

• 临床研究 •

DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2019.04.12

3 种 B 族链球菌筛查方法在孕晚期筛查中的应用*

陈小丽¹, 吴佳音¹, 陈玲¹, 黄秋兰², 叶辉铭^{1,3} (1. 厦门大学附属妇女儿童医院, 厦门市妇幼保健院医学检验科, 福建厦门 361003; 2. 南安市妇幼保健院检验科, 福建泉州 362300; 3. 厦门大学公共卫生学院, 福建厦门 361102)

摘要:目的 比较 3 种 B 族链球菌(GBS)的筛查方法在孕晚期孕妇 GBS 筛查中的临床应用价值。方法 收集 2017 年 9 月至 12 月在厦门市妇幼保健院产科门诊产检的 35~37 孕周孕妇阴道/直肠拭子样本 1 027 例,用 GBS 运送增菌显色培养基、GBS 运送增菌显色培养基联合哥伦比亚血琼脂培养基、GBS 运送增菌显色培养基联合产胡萝卜素/ β - γ 乙型链球菌二分格营养琼脂培养基 3 种方法进行 GBS 筛查,分析 GBS 检出率差异;另选 2018 年 5—6 月分离的 227 株阳性菌株,采用质谱分析进行验证。结果 3 种方法 GBS 检出率分别为 8.67%、12.76%、13.63%。GBS 运送增菌显色培养基联合血平板法和联合二分格培养基 GBS 检出率明显高于单独 GBS 运送增菌显色培养基($P < 0.05$),但前两者检出率差异无统计学意义;GBS 运送增菌显色培养基及二分格培养基检出的 GBS 菌株经质谱分析验证,符合率为 98.7%。结论 GBS 运送增菌显色培养基联合产胡萝卜素/ β - γ 乙型链球菌二分格营养琼脂培养基能提高 GBS 检出率,且操作及判读较为简便,适合孕晚期 GBS 筛查。

关键词: B 族链球菌; 运送培养基; 产前筛查

中图分类号: R446.5

文献标志码: A

B 族链球菌(group B *Streptococcus*, GBS)是引发新生儿感染和死亡的主要原因之一,新生儿感染可出现早发型和晚发型 2 种不同类别的疾病,早发型出现在出生一周内,晚发型则发现于出生 7~90 d 内。新生儿引发的疾病包括败血症、脑膜炎、肺炎等。GBS 亦可引发孕妇产前感染,其主要症状包括死胎、绒毛膜羊膜炎与早产,产后感染则包括败血症及肺炎^[1-2]。有文献报道孕晚期 GBS 感染与羊膜早破、低体重儿、泌尿系统感染等有一定的关系^[3]。传统血平板分离 GBS 单个菌落进行鉴定的方法操作比较复杂,耗时长,存在一定的假阴性^[4]。本研究对 3 种 GBS 筛查方法进行比较,以筛选检出率高、检测耗时少且经济的筛查方法。

1 资料和方法

1.1 标本来源 选取 2017 年 9 月—2018 年 6 月在厦门市妇幼保健院产科门诊常规产检并行 GBS 筛查的孕妇 1 254 例,年龄 18~56 岁,孕 35~37 周,产科常规采集阴道/直肠拭子样本。

1.2 仪器与试剂 PhoenixTM 100 比浊仪、PhoenixTM-100 全自动细菌鉴定/药敏分析系统(美国 BD 公司)、microTyper MS 微生物快速鉴定系统(天瑞仪器公司)。革兰阳性菌鉴定单板(PhoenixTM

PID 鉴定卡)、鉴定培养液(美国 BD 公司)、哥伦比亚血琼脂培养基(贝瑞特生物技术有限公司)、CMPTM GBS 运送增菌显色培养基和产胡萝卜素/ β - γ 乙型链球菌二分格营养琼脂培养基(启新生物科技有限公司)。

1.3 检测方法 以 GBS 运送增菌显色培养基配套棉拭子采集孕晚期产妇阴道内约 2~3 cm 处的分泌物后,再于肛门口内旋转 1 周,插回培养基后立即送检,于 35 ℃、5% CO₂ 培养箱增菌培养 18~24 h,GBS 运送增菌显色培养基呈现胡萝卜色则直接判读为阳性。未显现胡萝卜色的 GBS 运送增菌显色培养基分别转种二分格平板和血平板,继续培养于 35 ℃、5%CO₂ 培养箱 18~24 h。二分格平板呈现胡萝卜色且菌落 β 溶血,则直接判读为 GBS 阳性。二分格平板仅出现 β 溶血(二分格平板可诱导 γ 溶血 GBS 出现 β 溶血)、血平板上可疑菌落均进行仪器鉴定确认后判定阳性,其余全部判定为阴性。

质谱鉴定: 用 1 μ L 接种环挑取单个菌落,均匀涂抹在靶板的样品孔内,再滴加 1 μ L 70% 甲酸溶液,在室温下待其自然晾干。之后滴加 1~2 μ L 基质溶液覆盖样品,自然晾干后上机检测并采集谱图。每个样本平行测 2 个靶点。

质控菌株: 无乳链球菌 ATCC 12386、无乳链球

* 基金项目:厦门市第二批青年创新创业人才项目(2015-A-03)。

作者简介:陈小丽,1983 年生,女,主管技师,大学本科,主要从事临床微生物检验和实验室生物安全管理工作。

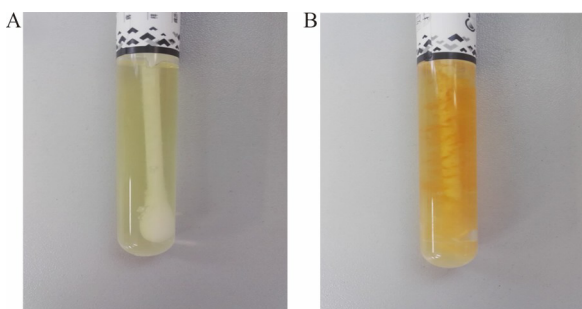
通信作者:叶辉铭,副教授,副主任技师,硕士研究生导师,主要研究方向为个体化医学分子诊断与实验室质量管理,E-mail: yehuiming@xmu.edu.cn。

菌 ATCC 13813(美国微生物菌株保藏中心);原卫生部临床检验中心随室间质评质控品下发的肺炎链球菌 ATCC 49619、金黄色葡萄球菌 ACTT 25923。

1.4 统计学分析 用 SPSS 13.0 软件进行,计数资料用例(百分数)表示,组间比较应用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

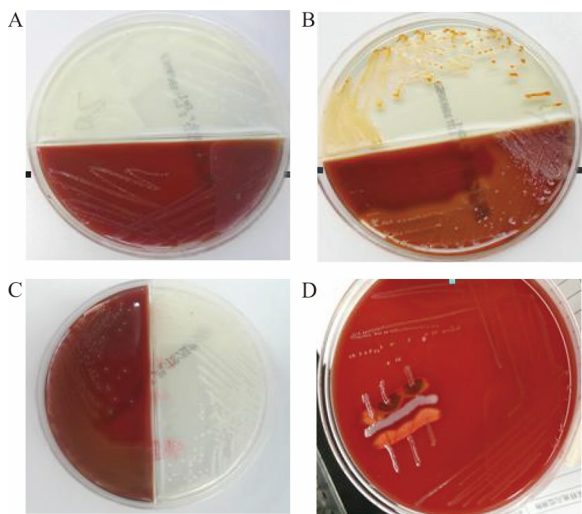
2 结果

2.1 GBS 在运送增菌显色培养基、二分格平板和血平板显色情况 见图 1、2。



注: A 阴性(24 h); B 阳性(24 h)。

图 1 GBS 在运送增菌显色培养基显色情况



注: A 二分格显色培养基 GBS 阴性(24 h); B 二分格显色培养基 GBS 阳性(24 h); C γ 溶血 GBS 在二分格显色培养基(24 h); D γ 溶血 GBS 哥伦比亚血平板(24 h)。

图 2 GBS 在二分格平板及血平板的培养情况

2.2 3 种 GBS 检验方法比较 用 3 种方法同时检测 1 027 个临床样本,其中单纯 GBS 运送增菌显色培养基培养阳性率为 8.67%(89/1 027),分别低于 GBS 运送增菌显色培养基联合哥伦比亚血琼脂培养法的 12.76%(131/1 027) 和 GBS 运送增菌显色培养基联合产胡萝卜素/ β - γ 乙型链球菌二分格琼脂培养法的 13.63%(140/1 027),差异均有统计学意义(χ^2 分别为 8.98 和 12.78, P 均 <0.05)。联合血平

板与联合二分格平板 GBS 的检出率比较,两者间差异无统计学意义($\chi^2=0.334, P=0.557$)。

2.3 GBS 运送增菌显色培养基及产胡萝卜素/ β - γ 乙型链球菌二分格琼脂培养基法检出阳性菌株的验证情况 选取我院 2018 年 5 月—6 月分离的 GBS 227 株,其中 GBS 运送增菌显色培养基直接显色 140 株,产胡萝卜素/ β - γ 乙型链球菌二分格琼脂筛查 87 株,采用质谱分析进行验证。质谱分析确认 224 株为 GBS(符合率 98.7%),3 株为粪肠球菌。不符合的 3 株菌采用 PhoenixTM PID 鉴定卡经 PhoenixTM-100 全自动细菌鉴定/药敏分析系统鉴定结果也为粪肠球菌。

3 讨论

GBS 是常见的阴道定植菌,孕期妇女 GBS 的定植率高达 10%~30%^[5],约 1% 的新生儿在母体子宫内或分娩时感染 GBS。我国南方地区每 10 000 个新生儿中就有近 6 个感染 GBS,且早发型多于迟发型^[6]。美国《围产期 B 族链球菌相关疾病预防指南》建议对孕 35~37 周孕妇进行 GBS 筛查,并采取抗菌药物治疗,以降低新生儿发病率和死亡率。

不同的筛查方法可直接影响 GBS 的检出率。目前美国疾病控制与预防中心有推荐标准的 GBS 筛检操作流程,但此法操作复杂,耗时长。而传统的荧光免疫和协同凝集法则因其方法自身局限性,无法被广泛使用,且不利于指导是否在分娩前后使用抗菌药物治疗。

本研究比较了 3 种 B 族链球菌筛查方法的检出率。GBS 运送增菌显色培养基是集采样、保存、运送、增菌、辅助鉴别为一体的培养基,虽会抑制定植于产道直肠处的大量细菌的生长,但对于大量的肠球菌和链球菌并无抑制作用,特别是粪肠球菌可严重干扰 GBS 的生长而导致假阴性。因此单独用 GBS 运送增菌显色培养基筛检会导致 GBS 的漏检,从而使 GBS 阳性检出率较低。本研究中单独 GBS 运送增菌显色培养基的 GBS 检出率仅为 8.67%。而标本放入 GBS 运送增菌显色培养基增菌培养再移种至血平板,在血平板上 GBS 形成 β 溶血的菌落,少数菌株无 β 溶血环,需对可疑菌落分纯后进行仪器鉴定。对可疑菌落的选择依靠微生物工作人员经验,因 GBS 不溶血株(γ 溶血型)约占 11%,在血平板上菌落特征不明显,常导致 GBS- γ 溶血型的漏检,且需耗费菌落分纯的时间,延长报告时间。二分格平板一侧的特殊琼脂组分能诱导 GBS 由 γ 溶

血型成为 β 溶血型,而不影响其他溶血型菌落外观,可提高 GBS-γ 溶血型的检出率。同时在本研究中,笔者发现有极少数非典型的粪肠球菌在 GBS 运送增菌显色培养基无显色,转种至产胡萝卜素/β-γ 乙型链球菌二分格琼脂后,18 h 出现淡黄色和 β 溶血,在哥伦比亚血琼脂培养基上也呈现 β 溶血,菌落形态与 GBS 极其相似。此种粪肠球菌的显色不随培养时间延长而加深,与 GBS 的显色情况存在区别。在采用 GBS 运送增菌显色培养基联合产胡萝卜素/β-γ 乙型链球菌二分格琼脂培养法筛查 GBS 时,应注意排除此类情况,避免假阳性。在本研究中相较于转种血平板,二分格平板的检出率为 13.63%,多检出 6 例 γ 溶血型 GBS。同时鉴于二分格平板另一侧组分中含有特殊成分产胡萝卜素琼脂 β 溶血的 GBS 会产生典型的胡萝卜色菌落,二者同时阳性即可发出阳性报告,检测时间缩短至 24~48 h。

GBS 运送增菌显色培养基联合产胡萝卜素/β-γ 乙型链球菌二分格琼脂培养法可有效缩短检测时间,提高 GBS 的检出率,降低漏检率,结果判定简单,节约细菌鉴定费用,可以提高围产期孕妇及新生

儿 GBS 感染检出率,有效辅助临床诊疗。

致谢:感谢厦门大学化学化工学院林水潮老师在质谱分析鉴定中给予的帮助。

4 参考文献

[1] 仇英,应春妹. B 族链球菌检测在围产期孕妇感染诊断中的意义[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(6): 410-412.
 [2] 李棣,杨慧霞. 我国围产期 B 族链球菌感染的现状及筛查策略[J]. 中华围产医学杂志, 2017, 20(8): 560-564.
 [3] 张京海,杜桂香,刘桂英,等. 孕妇产道 B 群链球菌的分离鉴定及结果分析[J]. 临床检验杂志, 1992, 10(3): 163.
 [4] 张慧,王晓艳. B 族链球菌显色平板的初步应用评价[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(4): 320.
 [5] Furfaro LL, Chang BJ, Payne MS. Applications for bacteriophage therapy during pregnancy and the perinatal period[J]. Front Microbiol, 2017, 8: 2660.
 [6] Guan X, Mu X, Ji W, et al. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in infants from urban area of south China, 2011-2014[J]. BMC infect Dis, 2018, 18(1): 14.

(收稿日期: 2018-09-11)

(本文编辑: 刘群)

(上接第 286 页)

[3] 毕茹茹,姜飞,康海全,等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌耐药基因及同源性分析[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(4): 293-296, 313.
 [4] Endimiani A, Carias LL, Hujer AM, et al. Presence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates possessing *bla_{KPC}* in the United States[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(7): 2680-2682.
 [5] Yu Y, Ji S, Chen Y, et al. Resistance of strains producing extended spectrum β-lactamases and genotype distribution in China[J]. J Infect, 2007, 54(1): 53-57.
 [6] Guo C, Yang X, Wu Y, et al. MLST-based inference of genetic diversity and population structure of clinical *Klebsiella pneumoniae*, China[J]. Sci Rep, 2015, 5: 7612.
 [7] 王健,潘亚萍,徐元宏,等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌药物敏感性和耐药基因研究[J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(8):

1231-1235.

[8] Al-Zahrani IA. The emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates producing OXA-48 and NDM in the Southern (Asir) province, Saudi Arabia[J]. Saudi Med J, 2018, 39(1): 23-30.
 [9] 胡燕燕. 耐碳青霉烯革兰阴性杆菌分子流行病学及 MALDI-TOF MS 在碳青霉烯耐药决定子快速检测中的应用研究[D]. 浙江: 浙江大学, 2014.
 [10] 李进,胡韦维,张峰领,等. 多重耐药铜绿假单胞菌的两种同源性分析方法的比较[J]. 第三军医大学学报, 2018, 40(14): 1258-1262.

(收稿日期: 2018-07-18)

(本文编辑: 刘群)