

· 论 著 ·

濮阳市不孕患者支原体感染情况及耐药性分析

董 娜,胡黎明

(濮阳市中医院检验科,河南濮阳 457000)

摘要:目的 了解濮阳市不孕患者支原体感染及耐药现状,指导临床合理用药。**方法** 对濮阳市 500 例育龄期女性的阴道分泌物标本进行支原体培养,支原体检测阳性患者分为生育组和不孕组,用液体培养法加固体培养法分离鉴定出解脲脲原体(Uu)和人型支原体(Mh),并测试支原体对 12 种药物的敏感性。**结果** 对 500 例育龄期女性阴道分泌物标本进行支原体培养,阳性为 220 例,总阳性率为 44.0%。220 例阳性患者中,生育组患者(支原体阳性)60 例,占阳性总数的 27.3%,不孕组(支原体阳性)160 例,占总阳性例数的 72.7%,不孕组与生育组构成比比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。不孕组与生育组的 Uu 感染率分别为 71.6%、76.2%,Mh 阳性率为 11.6%、11.2%;Uu 与 Mh 合并感染率分别为 16.6%、12.5%。生育组与不孕组对壮观霉素、强力霉素、美满霉素敏感性较好,敏感率分别为 91.8%、92.1%、88.3%;90.9%、90.9%、87.3%。**结论** 不孕患者中 Uu 感染率较高,且对喹诺酮类和大环内酯类抗菌药物耐药率较高。

关键词:支原体; 药敏实验; 耐药性; 不孕**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2017.15.010**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2017)15-2043-03

Analysis on the infection status and drug resistant rate of mycoplasma in infertility patients in Puyang city

DONG Na, HU Liming

(Department of Clinical Laboratory, the Traditional Chinese Medical Hospital of Puyang, Puyang, Henan 457000, China)

Abstract: Objective To observe the infection status and drug resistant rate of mycoplasma in infertility patients in Puyang city and to guide using drug rationally. **Methods** A total of 500 women in reproductive period in Puyang city were recruited in this study, collected their vaginal discharge specimen, then cultured and detected ureaplasma urealyticum(Uu) and mycoplasma hominis(Mh) by liquid culture method and solid culture method. The women with positive results were divided as the pregnancy group and infertility group. The sensitivity rate of mycoplasma to 12 kinds of antibiotic were tested. **Results** The positive rate of mycoplasma in all the 500 women was 44.0%(220/500), the constituent ratio of pregnancy group(60 cases) was 27.3%, and the constituent ratio of infertility group (160 cases) was 72.7%. The difference was statistically significant between infertility group and pregnancy group($P < 0.05$). The Uu infection rates in pregnancy group and infertility group were 71.6% and 76.2% respectively, and the Mh infection rates were 11.6%, 11.2% respectively. The rates of infecting Uu and Mh at the same time were 16.6% and 12.5%. The mycoplasma in and infertility group the pregnancy group were sensitive to spectinomycin, doxycycline and capminocim, which were 91.8%, 92.1%, 88.3%; 90.9%, 90.9%, 87.3%. **Conclusion** The infection rate of Uu is higher than Mh in patients with infertility, which is resistant to quinolone classes and large ring lactone class antibiotic.

Key words:mycoplasma; antibiotic susceptibility test; drug resistant; infertility

支原体主要存在于人类泌尿生殖道及生殖腺中,是引起泌尿生殖道炎症(NGU)及不孕不育的主要病原菌。由于近年来抗菌药物的不合理运用,导致支原体耐药率逐年升高,当机体感染支原体时做药敏实验就显得尤为重要。本研究对河南省濮阳市 2012 年 6 月至 2014 年 3 月不孕患者支原体感染情况和耐药性进行了探讨,以指导临床合理用药,避免耐药株的出现及传播,提高生殖水平。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 6 月至 2014 年 3 月濮阳市中医院妇产科就诊的 500 例育龄期女性,临床症状主要包括外阴瘙痒,阴道分泌物增多,白带异味,下腹疼痛,伴有排尿不净。500 例患者均取阴道分泌物进行支原体培养并分组,阴性对照组 280 例,检测支原体结果均为阴性,年龄 19~40 岁,平均(30.4±5.0)岁;生育组为有生育史者 60 例,因妇科疾病就诊,且支原体检测结果均为阳性,年龄 20~40 岁,平均(30.7±3.8)岁;不孕

组为 2012 年 6 月至 2014 年 3 月因不孕来院就诊的育龄期女性 160 例,且支原体检测结果均为阳性,年龄 21~38 岁,平均(30.6±4.1)岁。

1.2 检测方法 常规方法采集女性阴道分泌物标本。(1)液体培养法采用珠海银科医学工程有限公司生产的支原体鉴定药敏试剂盒(培养法)分离和鉴定解脲脲原体(Uu)、人型支原体(Mh),并做 12 种抗菌药物的药敏实验。试剂盒由液体培养基和药敏测试板组成。培养基中含有蛋白胨、酵母提取物、血清、生长因子等营养物质,并加有尿素,精氨酸被分解生成的碱性物质引起 pH 值上升,培养基由黄色变成红色为阳性。培养基内有抑菌剂,可抑制泌尿生殖道中细菌和真菌的生长。测试板的各孔分别用于质控对照,Uu 和 Mh 的鉴定,计数和药敏实验。(2)固体培养基由河北微拉生物科技有限公司提供。接种方法:将取材的拭子在固体选择培养基表面涂抹接种,放入 CO₂ 生长片后培养,用 Olympus B41 显微镜观察结果。质控

菌株 Uu ATCC27813 和 Mh ATCC15488 由郑州安图绿科生物工程有限公司提供。

1.3 培养结果判断

1.3.1 鉴定计数 24 h 观察并记录 Uu 培养结果, 48 h 观察并记录 Mh 培养结果。当 A1 孔(对照孔)不变色,B1 孔变红色为支原体生长; A2 和 B2 都不变色时, 为 Uu 或 Mh < 10^4 CFU/mL; A2 孔变红色为 Uu 阳性, 且大于 10^4 CFU/mL; B2 孔变红色为 Mh 阳性。A2 孔和 B2 孔同时变红色为 Uu+Mh 混合感染。液体培养基判断标准: 培养 48 h, 液体培养基由黄色变成红色, 且清亮为阳性, 提示有支原体生长, 凡大于或等于 10^4 CFU/mL 鉴定孔试剂变色为支原体阳性的初筛对象, ≤ 10^4 CFU/mL 为携带者或无致病意义。

1.3.2 复检规则 对存在跳孔现象的标本进行复检, 剔除不确定的标本。对于液体培养法和固体培养基结果不符合标本, 以固体培养基结果为准。固体培养基阳性判断标准: 培养 48 h, 用显微镜在低倍镜下观察支原体的菌落生长情况, 以看到固体培养基上生长的支原体菌落为阳性确诊标准。一般情况下, Uu 菌落较小, 圆形棕褐色; Mh 菌落较大, 无色, 呈有宽大透明的周边带环绕的油煎蛋样。

1.3.3 药敏实验 (1) 空白阴性对照。取出 Uu 及 Mh 培养基、试验板, 使其在接触标本前接近室温; 打开瓶盖, 揭开胶塞, 用无菌吸嘴吸取 100 μ L 培养液加入 A1 空白对照孔。(2) 接种标本。将标本棉签伸入混合液小瓶, 靠近液面上方的瓶壁挤压棉签, 使标本渗入, 丢弃棉签; 加样至药敏测定板 100 μ L。标本加入后, 充分摇匀使之混合。或吸取 30~50 μ L 含菌培养液加入其余微孔中。(3) 矿物油封盖。所有微孔滴加 1~2 滴试剂盒所附的无菌矿物油(注意: 一定要使矿物油覆盖液面, 否则结果不准确)。(4) 培养。将试验板加盖后置培养箱中, 35~37 °C 培养 24~48 h, 观察结果。药敏结果解释: A 行为低浓度, B 行为高浓度, 上下孔对应为一种药物。药敏判断原则: 抗菌药物低浓度, 高浓度均不变色为敏感; 高浓度不变色、低浓度孔变色为中介; 高浓度和低浓度孔均变色为耐药。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 统计软件进行数据处理及统计学分析, 计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 培养结果 500 例育龄期女性进行支原体培养结果呈阳性 220 例, 总阳性率为 44.0%。220 例阳性结果中, 生育组 60 例, 占阳性患者的 27.3%(60/220), 不孕组 160 例, 占 72.7%(160/220), 不孕组与生育组所占构成比比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 并且以 Uu 感染为主。生育组与不孕组 Uu、Mh 感染情况为: Uu 感染率分别为 71.6%(43/60)、76.2%(122/160); Mh 阳性率分别为 11.6%(7/60)、11.2%(18/160); Uu 与 Mh 合并感染阳性率分别为 16.6%(10/60)、12.5%(20/160)。

2.2 药敏实验结果 220 例支原体感染患者中, 对壮观霉素、强力霉素、美满霉素敏感性较好, 敏感率及耐药见表 1。

2.3 耐药情况分析 160 例不孕患者支原体对环丙沙星耐药率为 62.5%, 其次对左氧氟沙星耐药率为 57.5%, 氧氟沙星 46.2%, 对罗红霉素、阿奇霉素的耐药率分别为 46.2% 和 43.7%。其中 Mh 单独感染对环丙沙星、左氧氟沙星、罗红霉素、阿奇霉素的耐药率高于 Uu 单独感染。见表 2。

表 1 2 组支原体对抗菌药物敏感率分析[n(%)]

抗菌药物	生育组(n=60)		不孕组(n=160)	
	敏感	耐药	敏感	耐药
强力霉素	55(92.1)	3(5.0)	145(90.9)	10(6.2)
美满霉素	52(88.3)	3(5.0)	139(87.3)	12(7.5)
环丙沙星	17(29.0)	39(65.0)	41(25.7)	100(62.5)
氧氟沙星	30(50.2)	24(40.0)	77(48.5)	74(46.2)
司帕沙星	42(70.3)	15(25.0)	111(69.7)	49(30.6)
左氧氟沙星	25(42.6)	30(50.0)	63(39.4)	92(57.5)
罗红霉素	28(47.6)	29(48.3)	72(45.4)	74(46.2)
阿奇霉素	29(48.3)	24(40.0)	72(45.4)	70(43.7)
克拉霉素	47(79.1)	10(16.6)	123(77.2)	31(19.3)
螺旋霉素	19(32.1)	38(63.3)	48(30.3)	101(63.1)
交沙霉素	36(60.9)	20(33.3)	99(62.1)	50(31.2)
壮观霉素	55(91.8)	2(3.3)	145(90.9)	8(5.0)

表 2 160 例不孕患者支原体耐药情况[n(%)]

药物种类	Uu (n=122)	Mh (n=18)	Uu+Mh (n=20)	总数 (n=160)
强力霉素	8(6.5)	1(5.0)	1(5.5)	10(6.2)
美满霉素	10(8.1)	1(5.0)	1(5.5)	12(7.5)
环丙沙星	76(62.3)	13(65.0)	11(61.1)	100(62.5)
氧氟沙星	56(45.9)	9(45.0)	7(38.9)	74(46.2)
司帕沙星	37(30.3)	6(30.0)	5(27.8)	49(30.6)
左氧氟沙星	70(57.3)	12(60.0)	10(55.6)	92(57.5)
罗红霉素	56(45.9)	10(55.6)	8(44.4)	74(46.2)
阿奇霉素	53(43.4)	10(55.6)	7(35.0)	70(43.7)
克拉霉素	24(19.6)	4(20.0)	3(16.7)	31(19.3)
螺旋霉素	77(63.1)	13(72.2)	11(61.1)	101(63.1)
交沙霉素	38(31.1)	7(35.0)	5(27.8)	50(31.2)
壮观霉素	6(4.9)	1(5.0)	1(5.5)	8(5.0)

3 讨 论

支原体大小介于细菌和病毒之间, 是细胞外生存的最小微生物, 是一类缺乏细胞壁的原核细胞型微生物。支原体种类繁多, 分布广泛, 可造成人、动物、植物及昆虫等感染, 给人类健康带来不利影响^[1]。已发现的支原体属内有 122 个种和 4 个亚种, 与人类感染有关的有 5 种, 即肺炎支原体、Uu、Mh、生殖支原体等。健康人可以携带或隐性感染 Uu 无症状而不发病; 在免疫力低下时可能发病, 经药物治疗症状缓解而停药, 但如果未彻底治疗, 就可能导致支原体反复发作, 然而对于 Mh 阳性者, 无论是大于或等于 10^4 CFU/mL 还是小于 10^4 CFU/mL, 均应进行临床治疗^[2]。因此临床检测支原体过程中, 除定性试验外, 还要做定量试验, 对于支原体阳性但是小于 10^4 CFU/mL 而无症状者, 应暂不用药, 密切观察, 以免滥用抗菌药物造成耐药菌株或菌群失调。当固体培养支原体阳性, 且大于或等于 10^4 CFU/mL 者必须积极进行临床治疗, 而对于 Mh 阳性者, 无论是大于或等于 10^4 CFU/mL 还是小于 10^4 CFU/mL, 均应进行临床治疗。支原体检测的方法有培养法、抗原检测法、血清学试验和分子生物学方法等, 目前我国临幊上主要

采用液体培养法,由于其他分解尿素或精氨酸的微生物的干扰,本法存在较高的假阳性和一定的假阴性^[3]。有文献报道液体培养法与固体培养法在检测女性支原体阳性方面存在明显差异^[4],本研究采用了固体培养法为确认实验,可以观察到支原体的特有形态,弥补了上述假阳性和假阴性的缺点。

为了解本地区 Uu 和 Mh 感染及药物敏感情况,及时指导临床合理用药,本研究对本市 500 例育龄期女性进行支原体培养,220 例阳性患者的标本做药敏实验,总阳性率为 44.0%,其中 220 例培养阳性中,生育组支原体阳性患者占 27.3%(60/220),不孕组支原体阳性患者占 72.7%(160/220),不孕组与生育组阳性构成比比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),并且感染以 Uu 感染为主。其中 Uu 单独感染阳性率最高,其次为 Uu 与 Mh 混合感染,Mh 单独感染最低,这与国内报道一致^[5]。在生育组与不孕组中,Uu 阳性率分别为 71.6%(43/60)、76.2%(122/160),Mh 阳性率为 11.6%(7/60)、11.2%(18/160);Uu 与 Mh 混合感染阳性率分别为 16.6%(10/60)、12.5%(20/160)。从上述数据分析,Uu 和 Mh 是引起不孕的主要病原菌之一,可引起输卵管炎而造成输卵管堵塞,使精子活动受阻及影响早期胚胎发育而导致不孕症^[6]。在 220 例支原体感染患者中,生育组与不孕组对壮观霉素、强力霉素、美满霉素敏感性较好,敏感率分别为 91.8%、92.1%、88.3%,90.9%、90.9%、87.3%,与国内报道一致^[7]。160 例不孕患者中支原体对环丙沙星耐药率为 62.5%,其次为左氧氟沙星耐药率 57.5%,氧氟沙星 46.2%,罗红霉素与阿奇霉素耐药率分别为 46.2% 和 43.7%。其中 Mh 对环丙沙星、左氧氟沙星、罗红霉素和阿奇霉素的耐药率高于 Uu。各地区 Uu 和 Mh 合并感染的药敏结果差异较大,但混合感染在临床并不少见,因此有一定临床参考价值。以上提示混合感染的耐药率比单独感染耐药率高,且差异较明显,这是由于 Mh 的结构特殊,有多种耐药基因,尤其对十四、十五环大环内酯类抗菌药物天然耐药。相关研究报道,gyrA 基因突变可引起 Mh 对喹诺酮类药物交叉耐药,多种耐药机制共同发挥作用,使 Mh 的耐药较严重^[8]。有流行病学调查显示,支原体对各种药物的敏感率在不同地区存在明显差异,主要与地区的临床医生用药习惯及耐药菌株的出现有关^[9]。因此,调查分析本市不孕患者支原体感染及耐药情况意义重大。

液体试剂盒可以快速地判断支原体单纯感染或混合感染的药敏实验结果,且操作简便,但在检测耐药性时也有一定不足,一是目前各试剂厂家大多参考梅里埃公司的标准,质量参差不齐,而且只能定性检测,美国临床和实验室标准化协会(CLSI)在 2012 年底确立了支原体药敏实验判断标准,所推荐的抗菌药物种类非常有限^[10];二是对 Mh 与 Uu 混合感染,液体试剂盒不能提供每种支原体的药敏情况。因此对支原体的科学的研究,考虑到 Uu 与 Mh 耐药谱的不同,应分别对其检测,并用稀释法准确定量检测药敏实验结果,更好地为临床提供依

据^[11-12]。

本研究结果提示,本市不孕患者在排除其他原因后,支原体感染引起的不孕应选择敏感性高的壮观霉素、美满霉素、强力霉素作为治疗药物。而喹诺酮类和大环内酯类药物的耐药性都较高,分析原因可能是这两类抗菌药物的不合理使用情况严重,在使用过程中常存在用药剂量不足及疗程不够等问题,以致低浓度药物长期与患者体内的支原体接触,使其耐药性升高,产生耐药株并传播,给临床治疗带来困难。因此,为避免盲目使用抗菌药物,减轻患者经济负担,在临床治疗时应对患者及时进行健康教育,规范、合理用药,预防支原体耐药株的传播与流行,以提高本地区优生水平。

参考文献

- [1] 陈东科,孙长贵. 实用临床微生物学检验与图谱[M]. 北京:人民卫生出版社,2011.
- [2] 常改凤,马智超,陈灿峰,等. 泌尿生殖道支原体计数及其临床意义[J]. 实用预防医学,2002,9(6):590.
- [3] 赵旺盛,柏兵. 浅谈国内支原体培养和鉴定中存在的问题[J]. 临床检验杂志,2004,22(5):321-322.
- [4] 周运恒,马红霞,曹广亚,等. 两种培养方法检测 Uu 及其菌落形态的比较研究[J]. 检验医学,2013,28(5):362-365.
- [5] 张旭晶. 泌尿生殖道支原体属的检测及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(14):3075-3076.
- [6] 陈红,吴明. 沙眼衣原体和 Uu 感染的女性生殖道炎症临床分析[J]. 中国微生态学杂志,2003,15(3):169-170.
- [7] 张鞠玲,曲芬,崔恩博,等. 泌尿生殖道支原体检测及药敏结果分析[J]. 解放军医学杂志,2006,31(1):7-8.
- [8] 孟冬娅,王璐,马均,等. 人型支原体对喹诺酮类药物耐药机制的初步研究[J]. 中国皮肤性病学杂志,2010,24(11):997-999.
- [9] 朱国兴,陆春,刘毅,等, Uu 基因型之间耐药性差异的初步探讨[J]. 临床皮肤科杂志,2004,33(12):724-726.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S22 Methods for antimicrobial susceptibility testing of human mycoplasmas[S]. Waney, PA, USA: CLSI, 2012.
- [11] 翟文海,蔡三宝,郑文军. 不同 Uu 试剂的药物浓度对药敏结果的影响[J]. 广东医学,2008,29(3):508-510.
- [12] Kechagia N, Berrsimis S, Chatzipanagiotou S. Incidence and antimicrobial susceptibilities of genital mycoplasmas in outpatient women with clinical vaginitis in Athens, Greece[J]. J Antim Chem, 2008, 60(1): 122-125.

(收稿日期:2017-02-03 修回日期:2017-04-03)

(上接第 2042 页)

et al. Transient elastography for the detection of hepatic fibrosis in HIV-monoinfected adults with elevated aminotransferases on antiretroviral therapy[J]. AIDS, 2015, 29(17):2297-2302.

[14] 邢敏,杨自力. 血脂、血糖、肝功能等生化指标联合超声诊断脂肪肝及评估其预后的价值[J]. 肝脏, 2016, 21(4):

327-328.

[15] 旷厉琼,王娜. 中老年非酒精性脂肪肝患者临床特点及其与血脂、血尿酸水平的相关性分析[J]. 疑难病杂志, 2014, 13(10): 1012-1014.

(收稿日期:2017-02-25 修回日期:2017-04-25)