

· 临床研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2026.01.010

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250521.1329.008\(2025-05-21\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250521.1329.008(2025-05-21))

尿液热带念珠菌 qPCR 快速检测方法的建立与临床应用价值*

沈菁¹ 李孝辉² 孙静芳¹ 陈燕³ 徐银海¹ 郭毅^{2△}

(1. 徐州医科大学附属医院检验科, 江苏徐州 221002; 2. 徐州矿业集团总医院检验科, 江苏徐州 221006;

3. 徐州医科大学医学技术学院, 江苏徐州 221004)

[摘要] **目的** 建立尿液热带念珠菌的 qPCR 快速检测方法, 并评估其临床应用价值。**方法** 在热带念珠菌核糖体 RNA 编码基因(rDNA)之间内转录间隔区 1(ITS1)上设计特异性引物, 通过 qPCR 分析体系建立尿液热带念珠菌的检测方法; 从检出限、定量低限和特异度等方面评价该方法, 并通过尿液标本检测评估其临床应用。**结果** 该检测方法对纯菌液的检出限和定量低限为 10^2 CFU/mL, 对尿液标本的检出限和定量低限为 10^3 CFU/mL, 对含有热带念珠菌的尿液标本均有扩增, 对培养阴性或含有其他病原菌的尿液标本均无扩增。**结论** 本研究建立的尿液热带念珠菌 qPCR 快速检测方法定量低限低、特异度高。

[关键词] 念珠菌尿; 热带念珠菌; 实时荧光定量 PCR; 内转录间隔序列

[中图法分类号] R446.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2026)01-0057-05

Establishment and clinical application of quantitative PCR rapid detection method for urine *Candida tropicalis**

SHEN Jing¹, LI Xiaohui², SUN Jingfang¹, CHEN Yan³, XU Yin Hai¹, GUO Yi^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, China; 2. Department of Laboratory Medicine, General Hospital

of Xuzhou Mining Group, Xuzhou, Jiangsu 221006, China; 3. School of Medical Technology, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221004, China)

[Abstract] **Objective** To establish a quantitative PCR (qPCR) rapid detection method for urine *Candida tropicalis*, and to evaluate its clinical application value. **Methods** The specific primers were designed on the intra-transcriptional spacer 1 (ITS1) between the ribosomal RNA-coding genes (rDNA) of *Candida tropicalis*. The detection method for *Candida tropicalis* was constructed by the qPCR analysis system; this method was evaluated by the limit of detection (LoD), limit of quantitation (LloQ) and analytical specificity. Its clinical application was evaluated by the urine sample detection. **Results** The LoD and LloQ of the method for pure bacterial liquid were 10^2 CFU/mL. The LoD and LloQ of the method for urine samples were 10^3 CFU/mL. All urine specimens containing *Candida tropicalis* had amplification and had no amplification for the urine samples with negative culture or containing other pathogenic bacteria. **Conclusion** This study has successfully constructed the qPCR rapid detection method for urine *Candida tropicalis* with low LloQ and high specificity.

[Key words] candiduria; *Candida tropicalis*; real-time fluorescence quantitative PCR; internal transcriptional spacer sequence

念珠菌尿是指在尿液中检出念珠菌。住院患者中念珠菌尿的发生率约为 1.61%, 在 ICU 患者中为 22.89%^[1]。除此之外, 糖尿病、女性、抗生素、腹部手术和尿路置管也是影响念珠菌尿的危险因素。念珠菌尿常给临床治疗带来挑战。导致念珠菌尿的原因有污染、定植和尿路感染, 虽然这 3 种情况的处理措施完全不同, 但均需反复送检以确定来源或评估疗效^[2]。

目前, 念珠菌尿的检测多为基于尿培养的分离鉴定。该方法耗时, 报告周转时间(turnaround time, TAT)长, 不利于念珠菌尿的及时处理。基于 PCR 的分子生物学方法可以有效解决上述问题, 其能够从尿液标本中快速扩增出致病念珠菌。qPCR 在扩增反应进行的同时做出鉴定, 可进一步缩短 TAT。

与白色念珠菌相比, 非白念珠菌已成为尿液标本中最常检出的致病菌^[3], 这可能与尿液的成分和 pH

* 基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(82402722); 徐州市科技项目 2023 年度医药卫生面上项目(KC23265)。△ 通信作者, E-mail: guoyi1227@qq.com。

值更适合非白念珠菌生长有关。根据不同报道,在尿液非白念珠菌中,光滑念珠菌或热带念珠菌的分离率占据首位。其中,热带念珠菌又因高毒力和多重耐药而更受关注^[4]。本团队前期以真菌核糖体 RNA (ribosome RNA, rRNA) 编码基因内转录间隔 (internal transcribed spacer, ITS) 序列为靶点建立了 qPCR 检测平台,成功鉴定出白色念珠菌和光滑念珠菌^[5-6]。因此,本研究进一步基于 ITS1 序列建立热带念珠菌的特异性 qPCR 方法,并通过尿液标本对其临床应用进行评价,以解决临床快速检测需求,为热带念珠菌尿的及时处理提供实验室依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 临床资料

热带念珠菌标准菌株 ATCC 750 购自北纳生物公司。临床分离菌株来自徐州医科大学附属医院微生物室菌种保存库,包括 135 株白色念珠菌、102 株光滑念珠菌、61 株热带念珠菌、24 株近平滑念珠菌、12 株克柔念珠菌、24 株大肠埃希菌、24 株肺炎克雷伯菌、24 株变形杆菌、24 株粘质沙雷菌、24 株铜绿假单胞菌、24 株鲍曼不动杆菌及 24 株金黄色葡萄球菌。

无菌尿液标本取自徐州医科大学附属医院体检中心(培养证实无病原菌)。临床尿液标本取自 2024 年 5 月至 2025 年 3 月住院患者。所有尿液标本均分为 2 份,分别用于尿培养和 qPCR 检测。本研究经徐州医科大学附属医院伦理委员会批准(审批号:XY-FY2024-KL178-01),免除患者知情同意。

1.1.2 仪器与试剂

细胞保存液(潮州凯普生物化学公司),SYBR Green 荧光定量检测试剂盒(北京天根生化科技公司),引物(上海生工生物工程公司),实时荧光定量 PCR 扩增仪(德国罗氏诊断公司),MALDI-TOF MS 质谱鉴定仪(德国 Bruker 公司),DTC-100 恒温金属浴仪器(杭州瑞城仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 念珠菌计数

将热带念珠菌标准菌株接种于沙氏培养基,置入 CO₂ 孵育箱中 35 °C 培养 48 h。挑取若干分离菌落置入 1 mL 细胞保存液中,配制菌悬液,采用改良牛鲍式血细胞计数板,按标准操作方法进行计数。其中念珠菌芽体体积小于母体 1/2 计数为 1 个,大于母体 1/2 计数为 2 个。

1.2.2 梯度稀释标准菌液的制备

根据计数结果,将原菌液调配成浓度为 10⁷ CFU/mL 的标准菌液。连续 10 倍梯度稀释,获得浓度为 10⁶、10⁵、10⁴、10³、10²、10¹ CFU/mL 的梯度稀释标准菌液。

1.2.3 念珠菌菌液 DNA 的提取

采用热休克法提取菌株 DNA:菌液经 100 °C 加

热/−80 °C 冷冻交替循环 3 次,离心取上清作为 DNA 模板,−80 °C 保存备用。

1.2.4 念珠菌模拟感染尿液标本的制备

梯度稀释标准菌液各浓度分别取 100 μL,注入 900 μL 无菌尿液标本中,模拟梯度分别为 10⁵、10⁴、10³、10²、10¹、10⁰ CFU/mL 念珠菌感染尿液标本。

1.2.5 念珠菌模拟感染尿液标本 DNA 的提取

以 12 000 r/min 将念珠菌模拟感染尿液标本离心 15 min,弃上清。加入 100 μL 细胞保存液,轻柔吹打混匀后采用热休克法进行 DNA 提取。随后以 12 000 r/min 的转速离心 15 min,上清即为 DNA 粗提液,−80 °C 保存备用。

1.2.6 引物设计

(1)在 PubMed 的 Nucleotide 数据库中检索包含热带念珠菌标准菌株 ATCC 750 的 ITS 序列,并下载。(2)使用 PubMed 中的 BLAST 软件,首先将热带念珠菌标准菌株的 ITS 序列与 UTI 其他常见念珠菌标准菌株的 ITS 序列进行比对,筛选出种间变异大的序列;再将热带念珠菌标准菌株的 ITS 序列同 NCBI 物种数据库中热带念珠菌临床分离株的 ITS 序列进行比对,筛选种内无变异或变异率小的序列。(3)使用 Primer 5.0 软件在上述序列上设计引物,并计算理论检出率。理论检出率=(NCBI 物种数据库中热带念珠菌的总株数−引物不能正确匹配的株数)/数据库中热带念珠菌的总株数×100%。(4)使用 PubMed 中的 Primer-BLAST 软件,将该引物与人基因组库、细菌库、真菌库、病毒库、衣原体库、支原体库和立克次氏体库中序列进行比对,检查是否存在交叉反应。

1.2.7 qPCR

反应体系为 20.0 μL,包括 DNA 模板 2.0 μL,上下游引物各 0.6 μL,2×qPCR PreMix 10.0 μL 和无 DNA 酶的 ddH₂O 6.8 μL。循环参数为 95 °C 2 min,1 个循环;95 °C 15 s,60 °C 1 min,40 个循环。测定仪器为 Roche LightCycler480 荧光定量 PCR 仪。

1.3 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件进行 Ct 均值和标准差计算。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 引物设计

PubMed 的 Nucleotide 数据库中包含热带念珠菌标准菌株 ATCC 750 ITS 序列记录有 6 条,其中仅有编号为 AY939810.1 的 GenBank 明确注释 ITS 序列的起始位点,因此从该记录中获取热带念珠菌的 ITS1 序列和 ITS2 序列。通过比对,ITS1 序列种内变异位点少,种间变异位点多,选择 ITS1 序列作为引物设计的靶序列,见图 1。经过优化,最终引物序列被设定为:上游引物:5'-TTG GTG GCG GGA GCA ATC-3';下游引物:5'-CCG TTG TTG AAA GTT TTG ACT ATT G-3'。

1 CTGATTGCTTAATTGCACCACATGTGTTTTTATTAAGACAAATTCTTTGGTGCGGGGA 60
 61 GCAATGCTACC GCCAGAGGTATAACTAAACAAACTTTTATTACAGTCAAACCTGAT 120
 121 TTATTATTACAATAGTCAAACCTTCAACAACGGTATCT 158

加框部分为上游引物和下游引物所在的位置;粗体为种内存在碱基变异的位置。

图 1 热带念珠菌标准菌株 ATCC 750 ITS1 序列

NCBI 物种数据库中有 247 株热带念珠菌临床分离株 ITS1 序列,其中 3 株在上游引物中存在变异位点,7 株在下游引物中存在变异位点,可能影响其扩增,见表 1。因此该引物的理论检出率为 96.0%。通过比对,该引物与人基因组库、细菌库、真菌库、病毒库、衣原体库、支原体库和立克次氏体库中的序列亦无交叉反应。

表 1 热带念珠菌菌株间 ITS1 序列比对

碱基突变位置	突变株数(n)	碱基突变位置	突变株数(n)
1-3	8	53-54	1
4-5	1	62	1
5	5	68	13
7	2	70-77	1
9	14	72	3
10	1	75	1
12	20	76-77	1
13	1	78	2
14	2	81-82	2
15	1	86	7
15-16	1	97	2
16	1	98	2
17	2	105	1
18	5	106	1
19	4	111	1
21	1	112	11
23	1	118	1
24	1	118-119	1
24-25	2	120	1
26-27	2	121	1
27-28	3	128	1
33	1	130-131	1
35	4	131	1
47	4	132	1
48	1	133	1
50	1	133-134	2
52	1	135	1
53	1		

2.2 纯菌液检出限和定量低限

使用 qPCR 对浓度为 $10^1 \sim 10^7$ CFU/mL 的热带念珠菌梯度稀释菌液行批内和批间实验($n=3$),见表 2。在该浓度范围的标本经过 PCR 反应均出现阳性扩增结果,见图 2。根据检测限的估计方式,即空白对照标本加减 2 倍或 3 倍的标准差,最终将检测方法对于纯菌液的检出限设为 10^2 CFU/mL;同时在该水平,检测方法的批内和批间不精密度均在允许的范围($CV < 5\%$),因此对于纯菌液的定量低限亦为 10^2 CFU/mL。

2.3 线性和分析灵敏度

在定量范围内,菌液浓度的 log 值与 Ct 之间呈线性回归,拟合方程为 $Y = -3.770X + 40.08$, r^2 可达 0.994 9;分析灵敏度由标准曲线斜率表达,为 -3.26,见图 2B。

2.4 交叉反应

为验证尿路感染常见细菌和其他念珠菌种的核酸物质是否影响本方法的检测,取一定浓度病原菌加入细胞保存液中至医学决定水平(10^5 CFU/mL),提取病原菌 DNA,并将其作为模板加入反应体系中行 qPCR 检测。本检测方法对尿路感染常见细菌和非热带念珠菌来源的 DNA 均不产生扩增。

2.5 分析特异性与干扰

为探究标本处理过程中残留的尿液是否影响本方法的检测,配制念珠菌模拟感染尿液标本,提取其中念珠菌 DNA,作为模版加入反应体系后行 qPCR 检测。相较于纯菌液,本方法从模拟感染尿液标本中检出相应浓度热带念珠菌的 Ct 值均滞后,提示在验证浓度下,尿液中的物质在一定程度上干扰检测的分析特异度。据此,最终将检测方法对尿液的检出限和定量低限设为 10^3 CFU/mL。

2.6 临床应用评价

1 577 例患者 2 334 份尿液标本的尿培养中,共有 1 243 份为阳性,其中培养出 1 株病原菌的标本 919 份,培养出 2 株病原菌的标本 150 份,培养出 3 株及以上病原菌标本 174 份(污染)。排除污染的标本,共分离出 1 083 株病原菌,其中细菌 890 株(包括大肠埃希菌 334 株,尿肠球菌 105 株、肺炎克雷伯菌 99 株、粪肠球菌 60 株、奇异变形杆菌 54 株和铜绿假单胞菌 40 株等),放线菌 1 株及真菌 192 株(包括白色念珠菌 97 株、热带念珠菌 42 株、光滑念珠菌 40 株、近平滑念珠菌 7 株和克柔念珠菌 2 株等)。42 株热带念珠菌分离自 24 例患者,其中 2 例处于长期导尿状态,11 例入院后置入导尿管。

qPCR 结果显示,42 份含有热带念珠菌的尿液标本均有扩增,包括 34 份菌落计数大于 10^5 CFU/mL 的标本和 8 份菌落计数在 $10^3 \sim 10^5$ CFU/mL 的标本。培养阴性或含有其他病原菌的尿液标本均无扩增。该检测平台的诊断灵敏度和诊断特异度均为 100%,见表 3。

表 2 尿液热带念珠菌 qPCR 快速检测方法批内和批间试验

浓度(CFU/mL)	热带念珠菌纯菌液标本						模拟热带念珠菌尿标本					
	批内 Ct 值			批间 Ct 值			批内 Ct 值			批间 Ct 值		
	均值	标准差	CV(%)	均值	标准差	CV(%)	均值	标准差	CV(%)	均值	标准差	CV(%)
10 ⁷	13.88	0.10	0.72	13.62	0.36	2.64						
10 ⁶	17.37	0.03	0.17	17.49	0.25	1.44	20.84	0.11	0.52	21.22	0.53	2.51
10 ⁵	21.23	0.33	1.55	21.89	0.61	2.78	24.64	0.12	0.49	25.04	0.65	2.59
10 ⁴	26.98	0.44	1.63	26.63	0.89	3.35	27.99	0.78	2.78	28.26	0.73	2.58
10 ³	29.48	0.08	0.27	29.49	0.40	1.37	31.23	0.85	2.72	31.73	0.81	2.55
10 ²	31.31	1.02	3.26	31.85	1.09	3.43	34.82	1.06	3.05	34.92	1.06	3.03
10 ¹	34.52	0.98	2.83	34.98	1.01	2.88	35.38	0.22	0.62	34.95	0.68	1.94
10 ⁰	34.68	0.24	0.70	35.54	0.42	1.18	35.16	0.77	2.19	35.01	0.91	2.61

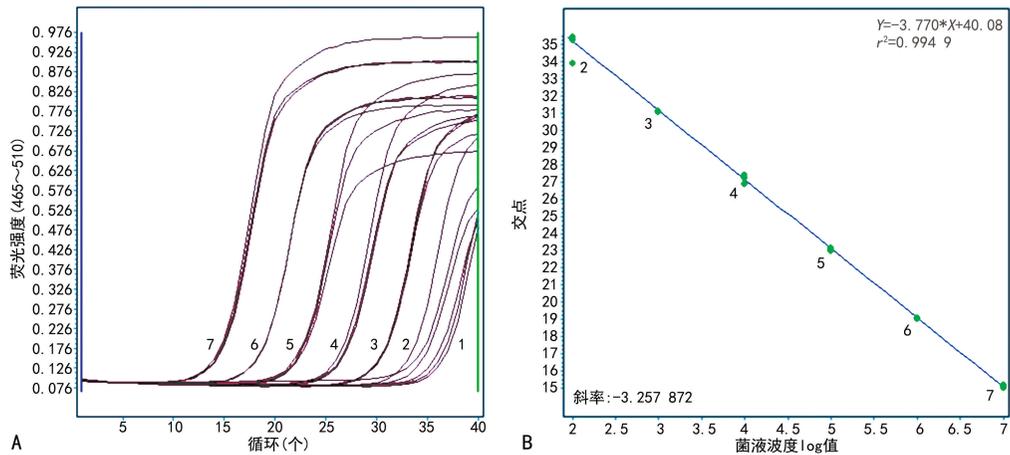
A: PCR 扩增曲线; B: PCR 扩增标准曲线; 图中 1~7 分别代表浓度为 10¹~10⁷ CFU/mL 热带念珠菌纯菌液。

图 2 热带念珠菌梯度稀释纯菌液 qPCR 扩增曲线及标准曲线

表 3 尿培养和 qPCR 检测结果 (n)

qPCR	尿培养		总计
	阳性	阴性	
阳性	42	0	42
阴性	0	2 292	2 292
总计	42	2 292	2 334

3 讨论

热带念珠菌在全球范围内的分离率呈上升趋势,尤其在南美、亚洲等热带地区,其已成为念珠菌感染的常见致病菌^[4,7]。我国非白念珠菌感染中的分离率也位居前列^[8]。热带念珠菌易定植于人体多个部位,当人体抵抗力下降或局部环境改变时,就可能引发感染。尤其是在患者留置导尿管且使用抗生素后^[9],热带念珠菌易引发尿路感染,且治疗时间长、死亡率高^[10]。因此,快速准确地检测热带念珠菌对临床诊断和治疗至关重要。本研究以热带念珠菌的 ITS1 序列作为扩增的靶位点,通过比对筛选出种间最为特异的序列并基于其设计引物,建立了一种 qPCR 检测方法,可快速检测尿液标本中的热带念珠菌。

分子生物学检测技术以其高效性在病原菌检测中得到广泛应用,检测位点多集中于 rRNA 编码基因^[6]。rDNA 序列在种间保守,而 ITS1 和 ITS2 序列在种间特异,可用于设计特异性引物^[11]。与其他检测

方法相比,本研究建立的 qPCR 检测方法更具优势。WANG 等^[12]使用重组聚合酶等温扩增热带念珠菌的 ITS2 序列,通过侧流层析试纸条检测,当纯菌液稀释至 10³ CFU/mL 时,阳性条带肉眼难以辨认;SCHABERITER-GURTNER 等^[13]通过属通用引物扩增念珠菌,再使用种特异性探针鉴定热带念珠菌,其阳性结果所需纯菌液最低浓度约为 330 CFU/mL,均未达到本研究的检测下限。这可能与扩增位点的选择和使用的 qPCR 扩增系统不同有关^[6]。本研究团队之前在 5.8S rDNA 上设计的念珠菌属通用引物,虽检测下限可达 10¹ CFU/mL,但不能鉴定到种水平,且探针价格高,不适合尿液标本的快速检测^[14]。本研究通过比对 NCBI 物种数据库中 247 株热带念珠菌临床分离株的 ITS1 序列,在株间保守序列上设计引物,以提高临床株的检出率,并通过变异位点分析为潜在漏检提供理论解释。

在临床诊断方面,尿培养菌落大于 10⁵ CFU/mL 是诊断尿路感染的依据之一^[15];对于留置导尿管且有典型症状/体征的患者,尿培养菌落计数大于 10³ CFU/mL 时,应考虑导管相关性尿路感染。本研究将检测下限设为 10³ CFU/mL,符合临床诊断需求。马成芳等^[16]使用聚合酶反应限制性片段长度多态性方法检测模拟尿标本中的致病念珠菌,要求念珠菌浓

度 $\geq 5 \times 10^3$ CFU/mL。相比之下,本研究简化了操作流程,降低了尿液标本的检测下限。

本研究尿液标本中分离率较高的细菌包括大肠埃希菌、尿肠球菌、肺炎克雷伯菌等,与其他报道^[17-18]基本一致。在分离的真菌中,热带念珠菌的分离率仅次于白色念珠菌,可能与患者留置导尿管有关。本方法能够准确检测出临床尿液标本中热带念珠菌,且与其他尿路感染致病菌无交叉反应,达到已报道方法^[13,19]的检测性能。

综上所述,本研究建立的基于热带念珠菌 ITS1 序列的 qPCR 检测方法,具备检测限低、特异度高和重复性好等优势,可快速从尿液标本中检出热带念珠菌,为念珠菌尿的诊疗处置提供可靠且及时的实验室依据。

利益冲突:所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

[1] HE Z, SU C, BI Y, et al. Evaluation of a novel laboratory Candiduria screening protocol in the intensive care unit [J]. *Infect Drug Resist*, 2021, 14: 489-496.

[2] KAUFFMAN C A. Diagnosis and management of fungal urinary tract infection [J]. *Infect Dis Clin North Am*, 2014, 28(1): 61-74.

[3] KONJE E T, KIZENGA O, CHARCO N J, et al. Five-year cross-sectional study to determine the burden of *Candida* spp. infections of the urinary tract system among patients attending tertiary hospital in Northwestern Tanzania [J]. *BMJ Open*, 2023, 13(12): e074833.

[4] CHAARI A, MUNIR A, SHARAF A, et al. Predictive factors and prognostic value of candiduria in critically-ill patients with solid and hematological malignancies [J]. *J Mycol Med*, 2023, 33(1): 101353.

[5] 郭毅, 杨靖娴, 邵冬华, 等. 白色念珠菌 ITS2 的实时荧光定量 PCR 快速检测方法的建立及评价 [J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(7): 79-84.

[6] 郭毅, 杨靖娴, 邵冬华, 等. TaqMan-MGB 探针实时荧光定量 PCR 快速检测光滑念珠菌 [J]. *中国实验诊断学*, 2016, 20(2): 178-181.

[7] SANTOS M M D, ISHIDA K. We need to talk about *Candida tropicalis*: virulence factors and survival mechanisms [J]. *Med Mycol*, 2023, 61(8): myad075.

[8] 段思蒙, 肖盟, 黄晶晶, 等. 2012 年度侵袭性真菌耐药监测网(CHIF-NET)侵袭性酵母菌感染的分布特征 [J]. *中国真菌学杂志*, 2021, 16(4): 234-242.

[9] DE SOUZA C M, SANTOS M M D, FURLAN-

ETO-MAIA L, et al. Adhesion and biofilm formation by the opportunistic pathogen *Candida tropicalis*: what do we know? [J]. *Can J Microbiol*, 2023, 69(6): 207-218.

[10] 徐怡澜, 阎澜. 热带念珠菌耐药机制的研究进展 [J]. *中国真菌学杂志*, 2023, 18(2): 178-182.

[11] ZHANG J, HUNG G, NAGAMINE K, et al. Development of *Candida*-specific real-time PCR assays for the detection and identification of eight medically important *Candida* species [J]. *Microbiol Insights*, 2016, 9: 21-28.

[12] WANG L, XU A, ZHOU P, et al. Rapid Detection of *Candida tropicalis* in clinical samples from different sources using RPA-LFS [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 898186.

[13] SCHABEREITER-GURTNER C, SELITSCH B, ROTTER M L, et al. Development of novel real-time PCR assays for detection and differentiation of eleven medically important *Aspergillus* and *Candida* species in clinical specimens [J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(3): 906-914.

[14] GUO Y, YANG J, LIANG G. A real-time PCR assay based on 5.8S rRNA gene (5.8S rDNA) for rapid detection of *Candida* from whole blood samples [J]. *Mycopathologia*, 2016, 181(5/6): 405-413.

[15] DE ALMEIDA A A, NAKAMURA S S, FIORINI A, et al. Genotypic variability and antifungal susceptibility of *Candida tropicalis* isolated from patients with candiduria [J]. *Rev Iberoam Micol*, 2015, 32(3): 153-158.

[16] 马成芳, 甄莉. 聚合酶链反应限制性片段长度多态性快速检测模拟尿标本中致病念珠菌的研究 [J]. *中国药物与临床*, 2008, 7(9): 715-716.

[17] HERBAWI A, TAHA A A, AIESH B M, et al. Spectrum and antibiotic resistance in community- and hospital-acquired urinary tract infections among adults: experience from a large tertiary care center in a developing country [J]. *Urologia*, 2024, 91(2): 394-402.

[18] KILPATRICK R, BOUTZOUKAS A E, CHAN E, et al. Urinary tract infection epidemiology in NICUs in the United States [J]. *Am J Perinatol*, 2024, 41(Suppl. 1): e2202-2208.

[19] FIDLER G, LEITER E, KOCSUBE S, et al. Validation of a simplex PCR assay enabling reliable identification of clinically relevant *Candida* species [J]. *BMC Infect Dis*, 2018, 18(1): 393.