

桐庐某医院早产儿 UU/Mh 检测干扰因素分析

顾凤丹

桐庐县妇幼保健院

DOI:10.12238/bmtr.v7i2.13416

[摘要] 目的: 分析早产儿uu/mh检测干扰因素,方法: 液体培养和PCR检测680例早产儿回顾性UU和Mh的感染性,并统计分析这些早产儿的胎龄、体重、母亲支原体感染、母亲生殖道清洁度及年龄与早产儿支原体检测的关联,结果: 680例早产儿液体培养法120例阳性占17.64%,其中uu113例阳性占16.61%,Mh7例阳性占1.03%,经PCR检测验证: UU103例阳性、Mh6例阳性、11例假阳性,早产儿支原体感染以胎龄34-36⁶周为主,其原因与母亲的年龄、生殖道清洁度、母亲的支原体感染有关,母亲年龄以 ≥ 35 岁高龄多见占47.57%,高于其他年龄段,清洁度以Ⅲ度为主占50.49%,如实调查母亲支原体91例,阳性分别UU60例占65.93%,UU+Mh21例占23.07%,Mh10例占10.98%,18例未查支原体,结论: 早产儿支原体检测跟母亲的支原体感染、清洁度、年龄,早产儿胎龄、体重、实验室细菌污染等因素有关。

[关键词] 早产儿; uu/mh检测; 干扰因素

中图分类号: R722.6 文献标识码: A

Analysis of interference factors in UU/Mh detection of preterm infants in a hospital in Tonglu

Fengdan Gu

Tonglu county maternal and child health hospital

[Abstract] Objective To analyze the interfering factors of UU/MH detection in preterm infants Methods Retrospective UU and Mh infectivity in 680 preterm infants were detected by liquid culture and PCR, and the association between gestational age, weight, maternal mycoplasma infection, maternal reproductive tract cleanliness and age of these preterm infants was statistically analyzed Results 120 cases (17.64%) were positive by liquid culture in 680 preterm infants, including 113 cases (16.61%) and 1.03% of MG7 cases were positive in UU. Verified by PCR testing, UU103 cases were positive, Mh 6 cases were positive, and 11 cases were false positives. Mycoplasma infection in preterm infants was mainly 34-36⁶ weeks gestational age, and the causes were related to the mother's age, genital tract cleanliness, and maternal mycoplasma infection, the maternal age was ≥ 35 years old, accounting for 47.57%, which was higher than that of other age groups, and the cleanliness was mainly III. degree accounting for 50.49%, 91 cases of maternal mycoplasma were truthfully investigated, and 60 cases of UU were positive, accounting for 65.93%, 21 cases of UU+Mh accounted for 23.07%, 10 cases of MH accounted for 10.9 8%, and 18 cases of mycoplasma were not detected Mycoplasma prematurity testing is related to the mother's mycoplasma infection, cleanliness, age, gestational age, weight, laboratory bacterial contamination and other factors.

[Key words] premature infant; uu/mh detection; interference factor

引言

早产儿是高危新生儿最常见的一种类型,由于早产儿在新生儿的患病率和死亡率远高于足月正常体重。国外报道早产发生率一直居高不下,美国早产儿发生率为12%-13%,国内占分娩总数5%-15%。引起早产儿的因素有宫内感染、胎膜早破、治疗性早产等,其中宫内感染是围生期支原体感染的主要途径。本研究为探讨早产儿支原体检测干扰因素,对我院680例早产儿临床

特征结合实验室进行探讨分析,现将结果报道如下:

1 资料和方法

1.1 一般资料

本文选取2018年1月-2022年6月期间桐庐县妇幼保健院新生儿病房收治的早产儿680例为研究对象,胎龄28~36+6周,体重996-2449kg,以及母亲相关资料,其母亲年龄21-45岁、产检情况。

1.2 采集方法

1.2.1 成人女性清洁度检查样本采集

所有受检者 1 周内均未服用过抗生素，有临床医师采用无菌生理盐水浸湿的无菌棉拭子取阴道深部或阴道后穹隆、宫颈口等处分泌物，然后置入含少量无菌生理盐水的无菌试管中立即送检。

1.2.2 支原体培养样本采集

常规消毒外阴部后暴露宫颈，用无菌棉拭子插入宫颈内 1-2cm 处旋转 2-3 周后停留至少 30S，获得足量细胞后取出含柱状上皮细胞的分泌物样本，立即送检，2h 内接种至支原体培养基中进行培养。

1.2.3 新生儿

采集咽后壁脱落细胞。

1.3 检测方法

1.3.1 液体培养法

检测试剂盒为珠海市丽珠集团生产的培养鉴定、计数、药敏一体化试剂盒。按试剂盒操作说明书进行试验，具体方法是将所取的标本接种于支原体液体培养基中，充分混匀，用加样器取液体培养基 50ul 加入鉴定板的每个孔中，每孔再加入矿物油 1 滴，37℃ 培养 24-48h 根据每个测试孔的显色来判断支原体鉴定及半定量技术结果

1.3.2 固体培养法

血平板来源于安图有限公司，细菌鉴定仪由法国梅里埃公司，35℃±1℃ 二氧化碳培养箱 Thermo 进行细菌分离培养鉴定。

1.3.3 PCR 荧光探针法

Pcr 试剂由中山大学达安基因生物工程公司提供，扩增仪为美国达安生物工程公司提供 ABI7500 严格按说明书操作（严格按照 PCR 荧光探针试剂盒说明书进行操作，先通过热裂解法提取分泌物样本中病原微生物的 DNA，以其作为模板，进行产物扩增。PCR 反应条件为：50℃UNG 酶处理 2min，93℃ 预变性 2min；93℃ 变性 10s，60℃ 退火、延伸及检测荧光 30s，共 40 个循环。反应完成后，读取实验结果，阳性结果为样本循环阈值（cycle threshold，Ct）≤37，而 Ct 无数值或 >40 为阴性结果，若样本阈值 37<Ct<40 为阳性，否则为阴性）

1.4 结果判断

1.4.1 分泌物清洁度结果判读方法

严格按照《临床基础检验第 4 版》^[1]标准进行，清洁度 I、II 为正常，III、IV 为异常。

1.4.2 支原体培养结果判读（液体培养法）

培养 24h 及 48h 后分别观察 UU 和 Mh 结果，其中清晰透明黄色为阴性，清晰透明红色为阳性，浑浊红色可为污染。

2 结果

2.1 支原体实验室结果

680 例早产儿标本经液体培养后有 120 例培养液体颜色变红，未变色 560 例，经 PCR 荧光探针法技术检测证实 109 例阳性，11 例假阳性，结果见表 1。

表1 支原体实验室结果

检测方法	Uu (+) Mh (-)	Uu (-) Mh (+)	Uu (-) Mh (-)
液体培养法 (n=680)			
液体颜色变红、培养 24h*	113	-	-
液体颜色变红、培养 48h*	-	7	-
液体未变色	-	-	560
PCR 法 (n=120)			
Uu/mh-DNA (120 例阳性)	103	6	11

2.2 细菌培养结果

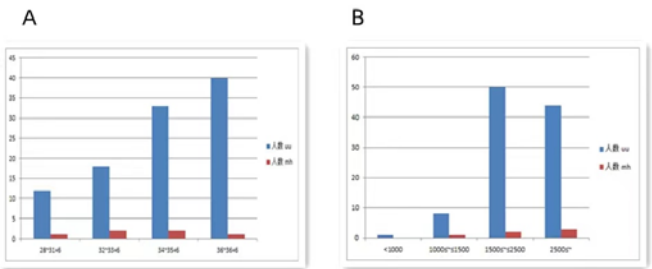
11 例假阳性标本转种血平板，培养分离 9 例细菌、2 例真菌，分离的菌种及所占百分率，见表 2。

表2 11 例菌种分类情况

菌名	株数	百分比%
溶血葡萄球菌	1	9.09
肺炎克雷伯菌	3	27.00
大肠埃希菌	1	9.09
草色链球菌	1	9.09
金黄色葡萄球菌	1	9.09
白色假菌丝	2	18.18
表皮葡萄球菌	2	18.18
合计	11	100

2.3 109 例早产儿支原体感染情况

将早产儿胎龄分 28~31⁺⁶ 周、32~33⁺⁶ 周、34~35⁺⁶ 周、36~36⁺⁶ 周四个阶段，出生体重组分 <1000g 1000≤1500g 1500≤2500g 2500g≤ 结果分布见图一。



图一 早产儿支原体感染情况

2.4 109 例早产儿母亲清洁度、年龄段分布情况

按清洁度严重程度分别 II、III、IV，III 度阳性率最高占 51.38%，按母亲年龄段分 ≤20、21-34、≥35 三个年龄段，其中 ≥35 高龄组阳性率最高占 52.29%，见表 3。

表3 母亲清洁度、年龄段分布情况

早产儿支原体感染情况	例数	母亲清洁度%			母亲年龄段%		
		II	III	IV	≤20	21-34	≥35
Uu	103	21 (20.39)	52 (50.49)	30 (29.13)	8 (7.77)	46 (44.66)	49 (47.57)
Mh	6	0 (0.00)	4 (66.67)	2 (33.33)	1 (16.67)	3 (50.00)	2 (33.33)
合计	109	21 (19.26)	56 (51.38)	32 (29.35)	9 (8.26)	43 (39.45)	57 (52.29)

2.5 母亲支原体分布情况

109 例早产儿进行母亲支原体情况调查 91 例，支原体阳性分别 uu60 例占 65.93%、混合 uu+Mh21 例占 23.07%，mh10 例占 10.98%，18 例未查支原体检测，见表 4。

表4 母亲支原体分布

项目	阳性数	阳性
Uu	60	65.93
Mh	10	10.98
Uu+mh	21	23.07

3 讨论

支原体是一类没有细胞壁的原核细胞型微生物,目前已经发现的能寄居于人体的支原体至少16种,7种条件致病菌,而在这7种条件致病菌中,尤其以解脲支原体和人型支原体最为常见,Ruszel和Lanjouw等统计发现约40-90%的妊娠妇女可发现uu和mh的感染,孕产妇感染支原体可经宫内、产道和哺乳密切接触三种途径导致母婴垂直传播^[2]。

国内常采用液体培养法,这方法方便、快捷、灵敏度高、液体培养法生化反应、特异差、不是支原体所特有的,一旦有分解尿素的细菌和真菌就会出现阳性,从而导致支原体假阳性判断,PCR法具有灵敏高、特异性高等优点,但缺少培养法检测的耐药分析。从表1调查显示:680例早产儿液体法培养120例支原体阳性,经PCR验证109例阳性,11例假阳性,导致上述原因提示是否取样过程污染杂菌及有支原体和细菌双重感染存在干扰了结果的正确判断又竞争地消耗培养液的营养成分,影响结果的真实性。在实验过程中:(1)要求加强无菌操作。(2)医生取材的好坏,特别是女性标本宫颈分泌物,本身不同程度带有细菌,对专业医师进行适当的培训留取合格的标本,及时送检,实验室收到标本后先接种到液体培养基,采集过程的注意事项。(3)随着临床抗菌药物的广泛应用,微生物耐药性不断增加使得液体培养基中的抑菌剂已基本失去它应有的抑菌作用。如果患者有其它并发感染应先把其治好,停药一段时间后才进行支原体检测,避免体内残留药物对支原体培养和药物结果的干扰。(4)据报道各厂家的产品质量不同,造成很多支原体培养的假性结果。针对液体培养法,由于每个厂家的试剂批次与质量不同,必要时做干扰试剂,了解试剂质量和抑制杂菌的能力,以便筛选质量好的试剂盒以降低支原体液体培养的假阳性率。避免实验干扰、提高检测率、降低重检率。

支原体感染与新生儿疾病的关系研究最早始于1967年,图1可见产儿的支原体以uu感染为主,这与uu在成年女性生殖道中定值约40-80%有关^[3],随着胎龄的增长,支原体感染率也随之增加与陈超^[4]报道早产儿胎龄越小解脲原体感染率越高略有不同,体重无明显变化。

细菌性阴道炎是育龄妇女最常见的阴道感染性疾病,约占

门诊确诊的阴道感染性疾病的40%-50%,妊娠期患BV后,无论有无临床症状,均增加早产儿发生危险^[5]。表3结果调查显示:母亲的清洁度以III度为主占51.38%,清洁度变差,支原体感染率升高与周青雪报道相似^[6],≥35年龄段感染率最高占47.57%。随着二胎的开放,我院高龄产妇的比例呈上升趋势,高龄组增长了早产儿窘迫症,其原因主要是由于高龄产妇随年龄增长免疫力差,加剧宫内感染,可能与支原体有关,21-34年龄感染率略低于≥35年龄段,作为此阶段是生育的最佳年龄也是泌尿生殖道支原体易感人群。有文献报道健康人性活跃期的支原体分离率女性40%-80%,说明支原体感染与性活跃有关。本研究对母亲支原体情况进行了调查,由表4显示:支原体uu感染占65.93%,单纯mh感染相对较少占11%,与国内文献报道一致,新生儿支原体感染与母亲宫内支原体感染和分娩过程的产道感染密切相关。

4 结论

早产儿支原体检测跟母亲的清洁度、年龄,早产儿胎龄、体重、实验室细菌污染等因素有关,其中宫内感染越严重,早产儿感染风险越大,胎龄越大,uu感染越高,体重没有明显变化无相关性。细菌污染会导致检测假阳性。

目前,我国大部分地区产前检查孕早期时期妇科检查及阴道分泌物检查,同时支原体未被列入阴道分泌物常规检查。因此,笔者建议有条件允许情况下,应将支原体等纳入常规产前检查,加强孕期管理,以降低早产、胎膜早破发生概率,减少母亲垂直传播病原体引起的新生儿感染发生率及早防治,利于优生优育。

[参考文献]

[1]张纪元,龚道元.临床检验基础[M].5版.北京:人民卫生出版社,2020:214-219.

[2]秦玲.支原体感染与新生儿疾病关系研究进展[J].新生儿科杂志,2000,15(4):183-185.

[3]王桂.孕妇生殖道解脲支原体感染对妊娠结局的影响[J].中华医院感染学杂志,2023,32(13):2058-2061.

[4]张慧华.下生殖道感染与晚期先兆流产及早产的关系[J].家有孕宝,2019(9):08.

[5]周青雪,董世雷,陈旭.杭州某医院女性就诊者生殖道支原体感染及其分泌物清洁度的相关性[J].国际流行病学传染病学杂志,2019,46(2):117-121.

[6]杨旻,汪吉梅.产妇年龄对新生儿不良结局影响的回顾性队列研究[J].中国循证儿科杂志,2019,14(4):276-281.

*通讯作者:

顾凤丹(1978--),女,汉族,浙江桐庐人,主任技师,文章方向:主要从事临床微生物实验室检验。