

扬州市性传播疾病患者支原体、衣原体、淋病奈瑟菌及阴道加特纳菌感染情况的研究

孙蓉 孙峰 唐尧 顾建建 张新华 郑陆辛 时祝帅

【摘要】 目的 研究扬州市男性性传播疾病(STD)患者支原体、衣原体、淋病奈瑟菌及阴道加特纳菌的感染情况。方法 收集男性 STD 患者病灶拭子标本进行解脲脲原体(Uu)、人型支原体(Mh)、肺炎支原体(Mpn)、生殖支原体(Mg)、发酵支原体(Mf)、穿通支原体(Mpe)、梨支原体(Mpi)、沙眼衣原体(Ct)、肺炎衣原体(Cpn)、鹦鹉热衣原体(Cps)、淋病奈瑟菌(Ng)和阴道加特纳菌(GV)等 12 种病原体作巢式聚合酶链反应(nPCR)检测,并对 Ng 阳性者进行了产青霉素酶淋病奈瑟菌(PPNG)检测。结果 Uu、Mh、Mpn 和 Mg 4 种支原体阳性率分别为 64.5%、27.6%、26.3%、18.4%,Mf 和 Mpe 为 2.6%,Mpi 未检出;Ct 为 31.6%,Cpn 和 Cps 无阳性病例检出;Ng 为 36.8%,其中 PPNG 占 14.3%;GV 阳性率为 15.8%。淋球菌阳性的男性 STD 者与淋球菌阴性者中支原体核酸检出率差异有显著性($\chi^2 = 3.848$, $P < 0.05$)。结论 扬州市男性 STD 患者支原体、衣原体、淋病奈瑟菌、阴道加特纳菌感染率较高。在临床诊疗中应重视淋球菌、衣原体、支原体和阴道加特纳菌的检测,使患者能获得正确诊断与合理治疗。

【关键词】 性传播疾病;支原体;衣原体;淋病奈瑟菌;阴道加特纳菌

Studies on the infection status of seven species *Mycoplasma*, three species of *Chlamydia*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Gardereella vaginalis* in 76 patients with sexual transmitted diseases SUN Rong*, SUN Feng, TANG Yao, GU Jian-jian, ZHANG Xin-hua, ZHENG Lu-xin, SHI Zhu-shuai. *Department of Prevent Medicine, Yangzhou University Medicine College, Yangzhou 225001, China

【Abstract】 Objective To study the infectious status of seven species of *Mycoplasma*, three species of *Chlamydia*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Gardereella vaginalis* in the 76 male sexual transmitted disease (STD) patients in Yangzhou city. **Methods** Twelve species of pathogens including *Ureaplasma urealyticum* (Uu), *Mycoplasma hominis* (Mh), *Mycoplasma pneumoniae* (Mpn), *Mycoplasma genitalium* (Mg), *Mycoplasma fermentans* (Mf), *Mycoplasma penetrans* (Mpe), *Mycoplasma prium* (Mpi), *Chlamydia trachomatis* (Ct), *Chlamydia pneumoniae* (Cpn), *Chlamydia psittaci* (Cps), *Neisseria gonorrhoeae* (Ng) and *Gardereella vaginalis* (GV) were detected by nested polymerase chain reaction including PPNG. **Results** The positive rates of Uu, Mh, Mpn, Mg, Mf, Mpe, Ct, Ng were 64.5%, 27.6%, 26.3%, 18.4%, 2.6%, 2.6%, 31.6%, 36.8%, in which *Penicillinase*-producing *neisseria gonorrhoeae* (PPNG) accounted for 14.3%, GV 15.8%. No Mpi, Cpn or Cps were found. There was more significant therapeutic effects on the detectable rate of *Mycoplasma* nucleic acid between positive gonococcus and negative gonococcus in male STDs patients ($\chi^2 = 3.848$, $P < 0.05$). **Conclusion** The infection rates of *Mycoplasma*, *Chlamydia*, Ng and GV were high among male STD patients in Yangzhou city. In clinical practice, more attention should be paid on correct diagnosis and treatment for patients, with *Gonococcus*, *Chlamydia*, *Mycoplasma* and GV.

【Key words】 Sexual transmitted disease; *Mycoplasma*; *Chlamydia*; *Neisseria gonorrhoeae*; *Gardereella vaginalis*

性传播疾病(STD)患者解脲脲原体(*Ureaplasma urealyticum*, Uu)、沙眼衣原体

(*Chlamydia trachomatis*, Ct)和淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*, Ng) 3 种病原体感染状况的研究已有较多的报道。然而,人们发现支原体中除 Uu 外,还有人型支原体(*Mycoplasma hominis*, Mh)、肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*, Mpn)、生殖支原体(*Mycoplasma genitalium*, Mg)、发酵支原体

作者单位 225001 扬州大学医学院预防医学教研室(孙蓉、孙峰、唐尧),临床医学系(顾建建),扬州市皮肤病防治所(张新华、郑陆辛、时祝帅)

(*Mycoplasma fermentans*, Mf), 穿通支原体(*Mycoplasma penetrans*, Mpe) 和梨支原体(*M. prium*, Mpi)^[1,2]。衣原体中除 Ct 外, 肺炎衣原体(*Chlamydia pneumoniae*, Cpn) 和鹦鹉热衣原体(*Chlamydia psittaci*, Cps)^[3]等是否在人类生殖道定植或感染值得研究。阴道加特纳菌(*Gardnerella vaginalis*, GV) 是 1955 年由 Gardner 等首次报道, 并认为是非特异性阴道炎的病因之一。为了解我国 STD 患者中上述病原体的感染情况, 我们对扬州市 76 例男性 STD 患者进行了 Uu、Mh、Mpn、Mg、Mf、Mpe、Mpi 7 种支原体以及 Ct、Cpn、Cps 3 种衣原体和 Ng、GV 共 12 种病原体的检测。还对 Ng 阳性者进行了产青霉素酶淋病奈瑟菌(*Penicillinase-producing neisseria gonorrhoeae*, PPNG) 检测。现将结果报道如下。

对象与方法

1. 研究对象: 为 2000 年 1~12 月扬州市皮肤性病防治所就诊的 STD 患者, 共 76 例, 年龄 21~58 岁。他们中大多数承认有不洁性交所, 主要就诊症状为: 尿痛、尿道有脓性分泌物、前尿道刺痛、刺痒、排尿不适、尿道口晨起有糊口现象等。性病诊断依据卫生部防疫司《性病防治手册》有关标准^[4]。76 例 STD 患者中, 有 9 例梅毒、28 例淋病、11 例尖锐湿

疣、26 例非淋菌性尿道炎、2 例为其他性病。

2. 检测方法:

(1) 标本采集与保存: 患者就诊时用钢针棉拭子深入尿道至 2~4 cm, 旋转并停留 30 s 后取出标本。置入内含 1~2 ml 生理盐水洁净管内盖紧, 放入 -20℃ 冰箱保存待检。

(2) 标本处理: 从待检标本中吸取 400 μl 混悬液移入 0.5 ml 离心管内, 加裂解液 A 50 μl, 裂解液 B 2 μl, 置 55℃ 消化 1 h 后, 改置 95℃ 5 min, 离心 10 000 r/min 30 s。上清液即为各种支原体、衣原体、Ng 和 PPNG 巢式聚合酶链反应 (nPCR) 检测模板。

(3) 核酸检测: 各种病原菌核酸检测均采用 nPCR 方法, 各种支原体和衣原体 nPCR 的靶基因分别为各自的 16S rRNA 基因; Ng nPCR 的靶基因为 CppB, PPNG nPCR 的靶基因为其特有的耐药质粒基因; GV nPCR 的靶基因为 23S rRNA 基因。试剂盒由无锡克隆遗传技术研究所提供, 按说明书操作。外套采用支原体、衣原体等通用引物扩增, 内套为相应病原体种特异性引物扩增。引物序列见表 1。方法学考核及具体操作步骤参照文献^[5-8]。本试验同时对 Mf、Mpe 和 Ct 各 1 例 nPCR 阳性产物进行了直接全自动 DNA 测序, 以进一步作准确性考核。

表1 STD 患者标本各种病原体 nPCR 引物序列及终产物长度

病原体	外套引物	内套引物	长度 (bp)
Uu	P1 5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAGC-3' P2 5'-ATTACCGCGGCTGCTGGAG-3'	P3 5'-CATGTAAGTTAGTTGCTGAC-3'; P4 5'-ACGACGTCCATAAGCAACT-3';	456
Mh		P3 5'-TTATCAACGGTTTATCAGC-3' P4 5'-CGTATATATGCAAGACG-3'	335
Mg		P3 :GCCATATCAGCTAGTTGGT P4 :CTCCAGCCATTGCCTGCTA	242
Mf		P3 5'-GAAGCCTTCTTGGCTGGAG-3' P4 5'-ACAAAATCATTTCTATTTC-3'	272
Mpe		Mpe1 5'-CATGCAAGTCGGACGAAGCA-3' Mpe2 5'-AGCATTTCTCTTCTTACAG-3'	410
Mpi		P3 :ATACATGCAAGTCGATCGGAT P4 :ACCCTCATCCTATAGCGG	180
Ct	P1 5'-GCCATGCAAGTCGAACGGAA-3' P2 5'-GCTGGCACGGAGTTAGCCG-3'	P3 5'-CGATGATTTGAGCGTGTGTAGCG-3' P4 5'-ATACGAGCCAGCACTCGAATTTTC-3'	412
Cpn		P3 5'-GAACGGATAGAACAAGAAGA P4 5'-GAACCTTGGACAGGTATTAG	378
Cps		P3 5'-AGTGGCGGAAGGTTACTAA-3' P4 5'-CAATCCGCCTAGACGTCAAT-3'	214
Ng	P1 5'-AGTTATCTACACGACGG-3' P2 5'-GGCTACTATTCACTCT-3'	P3 5'-AGTTATCTACACGACGG-3' P4 5'-TTGAAGAAGTTGCAATTGCAAACGGCCAGT-3'	456
GV	P1 5'-CACCAGGAGCATATACAGA-3' P2 5'-TCTTCTTCTGGTGGAAA-3'	P3 5'-TTTCTGGAGGGTTTCGATTCTGG-3' P4 5'-TACAAGCTGATAGACCGG-3'	433

结 果

讨 论

1. nPCR 检测结果 :76 例男性 STD 患者中支原体、衣原体、Ng 及 GV 感染情况见表 2。

表2 扬州市 76 例男性 STD 患者 12 种病原体检测结果

病原体	阳性		病原体	阳性	
	例数	率(%)		例数	率(%)
Uu	49	64.5	Mpi	0	0.0
Mh	21	27.6	Ct	24	31.6
Mpn	20	26.3	Cpn	0	0.0
Mg	14	18.4	Cps	0	0.0
Mf	2	2.6	Ng	28	36.8
Mpe	2	2.6	GV	12	15.8

在 76 例患者样本中,7 种支原体感染阳性数为 55 例,感染率为 72.4%。3 种衣原体感染阳性数为 24 例,感染率为 31.6%。淋病奈瑟菌感染数为 28 例,感染率为 36.8%。阴道加特纳菌感染数为 12 例,感染率为 15.8%。

28 例淋球菌阳性的男性 STD 患者中有 22 例检出支原体核酸,阳性率为 78.6%。48 例淋球菌阴性的男性 STD 患者中有 27 例检出支原体核酸,阳性率为 56.3% ($\chi^2 = 3.848, P < 0.05$)。

28 例淋球菌阳性者的尿道拭子标本经 nPCR 检出 4 例为淋球菌 β -内酰胺酶基因阳性,即为 PPNG,占全部淋球菌感染者的 14.3%。

2. 特异性试验:将获取的 12 种病原体标准株菌体经蛋白酶 K 消化并灭活后分别作 nPCR 的模板液进行扩增,均出现清晰明亮的相应阳性条带,而其他参与特异性试验的微生物均不能扩增出任何条带。7 种支原体特异性试验结果见表 3。

表3 扬州市 79 例患者 7 种支原体 nPCR 扩增特异性考核

支原体菌种	nPCR						
	Uu	Mh	Mpn	Mg	Mf	Mpe	Mpi
Uu(T960 ^T)	+	-	-	-	-	-	-
Mh(PG21 ^T)	-	+	-	-	-	-	-
Mpn(FH ^T)	-	-	+	-	-	-	-
Mg(G37 ^T)	-	-	-	+	-	-	-
Mf(PG18 ^T)	-	-	-	-	+	-	-
Mpe(GTU54 ^T)	-	-	-	-	-	+	-
Mpi(HRC70-159 ^T)	-	-	-	-	-	-	+

3. 全自动 DNA 测序结果:各 1 例单纯 Mf、Mpe 和 Ct 感染 nPCR 阳性产物经直接全自动 DNA 测序,测得序列与美国 Genbank 核酸数据库登录的序列完全一致。

对扬州市 76 例男性 STD 患者 12 种病原体检测结果发现,支原体检出率较高。其中 Uu、Mh、Mpn、Mg 4 种支原体阳性率在 18.4% ~ 64.5%,并经全自动 DNA 测序证实扬州市男性 STD 患者存在有 Mf 和 Mpe 感染者。Mf、Mpe 因能促进艾滋病病毒(HIV)进入宿主细胞和复制被认为是 HIV 感染的协同因子^[9],我国已从艾滋病患者体内分离到 Mf 和 Mpe^[10]。STD 患者是 HIV 感染的高危人群,已感染 Mf 或/和 Mpe 的 STD 患者一旦感染 HIV 则后果严重。本组 STD 患者中未发现 Cpn、Cps 阳性者,但 Ct 感染率不低(31.6%)。

76 例男性 STD 患者 Ng 阳性 28 例,其中 PPNG 4 例,占 Ng 阳性数的 14.3%(4/28)。28 例淋球菌阳性的男性 STD 患者中有 22 例检出支原体核酸,阳性率为 78.6%。48 例淋球菌阴性的男性 STD 患者中有 27 例检出支原体核酸,阳性率为 56.3%,差异有显著性。PPNG 表型为对青霉素耐药,但人们还发现 PPNG 多数同时还耐四环素类和喹诺酮类抗生素,仅对大环内酯类表现为敏感。PPNG 检测对临床用药有指导意义。淋菌合并支原体感染占 78.6%,这种高比例的混合感染的原因可能为:①淋菌感染使泌尿生殖道黏膜受损,使支原体等非淋病病原体更易进入宿主细胞;②抗菌药物的大量、不规则应用,导致泌尿生殖系统微环境变化、菌群失调及易感性增高,从而使同时感染其他非淋病病原体的机会增多。

GV 为革兰阴性或阳性球菌样小杆菌。1955 年 Gardner 等首次报道 GV 是非特异性阴道炎(nonspecific vaginitis, NSV)的主要病原体。GV 是育龄妇女常见阴道定殖的细菌之一,除可引起 NSV,尚可导致性交疼痛,引起败血症、尿道感染、肾周脓肿和膀胱炎。虽然 GV 可从 97% ~ 100% 的细菌性阴道炎患者中检出,但也可从 40% ~ 50% 的非细菌性阴道炎患者或正常妇女的阴道分泌物中分离出来。GV 可通过性交传染,有报道 52% NSV 患者同时患有其他性病,女性患者配偶的尿道中常有 GV,尿液培养阳性率高达 79.9%。GV 是否为男性泌尿生殖道感染,特别是 STD 的病原菌,目前报道较少^[11],本研究显示 76 例男性 STD 患者中有 15.8% 为 GV 阳性,可预测其性伴有较高的 GV 感染。在皮肤性病门诊,该病发病率较高,因此在临床诊疗中除重视淋球菌、衣原体、支原体的检测外,不可忽视 GV 的检

测,以使患者能获得正确诊断与合理治疗。临床上治疗 GV 药物较多,最有效的药物是灭滴灵(甲硝唑)及氨苄青霉素。值得临床医生重视的是对于久治不愈的患者,应考虑混合感染的可能,有条件的医疗单位应进行多种病原体的检测。

支原体、衣原体等培养要求苛刻,体外人工培养困难甚至不能培养。本文采用的较传统 PCR 更为特异、灵敏的 nPCR 技术近年来已被国内外研究者认可,进行了相关检测研究^[12,13]。本试验对各 1 例单纯 Mf、Mpe 和 Ct 感染 nPCR 阳性产物经直接全自动 DNA 测序,测得序列与美国 Genbank 核酸数据库登录的序列完全一致,与已公开报道的支原体典型株序列完全一致。说明 nPCR 特异性较好,适用于临床标本的检测和大样本的流行病学研究。

本组男性 STD 患者 12 种病原体检出率较高可能有二个方面的因素,一是本组患者均来自市级性病防治专业医院,往往为在其他诊所治疗效果不佳时方转诊;二是本次 12 种病原体检测均采用较传统 PCR 更为敏感的 nPCR 技术。

(本研究得到无锡克隆遗传技术研究所糜祖煌老师的大力支持,谨此致谢)

参 考 文 献

- 1 Taylor-Robinson D, Furr PM. Genital. Mycoplasma infections. Wien Klin Wochenschr, 1997, 109: 578-583.
- 2 王荷英, 施美琴, 赖伟红, 等. 在非淋菌性尿道炎(宫颈炎)患者中穿通支原体、梨支原体、发酵支原体和其他致病性支原体的检测. 中华皮肤科杂志, 2002, 35: 203-205.
- 3 黄瑞萍, 汤韧. 肺炎衣原体、沙眼衣原体对妊娠影响的研究. 现代妇产科进展, 2000, 9: 292-293.
- 4 卫生部防疫司. 性病防治手册. 第 2 版. 南京: 江苏科学技术出版社, 1994. 6-64.
- 5 糜祖煌, 秦玲. 支原体科病原体分子检测方法学研究. 中国优生与遗传杂志, 2002, 10(2): 10-11.
- 6 糜祖煌. 沙眼衣原体套式 PCR 检测研究. 中国优生与遗传杂志, 1996, 4: 8-10.
- 7 糜祖煌, 黄超. 淋病奈瑟菌套式 PCR 基因诊断研究. 中国优生与遗传杂志, 1996, 4: 18-20.
- 8 陈汝光, 朱美玲, 黄呈辉, 等. 阴道加德纳菌致病株的基因诊断方法. 中华检验医学杂志, 1999, 22: 168-169.
- 9 Grau O, Slizewicz B, Tuppin P, et al. Association of *Mycoplasma penetrans* with human immunodeficiency virus infection. Infect Dis, 1995, 172: 672-681.
- 10 赵李文, 贾成梅, 糜祖煌, 等. 我国首次成功分离穿通支原体和发酵支原体的报告. 疾病监测, 2000, 15: 405-407.
- 11 夏曙华, 杨正安, 胡官林, 等. 353 例男性泌尿生殖道疾病患者加德纳菌的检测. 中华皮肤科杂志, 2000, 6: 18.
- 12 孙峰, 孙蓉, 郑陆辛, 等. 扬州、无锡两地男性 STD 6 种支原体感染研究. 江苏临床医学杂志, 2000, 4: 467.
- 13 Verdin E, Saillard C, Labbe A, et al. A nested PCR assay for the detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in tracheobronchiolar washings from pigs. Vet Microbiol, 2000, 76: 31.

(收稿日期: 2002-11-15)

(本文编辑: 尹廉)

· 疾病控制 ·

重庆市璧山县 11 年农药中毒死亡的流行病学调查

仇义久 徐玲

1. 调查材料与方法: 材料来源于 1992~2002 年璧山县各级医疗卫生单位向璧山县疾病预防控制中心报告的农药中毒报告卡, 运用描述流行病学的方法, 逐份进行核实、登记和统计分析。

2. 结果与分析: ①中毒死亡情况: 1992~2002 年每年均有农药中毒事故发生, 共发生 810 例, 死亡 67 例, 病死率为 8.3%。其中生产性农药中毒 6 例, 占 0.7%; 非生产性农药中毒 804 例, 占 99.3%。农药中毒、死亡 1998 年前与 1999 年后明显不同($\chi^2_{趋势} = 1.608, P = 0.205$)。②11 年资料显示, 每月均有中毒发生, 第一和第四季度相差不大, 占 18.8% 和 17.2%; 第二和第三季度分别占 34.3% 和 29.7%, 其中 5、8 月是农药中毒的高峰月, 分别占 13.0% 和 11.7%。中毒死亡中 3~80 岁年龄的人群均有发生, 各年龄间无明显差距。③引起中毒的农药有 17 种, 有机磷农药中毒共 569 例(占

70.2%) 其中乐果中毒 351 例, 占总中毒例数的 43.3%, 居首位, 水胺硫磷次之占 10.5%。中毒原因是多方面的, 自杀性服毒有 736 例占 90.9%, 其中家庭纠纷有 466 例, 居首位, 自杀原因不明者次之, 有 252 例; 非自杀性中毒(包括误服和施药不当)有 74 例占 9.1%。

在服毒自杀的原因分析中, 负性生活事件以家庭纠纷、社会纠纷最多, 占 60%, 农村农忙季节(主要在 5 月和 8 月)农药中毒死亡比例高于其他月份, 这与农忙季节易发生家庭、社会纠纷有关, 表明在农村人际关系处理不当、人与人之间矛盾隔阂是引起自杀的主要原因。应加强精神文明建设, 认真做好家庭、社会和婚姻方面的纠纷调解工作, 帮助和教育农村青年正确处理恋爱、婚姻、家庭问题, 加强自杀行为干预措施, 减少自杀的发生。

(收稿日期: 2003-07-21)

(本文编辑: 尹廉)

作者单位: 402760 重庆市璧山县疾病预防控制中心劳动卫生科