

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.19.002

解脲支原体和人型支原体的液体培养法和固体培养法比较及耐药性分析*

林丽英, 马芙蓉, 郭旭光, 夏 勇[△]

广州医科大学附属第三医院检验科, 广东广州 510150

摘要:目的 探讨液体培养法和固体培养法检测解脲支原体(Uu)和人型支原体(Mh)的临床价值,并进行耐药性分析,为临床用药提供依据。**方法** 选取2017年10—12月该院采集的819份泌尿生殖道支原体培养标本为研究对象,同时用液体培养法和固体培养法检测Uu、Mh。比较两种方法的检出率。以固体培养法为“金标准”,分析液体培养法检测Uu、Mh的效能。分析支原体(Uu、Mh)的耐药性特征。**结果** 液体培养法对Mh和Uu的总检出率为53.97%,高于固体培养法的总检出率(45.79%),差异有统计学意义($\chi^2=583.18$, $P<0.05$)。液体培养法检测Uu的灵敏度为100.00%,特异度为85.22%;检测Mh的灵敏度为98.41%,特异度为94.05%。374份支原体阳性标本对诺氟沙星(97.33%)、环丙沙星(88.24%)和壮观霉素(83.42%)有较高的耐药率;对米诺环素(76.20%)、交沙霉素(63.37%)和多西环素(62.83%)的敏感率较高。**结论** 液体培养法检测Uu、Mh的灵敏度较高,但同时有一定的假阳性率,应结合固体培养法以提高检测的准确性。针对Uu、Mh感染,临床需依据患者药敏试验结果合理使用抗菌药物,米诺环素、交沙霉素和多西环素可作为首选。

关键词:解脲支原体; 人型支原体; 液体培养法; 固体培养法; 耐药性

中图法分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)19-2791-04

Comparison of liquid culture method and solid culture method and drug resistance analysis of ureaplasma urealyticum and mycoplasma hominis*

LIN Liying, MA Furong, GUO Xuguang, XIA Yong[△]

Department of Clinical Laboratory, Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510150, China

Abstract: Objective To explore the clinical value of liquid culture method and solid culture method to detect *Ureaplasma urealyticum* (Uu) and *Mycoplasma hominis* (Mh), and conduct drug resistance analysis to provide a basis for clinical medication. **Methods** Selected 819 urogenital mycoplasma culture specimens collected by the hospital from October to December 2017 as the research objects. At the same time, liquid culture method and solid culture method were used to detect Uu and Mh. Compared the detection rates of the two methods. Took solid culture method as the "gold standard", analyzed the efficiency of liquid culture method in detecting Uu and Mh. The drug resistance characteristics of mycoplasma (Uu and Mh) were analyzed. **Results** The total detection rate of Mh and Uu by liquid culture method was 53.97%, which was higher than the total detection rate of solid culture method (45.79%), and the difference was statistically significant ($\chi^2=583.18$, $P<0.05$). The sensitivity and specificity of Uu detected by liquid culture method were 100.00% and 85.22%. The sensitivity and specificity of Mh were 98.41% and 94.05%. A total of 374 mycoplasma positive specimens had high resistance rates to norfloxacin (97.33%), ciprofloxacin (88.24%) and spectinomycin (83.42%). The sensitivity rates to minocycline (76.20%), josamycin (63.37%) and doxycycline (62.83%) were higher. **Conclusion** The liquid culture method has high sensitivity to detect Uu and Mh, but it also has a certain false positive rate. The solid culture method should be combined to improve the accuracy of detection. For Uu and Mh infection, antibiotics should be used reasonably according to the results of drug sensitivity test, minocycline, josamycin and doxycycline can be the first choice.

Key words: *Ureaplasma urealyticum*; *Mycoplasma hominis*; liquid culture method; solid culture method; drug resistance

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(82072319)。

作者简介:林丽英,女,副主任技师,主要从事临床微生物学检验研究。 [△] 通信作者, E-mail:377695944@qq.com。

本文引用格式:林丽英,马芙蓉,郭旭光,等.解脲支原体和人型支原体的液体培养法和固体培养法比较及耐药性分析[J].检验医学与临床,2021,18(19):2791-2794.

支原体是一类没有细胞壁、高度多形性、能通过滤菌器、可用人工培养基培养增殖的最简单的原核生物之一。目前,已经发现至少有 16 种支原体能寄居于人体,7 种为条件致病菌,其中以解脲支原体(Uu)和人型支原体(Mh)最为常见。Uu 和 Mh 主要寄居于人体的泌尿生殖道,通过性接触传播,可引起尿道炎、前列腺炎等泌尿生殖道感染;亦可经胎盘传播,引起早产、自然流产、先天畸形、死胎和不孕症等;经产道感染可导致新生儿肺炎或脑膜炎^[1-3]。支原体(包括 Uu 和 Mh)感染早期患者无症状或症状不明显,导致患者未能及时诊断、治疗。目前,Uu 和 Mh 的检测多采用液体培养法,该方法快速、简便,且附带药敏试验结果,但其准确性有待进一步明确。固体培养法可通过显微镜观察到支原体典型菌落,是诊断支原体感染的“金标准”,但其操作相对烦琐,临床应用较少^[4-5]。临床常用四环素类、大环内酯类及喹诺酮类抗菌药物治疗泌尿生殖道支原体感染,但近年来随着抗菌药物的广泛使用,支原体的耐药性也在不断增强,这给临床治疗带来了一定的困难^[6-7]。快速准确地诊断泌尿生殖道支原体感染,从而进行有针对性的抗感染治疗有重要的临床意义。本研究将液体培养法检测 Uu 和 Mh 的性能与固体培养法进行比较,并进一步分析 Uu 和 Mh 的耐药性,旨在为临床诊断及治疗提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选取 2017 年 10—12 月本院采集的 819 份泌尿生殖道支原体培养标本为研究对象,其分别来自妇科、不孕不育科、泌尿外科等科室。其中 706 份标本来自女性,年龄 19~69 岁,采用无菌拭子取宫颈口 1.0~1.5 cm 处分泌物;113 份标本来自男性,年龄 24~59 岁,采用无菌拭子取尿道口 1.0~1.5 cm 处分泌物。

1.2 仪器与试剂 Uu 和 Mh 分离、鉴定、药敏试验试剂盒(众爱生河北生物科技有限公司);Uu 和 Mh 选择分离固体培养基(众爱生河北生物科技有限公司);BX43 光学显微镜(日本奥林巴斯公司);恒温培养箱(美国赛默飞世尔公司)。

1.3 方法

1.3.1 液体培养法 提前将试剂复温至室温,先从未接种标本的培养液中取 100 μL 加入药敏板的阴性对照孔。将采集的标本拭子置于液体培养基内反复搅拌、充分洗涤,并在瓶壁内挤压,确保全部标本都溶于培养液中,丢弃棉拭子,然后取 100 μL 混合液放入检测板各孔中(除阴性对照孔外),滴加石蜡覆盖,编号后放入(36±1)℃恒温培养箱孵育。培养 48 h 后观察结果,阴性对照孔培养后仍为澄清黄色液体则提示实验有效。Uu 或 Mh 的对照孔、鉴定孔和计数孔培养液由黄色变为红色且澄清者判定为 Uu 阳性或 Mh 阳性;Uu 和 Mh 两孔均变红且澄清者为 Uu 和 Mh 混

合感染,即 Uu+Mh 阳性;培养液及阴性对照孔无颜色变化判定为阴性;培养液变红但出现明显浑浊或沉淀且对应固体培养基上 Uu 或 Mh 生长则判定为液体培养基污染。药敏试验结果判读:低浓度孔及高浓度孔均不变色为敏感,低浓度孔变红、高浓度孔不变色为中介,低浓度孔及高浓度孔均变红为耐药。

1.3.2 固体培养法 将采集的标本在 2 h 内接种,先将拭子在固体培养基上划线接种,随后放入 CO₂ 发生片,盖上盖子,编号后放入(36±1)℃恒温培养箱孵育。培养 48 h 后,在低倍镜下观察固体培养基上是否有支原体特征性菌落生长,若见到典型棕褐色海胆样菌落或不典型微小菌落(菌落中有沙粒状物质或黏附上皮细胞生长的片状物质)为 Uu 阳性;若见到煎蛋样或草帽样菌落(最大径 100~300 μm)为 Mh 阳性;若同时见到上述两种菌落生长则为混合感染,即 Uu+Mh 阳性;若无菌落生长,则为阴性。若固体培养基上有混合菌生长并影响观察,则判定为固体培养基污染。

1.4 统计学处理 采用 SPSS25.0 软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检出率比较 819 份标本中,液体培养法和固体培养法均阳性的共 374 份(无污染标本),其中 47 份为 Uu+Mh 混合感染,检出率为 5.74%(47/819)。液体培养法对 Uu 和 Mh 的检出率分别为 52.14%(427/819)和 13.06%(107/819)。固体培养法对 Uu 和 Mh 的检出率分别为 43.83%(359/819)和 7.69%(63/819)。液体培养法对 Mh 和 Uu 的总检出率为 53.97%(442/819),高于固体培养法的总检出率[45.79%(375/819)],差异有统计学意义($\chi^2 = 583.18, P < 0.05$)。见表 1~3。

表 1 液体培养法和固体培养法对 Uu 的检出情况(n)

固体培养法	液体培养法		合计
	阳性	阴性	
阳性	359	0	359
阴性	68	392	460
合计	427	392	819

表 2 液体培养法和固体培养法对 Mh 的检出情况(n)

固体培养法	液体培养法		合计
	阳性	阴性	
阳性	62	1	63
阴性	45	711	756
合计	107	712	819

2.2 液体培养法检测 Uu、Mh 的效能 以固体培养法检测结果为“金标准”,液体培养法检测 Uu 的灵敏

度为 100.00%，特异度为 85.22%；检测 Mh 的灵敏度为 98.41%，特异度为 94.05%。见表 4。

表 3 液体培养法和固体培养法对 Mh 和 Uu 的总检出情况 (n)

固体培养法	液体培养法		合计
	阳性	阴性	
阳性	374	1	375
阴性	68	376	444
合计	442	377	819

注：Uu、Mh 中任意一项为阳性则结果判断为阳性。

表 4 液体培养法检测 Uu、Mh 的效能 (%)

支原体	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
Uu	100.00	85.22	84.07	100.00
Mh	98.41	94.05	57.94	99.86

2.3 药敏试验结果分析 对 374 份支原体阳性(液体培养法和固体培养法均为阳性)标本的药敏试验结果分析发现,其对诺氟沙星和环丙沙星有较高的耐药率,分别为 97.33%和 88.24%;其次为壮观霉素和氧氟沙星,耐药率分别为 83.42%和 74.87%;对米诺环素、交沙霉素和多西环素的敏感率较高,分别为 76.20%、63.37%和 62.83%。见表 5。

表 5 374 份支原体阳性标本的药敏试验结果 [n (%)]

抗菌药物	敏感	中介	耐药
多西环素	235(62.83)	77(20.59)	62(16.58)
米诺环素	285(76.20)	48(12.83)	41(10.96)
交沙霉素	237(63.37)	89(23.80)	48(12.83)
阿奇霉素	197(52.67)	51(13.64)	126(33.69)
克拉霉素	160(42.78)	55(14.71)	159(42.51)
诺氟沙星	2(0.53)	8(2.14)	364(97.33)
环丙沙星	2(0.53)	42(11.23)	330(88.24)
罗红霉素	126(33.69)	85(22.73)	163(43.58)
司帕沙星	57(15.24)	111(29.68)	206(55.08)
氧氟沙星	16(4.28)	78(20.86)	280(74.87)
左氧氟沙星	43(11.50)	147(39.30)	184(49.20)
壮观霉素	6(1.60)	56(14.97)	312(83.42)

3 讨 论

Uu 和 Mh 是引起泌尿生殖道感染的重要病原体之一,由其引起的感染占非淋病性泌尿生殖道感染的 20%~30%,Uu 和 Mh 主要通过性接触和母婴传播。支原体感染可导致非淋病性尿道炎、男性前列腺炎、女性阴道炎、盆腔炎、不孕不育和异常妊娠等^[4]。近年来,随着人们性意识的开放及无保护性行为的增加,支原体的感染率也越来越高,且由于抗菌药物的不规范使用及耐药基因的出现,支原体耐药率也越来越高,严重威胁人类健康^[8-9]。因此,及时准确地诊断

支原体感染,并进行有效的抗感染治疗具有一定的临床意义与现实价值。

目前,Uu、Mh 的培养方式分为液体培养法和固体培养法两种。液体培养法是基于培养和生化反应,通过 Uu 分解尿素、Mh 分解精氨酸产生氨,使 pH 值上升,培养液的酚红指示剂由黄色变成红色,从而判断感染情况的检测方法,此方法操作简单、价格较低,同时具有可进行药敏试验的优点,在临床上被广泛应用^[10]。但液体培养法结果仅依靠肉眼观察具有一定的主观误差,同时其检测原理的特异性不强,导致假阳性率较高。固体培养法则是直接在显微镜下观察 Uu、Mh 的生长情况,是诊断感染的“金标准”^[11]。由于 Uu、Mh 菌体较小,临床上仍存在不典型的菌落,因此固体培养法对检验人员的专业技能与临床实践经验有较高的要求。临床泌尿生殖道支原体感染中,Uu 的感染率高于 Mh。杨书才等^[12]对 6 493 例泌尿生殖道感染患者 Uu 和 Mh 的感染情况进行分析发现,Uu 单纯感染 2 300 例(35.4%),Mh 单纯感染 75 例(1.2%),二者混合感染 639 例(9.8%)。本研究结果显示,固体培养法 Uu 和 Mh 的检出率分别为 43.83%(359/819)和 7.69%(63/819),二者混合感染的检出率为 5.74%(47/819),Uu 的检出率明显高于 Mh。从检测方法来看,液体培养法对 Mh 和 Uu 的总检出率高于固体培养法(53.97% vs. 45.79%),提示液体培养法的检测结果存在一定的假阳性。本研究中,液体培养法检测 Mh 的阳性预测值仅为 57.94%,检出 45 份 Mh 假阳性标本可能与某些细菌或真菌分解精氨酸产生氨造成液体培养呈假阳性有关。张红升等^[13]从 227 份浑浊的支原体培养液中分离出 94 株细菌,其中 12 株可分解精氨酸,造成 Mh 假阳性。此外,还有研究表明,支原体液体培养法的生化反应特异性差,不是支原体所特有;且标本本身的上皮细胞、白细胞等可引起液体浑浊,影响结果的判断^[14]。综上所述,液体培养法虽然灵敏度高、操作简单,但检测结果存在一定的假阳性,可将液体培养法作为初筛试验,用固体培养法进一步确诊,两者相结合可提高诊断的准确性,帮助临床诊断与治疗。

郑杰^[15]报道了唐山地区 Uu 对米诺环素、多西环素和交沙霉素的敏感率依次降低;严富洪等^[16]报道了上海地区 Uu 对交沙霉素、米诺环素、克拉霉素的敏感率依次降低;何国华等^[17]发现,Uu 对多西环素、米诺环素、交沙霉素、克拉霉素敏感率较高,Mh 对多西环素、米诺环素、交沙霉素的敏感率在 86%以上。本院 374 份支原体阳性标本对诺氟沙星、环丙沙星、壮观霉素和氧氟沙星有较高的耐药率,分别为 97.33%、88.24%、83.42%和 74.87%;对米诺环素、交沙霉素和多西环素的敏感率较高,分别为 76.20%、63.37%和 62.83%。吴银花^[18]对广西地区 3 758 份泌尿生殖道支原体感染标本进行药敏试验发现,其对米诺环

素、多西环素、交沙霉素的敏感率较高,分别为 91.13%、80.15% 和 76.63%,与本研究结果类似。本研究结果表明,对支原体(Uu、Mh)感染患者的治疗可首选米诺环素、交沙霉素和多西环素,依据患者药敏试验结果合理使用抗菌药物,在提高治疗效果的同时也可避免抗菌药物滥用造成的多重耐药。

参考文献

- [1] CAPOCCIA R, GREUB G, BAUD D. Ureaplasma urealyticum, Mycoplasma hominis and adverse pregnancy outcomes[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2013, 26(3): 231-240.
- [2] KLETZEL H H, ROTEM R, BARG M, et al. Ureaplasma urealyticum; the role as a pathogen in women's health, a systematic review[J]. *Curr Infect Dis Rep*, 2018, 20(9): 33.
- [3] 周馨, 马筱玲, 叶书来, 等. 846 例泌尿生殖道支原体感染及药敏结果分析[J]. *热带医学杂志*, 2019, 19(5): 626-628.
- [4] OZTURK S, YILDIZ S, DURSUN P, et al. Mycoplasma hominis profile in women; culture, kit, molecular diagnosis, antimicrobial resistance, and treatment[J]. *Microb Pathog*, 2019, 135: 103635.
- [5] ZHENG W W, ZHANG W J, CUI D, et al. Examination of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in 4 082 Chinese patients[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2020, 54(2): e10099.
- [6] 曾丽洪, 张小团, 曾童, 等. 生殖支原体感染的临床分布和耐药性分析[J]. *中南医学科学杂志*, 2020, 48(5): 540-543.
- [7] 梁仙志, 阳益德, 万丽, 等. 长沙地区泌尿生殖道支原体感

染的流行病学调查研究[J]. *中国预防医学杂志*, 2020, 21(8): 849-854.

- [8] 冯维. 2013—2017 年泌尿生殖道解脲支原体感染状况耐药性变迁分析[J]. *现代实用医学*, 2019, 31(6): 764-765.
- [9] 尚雨娜, 聂正超, 施岚. 泌尿生殖道支原体感染特点及药敏分析[J]. *检验医学与临床*, 2020, 17(9): 1173-1176.
- [10] 蒲清泉, 吴文耀, 杜丽, 等. 液体培养法检测泌尿生殖道支原体感染的准确性评价[J]. *检验医学与临床*, 2017, 14(18): 2694-2697.
- [11] 郭东月. 液体培养法和固体培养法检测泌尿生殖道解脲支原体和人型支原体的价值分析[J]. *中国当代医药*, 2020, 27(21): 145-147.
- [12] 杨书才, 唐景云, 周杰, 等. 6 493 例泌尿生殖道感染患者解脲支原体和人型支原体感染情况及药敏试验分析[J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(13): 1888-1891.
- [13] 张红升, 韩晶. 支原体液体培养法假阳性原因探讨[J]. *检验医学*, 2012, 27(4): 316-318.
- [14] 黄秀荣, 张群先, 刘爱菊, 等. 液体法和固体法检测泌尿生殖道支原体的效果[J]. *中国热带医学*, 2017, 17(2): 207-209.
- [15] 郑杰. 女性生殖道解脲支原体感染及耐药性与生物群型分布的研究[D]. 唐山: 华北理工大学, 2019.
- [16] 严富洪, 陈楠. 泌尿道解脲支原体感染及药敏情况分析[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2012, 32(5): 646-649.
- [17] 何国华, 陈冬玲, 黎青梅, 等. 2019 年阳江市人民医院解脲支原体和人型支原体感染的临床分布与耐药性分析[J]. *中国当代医药*, 2020, 27(30): 158-161.
- [18] 吴银花. 解脲支原体和人型支原体检测结果及药敏分析[J/CD]. *临床检验杂志(电子版)*, 2020, 9(1): 18-19.

(收稿日期: 2021-02-20 修回日期: 2021-05-12)

(上接第 2790 页)

- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[EB/OL]. (2020-03-04)[2021-02-16]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [3] 鲁彦, 居军, 李德红. 核酸和血清学指标结合, 多类型标本联检, 提高新型冠状病毒检出率[J]. *检验医学与临床*, 2020, 17(9): 1161-1163.
- [4] TORKE N, BORAL L, NGUYEN T. Process improvement and operational efficiency through test result autoverification[J]. *Clin Chem*, 2005, 51(12): 2406-2408.
- [5] WU J, PAN M, OUYANG H, et al. Establishing and evaluating autoverification rules with intelligent guidelines for arterial blood gas analysis in a clinical laboratory[J]. *SLAS Technol*, 2018, 23(6): 631-640.
- [6] 陶然, 李博, 倪路广, 等. 医学检验所自动预警程序的建立和运营[J]. *临床检验杂志*, 2017, 35(6): 423-426.

- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Autoverification of clinical laboratory test results, approved guideline, AUTO10-A[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2006.
- [8] 朱晶, 王蓓丽, 郭玮, 等. 临床生化检验报告自动审核系统的规范化建立和优化[J]. *临床检验杂志*, 2018, 36(9): 704-707.
- [9] 朱晶, 潘柏申. 临床检验结果自动审核应用进展[J]. *临床检验杂志*, 2018, 36(12): 886-890.
- [10] ZHAO J J, YUAN Q, WANG H Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019 [J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(16): 2027-2034.
- [11] 唐鹏, 赵自武, 刘颖娟, 等. 化学发光和胶体金法检测新型冠状病毒特异性抗体比较及其临床意义[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2020, 41(4): 517-520.

(收稿日期: 2021-03-26 修回日期: 2021-04-22)