

• 论 著 •

Percoll 分离法联合 MALDI-TOF MS 直接鉴定血培养 专性厌氧菌阳性标本的应用价值*

梁 林¹, 幸 雯², 张 京², 陆必超², 丁秀荣³, 刘志忠^{2△}

1. 首都医科大学康复医学院, 北京 100069; 2. 中国康复研究中心北京博爱医院检验科, 北京 100068; 3. 首都医科大学附属北京佑安医院检验科, 北京 100069

摘 要:目的 评价 Percoll 分离法联合基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)直接鉴定血培养专性厌氧菌阳性标本中的应用价值。方法 收集 2018 年 3 月至 2020 年 9 月血培养中单独厌氧瓶阳性标本, 用 Percoll 分离法和十二烷基硫酸钠(SDS)洗涤法两种方法对标本进行菌体富集和纯化处理, 采用 MALDI-TOF MS 对标本进行直接鉴定, 以转种后菌落鉴定结果为标准, 对两种不同前处理方法的鉴定准确率进行比较。结果 共有 71 份血培养专性厌氧菌阳性标本纳入研究, 采用 Percoll 分离法处理标本, 专性厌氧菌“种”水平鉴定准确率为 84.5%, 其中革兰阴性菌的“种”水平鉴定准确率为 80.0%, 革兰阳性菌的“种”水平鉴定准确率为 87.8%。采用 SDS 洗涤法处理标本, 专性厌氧菌的“种”水平鉴定准确率为 60.6%, 其中革兰阴性菌的“种”水平鉴定准确率为 46.7%, 革兰阳性菌的“种”水平鉴定准确率为 70.7%。与 SDS 洗涤法相比, 采用 Percoll 分离法处理标本明显提高了 MALDI-TOF MS 对革兰阴性菌的鉴定准确率($\chi^2=7.177, P=0.007$)。结论 使用 Percoll 分离法处理血培养专性厌氧菌阳性标本, 用于 MALDI-TOF MS 直接鉴定, 可明显提高专性厌氧菌特别是革兰阴性厌氧菌的鉴定准确率, 且操作简便, 成本低, 适合在临床微生物实验室中应用。

关键词: 十二烷基硫酸钠; 细胞分离液; 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱; 血培养; 厌氧菌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.19.006

中图分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2021)19-2324-05

文献标志码:A

Direct identification of specific anaerobes positive blood culture sample by MALDI-TOF MS combined with Percoll density gradient centrifugation method*

LIANG Lin¹, XING Wen², ZHANG Jing², LU Bichao², DING Xiurong², LIU Zhizhong^{2△}

1. School of Rehabilitation Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Beijing Bo'ai Hospital, China Rehabilitation

Research Center, Beijing 100068, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Beijing

You'an Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100069, China

Abstract: **Objective** To evaluate the application value of Percoll density gradient centrifugation method in the direct identification of specific anaerobes positive blood culture samples by matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). **Methods** Blood culture samples with only anaerobic bottle positive were included in the study from March 2018 to September 2020. Percoll density gradient centrifugation method and sodium dodecyl sulfate (SDS) washing method were used to enrich and purify the anaerobes from positive blood culture respectively, both followed by direct identification by MALDI-TOF MS. According to the standard identification of pure colonies after inoculation, the identification accuracy of the two pretreatment methods were then compared. **Results** A total of 71 blood culture samples with specific anaerobes positive were collected. The identification accuracy rate of Percoll density gradient centrifugation method in identification of anaerobes in species level was 84.5%, with the Gram-negative and Gram-positive bacteria 80.0% and 87.8% respectively. The identification accuracy rate of SDS washing method in identification of anaerobes in species level was 60.6%, with the Gram-negative and Gram-positive bacteria 46.7% and 70.7% respectively. Compared with the SDS washing method, the way of Percoll density gradient centrifuga-

* 基金项目:北京市科技计划项目(Z181100001618015)。

作者简介:梁林,男,主管技师,主要从事血培养快速鉴定的相关研究。△ 通信作者, E-mail: lzzlab@126.com。

本文引用格式:梁林,幸雯,张京,等. Percoll 分离法联合 MALDI-TOF MS 直接鉴定血培养专性厌氧菌阳性标本的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(19): 2324-2328.

tion method to treat the samples significantly improved the identification accuracy of Gram-negative bacteria by MALDI-TOF MS ($\chi^2 = 7.177, P = 0.007$). **Conclusion** Using Percoll density gradient centrifugation method to treat specific anaerobes positive blood culture samples for direct identification by MALDI-TOF MS can significantly improve the identification accuracy of specific anaerobes, especially Gram-negative anaerobic bacteria. It has the advantages of simple operation and low cost. It is suitable for application in clinical microbiology laboratories.

Key words: sodium dodecyl sulfate; cell separation solution; matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry; blood culture; anaerobes

厌氧菌广泛分布于人体皮肤及各种腔道的深部黏膜表面,在机体免疫力受损、深部组织损伤或者需氧菌感染等情况下,会诱发感染。厌氧菌所致的血流感染约占临床血流感染的 1%~17%,并且具有较高的致死率^[1-2]。对厌氧菌及时准确的鉴定对优化抗菌药物治疗、改善患者预后至关重要,但传统的厌氧菌鉴定方法所需时间至少为 48 h,严重阻碍了临床对感染的控制和治疗。基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)是近年发展起来的一种细菌鉴定技术,不仅可对纯培养的菌落进行鉴定,还可对培养呈阳性的血液、尿液等体液标本进行直接鉴定,明显缩短了鉴定时间。但目前,应用 MALDI-TOF MS 对血培养阳性标本进行直接检测的文献主要涉及各种需氧菌、兼性厌氧菌和真菌的检测^[3-6],很少涉及专性厌氧菌的检测^[1-2,7]。本实验室采用细胞分离液(Percoll 液)密度梯度离心的方法(简称 Percoll 分离法)分离、富集专性厌氧菌用于 MALDI-TOF MS 的直接检测,并与十二烷基硫酸钠(SDS)洗涤法进行比较分析,旨在对两种不同前处理方法的鉴定准确率进行比较。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料来源 收集 2018 年 3 月至 2020 年 9 月中国康复研究中心北京博爱医院和首都医科大学附属北京佑安医院血培养单独厌氧瓶阳性的标本。同一患者送检多套标本则只选择最早报阳的厌氧瓶。本研究仅汇总了经鉴定为专性厌氧菌的检测结果。

1.1.2 仪器与试剂 MicroflexTM MALDI-TOF MS 仪和 Biotyper 3.1 鉴定分析软件、基质液、甲酸、96 孔金属靶板均购自德国 Bruker Daltonik 公司;BACTE-CTM FX 血培养仪及配套培养瓶购自美国 BD 公司;0.05% SDS 溶液购自美国 Sigma 公司;Percoll 细胞分离液购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 菌种鉴定 血培养标本培养报阳后立即取出厌氧菌培养瓶,染色镜检,同时进行 MALDI-TOF MS 直接检测和传统的培养鉴定流程。

1.2.2 Percoll 分离法 在王瑞霞等^[8]方法的基础上进行了相应的改进。抽取 3 mL 培养瓶内容物和 3 mL 生理盐水移入 15 mL 离心管混匀,1 000 r/min 离心 10 min,移上清液(含待测菌)至另一离心管内,

5 000 r/min,离心 5 min,弃上清液,加超纯水 0.4 mL,转移到 5 mL 离心管中(事先加入 2 mL Percoll 液,体积比 Percoll : NaCl=3 : 7),5 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液,余下液体转移至 2 mL 平底 EP 管,13 000 r/min 离心 2 min,弃上清液,超纯水重复洗涤 2 次至清亮。

1.2.3 SDS 洗涤法 在 MENGLAN 等^[3]方法的基础上进行了一定的修改。抽取 3 mL 培养瓶内容物和 3 mL 生理盐水移入 15 mL 离心管混匀,1 000 r/min 离心 10 min,移上清液(含待测菌)至另一离心管内,加入 1 mL 0.05% SDS 溶液,颠倒混匀,5 000 r/min,离心 5 min,弃上清液,加超纯水 1.5 mL 混匀后移至 2 mL 平底 EP 管,13 000 r/min 离心 2 min,弃上清液,重复洗涤 2 次,尽量排干多余水分。

1.2.4 直接鉴定 吸取 1 μ L 富集的菌体涂布于 96 孔金属靶板上,室温干燥;加入 70% 甲酸 1 μ L,室温干燥;加基质液 1 μ L 覆盖,室温干燥,将靶板放到 MALDI-TOF MS 质谱仪上,应用 Biotyper 3.1 鉴定分析软件进行鉴定,记录鉴定结果和分值。

1.2.5 传统培养鉴定 将报阳标本转种至血琼脂平板和麦康凯琼脂平板上,厌氧环境,35 $^{\circ}$ C 孵育 24~48 h。获得纯菌落后,用 MALDI-TOF MS 进行鉴定。分值量化判定结果:评分 ≥ 2.0 鉴定到“种”; $1.7 \leq$ 评分 < 2.0 鉴定到“属”;评分 < 1.7 则未鉴定出。

1.3 统计学处理 使用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,计数资料以频数或百分率表示,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 患者一般资料和菌株传统鉴定方法结果 研究期间共有 578 瓶血培养厌氧瓶阳性,经鉴定其中 81 瓶为单一菌种的专性厌氧菌,由于 9 份标本所得纯菌落不能被仪器准确鉴定而被舍弃,最终共有 71 份标本纳入了研究,其中 50 份来自首都医科大学附属北京佑安医院,21 份来自中国康复研究中心北京博爱医院。菌株来源的患者中男 51 例(71.8%),女 20 例(28.2%);年龄 5~82 岁,平均(55.7 $\pm$ 15.3)岁。患者原发病依次为乙型肝炎肝硬化 16 例(22.5%),肝癌 14 例(19.7%),其他系统肿瘤 11 例(15.5%),酒精性肝硬化 6 例(8.5%),丙型肝炎肝硬化 5 例

(7.0%), 肝脓肿 5 例(7.0%), 原发性胆汁性肝硬化 3 例(4.2%), 胰腺炎 2 例(2.8%), 高位截瘫 2 例(2.8%), 产后感染 2 例(2.8%), 其他 5 例(7.0%)。71 株菌株中革兰阴性菌 30 株(42.3%), 包括阴性杆菌 26 株, 阴性球菌 4 株; 革兰阳性菌 41 株(57.7%), 包括阳性杆菌 30 株, 阳性球菌 11 株。

2.2 经 Percoll 分离法和 SDS 洗涤法处理后标本 MALDI-TOF MS 鉴定结果的比较 使用 Percoll 分离法处理标本, “种”水平鉴定准确率为 84.5%, 其中革兰阴性菌的“种”水平鉴定准确率为 80.0%, 革兰阳性菌的“种”水平鉴定准确率为 87.8%。使用 SDS 洗涤法处理标本, “种”水平鉴定准确率为 60.6%, 其中革兰阴性菌的“种”水平鉴定准确率为 46.7%, 革兰阳性菌的“种”水平鉴定准确率为 70.7%。见表 1。

2.3 经 Percoll 分离法和 SDS 洗涤法处理后标本

MALDI-TOF MS 鉴定各类病原菌结果比较 与 SDS 洗涤法相比, 采用 Percoll 分离法处理标本后 MALDI-TOF MS 对革兰阴性杆菌的鉴定准确率明显增加(80.0% *vs.* 46.7%, $\chi^2=7.177, P=0.007$), 特别是脆弱拟杆菌“种”水平鉴定准确率由 45.5% 提高到 100.0%。但两种处理方法对普雷沃菌“属”水平的细菌鉴定准确率均不高。见表 2。

表 1 经 Percoll 分离法和 SDS 洗涤法处理后标本 MALDI-TOF MS 鉴定结果的比较[n(%)]

病原菌种类	n	Percoll 分离法		SDS 洗涤法	
		“种”水平	“属”水平	“种”水平	“属”水平
革兰阴性菌	30	24(80.0)	3(10.0)	14(46.7)	9(30.8)
革兰阳性菌	41	36(87.8)	2(4.9)	29(70.7)	4(9.8)
合计	71	60(84.5)	5(7.0)	43(60.6)	13(18.3)

表 2 经 Percoll 分离法和 SDS 洗涤法处理后标本 MALDI-TOF MS 鉴定各类病原菌结果比较[n 或 n(%)]

病原菌名称	n	Percoll 分离法			SDS 洗涤法		
		“种”水平	“属”水平	未鉴定	“种”水平	“属”水平	未鉴定
革兰阴性杆菌	26	20(76.9)	3(11.5)	3(11.5)	12(46.1)	8(30.8)	6(23.1)
脆弱拟杆菌	11	11	—	—	5	3	3
多形拟杆菌	1	1	—	—	—	1	—
卵形拟杆菌	1	1	—	—	—	1	—
普通拟杆菌	1	1	—	—	1	—	—
迪氏副拟杆	3	2	1	—	2	1	—
约氏副拟杆菌	2	—	1	1	—	1	1
小克里斯滕森氏菌	1	1	—	—	1	—	—
溃疡梭杆菌	1	1	—	—	1	—	—
坏死梭杆菌	1	1	—	—	1	—	—
颊普雷沃菌	2	—	1	1	—	1	1
中间普雷沃菌	1	1	—	—	1	—	—
变黑普雷沃菌	1	—	—	1	—	—	1
革兰阴性球菌	4	4(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(50.0)	1(25.0)	1(25.0)
非典型韦荣球菌	1	1	—	—	1	—	—
罗格斯韦荣球菌	1	1	—	—	—	1	—
小韦荣球菌	2	2	—	—	1	—	1
革兰阳性杆菌	30	27(90.0)	1(3.3)	2(6.7)	22(73.3)	3(10.0)	5(16.7)
产气荚膜梭菌	5	5	—	—	5	—	—
艰难梭菌	3	3	—	—	3	—	—
痤疮丙酸杆菌	8	8	—	—	6	1	1
颗粒丙酸杆菌	2	2	—	—	2	—	—
迟缓埃格特菌	2	1	—	1	—	—	2
长双歧杆菌	2	2	—	—	—	1	1
短双歧杆菌	1	1	—	—	1	—	—
假小链双歧杆菌	2	1	1	—	1	1	—
裂陌生菌	1	—	—	1	—	—	1

续表 2 经 Percoll 分离法和 SDS 洗涤法处理后标本 MALDI-TOF MS 鉴定各类病原菌结果比较[*n* 或 *n*(%)]

细菌名称	<i>n</i>	Percoll 分离法			SDS 洗涤法		
		“种”水平	“属”水平	未鉴定	“种”水平	“属”水平	未鉴定
共生梭菌	1	1	—	—	1	—	—
多枝梭菌	1	1	—	—	1	—	—
哈氏梭菌	1	1	—	—	1	—	—
盖亨氏菌	1	1	—	—	1	—	—
革兰阳性球菌	11	9(81.8)	1(9.1)	1(9.1)	7(63.6)	1(9.1)	3(27.3)
大芬戈尔德菌	3	3	—	—	3	—	—
微小微单胞菌	3	3	—	—	2	—	1
解糖葡萄球菌	3	3	—	—	2	—	1
第八厌氧球菌	2	—	1	1	—	1	1

注：—表示无数据。

3 讨 论

专性厌氧菌对培养及鉴定条件的要求十分苛刻^[9]。传统的生化鉴定技术因受多种因素的影响在厌氧菌的鉴定中鉴定率较低,鉴定周期较长,不能满足临床的要求^[10-11]。MALDI-TOF MS 是近年来新兴的微生物鉴定技术,能快速、准确地鉴定多种临床常见的血培养专性厌氧菌。MALDI-TOF MS 用于血培养厌氧菌阳性标本的直接鉴定也有相关文献报道^[1-2,7]。

影响 MALDI-TOF MS 直接鉴定准确率的关键因素是血培养瓶的种类和对菌液的预处理方法。与需氧培养瓶不同,临床常用的厌氧瓶含有溶血素,能充分破坏血细胞,可减少血细胞对直接鉴定的影响。ALMUHAYAWI 等^[2]用去离子水直接洗涤血培养阳性标本用于 MALDI-TOF MS 的厌氧菌鉴定,但由于培养瓶中其他干扰物质的存在,其“属”水平鉴定准确率仅为 76%左右。而采用目前常用于需氧瓶预处理的方法如 Sepsityper 试剂盒、分离胶促凝管、皂素溶解、滤膜吸附和 SDS 洗涤等方法来处理厌氧菌标本其鉴定准确率明显低于需氧菌。JEVERICA 等^[1]采用 Sepsityper 试剂盒直接鉴定厌氧菌,其鉴定准确率仅为 56.3%,采用皂素溶解洗涤法则其鉴定准确率为 84.9%。王军杰等^[12]采用分离胶促凝管法,对厌氧菌的鉴定准确率为 66.7%,明显低于对需氧瓶中细菌的鉴定准确率。国外的研究者更倾向于采用 SDS 洗涤法来处理血培养阳性标本用于 MALDI-TOF MS 的直接鉴定^[13]。SDS 是一种温和去污剂,能够辅助纯化菌体,去除干扰因素,提高直接鉴定细菌的准确率^[13]。有研究发现,采用 SDS 洗涤法处理血培养阳性标本用于鉴定厌氧瓶中细菌,其准确率明显高于分离胶促凝管法^[6,14]。本研究采用 SDS 洗涤法处理的标本用于 MALDI-TOF MS 直接检测,其鉴定准确率仅为 62.5%。而且,在研究过程中笔者发现,尽管使用了较低浓度(0.05%)的 SDS 溶液来处理标本,SDS 仍会

对部分革兰阴性菌的形态产生影响,特别是脆弱拟杆菌在 SDS 的作用下会出现“黏液化”现象,从而聚集成团,严重影响细菌鉴定的准确性。周春妹等^[5]也发现,在使用 SDS 溶液洗涤后革兰阴性菌的鉴定准确率由 92.3%下降至 85.3%。这可能与细菌的细胞壁结构差异有关,与革兰阳性菌相比,革兰阴性菌的细胞壁更薄,并含有较多的脂类和蛋白,可能更容易被 SDS 所破坏。

Percoll 是一种包有乙烯吡咯烷酮的硅胶颗粒,不穿透生物膜,对细胞无毒害作用,常用于实验室中细胞、细菌和病毒的分离^[8,15]。本研究采用 Percoll : NaCl=3 : 7 的比例配制的 Percoll 液来分离、纯化厌氧菌用于 MALDI-TOF MS 的直接鉴定,鉴定准确率为 84.7%,明显高于 SDS 洗涤法,且高于 JEVERICA 等^[1]Sepsityper 试剂盒法结果,但与该研究的皂素溶解洗涤法结果相近。而在本研究脆弱拟杆菌的鉴定中,采用 Percoll 分离法时,其鉴定准确率更是由 SDS 洗涤法的 45.5%提高到 100.0%。但与 SDS 洗涤法相比,Percoll 分离法要增加洗涤过程,相对增加了实验的繁复性,而且在洗涤过程中会造成部分菌体的丢失,使最终获得的菌量少于 SDS 洗涤法。

综上所述,采用 Percoll 分离法联合 MALDI-TOF MS 直接鉴定血培养专性厌氧阳性标本,具有操作简单、结果准确、缩短鉴定结果报告周期等优势,特别是 Percoll 分离法对提高 MALDI-TOF MS 在革兰阴性厌氧菌的鉴定准确率中有较大帮助,值得在临床微生物实验室推广。

参考文献

[1] JEVERICA S,NAGY E,MUELLER-PREMRU M,et al. Sample preparation method influences direct identification of anaerobic bacteria from positive blood culture bottles using MALDI-TOF MS[J]. Anaerobe,2018,54(6):231-235.

[2] ALMUHAYAWI M, ALTUN O, ABDULMAJEED A

D, et al. The performance of the four anaerobic blood culture bottles BacT/ALERT-FN, -FN Plus, BACTEC-Plus and -Lytic in detection of anaerobic bacteria and identification by direct MALDI-TOF MS[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11):e0142398.

[3] MENGLAN Z, QIWEN Y, TIMOTHY K, et al. An improved in-house MALDI-TOF MS protocol for direct cost-effective identification of pathogens from blood cultures[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8(2):1824-1832.

[4] LIN J F, GE M C, LIU T P, et al. A simple method for rapid microbial identification from positive monomicrobial blood culture bottles through matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2018, 51(5):659-665.

[5] 周春妹, 沈佳瑾, 黄声雷, 等. 评估 SDS 在 MALDI-TOF MS 直接鉴定阳性血培养标本中的应用价值[J]. *检验医学*, 2018, 33(3):228-232.

[6] 王岩, 曹敬荣, 常玥, 等. 分离胶法与十二烷基硫酸钠法在血培养阳性瓶基质辅助激光解析电离飞行时间质谱病原菌直接鉴定中的应用[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2018, 12(4):324-329.

[7] SHANNON S, KRONEMANN D, PATEL R, et al. Routine use of MALDI-TOF MS for anaerobic bacterial identification in clinical microbiology[J]. *Anaerobe*, 2018, 54(11):191-196.

[8] 王瑞霞, 李颖, 邵占涛, 等. Percoll 分离法应用于肉制品中沙门菌核酸快速检测[J]. *中国卫生检验杂志*, 2015, 25(8):1178-1180.

[9] NAGY E. How to isolate, identify and determine antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in routine laboratories? [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2018, 24(11):1139-1148.

[10] HSU Y M, BURNHAM C A. MALDI-TOF MS identification of anaerobic bacteria; assessment of pre-analytical variables and specimen preparation techniques[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2014, 79(2):144-148.

[11] YUAN Y, WANG J, ZHANG J, et al. Evaluation of an optimized method to directly identify bacteria from positive blood cultures using MALDI-TOF mass spectrometry[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(4):e23119.

[12] 王军杰, 马冰, 李轶, 等. 质谱技术直接鉴定报阳血培养细菌可行性分析[J]. *检验医学*, 2020, 35(7):716-720.

[13] CARINE M, ARNAUD F, RALITSA A, et al. Rapid species diagnosis for invasive candidiasis using mass spectrometry[J]. *PLoS One*, 2010, 5(1):e8862.

[14] 曹敬荣, 王岩, 陈典典, 等. MALDI-TOF MS 直接鉴定阳性厌氧血培养瓶中细菌的研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(21):2584-2588.

[15] ANGEL A, MARIA Ü B, WOLFGANG L. Variances in cellular sedimentation behavior as an effective enrichment method of hydrocarbon-overproducing *Micrococcus luteus* strains[J]. *Biotechnol Biofuels*, 2018, 11(3):288-294.

(收稿日期:2020-12-22 修回日期:2021-05-10)

(上接第 2323 页)

女性生殖道致病性的研究进展[J]. *新医学*, 2008, 39(2):132-133.

[4] 朱国兴, 陆春. 解脲脲原体分群与分型研究新进展[J]. *国外医学性病学分册*, 2003, 29(1):42-44.

[5] 孔虹燕. 生殖道高危型 HPV 感染状况及与解脲脲原体感染的相关性[J]. *中国妇幼保健*, 2020, 35(20):3786-3788.

[6] 王美藏, 高建宏, 杨雅琴, 等. HPV 感染患者阴道菌群与宫颈局部免疫功能的相关性研究[J]. *河北医科大学学报*, 2018, 39(1):104-107.

[7] ZHENG W, ZHANG W, CUI D. Examination of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in 4082 Chinese patients[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2015, 54(2):99-100.

[8] GLANVILL E, ALLAN R. *Ureaplasma* and lung transplantation; a pinch of prophylaxis may mollify a not-so-cute infection[J]. *Transplantation*, 2021, 105(3):480-481.

[9] ROSITA V, ALESSANDRA P, EMANUELA M, et al. Human papillomaviruses and genital co-infections in gynaecological outpatients[J]. *BMC Infect Dis*, 2009, 9(16):2334-2341.

[10] LUKIC A, CANZIO C, PATELLA A, et al. Determination of cervicovaginal microorganisms in women with abnormal cervical cytology; the role of *Ureaplasma urealyticum*[J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(6):4843-4849.

[11] ANDREW B, ONDERDONK A B, DELANEY M L, et al. The human microbiome during bacterial vaginosis [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2016, 29(2):223-238.

[12] PELTIER M R, BERLIN Y, TEE S C, et al. Does progesterone inhibit bacteria-stimulated interleukin-8 production by lower genital tract epithelial cells[J]. *J Perinat Med*, 2009, 3(7):328-333.

[13] YE H, SONG T, ZENG X, et al. Association between genital mycoplasmas infection and human papillomavirus infection, abnormal cervical cytopathology, and cervical cancer; a systematic review and meta-analysis[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2018, 29(7):1377-1387.

[14] WEI Z, CHEN H, WANG C, et al. Depiction of vaginal microbiota in women with high-risk human papillomavirus infection[J]. *Front Public Health*, 2021, 8(5):872-898.

[15] 汪蕾, 蔡惠, 杨霞, 等. 性传播病原体隐性感染与高危型 HPV 及宫颈病变的相关性[J]. *西安交通大学学报*, 2020, 41(4):577-582.

(收稿日期:2021-01-12 修回日期:2021-07-12)