

庞通运送培养基显色法检测 B 族链球菌的效率评估及其基层适用性研究

谭理维¹, 周玉刚², 林翠¹, 赵蔚¹, 熊骞¹, 邓洪均^{1*}

(1. 重庆市渝北区中医院检验科, 重庆 401120; 2. 重庆市渝北区仙桃社区卫生服务中心放射科, 重庆 401120)

摘要: **目的** 探究庞通运送培养基显色法检测 B 族链球菌 (GBS) 的效率以及基层适用性。 **方法** 采集 2019—2024 年就诊于我院的 3515 例围产期孕妇阴道及肛拭子标本, 通过微生物直接培养-质谱鉴定法、庞通运送培养基显色法和微生物增菌培养-质谱鉴定法来检测 GBS。以微生物增菌培养-质谱鉴定法作为参考方法, 计算庞通运送培养基显色法检测 GBS 的假阳性率和假阴性率。 **结果** 微生物增菌培养-质谱鉴定法检出率为 7.48%, 微生物普通培养-质谱鉴定法检出率为 5.55%, 运送培养基显色法检出率为 7.06%, 不同方法检出率比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。单检测阴道拭子检出率最低 (5.75%), 其次是肛拭子 (7.07%), 阴道+肛拭子检出率 (7.53%) 明显提高。以微生物增菌培养-质谱鉴定法作为参考标准, 庞通运送培养基显色法假阳性率 (0.18%)、假阴性率 (5.66%), 与金标准一致性极强 ($Kappa=0.92$)。微生物普通培养法假阳性率 (25.86%), 假阴性率 (0.4%), 与金标准一致性较低 ($Kappa=0.53$)。 **结论** 庞通运送培养基显色法假阳性率与假阴性率都较低, 与标准方法微生物增菌培养-质谱鉴定法的一致性几乎完全一致, 并且其检测方便, 无需特殊仪器, 对人员要求不高, 非常适用于各级医疗机构, 尤其是基层医院 GBS 的早期筛查。

关键词: B 族链球菌检测; 庞通运送培养基显色法; 假阳性率; 假阴性率

0 引言

B 族链球菌 (Group B Streptococcus, GBS) 是一种革兰氏阳性球菌, 显微镜下呈链状排列, 广泛定植于人体胃肠道和泌尿生殖道。作为条件致病菌, 其在健康人群中的携带率可高达 35%^[1], 与宿主维持共生状态, 特定条件下可引发严重临床后果。围产期是 GBS 相关风险的高发阶段, 该菌可穿透胎膜屏障, 导致绒毛膜羊膜炎、胎膜早破、早产及产褥感染等并发症, 严重时甚至引发流产^[2]。GBS 通过垂直传播可引发新生儿早发型感染, 表现为败血症、肺炎及脑膜炎, 病死率达 5%~10%, 及迟发型感染, 以脑膜炎为主, 可遗留神经系统后遗症^[3]。目前 GBS 检测的方法包括细菌培养法、免疫学法、PCR 法等, 其中培养法是 GBS 感染确诊的“金标准”, 但耗时长, 操作复杂, 需要专业的仪器设备; 免疫学方法准确率低; PCR 法检测快速, 但仪器昂贵, 成本较高, 易被污染, 检测人员需要经过专业培训^[4]。本研究使用的庞通运送培养基显色法是集采集、运送、增菌和检测为一体, 操作简单, 肉眼

判读结果, 仅需要一台培养箱即能完成检测。由于其存在假阴性和假阳性, 且具体的假阳性率及假阴性率无相关文献明确指出, 目前未被广泛使用。本研究以微生物增菌培养-质谱鉴定法作为参考标准, 与庞通运送培养基显色法的检测结果进行比较, 得出假阳性率与假阴性率, 评价检测性能, 以此为各级医疗机构尤其是条件有限的基层医院开展 GBS 早期筛查做出推荐。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取 2019 年 3 月至 2024 年 12 月间于重庆市渝北区中医院进行产检的 3515 例 (2019 年 320 例, 2020 年 924 例, 2021 年 575 例, 2022 年 556 例, 2023 年 523 例, 2024 年 617 例) 20~38 周岁围产期孕妇。纳入标准: 自然受孕单胎妊娠; 无系统性慢性疾病及恶性肿瘤病史; 检测前 7 d 无抗生素使用史; 具备规律作息且无吸烟酗酒等行为干预; 心理健康。排除合并其他感染或近期病毒暴

第一作者: 谭理维, 主管检验技师, 研究方向为临床微生物。

* 通信作者: 邓洪均, 副主任技师, 检验科副主任, 研究方向为临床医学检验。E-mail: 953934943@qq.com

露、严重心 / 肺 / 肝 / 肾脏质性疾病、胎儿结构异常、精神障碍等。本研究经医院伦理委员会审核批准(批准文号: 20180411), 所有参与者均签署知情同意书。

1.2 标本采集

围产期孕妇清洁外阴后, 用庞通运送培养基配的专用无菌棉拭子, 取阴道侧壁 1/3 及肛门分泌物, 分别放入培养基中, 标注“阴道”和“肛周”后立刻送检。

1.3 仪器与试剂

VITEK MS 质谱仪(法国梅里埃)、二氧化碳培养箱(上海跃进)。培养基: 哥伦比亚血琼脂平板(重庆庞通)、运送培养基(重庆庞通); 质控菌株: 大肠埃希菌(ATCC 8739)、无乳链球菌(ATCC12386); 质谱试剂: 梅里埃质谱基质液。

1.4 方法

1.4.1 微生物培养 - 质谱鉴定法

采用无菌技术取出运送培养基中的拭子样本, 并使用三区划线法将样本接种至血琼脂平板。接种后, 将平板置于含有 5%~10% CO₂ 的培养箱中, 在 35 °C 的环境下孵育 18~24 h。此温度和 CO₂ 浓度能够模拟一些细菌在体内的生长环境, 促进其最佳生长。在孵育结束后, 研究人员需仔细观察培养基上的可疑菌落, 选择形态特征明显的菌落进行进一步分析。随后, 利用质谱技术进行细菌的鉴定。

1.4.2 运送培养基显色法

样本采集后, 直接将运送培养基直立放置于含有 5%~10% CO₂ 的培养箱中, 温度设置为 35 °C, 并进行 24~72 h 的孵育。培养过程中, 如果培养基发生显著的颜色变化(例如显色变为橙色), 通常表示样本中存在活跃的细菌生长, 结果为阳性。反之, 如果培养基未发生颜色变化, 则可判断为阴性, 表明样本中可能并不存在活菌。

1.4.3 微生物增菌培养 - 质谱鉴定法

将运送培养基的拭子增菌培养 18~24 h 后, 取出采用三区划线法将标本接种于血平板中, 置于 5%~10% CO₂ 培养箱运送培养基中的拭子进行增菌培养, 在 35 °C 下孵育 18~24 h, 以促进微生物的生长和繁殖。增菌后, 取出培养基并采用三区划线法将标本接种于血平板上, 接种完成后, 将平板放置于含有 5%~10% CO₂ 的培养箱中继续孵育 18~24 h, 以促进细菌的生长。孵育结束后, 仔细观察平板上的可疑菌落, 选择形态特征明显的菌落, 使用

MALDI-TOF 质谱技术分析细菌产生的质谱图谱。

1.5 统计分析

用 SPSS 22.0 分析, 计数资料用例数与百分比表示、率比较用 χ^2 检验。以微生物增菌培养 - 质谱鉴定法为金标准, Kappa 检验一致性: > 0.8 近乎全一致, 0.4~0.79 基本一致, < 0.4 不一致。

2 结果与分析

2.1 三种方法检出率比较

本研究检测 3515 份样本, 直接培养法(5.55%)低于运送培养基显色法(7.06%)与增菌培养法(7.48%), 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 三种方法检出率比较

方法	阳性	阴性	检出率	χ^2 值	P 值
微生物增菌培养 - 质谱鉴定法	263	3252	7.48%		
庞通运送培养基显色法	248	3267	7.06%	1.103	0.294
微生物直接培养 - 质谱鉴定法	195	3320	5.55%	13.854	0.001

注: P 值为各方法与增菌培养 - 质谱鉴定法对比值。

2.2 不同采集部位检出率对比

分别采集阴道拭子、肛拭子和阴道 + 肛拭子的检出率比较, 本研究共检测 3515 份标本, 其中阴道拭子检出率最低(5.75%), 其次是肛拭子(7.07%), 阴道 + 肛拭子检出率最高(7.53%)。阴道 + 肛拭子检出率高于阴道拭子, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而阴道 + 肛拭子检出率与肛拭子对比差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 各采集部位检出率比较

采集部位	阳性	阴性	检出率	χ^2 值	P 值
阴道 + 肛拭子	263	3252	7.53%		
阴道拭子	202	3313	5.75%	4.7958	0.0286
肛拭子	249	3266	7.07%	0.5397	0.4621

注: P 值表示各采集部位分别与阴道 + 肛拭子之间的比较。

2.3 两种方法结果一致性对比

以微生物增菌培养 - 质谱鉴定法的结果为金标准, 庞通运送培养基显色法假阴性率为 5.66%(15/263), 假阳性率为 0.18%(6/3252), 一致性几乎完全一致(Kappa 值为 0.9); 直接培养法的假阴性率较高, 一致性中等一致, 见表 3。

表 3 各筛查方法结果一致性比较

方法	实际情况	微生物增菌培养 - 质谱鉴定法		假阴性率	假阳性率	Kappa	一致性程度
		+	-				
庞通运送培养基显色法	+	248	6	5.66%	0.18%	0.9	几乎完全一致
	-	15	3246				

续表

方法	实际情况	微生物增菌培养-质谱鉴定法		假阴性率	假阳性率	Kappa	一致性程度
		+	-				
微生物直接培养-质谱鉴定法	+	195	13	25.86%	0.4%	0.53	基本一致
	-	68	3239				

注: 假阴性率=(实际阳性总数/假阴性数)×100%, 假阳性率=(实际阴性总数/假阳性数)×100%

3 讨论与结论

1996 年至今, 美疾控中心已出 3 版 GBS 筛查指南, 以普通细菌培养法为确诊金标准, 能做药敏、为医院多用, 然而研究显示其检测时间久、灵敏度低、易漏诊^[5]。本研究中, 庞通运送培养基显色法检出率为 7.06%, 与标准方法检出率差异较小。

对不同部位采集标本进行庞通运送培养基显色法 B 族链球菌筛查的检出率有所不同, 单采集阴道进行检测, 其检出率为 5.75%; 单采集肛周进行检测, 其检出率为 7.07%; 采集阴道和肛周两个部位进行检测, 其检出率为 7.53%, 明显高于单部位采集。

庞通运送培养基显色法在 B 族链球菌检测中, 假阳性率约为 0.18%, 其数值相对较低, 这表明该检测方法在判读阳性结果时准确性较高。低假阳性率可减少不必要的后续检查和治疗, 降低患者的经济负担和心理压力, 也避免了医疗资源的浪费。但即便假阳性率低, 仍不可忽视^[6]。可能的原因是样本采集、运输或实验操作过程、培养基污染等, 就可能导致结果误判为阳性。此外, 样本中存在某些与 B 族链球菌在显色反应上相似的其他微生物, 也会干扰检测结果, 使检测呈现假阳性^[7]。

庞通运送培养基显色法在 B 族链球菌检测中, 假阴性率约为 5.66%, 此比例不容忽视, 假阴性结果意味着部分实际感染 B 族链球菌的患者未被检测出来, 可能延误治疗, 进而导致严重的母婴并发症, 如新生儿败血症、肺炎等。导致假阴性的因素可能与样本采集有关, 若采集部位不准确, 采集量不足, 未能获取足够的 B 族链球菌, 就比较容易容易出现假阴性^[8]。其次样本在运送过程中保存条件不当, 如温度、时间控制不佳, 也可能使 B 族链球菌活性降低甚至死亡, 影响检测结果。最后培养基的质量也至关重要, 培养基成分的微小差异、生产工艺不稳定等, 都可能影响 B 族链球菌的生长和显色反应。

庞通显色法检出率(7.06%)与增菌法(7.48%)无显著差异($P=0.294$), 验证了其作为快速筛查工具的可靠性。单独采集阴道或肛周进行检测的检出率较低, 主要可以归因于几个因素。首先, 阴道和肛周的微生物群落是不同的, 某些病原体更倾向于在某一特定区域生存和繁殖。其次, 早期筛查时同时采集阴道和肛周样本, 能够更全面地覆盖潜在感染源^[9]。这种方法提高检测的敏感性, 因为某些感

染可能仅在其中一个部位表现出阳性反应, 而另一个部位则可能呈阴性。另外, 收集样本的技术和方法也对检出率产生影响, 单一采集常导致样本量不足, 无法充分反映病原体的真实情况, 而同时采集则有助于确保样本量的充分性和代表性^[10]。庞通运送培养基显色法的假阳性率与假阴性率均不高, 与标准方法比较 Kappa 值(0.9), 其一致性几乎完全一致, 该结果具有重要的临床意义与研究价值。

综上所述, 庞通运送培养基显色法检测 B 族链球菌是一种阳性检出率高、准确率较高, 并且操作简单, 不需要特殊设备, 对人员要求较低的一种检测方法, 特别适合于一些基层医院对围产期孕妇 GBS 早期筛查, 大大降低孕产妇的产褥感染及新生儿感染。

参考文献

- [1] 赵晶, 刘静娴, 刘瑛. 无乳链球菌分子流行病学研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2021, 21(4): 489-494.
- [2] 赵亚楠, 曹啟新, 崔秀格, 等. 妊娠晚期B族链球菌筛查方法性能评价[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2024, 16(10): 1836-1839, 1844.
- [3] 杨春霞, 谢胜群, 李娟. B族链球菌感染对围产期孕妇妊娠结局的影响[J]. 黑龙江医药, 2022, 35(2): 419-421.
- [4] 李耀军. 围产期B族链球菌感染现状及检测方法研究进展[C]//第九届中国临床微生物学大会暨微生物学与免疫学论坛论文集. 吉林, 2018: 74.
- [5] PITHADIA A B, KAKADIA N. Guillain-Barré syndrome (GBS)[J]. Pharmacological Reports, 2010, 62(2): 220-232.
- [6] 邱德稳, 钟师, 汤旭, 等. 1935例妊娠期女性阴道微生态及B族链球菌检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(22): 3274-3277.
- [7] 杨春年, 王梦鹤, 明德松. 6种B族链球菌检测方法的经济学分析[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(4): 452-455.
- [8] 金娟, 谭萍, 樊春卉, 等. 3种改良B族链球菌检测方法的检测效果比较[J]. 广西医学, 2020, 42(18): 2409-2413.
- [9] LEVENO K J. 威廉姆斯产科学手册[M]. 段涛, 李婷译. 北京: 科学出版社, 2018.
- [10] 黄文波, 范舒舒, 徐静, 等. 粤北地区围产期孕妇B族链球菌感染情况及妊娠结局分析[J]. 中国医药生物技术, 2023, 18(1): 35-38.