

实时荧光核酸恒温扩增方法检测男性生殖道感染的临床观察

肖秀美¹, 李昂¹, 马啸龙², 刘宠¹, 李晶¹, 郑佳佳¹, 姚贝¹

[摘要] 目的 分析男性泌尿生殖道感染患者解脲脲原体(*Ureaplasma urealyticum*, UU)、淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*, NG)、沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*, CT)的检出特征。方法 采用实时荧光核酸恒温扩增技术检测2015年5月-2016年4月本院门诊泌尿生殖道感染男性患者尿液中的UU、CT和NG,按年龄和诊断进行细化分层研究。结果 2172例患者中,UU、CT和NG阳性率分别为27.12%、9.67%和3.96%,20岁以下人群NG阳性率最高(8.33%),尿道炎患者的CT、NG阳性率最高(14.77%和7.03%)不育症患者UU阳性率最高(26.89%)。结论 CT、NG和UU是男性生殖道感染的重要病原体,NG和UU检出率有升高趋势,宜加强监测。

[关键词] 沙眼衣原体;淋病奈瑟菌;解脲脲原体;实时荧光核酸恒温扩增技术;生殖道感染

[中图分类号] R 691.3 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1001-7089(2017)11-1217-03

[DOI] 10.13735/j. ejdv. 1001-7089. 201703061

Clinical Study of Male Urogenital Infection by Simultaneous Isothermal Amplification Assay

XIAO Xiu-mei¹, LI Ang¹, MA Xiao-long², LIU Chong¹, LI Jing¹, ZHENG Jia-jia¹, YAO Bei¹

(1. Department of Laboratory Medicine, Peking University, Beijing 100191, China; 2. Department of Blood Transfusion, Peking University, Beijing 100191, China)

[Abstract] **Objective** To characterize the prevalence of *Ureaplasma urealyticum* (UU), *Neisseria gonorrhoeae* (NG) and *Chlamydia trachomatis* (CT) in male outpatients with suspected urogenital infections. **Methods** The simultaneous isothermal amplification assay was applied to detect the three pathogens in first catch urine collected from May 2015 to Apr 2016, the prevalence were stratified by age and diagnosis. **Results** A total of 2172 samples were collected in a year, the positive rates of UU, CT and NG were 27.12%, 9.67% and 3.96%. The positive rate of NG among patients less than 20 years old was the highest (8.33%). The positive rates of CT and NG in patients with urethritis were the highest (14.77% and 7.03%); the prevalence of UU in patients complaining infertility was the highest (26.89%). **Conclusion** CT, NG and UU are the important pathogens for male urogenital infection, the prevalence of NG and UU increased significantly, the detection should be placed great emphasis for the higher prevalence.

[Key words] *Chlamydia trachomatis*; *Neisseria gonorrhoeae*; *Ureaplasma urealyticum*; Simultaneous isothermal amplification assay; urogenital infection

男性泌尿生殖道感染包括尿道炎、附睾炎、前列腺炎、包皮龟头炎等,临床表现亦非常复杂,病原呈多样化。解脲脲原体(*Ureaplasma urealyticum*, UU)、淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*, NG)、沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*, CT)是常见的病原体,其发病率逐年增加,尤其是对一线药物耐药的淋病奈瑟菌,已引起广泛的关注^[1]。沙眼衣原体检测对于女性尤其是孕妇有重要临床意义,如果感染则可能导致严重并发症,甚至危及新生儿生命^[2],因感染后常无明显症状,所以美国和一些欧洲国家建立了女性沙眼衣原体筛查项目^[3]。上述病原体感染后如不及时或进行不适当的治疗,可引起慢性感染甚至全身播散性感染,尤其是男性感染后可无症状或症状不明显,不及

时治疗可传播给性伴侣,因此需加强检测。目前报道的不同地区疾病流行病学特征有很大差异,本地的病原监测数据对准确估计当地疾病发病率以及疾病预防和治疗非常重要。本研究回顾性分析了本院门诊男性泌尿生殖道感染患者的上述病原检测阳性率,同时对阳性患者的年龄和诊断进行分层分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择2015年5月-2016年4月在北医三院男科、泌尿外科、皮肤科门诊首次就诊的男性,筛选泌尿生殖道感染的患者和无症状体检者共2172例,综合患者的临床症状、体征、实验室检查和辅助检查等以明确诊断,诊断类型包括尿道

[作者单位] 1. 北京大学第三医院检验科,北京 100191; 2. 北京大学第三医院输血科,北京 100191

炎、精囊炎、慢性前列腺炎、包皮龟头炎、勃起功能障碍、不育症^[4]。患者年龄 15~79 岁,中位年龄 31 岁。取晨尿或长时间憋尿后的首段尿液 0.5mL,加入 0.5mL 保存液后进行检测,也可取尿道分泌物标本。

1.2 方法 采用实时荧光核酸恒温扩增技术(Simultaneous Amplification and Testing ,SAT) 检测,荧光 PCR 仪为 ABI7500 型,CT,NG,UU 核酸检测试剂盒均购自上海仁度生物科技有限公司。按照试剂盒和仪器操作说明书进行操作,扩增条件为 42℃/min 40 个循环,荧光素通道设定为 FAM,dt 值 ≤35 判断为阳性。

1.3 统计分析 用 SPSS 17.0 统计软件,采用卡方检验分析各病原阳性率的差异 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 感染类型分布 2 172 例尿液标本中,800 例检测结果阳性(36.83%),UU,CT 和 NG 的阳性率分别为 27.12%、9.67% 和 3.96%。单独感染类型中 UU 感染率明显高于 CT($\chi^2 = 263, P < 0.01$) 和 NG($\chi^2 = 389, P < 0.01$),阳性率分别为 23.62%、6.12%、3.22%。混合感染类型以 CT + UU 最高,阳性率 3.13% ($\chi^2 = 48.50, P < 0.01$),NG 和 CT 混合感染的比例仅为 0.37%,与 NG 和 UU 混合感染比例相近(0.32%),三种病原均检测阳性的最低,为 0.05%。

2.2 不同年龄段 CT,NG 和 UU 阳性率 按年龄段分组分析的各病原体阳性率结果见表 1。26~30 岁年龄段送检的样本数最多,其次是 31~35 和 21~25 岁年龄段。41~45 岁年龄段患者的 UU、CT 阳性率最高,分别为 34.48%、10.92%,≤20 岁患者的 NG 阳性率最高,阳性率为 8.33%。50 岁以上的单独 UU,

NG 和 CT 阳性率较低。各年龄段间相比差异无显著统计学意义。

表 1 不同年龄段患者 CT,NG 和 UU 阳性率 例(%)

Tab.1 The positive rate of CT,NG and UU among different ages of patients Case (%)

Age	Case	UU	NG	CT
≤ 20	36	10(27.78)	3(8.33)	3(8.33)
21~25	325	83(25.54)	21(6.46)	35(10.77)
26~30	620	159(25.65)	17(2.74)	55(8.87)
31~35	541	151(27.91)	25(4.62)	52(9.61)
36~40	268	75(27.99)	6(2.24)	29(10.82)
41~45	174	60(34.48)	7(4.02)	19(10.92)
46~50	97	31(31.96)	1(1.03)	9(9.28)
51~55	57	15(26.32)	4(7.02)	5(8.77)
≥56	54	5(9.26)	2(3.70)	3(5.56)

2.3 不同年龄患者的 CT,NG 和 UU 阳性率 19~54 岁年龄段中,本研究分组的每个年龄患者送检标本例数均超过 20 例,UU,CT 和 NG 阳性率分布情况见图 1,样本数 ≥40 个年龄段患者的 UU,CT 和 NG 阳性率趋于稳定,样本数 ≤40 个年龄段患者的阳性率波动明显。UU 阳性率多在 20.1% 以上,45 岁最高(49.89%),52 岁最低(8.34%);CT 阳性率约为 10%,高峰为 42 岁(23.52%);NG 阳性率最低,多数为 2.01%,20~25 岁年龄组的阳性率较高,均在 4% 以上。52 岁年龄组阳性率最高(25.35%),其次为 20 岁年龄组的阳性率最高(11.84%)。

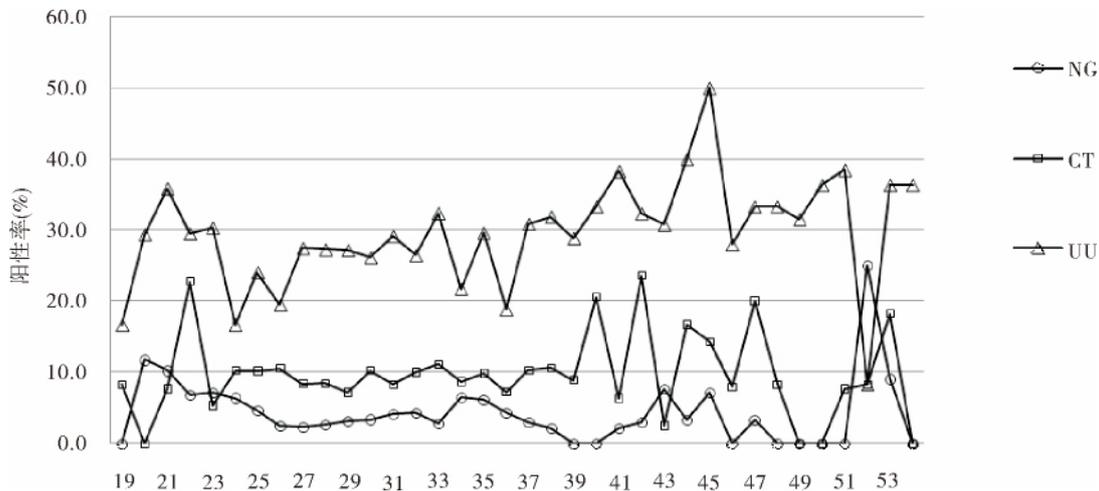


图 1 不同年龄患者的 CT,NG 和 UU 阳性率

Fig.1 The positive rate of CT,NG and UU inpatients of different ages

2.4 不同诊断类型患者的 UU,NG 和 CT 阳性率 按照患者诊断分类,分析不同原因就诊的患者 UU,NG 和 CT 阳性率,排除诊断不明的病例 322 例,结果见表 2。尿道炎患者 CT,NG 阳性率最高,分别为 14.77% 和 7.03%,明显高于其他患者(体检人群 UU 除外);不育症患者的 UU 阳性率最高为 26.89%,明显高于精囊炎和慢性前列腺炎人群;精囊炎患者的 UU,CT 阳性率均最低。无症状体检的人群 UU 阳性率较高(22.92%)。

3 讨论

UU,NG 和 CT 是男性泌尿生殖道感染的重要病原体,临床表现复杂多样,可有尿道炎、精囊炎、前列腺炎、包皮龟头炎等,严重者可发生全身播散性感染^[1]。NG,CT 感染可能会增加患者对 HIV 的易感性。CT 感染对女性有更重要的临床意义,可出现产后子宫内膜炎和新生儿结膜炎、肺炎。男性下生殖道正常菌群中常检测到 UU,性活跃者常有较高的定植率。近来已

被细分为 UU 和 *Ureaplasma parvum* (UP) 2 个种, UU 有致病意义, 而 UP 临床意义较小, 我们的研究中使用的方法不能区分上述两个种。Zhang^[5] 进行的一项 meta 分析发现, UU 可导致下尿道感染, 是男性尿道炎的病原菌之一。UU, NG 和 CT 的早期及时准确的诊断有助于降低疾病的发病率。核酸扩增检测技术 (nucleic acid amplification tests, NAATs) 被认为是首选, 有较好的敏感性和特异性, 常用首段尿标本^[1]。

表 2 不同诊断患者的 CT, NG 和 UU 阳性率 例 (%)

Tab. 2 The positive rate of CT, NG and UU in different diagnostic groups Case (%)

Diagnosis	Case	UU	NG	CT
Erectile dysfunction	85	19 (22.35)	1 (1.18)	5 (5.88)
Urethritis	555	132 (23.78)	39 (7.03) ^b	82 (14.77) ^a
Infertilitas	119	32 (26.89) ^c	3 (2.52)	10 (8.40)
Spermatocystitis	39	5 (12.82)	0	1 (2.56)
Symptomless crowd	48	11 (22.92)	0	4 (8.33)
Chronic prostatitis	935	187 (20.00)	9 (0.96)	68 (7.27)
Wrapping balanitis	69	14 (20.29)	1 (1.45)	5 (7.25)

Note: ^a $P < 0.01$, compared with other group sexcept the symptomless crowd group; ^b $P < 0.01$, compared with other groups; ^c $P < 0.01$, compared with the spermatocystitis group and chronic prostatitis group

本研究主要检测病原的 RNA, 如果检测阳性可提示病原体处于活性状态。本研究发现 UU 阳性率最高, 与前两年相比, 最近 1 年标本送检量增加, UU 阳性率也明显升高^[6], 与国内外其他研究结果相近, 土耳其一项采用多重 PCR 方法检测的研究中发现男性尿道炎患者 UU 阳性率为 28.3%^[7]。本研究中 CT 阳性率为 9.67%, 最近一年与前两年数据变化不大^[6], 超过三成成为混合感染, 与国内外其他文献报道相近。美国一项筛查研究发现 40 万男性中 CT 阳性率为 7%, 女性为 4%, 性病诊所就诊的患者阳性率高达 18% ~ 20%^[2]。美国疾病控制中心出版的《发病率与死亡率周报》出于有效性和费用效益比的考虑, 不推荐男性常规 CT, 但对特定人群如就诊青少年诊所和性病诊所的男性建议筛查 CT^[1]。本研究中 NG 阳性率为 3.96%, 较前两年相比明显升高^[6]。随着 NG 分离率的增加, 对青霉素、四环素、喹诺酮类药物的耐药性也逐渐增加。近 10 年来对头孢克肟呈低敏感性 (最低抑菌浓度 $\geq 0.25 \mu\text{g}/\text{mL}$) 的淋病奈瑟菌株在世界范围内不断增加, 甚至出现了耐药菌株^[8], 使得人们对淋病奈瑟菌的分离和耐药性极为关注, 因此, 需加强早期准确的病原检测。

按年龄段统计, 发现 26 ~ 30 岁是送检标本量最大的年龄段, 与该年龄段为性活跃期有关, 其次是 31 ~ 35 岁和 21 ~ 25 岁, 低于 20 岁和 51 岁以上患者送检较少。20 岁以下患者 NG 发病率最高, 达 8.33%。Karen 的研究结果相近^[2], 发现 17 ~ 23 岁青年性活跃人群 CT 阳性率最高, 可达 15%, 之后随年龄增加而下降, 本研究中该年龄段标本数量较小, 尚需继续增加样本量进一步验证。

按患者诊断分类, 发现尿道炎患者 NG, CT 阳性率最高 (分别为 7.03%、14.77%)。美国 5% ~ 20% 的尿道炎属于淋球菌性尿道炎, 阳性率因不同地区、性别、年龄和临床表现而异; 男性非淋菌性尿道炎中 CT 是最常见的病原, 占 15% ~ 40%, 在年轻人群更高^[9]。UU 在无症状人群中检测阳性率可达 30% ~ 40%, 它与尿道炎、不育症的关系尚待证实。有研究发现 UU 和 CT 感染均为男性不育的危险因素, 感染者不育风险分别增加 5.03 倍和 4.34 倍^[10]。本研究也发现不育症患者 UU 阳性率最高, 但与尿道炎、体检、包皮龟头炎和性功能障碍人群无明显差别, 仅明显高于慢性前列腺炎和精囊炎患者。但本研究检测方法存在局限性, 不能区分 UU 和 UP, 因此阳性率高于实际数据。无症状体检患者 CT, UU 阳性率较高, 因为无症状人群感染后如不干预可继续感染性伴侣, 增加感染率, 因此对性活跃期人群和备孕女性及其伴侣需加强检测。

本研究中男性患者送检标本远高于女性, 多为泌尿外科、男科和生殖医学科, 女性标本量少, 因 CT 和 NG 可能对孕期妇女、胎儿及婴儿有严重危害, 因此建议妇产科医师重视对孕妇 CT 和 NG 的筛查。

[参 考 文 献]

- [1] John RP, Julius S, Charlotte AG, et al. Recommendations for the Laboratory-Based Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*-2014 [J]. MMWR Recomm Rep, 2014, 63(0): 1-19.
- [2] Karen W, Hoover, Guoyu Tao, et al. Body suboptimal adherence to repeat testing recommendations for men and women with positive *Chlamydia* tests in the United States [J]. 2008-2010 Clin Infect Dis, 2013, 56(1): 51-57.
- [3] U. S. Preventive Services Task Force. Screening for chlamydia infection U. S. Preventive Services Task Force recommendation statement [J]. Ann Intern Med, 2007, 147(2): 128-134.
- [4] 郭应禄. 男科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 1594-1599.
- [5] Zhang N, Wang R, Li X, et al. Are *Ureaplasma* spp. a Cause of Non-gonococcal Urethritis? A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. PLoS One, 2014, 9(12): e113771.
- [6] 肖秀美, 高爽, 杨旭, 等. 2998 例男性患者解脲脲原体、淋病奈瑟菌和沙眼衣原体感染调查分析 [J]. 中国男科学杂志, 2016, 30(1): 21-24.
- [7] Esen B, Gozalan A, Sevindi DF, et al. *Ureaplasma urealyticum*: the presence among sexually transmitted diseases [J]. Japanese Journal of Infectious Diseases, 2017, 70(1): 75-79.
- [8] Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhoea? Detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55: 3538-3545.
- [9] Wetmore CM, Manhart LE, Lowens MS, et al. Demographic, behavioral, and clinical characteristics of men with nongonococcal urethritis differ by etiology: a case-comparison study [J]. Sex Transm Dis, 2011, 38: 180-186.
- [10] 杨华君, 惠亚, 施尚鹏, 等. 解脲脲原体和沙眼衣原体感染对男性不育影响的 Meta 分析 [J]. 中国男科学杂志, 2015, 29(5): 36-42.

[收稿日期] 2017-03-15 [修回日期] 2017-05-24