

• 论 著 •

不良孕产患者宫颈分泌物解脲脲原体和沙眼衣原体 核酸检测及临床意义^{*}

杨佳佳¹, 李 涛², 周明莉¹, 赵 勇³, 梁树梅¹, 张彦懿¹, 黄江渝^{1△}

四川省成都市第三人民医院: 1. 临床医学检验部; 2. 妇产科; 3. 体检部, 四川成都 610031

摘 要: **目的** 分析不良孕产患者宫颈分泌物中解脲脲原体(UU)和沙眼衣原体(CT)感染情况及临床意义, 比较荧光探针聚合酶链反应(FQ-PCR)和实时荧光核酸恒温扩增检测技术(SAT)检测 UU、CT 核酸的性能差异。 **方法** 应用 FQ-PCR 和 SAT 分别检测 98 例不良孕产患者(观察组)及 38 例健康妇女(对照组)宫颈分泌物中 UU-DNA、CT-DNA 和 UU-RNA、CT-RNA, 并进行统计学分析处理。 **结果** 观察组 UU-DNA、CT-DNA 检出率和总检出率均高于对照组($P<0.05$)。在 <35 岁年龄段, 观察组 UU-DNA、CT-DNA 检出率和总检出率均高于对照组($P<0.05$); 在 ≥ 35 岁年龄段, 观察组 UU-DNA 检出率和总检出率均高于对照组($P<0.05$)。自发性流产、异位妊娠和不孕症患者的 UU-DNA、CT-DNA 检出率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。观察组中 UU-RNA 与 UU-DNA、CT-RNA 与 CT-DNA 检出率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 但在对照组中, UU-RNA 检出率明显高于 UU-DNA($P<0.05$), CT-DNA 与 CT-RNA 的检出率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。 **结论** 不良孕产患者宫颈分泌物中 UU 检出率较高。FQ-PCR 和 SAT 检测均能为临床诊断 UU 和 CT 感染提供依据, 而在无症状感染人群中, SAT 检测 UU 更具优势。

关键词: 解脲脲原体; 沙眼衣原体; 核酸扩增技术

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.11.020

中图法分类号:

文章编号: 1673-4130(2021)11-1368-04

文献标志码: A

Detection and clinical significance of ureaplasma urealyticum and chlamydia trachomatis nucleic acid in cervical secretion of patients with adverse pregnancy^{*}

YANG Jiajia¹, LI Tao², ZHOU Mingli¹, ZHAO Yong³, LIANG Shumei¹,
ZHANG Yanyi¹, HUANG Jiangyu^{1△}

1. Department of Clinical Medicine Laboratory; 2. Department of Gynecology and
Obstetrics; 3. Department of Physical Examination, the Third People's Hospital of
Chengdu, Chengdu, Sichuan 610031, China

Abstract: Objective To analyze the infection situation and clinical significance of ureaplasma urealyticum (UU) and chlamydia trachomatis (CT) in cervical secretion of patients with adverse pregnancy, and to compare the performance difference between fluorescent quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR) and simultaneous amplification and testing (SAT) in the detection of UU and CT nucleic acid. **Methods** UU-DNA, CT-DNA, UU-RNA and CT-RNA in cervical secretion from 98 patients with adverse pregnancy (the observation group) and 38 health women (the control group) were detected by using FQ-PCR and SAT respectively, and were statistically analyzed. **Results** The detection rates and the total detection rates of UU-DNA and CT-DNA in the observation group were higher than those in the control group ($P<0.05$). In the age group of <35 years, the detection rates and the total detection rates of UU-DNA and CT-DNA in the observation group were higher than those in the control group ($P<0.05$); In the age group ≥ 35 years, the detection rates and the total detection rates of UU-DNA in the observation group were higher than those in the control group ($P<0.05$). There were no significant differences in the detection rates of UU-DNA and CT-DNA among patients with spontaneous abortion, ectopic pregnancy and infertility ($P>0.05$). There were no significant differences in the detection rates of UU-RNA and UU-DNA, CT-RNA and CT-DNA in the obser-

^{*} 基金项目: 四川省医学会科研课题(S17010)。

作者简介: 杨佳佳, 女, 主管技师, 主要从事分子诊断研究。 [△] 通信作者, E-mail: jiangyuhuang@163.com。

本文引用格式: 杨佳佳, 李涛, 周明莉, 等. 不良孕产患者宫颈分泌物解脲脲原体和沙眼衣原体核酸检测及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(11): 1368-1371.

vation group ($P > 0.05$); But in the control group, the detection rate of UU-RNA was significantly higher than that of UU-DNA ($P < 0.05$), and there were no significant differences between the detection rate of CT-DNA and CT-RNA ($P > 0.05$). **Conclusion** The detection rate of UU in cervical secretions is higher in patients with adverse pregnancy. Both FQ-PCR and SAT detection can provide a basis for clinical diagnosis of UU and CT infections, and SAT detection of UU has more advantages in asymptomatic infections.

Key words: ureaplasma urealyticum; chlamydia trachomatis; nucleic acid amplification techniques

解脲脲原体(UU)和沙眼衣原体(CT)是引起人类泌尿生殖道感染常见的两种病原体,属于性传播疾病病原体,感染后可导致女性生殖道炎及盆腔炎,与自然流产、宫外孕、早产、不孕症等不良孕产结局密切相关,严重威胁育龄期女性生殖健康^[1-3]。近年来,女性生殖道 UU、CT 感染率逐年增高,研究感染与自然流产、宫外孕、早产等不良孕产及不育不孕的相关性也越来越受到重视。随着分子技术的不断发展和提高,目前已有多种方法检测上述病原体,荧光探针聚合酶链反应(FQ-PCR)广泛应用于 UU-DNA、CT-DNA 的临床检测^[4-5],目前有些实验室开始采用实时荧光核酸恒温扩增检测技术(SAT)检测 UU-RNA、CT-RNA^[6]。本研究收集本院妇产科 2018 年 6 月至 2020 年 5 月收治的不良孕产患者的资料和宫颈分泌物,使用 FQ-PCR 和 SAT 分别检测宫颈分泌物的 UU-DNA、CT-DNA 与 UU-RNA、CT-RNA,并对 UU、CT 感染与不良孕产的相关性进行分析探讨,以指导临床诊断和治疗。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 6 月至 2020 年 5 月本院 98 例不良孕产和不孕症女性患者作为观察组,年龄 19~47 岁,平均(29.86 ± 5.02)岁;其中自发性流产 62 例,异位妊娠 16 例,不孕症 20 例。另选取已婚体检健康女性 38 例作为对照组,年龄 23~40 岁,平均(30.58 ± 4.04)岁。2 组研究对象年龄差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准,所有研究对象均知情并签署知情同意书。

1.2 标本采集 所有标本均为女性宫颈分泌物。采用无菌窥阴器,充分显露宫颈,无菌棉拭子伸入宫颈口 1~2 cm,旋转 1 周,停留 5~10 s 后取出,将棉拭子置于无菌试管,密闭送检。

1.3 仪器与试剂 DA7600 实时荧光定量 PCR 仪(中山大学达安基因股份有限公司)及 FQ-PCR 用于 UU-DNA 和 CT-DNA 检测。LC COBAS Z480 实时荧光定量 PCR 仪(罗氏诊断产品上海有限公司)、MK-20 干式恒温仪(杭州奥盛仪器有限公司)及 SAT 用于 UU-RNA 和 CT-RNA 检测。PCR-荧光探针法 UU 和 CT 核酸检测试剂盒购自中山大学达安基因股份有限公司, RNA 恒温扩增法 UU 和 CT 核酸检测试剂盒购自上海仁度生物科技有限公司,试剂盒均在有效期内,均严格按试剂盒说明书进行操作。

1.4 方法

1.4.1 FQ-PCR 检测 UU-DNA 和 CT-DNA 用 1 mL 无菌生理盐水将棉拭子充分洗脱后挤干棉拭子,将全部液体转至 1.5 mL 离心管中,12 000 r/min 离心 5 min;去上清液,沉淀,加入 1 mL 无菌生理盐水充分混匀,12 000 r/min 离心 5 min;去上清液,沉淀,加入 50 μ L DNA 提取液充分振荡混匀,100 $^{\circ}$ C 恒温处理(10 ± 1)min,12 000 r/min 离心 5 min 后备用。同时设置阴性、临界阳性、强阳性对照和外部质控品。将 2 μ L 上清液加入 PCR 反应液中,93 $^{\circ}$ C 2 min,按 93 $^{\circ}$ C 45 s 到 55 $^{\circ}$ C 60 s 做 10 个循环,然后 93 $^{\circ}$ C 30 s 到 55 $^{\circ}$ C 45 s 做 30 个循环。结果判读严格按照试剂说明书进行。

1.4.2 SAT 检测 UU-RNA 和 CT-RNA 利用磁珠分离方法制备 RNA 模板,按照试剂盒说明书,设置阴性和阳性对照。取 400 μ L 加有保存液的分泌物标本和 100 μ L 核酸提取液混匀,60 $^{\circ}$ C 恒温 5 min,室温放置 10 min,置于磁珠分离器上静置 5 min,弃去液体,加入洗涤液洗涤 2 次,加入 40 μ L 核酸反应液,充分混匀。取 30 μ L 转移到反应管中,60 $^{\circ}$ C 10 min,42 $^{\circ}$ C 5 min,加入 42 $^{\circ}$ C 预热的 SAT 酶液,42 $^{\circ}$ C 实时恒温扩增 40 min。质量控制:按试剂说明书定期用临界弱阳性对照进行室内质量控制, $dt_{\text{阳性对照}} \leq dt_{\text{临界弱阳性对照}} \leq 35$; $dt_{\text{阴性对照}}$ 无数值或为 40;否则,实验视为无效需重新进行。结果判读严格按照试剂说明书进行。

1.5 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件对数据进行分析处理。计数资料以频数、率表示,组间比较采用 χ^2 检验或 F 确切概率法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组研究对象宫颈分泌物中 UU-DNA 和 CT-DNA 检出情况 观察组 UU-DNA、CT-DNA 检出率和总检出率高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。在观察组和对照组中,UU-DNA 检出率均明显高于 CT-DNA,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 2 组不同年龄段宫颈分泌物中 UU-DNA 和 CT-DNA 检出情况 在 < 35 岁年龄段,观察组 UU-DNA、CT-DNA 检出率和总检出率均高于对照组,观察组 CT-DNA 检出率也高于同组 ≥ 35 岁年龄段,差异均有统计学意义($P < 0.05$);在 ≥ 35 岁年龄段,观察组 UU-DNA 检出率和总检出率均高于对照组,差

异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 1 2 组研究对象宫颈分泌物中 UU-DNA 和 CT-DNA 检出情况比较[n(%)]				
组别	<i>n</i>	UU-DNA	CT-DNA	总检出
观察组	98	66(67.35)* [#]	7(7.14)*	73(74.49)*
对照组	38	9(23.68) [#]	1(2.63)	10(26.32)

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与 CT-DNA 比较,[#] $P<0.05$ 。

表 2 2 组不同年龄段宫颈分泌物中 UU-DNA 和 CT-DNA 检出情况比较[n(%)]				
组别	<i>n</i>	UU-DNA	CT-DNA	总检出
观察组	98			
<35 岁	85	56(65.88)*	7(8.24)* [△]	63(74.12)*
≥35 岁	13	10(76.92) [#]	0(0.00)	10(76.92) [#]
对照组	38			
<35 岁	32	7(21.88)	1(3.12)	8(25.00)
≥35 岁	6	2(33.33)	0(0.00)	2(33.33)

注:与对照组<35 岁年龄段比较,* $P<0.05$;与对照组≥35 岁年龄段比较,[#] $P<0.05$;与同组≥35 岁年龄段比较,[△] $P<0.05$ 。

2.3 不同临床症状患者 UU-DNA、CT-DNA 检测结果 自发性流产、异位妊娠和不孕症患者 UU-DNA、CT-DNA 检出率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 不同临床症状患者 UU-DNA、CT-DNA 检测结果[n(%)]			
临床症状	<i>n</i>	UU-DNA	CT-DNA
自发性流产	62	42(67.74)	5(8.06)
异位妊娠	16	11(68.75)	1(6.25)
不孕症	20	13(65.00)	1(5.00)

2.4 2 组 FQ-PCR 和 SAT 检测结果比较 观察组 UU-DNA 与 UU-RNA、CT-DNA 与 CT-RNA 检出率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);对照组 UU-RNA 检出率明显高于 UU-DNA,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 4 2 组 FQ-PCR 和 SAT 检测结果比较[n(%)]					
组别	<i>n</i>	UU-DNA	UU-RNA	CT-DNA	CT-RNA
观察组	98	66(67.35)	69(70.41)	7(7.14)	6(6.12)
自发性流产	62	42(67.74)	43(69.35)	5(8.06)	4(6.45)
异位妊娠	16	11(68.75)	12(75.00)	1(6.25)	1(6.25)
不孕症	20	13(65.00)	14(70.00)	1(5.00)	1(5.00)
对照组	38	9(23.68)	27(71.05)*	1(2.63)	1(2.63)

注:与同组 UU-DNA 比较,* $P<0.05$ 。

3 讨 论

育龄期女性性生活活跃,生殖道易感 UU、CT 等病原微生物,病原体可沿着生殖道上行蔓延,导致子

宫内膜炎及输卵管损伤,引起盆腔广泛粘连,对女性生殖道健康造成严重影响,并可导致不孕和流产等不良后果^[7-9]。女性感染 UU、CT 后常常无症状或症状轻微,从而忽略就医诊治,导致病情不良进展。目前,临床上通过各种实验检查,可明确 UU、CT 等病原体感染,指导临床诊断及治疗。

本研究采用 FQ-PCR 对 UU-DNA 和 CT-DNA 进行检测,观察组 UU-DNA、CT-DNA 检出率和总检出率均高于对照组,而且 2 组中 UU-DNA 检出率均明显高于 CT-DNA,差异均有统计学意义($P<0.05$),这与近年报道一致^[10-12]。临床上常常将 35 岁及其以上孕产妇称为高龄产妇,故在本研究中,以 35 岁为年龄划分界限,结果显示,不论在哪个年龄段,观察组 UU-DNA 检出率和总检出率均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。而观察组 CT-DNA 检出率在<35 岁年龄段不仅高于同龄段对照组($P<0.05$),还高于同组≥35 岁年龄段的不良孕产患者。这可能是因为<35 岁女性正值育龄较佳的阶段,性行为为活跃,增加了 CT 感染的概率^[13]。

不同临床症状的患者,如自发性流产、异位妊娠和不孕症患者中 UU-DNA 与 CT-DNA 检出率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),说明不良孕产和不孕症患者的感染概率相差不大,但是由于症状不明显,这种感染在不孕症患者中往往是潜伏性的,不易发现。有文献报道,经治疗后 UU 和 CT 转阴的患者,妊娠率明显高于未转阴者^[14],故对无症状或症状不明显的育龄期妇女进行 UU 和 CT 检测,具有重要意义。

本研究使用 FQ-PCR 和 SAT 分别检测病原微生物的 DNA 和 RNA。SAT 是将实时荧光检测技术和核酸恒温扩增技术相结合的一种新型 RNA 检测技术,具有很高的灵敏度和特异性^[15]。本研究发现,UU 核酸阳性检出率较高,观察组中 UU-DNA 与 UU-RNA 检出率相当,差异无统计学意义($P>0.05$),与石瑛等^[16]报道一致。观察组中 CT-DNA 与 CT-RNA 检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。但在对照组中,UU-RNA 检出率明显高于 UU-DNA ($P<0.05$)。说明在自发性流产、异位妊娠和不孕症患者中,FQ-PCR 和 SAT 两种技术对 UU 和 CT 的检出率相当,但在无症状的体检健康人群中,由于 SAT 的灵敏度高^[17-18],UU-RNA 的检出率更高。因此,SAT 在无症状感染人群中监测生殖道 UU 感染的优势较明显。

综上所述,不良孕产患者宫颈分泌物 UU 检出率较高。FQ-PCR 和 SAT 检测均能为临床诊断 UU 和 CT 感染提供依据。在无症状感染人群中,SAT 检测 UU 更具优势,有利于临床对 UU 感染者早发现、早诊断和早治疗,对保障妇女生殖道健康、降低不孕不

育发生率具有重要意义。

参考文献

[1] TSEVAT D G, WIESENFELD H C, PARKS C, et al. Sexually transmitted diseases and infertility [J]. Am J Obstet Gynecol, 2017, 216(1): 1-9.

[2] AHMADI A, KHODABANDEHLOO M, RAMAZANZ ADEH R, et al. Association between ureaplasma urealyticum endocervical infection and spontaneous abortion [J]. Iran J Microbiol, 2014, 6(6): 392-397.

[3] 非淋菌性尿道炎病原学诊断专家共识编写组. 中华医学会男科学分会. 非淋菌性尿道炎病原学诊断专家共识 [J]. 中华男科学杂志, 2016, 22(11): 1038-1043.

[4] 李平卫, 赵红英, 赵缜, 等. 女性泌尿生殖道感染患者解脲脲原体、微小脲原体与沙眼衣原体感染情况分析 [J]. 中国皮肤性病杂志, 2019, 33(8): 920-923.

[5] 赵红英, 赵缜, 曹国君, 等. 女性泌尿生殖道感染与脲原体、沙眼衣原体的相关性 [J]. 中国皮肤性病杂志, 2017, 31(3): 263-266, 280.

[6] 方伟祯, 蔡振华, 张银霞. SAT 技术在沙眼衣原体和解脲脲原体检测中的应用 [J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(5): 380-384.

[7] 宋洋. 探讨解脲支原体、沙眼衣原体感染与复发性自然流产的相关性 [J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(4): 799-801.

[8] MORAGIANNI D, DRYLLIS G, ANDROMIDAS P, et al. Genital tract infection and associated factors affect the reproductive outcome in fertile females and females undergoing in vitro fertilization [J]. Biomed Rep, 2019, 10(4): 231-237.

[9] 万优萍. 生殖道沙眼衣原体和解脲支原体与不孕不育症的相关性研究 [J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(14): 3276-

3278.

[10] 范雪娇, 吕敏仪, 孙茜, 等. 妇科疾病和不孕症患者泌尿生殖道感染情况分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(10): 1324-1326.

[11] PISCOPO R C, GUIMARÃES R V, UENO J, et al. Increase prevalence of endocervical Mycoplasma and Ureaplasma colonization in infertile women with tubal factor [J]. JBRA Assisted Reproduction, 2020, 24(2): 152-157.

[12] 吴敏娟, 胥萍, 李晋, 等. 苏州某医院皮肤性病门诊患者 4 种常见性传播疾病病原体感染状况及原因分析 [J]. 检验医学与临床, 2020, 17(7): 884-887.

[13] 窦晓青, 叶莺, 许江燕, 等. 妇科门诊生殖道感染调查分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(5): 1252-1254.

[14] 陶欣, 谷进, 陶淑芸, 等. 沙眼衣原体和解脲支原体感染与不孕关系的研究 [J]. 中国计划生育学杂志, 2002, 10(6): 356-358.

[15] 陈小波, 朱庆文, 徐爱萍, 等. 实时荧光核酸恒温扩增技术在解脲脲原体检测中的应用 [J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(23): 3348-3350.

[16] 石瑛, 王云凤, 路璐, 等. 实时荧光核酸恒温扩增技术在解脲脲原体检测中的临床应用价值 [J]. 检验医学, 2017, 32(11): 1043-1045.

[17] 石华, 欧阳斌, 黄亮亮, 等. RNA 恒温扩增技术检测沙眼衣原体、生殖支原体及解脲支原体在男科门诊中的临床价值 [J]. 中国性科学, 2019, 28(7): 138-141.

[18] 曾成龙, 冯婷, 闫丹, 等. 液体培养法、PCR 法和 SAT 法在解脲支原体检测中的应用比较 [J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2016, 32(7): 397-398.

(收稿日期: 2020-06-16 修回日期: 2021-04-18)

(上接第 1367 页)

[10] 闫海, 陈真, 刘江峰. 3D-slicer 软件辅助下神经内镜微创手术治疗高血压脑出血的疗效及对患者 ADL 评分、Fugl-Meyer 评分的影响 [J]. 立体定向和功能神经外科杂志, 2018, 31(5): 280-285.

[11] 黄龙, 茅国兴. 3D slicer 软件辅助下微创穿刺联合阿托伐他汀钙治疗高血压脑出血的疗效分析 [J]. 中国现代医学杂志, 2019, 29(24): 118-122.

[12] 许光涛, 赵宗茂, 孔亚波, 等. 3D-Slicer 辅助定位微创软通道手术治疗老年高血压脑出血的临床研究 [J]. 河北医科大学学报, 2018, 39(6): 658-661.

[13] 霍贵通, 杨医通, 孟祥杰, 等. 增强现实技术辅助神经内镜微创手术治疗高血压脑出血 [J]. 脑与神经疾病杂志, 2018, 26(4): 206-211.

[14] BANDI Z L, FULLER J B, BEE D E, et al. Extended clinical trial and evaluation of glucose determination with the Eastman Kodak Ektachem GLU/BUN Analyzer [J]. Clin Chemistry, 1981, 27(1): 27-34.

[15] ZHONG H H, LIU T Y, ZHANG S W, et al. Template-free synthesis of three-dimensional NiFe-LDH hollow mi-

croisphere with enhanced OER performance in alkaline media [J]. J Energy Chem, 2019, 33(1): 130-137.

[16] ZHOU Q H, SHEN C, CHEN G. Abdominal girth and dorso-sacral distance can be used to estimate lumbosacral cerebral fluid volume [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2018, 62(2): 234-241.

[17] 郭巍. CO₂ 点阵激光治疗体表浅表性瘢痕 [J]. 中国激光医学杂志, 2018, 27(2): 92.

[18] 孟宪军. 颅内血肿微创清除术治疗老年脑出血的疗效观察及血肿液中凝血酶含量对其预后的影响 [J]. 血栓与止血学, 2018, 24(5): 833-835.

[19] 闫海, 陈真, 刘江峰. 3D-slicer 软件辅助下神经内镜微创手术治疗高血压脑出血的疗效及对患者 ADL 评分、Fugl-Meyer 评分的影响 [J]. 立体定向和功能神经外科杂志, 2018, 31(5): 280-285.

[20] 孟伟, 孙来生, 陈新成, 等. 3D-slicer 软件辅助神经内镜下微创手术治疗高血压脑出血的疗效分析 [J]. 世界复合医学, 2019, 5(8): 193-195.

(收稿日期: 2020-10-27 修回日期: 2021-02-21)