

解脲支原体、沙眼衣原体和巨细胞病毒感染与输卵管妊娠的相关性研究

李 瑶, 吕燕玲, 容 俊, 朱 瑜
(昭通市第一人民医院, 云南 昭通 657000)

[摘要] **目的** 探讨解脲支原体 (UU)、沙眼衣原体 (CT) 及人巨细胞病毒 (HCMV) 感染情况与输卵管妊娠 (TP) 的关系. **方法** 应用 PCR 技术检测 62 例 TP 患者 (病例组) 和 48 例非 TP 患者 (对照组) 的宫颈分泌物和输卵管中的 CT、UU、HCMV 的 DNA. **结果** (1) 病例组中输卵管标本的 CT、UU、HCMV 单项检出率、CT+UU 及 UU+HCMV 合并感染率均高于对照组, 两者比较有显著性差异 ($P < 0.05$); (2) 病例组中宫颈分泌物标本的 CT、UU、HCMV 单项检出率、CT+UU 及 CT+UU+HCMV 合并感染率均高于对照组, 二者比较有显著性差异 ($P < 0.05$); (3) 两次以上 TP 患者输卵管标本及宫颈分泌物标本的 CT、UU、HCMV 单项检出率高于仅有一次 TP 患者, 二者比较有显著性差异 ($P < 0.05$). **结论** (1) TP 与 CT、UU 及 HCMV 感染有一定关系, 可作为 TP 发生的可能性的检测指标; (2) 两次以上 TP 患者的 CT、UU、HCMV 检出率明显增高, TP 患者在排除其他因素的同时应考虑病原体感染的可能, 积极治疗及预防感染, 以免再次 TP 的发生; (3) 聚合酶链反应 (PCR) 具有简单、快捷、准确性高的特点, 可以作为临床早期病原学诊断依据.

[关键词] 输卵管妊娠; 解脲支原体; 沙眼衣原体; 巨细胞病毒

[中图分类号] R714.22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 12-0141-04

Correlation between the Tubal Pregnancy and Ureaplasma Urealyticum, Chlamydia Trachomatis and Humancytomegalovirus Infection

LI Yao, LV Yan - ling, RONG Jun, ZHU Yu
(The 1st People's Hospital of Zhaotong, Zhaotong Yunnan 657000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between tubal pregnancy and ureaplasma urealyticum (UU), chlamydozoa trachomatis (CT) and Human Cytomegalovirus (HCMV) infection. **Methods** 62 patients with tubal pregnancy (study group) and 48 patients with non-tubal pregnancy (control group) were recruited in this study. Cervical secretion and fallopian tube samples were collected to detect CT-DNA, UU-DNA and HCMV-DNA using Polymerase chain reaction (PCR). **Results** (1) In the tubal pregnancy group, the single positive rates of CT-DNA, UU-DNA, HCMV-DNA and the joint positive rates of CT+UU-DNA, UU+HCMV-DNA in the fallopian tube samples were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). 2. In the tubal pregnancy group, the single positive rates of CT-DNA, UU-DNA, HCMV-DNA and the joint positive rates of CT+UU-DNA, CT+UU+HCMV-DNA in the cervical secretion samples were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). 3. In the patients who had more than twice tubal pregnancy, the single positive rates of CT-DNA, UU-DNA, HCMV-DNA in the fallopian tube samples and cervical secretion samples were significantly higher than those in the patients who had only once tubal pregnancy ($P < 0.05$). **Conclusion** Tubal pregnancy is related to the infection of CT, UU and HCMV, which may be used as a predictive marker of tubal pregnancy. PCR is simple, rapid and accurate in detection of CT, UU and HCMV infection.

[Key words] Tubal pregnancy; Ureaplasma urealyticum; Chlamydia trachomatis; Human cytomegalovirus

[作者简介] 李瑶 (1977~), 女, 云南昭通市人, 医学硕士, 副主任医师, 主要从事妇产科临床工作.

异位妊娠是妇科最常见的急腹症之一,发病率为 1%,已成为严重危及妇女健康的一种疾病. 凡种种原因推迟或阻止孕卵到达子宫的运行,均可发生异位妊娠,其中以 TP 最常见,约占 95%左右^[1],主要为壶腹部. TP 是孕产妇死亡的主要原因,在 TP 的病因中,各种病原体感染生殖系统所致的输卵管炎症占重要地位. 近年来女性生殖道 UU 及 CT 感染呈上升趋势,与 TP 之间的相互关系也备受关注^[2],但研究结果尚不完全一致. 有资料显示 TP 患者支原体及衣原体的检出率明显高于对照组,提示 TP 的发生与支原体及衣原体感染有一定的相关性,但与疾病的进展无明显联系^[3];有学者对胚胎附着的输卵管组织进行了支原体及衣原体的检测,结果为发生 TP 的输卵管组织 UU 及 CT 的检出率明显高于对照组,这为 TP 与 UU 及 CT 感染的关系提供了较直接的证据^[4];除 UU 及 CT 外, HCMV 感染与 TP 的关系也越来越受到重视. 有资料显示, TP 组宫颈分泌物 HCMV-DNA 检出率为 14.3%,明显高于对照组 ($P < 0.05$),由此推论异位妊娠与 HCMV 感染有关^[5],本课题采用 PCR 荧光探针的体外扩增和检测技术,通过对因 TP 而手术切除输卵管组织的病人 62 例的宫颈分泌物和输卵管进行 CT、UU、HCMV 的 DNA 检测,探讨 TP 与 CT、UU、HCMV 感染的相关性.

PCR 技术是通过选择对基因的选择性片段进行体外高效扩增,实现目的基因的检测. 荧光探针定量 PCR 是一种新的定量检测技术,该技术是在常规 PCR 基础上加入荧光标记探针,把核酸扩增、杂交及光谱技术结合在一起,从而实现了目的基因的准确定量检测,正发展成为临床实验诊断的常规技术. 具有简单、快捷、准确性高的特点,可以作为临床早期病原学诊断依据^[6].

1 资料与方法

1.1 研究对象

病例组:取在昭通市第一人民医院因输卵管妊娠手术切除患侧输卵管的患者 62 例为病例组,均经病理证实,有停经、腹痛或者不同程度阴道流血病史,尿 HCG (+),B 超显示子宫腔内未见明确孕囊回声,附件区非均质混合性包块,部分患者腹腔积液,年龄 18~41 岁,平均 29.09 岁,孕次 0~8 次,平均孕次 2.94 次. 对照组:为同期足月妊娠行剖宫产的病人 48 例,年龄 19~45 岁,平均年龄 28.75 岁,孕次 0~6 次,平均孕次 1.29 次.

1.2 实验方法

1.2.1 实验原理 用一对特异性引物和一条特异性荧光探针,配以 PCR 反应液、耐热 DNA 聚合酶、四种核苷酸单体等成分,采用 PCR 方法结合荧光探针的体外扩增和检测技术,测定临床上人宫颈分泌物及输卵管中解脲支原体、沙眼衣原体及人巨细胞病毒 DNA.

1.2.2 标本的收集 宫颈分泌物标本:用扩阴器扩阴,用无菌棉拭子将宫颈口及阴道壁过多分泌物擦去并弃之,再用灭菌棉拭子插入宫颈内 1~2 cm 并旋转拭子 30 s 以上取出置入装有 1 mL 无菌生理盐水的 PCR 离心管,充分将棉拭子上的分泌物洗下,紧贴管壁将棉拭子挤干弃去. 输卵管标本:病例组采用 1 个无菌棉拭子在患侧输卵管旋转拭子 30 s 以上取出,对照组采用 1 个无菌棉拭子随机插入一侧输卵管伞端约 1 cm,旋转数秒后抽出,两组标本均置入装有 1 mL 无菌生理盐水的 PCR 离心管中充分将棉拭子上的分泌物洗下并贴管壁将棉拭子挤干弃去. 标本如不能立即送检测则保存于 -20°C 冷冻待测.

1.2.3 标本及对照标准品的处理 将装有 1 mL 无菌生理盐水的 PCR 离心管 12 000 rpm 离心 5 min→沉淀加无菌生理盐水 1 mL 打匀,12 000 rpm 离心 5 min→再重复洗涤一次→沉淀直接加入 50 μL DNA 提取液充分混匀(提取液内含不溶于水的物质,取样时需用加样器充分混匀后吸取,如出现因吸头嘴部太细不能吸取或取样后堵塞吸头现象,可先用洁净无污染的剪刀将吸头嘴部剪去一截)→ 100°C 水浴 10 min (误差不超过 1 min)→转至 4°C 静置 6~8 h 以保证充分裂解→12 000 rpm 离心 2 min,取上清液 2 μL 做 PCR 反应.

1.3 统计学分析

统计学处理:应用 SPSS 统计软件分析系统对计数资料进行检验. 设:检查标准 $\alpha=0.05$.

2 结果

2.1 病例组和对照组输卵管标本 CT、UU、HCMV 检出率比较

病例组中患侧输卵管的 CT、UU、HCMV 单项检出率明显高于对照组的检出率,两者比较有显著性差异 ($P < 0.01$),病例组中输卵管的 CT+UU 及 UU+HCMV 合并感染率高于对照组的合并感染率,两者比较有显著性差异 ($P < 0.05$),见表 1.

2.2 病例组和对照组宫颈分泌物标本 CT、UU、HCMV 检出率比较

病例组中宫颈分泌物的 CT、UU、HCMV 单项检出率较对照组高, 二者比较有显著性差异 ($P < 0.01$), 病例组中宫颈分泌物的 CT+UU 及 CT+UU+HCMV 合并感染率高于对照组, 二者比较有显著性差异 ($P < 0.05$), 见表 2.

表 1 两组输卵管标本 CT、UU、HCMV 检出率比较 [n (%)]

Tab. 1 Comparison of the detection rate of CT, UU and HCMV in fallopian tube samples between two groups [n (%)]

组 别	n	CT	UU	HCMV	CT+UU	CT+HCMV	UU+HCMV	CT+UU+HCMV
病例组	62	15(24.19)**	18(29.03)**	12(19.35)**	8(12.90)*	2(3.23)	5(8.06)*	2(3.23)
对照组	48	2(4.16)	1(2.08)	1(2.08)	1(2.08)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)

与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$.

表 2 两组宫颈分泌物标本 CT、UU、HCMV 检出率比较 [n (%)]

Tab. 2 Comparison of the detection rate of CT, UU and HCMV in cervical secretions samples between two groups [n (%)]

组 别	n	CT	UU	HCMV	CT+UU	CT+HCMV	UU+HCMV	CT+UU+HCMV
病例组	62	21(33.87)**	29(46.77)**	16(25.81)**	10(16.03)**	4(6.45)	4(6.45)	5(8.06)*
对照组	48	3(6.25)	4(8.33)	2(4.16)	0(0.00)	0(0.00)	1(2.08)	0(0.00)

与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$.

表 3 输卵管妊娠次数与 CT、UU、HCMV 感染的关系 [n (%)]

Tab. 3 The relationship between tubal pregnancy numbers and the infection of CT, UU and HCMV [n (%)]

TP 次数	n	输卵管标本			宫颈分泌物标本		
		CT (%)	UU (%)	HCMV (%)	CT (%)	UU (%)	HCMV (%)
1 次	56	11(19.64)*	14(25.00)*	9(16.07)*	16(28.57)**	23(41.07)**	12(21.43)*
≥2 次	6	4(66.67)	4(66.67)	3(50.00)	5(83.33)	6(100.00)	4(66.67)

与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$.

3 讨论

异位妊娠中 TP 最为多见, 输卵管炎、盆腔炎是发生 TP 的主要原因^[1]. 以往较多国内外学者相关研究发现, TP 患者生殖道 CT 或 UU 感染率较正常女性明显增高, 由此认为, 生殖道 CT 或 UU 感染与 TP 密切相关^[7]. 挪威报道, CT 感染使妇女异位妊娠发生率明显升高, 通过 2 万余例妇女 CT 检测, 结果为 CT 阳性的女性, 异位妊娠风险高于阴性者^[9]. 瑞典报道, 研究生殖器 UU、CT 抗体与盆腔炎及异位妊娠发生之间的关系, 也得出 CT 抗体与盆腔炎和异位妊娠之间有显著关联的结论^[8]. 除上述病原体外, HCMV 感染与 TP 的关系也越来越受到重视. HCMV 作为一种性传播微生物, 在人群中尤其在育龄妇女中的感染率很高. 有研究利用 Meta 分析方法对已有的符合纳入标准的 7 篇参考

2.3 输卵管妊娠次数与 CT、UU、HCMV 感染的关系

两次及以上 TP 患者输卵管及宫颈分泌物的 CT、UU、HCMV 单项检出率均高于仅有一次 TP 的患者, 二者比较有显著性差异 ($P < 0.05$).

文献进行了综合定量分析, 结果显示, 宫颈和输卵管组织 HCMV 感染者导致 TP 的危险性分别为正常人群的 7.59 倍和 6.50 倍, 说明 HCMV 感染是 TP 的重要危险因素^[9].

本研究发现, 病例组中患侧输卵管及宫颈分泌物的 CT、UU、HCMV 单项检出率均明显高于对照组, 二者比较有显著性差异 ($P < 0.01$), 病例组中输卵管的 CT+UU 及 UU+HCMV 合并感染率均高于对照组, 宫颈分泌物的 CT+UU 及 CT+UU+HCMV 合并感染率亦高于对照组, 二者比较有显著性差异 ($P < 0.05$), 提示生殖道 CT、UU、HCMV 感染与 TP 有一定关系, 三者交叉感染或者混合感染可能更易导致 TP, 可作为 TP 发生的可能性的预测指标.

有学者研究指出, 随着盆腔手术次数的增加, TP 发生的危险明显增加, 其中以输卵管手术危险性最大. 本组资料显示, 两次及以上 TP 患者输卵管及宫颈分泌物的 CT、UU、HCMV 单项检出率均

高于仅有一次 TP 的患者,二者比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。说明与只有一次 TP 患者相比,两次及以上的 TP 患者 CT、UU、HCMV 检出率明显增高,进一步提示女性生殖道 CT、UU、HCMV 感染与 TP 的发生关系密切。TP 患者在排除其他因素的同时应考虑病原体感染的可能,积极治疗及预防感染,以免再次 TP 的发生,以期降低异位妊娠的发病率,提高妇女健康水平,保护生命安全。

[参考文献]

- [1] 乐杰. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:105-206.
- [2] 李先锋,吴瑾,张晓娥,等. 输卵管妊娠与血清CT-IgG, UU-IgG, HCMV-IgG 的联系探讨[J]. 中国妇产科临床杂志,2005,6(5):369-371.
- [3] 陈春英,杨舒盈,朱根海. 支原体及衣原体感染与输卵

- 管妊娠的关系[J]. 中国热带医学,2007,7(5):728.
 - [4] 邓玉清,吴瑞芳,郭燕燕,等. 病原体及巨细胞病毒感染与输卵管妊娠的关系[J]. 中华妇产科杂志,2004,39(2):94-96.
 - [5] 马文霞. 人巨细胞病毒感染与异位妊娠关系探讨[J]. 福建医药杂志,2005,27(40):55-56.
 - [6] MALLARD K, SCHOPFER K, BODMER T. Development of realtime PCR for the differential detection and quantification of *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* J Microbiol Methods,2005,1(1):13-15.
 - [7] 巫朝霞,冯虹,黄敏,等. 巨细胞病毒感染与输卵管妊娠的关系分析[J]. 广东医学院学报,2005,23(5):542.
 - [8] 石一复. 异位妊娠的病因及危险因素[J]. 现代妇产科进展,2008,17(6):401-402.
 - [9] 董春富,朱以军. 巨细胞病毒感染与输卵管妊娠关系的Meta分析[J]. 检验医学,2009,24(11):787.
 - [10] STEPHEN M, JEFF D. Ectopic pregnancy[J]. Gynecol obstet Invest,2008,65(2):139-141.
- (2014-10-13 收稿)

(上接第 136 页)

态,阻断自由基在 HSK 发展中的作用,有助于角膜溃疡的早期恢复并减轻失明的风险,具有良好的社会效益,值得在临床推广。

[参考文献]

- [1] BARRADO L, SUAREZ M J, PEREZ-BLAZQUEZ E, et al. Could polymerase chain reaction tests on conjunctival swabs be useful to diagnose herpetic keratitis [J]. Enferm Infecc Microbiol Clin,2013,24(1):141-153.
- [2] HARTHAN J S, REEDER R E. Peripheral ulcerative keratitis in association with sarcoidosis [J]. Cont Lens Anterior Eye,2013,8(7):355-364.
- [3] HOFFMANN S, SZENTMARY N, SEITZ B. Amniotic Membrane Transplantation for the Treatment of Infectious Ulcerative Keratitis Before Elective Penetrating Keratoplasty [J]. Cornea,2013,37(5):1056-1068.
- [4] KIM J H, SEO H W, HAN H C, et al. The effect of bevaizumab versus ranibizumab in the treatment of corneal neovascularization: a preliminary study [J]. Korean J Ophthalmol,2013,27(4):235-242.
- [5] LEE S Y, KIM M J, KIM M K, et al. Comparative analysis of polymerase chain reaction assay for herpes simplex virus 1

- detection in tear [J]. Korean J Ophthalmol,2013,27(5):316-321.
 - [6] PAN D, KAYE S B, HOPKINS M, et al. Common and new acyclovir resistant herpes simplex virus-1 mutants causing bilateral recurrent herpetic keratitis in an immunocompetent patient [J]. J Infect Dis,2013,4(4):421-423.
 - [7] PARK P J, ANTOINE T E, FAROOQ A V, et al. An investigative peptide-scyclovir vombination to control herpes dimplex birus yype 1 ocular Infection [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2013,54(9):6373-6381.
 - [8] RAJASAGI N K, REDDY P B, MULIK S, et al. Neuroprotectin d1 reduces the severity of herpes simplex virus-induced corneal immunopathology [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2013,54(9):6269-6279.
 - [9] SPIRA C, SZENTMARY N, HASENFUS A, et al. Therapy refractory stromal Herpes keratitis under aciclovir [J]. Ophthalmologie,2013,6(2):545-549.
 - [10] THOMAS P, BHATIA T, GAUBA D, et al. Exposure to herpes simplex virus, type 1 and reduced cognitive function [J]. J Psychiatr Res,2013,47(11):1680-1685.
- (2014-08-17 收稿)