

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.16.005

围生期孕妇 B 族链球菌筛查方法学探讨及血清型耐药性分析*

王 林¹, 段雯婷², 樊清清³, 王 维^{4△}

陕西省西安市第一医院:1. 检验科;2. 心血管内科;3. 药剂科, 陕西西安 710002;

4. 陕西省西安市儿童医院检验科, 陕西西安 710003

摘 要:目的 探讨围生期孕妇感染 B 族链球菌(GBS)最优的筛查方法,分析其血清型和耐药性及临床结局。**方法** 选取西安市第一医院 2018 年 1 月至 2020 年 8 月产科门诊及住院收治的 35~37 周孕妇 874 例为研究对象,采集生殖道-直肠分泌物,采用荧光定量 PCR 法和显色培养加鉴定法筛查 GBS,分析 2 种方法的阳性检出率,乳胶凝集试验检测 GBS 菌株的血清型,最低抑菌浓度(MIC)法检测细菌对常用抗菌药物的耐药性,分析 GBS 感染对孕妇临床结局的影响。**结果** 874 例孕妇的待检标本中,荧光定量 PCR 法阳性检出率为 8.92%,显色培养加鉴定法阳性检出率为 6.41%,差异有统计学意义($P<0.05$)。通过临床随访,874 例孕妇中有 33 例发生胎儿窘迫、孕妇败血症、新生儿败血症、早产、胎膜早破等异常情况,其中 28 例经荧光定量 PCR 法检测 GBS 为阳性,19 例经显色培养加鉴定法检测 GBS 为阳性,差异有统计学意义($P<0.05$)。78 株孕妇定植的 GBS 共检出 4 种血清型,分别为Ⅲ型(51.28%)、I b 型(20.51%)、I a 型(16.67%)、V 型(11.54%)。GBS 对万古霉素、利奈唑胺、替加环素、头孢吡肟、头孢曲松、氨苄西林、青霉素、四环素敏感性较高,分别为 100.00%、100.00%、100.00%、100.00%、100.00%、100.00%、82.05%,对克林霉素、左氧氟沙星、红霉素敏感性较低,分别为 50.00%、50.00%、0.00%。克林霉素、左氧氟沙星耐药性与血清型差异有统计学意义($P<0.05$),血清型Ⅲ、I b、V 型耐药性较高。**结论** 荧光定量 PCR 法快速、准确,阳性检出率高,对检测围生期妇女 GBS 感染更有价值。西安地区孕妇 GBS 定植、感染 GBS 血清型分布前 4 位为Ⅲ型、I b 型、I a 型、V 型;GBS 对红霉素、左氧氟沙星、克林霉素耐药率较高,耐药菌株在Ⅲ型、I b 型、V 型分离株中广泛流行、临床应根据药敏结果合理使用抗菌药物,有效预防孕妇 GBS 感染。

关键词:围生期; B 族链球菌; 血清型; 耐药性

中图法分类号:R37;R71

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)16-2321-04

Screening methodology and serotype and drug resistance analysis of group B streptococcus in perinatal pregnant women*

WANG Lin¹, DUAN Wenting², FAN Qingqing³, WANG Wei^{4△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Cardiology; 3. Department of Pharmacy, the First Hospital of Xi'an, Xi'an, Shaanxi 710002, China; 4. Department of Clinical Laboratory, Xi'an Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710003, China

Abstract: **Objective** To explore the optimal screening method for group B Streptococcus (GBS) infection in perinatal women, and analyze its serotype, drug resistance and clinical outcomes. **Methods** A total of 874 pregnant women of 35—37 weeks in the First Hospital of Xi'an from January 2018 to August 2020 were selected. The genital tract and rectum secretions were collected. Fluorescent quantitative PCR and chromogenic culture plus identification were used to screen GBS, and the positive detection rates of the two methods were analyzed. The serotype of GBS was detected by latex agglutination test. The minimum inhibitory concentration (MIC) method was used to detect the drug resistance of bacteria to commonly used antibiotics. The impact of GBS infection on clinical outcomes of pregnant women was analyzed. **Results** In 874 samples, the positive rate of fluorescent quantitative PCR was 8.92%, and the positive rate of chromogenic culture plus identification was 6.41%, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Through clinical follow-up, 33 of 874 pregnant women had fetal distress, sepsis of pregnant women, neonatal sepsis, premature delivery, premature rupture of membranes and other abnormalities, of which 28 cases were positive by fluorescent quantitative PCR,

* 基金项目:陕西省重点研发计划(2017SF-119)。

作者简介:王林,男,主管技师,主要从事临床检验诊断学研究。△ 通信作者, E-mail:doctordian.dian@163.com。

本文引用格式:王林,段雯婷,樊清清,等.围生期孕妇 B 族链球菌筛查方法学探讨及血清型耐药性分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18 (16):2321-2323.

19 cases were positive by chromogenic culture plus identification, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Four types of GBS were detected in 78 pregnant women, which were type III (51.28%), type I b (20.51%), type I a (16.67%) and type V (11.54%). The sensitivity of GBS to vancomycin, linezolid, tigecycline, cefepime, ceftriaxone, ampicillin, penicillin and tetracycline was 100.00%, 100.00%, 100.00%, 100.00%, 100.00%, 100.00 and 82.05%, respectively, while the sensitivity to clindamycin, levofloxacin and erythromycin were 50.00%, 50.00% and 0.00%, respectively. The drug resistance of clindamycin, levofloxacin and serotypes were significantly different ($P < 0.05$), and serotypes III, I b and V had higher drug resistance. **Conclusion** Fluorescent quantitative PCR is rapid, accurate and has a high positive detection rate. It is more valuable for the detection of GBS infection in perinatal women. The top four serotypes of GBS colonization and infection in pregnant women in Xi'an were type III, type I b, type I a and type V. The resistance rate of GBS to erythromycin, levofloxacin and clindamycin is high. The resistant strains are widely prevalent in type III, type I b and type V strains. The clinical use of antibiotics should be based on the drug sensitivity results to effectively prevent GBS infection in pregnant women.

Key words: perinatal period; group B Streptococcus; serotype; drug resistance

B 族链球菌 (GBS), 又称无乳链球菌, 是一种常见的革兰阳性球菌, 在直肠和阴道中正常寄居, 属条件致病菌, 一般健康人群感染 GBS 并不致病^[1-2]。GBS 是导致围生期孕妇和新生儿普遍感染的致病菌, 除可引起孕妇产褥感染、胎膜早破、胎儿早产、流产外, 孕妇在分娩中也可能将此菌传递给新生儿, 导致新生儿肺炎、脑膜炎、败血症, 甚至死亡^[3-4]。因此, 早期筛查 GBS 并有针对性地运用抗菌药物对围生期孕妇和新生儿至关重要^[5]。本研究选取 2018 年 1 月至 2020 年 8 月于西安市第一医院就诊的 874 例围生期孕妇作为研究对象, 对 GBS 感染的菌株筛查方法、血清型、耐药性及孕妇临床结局进行分析, 为更准确、快速鉴定 GBS 及合理运用抗菌药物提供依据, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取西安市第一医院 2018 年 1 月至 2020 年 8 月产科门诊及住院收治的 35~37 周孕妇 874 例为研究对象。纳入标准: 所有孕妇 1 周内未使用抗菌药物^[6]; 患者及其家属对本研究均知情同意。孕妇年龄 22~41 岁, 平均 (26.9 ± 2.2) 岁。用无菌拭子于生殖道低位 1/3 处, 沿阴道壁轻轻旋转取孕妇生殖道拭子标本, 于肛门括约肌以上 2~5 cm 处沿肠壁轻轻旋转取直肠拭子标本, 得到标本后立即送检。

1.2 仪器与试剂 实验仪器包括杭州安杰思科技有限公司 AFD9600 荧光定量 PCR 仪, 德国布鲁克 MALDI-TOF 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪, 法国梅里埃 VITEK2-Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析仪, CO₂ 培养箱。试剂材料包括 GBS PCR 检测试剂盒 [博尔诚 (北京) 科技有限公司], GBS 筛查培养基 (郑州安图生物工程股份有限公司), GBS 血清分型试剂 (丹麦国立血清研究所), VITEK2 配套药敏卡 GP67 [最低抑菌浓度 (MIC) 法, 法国梅里埃公司]。

1.3 方法

1.3.1 GBS 鉴定 (1) 显色培养加鉴定法。将生殖道和直肠分泌物标本分别接种于 GBS 显色平板, 并

分区划线, 35 °C、5% CO₂ 培养箱内培养 24 h, 挑取浅粉色至红色可疑菌落采用 MALDI-TOF 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪及 VITEK2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析仪进行分析鉴定。如果 24 h 未见典型菌落, 可延长培养时间至 48 h。(2) 荧光定量 PCR 法。用生理盐水将生殖道和直肠分泌物标本洗脱混匀, 根据试剂盒说明书提取细菌 DNA, 制作 PCR 检测模板。

1.3.2 血清型鉴定 采用乳胶凝集法, 按照试剂说明书对 GBS 菌株进行血清型鉴定, 30 s 内记录结果。

1.3.3 药敏试验 将阳性菌落稀释至 0.5 麦氏单位, 采用上机 MIC 法, 经 VITEK2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析仪对青霉素、左氧氟沙星、替加环素、头孢曲松、四环素、氨苄西林、万古霉素、红霉素、利奈唑胺、克林霉素、头孢吡肟进行药敏试验。

1.4 统计学处理 药敏结果采用 Whonet 5.6 软件分析, 其他数据采用 SPSS19.0 进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验; 计数资料以率表示, 采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 显色培养加鉴定法和荧光定量 PCR 法阳性检出率比较 显色培养加鉴定法耗时 24 h, 阳性检出率为 6.41% (56/874); 荧光定量 PCR 法耗时 4 h, 阳性检出率为 8.92% (78/874)。两者阳性检出率比较, 差异有统计学意义 ($P = 0.048$)。

2.2 孕妇临床结局分析 874 例孕妇中有 33 例发生胎儿窘迫、孕妇败血症、新生儿败血症、早产、胎膜早破等异常情况, 其中 28 例经荧光定量 PCR 法检测 GBS 为阳性, 19 例经显色培养法检测 GBS 为阳性, 差异有统计学意义 ($P = 0.014$)。

2.3 孕妇定植 GBS 菌株的血清型分布 78 株孕妇定植的 GBS 共检出 4 种血清型, 分别为 III 型 (40 株, 51.28%)、I b 型 (16 株, 20.51%)、I a 型 (13 株, 16.67%)、V 型 (9 株, 11.54%)。

2.4 药敏试验结果 33 株阳性分离株药敏试验结果

显示,GBS 对万古霉素、利奈唑胺、替加环素、头孢吡肟、头孢曲松、氨苄西林、青霉素、四环素敏感性较高,对克林霉素、左氧氟沙星、红霉素敏感性较低。见表 1。

表 1 GBS 阳性分离株的药敏试验结果(%)			
抗菌药物	敏感	中介	耐药
万古霉素	100.00	0.00	0.00
利奈唑胺	100.00	0.00	0.00
替加环素	100.00	0.00	0.00
头孢吡肟	100.00	0.00	0.00
头孢曲松	100.00	0.00	0.00
氨苄西林	100.00	0.00	0.00
青霉素	100.00	0.00	0.00
四环素	82.05	0.00	17.95
克林霉素	50.00	0.00	50.00
左氧氟沙星	50.00	0.00	50.00
红霉素	0.00	0.00	100.00

2.5 GBS 耐药性与血清型的相关性 克林霉素、左氧氟沙星耐药性与血清型差异有统计学意义($P<0.05$),血清型Ⅲ、I b、V 型耐药性较高。见表 2。

表 2 GBS 耐药性与血清分型的相关性						
抗菌药物	Ⅲ型 (n=40)	I b 型 (n=16)	V 型 (n=9)	I a 型 (n=13)	χ^2	P
万古霉素	0	0	0	0	—	—
利奈唑胺	0	0	0	0	—	—
替加环素	0	0	0	0	—	—
头孢吡肟	0	0	0	0	—	—
头孢曲松	0	0	0	0	—	—
氨苄西林	0	0	0	0	—	—
青霉素	0	0	0	0	—	—
四环素	8	3	3	0	4.411	0.220
克林霉素	20	9	8	2	11.925	0.008
左氧氟沙星	18	11	8	2	14.325	0.002
红霉素	40	16	9	13	—	—

注:—表示未进行统计学分析。

3 讨 论

GBS 寄生于健康人下消化道与泌尿生殖道中,为条件致病菌,现已证实 GBS 是造成围生期母婴感染的主要致病菌之一^[7-8]。美国疾病预防控制中心(CDC)制定的围生期 GBS 防治指南指出,在妊娠末期进行 GBS 筛查,对阳性患者采取积极预防和治疗措施可有效降低 GBS 感染^[9-10]。

GBS 筛查方式包括显色培养法、荧光定量 PCR 法、免疫法等。显色培养法是诊断 GBS 的常规方法,但需 24~48 h,耗时较长,同时易出现假阴性结果。GBS 筛查培养基加入了显色底物,经 24 h 培养,若长出浅粉色至红色菌落,说明有 GBS 生长,容易辨别。荧光定量 PCR 法检测 GBS 灵敏度高,特异度强,重复性好,耗时短,操作方便,但对实验人员和设备要求较高。本研究对 874 例 35~37 周孕妇直肠-生殖道拭子

标本分别应用 GBS 显色培养加鉴定法(MALDI-TOF 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪及 VITEK2 Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析仪)和荧光定量 PCR 法检测 GBS。结果显示,显色培养加鉴定法耗时 24 h,阳性检出率为 6.41%,而荧光定量 PCR 法仅耗时 4 h,阳性检出率为 8.92%,两者比较差异有统计学意义($P<0.05$),荧光定量 PCR 法优势明显,此结果与国内其他研究结果一致^[11-12]。对此次接受检查的孕妇进行追踪统计显示,33 例发生异常情况的孕妇,28 例经荧光定量 PCR 法检测 GBS 为阳性,19 例经显色培养加鉴定法检测 GBS 为阳性,差异有统计学意义($P<0.05$),说明荧光定量 PCR 法 GBS 检出阳性符合率高于显色培养及鉴定法。

本研究结果显示,孕妇所定植的 GBS 共检出 4 种血清型,分别为Ⅲ型(51.5%)、I b 型(21.2%)、I a 型(15.2%)、V 型(12.12%),比例与其他文献报道的 GBS 血清分型有差异^[13],提示 GBS 分布存在地域差异。针对 GBS 感染的孕妇,临床上多根据经验使用青霉素、氨苄西林等进行预防治疗,对青霉素过敏的患者,则使用克林霉素、红霉素治疗。近年来随着抗菌药物的大量使用,耐药株逐渐增多^[14-15]。本研究药敏试验结果显示,GBS 对万古霉素、利奈唑胺、替加环素、头孢吡肟、头孢曲松、氨苄西林、青霉素、四环素敏感性较高,分别为 100.00%、100.00%、100.00%、100.00%、100.00%、100.00%、100.00%、82.05%,对克林霉素、左氧氟沙星、红霉素敏感性较低,分别为 50.00%、50.00%、0.00%,此结果与其他地区 GBS 药敏结果报道略有不同^[16-17],提示感染的 GBS 菌株在不同地区存在差异性。因此,对于围生期孕妇 GBS 感染者,应根据药敏试验结果及时调整治疗方案,以提高治愈率。据文献报道,GBS 耐药性与其血清分型、含有耐药基因等因素密切相关^[18],本研究结果显示,Ⅲ、I b、V 型 3 种血清型耐药性较广泛,与 I a 型差异有统计学意义($P<0.05$),可能是 GBS 产生耐药性的主要原因。

综上所述,围生期孕妇感染 GBS 的风险较高,临床应重视围生期孕妇 GBS 筛查,本研究样本量有限,不同地区 GBS 的血清型、耐药性均可能存在差异,实验室应根据自身情况选择最优的检测方法。临床应根据药敏结果合理选用抗菌药物,以提高治疗的安全性和有效性,改善孕妇妊娠结局。

参考文献

[1] CRETI R, IMPERI M, BERARDI A, et al. Neonatal group B Streptococcus infections: prevention strategies, clinical and microbiologic characteristics in 7 years of surveillance[J]. Pediatr Infect Dis J, 2017, 36(3): 256-262.

[2] LE D K, FAAL A, JAITEH M, et al. Association between functional antibody against group B Streptococcus and maternal and infant colonization in a Gambian cohort[J]. Vaccine, 2017, 35(22): 2970-2978. (下转第 2327 页)

[5] STEVENS L A, SCHMID C H, GREENE T, et al. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels[J]. *Kidney Int*, 2009, 75(6): 652-660.

[6] 陈学军, 沈月芳, 钟小微, 等. 儿童透射比浊法血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 参考区间的建立及其与年龄、性别的相关性[J]. *中华检验医学杂志*, 2011, 34(9): 785-790.

[7] 国家卫生和计划生育委员会. 《临床化学检验血液标本的收集与处理》WS/T 225—2016. [S/OL]. (2016-12-15) [2020-06-17]. [https://max. book118. com/html/2017/0620/116944857. shtm](https://max.book118.com/html/2017/0620/116944857.shtm).

[8] 中国合格评定国家认可委员会. 2019《临床化学定量检验程序性能验证指南》: CNAS-GL037[S/OL]. (2019-04-04) [2020-08-17]. [https://www. cnas. org. cn/rkgf/ sysrk/rkzn/2019/04/896307. shtml](https://www.cnas.org.cn/rkgf/sysrk/rkzn/2019/04/896307.shtml).

[9] 中华人民共和国卫生部. 《临床实验室检验项目参考区间的制定》: WS/T 402—2012[S/OL]. (2012-12-24) [2020-08-17]. [http://www. csres. com/detail/228734. html](http://www.csres.com/detail/228734.html).

[10] 江翠, 逯心敏, 胡孝彬. 宜宾地区健康儿童血清胱抑素 C 参考区间的建立[J]. *检验医学与临床*, 2016, 13(8): 1016-1017.

[11] 梁西强, 陈建梅, 常迺萍. 西安地区儿童血清胱抑素 C 水平参考范围调查[J]. *检验医学与临床*, 2013, 10(3): 281-282.

[12] 钟旭辉, 丁洁, 周建华, 等. 中国儿童 15 项常用临床检验指标的生物参考区间研究[J]. *中华儿科杂志*, 2018, 56(11): 835-845.

[13] BÖKENKAMP A, DIETERICH C, DRESSLER F, et al. Fetal serum concentrations of cystatin C and beta2-microglobulin as predictors of postnatal kidney function[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 185(2): 468-475.

[14] YATA N, UEMURA O, HONDA M, et al. Reference ranges for serum cystatin C measurements in Japanese children by using 4 automated assays[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2013, 17(6): 872-876.

[15] GRUBB A, BLIRUP-JENSEN S, LINDSTRÖM V, et al. First certified reference material for cystatin C in human serum ERM-DA471/IFCC [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2010, 48(11): 1619-1621.

[16] FRICKER M, WIESLI P, BRÄNDLE M, et al. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C[J]. *Kidney Int*, 2003, 63(5): 1944-1947.

[17] DEN BAKKER E, GEMKE RJB, BÖKENKAMP A. Endogenous markers for kidney function in children: a review[J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2018, 55(3): 163-183.

[18] GRUBB A, BJÖRK J, NYMAN U, et al. Cystatin C, a marker for successful aging and glomerular filtration rate, is not influenced by inflammation[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2011, 71(2): 145-149.

(收稿日期: 2020-10-09 修回日期: 2021-04-20)

(上接第 2323 页)

[3] 邢薇, 符爱贞, 史春, 等. 孕妇围生期 B 族链球菌感染与妊娠结局的关系[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(11): 1704-1707.

[4] 王晓娜, 丛桂敏, 冯小静, 等. 围生期孕妇生殖道 B 族链球菌感染高危因素分析及母婴结局探讨[J]. *微生物学免疫学进展*, 2019, 47(1): 44-48.

[5] KONIKKARA K P, BALIGA S, SHENOY S, et al. Evaluation of culture, antigen detection and polymerase chain reaction for detection of vaginal colonization of group B streptococcus (GBS) in pregnant women[J]. *J Clin Diagn Res*, 2014, 8(2): 47-49.

[6] 赵丽娟, 李合欣, 张彦玲. 围生期孕妇 B 族链球菌感染及妊娠结局的相关研究[J]. *中国药物与临床*, 2018, 18(12): 2186-2187.

[7] FRY R M. Fatal infections by haemolytic streptococcus group B[J]. *Lancet*, 1938, 231(5969): 199-201.

[8] 刘红英, 章伟红, 邬朝晖. 围生期孕妇生殖道 B 族链球菌感染和耐药情况及其对妊娠结局的影响[J]. *标记免疫分析与临床*, 2018, 25(5): 707-709.

[9] VAN DYKE M K, PHARES C R, LYNFIELD R, et al. Evaluation of universal antenatal screening for group B streptococcus[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(25): 2626-2636.

[10] NARAVA S, RAJARAM G, RAMADEVI A, et al. Prevention of perinatal group B streptococcal infections: a review with an Indian perspective[J]. *Indian J Med Microbiol*, 2014, 32(1): 6-12.

[11] 张静华, 袁应华, 成洁, 等. 妊娠末期 B 族链球菌检测方法的评估[J]. *检验医学*, 2016, 31(11): 974-977.

[12] 向燕群, 范汉恭, 袁春雷. 2 种方法在孕妇产前 B 族链球菌感染检测中的价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2016, 37(18): 2612-2614.

[13] LU B, LI D, CUI Y, et al. Epidemiology of group B streptococcus isolated from pregnant women in Beijing, China [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20(6): 370-373.

[14] 廖宗琳, 陈丽霞, 沈宏志, 等. 围生期孕妇生殖道 B 族链球菌感染的影响因素分析及对妊娠结局的影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(2): 247-249.

[15] 汪锋平, 季建生. 围生期孕妇 B 族链球菌的产前筛查与耐药性研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, 27(7): 994-996.

[16] 谭浩, 向跃芸, 陈敏, 等. 孕妇 B 族链球菌感染耐药性分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2020, 30(16): 2524-2527.

[17] 杨银焱, 凌波, 杨晓, 等. 孕晚期 B 族链球菌感染菌株基因分型及其耐药性[J]. *中华医院感染学杂志*, 2020, 30(16): 2515-2519.

[18] 蔡建星, 赵艳坤, 王帅, 等. 无乳链球菌耐药性及分子分型方法的研究进展[J]. *微生物学杂志*, 2018, 38(6): 114-124.

(收稿日期: 2020-10-09 修回日期: 2021-04-16)