

·综述·

生殖道沙眼衣原体的即时检测技术

徐文绮¹ 郑和平² 陈祥生¹ 尹跃平¹¹ 中国医学科学院、北京协和医学院皮肤病医院性病参比实验室, 南京 210042; ² 南方医科大学全球健康研究院, 广州 510091

通信作者: 尹跃平, Email: yinyp@ncstdlc.org

【摘要】 生殖道沙眼衣原体感染作为全球最广泛的性传播疾病之一, 对公共卫生体系构成严峻挑战。增加即时检测的机会有助于发现感染, 及时对病患和接触者进行适当管理, 并减少生殖健康后遗症的传播和发展。本文介绍了即时检测技术的研发标准与建议, 及近年来即时检测技术在生殖道沙眼衣原体检测方面的主要进展, 并对发展方向进行了展望。

【关键词】 沙眼衣原体; 生殖道; 即时检测

DOI:10.3760/cma.j.cn331340-20240612-00124

Point-of-care testing technologies for genital *Chlamydia trachomatis* infectionXu Wenqi¹, Zheng Heping², Chen Xiangsheng¹, Yin Yueping¹¹STD Reference Laboratory, Hospital for Skin Diseases, Institute of Dermatology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Nanjing 210042, China; ²Southern Medical University Institute for Global Health, Guangzhou 510091, China

Corresponding author: Yin Yueping, Email: yinyp@ncstdlc.org

【Abstract】 Genital *Chlamydia trachomatis* infection, one of the most prevalent sexually transmitted diseases globally, poses a significant challenge to public health systems. The enhanced opportunity for point-of-care testing (POCT) helps in the detection of infections, facilitates appropriate management of both patients and their contacts, and reduces the spread and progression of reproductive health sequelae. This article introduces the development standards and recommendations for POCT technologies, as well as the principal advancements in POCT applications for *Chlamydia trachomatis* detection in recent years, and provides an outlook on future directions.

【Key words】 *Chlamydia trachomatis*; Genital; Point-of-care testing

DOI:10.3760/cma.j.cn331340-20240612-00124

WHO 的数据显示, 沙眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*, Ct) 所致性传播感染的年发病率一直稳步上升, 2020 年全球 15~49 岁人群新发 Ct 感染约 1.29 亿人, 已成为世界范围内的主要公共卫生问题之一^[1]。由于大多数 Ct 感染并无明显症状, 持续存在的隐性感染不易及时发现和确诊, 导致错过了最佳干预期从而延误病情, 甚至引起多种并发症, 如女性感染者可引起盆腔炎、异位妊娠和不孕等, 男性感染者可引起附睾炎、直肠炎等^[1]。为了降低 Ct 带来的巨大社会经济及医疗负担, 及时有效地控制其传播是非常必要的。Ct 感染的发现主要是依赖于实验室检测^[2]。虽然, 核酸扩增检测 (nucleic acid amplification test, NAAT) 技术能够明显改进 Ct 感染的诊断,

但检测的成本相对较高, 而且需要实验室基础设施和实验室技术人员, 从而限制了这些方法在许多国家, 尤其是在中低收入国家的可及性。此外, 许多 NAAT 检测的结果报告周期较长, 可能会导致治疗的延迟并进一步造成感染的传播^[3]。即时检测 (point-of-care test, POCT) 可以扩大 Ct 检测的覆盖面和方便性, 并有助于缩短检测与治疗的时间间隔, 不仅能够有效地提高临床服务能力, 而且可以通过控制 Ct 感染并阻断感染的进一步流行而带来公共卫生收益^[4]。

WHO 在《HIV、病毒性肝炎和性传播感染 2022—2030 年全球卫生部门战略》中, 将新的性病诊断技术和检测策略作为“促进创新以产生影响”的行动之一, 迫切需要可负担检测

平台,以及适合在没有实验室或实验室条件有限情况下在初级卫生保健环境中推广使用的方法,包括 POCT^[5]。

一、即时检测技术的研发标准与建议

WHO 将 POCT 定义为可在就诊点或附近使用的检测技术^[6],并且于 2006 年提出了指导 POCT 研发的 ASSURED 标准^[7],该标准涵盖了可负担性(affordable)、敏感性(sensitive)、特异性(specific)、用户友好性(user-friendly)、快捷性(rapid & robust)、无需设备(equipment-free)和方便运输(deliverable to end-users)等 7 个方面的要求。ASSURED 标准主要是针对基于血清学检测技术的 POCT,而更多的性病往往通过对病原体的检测,特别是病原体的 NAAT。为此,2019 年有学者在 ASSURED 标准的基础上提出了 REASSURED 标准,增加了两个标准内容,即实时数据的连接和样本采集方便,同时将 ASSURED 中的无需设备调整为无需设备或只需电池或太阳能供电的简单装备^[8]。

为了进一步指导具体性病检测技术的研发和评估,WHO 组织专家制定了性病 POCT 的目标产品概况(target product profiles,TPP)并于 2023 年正式出版^[9],提出 Ct 单检测或联合其他病原体检测的 POCT 产品特征建议。最基本的特征要求包括:与实验室 NAAT 方法比较的敏感性>90%,特异性>95%;可用于医务人员采集的阴道或尿液样本;样本采集步骤不能超过 1 步,检测操作不能超过 3 步;60 min 内出结果且出结果后 30 min 内结果保持稳定,肉眼可以判读结果;在一定温度和湿度的保存和运输环境下具有 12 个月的稳定性;费用不超过 5 美元。符合这些要求的 POCT 可以用于性活跃人群,包括高危人群及性病门诊就诊者的疾病监测和临床服务,以及高危人群的筛查与定期检测等。

二、基于抗原检测的方法应用

既往已经开展过多项以 NAAT 作为参考标准评估 Ct 抗原 POCT 检测性能的研究。一份基于 19 项在美洲、亚洲、非洲、欧洲和大洋洲研究结果的系统性文献复习^[10]可见,基于抗原的 POCT 在检测泌尿生殖道 Ct 感染的平均敏感性为 48%(95%CI: 39%~58%),平均特异性为 98%(95%CI: 97%~99%),但不同样本类型和场所种类评估获得的敏感性或特异性之间没有显著差异,作者认为,基于抗原的 POCT 可能会导致 52% 的 Ct 感染漏诊。鉴于 Ct 感染可造成严重的生殖健康危害,该研究不建议在 Ct 感染的 POCT 检测策略中纳入抗原检测方法^[10]。

三、基于核酸检测方法的研发和应用

近年来,基于 NAAT 的 POCT 研发进展很快。WHO 于 2023 年系统梳理了目前基于 NAAT 的 POCT 产品及其注册及商品化提供情况^[11]。Zhou 等^[12]对 24 项基于 NAAT 的 Ct 检

测 POCT 评估结果的荟萃分析表明,这些方法在宫颈拭子检测时的平均敏感性为 94%(95%CI: 90%~96%),阴道拭子为 94%(95%CI: 86%~98%),尿液样本为 95%(95%CI: 91%~97%),肛门直肠拭子为 93%(95%CI: 87%~96%)。虽然这些试剂具有较高的敏感性和特异性,但至今还没有任何一种基于 NAAT 的 POCT 能够满足 REASSURED 的所有标准。随着分子检测技术的发展,这些技术将不断应用于 Ct POCT 方法的研发。

1. 基于聚合酶链式反应技术的方法

PCR 是开发基于 NAAT 的性病检测的基本方法,但由于其过程中包含热循环,导致反应时间较长,不利于 POCT 检测应用,因此研究者们不断研发新兴的小型化或超快速 PCR 技术来弥补这一缺点。

(1)基于极端 PCR(Extreme PCR)的 POCT:极端 PCR 概念是于 2015 年由 Farrar 和 Wittwer 提出,该方法可在(62~76)℃的退火/延伸温度和(85~92)℃的变性温度下,通过在(0.4~2.0) s 的温度循环下将引物和聚合酶浓度增加 10~20 倍,实现在(15~60) s 内进行高效和特异性 DNA 扩增^[13]。研究者利用极端 PCR 概念开发一款成本小于 200 美元的“Thermos 热循环仪”,可在不到 12 min(40 个循环)内检测提取的 Ct DNA,且该装置可以与侧流试纸条或基于手机的荧光检测器结合使用,增强结果的直接判断性^[14]。然而,这些检测方法的灵敏度尚未得到充分评估。

(2)基于对流 PCR 的 POCT:由 Krishnan 等^[15]于 2002 年研发了可避免热循环的对流 PCR 之后,已有研究者开发出一种集成了磁性样品处理、基于激光的光热裂解和闭环对流实时 PCR 的小型仪器,可在 28 min 内检测 10 拷贝/μL 的金黄色葡萄球菌 DNA^[16]。Zhou 等^[17]将对流 PCR 再升级,与微阵列芯片相结合后,可在 30 min 内检测出多达 15 种致病菌。此类不受环境温度波动影响,能实现快速集成检测,为开发基于 NAAT 的性传播感染 POCT 提供了新的思路。

(3)热循环仪的小型化为 PCR 的提速提供了有效的改善方案:如在手掌大小的实时 PCR 设备中引入微机械硅加热器,或将独特的加热块小型化处理,以集成于便携式平台内实现超快 PCR^[18-19]。Trick 等^[20]开发的一种咖啡杯大小的 PROMPT 检测平台,通过自动磁流体样品制备和快速 PCR 的组合,可在 15 min 内直接从临床样本中检测 Ct,及与其常并发的淋球菌(*Neisseria gonorrhoeae*, Ng)并对部分耐药基因型别进行鉴定。

2. 基于环介导等温扩增技术的方法

环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)通常在(60~65)℃之间运行,运行时

间 ≤ 60 min,是最成熟的等温 NAAT 之一,已用于检测性传播感染病原体,如与抗菌肽裂解相结合从尿液样本中检测多型别 Ct,靶向 Ng 并检测与 Ng 头孢曲松耐药相关的 *penA* 耐药等位基因^[21-23]。已开发的实时多重 LAMP 检测能同时检测包括 HIV 和 TP 在内多种性传播感染病原体^[24]。

LAMP 可以通过多种检测方法进行检测判断,如比色、基于羟基萘酚蓝等特异显色或与金纳米颗粒等相结合,实现在 45 min 左右通过肉眼读取 Ct 检测结果^[24-26]。此外 LAMP 也已在微流体设备中实施,如 Xu 等^[27]开发的一种微流控芯片,通过结合多重 LAMP 和溶解曲线分析来检测 Ct 和 Ng。

尽管 LAMP 具有诸多优势,但在实际应用中也面临一些挑战。当 LAMP 产物浓度较低时,检测结果可能出现模糊不清的情况,难以在单次检测中同时准确检测两个靶基因。为解决这一问题,Eboigbodin^[28]将 LAMP 与荧光阅读器相结合,成功实现了 Ct/Ng 双重检测。然而,这种方法需要使用昂贵的设备,一定程度上限制了其在资源有限环境中的应用。针对上述局限性,研究者们设计了一种新型分子诊断测定法,将多重 LAMP(mLAMP)与基于金纳米颗粒的侧向层析生物传感器(AuNPs-LFB)相结合,针对 Ct *ompA* 基因和 Ng *orf1* 基因,实现了总耗时仅需约 45 min 的 Ct 和 Ng 高特异性、高灵敏度、快速、直观读取的联合检测^[29]。

3. 基于重组酶聚合酶扩增技术的方法

重组酶聚合酶扩增(recombinase polymerase amplification, RPA)的运行温度约 37 °C,时长 ≤ 60 min,已成为 PCR 和 LAMP 的可靠替代品,用于开发基于 NAAT 的性传播感染 POCT^[30]。特别是其约 37 °C 的反应温度降低了加热限制,并为非常规热源(如体温)打开了大门^[31]。在一项多中心横断面临床前评估中,研究者与 TwistDx(该公司具有重组酶聚合酶扩增专利技术)的工作人员合作,评估了利用 RPA 在 15 min 完成的 Ct/Ng 的检测, TwistDx 用于男/女性尿液 Ng 检测的敏感性和特异性均为 100%,男性尿液 Ct 检测特异性为 99.7%,女性尿液 Ct 检测的灵敏度(100%)略高于阴道拭子(96.4%)。虽然检测部分可以在 15 min 内完成,但尿液样本需使用层析装置脱盐预处理^[32],因而延长了整个检测的时间。

RPA 已在微流体设备中小型化,并用于检测性传播感染和其他病原体。Ereku 等^[33]在鞋盒大小的定制多室微流体盒中运行 RPA,可在 25 min 内检测出 Ct DNA,检测限可低至 1 拷贝/ μ L。此外,研究者陆续将 RPA 和基于 CRISPR 的检测相结合,开发出新型检测方法,如 SHERLOCK 测定法^[34]被改进用于检测性传播感染病原体如梅毒螺旋体、人型支原体等^[35-36]。基于等温 CRISPR 的 Ct/Ng 双靶点检测系统进一步整合了 RPA 与 CRISPR-Cas12a/13a,该多重 RPA 可在 75 min 内同时

扩增 Ng 和 Ct,其准确率分别为 100%(Ng)和 94.32%(Ct),合并感染检测准确率达到 97.73%^[37]。在此基础上,研究者利用蜡的固液相转变,在微流体芯片中顺序分离和混合 RPA 和 CRISPR 测定,建立了独特的 Wax-CRISPR 方法,实现 30 min 内同时检测出包括 Ct、Ng 在内的 6 种常见性病相关病原体,且具有 96.8% 的灵敏度和 97.3% 的特异性,8 名未经培训的操作员在双盲测试中成功识别了性传播感染靶点^[38]。该系统低成本、稳定且用户友好,展现出良好的性能,具有发展为家庭或现场大规模筛查及 POCT 的巨大潜力。

4. 基于交叉引发扩增技术的方法

交叉引发扩增(Cross Priming Amplification, CPA)使用 5 个引物和链置换 DNA 聚合酶,可在 63 °C 下于 (60~90) min 内检测 DNA^[39]。Yu 等^[40]开发的 CPA 检测方法,可检测出浓度约 45、65 个拷贝的 Ct、Ng DNA,并且通过一次性侧向流动试纸条直接检测封闭反应管中的 CPA 扩增子,在检测 Ct 和 Ng 时与 qPCR 结果的一致性分别为 98.8% 和 97.5%。

5. 基于 RNA 实时荧光恒温扩增技术的方法

RNA 实时荧光恒温扩增(Simultaneous Amplification and Testing, SAT)是一种 RNA 检测方法,已用于检测性传播感染病原体的 rRNA(比基因组 DNA 丰富 3~4 个数量级)。反应体系包括 T7 启动子序列的正义引物、反义引物、逆转录酶和 T7 RNA 聚合酶,在 42 °C 反应约 40 min 即可以指数方式获得 RNA 扩增子^[41]。Liang 等^[42]比较分析了利用 SAT-RNA 和 qPCR 检测泌尿生殖拭子样本中 Ct/Ng 的检测性能,结果表明,当样本浓度 $< 1 \times 10^3$ 拷贝/mL 时, SAT-RNA 具有明显的优势。杜强等^[43]通过比对研究,发现 SAT-RNA 检测尿液中 Ct 与 PCR-DNA 检测尿道拭子中 Ct 结果一致,认为 SAT-RNA 作为一种非侵入性且准确的检测方法,更适合临床应用。

四、展望

尽管 Ct 抗原的 POCT 方法敏感性较低的问题仍然普遍存在且技术进步缓慢,但针对与其常并发的 Ng 的检测,科研界已取得了显著成就。特别是 WHO 与创新诊断基金会(FIND)合作,通过 DCN Dx 研究组织实施的共同研究,成功研发了一种基于 Ng 抗原检测的侧向层析测定(lateral flow assay, LFA)方法,即 Ng LFA。这一技术不仅实现了快速(< 30 min)、操作简便且成本效益极高(< 3 美元)的 Ng 抗原检测,而且在真实世界的性能评估中展现出了高度的敏感性和特异性^[44-45],为淋病的即时诊断设立了新的标杆。该方法极有可能被借鉴并应用于 Ct 检测中,以期克服现有 Ct POCT 方法的局限性。

此外,基于丝网印刷电极(screen-printed electrodes, SPEs)生物传感器技术因其成本效益、易用性和高度定制化

的潜力,成为检测领域瞩目的焦点^[46-47]。基于 SPEs 经修饰与特定抗体或适配体(如单链 DNA 或肽)结合,或被改造成能捕获特定 DNA 或 RNA 序列的探针平台,在特异性识别并结合目标蛋白质或核酸序列后,引发电极表面电荷分布或阻抗变化,导致电化学信号(电流、电压或电容)相应变化。通过监测这些信号变动,可定量或定性检测目标蛋白质及核酸序列,因此特别适用于检测蛋白质和基因等生物标志物以实现疾病诊断^[48-49]。然而,生物传感器在复杂生物样品(如血清、唾液或尿液)中直接检测生物标志物的灵敏度同样面临挑战,因此,SPEs 可通过结合 PCR、等温扩增、杂交酶联反应等核酸扩增技术,以提高基因检测的灵敏度和特异性^[50-51]。诸如引入磁珠分离技术、石墨烯量子点修饰碳丝网印刷电极等创新,进一步拓宽了其在病原体快速检测中的应用范围^[51-52],亦显示出在 Ct 抗原或核酸即时检测方面的广阔前景。

与此同时,基于嗜热 Argonaute(Ago)酶的核酸识别技术的兴起,为分子诊断带来了创新性的改变,其在肿瘤和病原体检测中展现的高精度与高效性^[53],预示着在 Ct 检测领域的潜在应用价值。手持式等温荧光检测器 WeD-1 与 *Pyrococcus furiosus* Ago(PfAgo)增强型 LAMP 技术的结合,更是展现了在野外或资源匮乏环境下出色的敏感度^[54]。此外,由于其采用冻干 PfAgo 蛋白的石蜡封装,确保高温反应条件下的稳定性和反应后的有效密封,避免气溶胶污染。鉴于嗜热 Ago 酶在高温稳定性、抗抑制剂能力、多重检测等方面展现出较 CRISPR-Cas 稍强的独特优势^[53,55],该方法为核酸分析提供了一种创新且颇具潜力的工具,未来有望进一步应用于 Ct 等其他病原体的检测,通过结合微流控、纳米材料、生物传感器等技术,实现微型化、集成化和智能化的 Ct 现场即时、高灵敏度检测。

展望未来,Ct 的 POCT 检测将深度整合纳米科技、生物传感技术和新型分子诊断手段,实现精密度与灵敏度提升。物联网及移动健康技术的深度融合将进一步赋能 Ct POCT 设备,使其具备智能化的数据远程传输能力,实时上传至云端数据库,从而有效支持远程诊疗决策。此外,伴随自我检测产品的普及推广,患者在家中即可便捷完成相关检测,这将显著增强患者的主动参与意识和治疗方案的遵循性,进而推动整体医疗服务水平与疾病防控效率的提升。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

[1] World Health Organization. Sexually transmitted infections (STIs) [EB/OL]. [2025-05-15]. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)).
[2] 陈祥生,姜婷婷. 我国性传播疾病的流行与防治[J]. 皮肤科学通

报, 2021, 38(1): 1-7.
[3] Adamson PC, Loeffelholz MJ, Klausner JD. Point-of-care testing for sexually transmitted infections: A review of recent developments[J]. Arch Pathol Lab Med, 2020, 144(11): 1344-1351. DOI: 10.5858/arpa.2020-0118-RA.
[4] Unemo M, Cole M, Lewis D, et al. Laboratory and point-of-care diagnostic testing for sexually transmitted infections, including HIV [EB/OL]. [2024-06-12]. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/360348/9789240053779-eng.pdf>.
[5] World Health Organization. Global health sector strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022-2030[M]. Geneva: World Health Organization, 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240053779>.
[6] Fuller SS, Clarke E, Harding-Esch EM. Molecular chlamydia and gonorrhoea point of care tests implemented into routine practice: Systematic review and value proposition development[J]. PLoS One, 2021, 16(11): e0259593. DOI: 10.1371/journal.pone.0259593.
[7] Toskin I, Murtagh M, Peeling RW, et al. Advancing prevention of sexually transmitted infections through point-of-care testing: Target product profiles and landscape analysis[J]. Sex Transm Infect, 2017, 93(S4): S69-S80. DOI: 10.1136/sextrans-2016-053071.
[8] Land KJ, Boeras DI, Chen XS, et al. REASSURED diagnostics to inform disease control strategies, strengthen health systems and improve patient outcomes[J]. Nat Microbiol, 2019, 4(1): 46-54. DOI: 10.1038/s41564-018-0295-3.
[9] World Health Organization. Point-of-care tests for sexually transmitted infections: Target product profiles [EB/OL]. [2024-06-12]. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/371294/9789240077102-eng.pdf>.
[10] Grillo-Ardila CF, Torres M, Gaitán HG. Rapid point of care test for detecting urogenital *Chlamydia trachomatis* infection in nonpregnant women and men at reproductive age[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2020, 1(1):CD011708. DOI: 10.1002/14651858.CD011708.pub2.
[11] World Health Organization. The diagnostics landscape for sexually transmitted infections [EB/OL]. [2024-06-12]. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/371498/9789240077126-eng.pdf>.
[12] Zhou Y, Jiang TT, Li J, et al. Performance of point-of-care tests for the detection of *Chlamydia trachomatis* infections: A systematic review and meta-analysis[J]. EclinicalMedicine, 2021, 37: 100961. DOI: 10.1016/j.eclim.2021.100961.
[13] Farrar JS, Wittwer CT. Extreme PCR: Efficient and specific DNA amplification in 15-60 seconds[J]. Clin Chem, 2015, 61(1): 145-153. DOI: 10.1373/clinchem.2014.228304.
[14] Chan K, Wong PY, Yu P, et al. A Rapid and low-cost PCR thermal cycler for infectious disease diagnostics[J]. PLoS One, 2016, 11(2):e0149150. DOI: 10.1371/journal.pone.0149150.
[15] Krishnan M, Ugaz VM, Burns MA. PCR in a Rayleigh-Bénard convection cell[J]. Science, 2002, 298(5594):793. DOI: 10.1126/science.298.5594.793.

- [16] Shu B, Zhang C, Xing D. A sample-to-answer, real-time convective polymerase chain reaction system for point-of-care diagnostics[J]. Biosens Bioelectron, 2017, 97: 360-368. DOI: 10.1016/j.bios.2017.06.014.
- [17] Zhuo Z, Wang J, Chen W, et al. A rapid on-site assay for the detection of influenza a by capillary convective PCR[J]. Mol Diagn Ther, 2018, 22(2): 225-234. DOI: 10.1007/s40291-018-0320-5.
- [18] Lee SH, Song J, Cho B, et al. Bubble-free rapid microfluidic PCR [J]. Biosens Bioelectron, 2019, 126: 725-733. DOI: 10.1016/j.bios.2018.10.005.
- [19] Ahrberg CD, Manz A, Neužil P. Palm-sized device for point-of-care Ebola detection[J]. Anal Chem, 2016, 88(9): 4803-4807. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b00278.
- [20] Trick AY, Melendez JH, Chen FE, et al. A portable magnetofluidic platform for detecting sexually transmitted infections and antimicrobial susceptibility[J]. Sci Transl Med, 2021, 13(593): eabf6356. DOI: 10.1126/scitranslmed.abf6356.
- [21] Peng L, Chen JL, Wang D. Progress and perspectives in point of care testing for urogenital *Chlamydia trachomatis* infection: A review [J]. Med Sci Monit, 2020, 26:e920873. DOI: 10.12659/MSM.920873.
- [22] Jevtuševskaja J, Uusna J, Andresen L, et al. Combination with antimicrobial peptide lyses improves loop-mediated isothermal amplification based method for *Chlamydia trachomatis* detection directly in urine sample[J]. BMC Infect Dis, 2016, 16:329. DOI: 10.1186/s12879-016-1674-0.
- [23] Shimuta K, Takahashi H, Akeda Y, et al. Loop-mediated isothermal amplification assay for identifying *Neisseria gonorrhoeae* nonmosaic *penA*-targeting strains potentially eradicable by cefixime[J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(5): e0233522. DOI: 10.1128/spectrum.02335-22.
- [24] Becherer L, Bakheit M, Frischmann S, et al. Simplified real-time multiplex detection of loop-mediated isothermal amplification using novel mediator displacement probes with universal reporters [J]. Anal Chem, 2018, 90(7): 4741-4748. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b05371.
- [25] Choopara I, Arunrut N, Kiatpathomchai W, et al. Rapid and visual *Chlamydia trachomatis* detection using loop-mediated isothermal amplification and hydroxynaphthol blue[J]. Lett Appl Microbiol, 2017, 64(1): 51-56. DOI: 10.1111/lam.12675.
- [26] Somboonna N, Choopara I, Arunrut N, et al. Rapid and sensitive detection of *Chlamydia trachomatis* sexually transmitted infections in resource-constrained settings in Thailand at the point-of-care[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2018, 12 (12): e0006900. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006900.
- [27] Xu G, Gunson RN, Cooper JM, et al. Rapid ultrasonic isothermal amplification of DNA with multiplexed melting analysis-applications in the clinical diagnosis of sexually transmitted diseases[J]. Chem Commun (Camb), 2015, 51(13): 2589-2592. DOI: 10.1039/c4cc08389j.
- [28] Eboigbodin KE. Application of Loop-mediated isothermal amplification assay for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*[J]. Methods Mol Biol, 2019, 2042: 19-25. DOI: 10.1007/978-1-4939-9694-0_3.
- [29] Chen X, Zhou Q, Yuan W, et al. Visual and rapid identification of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* using multiplex loop-mediated isothermal amplification and a gold nanoparticle-based lateral flow biosensor[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 13: 1067554. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1067554.
- [30] Zhai J, Wang L, Qiao X, et al. Detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infections in pregnant women by multiplex recombinase polymerase amplification[J]. PLoS One, 2021, 16(5): e0251119. DOI: 10.1371/journal.pone.0251119.
- [31] Tan M, Liao C, Liang L, et al. Recent advances in recombinase polymerase amplification: Principle, advantages, disadvantages and applications[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 1019071. DOI: 10.3389/fcimb.2022.1019071.
- [32] Harding-Esch EM, Fuller SS, Chow SC, et al. Diagnostic accuracy of a prototype rapid chlamydia and gonorrhoea recombinase polymerase amplification assay: A multicentre cross-sectional preclinical evaluation[J]. Clin Microbiol Infect, 2019, 25(3): 380. e1-380.e7. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.06.003.
- [33] Ereku LT, Mackay RE, Craw P, et al. RPA using a multiplexed cartridge for low cost point of care diagnostics in the field[J]. Anal Biochem, 2018, 547: 84-88. DOI: 10.1016/j.ab.2018.02.010.
- [34] Kellner MJ, Koob JC, Gootenberg JS, et al. SHERLOCK: Nucleic acid detection with CRISPR nucleases[J]. Nat Protoc, 2019, 14(10): 2986-3012. DOI: 10.1038/s41596-019-0210-2.
- [35] Chen W, Luo H, Zeng L, et al. A suite of PCR-LwCas13a assays for detection and genotyping of *Treponema pallidum* in clinical samples[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 4671. DOI: 10.1038/s41467-022-32250-y.
- [36] Chen J, Huang Y, Xiao B, et al. Development of a RPA-CRISPR-Cas12a assay for rapid, simple, and sensitive detection of *Mycoplasma hominis*[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 842415. DOI: 10.3389/fmicb.2022.842415.
- [37] Luo H, Zeng L, Yin X, et al. An isothermal CRISPR-based diagnostic assay for *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* detection[J]. Microbiol Spectr, 2023, 11(6): e0046423. DOI: 10.1128/spectrum.00464-23.
- [38] Zhou H, Cai Y, He L, et al. Phase transition of wax enabling CRISPR diagnostics for automatic at-home testing of multiple sexually transmitted infection pathogens[J]. Small, 2025, 21(1): e2407931. DOI: 10.1002/smll.202407931.
- [39] Xu G, Hu L, Zhong H, et al. Cross priming amplification: Mechanism and optimization for isothermal DNA amplification[J]. Sci Rep, 2012, 2:246. DOI: 10.1038/srep00246.
- [40] Yu B, An Y, Xu G, et al. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* based on cross-priming amplification[J]. Lett Appl Microbiol, 2016, 62(5): 399-403. DOI: 10.1111/lam.12560.
- [41] Cui Z, Wang Y, Fang L, et al. Novel real-time simultaneous amplification and testing method to accurately and rapidly detect *Mycobacterium tuberculosis* complex[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50

- (3): 646-650. DOI: 10.1128/JCM.05853-11.
- [42] Liang Y, Jin X, Yuan F, et al. Comparison of rRNA-based and DNA-based nucleic acid amplifications for detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Ureaplasma urealyticum* in urogenital swabs[J]. BMC Infect Dis, 2018, 18(1):651. DOI: 10.1186/s12879-018-3580-0.
- [43] 杜强, 洪锴, 潘伯臣. 两种检测男性生殖道沙眼衣原体和解脲支原体方法的对比[J]. 北京大学学报(医学版), 2021, 53(4): 785-788. DOI: 10.19723/j.issn.1671-167X.2021.04.027.
- [44] Gleeson B, Piton J, Mazzola L, et al. Development of a novel fluorescent-based lateral flow assay for the detection of *Neisseria gonorrhoeae* at the point of care[J]. Sex Transm Dis, 2024, 51(3): 186-191. DOI: 10.1097/OLQ.0000000000001913.
- [45] Peters R, Klausner JD, Mazzola L, et al. Novel lateral flow assay for point-of-care detection of *Neisseria gonorrhoeae* infection in syndromic management settings: A cross-sectional performance evaluation[J]. Lancet, 2024, 403(10427): 657-664. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)02240-7.
- [46] Martínez-Periñán E, Gutiérrez-Sánchez C, García-Mendiola T, et al. Electrochemiluminescence biosensors using screen-printed electrodes[J]. Biosensors (Basel), 2020, 10(9): 118. DOI: 10.3390/bios10090118.
- [47] Silva RM, da Silva AD, Camargo JR, et al. Carbon nanomaterials-based screen-printed electrodes for sensing applications [J]. Biosensors (Basel), 2023, 13(4):453. DOI: 10.3390/bios13040453.
- [48] Enache TA, Enculescu M, Bunea MC, et al. Carbon inks-based screen-printed electrodes for qualitative analysis of amino acids[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(2): 1129. DOI: 10.3390/ijms24021129.
- [49] Taufiq S, Waqar M, Sharif MN, et al. Towards portable rapid TB biosensor: Detecting *Mycobacterium tuberculosis* in raw sputum samples using functionalized screen printed electrodes [J]. Bioelectrochemistry, 2023, 150:108353. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2022.108353.
- [50] Kanapathy S, Obande GA, Chuah C, et al. Sequence-specific electrochemical genosensor for rapid detection of *bla*_{OXA-51-like} gene in *Acinetobacter baumannii*[J]. Microorganisms, 2022, 10(7):1413. DOI: 10.3390/microorganisms10071413.
- [51] Santos D, Oliveira TR, Araújo GM, et al. An electrochemical genomagnetic assay for detection of SARS-CoV-2 and influenza A viruses in saliva[J]. Biosens Bioelectron, 2024, 255:116210. DOI: 10.1016/j.bios.2024.116210.
- [52] Moço A, Gomide J, Flauzino J, et al. Fentogram electrochemical detection of HIV RNA based on graphene quantum dots and gold nanoparticles[J]. J Pharm Biomed Anal, 2024, 242: 116025. DOI: 10.1016/j.jpba.2024.116025.
- [53] Sun K, Liu Y, Zhao W, et al. Prokaryotic Argonaute proteins: A new frontier in point-of-care viral diagnostics[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(19):14987. DOI: 10.3390/ijms241914987.
- [54] Pang F, Zhang T, Dai F, et al. A handheld isothermal fluorescence detector for duplex visualization of aquatic pathogens via enhanced one-pot LAMP-PfAgo assay[J]. Biosens Bioelectron, 2024, 254: 116187. DOI: 10.1016/j.bios.2024.116187.
- [55] Ye X, Zhou H, Guo X, et al. Argonaute-integrated isothermal amplification for rapid, portable, multiplex detection of SARS-CoV-2 and influenza viruses [J]. Biosens Bioelectron, 2022, 207: 114169. DOI: 10.1016/j.bios.2022.114169.

(收稿日期:2024-06-12)