

· 论 著 ·

新生儿胃液与咽拭子标本 11 种病原体核酸检测结果一致性研究*

李 宁¹, 王晓帅², 谭宝莹², 左雪梅², 刘郴州^{1,2△}

(1. 广东医科大学, 广东 湛江 524000; 2. 江门市中心医院儿科 ICU, 广东 江门 529030)

[摘要] 目的 探讨新生儿胃液与咽拭子标本 11 种病原体核酸检测结果是否一致, 为病原体核酸检测标本的选择提供参考依据。方法 选取 2021 年 2—6 月广东省江门市中心医院儿科重症监护病房收治的可疑感染新生儿 120 例作为研究对象, 分别采集出生后 3 h 内胃液和咽拭子标本, 通过围产期母婴病原体核酸检测悬浮微珠液相芯片完成 11 种病原体[沙眼衣原体、微小脲原体(UP)、大肠埃希菌(EC)、解脲脲原体(UU)、淋球菌、人类疱疹病毒、B 族链球菌、巨细胞病毒、生殖道支原体、肠道病毒、人型支原体(MH)]检测, 比较胃液和咽拭子标本中病原体检出率的差异, 并采用 *Kappa* 检验比较胃液和咽拭子对 11 种病原体检测结果的一致性。结果 120 例新生儿胃液和咽拭子标本病原体核酸检测阳性检出 UP、EC、UU、MH 4 种病原体, 其他 7 种病原体未检出, 胃液标本检出 14 例, 咽拭子标本检出 12 例, 胃液标本 UP、EC、UU、MH 检出率与咽拭子比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), *Kappa* 检验显示一致性良好($Kappa = 0.848, 0.483, 1.000, 1.000, P < 0.05$), 且胃液和咽拭子标本检测总体结果具有较高一致性($Kappa = 0.673, P < 0.001$)。结论 新生儿胃液与咽拭子标本 11 种病原体核酸检测结果基本一致。

[关键词] 新生儿; 胃液; 咽拭子; 病原; 核酸检测

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2023.02.007

中图法分类号: R722.13; R446.5

文章编号: 1009-5519(2023)02-0216-04

文献标识码: A

Consistency analysis of nucleic acid detection results of 11 pathogens in gastric juice and throat swab samples of newborns*

LI Ning¹, WANG Xiaoshuai², TAN Baoying², ZUO Xuemei², LIU Chenzhou^{1,2△}

(1. Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524000, China; 2. Department of the Pediatric Intensive Care Unit, Jiangmen Central Hospital, Jiangmen, Guangdong 529030, China)

[Abstract] **Objective** To explore whether the nucleic acid detection results of 11 pathogens in gastric juice and throat swab samples of newborns were consistent, so as to provide reference for the selection of pathogen nucleic acid detection samples. **Methods** A total of 120 newborns with suspected infection admitted to the pediatric intensive care unit of Jiangmen Central Hospital from February to June 2021 were selected as the research objects. Gastric juice and throat swab samples were collected within three hours after birth. Detection of 11 pathogens [chlamydia trachomatis (CT), ureaplasma parvum (UP), escherichia coli (EC), ureaplasma urealyticum (UU), neisseria gonorrhoeae (NG), human herpes virus (HHV), group B streptococcus (GBS), cytomegalovirus (CMV), Mycoplasma genitalium (MG), enterovirus (EnV) and mycoplasma hominis (MH)] was completed by suspension bead liquid-phase chip for perinatal maternal and infant pathogen nucleic acid detection. The difference of pathogen detection rate between gastric juice and throat swab samples was compared, and the consistency of gastric juice and throat swab for the 11 pathogens was compared by *Kappa* test. **Results** The nucleic acid detection of pathogens in the 120 cases of gastric juice and throat swab samples showed that UP, EC, UU and MH were positive, and the other seven pathogens were not detected, including 14 cases of gastric juice samples and 12 cases of throat swab samples. There was no significant difference in the detection rates of UP, EC, UU and MH in the gastric juice and throat swab samples ($P > 0.05$), and the *Kappa* test showed good consistency ($Kappa = 0.848, 0.483, 1.000, 1.000, P < 0.05$). The overall results of

* 基金项目: 广东省江门市科技局医疗卫生领域科技计划项目(2022YL01055)。

作者简介: 李宁(1996—), 硕士研究生在读, 主要从事新生儿方面的研究。△ 通信作者, E-mail: chenzhou748190@163.com。

gastric juice and throat swab samples were highly consistent ($Kappa = 0.673, P < 0.001$). **Conclusion** The results of nucleic acid detection of 11 pathogens in gastric juice and throat swab samples of newborns are basically consistent.

[Key words] Newborn; Gastric juice; Throat swab; Pathogen; Nucleic acid detection

新生儿感染病原体有细菌、真菌、病毒、支原体、衣原体、螺旋体、原虫等^[1]。目前,病原体常规检测方法有病原体分离、核酸检测、抗原检测、血清学抗体检测、培养等,同时进行多个单种病原体常规检测存在价格昂贵、操作烦琐、耗时长且可能存在漏诊等问题。围产期母婴病原体核酸悬浮微珠液相芯片检测技术是将靶序列富集多重聚合酶链反应^[2-3]和 Luminex 液相芯片^[4]技术相结合建立的一种可在单个反应体系中同时检测围产期新生儿感染的 11 种病原体[包括沙眼衣原体(CT)、微小脲原体(UP)、大肠埃希菌(EC)、解脲脲原体(UU)、淋球菌(NG)、人类疱疹病毒(EB)、B 族链球菌(GBS)、巨细胞病毒(CMV)、生殖道支原体(MG)、肠道病毒(EnV)、人型支原体(MH)]的快速分子检测方法,从理论上讲,其可作为可靠、快速、高通量的新生儿感染早期诊断方法,为新生儿感染的早期干预提供了依据。新检测技术的成功推广涉及多个环节^[5],其中检测标本的选择对检测技术的推广应用具有重要意义。刚出生的可疑感染新生儿常规病原体检测可选择胃液标本,围产期母婴病原体核酸悬浮微珠液相芯片检测技术是否可选择更加简单、易行的咽拭子标本替代,2 种标本检测结果是否一致目前尚鲜见文献报道。本研究选取 120 例刚出生可疑感染新生儿作为研究对象,采集出生后 3 h 内胃液和咽拭子标本,通过围产期母婴病原体核酸检测悬浮微珠液相芯片完成 11 种病原体检测,评价检测结果是否一致,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 一般资料 选取 2021 年 2—6 月广东省江门市中心医院儿科重症监护病房收治的可疑感染新生儿 120 例作为研究对象,其中男 61 例,女 59 例;出生胎龄 25~42 周。本研究获广东省江门市中心医院伦理委员会审批。

1.1.2 纳入标准 (1)广东省江门市中心医院儿科重症监护病房住院的可疑感染新生儿;(2)出生 3 h 内;(3)对本研究知情同意并签署同意书。

1.1.3 排除标准 (1)出生后已进行喂养者;(2)出生后已进行洗胃者。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 先采集咽拭子标本,然后采集胃液标本。

1.2.1.1 咽拭子标本采集 无菌操作采集标本。新生儿出生后 3 h 内采集咽拭子标本。将拭子送入新生儿口腔深部、咽喉部,轻柔快速擦拭两侧腭弓、咽部,反复擦拭 3 次及以上,将采集好的拭子头垂直插入分子转运介质(MTM)保存液试管中,4℃保存备用。

1.2.1.2 胃液标本采集 无菌操作采集标本。新生儿出生后 3 h 内入室后采集胃液标本。患儿取仰卧位,经口缓慢插入胃管经咽部至预期深度,用注射器回抽胃管确认胃管在胃内后留取胃液标本 2 mL 至 MTM 保存液试管中,4℃保存备用。

1.2.2 标本保存及检测 采集胃液及咽拭子标本保存至 MTM 保存液中。MTM 保存液主要组成成分为 Hank's 平衡盐、苯酚红、庆大霉素、多黏菌素 B、胍盐、冷冻保护剂等。采集获得标本送广东辉锦创兴生物医学科技有限公司,使用围产期母婴病原体核酸检测悬浮微珠液相芯片试剂检测 11 种病原体。

1.2.3 观察指标 (1)分析胃液和咽拭子标本中 11 种病原体检出率的差异。(2)分析胃液和咽拭子标本中 11 种病原体检测结果的一致性。

1.2.4 结果判读 胃液和咽拭子标本检测结果中有病原体检出为阳性结果,无病原体检出为阴性结果。咽拭子标本检测结果以胃液标本检测结果作为对照,胃液标本结果为阳性,同一新生儿咽拭子标本有病原体检出,且病原体分类与其胃液检出结果一致结果判读为阳性,否则为阴性;胃液标本结果为阴性,同一新生儿咽拭子标本有病原体检出结果判读为阳性,否则为阴性。

1.3 统计学处理 应用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析,计数资料以率或构成比表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。采用 $Kappa$ 检验比较胃液和咽拭子标本 11 种病原体核酸检测结果的一致性。 $Kappa$ 值评价标准^[6-7]: $Kappa < 0.20$ 一致性极低,0.20~<0.40 一致性一般,0.40~<0.60 中度一致性,0.60~<0.80 较高度一致性, $Kappa \geq 0.80$ 极好一致性,几乎完全一致。

2 结果

2.1 检测结果 120 例新生儿中胃液标本病原体阳性 14 例(11.67%),其中 UP 8 例,EC 4 例,UU 1 例,MH 1 例;咽拭子标本病原体阳性 12 例(10.00%),其中 UP 6 例,EC 4 例,UU 1 例,MH 1 例;胃液和咽拭子标本病原体阳性一致 10 例,其中 UP 6 例,EC 2

例, UU 1 例, MH 1 例; 胃液和咽拭子标本均未检出 CT、NG、EB、GBS、CMV、MG 和 EnV。

2.2 胃液和咽拭子标本 UP、EC、UU、MH 检出率比

表 1 胃液和咽拭子标本 UP、EC、UU、MH 检出率比较[n(%), n=120]

标本	UP		EC		UU		MH	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
胃液	8(6.7)	112(93.3)	4(3.3)	116(96.7)	1(0.8)	119(99.2)	1(0.8)	119(99.2)
咽拭子	6(5.0)	114(95.0)	4(3.3)	116(96.7)	1(0.8)	119(99.2)	1(0.8)	119(99.2)
χ^2	0.303		0.000		0.000		0.000	
P	0.582		1.000		1.000		1.000	

2.3 胃液和咽拭子标本阳性检出 UP、EC、UU、MH 一致性 胃液和咽拭子标本 UP、EC、UU、MH 检测一致性良好(Kappa=0.848, 0.483, 1.000, 1.000, P<0.05)。见表 2~5。

表 2 胃液和咽拭子标本阳性检出 UP 一致性(n)

胃液	咽拭子		合计
	阳性	阴性	
阳性	6	0	6
阴性	2	112	114
合计	8	112	120

注: Kappa=0.848, P<0.001。

表 3 胃液和咽拭子标本阳性检出 EC 一致性(n)

胃液	咽拭子		合计
	阳性	阴性	
阳性	2	2	4
阴性	2	114	116
合计	4	116	120

注: Kappa=0.483, P=0.005。

表 4 胃液和咽拭子标本阳性检出 UU 一致性(n)

胃液	咽拭子		合计
	阳性	阴性	
阳性	1	0	1
阴性	0	119	119
合计	1	119	120

注: Kappa=1.000, P=0.008。

表 5 胃液和咽拭子标本阳性检出 MH 一致性(n)

胃液	咽拭子		合计
	阳性	阴性	
阳性	1	0	1
阴性	0	119	119
合计	1	119	120

注: Kappa=1.000, P=0.008。

较 胃液和咽拭子标本 UP、EC、UU、MH 检出率比较, 差异均无统计学意义(P>0.05)。见表 1。

2.4 胃液和咽拭子标本阳性检出 11 种病原体总体一致性 胃液和咽拭子标本检测总体结果具有较高一致性(Kappa=0.673, P<0.001)。见表 6。

表 6 胃液和咽拭子标本阳性检出 11 种病原体总体一致性(n)

胃液	咽拭子		合计
	阳性	阴性	
阳性	7	4	11
阴性	2	107	109
合计	9	111	120

注: Kappa=0.673, P<0.001。

3 讨 论

新生儿机体器官尚未完全发育, 抵抗力较差, 特别是早产儿、极低出生体重儿, 由于自身防御及免疫系统发育不完善, 极易感染各种病原体^[8-9], 部分病原体可引起新生儿急性呼吸窘迫综合征或严重脓毒症而导致死亡, 有些甚至可快速在医院内播散引起严重的医院内感染, 导致灾难性后果^[10-11]。新生儿感染早期快速、准确的筛查诊断对早期干预、改善患儿预后具有重要意义。在新生儿感染中有 11 种较常见病原体(CT、UP、EC、UU、NG、EB、GBS、CMV、MG、EnV、MH)^[12-13], 围产期母婴病原体核酸悬浮微珠液相芯片检测技术即针对此 11 种新生儿感染的常见病原体, 从理论上讲, 能满足高效、快速、高通量的要求, 适合作为新生儿感染的筛查、诊断方法, 而合适的检测标本的选择对其临床推广应用具有重要意义。

对刚出生的可疑感染新生儿常规病原体检查, 如细菌培养、病原体核酸检测均可选择胃液标本, 胃液标本常作为除羊水外的另一种标本用于鉴定产前感染^[14], 但胃液标本的采集过程比咽拭子复杂, 新生儿出生后短时间内完成度较低, 且为侵入性操作, 操作过程易造成患儿消化道损伤。咽拭子标本具有取材方便、无创、简单易操作、出生后产房内即可快速完成标本采集等优点^[15-16]。本研究选取 120 例刚出生的

可疑感染新生儿作为研究对象,采集出生后 3 h 内胃液和咽拭子标本,通过围产期母婴病原体核酸检测悬浮微珠液相芯片完成 11 种病原体检测,结果显示,新生儿胃液和咽拭子标本 11 种病原体核酸检测结果基本一致。

本研究是对可疑感染新生儿的病原体筛查,检测结果阳性率偏低,胃液标本总阳性检出率为 11.67%,咽拭子标本总阳性检出率为 10.00%,11 种病原体中仅有 UP、EC、UU、MH 4 种病原体检出阳性,其他 7 种病原体均未检出,但考虑到为配对资料,且样本量大于 100 例,统计学结论具有一定的临床意义,认为新生儿胃液和咽拭子标本 11 种病原体核酸检测结果基本一致,也可通过提高样本量进一步验证结果的代表性。

参考文献

- [1] 王萍,潘翩翩,黄龙光,等. 6 例新生儿埃可病毒 11 型感染的临床特点[J]. 实用医学杂志,2020,36(20):2806-2809.
- [2] CHEN N, YE M, XIAO Y, et al. Development of universal and quadruplex real-time RT-PCR assays for simultaneous detection and differentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses[J]. *Transbound Emerg Dis*, 2019,66(6):2271-2278.
- [3] WANG G, ZHAO G, CHAO X, et al. The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of klebsiella pneumoniae[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020,17(17):6278.
- [4] 牛文惠,李成龙,刘辉,等. 应用液相芯片技术观察脐带间充质干细胞对 T 细胞分泌的改变[J]. 中华肝脏病杂志,2019,27(7):556-558.
- [5] 孔祥沙,杨瑞锋,季颖,等. 一种 HBV DNA 定量检测试剂的准确性分析[J]. 中国现代医学杂志,2018,28(10):51-54.
- [6] KUNDEL H L, POLANSKY M. Measurement

of observer agreement[J]. *Radiology*, 2003,228(2):303-308.

- [7] LANDIS J R, KOCH G G. The measurement of observer agreement for categorical data[J]. *Biometrics*, 1977,33(1):159-174.
- [8] 赵文静,范娟,张先红,等. 新生儿重症监护室医院感染高危因素分析[J]. 中国消毒学杂志,2021,38(11):824-827.
- [9] 周琦. 新生儿重症监护病房感染防治及早期预警的研究与探讨[D]. 上海:复旦大学,2014.
- [10] BELOV Y, MANY A, GIVON I, et al. Maternal presentation and neonatal outcome in peripartum enterovirus infection[J]. *Acta Paediatr*, 2021,110(5):1483-1489.
- [11] 沈晓霞,陈鸣艳,陈军津,等. 新生儿肠道病毒感染的临床特征分析[J]. 中国当代儿科杂志,2020,22(6):638-642.
- [12] 王海娟,石华,周伟,等. 新生儿肺炎常见病原体及临床特征分析[J]. 中国当代儿科杂志,2012,14(12):898-902.
- [13] 朱晓洁,王粉,张君平,等. 新生儿感染性休克的死亡危险因素分析[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(9):2111-2113.
- [14] POGGI C, LUCENTEFORTE E, PETRI D, et al. Presepsin for the diagnosis of neonatal early-onset sepsis: A systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA Pediatr*, 2022,176(8):750-758.
- [15] 李兆娜,王萍,寇晨,等. 677 例新生儿咽拭子细菌培养及病原菌的耐药性分析[J]. 微生物与感染,2017,12(5):294-298.
- [16] 李小琴,苗润燕. 新生儿咽部致病菌携带状况与分娩方式相关性研究[J]. 中国妇幼健康研究,2016,27(3):382-383.

(收稿日期:2022-06-22 修回日期:2022-09-28)

(上接第 215 页)

- [17] SU Y L, WANG X, MANN M, et al. Myeloid cell-targeted miR-146a mimic inhibits NF- κ B-driven inflammation and leukemia progression in vivo[J]. *Blood*, 2020,135(3):167-180.
- [18] TEWARI P, MANDAL P, ROY R, et al. A novel function of TLR4 in mediating the immunomodulatory effect of Benzanthrone, an environ-

mental pollutant[J]. *Toxicol Lett*, 2017, 276: 69-84.

- [19] KIM S J, KIM H M. Dynamic lipopolysaccharide transfer cascade to TLR4/MD2 complex via LBP and CD14[J]. *BMB Rep*, 2017,50(2): 55-57.

(收稿日期:2022-06-19 修回日期:2022-09-26)