

PCR 技术在三种男性性病检测中的应用

李凤梅

(广西中医学院第三附属医院, 柳州 545001)

摘要 本文用聚合酶链反应 PCR 技术对 369 例男性泌尿生殖道炎症患者进行淋球菌(NG), 解脲支原体(MPU)和沙眼衣原体(CT)的检测, 阳性率分别为 35.5%, 30.5% 和 11.6%, 同时, 我们对高度怀疑为淋病患者 74 例及 63 例非淋病性尿道炎患者进行细菌培养和 PCR 的同时检测, 淋病患者细菌培养阳性检测率为 31.1%, 与 92—94 年间所进行的培养检测结果基本一致, 均低于 PCR 检测结果(77.1%), 解脲支原体培养阳性率为 17.5%, 亦明显低于 PCR 结果(30.5%), 此外, 对同一患者进行 NG+MPU 和 MPU+CTPCR 检测, 发现约 40% 的淋病患者并发 MPU 感染, 而 MPU 和 CT 复合感染亦在 10% 左右。上述结果说明 PCR 方法在性病病原体的诊断中比细菌培养法更为可靠, 特别是在多种病原体复合感染情况下更为有效。

关键词 PCR, 细菌培养, 淋球菌, 解脲支原体, 沙眼衣原体, 复合感染等

实验室诊断淋菌, 非淋菌性泌尿生殖道感染的常规方法是细菌培养, 该法费时非费力而且阳性率不高, 常有漏检现象发生, 不利于疾病的及时治疗和控制, 聚合酶链反应(PCR)技术具有特异性强, 敏感度高, 操作简便快速等特点, 在临床病原微生物的诊断中正得到广泛的应用, 本文将 1992 年以来性病病原体培养及 PCR 检测结果进行对比分析, 说明 PCR 技术是性病防治工作中最为理想的检测方法。

材料与方法

一、标本来源与采集

1. 标本来源: 本院男科, 外科及皮科的男性尿道炎, 前列腺炎患者。

2. 标本采集: 用专用无菌棉拭子采取男性尿道炎分泌物。前列腺液或精液。用于培养者装入专用无菌试管中立即送检, 接种培养; 用于 PCR 检测者则装入盛有 1 ml 无菌生理盐水的一次性试管中, 旋涡混匀器振洗, 贴壁挤出水分, 弃去棉拭子, 分泌物悬液按 PCR 试剂盒说明书操作并进行扩增。

二、细菌培养

1. NG 培养: 挂敏培养基, 由广西皮防站提供。

2. MPU 培养: 解脲支原体检测试剂盒由湛江中美生物公司提供。

三、PCR 法

1. 仪器: 扩增仪-美国 PE 公司 DNA480 型。

电泳仪-北京东方仪器厂 DF-D 型。

紫外透射仪-温州市孚华分析仪器厂 WFH-201 型。

2. PCR 试剂: NGPCR Kit, MPUPCR Kit, CTPCR Kit 均由北京科海医疗生物工程公司提供, PCR 操作按试剂盒的说明书进行。

结果分析

一、性病病原体的培养检测

我院自 1992 年起对就诊的男性泌尿生殖道感染患者中一些高度怀疑者进行淋球菌和解脲支原体的培养检测。自 1992 年起至 1995 年 11 月止, 我们一共对 278 例标本进行淋球菌的

培养,培养阳性者为 87 例,检测阳性率为 31.3%,详细结果见表 1。

表 1 淋球菌培养结果分析

	92 年	93 年	94 年	95 年	合计
病例	53	72	79	74	278
阳性	11	27	26	23	87
阳性率	20.75%	37.5%	32.91%	31.08%	31.3%

从表中我们可以看出,自 1993 年开始,淋球菌培养阳性都维持在 30%的水平,与此同时,在 1994 年 9—12 月间我们对 65 例临床诊断为非淋球菌性尿道炎患者进行 MPU 的培养检测,共检测 11 例阳性,检出率为 17.5%,见表 3

二、性病病原体的 PCR 检测

我院自 1995 年 4 月建立 PCR 检测方法以来,在性病诊断中除高度怀疑者同时进行 PCR 和培养检测外,对其他一般患者也进行 PCR 检测,一共检测 369 例患者,其中 169 例检查淋球菌 NG,131 例检查解脲支原体 MPU,69 例检查沙眼衣原体,结果见表 2。

表 2 369 例标本的 NG MPU 和 CT 的 PCR 检测

	NG	MPU	CT	合计	月均
标本总数	169	131	69	369	46.13
阳性	60	40	8	108	13.50
阳性率	35.50%	30.53%	11.59%	29.27%	

从表中可以看出淋球菌和解脲支原体感染率分别为 35.50%和 30.53%,而沙眼衣原体感染率只有 11.59%,说明就诊患者泌尿生殖道感染的主要病原体是淋球菌和解脲支原体。

三、细菌培养与 PCR 法的比较分析

我们在 95 年 4—11 月间对 74 例高度怀疑为淋病患者同时进行细菌培养和 PCR 检测,9—12 月间对 63 例非淋病患者进行 MPU 的培养与 PCR 检测,结果见表 3。

表 3 细菌培养法与 PCR 法的比较

	NG		MPU	
	细菌培养	PCR	支原体培养	PCR
标本数	74	74	63	63
阳性	23	57	11	19
阳性率	31.3%	77.02%	17.46%	30.16%

无论是 NG 还是 MPU,培养阳性者 PCR 均为阳性,培养阴性 PCR 亦检测出许多阳性病例,阳性率远远高于培养法。

四、复合感染的检测

我们对 60 例 PCR 阳性的淋病患者进行 MPU 的 PCR 检测,其中 15 例 MPU 阳性,也就是说 40%的淋病患者同时感染解脲支原体。此外,我们对 48 例 MPU 或 CT 单项阳性的非淋病性尿道炎患者进行 MPU 与 CT 的 PCR 检测,两项均为阳性者有 5 例,说明这些患者同时有 MPU 和 CT 的复合感染。

讨论

近年来,随着经济的改革开放,人口流动性的增大,我国性病的发生率呈逐年上升的趋势,其中又以淋病的发展最为迅猛,如何准确及时地诊断性病病原体是有效的防治性病蔓延的关键,本文通过大量的临床病例分析,比较细菌培养法和 PCR 技术在淋球菌,解脲支原体和沙眼衣原体诊断的优势,旨在寻求一种有效的检测手段。

本院自 1992 年起对一些高度怀疑为淋病的患者进行淋球菌的培养,阳性检测率都维持在 30%左右,与临床诊断结果具有较大的差异,一些临床表现为典型的淋病特征的患者细菌培养结果却为阴性,这种现象是该方法本身的局限性所决定的,细菌培养的结果取决于待检标本中细菌的活力与密度,活力不高或密度过低都难以在培养基上产生菌落,从而产生假阴性结果,影响细菌活力的主要因素是临床用药治疗和标本过程,一般而言,性病患者来医院就诊以前多数都有用药史,这些药物或多或少地会对病原体活力产生影响,从而影响培养的

阳性检测率,与淋球菌一样,解脲支原体培养阳性率也较低,这方面的结果与国内外学者报道基本一致。

与培养法不同,PCR 技术是利用一对特异性引物,经过变性,退火和延伸的循环往复而特征性地扩增基因组一段 DNA 序列,可以检测极其微量的模板 DNA,(1)该法检测的是病原体核酸,因而不受病原体的活力影响,理论检测率高于细菌培养,我院自 95 年 4 月从北京科海医疗生物工程公司购进淋球菌,解脲支原体和沙眼衣原体的 PCR 诊断试剂盒。(2—4)对就诊患者进行 PCR 检查,三者的检出率分别为 35.5%,30.5%和 11.6%,高度怀疑患者同时进行细菌培养和 PCR 检测,PCR 检查阳性率明显高于细菌培养结果,所有培养阳性的 PCR 检测均为阳性,PCR 检测一般只需 2—3 小时,较培养法快速简便,由此可以说明 PCR 是一种较细菌培养法更为有效的检测手段,易于在临床上推广。

对同一患者进两项或三项性病病原体的

PCR 检测,发现复合感染较为普遍,淋病患者有近 40%的并发感染解脲支原体,非淋病性尿道炎患者中解脲支原体和沙眼衣原体复合感染率约占患者的 10%左右。这种复合感染的存在为性病的及时有效地治疗和控制带来一定的困难。因此,临床检测中对同一患者进行多项病原体的检查是非常必要的。

综上所述,PCR 方法是一个较细菌培养法更为有效的检测手段,在性病的防治工作中具有较为重要的地位,性病患者多种病原体的复合感染值得社会与医院的重视和关注。

* 本文得到中国科学院北京科海医疗生物工程公司协助,特此致谢!

参考文献

- [1] ambrook J. Fritsch EF Maniatis T. Molecular cloning, a laboratory manual. 2nd edited Cold spring Harbor, Coldspring Harbor. Laboratory. 1989.
- [2] Who B. Feng WG. et al. J. Clin Pathol 45:439—442, 1992.
- [3] Ossewaarde JM. J. Clin Microbiol 30:2122, 1992

Application of PCR technique in the detection of three kinds of sexually transmitted disease in male

Li FengMei

(The 3rd affiliated hospital of Guangxi Chinese traditional Medical College, Liuzhou 545001)

Abstract

We conducted polymerase chain reaction(PCR)technique in the detection of Neisseria gonorrhoeae (NG), Mycoplasma Urealytic(MPU) and Chlamydia trachomatis(CT) in the urogenital specimens from 369 male patients, with detection positivity of 35.5%, 30.5% and 11.6%, respectively. We also conducted simultaneously bacteria culture and PCR detection in the diagnosis of highly suspected samples. For the 74 gonococci specimens, 23 were culture positive and 57 were PCR positive. The culture results were in accord with that detected from 1992 to 1994. For the 63 nongonococci specimens, 11 were culture positive and 19 were PCR positive. The PCR detection of NG plus MPU or MPU plus CT in the same sample revealed that some 40% gonococci patients were coinfecting by MPU, and that some 10% nongonococci patients were coinfecting with MPU and CT. The results suggested that the PCR assay is a more reliable and promising diagnostic tool for detection of sexually transmitted disease, compared to bacteria culture assay, especially in the detection of coinfection of multiple pathogens.

Keywords: PCR, bacteria culture assay, Neisseria Gonorrhoeae, Mycoplasma Urealytic, Chlamydia trachomatis, coinfection.