维普资讯 http://www.cqvip.com

142-143,161

(12)

文章编号：0253-3626(2000)02-0142-02

R719.8 R714.25 R714.62

从剖宫者产羊水和宫颈标本中检出沙眼衣原体的研究

杨　春[1]，邝富国[2]，朱道银[1]

（1. 重庆医科大学基础医学院微生物学教研室 400016；2. 重庆市艾滋病性病防治办公室 400015）

摘　要　目的：本文通过检查配对母胎标本中的沙眼衣原体（Ct），拟探讨Ct垂直传播的机制。方法：应用细胞培养，聚合酶链反应（PCR）检查配对母胎标本（宫颈、羊水、新生儿睑结膜）中的沙眼衣原体（Ct）。结果：102例剖宫产配对母胎标本中，宫颈、羊水、新生儿睑结膜均为阳性有24例。宫颈阴性、羊水、新生儿睑结膜阳性共6例。宫颈阳性、羊水、新生儿睑结膜阴性共4例。宫颈、羊水、新生儿睑结膜均为阴性有68例。孕妇的Ct感染率27.5%（28/102），胎儿的Ct感染率为29.4%（30/102）。结论：Ct宫颈感染与羊水细胞感染有非常显著的相关性（$P<0.005$）。孕妇的Ct感染可导致胎儿感染，其感染方式主要是通过宫颈逆行引起宫内感染。

关键词　沙眼衣原体；PCR；羊水

中国图书分类法分类号：R374.1　　**文献标识码**：A　　**收稿日期**：1999-10-18

Detection of chlamydia trachomatis from amniotic fluid and cervical samples at caesarean birth

YANG Chun, et al

Department of Microbiology, College of Basic Medical Sciences

Abstract　**Objective**: To study the modes and routes of the vertical Chlamydia trachomatis(Ct) transmission. **Methods**: Chlamydia trachomatis in the matched maternal-fetal samples(cervices, amniotic fluid and neonatal conjunctivas) was detected by cell culture and polymerase chain reaction(PCR). **Results**: Of the 102 matched maternal-fetal samples at caesarean birth ,24 matched samples of cervices, amniotic fluid and neonatal conjunctivas were positive for Ct by cell culture and PCR; 6 were negative for cervices but positive for amniotic fluid and neonatal conjunctivas; 4 were positive for cervices but negative for amniotic fluid and neonatal conjunctivas; 68 were negative for cervices, amniotic fluid ,and neonatal conjunctivas. The Ct transmission rates of pregnant women and newborns were 27.5%(28/102) and 29.5%(30/102), respectively.**Conclusion**: Cervical Chlamydia infection was highly related to the amniotic infection.The Ct infection in pregnant women may cause fetal infection and the pathways of intrauterine infection seem to be ascension from cervical access to the amniotic cavity.

Key Words　Chlamydia trachomatis; Polymerase chain reaction(PCR); Amniotic fluid

沙眼衣原体（Chlamydia trchomatis, Ct）是性传播疾病的常见病原体。女性感染Ct后可引起尿道炎，宫颈炎，输卵管炎，盆腔炎等。孕妇生殖道Ct感染与胎膜早破，早产，产后盆腔炎，新生儿肺炎和新生儿结膜炎等疾病有关[1]，故有必要探讨生殖道Ct感染与胎儿感染的关系及传播方式。以便早期治疗孕妇，预防新生儿感染Ct。本文应用细胞培养和PCR检查配对母胎标本中的Ct，拟探讨Ct垂直传播的方式和途径。

1　材料和方法

1.1　标本采集　1996~1998年于重庆医科大学临床学院产科采集102例剖宫产妇宫颈拭子及新生儿睑结膜拭子。所有棉拭子置于含1ml 0.2mM蔗糖的磷酸盐（2SP）转送液培养基中。剖宫产手术中经羊膜穿刺采集羊水，羊水细胞经离心和PBS洗涤后保存于2SP中。所有标本置-70℃保存备用。

1.2　细胞培养　将冻存标本置室温融化，涡漩2min。取0.5ml标本接种于单层McCoy细胞管。一式两份，经离心和温育，弃上清，加入含1μg/ml放线菌酮的EME培养基，37℃温育48h。培养物经盲传一代后用甲醇固定细胞片，取其中一份碘染色。另一份收集细胞供PCR用。沙眼衣原体TE55参考株作阳性对照。在显微镜下检出细胞中有包涵体者即为培养阳性[2]。

1.3　PCR　于洗涤收获的细胞培养物中加入250μl Tris-HCl缓冲液（含0.45%NP40、蛋白酶K 500μg/ml），置56℃ 1h

作者介绍：杨　春（1964-08出生），女，副教授

维普资讯 http://www.cqvip.com

后，95℃10min处理以灭活蛋白酶K。CtPCTT1质粒的引物对序列分别为5'-GTT TAA GTG TTC CCA TCA TAA AAA CAT ATTC-3'和5'-ATC CTT GTA TCC TGT TGG GAA GCC ATC AAAG-3'，产物503bP[3]。25μl反应物中含10mMTris-HCl缓冲液、10μl样品DNA、2mM $MgCl_2$、100mMdnTP、0.1μM引物和1μ TaqDNA聚合酶。反应物置94℃ 50s、50℃ 50s、72℃ 50s为一个循环。最后一个循环完成后置72℃ 10min。将扩增产物作2%琼脂糖凝胶电泳，紫外核酸检测仪上确定产物片段的大小。

统计结果时，将细胞培养阳性或PCR阳性者判为阳性，将两者均为阴性者判为阴性。

2 结 果

102例剖宫产配对母胎标本中，宫颈、羊水、新生儿细胞培养和PCR均为阳性24例，宫颈阴性、而羊水、新生儿睑结膜阳性者6例，宫颈阳性、羊水、新生儿睑结膜阴性者4例，宫颈、羊水、新生儿睑结膜均为阴性者共68例（表1）。孕妇Ct的感染率为27.5%（28/102），新生儿Ct感染率为29.4%（30/102）。宫颈阳性28例中，羊水和胎儿阳性24例。宫颈阴性74例中，羊水和胎儿阴性68例。说明宫颈Ct感染与羊水及胎儿感染有非常显著的相关性（$P<0.005$）。

3 讨 论

沙眼衣原体引起的泌尿生殖道感染呈世界性流行，据报道妇女感染率为5%～37%[1]。孕妇因生理性免疫抑制或宫颈异位等原因，增加了感染的机会。Posada[4]报道孕妇Ct感染率达44%，受染者的新生儿衣原体感染率达64%。另据报道母亲感染Ct而未经治疗者，20%～52%的新生儿发生衣原体肺炎[1]。孕妇衣原体感染，无论经阴道分娩，还是剖宫产分娩，新生儿都有Ct感染的可能性，而与分娩方式无关[5]。因此探讨Ct垂直传播的方式及途径对保护母婴健康有重要意义。

表 宫颈、羊水细胞及新生儿睑结膜Ct的检测结果

病例数	宫颈细胞培养或DNA	羊水细胞培养或DNA	睑结膜培养或DNA
24	阳性	阳性	阳性
6	阴性	阳性	阳性
4	阳性	阴性	阴性
68	阴性	阴性	阴性

沙眼衣原体为专性细胞内寄生，常导致持续性感染状态，即病原体在宿主细胞内不过度生长增殖。由于受染的妇女多无症状，因此检出Ct对衣原体的诊断和治疗都很重要。Ct的诊断方法较多，如免疫荧光法，免疫酶法，细胞培养，PCR等，既可检查Ct病原体，也可测Ct特异的抗原和抗体。而PCR为衣原体感染的快速诊断提供了可行的方法。Ct分离培养常作为评估其它非培养方法的“金标准”。本文所用的引物扩增质粒PCTT1特异DNA，该质粒是各种血清型Ct的共有质粒，PCR和细胞培养的敏感性，特异性分别为92.3%、100%和100%、98.4%[6]。两种检测方法有少数结果不一致，主要是标本存放时间过长Ct死亡，培养阴性而DNA却阳性，标本中含Taq酶抑制物可致PCR阴性。

检查的102例母胎配对标本中，宫颈标本阳性28例，孕妇Ct感染率为27.5%。羊水阳性30例，胎儿Ct感染率为29.5%。而且宫颈Ct感染与羊水细胞感染有非常显著的相关性。据报道，Ct可以经宫颈上行进入羊膜腔引起感染。Ct通过宫颈感染到达胎膜引起绒毛膜或羊水感染，在羊水中可查到Ct，并有较高的垂直传播率[7]。本文结果与这些报道的结果相符合。宫颈阴性，羊水、睑结膜阳性的标本，可能是妊娠早期的Ct感染所致，而孕妇接受治疗后宫颈Ct转阴。Ratelle等[8]报道85%以上孕妇在第二个三月末接受产前治疗。如果孕妇在整个妊娠期无Ct感染，而羊水阳性则提示其它的传播途经，例如血流、受精等。这些途径有待进一步证实。4例宫颈阳性，羊水、睑结膜阴性标本，可能由于孕妇抵抗力的差异所致，也可能是孕期不同时间Ct感染导致宫内感染的机率不同。

本文从大量剖宫产、羊水标本中检出Ct，证实了Ct的宫内感染。特别是从羊水细胞和宫颈标本检出Ct的关系，提示Ct通过逆行感染而引起宫内感染的机制。同时提出其它尚需进一步证实的机制。对孕期Ct感染的垂直传播，有以下问题值得探讨：哪一时期的孕期感染易导致宫内感染（前3个月，第2个3月，第3个3月）？宫颈感染后发生宫内感染的可能性有多少？除逆行感染的主要途径外其它还有哪些途径。对孕期Ct感染的监测，随访是解决问题的重要环节。因此，及时发现并治疗孕期Ct感染是预防新性生儿感染的有效措施。

（致谢：本工作得到本校临床学院妇产科简丽副教授的大力支持，在此表示感谢。）

（下转第161页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

室性心律失常与QTd密切相关，这可能与复杂性室性心律失常涉及较显著的心肌电生理改变有关。综合文献报道本文用QTd 60ms预测复杂性室性心律紊乱，其敏感性为60%，特异性为75%。敏感性尚不理想。Pye等[5]认为室性心律紊乱与心肌折返有关，同时也受多种自主神经因素的影响，联合运用各种无创性指标可能会更有效。本文显示在Lown氏III级以上病例中，有明确器质性心脏病者与临床常规检查原因不明者相比，QTd增大但未获显著性差异。其原因一方面可能与病例数有关，另一方面则可能提示存在潜在的心肌局部电生理改变。这类病人在心肌活检中可能存在器质性病变。QTd增大对“原因不明者”有长期随访价值。

心源性昏厥在众多昏厥原因中危害最大，其中又以快速性室性心动过速所致者为甚。这类病人往往有器质性心脏病，心肌存在严重电生理紊乱。Priori等[6]认为QTd可以作为治疗有晕厥症状的先天性QT间期延长综合征疗效的量化指标。本文显示QTd有助于评估昏厥的原因。

原发性ST-T改变除外电解质、药物作用等因素，如病变导联数多，程度重，则常提示存在心肌缺血。心肌缺血与室性心律失常密切相关。局部缺血心肌与正常心肌之间动作电位不应期不一致明显增大，而体表心肌复极部分表现在ST-T上。Daniarov等[7]报告冠心病患者PTCA术前QTd＞60ms者在术后，随局部心肌缺血获得改善，QTd下降。本文结果显示室性心律紊乱病人有ST-T改变者QTd显著增大，与文献一致。

我们前瞻性用同步十二导联研究100例室性心律失常病例，Logistic多元回归分析发现室性早博的级别和体表ST-T的改变是影响QTd增大的重要因素。同时观察到一些慢性室性心律失常、未经特殊干预的病例，QTd在一定时间内无明显改变。这提示QTd的改变是一个慢性过程，其潜在的电生理改变尚不清楚。由于本文随访时间和病例数的限制，对预后的影响有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] 黄 颖，王周碧，陈运贞.QT离散度测定的重复性和正常值的研究[J]. 中国心脏起博与心电生理杂志，1999;13:23~25

[2] Glancy JM, Garratt CJ, Woods KL, et al. QT dispersion and mortality after myocardial infarction[J]. The lancet. 1995; 345:945~48

[3] Cowan JC, Yusoff K, Moore M, et al. Importance of lead selection in QT interval measurement[J]. Am J Cardiol.1988;61: 83~87

[4] Moreno FL, Villanuera MT, Raragounis LA, et al. Reduction in QT interval dispersion by successful thrombolytic therapy in acute myocardial infarction. Circulation[J]. 1994;90: 94~100

[5] Pye M, Quinn AC, Cobbe SM. QT interval dispersion: a non-invasive marker of susceptibility to arrhythmia in patients with sustained ventricul arrhythmia[J]. Br Heart J, 1994;71:511~514

[6] Priori SG. Napolitano C, Diehl L, et al. Dispersion of the QT interval a marker of therapeutic efficacy in the idiopathic long QT syndrome[J]. Circulation, 1994;89:1681~1689

[7] Daniarov B. Hilbel T, Brachmann J. Shortening of prolonged QT dispersion after coronary Angioplasty[J]. JACC. 1997;29(s2):510A

(上接第143页)

参 考 文 献

[1] Smith JR, Taylor RD, Infection due to Chlamydia trachomatis in preganancy and the newbone[J]. Clin Obstet Gynecol 1993; 7 (1): 237~255

[2] Benes S, Mclormack WM, Comparison of methods for cultivation and isolation of Chlamydia trachomatis[J]. J Clin Microbiol 1982; 16 (2): 847~850

[3] Stergarrd L, Birkelund S, Christiansen G, Use of polymerase chain reaction for detection of Chlamydia trachomatis[J]. J Clin Microbiol 1990; 28 (3):1254~1260

[4] Posada AB, Janosson J, DE linares L, et al. Prevalence of urogenital Chlamydia trachomatis infection in EI Salvador[J]. Int J STD AIDS 1992; 3 (1):33~37

[5] Bell TA, Stamm WE, CC Kou, et al. Risk of perinatal transmission of Chlamydia trachomatis by mode of delivery[J]. J Infect 1994; 29 (2):165~169

[6] Hammerschlag MR, Robin PM, Gelling M, et al. Use of polymerase chain reaction for the detection of Chlamydia trachomatis in occular and nasopharygeal specimences from infants with conjanctvitis[J]. Pediatr Infect Dis J 1997 ; 16 (3): 293~297

[7] Djukic S,Nedlikovic M, et al. Intra-amniotic Chlamydia trachomatis infection[J].Gynecol Obstet Invest, 1996;42(2):109~112

[8] Ratelle S, Keno D,Harwood M, et al. Neonatal Chlamydia trachomatis infection in Massachusetts,1992-93[J]. Am J Med 1997; 13 (3):221~224