

不同方法对细菌性阴道病检出效果的研究

董一红¹, 李伟^{2#}, 杨忱³, 车冬丽¹, 王芳¹, 张曦¹,
王雪¹, 高莹¹, 王迎辰¹, 谭延国^{1△}

(首都医科大学附属复兴医院: 1. 检验科; 2. 妇产科, 北京 100038;

3. 首都医科大学临床检验诊断学系, 北京 100069)

摘要:目的 研究湿片镜检法、干化学酶法、乳胶免疫层析法、核酸杂交法等方法对检测阴道分泌物标本中细菌性阴道病(BV)检出效果。方法 选取妇科门诊有临床症状患者的阴道分泌物分别使用上述方法进行检测,并以革兰染色 Nugent 评分法为金标准,对数据进行汇总统计。结果 湿片镜检法、干化学酶法、乳胶免疫层析法及核酸杂交法的灵敏度分别为 63.89%、66.67%、52.78% 和 80.56%; 特异度分别为 100.00%、100.00%、86.29% 和 95.43%。这 4 种方法与革兰染色 Nugent 评分法相比, Kappa 值(一致性检验)分别为 0.746、0.768、0.363 和 0.752; 相对于革兰染色 Nugent 评分法, 曲线下面积(AUC)分别为 0.819、0.833、0.695 和 0.880, 核酸杂交法 AUC 值最大, 乳胶免疫层析法 AUC 值最小; 诊断符合率分别为 93.83%、94.31%、80.57% 和 92.89%。4 种方法与革兰染色 Nugent 评分法的总符合率为 64.90%。结论 4 种方法中核酸杂交法对 BV 检出效果最佳, 湿片镜检法和干化学酶法次之, 乳胶免疫层析法效果很不理想; 湿片镜检法与其他 3 种方法分别联合检测, 可提高 BV 的检出率。

关键词: 细菌性阴道病; 湿片镜检法; 干化学酶法; 乳胶免疫层析法; 核酸杂交法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.24.008

中图法分类号: R711.31

文章编号: 1673-4130(2019)24-2974-04

文献标识码: A

Study on the effect of different methods on the detection of bacterial vaginosis

DONG Yihong¹, LI Wei^{2#}, YANG Chen³, CHE Dongli¹, WANG Fang¹, ZHANG Xi¹,
WANG Xue¹, GAO Xuan¹, WANG Yingchen¹, TAN Yanguo^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Obstetrics and Gynecology,
Fuxing Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100038, China; 3. Department of
Clinical Laboratory Diagnosis, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: Objective To explore the performance of different methods including wet-film microscopy, dry chemical enzymatic method, latex immunochromatography, nucleic acid hybridization, for the detection of bacterial vaginosis in vaginal secretions. **Methods** Vaginal secretions from patients with clinical symptoms in gynecological clinics were tested simultaneously for the existence of bacterial vaginosis with the methods mentioned above. Their performance was evaluated by comparing with gram staining Nugent scoring method, which serves as the golden standard. **Results** The sensitivity of the four methods was 63.89%, 66.67%, 52.78% and 80.56%, respectively; Their specificity was 100.00%, 100.00%, 86.29% and 95.43%, respectively. The Kappa values (consistency test) were 0.746, 0.768, 0.363 and 0.752, respectively. The area under the curve (AUC) was 0.819, 0.833, 0.695 and 0.880, respectively; Their diagnostic conformity rate were 93.83%, 94.31%, 80.57% and 92.89%, respectively. In comparison with gram staining Nugent scoring method; The total conformity rate of all of the five methods was 64.90%. **Conclusion** Among the four methods, nucleic acid hybridization was the best method for the detection of BV, followed by wet-film microscopy and dry chemical enzymatic method, while latex immunochromatography was not ideal. The detection rate of BV can be improved by wet-film microscopy combined with other three methods.

Key words: bacterial vaginosis; wet-film microscopy; dry chemical enzymatic method; latex immunochromatography; nucleic acid hybridization

作者简介: 董一红, 女, 主管技师, 主要从事临床检验基础学研究; # 共同第一作者: 李伟, 女, 副主任医师, 主要从事妇科内分泌、妇科炎症的研究。△ 通信作者, E-mail: tanyanguo61@126.com。

本文引用格式: 董一红, 李伟, 杨忱, 等. 不同方法对细菌性阴道病检出效果的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(24): 2974-2977.

阴道炎为妇科高发疾病,具有流行范围广、发病率高、病原菌种类多的特点^[1]。其中细菌性阴道病(BV)是育龄妇女最常见的阴道感染性疾病之一,该病以明显的阴道微生态环境紊乱导致多种致病细菌感染为主要特征,育龄期妇女发病率为 4.96%~36.00%^[2],妇科门诊患者发病率可高达 50.40%^[3]。BV 妇女患盆腔炎、淋病和感染 HIV 的风险明显升高,而且 BV 孕妇易出现反复流产、早产或产后子宫内膜炎等不良妊娠结局^[4-5]。因此,对 BV 及时诊断,有利于早期治疗、提高治疗效果,防止病情进一步恶化。

BV 主要临床表现为阴道分泌物异常并伴有异味,但大多数 BV 患者无临床表现,故 BV 的诊断仅仅依靠患者的临床症状和体征是远远不够的,还要依赖于阴道分泌物的实验室检测。目前阴道分泌物检测方法较多,如湿片镜检法、干化学酶法(唾液酸苷酶法)、乳胶免疫层析法、核酸杂交法、革兰染色 Nugent 评分法, Amsel 法等,每种方法有其各自的优缺点。其中 Nugent 评分法为实验室金标准,但该方法操作相对复杂、时间长,实验室有必要寻找 1 种或几种灵敏度高、特异性强、易于操作的方法。本研究使用湿片镜检法、干化学酶法(唾液酸苷酶法)、乳胶免疫层析法、核酸杂交法及革兰染色 Nugent 评分法 5 种方法同时测定 211 例阴道分泌物标本,以革兰染色 Nugent 评分法为金标准,评估每种方法对 BV 的检出效果。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1—5 月期间于本院妇科门诊就诊的患者中有阴道瘙痒等症状或阴道分泌物有不同程度异常、异味的患者共 211 例,年龄 18~75 岁,平均(37.64±10.74)岁。妊娠期、月经期、阴道近期有用药史及 48 h 内有性生活史的患者被排除本研究外。

1.2 标本采集 妇科医生在无菌的条件下借助窥器,分别使用本实验所用不同商品试剂盒所提供的专用无菌拭子,于患者阴道后穹隆处采集阴道分泌物样本,并将采样拭子分别放到各自的样本采集管中待检测。

1.3 方法

1.3.1 湿片镜检法 将样本加入滴有少量生理盐水的载玻片上,涂抹均匀,制备成湿片,盖上盖玻片,至于显微镜下观察。镜下线索细胞大于上皮细胞的 20%,提示 BV。

1.3.2 乳胶免疫层析法 由北京泰格科信生物科技有限公司提供的阴道炎抗原三联检测试剂盒为基于乳胶免疫层析法的抗原联合检测试剂盒,同时分别测定白色念珠菌、阴道毛滴虫和阴道加德纳菌抗原。实验严格按试剂盒说明书操作。结果判定:阳性为当阴道加德纳孔检测线和质控线同时出现时,表明样本中含

阴道加德纳菌抗原;阴性为仅质控线出现条带,为样本中不含有阴道加德纳菌或含量低于可检测范围。

1.3.3 干化学酶法/唾液酸苷酶法 由郑州安图绿科生物工程有限公司提供的阴道炎干化学五联检测试剂盒是基于干化学酶法的联合检测试剂盒,可同时检测白细胞酯酶、唾液酸苷酶、乙酰氨基葡萄糖苷酶等 6 项指标。实验严格按试剂盒说明书操作。如唾液酸苷酶显红色、紫红色(阳性,第 3 孔),提示为 BV。

1.3.4 核酸杂交法 Affirm VPⅢ 核酸杂交法试剂盒(美国 BD 公司),可同时检测念珠菌、阴道毛滴虫和阴道加德纳菌 3 项指标。实验严格按试剂盒说明书操作。阳性为目标微生物微球显蓝色,表明样本中存在阴道加德纳菌,提示 BV。

1.3.5 革兰染色 Nugent 评分法 实验室具备条件者,可采用 Nugent 评分法诊断 BV,更为客观准确^[6]。标本直接涂片自然晾干,迅速通过火焰 2~3 次固定,常规革兰染色后油镜镜检。评分标准见表 1,正常:0~3 分;BV 中间型:4~6 分;BV:7~10 分。上述所有操作严格按照《全国临床检验操作规程》第 4 版执行^[7]。

表 1 革兰染色 Nugent 评分标准(分)

菌体数(个/HP)	定量	乳杆菌	阴道加德纳/类杆菌	染色不定弯曲小杆菌
>30	4+	0	4	2
6~30	3+	1	3	2
1~5	2+	2	2	1
<1	1+	3	1	1
0	0	4	0	0

注:按每 10 个油镜视野所观察到的每种细菌的平均数量进行计算和分值分配;总分值是 4 种细菌分值的总和

1.3.6 质量控制 干化学酶法、乳胶免疫层析法、核酸杂交法在实验前分别作商品化的质控品,质控通过后,做实验样本。湿片镜检法,革兰染色 Nugent 评分法由有形态学资质、经验丰富的人员评判。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件,4 种方法与金标准的差异性采用配对卡方检验(McNemar 检验)。P<0.05 表示差异有统计学意义。4 种方法与金标准方法的一致性比较采用 kappa 检验,判断标准:Kappa≥0.75 为一致性较好,0.75>Kappa≥0.4 为一致性一般,Kappa<0.4 一致性差。各种方法诊断效能分别使用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)进行评估,曲线下面积(AUC)在 0.90 以上表示诊断价值较高、0.70~0.90 表示诊断价值中等、0.50~0.70 表示诊断价值较低。

2 结果

2.1 BV 流行情况 211 例患者中,如以革兰染色 Nugent 评分法为金标准,则 BV 在妇科门诊患者中的检出率为 17.06%(36/211);如以 5 种方法中任意一

种方法检出 BV 为准, 则 BV 的检出率为 20.30% (43/211), 与文献[2]中报道一致。

2.2 4 种方法的检测效果及检测一致性分析 使用配对卡方检验(McNemar 检验), 湿片镜检法与干化学酶法的 χ^2 值分别为 125.484、131.640, P 值均为 0, 这两种方法检出 BV 的能力与革兰染色 Nugent 评分法比较差异有统计学意义($P < 0.05$); 乳胶免疫层析法、核酸杂交法(BD 探针)的 χ^2 值分别为 28.079、

119.211, P 值分别为 0.349、1.000, 这两种方法检出 BV 的能力与革兰染色 Nugent 评分法比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。经 Kappa 一致性检验发现, 干化学酶法和核酸杂交法与革兰染色 Nugent 评分法具有较高的一致性(Kappa 分别为 0.768、0.752); 湿片镜检法与革兰染色 Nugent 评分法的一致性稍差(Kappa=0.746); 乳胶免疫层析法与革兰染色 Nugent 评分法的一致性最差(Kappa=0.363), 见表 2。

表 2 湿片镜检法、干化学酶法、乳胶免疫层析法、核酸杂交法与 Nugent 评分法检出效果比较(n)

Nugent 评分法	湿片镜检法			干化学酶法			乳胶免疫层析法			核酸杂交法		
	+	-	合计	+	-	合计	+	-	合计	+	-	合计
+	23	13	36	24	12	36	19	17	36	29	7	36
-	0	175	175	0	175	175	24	151	175	8	167	175
合计	23	188	211	24	187	211	43	168	211	37	174	211

2.3 4 种方法诊断 BV 的性能评估 反映各种方法检测 BV 性能的各项参数见表 3。结果显示, 湿片镜检法和干化学酶法具有良好的特异度及阳性预测能力, 假阳性率最低, 并具有较好的诊断符合率; 核酸杂交法的灵敏度最高, 诊断符合率好, 诊断效能最优; 乳胶免疫层析法对于 BV 诊断的效能较低。采用 ROC 曲线评估 4 种检测方法对 BV 的诊断效能。应用 4 种检测方法的灵敏度与特异度做 ROC 曲线, 并计算 AUC, 见图 1。相比较核酸杂交法 AUC 值最大, 湿片镜检法 AUC 值和干化学酶法 AUC 值次之, 乳胶免疫层析法 AUC 值最小。

表 3 4 种方法诊断 BV 的性能结果

项目	湿片镜检法	干化学酶法	乳胶免疫层析法	核酸杂交法
灵敏度(%)	63.89	66.67	52.78	80.56
特异度(%)	100.00	100.00	86.29	95.43
阳性预测值(%)	100.00	100.00	44.19	78.38
阴性预测值(%)	93.09	93.58	89.88	95.98
假阳性率(%)	0.00	0.00	13.71	0.05
假阴性率(%)	0.36	0.33	42.22	19.44
诊断符合率(%)	93.83	94.31	80.57	92.89
AUC	0.819	0.833	0.695	0.880

2.4 5 种方法的总符合率 本研究 211 例入选标本中, 所有检测方法都呈阳性的共 5 例(2.40%), 都呈阴性的共 132 例(62.60%), 总体符合率为 64.90% (137/211)。

2.5 革兰染色 Nugent 评分处于 BV 中间型分析 共有 17 例样本处于革兰染色 Nugent 评分中间型(4~6 分), 进一步分析这 17 例样本其他方法检测结果, 见表 4。由于核酸杂交法与革兰染色 Nugent 评分对于 BV 的检出效果无统计学意义($P = 1.000$)且诊断效能最高(AUC=0.880), 故以核酸杂交法为诊断标准, 其中有 2 例为 BV。

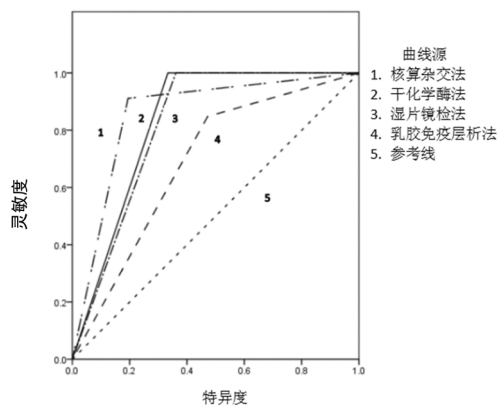


图 1 4 种方法诊断 BV 的 ROC 曲线图

表 4 Nugent 评分中间型样本其他方法检测结果分析(n)

项目	核酸杂交法	乳胶免疫层析法	干化学酶法	湿片镜检法
阳性	2	5	0	0
阴性	15	12	17	17

2.6 联合检测的结果 选取简便易行的湿片镜检法与其他 3 种方法分别联合检测, 湿片镜检+干化学酶法检出 BV 的灵敏度为 75.00%, 特异度为 100.00%; 湿片镜检+乳胶凝集法检出 BV 的灵敏度为 80.56%, 特异度为 86.86%; 湿片镜检+核酸杂交法检出 BV 的灵敏度为 91.70%, 特异度为 94.90%, 结果见表 5。

表 5 湿片镜检法与其他 3 种方法联合检测结果(n)

Nugent 评分法	湿片镜检+干化学酶法			湿片镜检+乳胶凝集法			湿片镜检+核酸杂交法		
	+	-	合计	+	-	合计	+	-	合计
+	27	9	36	29	12	36	33	3	36
-	0	175	175	23	152	175	9	166	175
合计	27	184	211	52	159	211	42	169	211

3 讨 论

BV 是临床表现多为阴道分泌物增多,白带气味异常,外阴有灼热瘙痒感等育龄妇女最常见的阴道感染性疾病,如果不能及时诊断及治疗,可以使病情进一步恶化,严重的可能出现子宫内膜炎、输卵管炎、慢性盆腔炎、宫颈上皮异常增生等疾病,进而对患者生殖系统造成损害,诱发不孕。故灵敏、快速、准确的实验室检测方法,有助于 BV 的及早诊断及合理治疗。目前我国有多种基于不同原理的方法用于对 BV 诊断和鉴别诊断^[8]。其中革兰染色 Nugent 评分法是根据细菌形态进行半定量测定的方法,被视为实验室诊断 BV 的金标准^[9]。该方法是将分泌物涂片进行革兰染色,然后在油镜下选定 4 种优势菌(乳酸杆菌、GV、普雷沃菌、动弯杆菌)形态并用半定量评估法对其进行评分,根据每个视野细菌数量的多少换算成积分(0~10 分),标本总分值是 4 种细菌形态分值之和, BV 的诊断标准为 ≥ 7 分,4~6 分为临界范围,0~3 分为正常^[10]。本研究以革兰染色 Nugent 评分法为金标准,对上述 4 种方法用于检测 BV 的检测性能进行评估。

本院妇科就诊的人群中, BV 的流行率为 17.06%, 这与其他研究报道的较为一致^[2]。这些方法中以湿片镜检法、干化学酶法特异度最高,核酸杂交法灵敏度最好。干化学酶法和核酸杂交法与革兰染色 Nugent 评分法具有较高的一致性(Kappa 值分别为 0.768、0.752);核酸杂交法 AUC 值最大(0.880),对 BV 的诊断效能最好。干化学酶法主要检测的是唾液酸苷酶,它是由阴道加德纳菌及其他厌氧菌产生的一种特异性代谢产物,其活性与致病菌的数量存在线性关系^[11],故通过检测唾液酸酶的活性来诊断 BV 具有较高的特异度和符合性;核酸杂交法使用针对阴道加德纳菌独特基因序列互补的两种核酸单链探针(捕获探针和显色探针),灵敏度高、特异度好,故与革兰染色 Nugent 评分法具有较高的一致性及良好的诊断效能。乳胶免疫层析法的灵敏度、特异度及一致性较差,分析其原因,该方法为针对阴道加德纳菌抗原的双抗体夹心法,可能存在如下原因:(1)试剂单克隆抗体纯度问题;(2)由于感染菌量过大造成前带效应;(3)由其他厌氧菌感染所致的 BV 漏检,从而导致乳胶免疫层析法的灵敏度和特异度较差,对 BV 的诊断效能不理想。

本研究中共有 17 例样本处于革兰染色 Nugent 评分中间型(4~6 分),由于核酸杂交法与革兰染色 Nugent 评分对于 BV 的检出效果比较差异无统计学意义($P=1.000$),故以核酸杂交法为诊断标准,其中有 2 例为 BV,由此可见在实验室诊断选取的“金标准”也可能存在漏检的情况。由于湿片镜检法成本低、易于操作,且具有较好的特异度,适合大多数实验室开展,顾本研究选取该方法与其他 3 种方法分别联

合检测,对 BV 的检出的灵敏度均有提高。其他文献中还运用到了聚合酶链反应(PCR)法,PCR 的检测方法是一种新型检验技术,根据 PCR 的灵敏度和 DNA 杂交的特异度进行检验^[12],本研究受实验室技术条件所限,未将该方法纳入研究范围。

4 结 论

革兰染色 Nugent 评分法虽然准确性高,但操作复杂、周期长,不适于作为常规检测方法;湿片镜检法成本低、易于操作,可作为实验室诊断 BV 的初筛;干化学酶法的特异度较好,操作简单,有条件的实验室可作为参考;乳胶免疫层析法虽然为近年来出现的新方法,但方法学仍不成熟,检测效果亟待提高;核酸杂交法对于 BV 的检出效能最好,但仍存在操作复杂、检测周期长、检测费用高等缺点。湿片镜检法与其他 3 种方法分别联合检测,可提高 BV 的检出率。

参考文献

- [1] 韦敏. 女性阴道分泌物检验结果在诊治阴道疾病中的应用价值分析[J]. 黑龙江医学, 2018, 42(8): 813-816.
- [2] 李素萍, 袁超燕, 陈兰, 武玉莲. 育龄妇女细菌性阴道病的发病情况及高危因素分析[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(3): 406-408.
- [3] 吴国艳. 妇科门诊细菌性阴道病的发病率及相关危险因素[J]. 中国医药指南, 2017, 15(31): 177-178.
- [4] 王婷婷, 马冬艳, 张雪, 等. 妊娠期细菌性阴道病的危险因素及妊娠结局分析[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(20): 4636-4638.
- [5] MATSUI M, TAKAHASHI Y, IWAGAKI S, et al. Preliminary preventive protocol from first trimester of pregnancy to reduce preterm birth rate for dichorionic-diamniotic twins[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2017, 56(1): 23-26.
- [6] 廖秦平. 女性阴道微生态图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 23-24.
- [7] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [8] 蒙建军. 细菌性阴道病实验室检测方法的研究进展[J]. 实用医技杂志, 2014, 21(8): 859-861.
- [9] 陈轶群, 刘锦棠, 王海云. 革兰染色 Nugent 评分法对细菌性阴道病的诊断价值[J]. 中国冶金工业医学杂志, 2015, 32(2): 213-214.
- [10] WAQQAR S, AZIZ S, SHAKEEL R, et al. Redox imbalance correlates with high Nugent score in bacterial vaginosis[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2018, 44(3): 509-517.
- [11] 林月, 吴艳凌, 吕炜. 细菌性阴道病两种实验室诊断方法的比较及结果分析[J]. 实验与检验医学, 2012, 30(4): 387-388.
- [12] 王利军. 聚合酶链反应和细菌培养法在阴道细菌检验中的对比效果[J]. 实用医技杂志, 2018, 25(8): 873-875.