

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.21.001

基于细菌 16S rDNA 测序技术的孕晚期 B 族链球菌感染后阴道微环境的分析*

李柯成^{1,2}, 周 娜³, 周云英^{2△}

1. 济南大学·山东省医学科学院医学与生命科学学院, 山东济南 250002; 2. 山东大学附属
济南市中心医院, 山东济南 250013; 3. 山东省血液中心, 山东济南 250014

摘 要:目的 通过基因测序及统计分析来评估 B 族链球菌(GBS)感染对孕晚期女性阴道菌群组成的影响。**方法** 孕晚期接受常规产检的孕妇根据有无 B 族链球菌感染分为 B 族链球菌感染组(EG 组, $n=35$)和未感染对照组(NC 组, $n=34$), 采用细菌 16S rDNA 测序方法分析 B 族链球菌感染对阴道菌群的影响。**结果** 经细菌 16S rDNA 测序共鉴定出 733 个物种, B 族链球菌感染组物种丰度降低, 与未感染对照组间差异大于组内差异, 具有统计学意义。与已知物种的 16S 数据库进行比对后发现, B 族链球菌感染的孕妇阴道菌群中, 在门水平分类上, 放线菌门增加, 厚壁菌门、拟杆菌门减少。**结论** 孕妇 B 族链球菌感染使阴道微环境的物种丰度发生改变, 孕期应积极干预 B 族链球菌感染, 避免给母婴造成严重后果。

关键词: 16S rDNA 测序; B 族链球菌; 阴道菌群; 孕晚期

中图分类号: R71; R446.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)21-3073-05

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Analysis on vaginal microenvironment after group B streptococcus infection in late pregnant women based on bacterial 16S rDNA sequencing technique*

LI Kecheng^{1,2}, ZHOU Na³, ZHOU Yunying^{2△}

1. School of Medicine and Life Sciences, Jinan University Shandong Provincial Academy of Medical Science, Jinan, Shandong 250002, China; 2. Affiliated Jinan Central Hospital, Shandong University, Jinan, Shandong 250013, China; 3. Shandong Provincial Blood Center, Jinan, Shandong 250014, China

Abstract: Objective To evaluate the influence of group B streptococcus (GBS) infection on the composition of vaginal bacterial floras in late pregnant women through gene sequencing and statistical analysis. **Methods** The late pregnant women receiving the routine prenatal examination were divided into the GBS infection group [experimental group (EG), $n=35$] and non-infection control group (NC, $n=34$) according to whether having GBS infection. The bacterial 16S rDNA sequencing method was adopted to analyze the influence of GBS infection on the vaginal bacterial floras. **Results** A total of 733 species were identified by using the bacterial 16S rDNA sequencing method, and the species richness in the GBS infection group was decreased; its difference with the non-infection control of group was greater than the intra-group difference, showing the statistical significance. Comparing with the 16s database of known specieses found that in the vaginal floras in the pregnant women with GBS infection, in the classification of phylum level, actinobacteria increased, firmicutes and bacteroidetes decreased. **Conclusion** GBS infection in pregnant women changes the species richness in vaginal microenvironment, and the GBS infection should be actively intervened during pregnancy for avoiding to cause the serious consequences to mothers and infants.

Key words: 16S rDNA sequencing; group B streptococcus; vaginal microbial flora; late pregnancy

在正常情况下, 阴道腔中的微生物与宿主和环境保持着动态平衡, 即生态平衡。当女性怀孕时, 微生物种群的变化随着年龄和怀孕的不同而变化。B 族

链球菌(GBS)是革兰阳性菌, 又称无乳链球菌, 是一种条件致病菌^[1], 通常存在于阴道和直肠。当其寄居部位发生改变、机体抵抗力降低或菌群失调时则会诱

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81802761); 山东省自然科学基金项目(ZR2017BH100); 山东省济南市科学技术发展计划资助项目(201704081)。

作者简介: 李柯成, 男, 技师, 主要从事免疫学及临床微生物学研究。△ 通信作者, E-mail: joan0539@163.com。

发疾病。B 族链球菌的主要传播途径是垂直传播^[2]。据大样本研究发现,在中国不同地区,B 族链球菌在妊娠晚期妇女中感染率略有差异,其中长沙地区感染率为 7.40%^[3],镇江地区感染率为 4.84%^[4],柳州地区感染率为 7.17%^[5],宁波地区感染率为 15.58%^[6],厦门地区为 14.52%^[7]。健康人感染 B 族链球菌后并不致病,但孕妇机体抵抗力较低,在围生期感染 B 族链球菌可造成多种不良妊娠结局,如绒毛膜羊膜炎、胎儿感染、新生儿脓毒血症等^[8-11]。怀孕期间体内雌激素水平不断升高,乳酸菌分解阴道上皮细胞内增多的糖原^[12],产生大量乳酸,促进嗜酸性致病菌如 B 族链球菌的快速生长,从而导致阴道菌群失调。阴道菌群不仅存在共生关系,也存在拮抗关系。迄今为止,大多数研究集中于评估孕妇中 B 族链球菌感染的流行程度^[13],但是 B 族链球菌感染后阴道微生态具体发生了哪些改变尚不明确。本研究将对孕晚期 B 族链球菌感染后阴道微生态改变进行研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 入组标准 将 2018 年 3—8 月在山东大学附属济南市中心医院接受常规产前检查的孕妇 69 例纳入研究。孕妇均处于孕晚期,孕 28~40 周;年龄 22~40 岁,中位年龄 31 岁;入组孕妇在 6 个月内均未使用过抗菌药物,并排除患有心脑血管疾病、过敏体质、精神异常等,且身高、体质量、年龄、孕产次数、生活条件等匹配。

1.1.2 分组 留取孕妇阴道分泌物进行细菌培养并鉴定后发现,35 例孕妇感染了 B 族链球菌,年龄 27~40 岁,中位年龄 35 岁;34 例未感染,年龄 22~35 岁,中位年龄 28 岁。根据有无 B 族链球菌感染,将研究对象分为两组:B 族链球菌感染组(EG 组)和 B 族链球菌未感染组(NC 组)。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取及质检 将无菌阴道棉拭子置于阴道后穹窿旋转 1 周,采集新鲜阴道分泌物标本,使用 QIAamp DNA 提取试剂盒提取 DNA。利用 Thermo Nano Drop 2000 紫外微量分光光度计和 1% 琼脂糖凝胶电泳进行总 DNA 质检。

1.2.2 引物设计并合成 16S rDNA 扩增选择区域为 V3~V4 区,使用的通用引物为 F341 和 R806。在通用引物的 5' 端加上适合 HiSeq2500 PE250 测序的 index 序列和接头序列,完成特异性引物的设计。正向引物(5'~3')序列为 ACT CCT ACG GGR SGC AGC AG(F341),反向引物(5'~3')序列为 GGA CTA CVV GGG TAT CTA ATC(R806)。

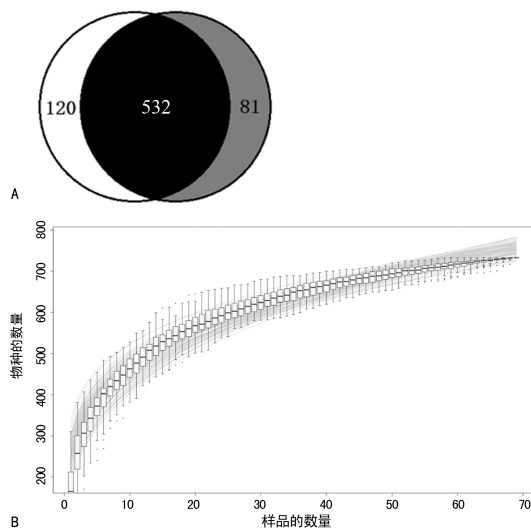
1.2.3 PCR 扩增和产物纯化 以稀释后的基因组 DNA 为模板,使用 KAPA HiFi Hotstart ReadyMix PCR kit 高保真酶进行 PCR,确保扩增的准确性和高效性。用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,并用

AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒(Axygen 公司)切胶回收 PCR 产物,提高产物纯度。

1.3 统计学处理 16S rDNA 基因测序及生物信息学分析:使用 Illumina HiSeq PE250 进行上机测序。对原始数据进行 QC 之后,用 Usearch 软件^[14]对数据进行去嵌合体和聚类的操作,提取对应的物种序列,然后使用 QIIME 软件^[15]在 16S 数据库进行比对分析,从而得到物种丰度表,最后根据该物种丰度表进行物种分类与丰度分析、Alpha 多样性分析及 Beta 多样性分析。

2 结果

2.1 物种聚类分析 物种聚类后共鉴定出 733 个物种。根据物种在每个样品的丰度,计算出每个样品之间共有和特有的物种,Venn 图(图 1A)显示 EG 组中物种总数比 NC 组减少,即物种丰度降低。物种累积曲线(Species Accumulation Curves)显示曲线在急剧上升后变为上升舒缓(图 1B),表明抽样充分,统计结果可靠。



注:A 中不同颜色图形代表不同组别,不同颜色图形之间交叠部分数字为两个组别之间共有的物种个数;白色为 NC 组,灰色为 EG 组

图 1 物种 Venn 图及组间微生物群落差异分析

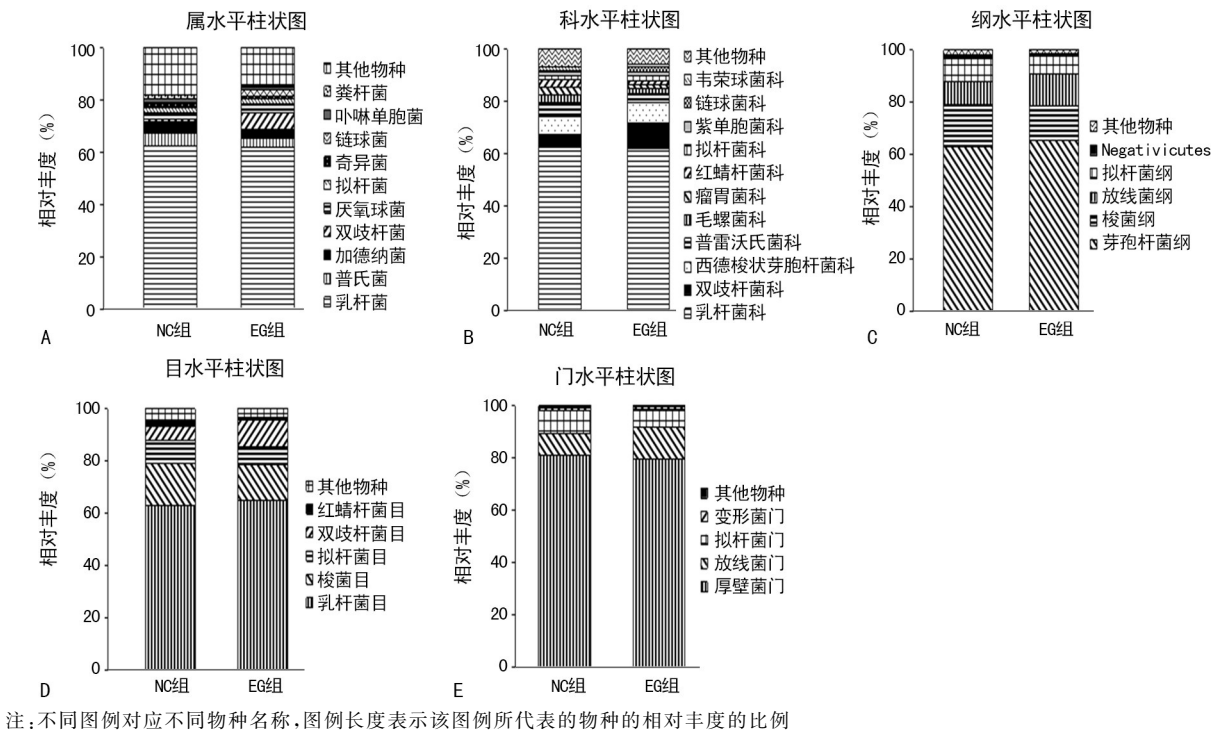
2.2 物种分类和丰度分析

2.2.1 不同分类等级水平上的物种丰度分析 从各个物种中挑选出丰度最高的一条序列,作为该物种的代表序列,使用 RDP 方法,将该代表序列与已知物种的 16S 数据库进行比对,根据物种注释结果,分别在门、纲、目、科、属分类等级对不同分组做物种 profiling 相应的柱状图,形成物种相对丰度柱状图。图 2 显示各分组在不同的分类等级上相对丰度较高的物种和比例。EG 组和 NC 组相比(图 2E),厚壁菌门、拟杆菌门等丰度相对降低,而放线菌门相对增加。在属水平(图 2A),EG 组中双歧杆菌属、厌氧球菌属、链球菌属增多,乳杆菌属、普氏菌属、加德纳菌属降低,并且除一些相对较高丰度的细菌的变化之外,EG 组中低丰度细菌如布劳特氏菌属、胃球菌属、多种粪杆菌

属及一些未知细菌的含量也降低了。

2.2.2 物种分类树统计 根据物种分类结果,对物种丰度排名前 20 的菌属进行分类树计数,结果显示属于厚壁菌门的乳杆菌属在 NC 组和 EG 组中无明显变化,但含量相对较高的如链球菌属、范高德菌属、厌

氧球菌属在 EG 组中明显增加;放线菌门中的双歧杆菌属在 EG 组中增加,而加德纳菌属减少,导致整个放线菌门含量明显增加;另外拟杆菌门中普氏菌属、卟啉单胞菌属减少导致拟杆菌门在 EG 组中含量降低。



注:不同图例对应不同物种名称,图例长度表示该图例所代表的物种的相对丰度的比例

图 2 物种丰度分析图

2.3 Alpha 多样性分析 利用 QIIME 软件计算样品的 Alpha 多样性指数的值并作出 Alpha 多样性指数的统计表格。表 1 中 chao1 指数用来估计样品所含物种的总数;observed species 指数表示实际观测到的物种数量;goods coverage 指数表示测序深度;从表 1 中可以看出 NC 组比 EG 组物种均值数量多。

表 1 Alpha 多样性指数差异检验

组别	chao1 指数	observed species 指数	goods coverage 指数
NC 组	231.95	189.24	1.00
EG 组	180.88	144.03	1.00
P	0.000 717	0.001 95	0.000 724

2.4 Beta 多样性分析

2.4.1 相似性分析(Anosim 分析) 统计量 R 值如果大于 0,说明组间的差异大于组内差异,分组较为合理,反之 R 值若小于 0,则组间差异小于组内差异,分组欠佳。计算得出 R=0.128,说明组间差异大于组内差异(P=0.001)。

2.4.2 NMDS 分析 分析结果显示两组样品距离较近,存在相似的物种组成,但同时也有相互分离的趋势。

2.4.3 MRPP 组间差异分析 MRPP 组间差异分析 a 值为统计量,a=0.019 4>0,说明组间差异大于组内差异;Expect Delta=0.505 8,其值越大说明组间差异越大;P=0.000 1<0.05 说明差异有统计学意义。

3 讨论

细菌核糖体 RNA(rRNA)按沉降系数分为 3 种,分别为 5S、16S 和 23S rRNA。16S rDNA 是细菌染色体上编码 16S rRNA 相对应的 DNA 序列,存在于所有细菌染色体基因中[16]。16S rDNA 约占细菌 DNA 含量的 80%,其种类少,含量大,分子大小适中,进化具有良好的时钟性质,在结构与功能上具有高度的保守性,既能体现不同菌属之间的差异,又能利用测序技术较容易地得到其序列。16S rDNA 鉴定是利用细菌 16S rDNA 序列测序的方法对细菌进行种属鉴定[17];包括细菌基因组 DNA 提取、16S rDNA 特异引物 PCR 扩增、扩增产物纯化、DNA 测序、序列比对等步骤,是一种快速获得细菌种属信息的方法,常用于细菌种属鉴定。本研究采用细菌 16S rDNA 测序的方法具体分析阴道微生态的变化,为 B 族链球菌感染和疾病合理干预提供指导。

人们普遍认为健康女性的阴道菌群包括 3 种类型的细菌:常驻细菌、过路细菌和偶尔的细菌[18]。最重要的常驻细菌有乳酸菌、表皮葡萄球菌、大肠埃希

菌、梭菌、B 族链球菌、粪链球菌、消化球菌和拟杆菌等。主要过路细菌有金黄色葡萄球菌、肠杆菌、丙酸杆菌、消化链球菌、维隆球菌等。阴道乳酸杆菌是健康女性正常阴道菌株中的优势细菌,在正常情况下,阴道的常驻菌群和机会性病原体维持阴道的微生态平衡^[19]。B 族链球菌是一种寄生于人类下消化道及泌尿生殖道的细菌,健康人群带菌率可达 15%~35%^[20]。由于怀孕期间激素水平的变化,阴道菌群失衡,酸性致病菌尤其是 B 族链球菌感染尤为常见。孕妇 B 族链球菌感染对妊娠结局及新生儿感染均造成不良影响,甚至导致新生儿死亡,在世界范围内均应引起重视。及时对这些高风险孕妇进行筛查,针对性干预和治疗,能大大降低感染概率,改善母婴预后。

本项研究发现,EG 组孕妇的阴道微生物组成与 NC 组有显著差异。先前文献中指出细菌丰度低的个体具有更明显的炎症表型特征^[21]。在本研究中,除了优势细菌乳酸杆菌外,变化最显著的微生物是链球菌、双歧杆菌、加德纳菌和拟杆菌。其中链球菌、双歧杆菌在 EG 组中增加,而加德纳菌和拟杆菌在 EG 组中减少。双歧杆菌被认为与人类感染有关^[22],B 族链球菌感染时会发生一系列炎症,这可能是双歧杆菌在 EG 组显著增加的原因,由于双歧杆菌的增加,阴道的弱酸性环境被破坏,阴道加德纳菌的生长受到抑制。前期刁玉涛^[23]研究表明在细菌性阴道病中,阴道加德纳菌的增长也会抑制双歧杆菌的生长,两种细菌似乎存在某种竞争关系,有待后续进一步研究。在 HPV 感染的宫颈癌患者中,潘颖^[24]研究发现随着宫颈病变进展,阴道微环境中加德纳菌属增加,乳酸杆菌属减少,总的物种多样性增加。这可能是由于感染 HPV 后,加德纳菌的繁殖造成阴道 pH 值由原来的弱酸性向中性偏移,抑制了乳酸杆菌的生长;加德纳菌的产物又破坏了阴道上皮细胞的保护因子,使厌氧菌在阴道表面大量黏附与定植,最终造成总的物种多样性增加。

流行病学研究表明,B 族链球菌感染在世界范围内都是严重威胁母婴围生期安全的一种常见致病菌,若在宫颈内发现大量 B 族链球菌,可引发胎膜早破、晚期流产、早产、胎儿生长受限等众多妊娠并发症^[25]。美国和欧洲各国已经推荐广泛开展孕晚期 B 族链球菌感染筛查^[26]。本研究采用分子生物学上常用的细菌 16S rDNA 测序的方法对 B 族链球菌感染孕妇阴道分泌物中的细菌进行种属鉴定,明确 B 族链球菌感染对阴道菌群的影响,分别从门、纲、目、科、属水平对细菌物种丰度进行研究,更加准确地揭示了阴道微生态的改变,为 B 族链球菌感染和疾病合理干预提供指导,最大限度避免 B 族链球菌感染给母婴带来的严重后果。

参考文献

[1] EDMOND K M, KORTSALILOUDAKI C, SCOTT S, et

- al. Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet*, 2012, 379(9815): 547-556.
- [2] ROMANIK M, NOWOSIELSKI K, POREBA R, et al. Streptococcus group B serotype distribution in anovaginal isolates of women in term pregnancy[J]. *Neuro Endocrinol Lett*, 2014, 35(4): 301-305.
- [3] 谢雯, 陈敏, 谭继权. 长沙地区围产期孕妇 B 族链球菌带菌状况分析及对妊娠结局的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2018, 38(5): 108-110.
- [4] 李晓光, 杨彦, 腾凯. 镇江地区孕妇妊娠晚期 B 族链球菌感染情况及其对母婴预后的影响[J]. *中国实用医刊*, 2019, 46(5): 12-14.
- [5] 覃培棚, 陈继昌, 马丽梅, 等. 柳州市围产期孕妇 B 族链球菌感染率调查及耐药分析[J]. *中国医药科学*, 2019, 9(2): 180-182.
- [6] 孙长冬. 孕晚期女性生殖道 B 族链球菌带菌率及耐药情况分析[J]. *中国妇幼保健*, 2019, 34(3): 631-633.
- [7] 林新祝, 吴健宁, 张雪芹, 等. 晚孕期阴道 B 族链球菌定植与新生儿感染的关系[J]. *中华围产医学杂志*, 2016, 19(7): 491-496.
- [8] HUANG J, LI S, LI L, et al. Alarming regional differences in prevalence and antimicrobial susceptibility of group B streptococci in pregnant women: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2016, 7: 169-177.
- [9] 王玉, 孔丽娜. B 族链球菌感染与胎膜早破关系的 Meta 分析[J]. *湖北科技学院学报(医学版)*, 2015, 29(6): 476-478.
- [10] 秦利, 张利侠, 袁军, 等. 孕妇生殖道 B 族链球菌感染与胎膜早破的关系及其对母儿预后的影响[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(8): 928-929.
- [11] 时春艳, 曲首辉, 杨磊, 等. 妊娠晚期孕妇 B 族链球菌带菌状况的检测及带菌对妊娠结局的影响[J]. *中华妇产科杂志*, 2010, 45(1): 12-16.
- [12] BOWMAN K, ROSE J. Estradiol stimulates glycogen synthesis whereas progesterone promotes glycogen catabolism in the uterus of the American mink (*Neovison vison*) [J]. *Anim Sci J*, 2017, 88(1): 45-54.
- [13] FEIKIN D R, THORSEN P, ZYWICKI S, et al. Association between colonization with group B streptococci during pregnancy and preterm delivery among Danish women [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 184(3): 427-433.
- [14] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nat Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [15] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. Caparose JGKJ, stombaugh J, bittinger K, Bushman FD. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nat Methods*, 2010, 7(5): 335-336.

(下转第 3080 页)

例中沙门氏菌检出率以 60 岁以上年龄组和农民的检出率最高,与文献[10]报道一致。这可能是因为该年龄组在就诊前抗生素使用率最低,就诊前抗生素的使用会影响细菌性病因的检出率^[6];同时老年人抵抗力低,导致该年龄段中沙门氏菌的检出率较高,应加强老年人的锻炼以提高抵抗力。另外健康教育能够有效提高居民对重点传染病的防控^[11],针对老年人、本区外来人口,以及农村等卫生条件较差的地方的人群,应加强健康行为的教育与干预,促使形成良好的健康相关行为,提高健康行为形成率^[12],以降低沙门氏菌腹泻的发生。

沙门氏菌腹泻病以水样便腹泻症状为主,伴随脐周阵发性腹痛,沙门氏菌的感染存在较高的混合感染,混合感染以 C 群血清型多见,且混合感染的临床症状,如呕吐、腹痛和恶心的发生率均较单一感染组高,沙门氏菌单一感染的发热率较混合感染高,可推测不同血清型的沙门氏菌引起的临床症状差异较大,沙门氏菌感染病例的抗生素使用率和输液治疗率较高,提示在治疗中需进行优化,尤其针对混合感染的腹泻患者。

综上所述,青浦区沙门氏菌感染不容忽视,尤其是混合感染,结合高发季节,应强化农村地区人群、老年人和本区外来人口等重点人群的健康行为的教育与干预,优化诊疗方式,规范抗生素的使用,以降低沙门氏菌腹泻病的发生及耐药性的产生。

参考文献

[1] 游勇来. 沙门氏菌的分离鉴定及 PCR 快速分型的研究[D]. 广州:华南理工大学,2013.

[2] 王霄晔,任婧寰,王哲,等. 2017 年全国食物中毒事件流行

特征分析[J]. 疾病监测,2018,33(5):359-364.

[3] 蒋培华,费怡. 上海市浦东新区腹泻患者细菌性病原学监测分析[J]. 中华传染病杂志,2014,32(5):304- 306.

[4] 雷蕾,余光清,肖锦晖,等. 深圳市宝安区 2013—2015 年感染性腹泻病原菌监测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志,2016,26(10):1458-1461.

[5] 周晓红,徐佩华,张孝艳,等. 浙江省海盐县 669 例感染性腹泻病例病原菌监测及耐药性分析[J]. 上海预防医学,2015,27(2):68-70.

[6] 徐秋芳,施怡茹,卢晓芸,等. 基于腹泻多病原监测研究副溶血性弧菌的感染状况和疾病负担[J]. 疾病监测,2017,32(10):814-817.

[7] 徐秋芳,童锐,费琼,等. 一起副溶血性弧菌食物中毒的病原学检测与分析[J]. 上海交通大学学报(医学版),2013,33(3):377-379.

[8] 王云霞,刘海波,史文凤,等. 北京市房山区空肠弯曲菌检测与感染现状[J]. 公共卫生与预防医学,2018,29(6):71-73.

[9] 陈云,袁永娟,朱建民,等. 浙江嘉善 2014—2015 年感染性腹泻监测结果分析及菌株耐药性研究[J]. 中国卫生检验杂志,2017,27(3):400-405.

[10] 黎剑华,龙冬玲,卓菲,等. 2012—2013 年深圳市罗湖区腹泻患者沙门菌流行特征及耐药情况分析[J]. 中国卫生检验杂志,2016,26(3):447-449.

[11] 龚太峰,张广杰. 居民重点传染病防治知信行现状及健康教育干预效果调查研究[J]. 中国农村卫生,2019,11(6):36.

[12] 富志南,黄志刚,侯占友,等. 河北省平泉市城乡居民传染病知-信-行现况调查[J]. 医学动物防制,2018,34(12):1189-1191.

(收稿日期:2019-04-10 修回日期:2019-08-21)

(上接第 3076 页)

[16] 刘文强,贾玉萍,赵宏坤. 16 S rRNA 在细菌分类鉴定研究中的应用[J]. 动物医学进展,2006,27(11):15-18.

[17] BARRIUSO J, VALVERDE J R, MELLADO R P. Estimation of bacterial diversity using next Generation sequencing of 16S rDNA: a comparison of different workflows[J]. BMC Bioinformatics,2011,12(1): 473-478.

[18] 肖冰冰,张岱,廖秦平,等. 妊娠期阴道菌群的微生态评价[J]. 中国妇产科临床杂志,2007,8(6):412-414.

[19] 孙文平,罗红,陈晨,等. 健康妊娠妇女阴道乳酸杆菌及 pH 变化的研究[J]. 中国微生态学杂志,2011,23(3):264-265.

[20] 朱敏,范建霞,程利南. 围产期 B 族链球菌感染的研究进展[J]. 中华妇产科杂志,2005,40(2):137-141.

[21] CONSOLANDI C, TURRONI S, EMMI G A, et al. Behcet's syndrome patients exhibit specific microbiome signature[J]. Autoimmun Rev,2015,14(4): 269-276.

[22] MIHATSCH W A, VOSSBECK S, FRANZ A R, et al. 184 effect of bifidobacterium lactis on the incidence of nosocomial infections in preterm infants[J]. Pediatr Res, 2004,56(3): 495-499.

[23] 刁玉涛. 菌群构成与细菌性阴道病的相关性研究[D]. 济南:山东大学,2011.

[24] 潘颖. 高危型 HPV 感染及不同级别宫颈病变女性阴道菌群多样性分析[D]. 广州:南方医科大学,2016.

[25] STATE C. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: a public health perspective. Centers for Disease Control and Prevention[J]. MMWR Recomm Rep,1996,45(RR-7):1-24.

[26] 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): 560-563.

(收稿日期:2019-03-05 修回日期:2019-09-19)