

应用聚合酶链反应对淋球菌、沙眼衣原体和解脲支原体感染现状的调查

孔繁荣¹ 朱学骏¹ 王雪虹² 王秀丽³ 张耕耘⁴ 周骏马⁴ 陈受宜⁴

摘要 采用聚合酶链反应对北京、汕头、武汉三地区 STD 门诊共355例患者,进行了淋球菌、沙眼衣原体和解脲支原体的检测。在三地区 STD 门诊患者中,淋球菌检出率均居首位,男性患者检出率高于女性患者;沙眼衣原体和解脲支原体的检出率及在 STD 门诊患者中的构成比,三地区间存在较大区别。聚合酶链反应适用于三种病原体的临床检测和流行病学调查。

关键词 聚合酶链反应 淋球菌 沙眼衣原体 解脲支原体

The Study of *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* Infection Status by Polymerase Chain Reaction Kong Fan-rong, Zhu Xue-jun, Wang Xue-hong, et al. Department of Dermatology, The First Hospital of Beijing Medical University, 100034

The study involved 355 specimens of STD clinic patients collected from Beijing, Shantou and Wuhan, for the detection of *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* by polymerase chain reaction. The results showed that the positive rate of *Neisseria gonorrhoeae* being the highest in the patients attending STD clinics from the three cities. The detection rate of *Neisseria gonorrhoeae* in male patients was higher than in females. The positive rates of *Chlamydia trachomatis* and *Ureaplasma urealyticum* in the three cities differed from each other greatly. Polymerase chain reaction was suitable for clinical detection and epidemiological study of the three kinds of STD pathogens.

Key words Polymerase chain reaction (PCR) *Neisseria gonorrhoeae* *Chlamydia trachomatis* *Ureaplasma urealyticum*

淋球菌、沙眼衣原体和解脲支原体感染为临床上常见的性传播疾病(STD)——淋病和非淋菌性尿道炎的病原体。我们采用聚合酶链反应(PCR)对取材自北京、汕头、武汉的355例 STD 门诊患者的标本进行了上述三种病原体的检测。结果报告如下。

材料与方 法

一、病例来源:1993年2月至1994年4月,分别采集了北京医科大学第一医院、汕头市皮肤性病防治所、武汉同济医科大学协和医院 STD 门诊101例、176例、78例患者的尿道(男性)或阴道(女性)的分泌物标本, -20℃保存,作为三种病原体的 PCR 检测标本。

二、标准菌株:淋球菌、脑膜炎球菌(中国药品生物制品检定所菌种室提供);沙眼衣原体 L₂血清型、McCoy 细胞(北京协和医院病毒室提供);解脲支原体1~14血清型、人型支原体(首都儿科研究所提供)。

三、DNA 模板的制备^[1]:将存有分泌物标本的1.5ml eppendorf 管中加入600μl 抽提液,65℃水浴20min;加入3mol/L 醋酸钠300μl,冰水浴20min;10000r/min 离心

1 北京医科大学第一医院皮肤科 100034

2 汕头市皮肤性病防治所

3 同济医科大学协和医院皮肤科

4 中国科学院遗传研究所

10min, 移上清入另一管; 加入异丙醇600μl, 室温20min; 12000r/min 离心15min; 70%及无水乙醇各洗沉淀一次, 风干, 溶于 50μlTE 液中。

四、PCR: 参照文献的设计, 合成了检测淋球菌、沙眼衣原体和解脲支原体的三对引物^[2~4]。PCR 采用25μl 反应体系, 共进行40个循环。

五、电泳检测: 取10μlPCR 产物在1.5%琼脂糖凝胶(含1μg/ml 溴化乙啶)中进行电泳, 在紫外灯下观察结果, 出现预期长度扩增片段为阳性。

结 果

三对 PCR 引物均能准确检出标准菌株中的相应阳性对照; 其余阴性对照菌株经 PCR 检测, 结果均呈阴性。淋球菌的扩增片段长度为633bp, 沙眼衣原体为517bp, 解脲支原体为225bp。

355例 STD 门诊患者中, 淋球菌检出84例, 检出率为23.7%; 沙眼衣原体检出37例, 检出率为10.4%; 解脲支原体检出47例, 检出率为13.2%。

不同性别 STD 门诊患者三种病原体的检出情况见表1。

表1 不同性别患者三种病原体阳性率

病原体	男性(120例)		女性(235例)	
	阳性例数	阳性率(%)	阳性例数	阳性率(%)
淋球菌	42	35.0	42	17.9
沙眼衣原体	13	10.8	24	10.2
解脲支原体	16	13.3	31	13.2

STD 门诊患者中, 检出淋球菌患者的年龄自1~67岁, 平均29.0±11.7岁; 检出沙眼衣原体患者年龄自17~43岁, 平均27.1±7.1岁, 检出解脲支原体患者的平均年龄自19~42岁, 平均29.3±5.4岁。

三个地区 STD 门诊患者中三种病原体的检出情况见表2。

表2 三个地区三种病原体阳性率(%)

病原体	北京	武汉	汕头
淋球菌	30.7(31/101)	29.5(23/78)	17.0(30/176)
沙眼衣原体	11.9(12/101)	15.4(12/78)	7.4(13/176)
解脲支原体	14.9(15/101)	6.4(5/78)	15.3(27/176)

注: 括号外数字为阳性率(%), 括号内分子为阳性例数, 分母为检测例数。

讨 论

淋球菌、沙眼衣原体、解脲支原体感染, 为常见的性传播疾病。我们采用 PCR 法对355例 STD 门诊患者的检测结果表明, 淋球菌的检出率为23.7%。在 STD 门诊患者中, 淋病的比例最高, 与西方发达国家非淋菌性尿道炎的比例不同。

此次调查中发现, 北京、汕头、武汉三个地区三种病原体的阳性率及其在 STD 门诊患者中所占的比例的排列次序有所区别。三个地区 STD 门诊患者淋球菌的检出率均居首位; 武汉地区 STD 门诊患者中沙眼衣原体的检出率明显高于解脲支原体的检出率; 汕头地区与此情况恰好相反; 而北京地区 STD 门诊患者中解脲支原体与沙眼衣原体的检出率相仿。这说明国内不同性病病原体的流行情况也存在一定区别。

调查中注意到, 三种病原体感染均集中于性活跃青壮年。男性淋球菌的检出率明显高于女性, 沙眼衣原体和解脲支原体两性患者的检出比例相仿。

三种病原体以淋球菌感染较易明确临床诊断, 沙眼衣原体和解脲支原体感染缺乏特征性临床表现, 较易漏诊或误诊。即使较易诊断的淋病, 如不作必要的实验室检查, 或检查手段不敏感, 也存在漏诊和误诊。如在84例淋球菌感染患者中, 18例临床诊断为尖锐湿疣, 霉菌性尿道炎及非淋菌性尿道炎等, 8例未予明确诊断。沙眼衣原体和解脲支原体感染, 则因为①缺乏特征性临床表现; ②实验室检查手段尚未普及; ③相当比例并发于其他临床较易诊断的疾病(如淋病、尖锐湿疣等), 使其更易漏诊和误诊。我们还注意到, 2

例临床诊断为性病恐怖症的患者,1例检出沙眼衣原体,1例检出解脲支原体。所以,我们认为临床性病恐怖症的诊断,应首先除外性病病原体感染的可能。

参 考 文 献

- 1 孔繁荣,朱学骏,陈洪,等. 聚合酶链反应与组织病理诊断尖锐湿疣的比较研究. 中华皮肤科杂志, 1993, 26 (6): 340.
- 2 林万明主编. PCR 技术操作和应用指南. 北京: 人民军

医出版社, 1993, 185~190.

- 3 Kluytmans JAJW, Niesters HGM, Mouton JW, et al. performance of a nonisotopic DNA probe for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. *J Clin Microbiol*, 1991, 29 (5): 2685.
- 4 Lee AH, Ramanujam T, Ware P, et al. Molecular diagnosis of *Ureaplasma urealyticum* septic arthritis in a patient with hypogammaglobulinemia. *Arth and Rheu*, 1992, 35 (4): 443.

(收稿: 1994-10-18 修回: 1994-12-17)

四川双流县献血员疟疾流行特点分析

张天德

双流县1990~1991年发生献血员疟疾流行,其特点分析如下。该地区10多年来疟疾发病率在1/万以下,1987年曾出现过数例输入性疟疾,但无继发病例,1988~1989年均无病例,毗邻乡镇也是低疟区。献血员疟疾罹患率高。四个乡镇罹患率在12.61%~26.03% ($\chi^2 = 25.40$, $P < 0.005$), 平均罹患率20.58% (236/1147), 人口计算发病率29.07/万 (236/81184)。发病高峰在冬季。1990年4月至1991年7月发生的236例疟疾,1990年10月至1991年2月所发生的病例就占71.61%, 高峰日在1991年1月12日。男性罹患率21.23%, 女性罹患率19.85% ($u = 0.68$, $P > 0.05$); 40岁以上罹患率20.58%高于30岁以下组和30~39岁组 ($\chi^2 = 17.09$, $P < 0.005$)。采全血不增加感染机会。单采血浆1039人,发生疟疾217例,罹患率20.89%, 既采血浆又献全血108人,发生疟疾19例,罹患率17.59% ($\chi^2 = 0.65$, $P > 0.25$)。加盐水稀释血球的大号针头改为一用一换后献血员疟疾迅速下降。1991年1月75例,2月16例,3月降为9例,8月开始无病例。该地区始终未见非献血员感染疟疾。

四川省献血站有数十个,但至今仅我县及毗邻县才有献血员患疟疾的报道,这些献血员都在同一血站献过血浆。如果献血员患疟疾与多次献血后免疫力下降有关,其它血站的献血员也应不例外地感

染疟疾,献全血者更能造成免疫力下降,罹患机会更高。而我县献全血者并未增加感染机会。献血员疟疾的流行特点主要证明与单采血浆有关,采血浆比采全血多一个回输血球的环节,回输血球又增加了交叉感染的机会。我县献血员疟疾的发病特点与河北、江苏等地报道有相似之处。加强防止交叉感染的措施后,疟疾迅速控制。以上这些,都充分说明与多次献血造成免疫力下降而患病的观点相悖。

本省间日疟以短潜伏期为主。我县献血员居住在低疟区甚至无疟区。1990~1991年16个月中献血员罹患率高达20.58%,高峰日在严冬1月12日。而同期非献血居民占绝大多数,却始终未发生疟疾。蚊媒选择性感染献血员是不可能的。冬季流行高峰,用蚊媒传播无法解释。因此,笔者认为,我县1990~1991年献血员疟疾,与单采血浆有关。相对说来,单采血浆过程复杂,受交叉污染的机会肯定比采全血多。传染源自然来自献血员中的带虫者,毗邻县血站的献血员既来自低疟区又来自高疟区,造成献血员回输血球前血液性交叉感染,这种结论,对献血员疟疾的流行特点容易解释。

(收稿: 1994-08-16 修回: 1994-11-09)

作者单位: 四川省双流县卫生防疫站 610200