

PCR 检测眼部沙眼衣原体感染的初步报告

黄湖明^① 邵应峰 梁晓文 汪玉^② 麦美琪^③

(中山医科大学孙逸仙纪念医院眼科; 广州, 510120)

提 要 用聚合酶链反应(PCR)和直接免疫荧光法(DIF)对 67 例睑结膜进行沙眼衣原体检测, 其中沙眼 7 例、疑似沙眼 37 例、正常睑结膜 23 例。结果发现, 沙眼和疑似沙眼与正常组比较, PCR 检出阳性率有非常显著性差异($P < 0.001$), DIF 差异无显著性($P > 0.05$)。疑似沙眼组中, PCR 与 DIF 阳性检出率比较差异有显著性($0.02 < P < 0.05$)。

主题词 聚合酶链反应; 衣原体, 沙眼; 沙眼/诊断; 荧光抗体技术

中图分类号 R777.32

80 年代末 90 年代初兴起的分子生物学技术——聚合酶链反应(PCR)问世以来, 该技术在短短几年内得到迅速发展。在检测沙眼衣原体的实验室研究国外先后有 Class, Dutilh, Bobo, Holland 等^[1], 应用于临床上检测眼部沙眼衣原体感染的报道只有 Bobo, Fan, Bailey 等人^[2~4], 国内尚未见报道。我们利用 PCR 技术检测了一组眼科病例, 并与直接免疫荧光法对比, 现将结果报告如下。

1 材料与方 法

1.1 病 例

检测睑结膜共 67 例, 男性 28 例、女性 39 例。年龄 8~74 岁。按我国现行沙眼诊断标准, 符合沙眼共 7 例, 其中沙 I+2 例、沙 I+1 例, 沙 II+3 例、沙 II+1 例(并双上睑内翻倒睫)。疑似沙眼 37 例, 诊断依据为病人有眼部瘙痒、异物感等症状, 睑结膜有炎症改变(上、下穹窿部睑结膜并以上睑为主和毗邻球结膜充血、血管行径清或稍模糊, 有乳头和滤泡)、裂隙灯角膜显微镜下无(或可疑)角膜血管翳。正常睑结膜 23 例, 病人无自觉症状、结膜无明显充血、上睑结膜血管行径清楚。

1.2 采 样

滴表面麻醉剂后医生戴无菌手套用纯涤棉小拭子浸湿无菌生理盐水, 在上、下穹窿部和睑结膜抹取

样本, 按直接免疫荧光法和沙眼衣原体基因检测试剂盒说明作涂片, 然后将同一拭子放置于一次性使用 PCR 管(装有 0.5ml 无菌生理盐水), 专人传送复检。

1.3 沙眼衣原体检测

直接免疫荧光法用北京科生技术公司生产的衣原体荧光单克隆抗体诊断试剂盒, 可检测已知所有 15 种人类沙眼衣原体血清型抗原(A~K、Ba、L₁~L₃)以及鸚鵡热衣原体抗原(GP1C、6BC、Mn 等)。PCR 技术采用中山医科大学达安基因诊断中心产销的沙眼衣原体基因检测试剂盒。用检测 16s rRNA 基因的引物片段为沙眼衣原体属特异型引物, 其定位及序列是:

I: 5' GTGGATAGTCTCAACCCTAT (832-851) II: 5' TATCTGTCCTTGCGGAAAAC (1041-1022)

扩增片段约 210bp。

PCR 变性、退火、延伸的温度、时间分别为 93℃ 30s、55℃ 30s、72℃ 60s, 循环 35 次。

2 结 果

本组病例 7 例沙眼中, PCR 阳性 5 例 (71.4%), DIF 阳性 2 例 (28.6%), 这 2 例 PCR 亦同为阳性, 由于病例太少, 不足以作统计学分析。疑似沙眼 37 例

① 第一作者, 1944 年出生, 男, 主治医师;

② 本校达安基因诊断中心;

③ 孙逸仙纪念医院妇产科实验室

中,PCR 阳性15例(40.5%),DIF 阳性7例(18.9%),PCR 与 DIF 同为阳性者2例,PCR 阳性 DIF 阴性者13例,DIF 阳性 PCR 阴性者5例,PCR 与 DIF 的阳性检出率有显著性差异($P < 0.05$)。在23例正常睑结膜中,PCR 的阳性率为0(0.0%),而 DIF 则为4(17.4%)。沙眼组和疑似沙眼组分别与正常组比较,PCR 的阳性检出率均有非常显著性差异($P < 0.001$),DIF 无明显差异($P > 0.05$)

3 讨论

沙眼的临床诊断和分期方法历来各家意见不一^[5]。临床上对早期沙眼的诊断比较困难,易于误诊^[6],有时只能初步诊断为“疑似沙眼”而要进一步观察^[7]。尽管眼部沙眼衣原体感染的病原学实验室诊断已有多种方法,但由于技术复杂、对材料要求条件高、比较费时、临床难于实施,目前尚不能作为临床检验的常规方法^[8]。PCR 技术具有简单、特异、灵敏、快速等特点^[1],很有可能成为检测眼部沙眼衣原体感染的一种简单、快速的常规方法。近年来我院妇产科用 DIF 检测生殖道沙眼衣原体感染,方法简便、临床易于实施。我们利用 PCR 技术检测眼科病例时,也进行了 DIF 检测。值得注意的是,在我们这组病例中,正常眼 PCR 的阳性率为0而 DIF 则为17.4%。是 DIF 比 PCR 更敏感吗?我们的资料表明,临床诊断为沙眼和疑似沙眼的病例,DIF 的阳性检出率要低于 PCR。从临床角度来说,它们与临床诊断的符合率才是最有意义的。那么,是不是 DIF 出现了假阳性?有人认为,荧光显微镜的质量和操作技术均可影响 DIF 的测定结果^[9],我们不排除 DIF 有假阳性的可能。有关这方面的探讨,将是我们进一步的研究内容。

已经知道,沙眼衣原体的发育周期很独特,分原体和始体,具有高度传染性的原体附着于细胞表面,被细胞吞饮进入细胞内,在胞浆包涵体内,原体增大、演化成无传染性的始体,以二分裂方式繁殖,直至增大到包涵体填满细胞,这时如细胞膜破裂,则有传染性的原体即一涌而出,再侵袭其他健康细胞,造成重复感染^[6,10]。也就是说,附着于结膜细胞表面的是沙眼衣原体的原体。我们采样是用湿涤棉拭子在

睑结膜表面抹取而不是刮取,所采集得到的是否就是附着于结膜细胞表面的原体呢?若然,那么 PCR 阳性可说明检测到的是具有高度传染性的沙眼衣原体原体,这不仅对沙眼的早期诊断、分期、治疗而且对防止重复感染和控制传播以及流行病学的研究都有很重要的意义。当然,这种采样方法所得到的是沙眼衣原体的始体或原体?还有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 范 俊. 聚合酶链反应及其在眼科的应用. 国外医学眼科分册,1993,17(1):11
- 2 Bobo L, Munoz B, Viscid R, et al. Diagnosis of chlamydia trachomatis eye infection in Tanzania by polymerase chain reaction/enzyme immunoassay. Lancet, 1991, 338(5):847
- 3 Fan J, Zhang WH, Wu YY, et al. Detection of infections of the eye with chlamydia trachomatis by the polymerase chain reaction. Int Ophthal, 1993, 17(6):327
- 4 Bailey RL, Hampton TJ, Hayes LJ, et al. Polymerase chain reaction for the detection of ocular chlamydial infection in trachoma-endemic communities. J Infect Dis, 1994, 170(3):709
- 5 张 轲. 沙眼研究进展. 国外医学眼科分册, 1991. 15(2):66
- 6 杨 钧. 现代眼科手册. 北京:人民卫生出版社, 1993. 224~316
- 7 毛文书. 眼科学. 第3版. 北京:人民卫生出版社, 1990. 66
- 8 张 力. 沙眼衣原体的研究进展. 国外医学眼科分册, 1988, 12(4):195
- 9 侯振江. 衣原体感染实验诊断进展. 国外医学流行病学传染病学分册, 1994, 21(5):271
- 10 张广春, 边贻海. 生殖道沙眼衣原体感染的研究现状. 国外医学流行病学传染病学分册, 1994, 21(5):267

(1995-04-14收稿 1995-06-30修回)

PRIMARY REPORT OF DETECTING OCULAR TRACHOMATIC CHLAMYDIAL INFECTION BY POLYMERASE CHAIN REACTION

Huang Huming Shao Yingfeng Liang Xiaowen Wang Yu Mai Meiqi

(Department of Ophthalmology, Sun Yat-Sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen
University of Medical Sciences, Guangzhou, 510120)

Polymerase chain reaction (PCR) was evaluated for the detection of ocular chlamydial trachomatic infection and compared with direct immunofluorescence (DIF). Specimens were obtained from tarsal conjunctiva of 67 cases, consisting of 7 trachomas, 37 suspected c. Trachomatis infections and 23 normal eyes. The findings showed that if using PCR the positive rate of both trachoma group and suspected c. Trachomatis infection group had significant differences as compared with normal group ($P < 0.001$), but no differences if using DIF ($P > 0.05$). In suspected c. trachomatis infection group, the difference of positive rate between PCR and DIF is significant ($0.02 < P < 0.05$).

Subject headings polymerase chain reaction; chlamydia trachomatis; trachoma/diagnosis; fluorescent antibody technique

·简报·

学报创刊15周年暨增刊通报

正值《中山医科大学学报》创刊15周年之际,本刊编辑部于1995年6月17日召开了“学报创刊15周年总结会”。本刊编辑部主任、副主任关淡庄同志作了总结报告。首先感谢了学报的各位前辈为学报的创刊和发展所立下的汗马功劳,再次感谢了学校领导对学报一贯扶持,并希望学校领导继续一如既往地给予政策上的倾斜。紧接着,报告总结了学报创刊15年以来所取得的成绩,包括各种省级以上的奖励、称号、提名等;从学报刊登文章的获奖情况、获各级各种资助情况,从作者的学位和职称情况,从本刊被引用和被检索工具录用的情况,从本刊在核心期刊中所占的名次等多方面总结了学报学术水平,认为学报的学术水平已经得到了很大的提高,尤其是进入90年代以来,以上的各项指标都有明显的增长。从刊登的1千多篇稿件中统计了学校各部门各学科的来稿和刊发情况,指出了我校各学科部门本身的科研实力和对学报的支持是分布不均的,要求表现好的学科部门再接再厉,努力创造新成绩,表现不好的学科部门则要改变旧貌,努力创造新水平。最后,通过回顾总结,展望未来,提出一系列改革管理措施,从编委、作者、编辑三者着手,为提高学报的学术质量、规范程度、经济效益等而努力,为把学报办成名副其实的卫生部属重点院校的一流学术性杂志,为中山医科大学争创211工程作贡献。总结得到了与会人员的肯定。学校党委李卓宏总书记为大会讲了话,肯定了学报在过去的15年所做出的成绩,为学报今后的发展指出了方向,认为学报不是商品,不能要求它自己完全投入到市场经济中去,要由办刊单位给予补贴、扶持。学报主编彭文伟、祝家镇、傅祖植(副校长)以及学报创始人关勋添、期刊编辑部主任张振弘、老编委侯灿教授在会上讲了话,肯定了成绩,也指出了不足,并提出不少有建设性的意见。

为了纪念学报创刊15周年,为了进一步促进本校学术成果的交流,本部积极组织创办增刊。本期增刊得到了学校各部门和各附属医院的支持,作者投稿十分踊跃,收稿160余篇,经与正刊相同严格审定制度以后仍有60余篇通过。因限于篇幅,今年增刊只能刊出其中一部分,余下另一部分只能明年再刊出。

(学 讯)