学 对本项目的贡献：参与对丝状真菌 M ALDI-TOF MS 鉴定中三种样品前处理方法比较的项目，发明专利 2、3 第六参与人。</p> <p>姓名：陈金桃 排名：10 职称：主管技师,其他 行政职务：无 工作单位：广州医科大学 对本项目的贡献：发表论文《重组日本血吸虫亲环素 B 的克隆、表达及免疫分析》，参与对产超广谱 β - 内酰胺酶大肠埃希菌的耐药监测。</p>
<p>主要完成单位情况</p>	<p>单位名称：广州医科大学附属第三医院 排名：1 对本项目的贡献：第一完成单位。</p> <p>单位名称：广州医科大学附属第二医院 排名：2 对本项目的贡献：第二完成单位。</p>