

荧光定量 PCR 检测婴儿肺炎患者沙眼衣原体的临床探讨

焦立新,张莉,马晓平 (长春市儿童医院科研室,吉林 长春 130051)

[摘要] 目的:了解荧光定量 PCR 检测婴儿沙眼衣原体感染的效果并观察婴儿肺炎患者沙眼衣原体感染情况及相应的临床症状。方法:用鼻咽拭子采集 825 例标本,用荧光定量 PCR 法对本标本进行检测。结果:825 例肺炎患者标本中,新生儿标本阳性 73 例;年龄 5~8 周患者标本阳性 81 例;年龄 9~12 周患者标本阳性 44 例,阳性共计 198 例。结论:荧光定量 PCR 方法检测沙眼衣原体效果良好,检测结果表明年龄 4~8 周沙眼衣原体检出率明显高于另外 2 组,儿科医师应对这一年龄的肺炎患者沙眼衣原体感染给予足够重视。

[关键词] 沙眼衣原体;小婴儿;肺炎;荧光定量 PCR

中图分类号:R725.6 文献标识码:B 文章编号:1004-0412(2006)10-1176-01

沙眼衣原体(*Chlamydia Trachomatis*, CT)是目前常见的性病病原体,婴儿 CT 感染主要是通过被感染的产道获得。宫颈 CT 感染者其阴道产儿 60%~70%可受累,其中 20%~50%发生包涵体性结膜炎,10%~20%发生 CT 肺炎^[1]。为了探讨长春地区婴儿 CT 肺炎的发病情况以及荧光定量 PCR 方法在检测沙眼衣原体感染中的意义,我们对 2003 年 1 月~2004 年 1 月在我院住院的 825 例患儿进行了实验室检查及临床研究。

1 材料和方法

1.1 研究对象:2003 年 1 月~2004 年 1 月,住院肺炎患儿 825 例,男婴 435 例,女婴 390 例;其中新生儿 433 例,年龄 4~8 周 208 例,9~12 周 184 例。825 例中剖宫产儿 204 例。入选标准:①年龄 2~12 周;②病史和体检诊断为感染性肺炎;③X 线胸片证实为肺炎。

1.2 仪器及试剂:日本产 RT-PCR 仪,深圳匹基公司生产的沙眼衣原体荧光定量检测试剂盒

1.3 方法:按试剂盒使用说明书进行。

1.4 标本采集:①鼻咽拭子:将套上无菌小塑料管的特制竹签脱脂棉拭子经鼻前庭插入鼻咽部,用力旋转约 5s 后立即退入塑料管内,随管一并取出以免被鼻腔内细菌污染。②将棉拭子在 1ml 灭菌生理盐水中充分洗下沾取物。

1.5 标本处理:将含有沾取物的生理盐水 12 000rpm 离心 10min,弃上清,沉淀中加入 50 μ l 裂解液,100 $^{\circ}$ C 10min,10 000rpm 离心 2min。

1.6 PCR 扩增:取 5 μ l 处理好的标本加入至 38 μ l 反应液中,低速离心 2min 后放入 RT-PCR 仪中。反应条件 37 $^{\circ}$ C 5min,然后 94 $^{\circ}$ C 1min,60 $^{\circ}$ C 30s,共 40 个循环。

1.7 统计学处理: χ^2 检验(SAS 统计软件)。

2 结果

荧光定量 PCR 检测结果 825 例鼻咽拭子标本中,CT 阳性率为 24%(198/825)。有以下临床特点:①新生儿标本阳性率 16.8%(73/433),年龄 5~8 周阳性率 38.9%(81/208),两组比较 $\chi^2=37.5$, $P<0.001$,有显著性差异;年龄 9~12 周患者阳性率 23.9%(44/184),与年龄 5~8 周相比,也有显著性差异, $\chi^2=10.1$, $P<0.01$;以年龄 5~8 周 CT 阳性率最高。②无热 68 例(34.3%),低热及中度发热或 24h 内体温波动 $>1^{\circ}$ C 114 例(57.7%),高热 5 例(2.5%);③198 例均有呼吸增快,168 例(85%)有阵咳,129 例(65%)有紫绀,128 例(64.7%)有中、细湿罗音,37 例(18.7%)有喘

鸣;④96 例(48.5%)有结膜炎或结膜炎病史;⑤X 线胸片均显示不同类型的浸润阴影,肺纹理增粗,162 例(81.8%)有过度充气;⑥平均病程 19d。

3 讨论

细胞培养是传统诊断 CT 感染的金标准,但是由于所采标本必须置于 -70° C 冰箱中保存,此种冰箱价格昂贵,McCoy 细胞培养要求较高,耗时费力,不适合作为常规的检验。RT-PCR 是最近几年发展起来的检测方法,它在传统的 PCR 方法基础上作了进一步的改进,避免了传统 PCR 假阳性和不能定量的缺点,而且整个实验过程不到 2h,非常适合作为临床检验^[2]。标本处理简单,处理之后放入 4 $^{\circ}$ C 冰箱 1~2d 也不影响检测结果。需要注意的是采集标本时一定要用力刮取,取到上皮细胞,因为沙眼衣原体寄居在细胞内,没有取到细胞将会影响检测结果,出现假阴性。我们的检测结果说明 4~8 周患者的 CT 检出率明显高于另外两组,可能由于鼻咽部感染多数由眼结膜扩散而来,需要一段时间,而眼结膜炎的发生多在生后 4~16d,也可在生后数周^[3]。临床表现常不发热或仅有低热,开始时有上呼吸道感染症状;下呼吸道主要为呼吸增快和特征性的阵发性单声咳嗽,呼吸增快可能为唯一的线索^[4];X 线胸片显示双肺过度充气,散在的双侧间质性浸润或小片肺泡浸润。对 6 个月内尤其是 3 个月内有上述特征的、病程大于 1 周以上的婴儿肺炎,用青霉素、头孢菌素类治疗无效者应考虑沙眼衣原体肺炎的可能性^[5]。治疗上首选红霉素,经过一段时间治疗后还可进行检测,观察治疗效果,一般 CT 的拷贝数会明显下降,这是荧光定量 PCR 法的另外一个优势。

4 参考文献

- [1] Sollecito D, Midulla M, Bavastrelli M, et al. Chlamydia trachomatis in neonatal respiratory distress of very preterm babies: biphasic clinical picture[J]. Acta Paediatr, 1992; 81: 788.
- [2] 黄梅花, 刘磊, 欧阳永忠. RT-PCR 检测胃癌 NY-ES-O-1 抗原的表达及其基因克隆[J]. 吉林医学, 2005; 26(6): 576.
- [3] 吴仕孝. 新生儿衣原体感染的临床特点及诊治[J]. 中国实用儿科杂志, 1998; 13(2): 67.
- [4] 杨启英. 小儿沙眼衣原体肺炎 96 例临床分析[J]. 青海医药杂志, 2005; 35(7): 47.
- [5] 张艳萍. 新生儿沙眼衣原体肺炎的表现及其相关检查[J]. 中华临床医学研究杂志, 2005; 11(11): 1609.

[收稿日期:2005-11-18 编校:李凯]