

两种检测男性生殖道沙眼衣原体和解脲支原体方法的对比

杜 强¹, 洪 锴², 潘伯臣^{1△}

(1. 中国医科大学附属盛京医院生殖医学中心, 沈阳 110004; 2. 北京大学第三医院泌尿外科, 北京 100191)

[摘要] **目的:**对比应用实时荧光核酸恒温扩增(simultaneous amplification and testing, SAT)-RNA(SAT-RNA法)与应用聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)-DNA(PCR-DNA法)检测男性生殖道沙眼衣原体、解脲支原体的效果,以探讨SAT-RNA法的应用价值。**方法:**收集2016年4月至2017年4月于中国医科大学附属盛京医院生殖医学中心就诊的因女方因素拟行体外受精-胚胎移植助孕的163例男性,采用SAT-RNA法检测尿液标本中的沙眼衣原体、解脲支原体,并对其中109例符合当天采集精液标本条件者进行相应病原体的检测。同时采用PCR-DNA法检测163例男性尿道拭子标本中的相应病原体。**结果:**163例男性生殖道解脲支原体检测结果表明,PCR-DNA法尿道拭子检测阳性77例(阳性率47.24%),SAT-RNA法尿液标本检测阳性78例(阳性率47.85%),两者差异无统计学意义($\chi^2=0, P>0.05$),两种方法的检测结果符合率为93.25%,阳性符合率93.51%,阴性符合率93.02%,检验结果一致性极好(Kappa值0.865)。163例男性生殖道沙眼衣原体检测结果表明,PCR-DNA法尿道拭子检测阳性5例(阳性率3.07%),SAT-RNA法尿液标本检测阳性7例(阳性率4.29%),两者差异无统计学意义($\chi^2=0.25, P>0.05$),两种方法检测结果符合率为97.55%,阳性符合率80.00%,阴性符合率98.10%,检验结果一致性较好(Kappa值0.654)。对其中109例男性采用SAT-RNA法同时检测尿液和精液标本中的解脲支原体和沙眼衣原体:(1)解脲支原体:尿液标本阳性55例(阳性率50.46%),精液标本阳性49例(阳性率44.95%),两标本差异无统计学意义($\chi^2=2.08, P>0.05$),检测结果符合率为88.99%,阳性符合率93.88%,阴性符合率85.00%,检验结果一致性较好(Kappa值0.780);(2)沙眼衣原体:尿液标本阳性6例(阳性率5.50%),精液标本阳性4例(阳性率3.67%),两标本差异无统计学意义($\chi^2=0.5, P>0.05$),检测结果符合率为98.17%,阳性符合率100.00%,阴性符合率98.10%,检验结果一致性较好(Kappa值0.791)。**结论:**SAT-RNA法与PCR-DNA法检测生殖道沙眼衣原体、解脲支原体有良好的一致性;相比PCR-DNA法,SAT-RNA法可用于尿液或精液标本的检测,具有无创、方便等优势,更适宜临床应用。

[关键词] 生殖道感染;沙眼衣原体;解脲支原体;男性;实时荧光核酸恒温扩增

[中图分类号] R691.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2021)04-0785-04

doi:10.19723/j.issn.1671-167X.2021.04.027

Comparison of two methods for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Ureaplasma urealyticum* in male reproductive tract

DU Qiang¹, HONG Kai², PAN Bo-chen^{1△}

(1. Center for Reproductive Medicine, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China; 2. Department of Urology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the value of clinical application of simultaneous amplification and testing of RNA (SAT-RNA) for detecting *Chlamydia trachomatis* (CT) and *Ureaplasma urealyticum* (UU) by comparing with the polymerase chain reaction testing of DNA (PCR-DNA) method. **Methods:** Specimens from both urethra swab and the first avoid urine which should be at least one hour after the previous urination were collected from 163 men who were scheduled for *in vitro* fertilization and embryo transfer (IVF-ET) treatment due to female factors at Center for Reproductive Medicine, Shengjing Hospital of China Medical University during the period of April 2016 to April 2017. Among the 163 men, 109 simultaneously provided semen that was collected after 3 – 7 days of sexual abstinence for the testing. Urine and semen specimens were detected for CT and UU with SAT-RNA, while urethra swab specimens were detected for CT and UU with standard PCR-DNA. Detection results of the SAT-RNA were compared

基金项目:国家重点研究发展计划(2018YFC1004202)、北京市自然科学基金(7182177)和中国博士后科学基金(2017M623438) Supported by National Key Research and Development Project (2018YFC1004202), Beijing Natural Science Foundation (7182177) and China Postdoctoral Science Foundation (2017M623438)

△ Corresponding author's e-mail, panbochen@cmu.edu.cn

网络出版时间:2021-7-2 15:55:32 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4691.R.20210702.1138.013.html>

with those of the PCR-DNA method. **Results:** The positive rate of UU in the urethra swab detected with PCR-DNA and that of UU in the urine with SAT-RNA were 47.24% and 47.85%, respectively, and the coincidence rate was 93.25%. In addition, the positive and negative coincidence rates were 93.51% and 93.02%, respectively, and the concordance between the two methods was very good ($Kappa = 0.865$). On the other hand, the positive rate of CT in the swab specimen tested with PCR-DNA was 3.07% and that of CT in urine with SAT-RNA was 4.29%, and the coincidence rate was 97.55%. Moreover, the positive and negative coincidence rates were 80.00% and 98.10%, respectively, and the concordance between the two methods was good ($Kappa = 0.654$). Regarding SAT-RNA detection of UU in the urine and semen specimen of the 109 patients, the positive rates of UU in the urine and semen specimens were 50.46% and 44.95%, respectively; and the coincidence rate between the two specimens was 88.99%. In addition, the positive coincidence rate and the negative coincidence rate was 93.88% and 85.00%, respectively, and the concordance between the two specimens was good ($Kappa = 0.780$). Similarly, SAT-RNA detection of CT in the urine and semen specimens showed the positive rate was 5.50% and 3.67%, respectively; and the two specimens showed 98.17% coincidence rate. The positive and negative coincidence rates were 100.00% and 98.10%, respectively, and the concordance was also good ($Kappa = 0.791$). **Conclusion:** SAT-RNA detection of CT and UU in the urine specimen showed good concordance with the PCR-DNA detection of CT and UU in the urethra swab specimen. In addition, the concordance was also good between the urine and semen specimens detected with SAT-RNA. These results indicate that, as a less invasive and equally accurate procedure, SAT-RNA may be more suitable for clinical application.

KEY WORDS Reproductive tract infections; *Chlamydia trachomatis*; *Ureaplasma urealyticum*; Male; Simultaneous amplification and testing

男性生殖道感染是全球性的公共卫生问题^[1]。由淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*)以外的其他病原体感染而引起的非淋细菌性生殖道感染临床上十分常见,但是约有20%~50%的感染者并没有明显临床症状^[2],只能依靠筛查发现。实施辅助生殖技术助孕前,需要排除生殖道沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*)和解脲支原体(*Ureaplasma urealyticum*)感染。随着诊断技术的迅猛发展,传统的培养法以及免疫学方法因技术上操作困难且漏诊率高,已逐渐被分子诊断所取代。实时荧光核酸恒温扩增(simultaneous amplification and testing, SAT)是在RNA恒温扩增基础上开发的可同时检测体液和拭子的新一代核酸检测技术(SAT-RNA法)^[3],其具有准确、快速的特点。本研究拟采用SAT-RNA技术对门诊就诊的辅助生殖患者进行体液标本检测,并与聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)-DNA(PCR-DNA法)检测尿道拭子标本结果进行对比,旨在为临床检测沙眼衣原体、解脲支原体的方法选择提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2016年4月至2017年4月在中国医科大学附属盛京医院生殖医学中心就诊的因女方因素拟行体外受精-胚胎移植助孕的163例男性为研究对象,年龄24~50岁,均签署知情同意书。

1.2 标本采集

采集163例男性的尿液标本,具体方法为:取清

晨首次尿或长时间(>1 h)不排尿的首段尿0.5 mL,与0.5 mL试剂盒中的样本保存液混合作为待测标本,标本处理按照上海仁度生物科技有限公司试剂盒说明书操作。

常规留取尿液后,对其中109例符合当天采集精液标本条件者进行精液采集,方法为:将拭子头放入无菌采集的精液标本中搅动一圈,贴管壁取出,与0.5 mL试剂盒中的样本保存液混匀作为待测标本,标本处理按照上海仁度生物科技有限公司试剂盒说明书操作。

按辅助生殖助孕要求,163例均行尿道分泌物检查,以排除沙眼衣原体和解脲支原体感染。具体方法为:以拇指、食指轻轻张开尿道外口,将医用棉拭子插入尿道中2~3 cm,轻轻转动,停留数秒后取出,将其放入标有患者编号的取样管中作为待测标本,标本处理按照上海科华生物工程股份有限公司试剂盒说明书操作。

1.3 检测方法

PCR-DNA法:使用上海科华生物工程股份有限公司的沙眼衣原体和解脲支原体核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法),对163例男性尿道拭子标本进行相应病原体的检测,操作过程严格按照说明书执行。

SAT-RNA法:使用上海仁度生物科技有限公司沙眼衣原体和解脲支原体核酸检测试剂盒,对163例男性尿液标本和109例精液标本进行相应病原体的检测,操作过程严格按照说明书执行。

1.4 统计学处理

采用SPSS 20.0进行统计学分析。各组计数资

料用率表示,组间比较采用配对 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。Kappa值 > 0.8 时表明一致性极好,Kappa值在 $0.6 \sim 0.8$ 时表明有较好的一致性。

2 结果

2.1 不同方法检测生殖道解脲支原体结果比较

163例中,PCR-DNA法检测尿道拭子解脲支原体阳性77例(阳性率47.24%),SAT-RNA法检测尿液标本解脲支原体阳性78例(阳性率47.85%),两者差异无统计学意义($\chi^2 = 0, P > 0.05$),两种方法检测结果的符合率为93.25%,阳性符合率93.51%,阴性符合率93.02%,检验结果一致性极好(Kappa值0.865,表1)。

表1 不同方法检测生殖道解脲支原体结果比较

Table 1 Comparison of different detection methods for *Ureaplasma urealyticum* in male genital tract

Urine (SAT-RNA)	Urethral swab (PCR-DNA)		Total
	+	-	
+	72	6	78
-	5	80	85
Total	77	86	163

2.2 不同方法检测生殖道沙眼衣原体结果比较

163例中,PCR-DNA法检测尿道拭子沙眼衣原体阳性5例(阳性率3.07%),SAT-RNA法检测尿液标本沙眼衣原体阳性7例(阳性率4.29%),两者差异无统计学意义($\chi^2 = 0.25, P > 0.05$),两种方法检测结果符合率为97.55%,阳性符合率80.00%,阴性符合率98.10%,检验结果一致性较好(Kappa值0.654,表2)。

表2 不同方法检测生殖道沙眼衣原体结果比较

Table 2 Comparison of different detection methods for *Chlamydia trachomatis* in male genital tract

Urine (SAT-RNA)	Urethral swab (PCR-DNA)		Total
	+	-	
+	4	3	7
-	1	155	156
Total	5	158	163

2.3 SAT-RNA法检测不同标本解脲支原体结果比较

对109例男性尿液标本和精液标本解脲支原体检测结果进行比较,发现尿液标本解脲支原体阳性55例(阳性率50.46%),精液标本解脲支原体阳性49例(阳性率44.95%),两者差异无统计学意义

($\chi^2 = 2.08, P > 0.05$),两种标本检测结果符合率为88.99%,阳性符合率93.88%,阴性符合率85.00%,检验结果一致性较好(Kappa值0.780,表3)。

表3 SAT-RNA法检测不同标本中解脲支原体结果比较

Table 3 Comparison of SAT-RNA detection of *Ureaplasma urealyticum* in different samples of the male genital tract

Urine (SAT-RNA)	Semen (SAT-RNA)		Total
	+	-	
+	46	9	55
-	3	51	54
Total	49	60	109

2.4 SAT-RNA法检测不同标本沙眼衣原体结果比较

对109例男性尿液标本和精液标本的沙眼衣原体检测结果进行比较,发现尿液标本沙眼衣原体阳性6例(阳性率5.50%),精液标本沙眼衣原体阳性4例(阳性率3.67%),两者差异无统计学意义($\chi^2 = 0.5, P > 0.05$),两种标本的检测结果的符合率为98.17%,阳性符合率100.00%,阴性符合率98.10%,检验结果一致性较好(Kappa值0.791,表4)。

表4 SAT-RNA法检测不同标本中沙眼衣原体结果比较

Table 4 Comparison of SAT-RNA detection of *Chlamydia trachomatis* in different samples of the male genital tract

Urine (SAT-RNA)	Semen (SAT-RNA)		Total
	+	-	
+	4	2	6
-	0	103	103
Total	4	105	109

3 讨论

依据进行辅助生殖助孕基本要求,排除生殖道感染是进入辅助生殖周期前的基本检查^[4]。男女一方患有生殖泌尿系统急性感染或性传播疾病均为实施辅助生殖技术的禁忌症,并将影响助孕的成功率^[5]。研究表明,约有20%~50%的感染者没有明显临床症状,不能仅凭症状和体征判断病原体的存在。解脲支原体和沙眼衣原体是临床最常见的两种导致非淋菌性尿道炎的病原体^[6-7],并且会对生育产生负面影响^[8-10]。相比传统的培养法^[11],采用核酸扩增方法可显著提高对生殖道病原微生物的检出率,有利于对感染患者采取迅速的诊断和恰当的

治疗^[12-13]。

分子检测技术以 DNA 和 RNA 检测为主要代表。本研究对 163 例男性采用 PCR-DNA 法检测尿道拭子和 SAT-RNA 法检测尿液标本的结果进行对比,发现两种方法对沙眼衣原体、解脲支原体的检出率差异均无统计学意义,检测结果的一致性较好,说明两种方法均可实现对常规体检者沙眼衣原体、解脲支原体的快速、准确诊断。考虑到男性尿道神经分布的特点,拭子标本的采集势必引起患者的疼痛和不适,甚至有导致医源性尿道损伤的风险^[14],而 SAT-RNA 法因可以使用尿液或精液标本,具有无创、方便的优点,不仅可以更好地保护患者,减轻患者痛苦,而且也能减少临床医生的工作量,更适用于人群筛查^[15]。此外,由于 RNA 仅在活的病原体中存在,故以 RNA 为靶标的诊断技术还可以反映病原体的存活状态,为监测疗效及指导临床精准医疗提供了有力保障^[2]。

本研究还对采用 SAT-RNA 法检测不同标本(尿液和精液)的沙眼衣原体、解脲支原体结果进行比较,发现两者差异无统计学意义,检测结果具有较好的一致性,提示临床上可以使用不同标本进行沙眼衣原体、解脲支原体的检测。以往的研究也证实,尿液和尿道拭子在男性受试者中检测的一致性几乎可达 100%^[16],与本研究得出的结论相似。尽管如此,我们还是能够看到,不论是解脲支原体还是沙眼衣原体,使用尿液标本的检测阳性率更高,尤其是对沙眼衣原体来说,所有精液标本检测结果为阳性的 4 例患者,其尿液标本检测结果均为阳性,而尿液标本检测阳性的 2 例患者,其精液标本检测为阴性,这可能与病原体感染的位置不同有关,亦可能受到检测试剂和检测方法的影响。因此,我们认为尿液标本检测可能避免漏检。

此外,SAT-RNA 法还可同时进行生殖支原体(*Mycoplasma genitalium*)的检测^[17],但因 PCR-DNA 法无法检测生殖支原体,故本研究未涉及此部分内容。有研究表明,生殖支原体可能是影响精子质量的重要参数,会显著降低精液量和精子浓度,积极防治生殖支原体感染将有助于预防男性不育^[18-19]。不同人群生殖支原体感染率大相径庭^[20],将来应进一步分析生育人群生殖支原体感染情况,以评价生育人群生殖支原体检测的意义。

综上所述,SAT-RNA 法与 PCR-DNA 法检测生殖道沙眼衣原体、解脲支原体有良好的一致性;相比 PCR-DNA 法,SAT-RNA 法可用于尿液或精液标本的检测,具有采样方便、无创等优势,更适宜临床应

用,值得推广。

参考文献

- [1] Moi H, Blee K, Horner PJ. Management of non-gonococcal urethritis [J]. BMC Infect Dis, 2015, 15: 294.
- [2] 《非淋菌性尿道炎病原学诊断专家共识》编写组,商学军. 非淋菌性尿道炎病原学诊断专家共识[J]. 中华男科学杂志, 2016, 22(11): 1038-1043.
- [3] 骆振刚,李瑞鹏,王彦彬,等. 实时荧光核酸恒温扩增技术检测泌尿生殖道生殖支原体感染临床观察[J]. 中华男科学杂志, 2019, 25(6): 535-538.
- [4] 中华医学会. 临床诊疗指南辅助生殖技术与精子库分册[M]. 北京:人民卫生出版社, 2019.
- [5] Davies MJ, Rumbold AR, Marino JL, et al. Maternal factors and the risk of birth defects after IVF and ICSI: A whole of population cohort study [J]. BJOG, 2017, 124(10): 1537-1544.
- [6] 王千秋,刘全忠,徐金华. 梅毒、淋病、生殖器疱疹、生殖道沙眼衣原体感染诊疗指南(2014)[J]. 中华皮肤科杂志, 2014, 47(5): 365-372.
- [7] 李婧,岳晓丽,张家晖,等. 全球生殖道沙眼衣原体感染的流行状况[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2020, 47(5): 419-422.
- [8] 韦剑洪,方小武,张旭宾,等. 沙眼衣原体感染对不育男性精子质量的影响[J]. 中华疾病控制杂志, 2012, 16(8): 724-725.
- [9] Huang C, Long X, Jing S, et al. Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis infections and semen quality in 19 098 infertile men in China [J]. World J Urol, 2016, 34(7): 1039-1044.
- [10] Zhang L, Zhang KP, Liang CZ. Ureaplasma urealyticum in male genital tract: A hidden risk factor for male infertility [J]. Andrologia, 2016, 48(10): 1077-1079.
- [11] 郑渠,刘玮,张国巍,等. RNA 恒温扩增法与培养法检测解脲支原体结果比较分析[J]. 中华男科学杂志, 2017, 23(8): 717-721.
- [12] 王彦彬,诸靖宇,李瑞鹏,等. 实时荧光核酸恒温扩增技术在泌尿生殖道解脲支原体感染中的应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(23): 5322-5324.
- [13] 韩燕,陈凯,朱邦勇,等. 实时荧光核酸恒温扩增技术检测无创样本沙眼衣原体的性能[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2020, 47(5): 402-405.
- [14] 张岱,刘朝晖. 生殖道支原体感染诊治专家共识[J]. 中国性科学, 2016, 25(3): 80-82.
- [15] 孙颖浩. 吴阶平泌尿外科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2019.
- [16] 顾伟鸣,杨阳,吴磊,等. 实时荧光核酸恒温扩增技术检测泌尿生殖道沙眼衣原体感染[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(4): 271-272.
- [17] 骆振刚,李瑞鹏,王彦彬,等. 实时荧光核酸恒温扩增技术检测泌尿生殖道生殖支原体感染临床观察[J]. 中华男科学杂志, 2019, 25(6): 535-538.
- [18] 冯强,马志伟,王寓,等. 男性不育症患者生殖支原体感染与精液常规参数及精子 DNA 完整性的相关性[J]. 中华男科学杂志, 2020, 26(10): 900-905.
- [19] 李维娜,朱文兵,刘刚. 生殖支原体感染与男性不育相关性分析[J]. 中华男科学杂志, 2018, 24(11): 999-1004.
- [20] 宣岩,魏兰馨,洪翔,等. 我国不同人群生殖支原体感染率的 Meta 分析[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(2): 335-342.

(2021-04-01 收稿)

(本文编辑:赵 波)