

B族链球菌检测试剂盒在无乳链球菌血流感染快速诊断中的初步应用

梁有才¹, 蒋宇杰^{2*}, 陈月英¹, 赖金霞¹ (1. 广东医科大学附属第二医院产前诊断科, 广东湛江 524003; 2. 广东省农垦中心医院检验科, 广东湛江 524001)

摘要: **目的** 观察B族链球菌(GBS)检测试剂盒在GBS血流感染快速诊断中的应用价值。**方法** 32例血培养阳性病例中分离出革兰阳性球菌, 分别采用GBS胶体金免疫层析法检测试剂盒和全自动微生物鉴定系统鉴定GBS, 评价GBS检测试剂的阳性预测值、阴性预测值和准确度。**结果** 32株革兰阳性球菌中, GBS检测试剂和全自动微生物鉴定系统鉴定GBS 3例, GBS检测试剂的阳性预测值、阴性预测值和准确度均为100%。**结论** GBS胶体金免疫层析法可快速、简便检测GBS血流感染。

关键词: B族链球菌; 无乳链球菌; 血培养

中图分类号: R 446.5

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610 (2023) 04-0422-03

Preliminary application of group B streptococcus detection kit in rapid diagnosis of bloodstream *Streptococcus agalactiae* infection

LIANG You-cai¹, JIANG Yu-jie^{2*}, CHEN Yue-ying¹, LAI Jin-xia¹ (1. Department of Prenatal Diagnosis, Second Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524003, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Guangdong Agricultural Reclamation Central Hospital, Zhanjiang 524001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the application value of group B streptococcus (GBS) detection kit in rapid diagnosis of bloodstream GBS infection. **Methods** Gram-positive cocci were isolated from 32 cases of positive blood cultures, of which GBS was determined by GBS detection kit (colloidal gold immunochromatography) and automated microbial identification system. The positive/negative predictive value and accuracy of GBS detection kit were evaluated. **Results** Among 32 strains of Gram-positive cocci, 3 were identified by GBS detection kit and automated microbial identification system. The positive/negative predictive value and accuracy of GBS detection kit were 100%. **Conclusion** GBS colloidal gold immunochromatography is rapid and simple for detection of GBS bloodstream infection.

Key words: group B streptococcus; *Streptococcus agalactiae*; blood culture

无乳链球菌(Group B streptococcus, GBS)是围生期母婴感染的主要病原体之一。GBS感染可导致孕妇流产、胎膜早破、绒毛膜羊膜炎、产褥感染、败血症等; 可导致婴幼儿肺炎、败血症、脑膜炎等^[1-3]。当前, GBS血流感染的检测主要依赖细菌培养生化鉴定法, 该法耗时长, 不利于临床快速诊治。GBS血流感染对孕产妇以及新生儿生命健康危害极大, GBS快速检测法在临床快速诊治方面将发挥重要作用。本研究借助免疫层析试剂盒结合传统显微镜检查设计一种GBS快速检测方案, 通过临床应用初步探讨其的应用

价值。

1 材料和方法

1.1 标本来源

血液标本来自广东医科大学附属第二医院 2021 年 2 月 8 日-2021 年 3 月 31 日以及来自广东省农垦中心医院 2021 年 12 月 14 日-2023 年 2 月 1 日的门诊或住院患者。

1.2 主要仪器与试剂

BD BACTEC FX40 全自动血培养鉴定系统(美国BD), 细菌鉴定系统(珠海迪尔生物工程有限公司),

收稿日期: 2022-10-31

基金项目: 湛江市科技计划项目(2021B01193, 2021A05112)

作者简介: 梁有才(1986-), 男, 硕士, 主管技师, E-mail: 912313855@qq.com

通信作者: 蒋宇杰(1985-), 男, 硕士, 主管技师, E-mail: 931932920@qq.com

BD Phoenix 100 全自动微生物分析系统(美国BD),二氧化碳培养箱(德国贺力仕仪器公司),Prinmo Star 正置生物显微镜(北京瑞科中仪科技有限公司)。血培养瓶(美国BD,国械注进 20182400392、20152403206、20162400111),B 族链球菌检测试剂(胶体金免疫层析法)(广州市微米生物科技有限公司,国械注准 20193400250),血琼脂平板培养基(江门市凯林贸易有限公司,粤械注准 20172400954)。

1.3 GBS 快速检测方案的确立

1.3.1 血培养 (1) GBS 血流感染血培养模型瓶的建立:收集适量的血型相同的抗凝血(使用临床检验剩余的EDTA-K2 抗凝血样本)备用;准备全自动血培养仪配套的成人需氧血培养瓶,儿童血培养瓶备用。采用分区划线的方法,将GBS 接种在血琼脂平板上,增菌培养 16~18 h。挑取若干单个克隆菌落混匀在无菌生理盐水中,调至 0.5 麦氏单位,备用。在上述每个血培养瓶中注入 5~10 mL 抗凝血,同时往每个瓶中注入 2 mL GBS 溶液。(2)将上一步骤的血培养瓶置于全自动血培养仪培养,直至培养仪报警提示目标血瓶阳性。

1.3.2 阳性血瓶抽液涂片染色镜检 (1)从阳性瓶中抽液涂片,采用革兰染色法染色,并适当烘干待用。(2)显微镜下观察涂片,若为革兰阳性球菌,则准备胶体金免疫层析法检测;否则,判定为非无乳链球菌感染。

1.3.3 胶体金免疫层析法检测 (1)准备B 族链球菌检测试剂盒(检测条、反应管)。(2)从阳性瓶抽液 50 μ L(约 2 滴)加入反应管。(3)按照B 族链球菌检测试剂说明书进行无乳链球菌检测,判读结果。

1.4 胶体金免疫层析法在临床血流感染GBS 诊断中的应用

类似前述实验步骤,在临床血培养鉴定的实际工作中,执行无乳链球菌快速检测方案(血培养+ 阳性血瓶抽液涂片染色镜检+ 胶体金免疫层析法检测GBS)。其中阳性血培养瓶的检测包含了需氧培养瓶、厌氧培养瓶、儿童培养瓶。

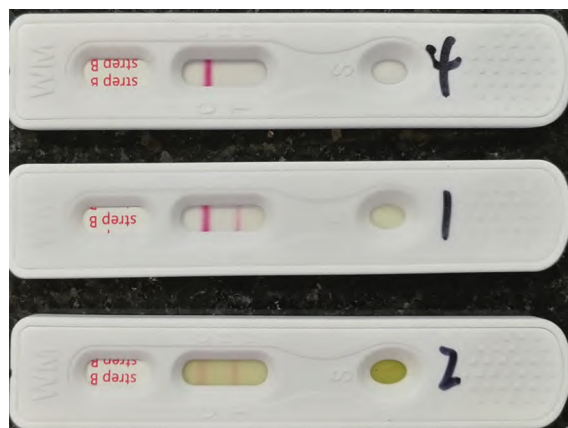
1.5 GBS 血流感染临床诊断金标准

GBS 血流感染的金标准检测法为“细菌培养生化鉴定”。当前,金标准检测法普遍通过全自动微生物鉴定系统实现。本研究将以金标准检测法(全自动微生物鉴定系统)作为参比,通过GBS 快速检测方案分析胶体金免疫层析法的GBS 检测效果。

2 结果

2.1 胶体金免疫层析法在临床血流感染GBS 诊断中应用的结果

32 例革兰阳性球菌中,采用胶体金免疫层析法试剂盒(图 1)检测GBS 为阳性(检测条上的测试线为红色) 3 例,非GBS 为阴性(检测条上的测试线无色) 29 例。采用全自动微生物鉴定系统鉴定GBS 3 例(包含厌氧培养瓶与需氧培养瓶的抽液检测),金黄色葡萄球菌 10 例,溶血葡萄球菌 5 例,表皮葡萄球菌与粪肠球菌各 2 例,尿肠球菌、人葡萄球菌、华纳葡萄球菌、肺炎链球菌、中间葡萄球菌、肺炎微球菌、解糖葡萄球菌、沃氏葡萄球菌、头状葡萄球菌头状亚种与星座链球菌各 1 例。



编号 1: GBS 阳性儿童血培养瓶检测结果;编号 2: GBS 阳性需氧血培养瓶检测结果;编号 4: 阴性对照

图 1 胶体金免疫层析法检测条显示图

2.2 阳性预测值、阴性预测值与准确度

以金标准检测法(全自动细菌鉴定系统)为参照方法,胶体金免疫层析法检测阳性预测值、阴性预测值与准确度均为 100%,见表 1。

表 1 胶体金免疫层析法检测结果有效性评价表

胶体金免疫层析法	全自动细菌鉴定系统		合计
	+	-	
+	3	0	3
-	0	29	29
合计	3	29	32

3 讨论

孕妇肠道与生殖道黏膜 GBS 定值率在欧美等国家为 10%~30%,我国台湾地区约 18%,香港约 17%,大陆地区 3.7%~33% 均有报道。孕产妇及其新生儿感染 GBS 给各地区特别是发展中国家带来了极大的经

济负担^[1]。在发达国家4~14/万新生儿感染GBS,其中死亡率约60%^[1-2]。血流感染病情发展迅速,特别是围生期产妇及其新生儿体质较弱,是GBS感染的重点人群,发生血流感染后若不给予重视,死亡率极高。

当前,GBS血流感染的检测方法主要为“全自动血培养仪培养+阳性血瓶转种血平板分离培养+细菌生化鉴定”^[3-4],其中“阳性血瓶转种血平板培养+细菌生化鉴定”至少需要48h,难以满足血流感染病情危急患者的诊治需求,因此,开发GBS血流感染快速检测试剂盒显得尤其重要。最近的荧光定量PCR检测法可以实现快速检测GBS^[5-7],但是实验操作流程较繁琐,耗时间一般超过1.5h。胶体金免疫层析法针对GBS抗原可以在15min内完成快速检测出结果^[7]。然而,GBS胶体金免疫层析试剂盒是针对阴道分泌物标本开发^[7],对血流感染检测效果尚未明确,血培养瓶中各种成分以及人体血液成分对试剂检测的干扰也未明确。本研究通过该试剂盒在临床血流感染GBS检测的初步应用,了解血培养试剂成分以及血液成分对试剂盒检测GBS的干扰情况。

本研究通过建立GBS血流感染的血培养瓶模型,置于全自动血培养仪培养,待报阳后,使用GBS胶体金免疫层析试剂盒进行检测,结果显示GBS抗原阳性。后续临床应用3例GBS血流感染病例同样能够快速检出,可见GBS胶体金免疫层析法具有血流感染GBS快速检测的潜力。

实验中在使用GBS胶体金试剂盒之前,对阳性血培养瓶先行涂片镜检,在观察到革兰阳性球菌的情况下,方才执行免疫层析法检测。革兰阴性菌镜下形态与无乳链球菌相差较远,因此,判断该试剂盒鉴别能力的关键是针对革兰阳性球菌,特别是针对链球菌的鉴别检测能力。本研究检测29例革兰阳性球菌结果均为阴性,其中的1例是革兰阳性球菌与革兰阴性杆菌混合感染(弗劳地枸橼酸杆菌混合屎肠球菌感染),结果亦为阴性;肠球菌与肺炎链球菌显微镜下形似链球菌,人眼依靠显微镜难以鉴别是否GBS,但是通过胶体金免疫层析法检测为阴性。由此可见,在没有金标准检测法(全自动微生物鉴定系统)的情况下,可由胶体金免疫层析法实现阳性血瓶中GBS的检测鉴别,实验操作省时且简便。

本研究GBS胶体金免疫层析试剂盒检测结果与全自动微生物鉴定系统检测结果100%相符。值得指出的是,本研究不仅检测了GBS阳性需氧与厌氧血培

养瓶,还检测了GBS阳性儿童血培养瓶,3种血培养瓶抽液GBS检测结果与全自动微生物鉴定系统结果均相符,说明胶体金免疫层析法不受血培养瓶种类的影响。

胶体金免疫层析法检测血培养瓶中的多种非GBS菌株均为阴性,包括革兰阳性球菌、革兰阳性杆菌与革兰阴性杆菌(1例革兰阳性杆菌经革兰染色后由显微镜下肉眼判定,另有1例肺炎克雷伯氏菌肺炎亚种感染由全自动细菌鉴定系统检测),各类细菌均没有对GBS血流感染检测造成干扰,说明胶体金免疫层析法在GBS血流感染的快速检测中抗干扰能力好。而且相对传统的培养鉴定方法,GBS血流感染胶体金免疫层析法可在检测时间上缩短48h以上,在操作上简便快捷,极大提高临床诊治效率。

综上,GBS胶体金免疫层析法能提示GBS血流感染,该检测法省时简便,符合血流感染快速诊断需求。当然,由于本研究检测血培养瓶例数较少,以及未对全部亚型GBS进行检测验证,胶体金免疫层析法对GBS的鉴别检测能力是否值得信赖仍须更多的临床应用数据给予佐证。另外,试剂盒对阳性培养瓶最低浓度检测限有待明确,试剂盒是否能够直接检测人体血液从而判定GBS感染亦值得进一步研究。

参考文献:

- [1] CSEALE A, BIANCHI-JASSIR F, JRUSSELL N, et al. Estimates of the burden of group B streptococcal disease worldwide for pregnant women, stillbirths, and children[J]. Clin Infect Dis, 2017, 65(S2): S200-219.
- [2] 魏飞燕,徐丽丽,牟娜,等. 孕妇GBS感染和阴道微生态失衡与新生儿围产期感染的相关性及其影响因素[J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(19): 3007-3011.
- [3] 郭淑丽,黄国虹,李娟,等. GBS自动培养检测与普通细菌培养的对比分析[J]. 中国卫生标准管理, 2019, 10(5): 82-84.
- [4] 李红娟,王玮,李宁,等. 围产期B族链球菌检测方法及预防研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 6(11): 1406-1408.
- [5] 罗娅莎,张矣桐,张亮,等. 基于cfb和scpb基因的无乳链球菌PCR检测方法比较及临床应用[J]. 中华临床实验室管理电子杂志, 2021, 9(1): 38-41.
- [6] KOLIWERBRANDL H, NIL A, BIRRI J, et al. Evaluation of two rapid commercial assays for detection of Streptococcus agalactiae from vaginal samples[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2023, 102(4): 450-456.
- [7] 周新荣,范世珍,于波海,等. B族链球菌不同检测方法的效果评价[J]. 中国实验诊断学, 2023, 27(1): 57-62.