

• 论 著 •

阴道分泌物真菌感染 5 种检测方法比较

姜楠, 刘冰, 何芋荣, 漆谦, 李彦霖
(广东省深圳华侨城医院检验科 518053)

摘要:目的 比较分析用于检出阴道分泌物中真菌的 5 种检测方法, 从中选择出诊断真菌感染性阴道炎的灵敏度、特异度较好, 同时快速、经济、简单的实验方案。方法 选取 2016 年 5—8 月在该院妇科进行阴道分泌物检测的患者共 442 例, 对 442 例标本同时进行真菌培养法、盐水 KOH 悬浮法、革兰染色、瑞氏染色、全自动六联 5 种方法检测, 其中真菌培养法为金标准, 来评价其他 4 种方法的特异度、灵敏度、阴性预测值、阳性预测值、准确性。结果 真菌培养法检测 442 例阴道分泌物标本, 真菌感染的阳性率为 34.8% (154/442)。与真菌培养法比较, 4 种检测方法的特异度、灵敏度、阴性预测值、阳性预测值、准确性分别为盐水 KOH 悬浮法 97.9%、64.9%、83.9%、94.3%、86.4%; 革兰染色 96.5%、83.1%、91.4%、92.7%、91.8%; 全自动六联检测 84.7%、46.8%、74.8%、62.0%、71.5%; 瑞氏染色 96.9%、78.6%、89.4%、93.1%、90.5%。结论 革兰染色灵敏度、特异度、准确度在 4 种检测方法中最高, 是对临床送检阴道分泌物标本进行真菌检测的特异、灵敏、快速、经济、简单的检测方案, 临床工作中如采用其他方法检测阴道分泌物中真菌, 可同时结合革兰染色法以提高其准确度。

关键词: 阴道分泌物; 真菌; 检测; 培养; 革兰染色; 盐水 KOH 悬浮; 瑞氏染色; 全自动六联检测仪

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.12.018

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)12-1634-03

Comparison of five methods for the detection of fungal infections in vaginal secretions

JIANG Nan, LIU Bing, HE Yurong, QI Qian, LI Yanlin

(Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Overseas Chinese Town Hospital, Shenzhen, Guangdong 518053, China)

Abstract: Objective To compare the similarities and differences of the five detection methods used in the detection of fungi in vaginal secretions, and find the most sensitive, the most specific, the fastest, the most cost effective and the simplest method used in the detection of fungi in vaginal secretions. Methods A total of 442 patients were selected from the Department of Gynecology of Shenzhen OCT Hospital from May 2016 to August 2016. The vaginal secretion of 442 specimens was detected by using the methods of fungi culture, saline and KOH suspension method, Gram stain, Wright's stain and Vaginitis Multi Test Kit. In these five methods, Fungi culture were using as gold standard to evaluate the specificity, sensitivity, negative predictive value, positive predictive value and accuracy of the other four methods. Results Using the fungus culture method to detect 442 cases of vaginal secretion, we found the positive rate of mycotic infection was 34.8% (154/442). Compared with the fungi culture method, the Specificity of saline and KOH suspension method was 97.9%, the sensitivity was 64.9%, the negative predictive value was 83.9%, the positive predictive value was 94.3% and the accuracy was 86.4%; the Specificity of Gram stain was 96.5%, the Sensitivity was 83.1%, the negative predictive value was 91.4%, the positive predictive value was 92.7% and the accuracy was 91.8%; the Specificity of Vaginitis Multi Test Kit was 84.7%, the Sensitivity was 46.8%, the negative predictive value was 74.8%, the positive predictive value was 62.0% and the accuracy was 71.5%; the Specificity of Wright's stain was 96.9%, the Sensitivity was 78.6%, the negative predictive value was 89.4%, the positive predictive value was 93.1% and the accuracy was 90.5%. Conclusion Gram stain could be the most sensitive and specific method in the four methods, with highest accuracy, and the the fastest, the most cost effective and the simplest method for the detection of fungi in vaginal secretions. The accuracy of detecting fungi in vaginal secretions could be improved by the combination of Gram stain method in clinical work.

Key words: vaginal discharge; fungi; detection; culture; Gram stain; saline and KOH suspension method; Wright's stain; vaginitis Multi Test Kit

近年来, 由于广谱抗菌药物、化疗药物及免疫抑制剂的广泛使用, 使真菌感染有逐渐增多的趋势, 已经成为阴道感染的第二大病因, 仅次于细菌性阴道炎^[1]。研究报道, 外阴阴道假丝酵母菌病其中 40%~50% 会复发或成为复发性外阴阴道念珠菌病 (RVVC)^[2-5], 40%~50% 以上的阴道炎为混合型感染^[6-8]。由于以上原因的存在, 真菌感染性阴道炎已经被临床医生所重视。阴道分泌物作为诊断真菌感染性阴道炎常规检

测项目, 其检测方法具有多样性, 有传统的盐水 KOH 悬浮法、革兰染色、瑞氏染色、真菌培养等方法及近年来用于临床的全自动六联检测。本文以真菌培养法为金标准, 分析其余 4 种检测方法的特异度、灵敏度、阴性预测值、阳性预测值、准确性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 5—8 月来本院妇科就诊, 怀疑阴道炎的患者 442 例, 年龄 19~63 岁; 主诉以外阴瘙痒、红肿、

分泌物增多为主。另以健康者作为阴性对照,无菌操作取阴道分泌物置无菌试管内送检,排除经期及阴道灌洗和性生活后等不合格标本。

1.2 仪器与试剂 全自动六联检测仪为硕世生物科技有限公司生产,六联试剂为其配套试剂。日本 Olympus 公司光学显微镜。台湾 BASO 公司革兰染液。生理盐水及 10% KOH。广州市迪景微生物科技有限公司沙保罗真菌培养基。

1.3 方法 同一患者无菌取材标本,分别做真菌培养、盐水 KOH 悬浮法、革兰染色、全自动六联、瑞氏染色检测,对 442 份送检合格标本进行编号,记录检测结果。以上均由有经验的两名工作人员共同完成。以金标准真菌培养法培养结果阳性作为最终判定真菌感染性阴道炎的标准。

1.4 统计学处理 采用 Excel2003 软件进行数据处理和统计学分析。以金标准培养法作为参比标准,计算其他方法的特异度、灵敏度、阴性预测值、阳性预测值、准确性^[9]。

2 结 果

2.1 真菌培养检测结果 培养法检测 442 份阴道分泌物标本,154 份标本为真菌培养阳性,阳性率 34.8% (154/442)。

表 1 不同检测方法与金标准培养法检测结果比较 (n)

检测方法	培养法		合计
	阳性	阴性	
盐水 KOH 悬浮			
阳性	100	6	106
阴性	54	282	336
革兰染色			
阳性	128	10	138
阴性	26	278	304
全自动六联			
阳性	72	44	116
阴性	82	244	326
瑞氏染色			
阳性	121	9	130
阴性	33	279	312

表 2 不同检测方法与金标准培养法检测效能的比较 (%)

方法	特异度	灵敏度	阴性预测值	阳性预测值	准确性
盐水 KOH 悬浮	97.9	64.9	83.9	94.3	86.4
革兰染色	96.5	83.1	91.4	92.7	91.8
全自动六联	84.7	46.8	74.8	62.0	71.5
瑞氏染色	96.9	78.6	89.4	93.1	90.5

2.2 检测方法效能评价 以真菌培养法检测结果作为金标准,各检测方法的结果见表 1、2。全自动六联检测灵敏度最低 (46.8%),革兰染色法的灵敏度最高 (83.1%),盐水 KOH 悬浮、革兰染色、瑞氏染色特异度接近,均高于全自动六联检测特异度。全自动六联检测的阳性预测值最低 (62.0%),表明与真菌培养法相比,其假阳性率偏高;其他 3 种方法阳性预测值接近。4 种检测方法中全自动六联阴性预测值最低 (74.8%),表

明与真菌培养法相比其假阴性率偏高。综合各评价指标,4 种检测方法中,以革兰染色法最优。

3 讨 论

阴道分泌物检测是诊断妇科疾病的常规检测项目,特别对于真菌感染性阴道炎患者,具有简便、易行的特点。传统的检测方法,盐水 KOH 悬浮法,因其简便快捷,试剂成本低廉被临床长时间采用。通过表 2 可见,该法灵敏度 (64.9%) 低于染色法,得出此结果源于该检测方法受检测者主观因素影响,容易存在漏检、误检。革兰染色法由于标本经过染色,真菌的菌丝和孢子染成深紫色,与背景细胞颜色形成鲜明对比,相对比盐水 KOH 悬浮法、瑞氏染色法其在显微镜下易观察。通过表 2 可见,其灵敏度、特异度、准确度为 4 种检测方法最高。革兰染色法玻片在固定环节病原体被杀死从而降低了污染率,同时所染色玻片便于复查或人员之间显微镜结果比对。但因其要在湿片的基础上进行固定染色,所以操作相对盐水 KOH 悬浮法要复杂。瑞氏染色法特异度、准确度和革兰染色法无太大差异,与文献报道结果基本一致^[10-14]。因其同样把标本进行染色处理,真菌的菌丝孢子相对盐水 KOH 悬浮法易观察,所以其灵敏度比盐水 KOH 悬浮法高。与革兰染色比较,瑞氏染色真菌染成粉红色,与背景细胞比对不如革兰染色明显。所以在遇到只存在少量真菌孢子的标本时,会有漏检情况发生。全自动六联白带近些年来广泛用于诊断阴道炎感染方面的检测,其原理采用酶法,具有简便快捷的特点,同时可以同时检测需氧菌、厌氧菌、真菌、滴虫、阴道 pH 值等项目,其真菌检测灵敏度 46.8%,准确度 71.5%,检测结果最低。分析原因包括以下两方面:(1)标本原因,在遇到血性标本时其假阳性率会升高,豆渣或胶状标本时假阴性率会升高。存在上述状况因为该检测为仪器自动加样,因标本原因会存在加样量不足或根本加不到样本等情况发生。(2)六联检测板原因,检测板必须从冰箱取出恢复到室温尽快检测,如暴露空气中时间过长也会有假阳性情况发生。所以日常工作中需要结合革兰染色等方法来提高真菌检测的灵敏度和准确度。

真菌作为条件致病菌,正常情况下,约 10.0% 阴道内带有真菌的健康妇女并无临床症状。当某种原因引起阴道局部 pH 值、营养、微生态环境发生改变时,真菌会大量繁殖,导致女性罹患真菌性阴道炎^[15]。这需要临床医生结合患者实际情况进行合理的用药及治疗。

参考文献

[1] 詹燊,汤贝贝,何贵元,等.假丝酵母菌性阴道炎的菌种鉴定及其耐药性分析[J].中华医院感染学杂志,2010,20(22):3621-3622.

[2] 杨淑华,刘颖,张月香.反复发作阴道炎的实验室检测分析[J].国际检验医学杂志,2014,35(8):981-982.

[3] Chooruk A, Utto P, Teanpaisan R, et al. Prevalence of lactobacilli in normal women and women with bacterial vaginosis[J]. J Med Assoc Thai, 2013, 696(5):519-522.

[4] 王恩华,刘朝晖.复发性外阴阴道假丝酵母菌病真菌培养及药敏情况分析[J].中国实用妇科与产科杂志,2012,28(10):773-776.

p16、Rb 基因均直接参与细胞周期^[10-11],在细胞周期 G1/S 期中,Rb 去磷酸化,作用于 EIF、ATF2 等转录因子进而调控细胞周期;p16 蛋白则能够抑制 Rb 蛋白磷酸化,使后者在去磷酸化后才能结合 EIF、ATF2 等转录因子不能活化,从而使细胞周期停滞于 G1 期^[12]。本研究检出膀胱癌组织中 p16 和 Rb 蛋白表达均下降,提示细胞周期已紊乱,进一步提示 p16 及 Rb 蛋白的异常表达与膀胱癌的发生有关。

本研究还显示 HPV16/18 E6/E7 蛋白、p16、Rb 蛋白均与膀胱癌临床分级及分期有关,表现为膀胱癌的临床分级及分期越低,HPV16/18 E6/E7 蛋白的阳性表达率越低,p16 及 Rb 蛋白的阳性表达率越高。这提示 HPV16/18 E6/E7 蛋白高表达可能持续参与了因 HPV 感染所致膀胱癌的发生及发展,而 p16 及 Rb 蛋白可能仅参与了此类膀胱癌的早期发生。

HPV16/18 E6/E7 蛋白的表达与 Rb 及 p16 蛋白均无明显相关性,说明高危型 HPV 感染致癌的机制可能与 Rb 及 p16 蛋白相关通路的作用机制无明显相关性。Rb 及 p16 蛋白均参与 G1/S 期细胞周期;HPV 的致癌机制除与磷酸化 Rb 结合以外,还可能与 p53 蛋白通路受影响有关。本研究结果显示,对 HPV 感染为主要致病因素的膀胱癌,p53 蛋白通路受影响可能与肿瘤发生间的关系更为密切。

综上所述,HPV 16/18 感染与膀胱癌的发生及发展有关,但其作用机制可能与 Rb 及 p16 蛋白的表达异常无关。

参考文献

[1] 韩韬,吕洪,王友宝,等.人乳头瘤状病毒 P53 基因与膀胱癌关系的研究[J].国际泌尿系统杂志,2013,33(1):65-68.

[2] 肖建华,游艳,董自强,等.人乳头瘤病毒感染参与膀胱疾病发生的研究进展[J].广东医学,2013,34(3):490-492.

[3] Singh MP, Kaur M, Gupta N, et al. Prevalence of high-risk human papilloma virus types and cervical smear ab-

normalities in female sex workers in Chandigarh, India [J]. Indian J Med Microbiol, 2016, 34(3): 328-334.

[4] 付子乾,黎玮. E-CD 和 p16 在膀胱移行细胞癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2011, 28(2): 284-285.

[5] 刘炜,胡森,童占表,等. 在膀胱癌组织中的 E2F3 和 RB 表达情况及其对患者预后的影响[J]. 现代预防医学, 2016, 43(4): 750-752.

[6] 郭毅,赵楠,李天人,等. HPV16 E6 通过阻碍 ING4 对 p53 作用而抑制细胞凋亡的研究[J]. 微生物学杂志, 2014, 34(3): 56-60.

[7] 任占平,石喆,张莞,等. HPV16 E7、RB 和 MCM7 蛋白在乳腺浸润性导管癌组织中的表达及意义[J]. 广东医学, 2014, 35(7): 1033-1036.

[8] 韩韬. HPV 在膀胱肿瘤中的研究进展[J]. 国际泌尿系统杂志, 2012, 32(3): 357-359.

[9] 杨琳,李霓,陈玉恒,等. 人乳头瘤病毒感染与亚洲人膀胱癌罹患危险度的 Meta 分析[J]. 中国肿瘤, 2011, 20(8): 573-578.

[10] 王新华,崔涌,孟宪杰,等. PTEN、p16、突变型 p53 在膀胱癌组织中的表达及意义[J]. 山东医药, 2013, 53(9): 37-39.

[11] 刘跃新,刘小超,康雯婷,等. 荧光原位杂交技术在膀胱癌检测中的临床应用研究[J]. 北京医学, 2013, 35(1): 1-3.

[12] Chaitanya NC, Allam NS, Gandhi Babu DB, et al. Systematic meta-analysis on association of human papilloma virus and oral cancer [J]. J Cancer Res Ther, 2016, 12(2): 969-974.

(收稿日期:2017-01-13 修回日期:2017-03-19)

(上接第 1635 页)

[5] 江立千,陈恒,李荣顺. 育龄女性临床常见感染性阴道炎及病原体分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(10): 1335-1336.

[6] 石一复. 重视阴道微生态与阴道炎诊治的关系[J]. 中华妇产科杂志, 2009, 44(1): 3.

[7] 孟培,麻玲玲. 未婚阴道炎女性阴道分泌物检查结果调查[J]. 中国微生态学杂志, 2007, 19(1): 385-386.

[8] 张帝开,覃春荣,李秀玉,等. 广东地区女性下生殖道感染致病微生物分析[J]. 中国微生态学杂志, 2005, 17(1): 417-418.

[9] 何英,陆学东,李海静,等. 检测艰难梭菌感染的五种方法比较[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(12): 1139-1144.

[10] 安邦权,周湘红,凌晓午,等. 阴道分泌物常规多项目检查 3 种方法对比分析[J]. 中国妇幼保健杂志, 2009, 24(1):

127-128.

[11] Donders GG. Wet smear compared with Gram stain diagnosis in asymptomatic pregnant women[J]. Obstet Gynecol, 2001, 97(3): 482.

[12] 安邦权,凌晓午,谢森,等. 阴道分泌物常规检验质量控制[J]. 上海医学检验杂志, 2002, 17(3): 181-182.

[13] 凌晓午,曾强武,安邦权,等. 阴道分泌物瑞氏法与悬浮法检查结果比较[J]. 重庆医学, 2012, 41(31): 3298-3299.

[14] 王武. 三种方法检测阴道分泌物常规对比分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(8): 959-960.

[15] 周晔. 383 例阴道真菌感染菌群鉴定及药敏分析[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(1): 38-39.

(收稿日期:2017-01-19 修回日期:2017-03-23)