

加德纳菌感染流行病学调查及实验室快速检测方法评价

黄伟忠,张莉,张杨,唐景云,张鲍虎

深圳市坪山新区人民医院检验科,广东 深圳518118

摘要:目的 分析加德纳菌感染流行病学特征,评价免疫荧光法、唾液酸酶法的诊断效能。方法 取680例阴道分泌物标本,采用免疫荧光法检测加德纳菌,同时进行唾液酸酶测定,以Amsel法为“金标准”,比较两种方法的诊断结果。结果 680例受检妇女中,检出GV阳性285例,20~30岁年龄组阳性率明显高于31~40、41~50、>50岁年龄组($P<0.05, 0.01$);31~40岁年龄组明显高于>50岁年龄组($P<0.01$);不孕不育、不良怀孕、细菌性阴道病患者阳性检出率分别为16.67%、23.30%、55.87%;免疫荧光法灵敏度、特异度、准确率、阳性预测值、阴性预测值均略高于唾液酸酶法,差异无统计学意义(95.44% vs 89.47%, 91.90% vs 90.63%, 93.38% vs 91.90%, 89.47% vs 87.33%, 96.54% vs 92.27%)($P>0.05$)。结论 细菌性阴道病与加德纳菌感染有明显的年龄相关性,免疫荧光法具有灵敏度高、特异性强的特点。

关键词:阴道加德纳菌;免疫荧光法;唾液酸酶法;诊断效能

中图分类号:R711.3 文献标识码:A 文章编号:1009-9727(2015)10-1198-04 DOI:10.13604/j.cnki.46-1064/r.2015.10.11

Epidemiological investigation of *Gardnerella* and evaluation of rapid laboratory detection methods

HUANG Wei-zhong, ZHANG Li, ZHANG Yang, TANG Jing-yun, ZHANG Bao-hu

Clinical Laboratory of Pingshan New District People's Hospital, Shenzhen 518118, Guangdong, P.R.China

Abstract: Objective To analyze the epidemiological characteristics of *Gardnerella vaginalis* (GV) and to evaluate the diagnosis efficiency of immunofluorescence assay and sialidase method. **Methods** A total of 680 vaginal secretion specimens were collected to detect the *Gardnerella vaginalis* using immunofluorescence assay method and golden standard "Amsel" method and the detection results of the two methods were compared. **Results** Among the 680 detected women, 285 were positive for GV, positive rate in women of 20-30 years old was significantly higher than that in 31-40, 41-50 and over 50 years old ($P<0.05, 0.01$); positive rate in 31-40 year old group were significantly higher than that in over 50 years old group ($P<0.01$); Positive rates in women with infertility, adverse pregnancy, bacterial vaginal disease were 16.67%, 23.30% and 55.87%, respectively; The sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value, negative predictive value of immunofluorescence were slightly higher than those of the sialidase without statistical significance (95.44% vs 89.47%, 91.90% vs 90.63%, 93.38% vs 91.90%, 89.47% vs 87.33%, 96.54% vs 92.27%) ($P>0.05$). **Conclusion** Bacterial vaginosis and GV infection present obvious association with ages, the immunofluorescence assay method is characterized by its high sensitivity and specificity.

Key words: *Gardnerella vaginalis*; Immunofluorescence assay; Sialidase; Diagnostic efficiency

细菌性阴道病(bacterial vaginosis, BV)是妇产科常见疾病之一,女性感染率约为15%~50%,占有所有外阴道感染疾病的30%~50%^[1]。其病原学与发病机制尚不十分清楚,可能与阴道加德纳菌(*Gardnerella vaginalis*, GV)与某些厌氧菌混合感染有关。国外文献资料报道,阴道加德纳菌是引起细菌性阴道病的主要病原体之一^[2]。由于阴道加德纳菌感染的传播与性活动有关,因此也称为第三代性传播性疾病^[3]。免疫荧光法(Immunofluorescence Assay, IFA)是建立在免疫学、生物化学以及荧光显微镜技术基础上的一种免疫检测技术,与1970年以来普遍采用的细菌性阴道病“金标准”Amsel四步法、唾液酸酶检测法相比,具有检测周期短、受外界因素干扰小、特异性强、敏感度高的特点。本文采用随机对照研究的方法,探讨免

疫荧光法在快速检测阴道加德纳菌感染中的应用价值,并进行加德纳菌流行病学分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2014年1月—2014年6月来深圳市坪山新区人民医院妇科门诊就诊的680例患者为研究对象,年龄21~53岁,平均年龄(31.25±4.12)岁,就诊前均无阴道灌洗史与用药史。

1.2 诊断标准 参照叶顺章等《现代性传播疾病试验诊断技术》^[4]拟定:①阴道壁上附有稀薄且均质白色分泌物;②分泌物pH>4.5;③分泌物加100g/L氢氧化钾溶液后释放鱼腥样氨味道;④分泌物湿片镜下可观察到线索细胞。至少符合其中三条,且第4条是必备标准。

1.3 方法

基金项目:深圳市坪山新区医疗卫生科研配套资助项目(No.201325)

作者简介:黄伟忠,男,(1980—),本科,副主任医师,研究方向:临床检验。

1.3.1 仪器与试剂 荧光显微镜购自奥林巴斯仪器有限公司;温浴箱购自江苏新康医疗器械有限公司;干浴器购自金坛市天竞实验仪器厂;阴道加德纳检测试剂盒购自深圳市迈科龙生物技术有限公司;唾液酸酶试剂盒购自美国 Gryphus Diagnostics 公司。

1.3.2 唾液酸酶测定 严格按照操作说明书进行,待反应完成时与标准卡比色,蓝色表示唾液酸酶活性很高,>7判读为试验阳性。

1.3.3 免疫荧光法 将样本均匀涂布于载玻片上,晾干后用无水乙醇固定 10min,自然晾干。吸取 5μL 阴道加德纳菌免疫荧光试剂滴在玻片涂样处,置于 37℃ 温育内 30min。使用蒸馏水多次冲洗玻片,5~10s/次。荧光显微镜下发现≥10个苹果绝色典型细杆状加德纳菌判读为阳性,如果发现完整暗红色复染上皮细胞,且没有发现可定义为阳性典型性染色则判读为阴性。

1.3.4 质量控制 所有操作严格按照说明书进行,整个操作均由经验丰富的检验医师完成,采集阴道分泌物时同时采集 3 份,1 份用于常规检查与 Amsel 标准诊断,1 份用于唾液酸酶测定,1 份用于免疫荧光法测定。操作过程中注意观察玻片冲洗质量,控制温育时间,加强对观察数据的分析,提高对检测质量水平的预判。

1.4 统计分析 采用 SPSS16.0 软件对数据进行统计

分析,所有数据均用频数(n)或率(%)表示,率的比较采用卡方检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 总检出率比较 680 例受检妇女中,免疫荧光法、唾液酸酶法、Amsel 法分别检出 304 例(44.71%)、292 例(42.94%)、285 例(41.91%),差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.2 680 例受检妇女感染或患病状况 以 Amsel 法为“金标准”,唾液酸酶法检出 GV 阳性 292 例,假阳性 37 例;检出 GV 阴性 388 例,假阴性 30 例;免疫荧光法检出 GV 阳性 304 例,假阳性 32 例;阴性 376 例,假阴性 13 例。见表 1。

2.3 免疫荧光法与唾液酸酶法诊断效能比较 以 Amsel 法作为判断的“金标准”,免疫荧光法灵敏度、特异度、准确率、阳性预测值、阴性预测值均略高于唾液酸酶法,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

2.4 GV 检出者年龄构成情况与阳性率比较 680 例受检妇女中,检出 GV 阳性 285 例,21~30 岁年龄组构成比明显高于 31~40、41~50、51~岁年龄组 (P 均 <0.05),31~40 岁年龄组明显高于 41~50、51~岁年龄组 (P 均 <0.05);且 20~30 岁年龄组阳性率明显高于 31~40、41~50、51~岁年龄组 (P 均 <0.05);31~40 岁年龄组明显高于 51~岁年龄组 ($P<0.01$)。见表 3。

2.5 不孕不育者、不良怀孕史者、细菌性阴道病患者

表 1 680 例受检妇女感染或患病状况

Table 1 Infection or disease conditions in the 680 detected women

Amsel 法 Amsel method	唾液酸酶法 Sialic acid enzymatic			免疫荧光 immunofluorescence		
	+	-	合计 Total	+	-	合计 Total
+	255	30	285	272	13	285
-	37	358	395	32	363	395
合计 Total	292	388	680	304	376	680

表 2 免疫荧光法与唾液酸酶法诊断效能比较

Table 2 Diagnosis efficiency of immunofluorescence method compared with saliva acid enzymatic

诊断方法 Diagnostic methods	灵敏度 (%) Sensitivity (%)	特异度 (%) Specificity (%)	准确度 (%) Accuracy (%)	阳性预测值 Positive predictive value (%)	阴性预测值 Negative predictive value (%)
唾液酸酶法 Sialic acid enzymatic	89.47(255/285)	90.63(358/395)	90.15(613/680)	87.33(255/292)	92.27(358/388)
免疫荧光法 immunofluorescence	95.44(272/285)	91.90(363/395)	93.38(635/680)	89.47(272/304)	96.54(363/376)

表 3 GV 检出者年龄构成情况及阳性率比较

Table 3 Age composition and positive rates in women positive for GV

年龄(岁) Age(years)	例数 No.case	阳性数 No.positive	年龄构成比 (%) Age composition ratio (%)	阳性率 (%) Positive rate (%)
21~30	332	174	61.05	52.41
31~40	216	76	26.67	35.19
41~50	110	30	10.53	27.27
51~	22	5	1.75	22.73
合计 Total	680	285	100.00	41.91

加德纳菌检出率 680例患者中,合并不孕不育75例,Amesel法、唾液酸酶法、免疫荧光法检出率分别为26.67%、21.33%、28.00%;合并不良怀孕103例,Ame-sel法、唾液酸酶法、免疫荧光法检出率分别为23.30%、19.42%、21.36%;合并细菌性阴道病247例,Amesel法、唾液酸酶法、免疫荧光法检出率分别为55.87%、53.04%、61.54%。见表4。

表4 不孕不育者、不良怀孕史者、女性细菌性阴道病患者加德纳菌检出率
Table 4 Detection rates of Garderella in women with infertility, adverse pregnant bacterial vaginal disease

疾病 Disease	受检例数 No.detected	Amsel法 Amsel method		唾液酸酶法 Sialic acid enzymatic		免疫荧光 immunofluorescence	
		例数 No.case	检出率(%) Detection rate(%)	例数 No.case	检出率(%) Detection rate(%)	例数 No.case	检出率(%) Detection rate(%)
不孕不育 Infertility	75	20	26.67	16	21.33	21	28.00
不良怀孕 Adverse pregnancy	103	24	23.30	20	19.42	22	21.36
细菌性阴道病 Bacterial vaginosis	247	138	55.87	131	53.04	152	61.54
合计 Total	425	182	42.82	167	39.29	195	45.88

3 讨论

细菌性阴道病是一种具有潜在危险的妇科疾病,以阴道分泌物增多为主要临床症状,加德纳菌是革兰染色阳性或阴性细小杆菌,人工培养时需要新鲜血液才可生长繁殖,也称“阴道嗜血杆菌”,是引起细菌性阴道病的主要病原体^[5]。国外文献报道在细菌性阴道感染患者中,加德纳菌检出率为87.45%,健康女性检出率为26.24%^[6],国内彭代雄^[7]报道3 000例妇女中检出加德纳菌阳性1 380例(46.00%)。本文选择的680例受检妇女中,检出阴道加德纳菌285例(41.92%),略低于上述文献报道,可能与样本对象选择有关。

从年龄上分析,细菌性阴道疾病是生育年龄女性最常见的阴道感染,由于阴道上皮细胞生长受雌激素的刺激,表层细胞富含糖原,且由于精液pH值偏碱性(7.2~7.8),当性交频繁时,有利于阴道加德纳菌的生长,为致病菌提供了较丰富的营养物质^[8]。关于从年龄角度分析的加德纳菌感染流行病学研究文献报道较少。本文研究中,680例受检妇女中,检出GV阳性285例,年龄构成比21~30岁>31~40岁>41~50岁>51~岁,呈现出加德纳菌感染率随年龄递减的趋势。

不孕不育与不良怀孕感染加德纳菌也是一个值得关注的重点。据文献资料统计,不孕不育妇女中加德纳菌感染率约为26%,而原发性不孕患者感染加德纳菌风险指数会增加2.8,继发性不孕妇女感染加德纳菌风险将增加34倍^[9]。不良怀孕史患者感染加德纳菌率约为20%~25%。本文研究中,Amsel法、唾液酸酶法、免疫荧光法检出不孕不育加德纳菌感染率分别为26.67%、21.33%、28.00%,不良怀孕加德纳菌感染率分别为23.30%、19.42%、21.36%。加德纳菌已被证实能产生脯氨酸酶与唾液酸酶,而这二种酶可分解保护性黏液层组成部分,破坏宫颈黏液及其它宿主的

防御功能,造成相关微生物菌群对生殖道的侵犯,诱发子宫内膜炎与输卵管炎,可能阻塞输卵管道而导致不孕^[10]。

Amsel是检验细菌性阴道病的“金标准”,但受制于样本采集、显微镜质量、操作者经验等因素的影响,很难将判断标准化。唾液酸酶法是以检测细菌性阴道病患者阴道分泌物唾液酸酶为基础的诊断方法,与Amsel比较,其灵敏度、特异度、准确度、阳性预测值、阴性预测值分别为89.47%、90.63%、90.15%、87.33%、92.27%。但其它一些厌氧菌也会分泌产生唾液酸酶,因此可能会对结果判读产生影响^[11]。本研究中,唾液酸酶法假阳性37例,假阴性30例。

免疫荧光是将不影响抗原体活性的荧光色素标记于抗体上,通过与抗体结合在荧光显微镜下显示一种特异性荧光反应,从而进行检测。其特点是特异性强、敏感度高、检测周期短,且受外界干扰小^[12]。本研究中,免疫荧光法诊断灵敏度、特异度、准确度、阳性预测值、阴道性预测值分别为95.44%、91.90%、93.38%、89.47%、96.54%,均高于唾液酸酶法,但二者间差异无统计学意义。张贤华等^[13]报道两种检测方法阳性一致性、阴性一致性、总体一致性分别为95.8%、97.2%、96.9%,提示两种检验方法有高度的一致性,更加适合临床检测诊断。

参考文献

[1] 陈万瑛,阿娜尔.买买提吐尔逊,于爱萍,等.BV联合测定法在柯尔克孜族妇女细菌性阴道病诊断中的临床应用[J].中国实验诊断学,2013,17(2):357-358.
[2] Marrs CN, Knobel SM, Zhu WQ, et al. Evidence for Gardnerella vaginalis uptake and internalization by squamous vaginal epithelial cells: implications for the pathogenesis of bacterial vaginosis [J]. Microbes Infect, 2012,14(6):500-508.