

• 短篇论著 •

一种鉴定阴道加特纳菌的简便方法

周林涛¹, 周小曼², 刘晓云², 刘志勇¹, 黄汉莲¹, 黄宛宜¹

(1. 香港大学深圳医院检验科, 广东深圳 518053; 2. 北京大学深圳医院皮肤科, 广东深圳 518036)

摘要:目的 通过与仪器法相比较, 提供一种简便又经济的鉴定阴道加特纳菌的方法。方法 收集香港大学深圳医院和北京大学深圳医院共 112 份宫颈分泌物标本, 分别用药敏纸片扩散法和仪器法两种方法进行细菌鉴定。结果 用药敏纸片扩散法与仪器法的结果完全一致, 用药敏纸片扩散法和仪器法均做出了相同标本的相同结果, 42 例阴道加特纳菌, 70 例非阴道加特纳菌。结论 药敏纸片扩散法是一种简便又经济的鉴定阴道加特纳菌的方法, 可以用药敏纸片法代替仪器法进行阴道加特纳菌的鉴定。

关键词: 阴道加特纳菌; 药物敏感性; 聚茴香脑磺酸钠; 万古霉素**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.15.033**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2013)15-1988-02

A simple method of identification of *Gardnerella vaginalis*

Zhou Lintao¹, Zhou Xiaoman², Liu Xiaoyun², Liu Zhiyong¹, Huang Hanlian¹, Huang Yuanyi¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Hospital of Hong Kong University, Shenzhen, Guangdong 518053, China;

2. Department of Dermatology, Shenzhen Hospital of Peking University, Shenzhen, Guangdong 518036, China)

Abstract: **Objective** To compare with the instrument method, providing a simple and economic method for the identification of *Gardnerella vaginalis*. **Methods** The Shenzhen Hospital of Hong Kong University and Shenzhen Hospital of Peking University, a total of 112 endocervical canal swab, two methods were used for bacterial identification. **Results** The results of disk diffusion method and instrument method fully consistent results, disk diffusion method and instrument method are made the same results in the same samples, 42 cases of *Gardnerella vaginalis*, 70 cases of non *Gardnerella vaginalis*. **Conclusion** Disk diffusion method is a simple and economic appraisal of *Gardnerella vaginalis*, can identify instrument method of *Gardnerella vaginalis*.

Key words: *Gardnerella vaginalis*; drug susceptibility; Vancomycin

阴道加特纳菌是引起细菌性阴道炎(BV)的病原菌之一。阴道加特纳菌(GV)自 1953 年 Leopld 从男性前列腺炎患者和女性宫颈炎患者中分离出以来, 国内、外报道较多, 日益受到临床重视^[1-2]。阴道加特纳菌因其染色不定, 目前将它归为哪一类细菌有一些争议, 有的把它归为革兰染色阴性菌^[3], 有的把它归为革兰染色阳性菌^[4], 而法国梅里埃公司 VITEK2 Compact 全自动细菌鉴定仪则把阴道加特纳菌的鉴定放在革兰阳性 GP 鉴定板来鉴定。而在临床工作中, 研究者更多的是把它报告为革兰染色可变多形性杆菌。阴道加特纳菌在血琼脂平板上培养 18~24 h, 形成针尖大小、圆形、光滑、半透明、形似露滴状的菌落, 有时有狭窄的 β 溶血环^[5]。一般出现这种形态特征的菌落, 很多自动化的仪器很难鉴定出来, 很多医院就将其视为污染的革兰阳性杆菌。而研究者利用 2 种药敏纸片的特性—聚茴香脑磺酸钠(SPS)和万古霉素(5 μ g), 就将它很容易鉴定出来, 为大家提供了一种简便而又经济的鉴定阴道加特纳菌的方法。

1 资料与方法

1.1 标本来源 112 例宫颈分泌物标本系 2012 年 10 月至 2013 年 4 月香港大学深圳医院和北京大学深圳医院疑为阴道加特纳菌引起的细菌性阴道炎的标本。

1.2 仪器与试剂 VITEK2 Compact 全自动细菌鉴定仪及 GP 鉴定板为法国梅里埃公司产品; 质控菌株购于卫生部临检中心; SPS 药敏纸片和万古霉素药敏纸片(5 μ g, 购于英国 OX-ID 公司); 血平板购于法国梅里埃公司。

1.3 方法 将宫颈分泌物标本接种血平板, 将血平板放于 35 $^{\circ}$ C CO₂ 培养箱 18~24 h, 并将宫颈分泌物标本涂片革兰染色。第 2 天将培养的细菌涂片革兰染色, 上 GP 鉴定板; 配制 0.5 麦氏单位的菌悬液, 均匀涂布一个血平板, 然后再贴上 SPS 药敏纸片和万古霉素药敏纸片(5 μ g), 再将贴药敏纸片的血平板放于 35 $^{\circ}$ C CO₂ 培养箱 18~24 h。若 2 个药敏纸片周围均出现抑菌环, 则鉴定结果就是阴道加特纳菌; 若 2 个纸片中任何一个纸片周围没有抑菌环, 则不是阴道加特纳菌, 同时做好室内质控。

2 结果

共有 112 例细菌用 2 种方法进行鉴定。用纸片扩散法共鉴定出 42 例阴道加特纳菌, 这 42 例阴道加特纳菌, 在 SPS 纸片和万古霉素药敏纸片(5 μ g)周围均有明显抑菌环; 另外 70 例细菌至少有一种纸片没有抑菌环。用纸片法鉴定为阴道加特纳菌的 42 例细菌用仪器法同样鉴定出阴道加特纳菌, 用纸片法鉴定为非阴道加特纳菌的 70 例细菌用仪器法同样鉴定出为非阴道加特纳菌, 两者鉴定结果完全一致。

3 讨论

聚茴香脑磺酸钠(SPS)通常是作为一种抗凝剂, 能抑制特定的细菌, 如厌氧菌和需氧的脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌和阴道加特纳菌^[6-7]。万古霉素主要对革兰阳性菌具有强大的抗菌活性, 而对革兰阴性菌通常是耐药的^[8]。研究者正是利用这 2 个药敏纸片的特性就可将阴道加特纳菌鉴定出来的, 因为厌氧菌在普通的培养中不会生长, 厌氧菌就不用考虑了, SPS 不能

抑制其它细菌,只有脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌和阴道加特纳菌三种菌在 SPS 周围有抑菌环,而脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌对万古霉素耐药,它们在万古霉素周围没有抑菌环,这样在 SPS 和万古霉素 2 个药片周围都有抑菌环的就只有阴道加特纳菌了。这样用 2 个药敏纸片就能将阴道加特纳菌鉴定出来,既简便又经济;而仪器法是利用阴道加特纳菌的生化反应来鉴定的,如果遇到有的细菌的生化反应与阴道加特纳菌的生化反应相似,或阴道加特纳菌的生化反应不明显,就必须补充手工生化反应来鉴别,既繁琐成本又高,故用聚茴香脑磺酸钠 (SPS) 和万古霉素两个药敏纸片的简便方法来鉴定阴道加特纳菌应是一个很好的方法。有很多细菌都是用药敏纸片来鉴定的,如用于肺炎链球菌鉴定用奥普托欣 (Optochin) 纸片,用于化脓性链球菌鉴定用杆菌肽 (Bacitracin) 纸片,用于腐生葡萄球菌鉴定用新生霉素 (Novobiocin) 纸片。

在实际工作中,研究者都会在接种宫颈分泌物后,用宫颈分泌物标本直接涂片革兰染色,这样有一个好处,就是对后面的阴道加特纳菌的鉴定有一个提示作用,因为用标本直接涂片革兰染色,可以发现线索细胞和革兰染色不定的多形性杆菌,可提示可能有阴道加特纳菌的存在;而且在细菌长出后,如果是阴道加特纳菌,它的菌落形态和革兰染色涂片也很有特征,就是针尖大小、圆形、光滑、半透明、形似露滴状的菌落,它和奈瑟菌的形态差别很大,而且涂片革兰染色的镜下形态也完全不同,所以应重视原始标本的涂片,它对研究者的后续鉴定很有帮助。但不是所有的阴道加特纳菌都会发现线索细胞,阴道加特纳菌分 2 个生物型,一个是黏附型,一个是分散型^[9],如果是黏附型,则很容易见到线索细胞;如果是分散型,则见不到线索细胞,但这不影响研究者鉴定,因为还有菌落形态和细菌涂片革兰染色给研究者的提示。

临床采集宫颈分泌物标本时,有可能会碰到阴道壁,这时标本类型已经发生了变化,从“无菌部位”的宫颈分泌物标本 (ECS) 变成了有正常菌群生长的高位阴道拭子 (HVS),阴道加特纳菌有可能就成为一种共生菌,就要分几种情况进行处理:一种情况是从生长情况看,只有少量阴道加特纳菌,不是优势

菌群,则不需要鉴定;另一种情况是从生长情况看,阴道加特纳菌很多,明显是优势菌群,则需要鉴定^[10]。对于生殖道的阴道加特纳菌,是不需要做常规药敏的,如果有需要,灭滴灵是一种可选择的治疗药物^[10]。这就需要微生物检验人员平时多总结经验,努力提高业务水平。总之,希望这种简便又经济的鉴定阴道加特纳菌的方法能给大家带来一些帮助。

参考文献

[1] Van Belkum A, Koeken A, Vandamme P, et al. Development of a species-specific polymerase chain reaction assay for *Gardnerella vaginalis* [J]. *Mol Cell Probes*, 1995, 9(3): 167-174.

[2] Mendoza- Gonzalez A, Sanchez-Vega JT, Sanchez Peon I, et al. Frequency of *Gardnerella vaginalis* vaginosis and its association with other pathogens causing genital infections in the female [J]. *Ginecol Obstet Mex*, 2001, 69(7): 272-276.

[3] 周庭银. 临床微生物诊断与图解 [M]. 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2012, 5-7.

[4] 丛玉隆, 尹一兵, 陈瑜. 检验医学高级教程 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2011, 906-910.

[5] 周庭银. 临床微生物诊断与图解 [M]. 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2012, 289-290.

[6] Murry PR, Barn EJ, Jorgensen JH, et al. *Manual of clinical microbiology* [M]. 10th ed. Washington: ASM Press, 2011.

[7] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 738-739.

[8] 陈建国. 药理学 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2007: 318-319.

[9] Alexander S, Yvonne D, Vera LB, et al. *Gardnerella* biofilm involves females and males and ss transmitted sexually [J]. *Gynecol & Obst invest*, 2010, 70(4): 256-263.

[10] Isenberg HD. *Clinical microbiology procedure handbook* [M]. 7th ed. Washington: ASM Press, 2007, 370-378.

(收稿日期: 2013-03-28)

(上接第 1987 页)

物的研制与应用 [J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(5): 589-590.

[5] 李臣宾, 彭明婷, 苏炳男, 等. 非牛顿流体血液黏度质控物的研制 [J]. *现代检验医学杂志*, 2010, 25(6): 153-155.

[6] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GLO3 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南 [S]. 北京: 中国合格评定国家认可委员会, 2006.

[7] International Organization for Standardization. ISO Guide 35: 2005 certification of reference material-general and statistical principles [S]. Geneva, Switzerland; International Organization for Standardization, 2005.

[8] 刘光华. 尿 NAG、血 SCr 对早期糖尿病肾病的诊断价值 [J]. *中国当代医药*, 2012, 19(15): 79-81.

[9] 王巍巍, 刘艳芳. 尿生化指标检测在肾功能早期改变中的诊断价值 [J]. *实用预防医学*, 2012, 19(4): 601-603.

[10] 陆小梅, 黎四平, 邹建铭. 联合检测尿微量清蛋白、转铁蛋白和 α -微球蛋白在窒息新生儿早期肾损伤的应用价值 [J]. *中国实验诊断学*, 2012, 16(3): 436-438.

[11] 刘敏. 血清清蛋白、尿微量清蛋白在妊娠征患者中表达和临床诊断意义 [J]. *中国实验诊断学*, 2012, 16(1): 93-94.

[12] International Organization for Standardization. ISO 15189: quality management in the medical laboratory [S]. Geneva, Switzerland; International Organization for Standardization, 2003.

(收稿日期: 2013-03-05)