

• 论 著 •

全自动阴道分泌物分析系统复检规则制订及验证的多中心研究

陆庭嫣¹, 王 萍², 曹永彤², 渠 巍³, 刘 怡³, 杨军兰⁴, 王丽滨⁴, 陈晓军⁵, 吕林佳⁵, 唐振华^{1△}
1. 上海交通大学医学院附属国际和平妇幼保健院检验科, 上海 200030; 2. 中日友好医院检验科, 北京 100029;
3. 贵阳市妇幼保健院检验科, 贵州贵阳 550003; 4. 西北妇女儿童医院医学检验中心, 陕西西安 710061; 5. 长春市妇产医院检验科, 吉林长春 130022

摘要:目的 制订并验证 GMD-S600 全自动阴道分泌物分析系统的复检规则。方法 收集来自 5 家医院检验科 2021 年 7 月至 2022 年 7 月的 4 155 份女性阴道拭子, 其中 3 407 份用于全自动分析系统复检规则的建立, 748 份用于复检规则的验证。所有标本通过 GMD-S600 分析系统检测、人工湿片和革兰染色显微镜镜检(简称联合镜检结果), 对细菌性阴道病(BV)、外阴阴道假丝酵母菌病(VVC)、滴虫性阴道炎(TV)等疾病项目进行检测分析。以联合镜检结果为标准, 筛选出全自动分析系统的复检规则, 再通过国际通用复检规则评估指标进行验证。**结果** (1)联合镜检结果显示, 建立复检规则的 3 407 份标本中 BV 阳性率为 10.86%(370 份), VVC 阳性率为 17.38%(592 份), TV 阳性率为 1.29%(44 份), 总阳性率为 26.74%。(2)以联合镜检结果为标准, 最终选定 37 条复检规则及附加其中 22 条规则强制显微镜检查的条件。应用规则后, BV、VVC、TV 的假阴性率和灵敏度分别为 3.40%、68.65%、5.22%、69.98%、0.21%、84.44%; 显微镜镜检复查率为 23.10%。(3)应用 748 份标本复检规则验证, BV、VVC、TV 假阴性率分别为 4.81%、3.61%、0.00%, 镜检复查率为 22.19%。(4)仪器镜检与人工湿片镜检白细胞等级偏差超出一致性界限外的百分率为 4.81%。**结论** 多中心研究制订的 37 条复检规则及附加 22 条镜检条件适用于临床对 BV、VVC、TV 疾病的初筛, 能有效控制检测项目的假阴性率及假阳性率, 且触发规则后的人工干预率及显微镜复检率均可被接受; 仪器计数白细胞半定量结果基本可信。该研究结果可应用于同型号检测系统, 但还需结合实验室实际使用情况对相关规则进行周期性验证调整。

关键词:阴道分泌物; 全自动分析系统; 有形成分分析; 干化学酶检测; 显微镜检查; 复检规则
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.07.014 **中图法分类号:**R711.31
文章编号:1673-4130(2024)07-0828-09 **文献标志码:**A

Multi-center study on the development and validation of review criteria for automatic vaginal secretion analysis system
LU Tingyan¹, WANG Ping², CAO Yongtong², QU Wei³, LIU Yi³, YANG Junlan⁴, WANG Libin⁴, CHEN Xiaojun⁵, LYU Linjia⁵, TANG Zhenhua^{1△}
1. Department of Clinical Laboratory, the International Peace Maternity and Child Health Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China; 2. Department of Clinical Laboratory, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Guiyang Maternity and Child Health Hospital, Guiyang, Guizhou 550003, China; 4. Department of Clinical Laboratory, Northwest Women's and Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710061, China; 5. Department of Clinical Laboratory, Changchun Obstetrics-Gynecology Hospital, Changchun, Jilin 130022, China
Abstract: Objective To establish and verify the review criteria for the GMD-S600 automated analysis system of vaginal secretion. **Methods** A total of 4 155 female vaginal swabs were collected from the clinical laboratory departments of 5 hospitals from July 2021 to July 2022, of which 3 407 were used for establishing review rules by the automatic analyzer while the remaining 748 samples were used to verify the review criteria. All samples were detected by GMD-S600 automatic system, artificial wet smear and Gram staining combined

microscopic examination (hereinafter referred to as combined microscopic examination results), and diseases such as bacterial vaginosis (BV), vulvovaginal candidiasis (VVC) and trichomoniasis vaginitis (TV) were detected and analyzed. Based on the results of combined microscopic examination results, the review rules for automatic analysis systems were refined. Then it was verified by the evaluation indicators of the international review criteria. **Results** (1) Of the 3 407 samples, the combined microscopic examination results showed that BV accounted for 10.86% (370 samples), VVC accounted for 17.38% (592 samples) and TV accounted for 1.29% (44 samples), with an overall positivity rate of 26.74%. (2) Based on the combined microscopic examination results, ultimately, 37 review rules were chosen and 22 of them were added to enforce the conditions of microscopy. The false negative rates and sensitivities of BV, VVC and TV were 3.40% and 68.65%, 5.22% and 69.98%, 0.21% and 84.44%, respectively, while the reexamination rate of microscopy was 23.10%. (3) The final selected review criteria and additional microscopy conditions were validated using 748 clinical samples. The false negatives rates of BV, VVC, and TV were 4.81%, 3.61% and 0.00%, respectively, and the review rate was 22.19%. (4) The proportion of white blood cell grades exceeding the limits of agreement between instrument microscopy and artificial wet slides microscopy was 4.81%. **Conclusion** The 37 review rules and 22 additional microscopic examination conditions established in this multi-center experiment are applicable for clinical preliminary screening of BV, VVC, and TV diseases. They can effectively reduce the false negative rate and false positive rate of the test items and can effectively control the false negative rate and false positive rate of the test items. The manual intervention rate and microscope reexamination rate after triggering the rules are acceptable. The semi-quantitative results of white blood cell count obtained from the instrument are essentially dependable. The research results can be applied to the same type of detection system, but the relevant rules need to be periodically verified and adjusted according to the actual use of the laboratory.

Key words: vaginal secretion; automatic analysis system; composition analysis; dry chemical enzyme detection; microscopic examination; review criteria

阴道分泌物显微镜镜检技术是妇科检查的常规项目,是女性常见下生殖道感染性疾病诊断的重要依据^[1]。随着机器视觉识别技术及深度学习技术的发展,医学显微细胞图像处理技术逐渐从传统人工镜下识别向计算机自动目标识别和分类的方向发展,并已成功应用于各类体液检验^[2]。自动化阴道分泌物分析系统将标本有形成分智能化识别,同时搭载干化学酶一体化检测,有效提升了阴道分泌物病原筛查的效率,并能够实现检验过程质量管理标准化。但由于阴道分泌物有形成分的复杂性和多样性^[3],以及干化学功能酶的局限性^[4-6],当二者结果联合判读审核有疑惑时人工显微镜镜检确认仍是必不可少的手段。如何使自动化仪器发挥最大效率减轻人工压力而又尽量避免漏诊、误诊,成为当前关注的焦点。本多中心研究应用国际通用复检规则评估指标^[7-8]对全自动阴道分泌物分析系统进行复检规则的制订和验证,以提高疾病筛查的准确性。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2021 年 7 月至 2022 年 7 月上海交通大学医学院附属国际和平妇幼保健院检验科、中日友好医院检验科、贵阳市妇幼保健院检验科、西北妇女儿童医院医学检验中心、长春市妇产医院检验

科的常规阴道分泌物检测标本 4 155 份。为了使纳入研究的标本与常规工作一致,且验证结果能与实际应用情况更为符合,因而对标本送检科室来源及患者年龄不做限制要求,连续随机纳入每天不超过 50 个。标本采集部位及方法参照《阴道分泌物临床检验与结果报告规范化指南》^[9]。

1.2 仪器与试剂 GMD-S600 妇科分泌物分析系统(长春迪瑞)及其配套试剂、校准物和质控品;Olympus 光学显微镜;革兰染色试剂(珠海贝索)。GMD-S600 分析仪使用前参考尿液分析仪行业标准及厂方内控标准进行校准验证,每日开机通过室内质控后方可进入标本检测程序。

1.3 方法

1.3.1 标本处理 采集后的标本 1 h 内进行 GMD-S600 全自动仪器检测,检测结果留存备份。对仪器检测报阳图谱进行人工审核并记录结果(阳性/阴性/有待镜检确认)。仪器检测后的剩余标本混匀后,用一次性滴管等量滴加两张玻片。一张湿片加载盖玻片后供人工镜检进行白细胞半定量计数和线索细胞、菌丝/孢子、滴虫的识别^[10];另一张滴加标本的玻片待自然干燥后经革兰染色在显微油镜下($\times 1\ 000$)的 Nugent 评分^[11]及真菌菌丝/孢子的确认,2 种镜检方式

各由 1 名有经验的检验技师双盲完成并记录结果。

1.3.2 复检规则的筛选参数 针对细菌性阴道病(BV)、外阴阴道假丝酵母菌病(VVC)、滴虫性阴道炎(TV)三类疾病的筛查确立复检规则,将 BV、VVC、TV 疾病诊断具有对应关系的有形成分项目(线索细胞、真菌、滴虫)和干化学项目里唾液酸苷酶(SNA)、脯氨酸氨基肽酶(PIP)、N-乙酰氨基己糖苷酶(NAG)共 6 个检测项作为筛选参数。各检测项目以超出参

考区间数值为阳性,检测项目与筛查疾病的对应关系^[12]及参考区间见表 1。

虽然酸碱度 pH 的高低是区分 VVC($\text{pH} \leq 4.6$)、TV($\text{pH} \geq 4.8$)的附加条件,但是由于 pH 测试的特异性不高^[10],且容易受到宫颈黏液、精液、血液或预湿拭子等因素的影响^[13-14]而导致错误提示,所以不将其列入筛选参数。

表 1 GMD-S600 检测项目与筛查疾病的对应关系及参考区间

| 筛查疾病 | 有形成分 | | | 干化学 | |
|------|---------|------|------|------------|------|
| | 项目名称 | 参考区间 | 单位 | 项目名称 | 参考区间 |
| BV | 线索细胞 | 无 | /HPF | 唾液酸苷酶 | — |
| | | | | 脯氨酸氨基肽酶 | — |
| VVC | 真菌菌丝/孢子 | 无 | /HPF | N-乙酰氨基己糖苷酶 | — |
| TV | 滴虫 | 无 | /HPF | N-乙酰氨基己糖苷酶 | — |

注: /HPF 指每高倍视野;—表示阴性。

1.3.3 参考方法 依据国内外指南推荐的对 BV、VVC、TV 实验室诊断方法,笔者将湿片镜检联合革兰染色镜检(简称联合镜检)结果作为疾病判断的最终依据。BV 阳性以革兰染色 Nugent 评分 ≥ 7 分为最终判断标准^[9,15];真菌菌丝/孢子判断标准为湿片镜检或革兰染色镜检任一方法检出即可判定^[15-16];滴虫以湿片镜检阳性为标准,但当湿片镜检活动度减弱疑似不确定时需补充核酸扩增技术进行确认,并以核酸结果为准^[13,15];白细胞计数结果取湿片在高倍镜下 10 个视野的均值^[9]。

1.3.4 触发复检规则后的复检程序

1.3.4.1 仪器图谱审核程序 启用复检规则后,当有检测项目触发规则则首先进入仪器图谱审核程序。(1)仪器单独有形成分图谱阳性警示或有形成分图谱与对应的干化学项目同时报阳提示时,点入工作站阳性图谱分类栏确认阳性成分形态是否典型可辨,如典型阳性形态则审核通过为阳性,错误识别者判为阴性;若图谱阳性成分形态不典型或图像对焦不清晰难以辨别,则进入显微镜复检程序。(2)仪器有形成分阴性但干化学项目阳性报警时,点入工作站图谱“未分类、上皮细胞、白细胞”等分类观察是否有未被识别的阳性成分,如有典型的分类错误或未识别的阳性成分则可修正结果为阳性,若未发现相应阳性成分则判为阴性。

1.3.4.2 显微镜复检程序 BV 项显微镜复检程序:湿片高倍镜检有典型的线索细胞或大(多)量的杂菌成团聚集(革兰染色可见 Nugent 评分 ≥ 7 分的细菌成团聚集的特征,简称为 BV 相关细菌团),可以直接判断为 BV 阳性;若湿片高倍镜检不典型或难以辨别

的线索细胞则需要革兰染色 Nugent 评分最终确认。

VVC、TV 项显微镜复检程序:湿片镜检有典型的真菌菌丝/孢子、滴虫者,可直接判断为 VVC 阳性、TV 阳性;未观察到者为阴性。

1.3.5 复检规则的筛选方法

1.3.5.1 初筛规则的方法 将线索细胞、真菌、滴虫、SNA、PIP、NAG 6 个检测项目利用阴性、阳性两种检测结果交叉复检原则进行排列组合后得到 64 条筛选条件;使用 Excel2013 将每家医院仪器检测结果导出,统计触发 64 条筛选条件的数量;以联合镜检结果为金标准,统计每条筛选条件中仪器结果的假阴性率和假阳性率。

参考《CNAS-CL02-A001:2021 医学实验室质量和能力认可准则的应用要求》中对尿液、血液结果假阴性率 $\leq 5\%$ 的要求^[17]和中华医学会检验医学分会血液学与体液学学组《阴道分泌物自动化检测与报告专家共识》中对阴道分泌物有形成分复检程序结果假阴性率 $\leq 5\%$ 的建议^[18],以及参考文献[19],在 64 条筛选条件中剔除检测项全部阴性的条件、剔除出现概率为 0 的条件、剔除假阴性率和(或)假阳性率 $\leq 5\%$ 的条件,初步形成复检规则。

1.3.5.2 初筛规则启用后评估 启用初筛出的复检规则对仪器结果进行分析。将触发规则的结果按照复检程序进行人工干预(先进行仪器图谱审核,图谱辨析不明确的再进入显微镜复检程序)。以联合镜检结果为金标准,对复检后结果进行灵敏度、特异度、符合率、假阴性率、假阳性率等评估指标的分析^[7],必要时做规则的调整以符合质量要求。

1.3.6 复检规则验证方法 检测随机临床标本,评

估启用复检规则后结果的真阳性率、假阳性率、真阴性率、假阴性率、总符合率、人工干预率及镜检复查率。真阳性率=触发了复检规则且镜检结果阳性标本数/总标本数×100%，假阳性率=触发了复检规则而镜检结果阴性标本数/总标本数×100%，真阴性率=未触发复检规则且镜检结果阴性标本数/总标本数×100%，假阴性率=未触发复检规则而镜检结果阳性标本数量/总标本数×100%，总符合率=(真阳性数量+真阴性数量)/总标本数×100%，人工干预率=(人工审核仪器图谱数量+显微镜镜检数量)/标本总数×100%，镜检复查率=启用显微镜镜检的标本数量/总标本数×100%。

1.3.7 仪器与湿片镜检白细胞等级偏差分析 将仪器与人工湿片镜检白细胞计数结果(/HPF)分为0~<5、5~<15、15~<30、≥30共4个等级,计数不同等级下仪器与人工镜检结果的一致性。通过Bland-Altman 偏差图观察仪器与人工镜检结果之间的差异。

1.4 统计学处理 应用SPSS22.0 软件分析,计数资料以百分率表示。两种检验方法结果比较采用配对

四格表资料的 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。使用Bland-Altman 偏差图,分析仪器白细胞计数与人工计数的差异,Kappa 检验评价两种计数方法的一致性。

2 结 果

2.1 规则建立标本的联合镜检结果 将联合镜检结果出现线索细胞/Nugent 评分≥7 分、真菌菌丝/孢子、滴虫的标本称为阳性标本,而镜检未见异常者称为阴性标本。用于建立复检规则的3 407 份标本中BV 阳性 370 份(10. 86%),VVC 阳性 592 份(17. 38%),TV 阳性 44 份(1. 29%),BV+VVC 混合感染 85 份(2. 49%),BV+TV 混合感染 8 份(0. 23%),总体阳性标本率为26. 74%,基本符合日常阴道分泌物检测中三类疾病的阳性检出率^[20-21]。

2.2 复检规则的筛选结果

2.2.1 初筛结果 以联合镜检结果为金标准,对64 条组合项的仪器检测结果逐一分析,筛选出38 条需要复检的规则和26 条无需复检的规则;其中,触发概率≥2%的规则编号依次为7 号、3 号、16 号、21 号、37 号、40 号和5 号。38 条复检规则见表2。

表 2 GMD-S600 全自动阴道分泌物分析系统 38 条复检规则

| 规则编号 | 有形成分 | | | 干化学 | | | 规则编号 | 有形成分 | | | 干化学 | | |
|------|------|----|----|-----|-----|-----|------|------|----|----|-----|-----|-----|
| | 线索细胞 | 真菌 | 滴虫 | SNA | PIP | NAG | | 线索细胞 | 真菌 | 滴虫 | SNA | PIP | NAG |
| 2 | + | - | - | - | - | - | 25 | + | + | - | - | + | - |
| 3 | - | + | - | - | - | - | 26 | + | + | - | - | - | + |
| 4 | - | - | + | - | - | - | 27 | - | + | + | + | - | - |
| 5 | - | - | - | + | - | - | 29 | - | + | + | - | - | + |
| 7 | - | - | - | - | - | + | 30 | - | - | + | + | + | - |
| 8 | + | + | - | - | - | - | 31 | - | - | + | + | - | + |
| 9 | + | - | + | - | - | - | 32 | - | - | - | + | + | + |
| 10 | + | - | - | + | - | - | 35 | + | - | + | - | - | + |
| 12 | + | - | - | - | - | + | 37 | - | + | - | + | - | + |
| 13 | - | + | + | - | - | - | 40 | + | - | - | + | - | + |
| 14 | - | + | - | + | - | - | 41 | + | - | - | - | + | + |
| 15 | - | + | - | - | + | - | 42 | - | + | - | - | + | + |
| 16 | - | + | - | - | - | + | 47 | - | + | + | + | - | + |
| 17 | - | - | + | + | - | - | 48 | + | + | - | + | + | - |
| 19 | - | - | + | - | - | + | 49 | + | + | - | + | - | + |
| 21 | - | - | - | + | - | + | 51 | + | + | - | - | + | + |
| 22 | - | - | - | - | + | + | 53 | - | + | - | + | + | + |
| 23 | + | + | + | - | - | - | 54 | + | - | - | + | + | + |
| 24 | + | + | - | + | - | - | 56 | + | - | + | + | - | + |

注：+表示阳性(包括弱阳性)，-表示阴性。

2.2.2 初筛规则启用后评估结果 启用38 条复检规则对3 407 份仪器检测结果进行分析,触发规则的

标本 2 182 份,显微镜镜检复检率为 9.95%(339/3 407),BV、VVC、TV 的假阳性率和 TV 的假阴性率得到了良好的控制,均<5%,但是 BV 和 VVC 的假阴性率分别为 5.99%(204/3 407)、5.37%(183/3 407),需要进一步分析原因进行规则的调整。

2.2.3 复检规则的分析及调整 对触发了规则但复检后仍出现 156 份 BV 和 153 份 VVC 漏检的标本分析后发现,38 条复检规则已经涵盖了这些标本的报警提示,所以无需再增加规则。统计 38 条规则里有效阳性警示率超过 50%的有 20 条,基本集中在有形成分和干化学项目参数同时阳性或有形成分阴性但多

个干化学参数报阳警示的规则里。然而,对于这些规则笔者启用的显微镜复检比例较低,未能及时纠正图谱审核时假阴性的误判。为防止漏检且同时考虑显微镜复检率可控的前提下,笔者以这 20 条为基础再增加规则编号 10“有形线索细胞+,干化学 SNA+”及规则编号 21“有形成分阴性,干化学 SNA+、NAG+”共 22 条,增加其执行“当图谱审核无典型阳性有形成分发现时,需要强制显微镜镜检最终确认”的条件。其他 16 条规则依然遵循“先仪器图谱审核,图谱辨析不明确时再进入显微镜复检程序”的要求。22 条需执行强制镜检程序的规则见表 3。

表 3 22 条需执行强制镜检条件的规则

| 规则 编号 | 阳性参数 (n) | 有形成分 | | | 干化学 | | | 触发规则 数量(n) | 联合镜检结果(n) | | | 阳性例数及 占比[n(%)] |
|----------|-------------|----------|----|----|-----|-----|-----|---------------|------------------------|-----------|----|-------------------|
| | | 线索 细胞 | 真菌 | 滴虫 | SNA | PIP | NAG | | 线索细胞/ Nugent 评分≥7 分 | 菌丝/ 孢子 | 滴虫 | |
| 10 | 2+ | + | — | — | + | — | — | 13 | 6 | 0 | 0 | 6(46.15) |
| 12 | 2+ | + | — | — | — | — | + | 51 | 34 | 5 | 0 | 37(72.55) |
| 15 | 2+ | — | + | — | — | + | — | 2 | 0 | 1 | 0 | 1(50.00) |
| 16 | 2+ | — | + | — | — | — | + | 287 | 23 | 200 | 1 | 209(72.82) |
| 21 | 2+ | — | — | — | + | — | + | 159 | 33 | 22 | 2 | 49(30.82) |
| 22 | 2+ | — | — | — | — | + | + | 4 | 1 | 1 | 0 | 2(50.00) |
| 24 | 3+ | + | + | — | + | — | — | 2 | 0 | 1 | 0 | 1(50.00) |
| 26 | 3+ | + | + | — | — | — | + | 25 | 4 | 20 | 0 | 19(76.00) |
| 29 | 3+ | — | + | + | — | — | + | 8 | 1 | 4 | 2 | 5(62.50) |
| 32 | 3+ | — | — | — | + | + | + | 8 | 3 | 1 | 0 | 4(50.00) |
| 35 | 3+ | + | — | + | — | — | + | 1 | 0 | 0 | 1 | 1(100.00) |
| 37 | 3+ | — | + | — | + | — | + | 132 | 26 | 61 | 0 | 70(53.03) |
| 40 | 3+ | + | — | — | + | — | + | 83 | 61 | 13 | 3 | 67(80.72) |
| 41 | 3+ | + | — | — | — | + | + | 4 | 2 | 0 | 0 | 2(50.00) |
| 42 | 3+ | — | + | — | — | + | + | 3 | 1 | 3 | 0 | 3(100.00) |
| 47 | 4+ | — | + | + | + | — | + | 16 | 4 | 3 | 6 | 9(56.25) |
| 48 | 4+ | + | + | — | + | + | — | 1 | 1 | 0 | 0 | 1(100.00) |
| 49 | 4+ | + | + | — | + | — | + | 18 | 16 | 9 | 1 | 16(88.89) |
| 51 | 4+ | + | + | — | — | + | + | 2 | 1 | 2 | 0 | 2(100.00) |
| 53 | 4+ | — | + | — | + | + | + | 4 | 2 | 2 | 0 | 3(75.00) |
| 54 | 4+ | + | — | — | + | + | + | 13 | 11 | 2 | 0 | 11(84.62) |
| 56 | 4+ | + | — | + | + | — | + | 9 | 5 | 0 | 5 | 5(55.56) |

注: + 表示阳性(包括弱阳性), — 表示阴性; 2+ 表示有 2 个筛选参数阳性, 3+ 表示有 3 个筛选参数阳性, 4+ 表示有 4 个筛选参数阳性。

2.2.4 增加复检规则条件后分析结果 将 22 条附加镜检条件的规则应用后与联合镜检的结果再次比较分析, BV 和 VVC 的假阴性率得到有效控制, 显微镜镜检复检率为 23.62%(805/3 407)。采用配对 χ^2 检验比较 BV、VVC、TV 的灵敏度在启用复检规则前与应用规则及附加镜检条件后差异有统计学意义

($P<0.001$)。结果分析具体见表 4。

在 38 条复检规则和附加镜检条件的基础上, 为进一步减少无效的人工干预, 笔者将“规则编号 7”触发标本数量多但假阳性率高[85.19%(673/790)]的“单独干化学 NAG+”规则剔除, 人工干预率降至为 40.86%(1 932/3 407), 得到 BV、VVC、TV 的假阴性

率和灵敏度分别为 3.40%、68.65%，5.22%、69.98%，以及 0.21%、84.44%，显微镜镜检复检率 23.10%，需再通过验证分析后判断是否可行。

2.3 复检规则验证 连续随机应用国际和平妇幼保健院和长春市妇幼保健院共 748 份临床标本，启用 37 条复检规则及 22 条附加镜检条件进行验证。验证结

果只触发了 37 条复检规则中的 21 条和 12 条附加镜检的条件，BV、VVC、TV 的假阴性率依然可控，人工干预率 44.38% (332/748)，其中显微镜镜检复检率为 22.19% (166/748)。验证结果达到质量要求，且人工干预率和显微镜镜检复检率均可被接受。具体验证数据分析见表 5。

表 4 GMD-S600 系统启用复检规则前后结果分析

| 项目 | 联合镜检 | <i>n</i> | 阳性 (<i>n</i>) | 阴性 (<i>n</i>) | 真阳性率 (%) | 假阳性率 (%) | 真阴性率 (%) | 假阴性率 (%) | 灵敏度 (%) | 特异度 (%) | 符合率 (%) |
|-------------------------|------|----------|--------------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|
| 未启用复检规则时 | | | | | | | | | | | |
| BV | 阳性 | 370 | 152 | 218 | 4.46 | 3.87 | 85.27 | 6.40 | 41.08 | 95.65 | 89.73 |
| | 阴性 | 3 037 | 132 | 2 905 | | | | | | | |
| VVC | 阳性 | 593 | 384 | 209 | 11.27 | 13.91 | 68.68 | 6.13 | 64.76 | 83.16 | 79.95 |
| | 阴性 | 2 814 | 474 | 2 340 | | | | | | | |
| TV | 阳性 | 45 | 32 | 13 | 0.94 | 2.94 | 95.74 | 0.38 | 71.11 | 97.03 | 96.68 |
| | 阴性 | 3 362 | 100 | 3 262 | | | | | | | |
| 启用 38 条复检规则及 22 条附加镜检条件 | | | | | | | | | | | |
| BV | 阳性 | 370 | 263 | 107 | 7.72 | 0.29 | 88.85 | 3.14 | 71.08 | 99.67 | 96.57 |
| | 阴性 | 3 037 | 10 | 3 027 | | | | | | | |
| VVC | 阳性 | 593 | 452 | 141 | 13.27 | 0.65 | 81.95 | 4.14 | 76.22 | 99.22 | 95.22 |
| | 阴性 | 2 814 | 22 | 2 792 | | | | | | | |
| TV | 阳性 | 45 | 44 | 1 | 1.29 | 0.00 | 98.68 | 0.03 | 97.78 | 100.00 | 99.97 |
| | 阴性 | 3 362 | 0 | 3 362 | | | | | | | |

表 5 GMD-S600 系统启用 37 条复检规则及 22 条附加强制镜检条件后验证结果

| 项目 | 联合镜检 | <i>n</i> | 阳性 (<i>n</i>) | 阴性 (<i>n</i>) | 真阳性率 (%) | 假阳性率 (%) | 真阴性率 (%) | 假阴性率 (%) | 灵敏度 (%) | 特异度 (%) | 符合率 (%) |
|-----|------|----------|--------------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|
| BV | 阳性 | 118 | 82 | 36 | 10.96 | 1.07 | 83.16 | 4.81 | 69.49 | 98.73 | 94.12 |
| | 阴性 | 630 | 8 | 622 | | | | | | | |
| VVC | 阳性 | 115 | 88 | 27 | 11.76 | 0.67 | 83.96 | 3.61 | 76.52 | 99.21 | 95.72 |
| | 阴性 | 633 | 5 | 628 | | | | | | | |
| TV | 阳性 | 4 | 4 | 0 | 0.53 | 0.00 | 99.47 | 0.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| | 阴性 | 744 | 0 | 744 | | | | | | | |

2.4 白细胞等级一致性分析结果 仪器与人工湿片计数白细胞等级一致的有 2 221 份，一致率为 65.19%，Kappa 值=0.536，为中等的一致性。对两组数据做 Bland-Altman 偏差分析，在一致性界限外有 6 个坐标点(编号 1~6)共 215 份，将其中坐标点为

(22.5,15)一致性界限外的 51 份“镜检结果≥30,仪器结果 15~<30”修正为可接受的一致性,因为只相差一个等级且都为阳性;剩余 164 份为“阴、阳性不符且相差 2 个等级”,超出一致性界限外的百分率为 4.81% (164/3 407)。见表 6、图 1。

表 6 仪器与人工镜检结果之间的差异

| 项目 | 超出上限 | | | | 超出下限 | |
|------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | 编号 1(<i>n</i> =29) | 编号 2(<i>n</i> =4) | 编号 3(<i>n</i> =16) | 编号 4(<i>n</i> =51) | 编号 5(<i>n</i> =22) | 编号 6(<i>n</i> =93) |
| 坐标点 | (7.5,15) | (15,30) | (17.5,25) | (22.5,15) | (15,-30) | (17.5,-25) |
| 镜检(/HPF) | 15~<30 | ≥30 | ≥30 | ≥30 | 0~<5 | 5~<15 |
| 仪器结果(/HPF) | 0~5 | 0~5 | 5~<15 | 15~<30 | ≥30 | ≥30 |

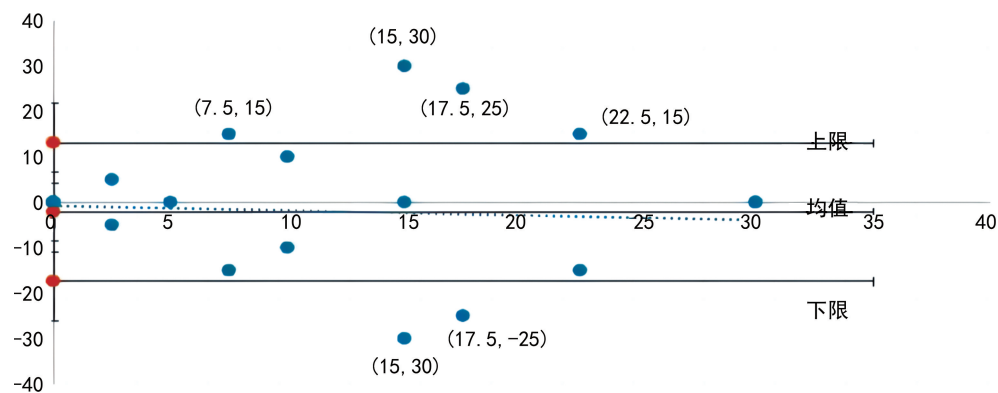


图 1 白细胞计数 Bland-Altman 偏差图

3 讨 论

阴道微生态评价包括形态学检测和功能学检测，是 2016 年中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组专家指南推荐的阴道感染诊断方法^[22]。依托仪器智能发展的平台及共识指南的指导，应用于临床新一代的全自动阴道分泌物分析系统基本都具备形态学检测和功能学检测两大模块。其中功能学检查项目及检测原理基本相同，而湿片有形成分检测原理主要有基于支持向量机(SVM)细胞图像识别分类算法^[23]和基于深度学习的目标检测算法^[24-25]两大类。

形态学和功能学的联合检测对疾病筛查的灵敏度和符合率优于单独的干化学或单独的形态学检测^[26]，但郑大勇^[27]和杨尚瑜等^[20]将自动化仪器检测结果与湿片/显微镜镜检结果相比，认为自动化分析系统不能完全替代人工镜检，部分情况还是需要显微镜镜检最终确认。本研究对 GMD-S600 分析系统在未启用复检规则检测 3 407 份标本的结果分析也证实，VVC 项目的假阴性率、假阳性率和 BV 项目的假阴性率均>5%，需要结合显微镜镜检复查进行质量控制。

由于目前国内少见阴道分泌物自动化检测系统的显微镜复检方案相关文献，也缺乏相应的质量文件细则指导，本研究参考了马骏龙等^[19]对尿液有形成分镜检筛选的方法，以《CNAS-CL02-A001:2021 医学实验室质量准则要求》为依据，对 GMD-S600 分析系统进行复检规则的筛选。筛选出的 38 条复检规则触发条件基本涵盖了仪器单独有形成分阳性、单独干化学阳性、干化学和有形成分检测阳性结果相符或不符的情况。

以联合镜检结果为标准分析 BV、VVC、TV 在 38 条复检规则中阳性例数占比较高的，基本集中在有形及干化学筛选参数阳性数多的规则里；其中，最高的 VVC 阳性率为 69.69%(200/287)是规则编号 16“有形真菌+，干化学 NAG+”；而最高的 BV 阳性率为 73.49%(61/83)是规则编号 40“有形线索细胞+，干

化学 SNA+、NAG+”，其次为规则编号 12“有形线索细胞+，干化学 NAG+”、规则编号 16“有形真菌+，干化学 NAG+”等伴有“NAG+”的规则里，其有对应关系的“有形线索细胞+，干化学 SNA+”规则中 BV 阳性数却不是最有优势。

分析 NAG 检测原理，虽然 β-N-乙酰氨基己糖苷酶在真核生物真菌和滴虫中活性较强^[12]，但也广泛存在于细菌、放线菌等原核生物，具有双重底物特异性水解乙酰氨基葡萄糖或乙酰氨基半乳糖^[28]。β-N-乙酰氨基己糖苷酶分属于 GH20、GH3、GH84 三大糖苷水解酶家族，其中 GH84 家族的 NAG 来源于拟杆菌^[28-29]，而拟杆菌又是 BV 相关菌群组成中主要的厌氧菌属^[13]，所以当 BV 阳性拟杆菌丰度增加时可能也会引起 NAG 阳性的表现。因而当 NAG 阳性，特别是同时 SNA 阳性和(或)有形线索细胞阳性时，提示在仪器图谱审核或镜检复查时除了真菌、滴虫的识别，也要特别留意是否有 BV 的存在。

唾液酸酶作为 BV 的一种重要毒力因子主要由阴道加德纳菌、普雷沃菌分泌产生，可以作为 BV 的诊断标志物^[9,30]，但 JANULAITIENE 等^[5]发现，阴道加德纳菌的唾液酸酶活性在不同的基因亚组之间存在显著性差异分布，使用定量 PCR(qPCR)分型加德纳分离株进化株 4 中缺乏编码唾液酸酶的基因，因而单独 SNA 的活性检测可能会造成 BV 的漏检。同样，单独的 NAG 活性检测也可能因为一些非白假丝酵母菌不产生此酶^[12]而造成 VVC 的漏检。本研究对规则建立时数据分析也发现单独干化学 SNA+、单独 NAG+ 和单独 PIP+ 的有效阳性警示率都较低，分别为 23.61%(17/72)、16.33%(129/790)和 0.00%(0/7)。以上现象说明独立的干化学酶反应特性可能会存在局限性、交叉性及易受干扰性。然而，当这三类干化学项目联合阳性或与有形成分联合阳性时它们的有效阳性警示效应却大为提升。

不同于尿液细胞定量计数筛查的要求，阴道分泌物 BV、VVC、TV 的诊断是相关病原菌(体)的定性筛

查,2016 年中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组专家共识明确指出,当形态学检测与功能学检测结果不一致时,以形态学检测为主要参考指标^[22]。本课题组认为,为了剔除干扰因素的影响,即使有形与干化学对应相符的阳性提示还是需要人工仪器图谱的审核确认,但由此可能会导致人工干预率偏高。GMD-S600 有形成分分析是一种基于 SVM 的细胞分类识别技术,该技术已广泛应用于肿瘤细胞诊断、尿液细胞分类等医学细胞图像分类领域^[23,31]。在本实验复检规则验证阶段,触发规则的 332 份标本中有一半是可以通过仪器图谱审核判别,所以显微图像的正确识别可以大大减少人工显微镜镜检的启用,王萍等^[32]的研究中也有同样的体现。

然而,不管是基于何种算法的图像识别技术,对于复杂高维特性的临床采集图像都需要持续训练和更新优化算法,解决类似于杂菌黏附遮盖的线索细胞成像模糊、脱落于阴道上皮细胞形成致密生物膜的 BV 相关细菌团^[33]被错分类为白细胞、黏附于上皮的菌丝孢子未被识别及弯曲的长杆菌被错分类为菌丝等现象。因此在仪器自动化发展进程中除却智能化图像识别带来的便利和效率外还是需要显微镜镜检金标准方法进行补充,特别是革兰染色显微镜镜检结果对 BV 的最终确认。所以在笔者的复检规则中强调了 22 条附加镜检条件,进一步控制漏检率。

阴道分泌物中白细胞的炎症表现并不与 BV、VVC 有绝对关联,但是白细胞的半定量计数还是比较直观反映阴道炎症状况,是需氧菌性阴道炎判别的重要条件。GMD-S600 计数白细胞与人工湿片计数白细胞等级分析完全一致的有 65.19%,仪器与人工计数有差异但“阴阳不符且相差 2 个等级”超出一致性界限外的百分率可控在 5%以内,提示仪器白细胞半定量结果基本可信。分析造成一致性差异的常见原因:人工镜检制片时因标本黏液型导致局部细胞聚集,基底层小圆上皮细胞、滴虫体型偏小以及 BV 相关细菌团都有可能被仪器误判为白细胞。所以当仪器计数结果与干化学白细胞脂酶阴阳不符且相差 2 个等级时需要湿片显微镜镜检进一步确认。

经规则验证后证实,综上分析的阴道分泌物干化学酶和有形成分检测中存在的局限性和干扰性,基本可以在建立的 37 条复检规则及 22 条附加镜检条件的干预下得到有效的控制,后继可以通过仪器软件的编制将复检规则及其附加条件添加至系统工作站进行自动化审核应用,各地方实验室可结合实际使用情况对相关规则进行周期性验证调整,使之能更好地服务于自动化检测系统的质量管理。

参考文献

- [1] 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,2014:196-198.
- [2] 张喆,夏薇,许建成.深度学习在病理及检验诊断图像分析中的应用[J].临床检验杂志,2022,40(5):378-380.
- [3] MENDLING W. Vaginal microbiota[M/OL]//SCHWIMERTZ A. Microbiota of the Human Body. Adv Exp Med Biol,2016,902:83-93[2023-05-12]. https://doi.org/10.1007/978-3-319-31248-4_6.
- [4] MARCONI C, DONDERS G G, BELLEN G, et al. Sialidase activity in aerobic vaginitis is equal to levels during bacterial vaginosis[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2013,167(2):205-209.
- [5] JANULAITIENE M, GEGZNA V, BARANAUSKIENE L, et al. Phenotypic characterization of Gardnerella vaginalis subgroups suggests differences in their virulence potential[J]. PLoS One, 2018,13(7):e0200625.
- [6] 王辰,薛凤霞.阴道微生态评价对需氧菌性阴道炎的诊断作用[J].中国实用妇科与产科杂志,2017,33(8):779-782.
- [7] 杜鹃.自动化尿液及体液常规分析的复检规则制定及探讨[D].北京:北京协和医学院,2014.
- [8] 王力,郝晓柯,杨大千,等.尿液常规智能审核规则验证与改进的多中心研究[J].中华检验医学杂志,2020,43(8):794-801.
- [9] 中华医学会检验医学分会血液学与体液学学组,中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组.阴道分泌物临床检验与结果报告规范化指南[J].中华医学杂志,2023,103(1):10-17.
- [10] WORKOWSKI K A, BACHMANN L H, CHAN P A, et al. Sexually transmitted infections treatment guidelines, 2021[J]. MMWR Recomm Rep, 2021, 70(4):1-187.
- [11] NUGENT R P, KROHN M A, HILLIER S L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation[J]. J Clin Microbiol, 1991,29(2):297-301.
- [12] 王则宇,王山梅,杨红云,等.阴道炎五联检在白带常规检测中的应用研究[J].中国皮肤性病学杂志,2010,24(1):91-93.
- [13] American College of Obstetricians and Gynecologists. Vaginitis in nonpregnant patients: ACOG practice bulletin summary, number 215[J]. Obstet Gynecol, 2020,135(1):243-245.
- [14] BAKIR S, ELAS D, STOCKDALE C K, et al. Accuracy of vaginal pH testing before and after addition of sterile saline[J]. J Low Genit Tract Dis, 2021,25(2):181-185.
- [15] SHERRARD J, WILSON J, DONDERS G, et al. 2018 European (IUSTI/WHO) International Union against sexually transmitted infections (IUSTI) World Health Organisation(WHO) guideline on the management of va-

ginal discharge[J]. Int J STD AIDS, 2018, 29(13): 1258-1272.

[16] 刘朝晖, 廖秦平. 外阴阴道假丝酵母菌病(VVC)诊治规范修订稿[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2012, 28(6): 401-402.

[17] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-CL02-A001: 2021 医学实验室质量和能力认可准则的应用要求[S/OL]. [2023-05-10]. <https://www.cnas.org.cn>.

[18] 中华医学会检验医学分会血液学与体液学学组. 阴道分泌物自动化检测与报告专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(5): 439-444.

[19] 马骏龙, 丛玉隆, 陆玉静, 等. 尿干化学与流式细胞术联合用于尿液有形成分镜检筛选的研究与应用[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(6): 494-500.

[20] 杨尚瑜, 蔡燕, 雷娇. 全自动阴道分泌物常规检测仪在阴道真菌、滴虫感染诊断中的应用效果[J]. 山东医药, 2018, 58(19): 65-67.

[21] 何恩萍, 李忠承, 李静, 等. 2 421 例女性阴道分泌物病原体感染的临床分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2022, 29(11): 1890-1894.

[22] 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组. 阴道微生物评价的临床应用专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(10): 721-723.

[23] 杜海鸥. 数字成像原理在尿液有形成成分分析中的应用研究[D]. 北京: 北京理工大学, 2016.

[24] 杜晓辉. 白带显微图像中有型成分自动识别理论与技术的研究[D]. 成都: 电子科技大学, 2019.

[25] 侯剑平, 王超, 赵万里, 等. 基于深度学习的白带显微图像细胞识别[J]. 计算机应用与软件, 2021, 38(9): 232-238.

[26] 万智敏, 罗水秀. 三种检测方法对阴道分泌物的检测价值分析[J]. 黑龙江医学, 2021, 45(23): 2547-2548.

[27] 郑大勇. 迪瑞 GMD-S600 全自动妇科分泌物分析系统的应用效果[J]. 医疗装备, 2021, 34(5): 45-46.

[28] 王梦. 新型 A. muciniphila 和 S. nassauensis 源 β -N-乙酰氨基己糖苷酶的特性及应用研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2019.

[29] BOJAROVÁ P, BRUTHANS J, KREN V, et al. β -N-acetylhexosaminidases-the wizards of glycosylation[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2019, 103(19): 7869-7881.

[30] FERREIRA C, MARCONI C, PARADA C, et al. Sialidase activity in the cervicovaginal fluid is associated with changes in bacterial components of Lactobacillus-deprived microbiota[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 813520.

[31] 夏啟凱. 基于 Python 的细胞识别 SVM 模型参数优化方法研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2019.

[32] 王萍, 郑静, 陈中, 等. 全自动妇科分泌物分析仪的临床应用及复检规则探讨[J]. 检验医学与临床, 2023, 20(7): 884-887.

[33] PATTERSON J L, STULL-LANE A, GIRERD P H, et al. Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of Gardnerella vaginalis relative to other bacterial vaginosis-associated anaerobes[J]. Microbiology (Reading), 2010, 156(Pt 2): 392-399.

(收稿日期: 2023-09-14 修回日期: 2024-02-06)

(上接第 827 页)

[9] PAN D, QING M F, MA D H, et al. Detection of the peripheral blood antigens and clinical value in recurrent aphthous ulcer: a cross-section study[J]. J Dent Sci, 2023, 18(1): 304-309.

[10] YAN Y, ZHENG L, DU Q, et al. Interferon regulatory factor 1 (IRF-1) and IRF-2 regulate PD-L1 expression in hepatocellular carcinoma (HCC) cells[J]. Cancer Immunol Immunother, 2020, 69(9): 1891-1903.

[11] 王梅叶, 冯彩团, 符春梅. 溃疡性结肠炎患者血清 I-FABP、miR-223、IRF5 的表达水平及意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(7): 719-722.

[12] 纳仁高娃, 米焱, 吕丽. IRF5 通过 MyD88/TGF- β 1/Smads 信号通路介导 Ang II 诱导巨噬细胞的极化和炎症反应[J]. 免疫学杂志, 2022, 38(10): 846-853.

[13] KLEIN T T, KOHN E, KLIN B, et al. sTREM-1 as a diagnostic biomarker for acute appendicitis in children[J]. Asian J Surg, 2021, 44(9): 1172-1178.

[14] JOLLY L, CARRASCO K, SALCEDO-MAGGUILI M, et al. sTREM-1 is a specific biomarker of TREM-1 pathway activation[J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18(8): 2054-2056.

[15] 羊丹, 徐菁, 陈保银, 等. 溃疡性结肠炎患者血清 MUC1、sTREM-1 水平与病情严重程度及临床结局的关系[J]. 山东医药, 2021, 61(28): 38-41.

[16] 刘德义, 马胜喜, 赵振波. AECOPD 患者血清炎症因子、D-D、FIB、ET-1 及 sTREM-1 的变化及其意义[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(22): 4955-4957.

[17] 解碧晶, 王姝璐, 张钰涓. 甘草泻心汤合化肝煎加减联合氨来咕诺治疗复发性口腔溃疡疗效研究[J]. 陕西中医, 2022, 43(7): 910-913.

[18] 五且昆·吐尔逊. 干扰素调节因子家族成员在流感病毒诱导的局部和全身炎症反应中的表达模式[D]. 长春: 吉林大学, 2020.

(收稿日期: 2023-10-25 修回日期: 2023-12-10)