

免疫荧光法与唾液酸酶检测在阴道加德纳菌感染诊断中的应用价值

舒少为¹ 蔡长争¹ 梁国琼² 陈爱平²

【摘要】目的 比较免疫荧光法与唾液酸酶法在阴道检测加德纳菌感染诊断中的应用价值。**方法** 采集来本院门诊就诊或体验的已婚妇女456例阴道分泌物标本, 分别采用免疫荧光法与唾液酸酶法检测, 以Amsel检测法为“金标准”, 比较两种检测方法的诊断效能。**结果** 456例受检妇女中, 检出阴道加德纳菌阳性175例, 检出率为38.38% (175/456); 18~29岁年龄段检出率为42.79% (95/222), 显著高于40~49岁年龄段 ($\chi^2 = 5.807$, $P = 0.016$); 细菌性阴道病患者加德纳菌阳性检出率显著高于不孕不育、不良怀孕及其他人群, 差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 13.860$, $P = 0.000$, $\chi^2 = 21.131$, $P = 0.000$, $\chi^2 = 13.860$, $P = 21.492$); 免疫荧光法检出阴道加德纳菌阳性181例 (其中假阳性13例), 唾液酸酶法检测阴道加德纳菌阳性177例 (其中假阳性21例); 免疫荧光法检测灵敏度、特异度、准确度、阳性预测值和阴性预测值分别为96.00%、95.37%、95.61%、92.82%和97.45%; 唾液酸酶法检测灵敏度、特异度、准确度、阳性预测值和阴性预测值分别为89.14%、92.53%、91.23%、88.14%和93.19%; 免疫荧光法灵敏度、准确度和阴性预测值显著高于唾液酸酶法, 差异均具有统计学意义 ($\chi^2 = 5.583$, $P = 0.014$, $\chi^2 = 7.136$, $P = 0.008$, $\chi^2 = 5.631$, $P = 0.018$)。**结论** 不同年龄段、不同受检对象阴道加德纳菌感染率各不相同, 免疫荧光法具有较高灵敏度、准确度和阴性预测值, 可用于细菌性阴道病阴道加德纳菌感染者的筛查。

【关键词】 细菌性阴道病; 加德纳菌; 唾液酸酶; 免疫荧光法

Application value of immunofluorescence and sialidase in the diagnosis of vaginal *Gardnerella vaginalis*

Shu Shaowei¹, Cai Changzheng¹, Liang Guoqiong², Chen Aiping². ¹Department of Clinical Laboratory,

²Department of Gynaecology, Shenzhen Longhua New District Central Hospital, Shenzhen 518110, China

Corresponding author: Shu Shaowei, Email: xzr_118@sina.com

【Abstract】Objective To compare the application value of immunofluorescence and sialidase in the diagnosis of vaginal *Gardnerella vaginalis*. **Methods** Total of 456 vaginal secretions samples from married women were tested by immunofluorescence and sialidase. Amsel was taken as the “gold standard”, the diagnostic performance of the two method were compared. **Results** There were 175 cases among the 456 tested women were detected GV positive, with the positive rate of 38.38% (175/456). The detection rate of 18-29 years old was 42.79% (95/222), which was significantly higher than that of 40-49 years old group ($\chi^2 = 5.807$, $P = 0.016$). The detection rate of patients with bacterial vaginosis was significantly higher than those of infertility, adverse pregnancy and other people ($\chi^2 = 13.860$, $P = 0.000$; $\chi^2 = 21.131$, $P = 0.000$; $\chi^2 = 13.860$, $P = 21.492$). There were 181 cases detected GV positive by immunofluorescence detection with 13 cases of false positive, while 177 cases were detected GV positive by sialidase detection with 21 cases of false positive. The sensitivity, specific, accuracy, positive predictive value and negative predictive value of the immunofluorescence detection were 96.00%, 95.37%, 95.61%, 95.37% and 97.45%, while those of the sialidase detection were 89.14%, 92.53%, 91.23%, 88.14% and 93.19%. The sensitivity, accuracy, negative predictive value of immunofluorescence were significantly higher than those of sialidase ($\chi^2 = 5.583$, $P = 0.014$; $\chi^2 = 7.136$, $P = 0.008$; $\chi^2 = 5.631$, $P = 0.018$). **Conclusions** The infection rate of VG varies in patients with different ages and has high sensitivity,

accuracy, negative predictive value, and could be used for vaginal *Gardner fungus* infection in patients with bacterial vaginal disease screening.

【Key words】 Bacterial vaginosis; *Gardnerella vaginalis*; Sialidase; Immunofluorescence

细菌性阴道病(bacterial vaginosis, BV)中阴道加德纳菌(*Gardnerella vaginalis*, GV)感染是妇科常见疾病之一,其发病机制尚未明确,可能与正常菌群被阴道加德纳菌等厌氧菌、人型支原混合菌取代,从而导致阴道菌群失调有关^[1]。唾液酸酶是细菌性阴道感染所产生的特异性酶之一,研究表明唾液酸酶活性在细菌性阴道感染者阴道分泌物中特异性升高,加德纳菌为女性细菌性阴道病主要病原体之一^[2]。因此,唾液酸酶检测法与免疫荧光检测法为目前诊断细菌性阴道病最常用的两种方法,两种检测方法诊断效能比较的文献报道较多,结论各有差异^[3]。本文以此为研究背景,以Amsel检测法为“金标准”,比较免疫荧光法与唾液酸酶法在阴道加德纳菌感染诊断中的应用价值,现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

选择2014年6月至2014年12月于本院妇产门诊就诊或体检已婚女性456例为研究对象,年龄18~55岁,平均年龄为(32.12 ± 3.54)岁。其中18~29岁者222例,30~39岁者145例,40~49岁者74例,50~55岁者15例;合并不孕不育者50例,不良怀孕者69例,细菌性阴道病者166例。所有受检对象72 h内无性生活史、阴道灌洗史及局部用药史。

二、仪器与试剂

光学显微镜购自日本Olympus公司;温浴箱购自上海博迅实业有限公司;干浴器购自金坛市科兴仪器厂;阴道加德纳菌试剂盒购自深圳市迈科龙生物技术有限公司;唾液酸酶法试剂盒购自珠海迪尔生物工程有限公司。

三、检测方法

1. 免疫荧光法:采用无菌窥阴器扩张阴道,用无菌棉签取阴道分泌物置于无菌试管培养,取分泌物标本均匀涂布于玻片中英,晾干后用无水乙醇固定10 min,自然晾干。用移液器吸取5 μl阴道加德纳菌免疫荧光试剂均匀滴在玻片涂样处,37℃温育内30 min。使用去离子水多次冲洗玻片,5~10 s/次。100倍荧光显微镜下发现≥10个亮绿色典型细杆状加德纳菌判读为阳性。

2. 唾液酸酶法:使用珠海迪尔生物工程有限公司提供唾液酸酶检测试剂盒,将沾取分泌物无菌棉拭子内置于唾液酸酶反应管中旋转保温,滴显色液于反应管内20 min,拭子呈淡黄色则判断为阴性,蓝色则判断为阳性。

四、诊断标准

参照叶顺章等^[4]《现代性传播疾病试验诊断技术》拟定:①阴道分泌物为均质稀薄白色乳液状;②分泌物pH>4.5;③加10%氢氧化钾后,分泌物释放鱼腥样氨味道;④分泌物湿片镜下可见线索细胞,且线索细胞占上皮细胞20%为阳性。至少符合其中3条,且第4条为必备标准。

五、统计学处理

采用SPSS 16.0软件对数据进行统计分析,3种方法检出情况等计数资料用频数(n)或率(%)表示,采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、3种方案对不同年龄段患者的检测结果

456例受检妇女中,Amsel法检出阴道加德纳菌阳性175例,检出率为38.38%(175/456),其中18~29岁年龄段检出率为42.79%(95/222),显著高于40~49岁年龄段($\chi^2 = 5.807$ 、 $P = 0.016$)。荧光免疫法检出加德纳菌阳性181例,唾液酸酶法检出加德纳菌阳性177例。3种检测方法总检出率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.172$ 、 $P = 0.917$);不同年龄段检出率比较,差异亦无统计学意义(18~29岁组: $\chi^2 = 0.812$ 、 $P = 0.666$;30~39岁组: $\chi^2 = 0.258$ 、 $P = 0.879$;40~49岁组: $\chi^2 = 0.045$ 、 $P = 0.978$;50~55岁组: $\chi^2 = 0.216$ 、 $P = 0.897$),见表1。

二、不同症状受检对象检出率比较

不同受检对象中,细菌性阴道病患者加德纳菌阳性检出率显著高于不孕不育、不良怀孕及其他人群,差异具有统计学意义($\chi^2 = 13.860$ 、 $P = 0.000$, $\chi^2 = 21.131$ 、 $P = 0.000$, $\chi^2 = 13.860$ 、 $P = 0.000$);不孕不育与不良怀孕及其他人群检出率相比,差异均无统计学意义($\chi^2 = 0.124$ 、 $P = 0.724$, $\chi^2 = 0.461$ 、 $P = 0.497$);且3种检测方法在不同受检对象阴道

加德纳菌检出率差异无统计学意义(不孕不育组: $\chi^2 = 0.493$ 、 $P = 0.781$;不良怀孕组: $\chi^2 = 0.170$ 、 $P = 0.918$;细菌性阴道炎组: $\chi^2 = 1.223$ 、 $P = 0.543$;其他组: $\chi^2 = 1.947$ 、 $P = 0.378$), 详见表2。

三、免疫荧光法与唾液酸酶法诊断效能比较

以Amsel检测法为金标准, 免疫荧光法检出阴道加德纳菌阳性181例(其中假阳性13例), 唾液酸酶法检测阴道加德纳菌阳性177例(其中假阳性21例); 免疫荧光法检测灵敏度、特异度、准确度、阳性预测值和阴性预测值分别为96.00%、95.37%、95.61%、92.82%和97.45%, 唾液酸酶法检测灵敏度、特异度、准确度、阳性预测值和阴性预测值分别为89.14%、92.53%、91.23%、88.14%和93.19%; 其中免疫荧光法灵敏度、准确度、阴性预测值显著高于唾液酸酶法, 比较差异具有统计学意义($\chi^2 = 5.583$ 、 $P = 0.014$, $\chi^2 = 7.136$ 、 $P = 0.008$, $\chi^2 = 5.631$ 、 $P = 0.018$); 两种检测方法特异度、阳性预测值比较, 差异无统计学意义($\chi^2 = 2.004$ 、 $P = 0.157$, $\chi^2 = 2.282$ 、 $P = 0.131$), 详见表3。

讨 论

细菌性阴道病患者为多种细菌复合感染, 阴道内乳酸杆菌相对减少, 其他微生物数量相对增加, 乳酸杆菌被加德纳菌或混合性厌氧菌所替代^[5]。加德纳菌亦称“阴道嗜血杆菌”, 是细菌性阴道病常见病原体^[6]。本研究456例受检妇女中, Amsel法

检出阴道加德纳菌阳性175例, 检出率为38.38%, 其中18~29岁年龄段检出率显著高于40~49岁年龄段; 细菌性阴道病患者加德纳菌阳性检出率显著高于不孕不育、不良怀孕及其他人群。国内外文献也有类似的文献报道^[7-8], 提示不同年龄段、不同症状受检对象阴道加德菌感染程度不尽相同。

Amsel法是检测细菌性阴道病的“金标准”^[9], 但易受人为主观因素及阴道分泌物不同部位pH值差异的影响^[10-12]。唾液酸酶为诱发细菌性阴道病加德纳菌分泌的特异性胞外酶, 通过致病菌排泄到阴道分泌物中, 在细菌性阴道病患者阴道分泌物中表达量显著增加。唾液酸酶法就是基于细菌性阴道病与阴道分泌唾液酸酶密切相关性而建立的一种检测方法^[13]。本研究中, 唾液酸酶法检测阴道加德纳菌阳性177例; 以Amsel为金标准, 唾液酸酶法检测灵敏度、特异度、准确度、阳性预测值、

表3 免疫荧光法与唾液酸酶法检测结果及诊断效能比较

检测方法	金标准Amsel法		合计
	+	-	
免疫荧光法			
+	168	13	181
-	7	268	275
合计	175	281	
唾液酸酶法			
+	156	21	177
-	19	260	279
合计	175	281	

表1 3种方案对不同年龄段患者的检测结果

年龄 (岁)	例数	Amsel法		免疫荧光法		唾液酸酶法	
		阳性数	检出率(%)	阳性数	检出率(%)	阳性数	检出率(%)
18~29	222	95	42.79	104	46.85	102	45.95
30~39	145	55	37.93	52	35.86	51	35.17
40~49	74	20	27.03	21	28.38	20	27.03
50~55	15	5	33.33	4	26.67	4	26.67
合计	456	175	38.38	181	39.69	177	38.82

表2 不同症状受检对象的检出率

组别	受检例数	Amsel法		唾液酸酶法		免疫荧光	
		例数	检出率(%)	例数	检出率(%)	例数	检出率(%)
不孕不育	50	13	26.00	14	28.00	11	22.00
不良怀孕	69	16	23.19	15	21.74	14	20.29
细菌性阴道病	166	93	56.02	98	59.04	88	53.01
其他	171	53	30.99	54	31.58	64	37.43
合计	456	175	38.38	181	39.69	177	38.82

阴性预测值分别为89.14%、92.53%、91.23%、88.14%和93.19%。吴玉竹等^[14]也有类似报道,提示唾液酸酶法基本上能够达到快速检测阴道加德纳菌的要求。其不足之处在于:唾液酸酶也特异性表达于肿瘤细胞,若检测生殖道肿瘤患者易导致假阳性,而且部分诱发细菌性阴道病的厌氧菌因抑制唾液酸酶表达也可能出现假阴性^[15-16]。本研究唾液酸酶法检出177例阴道加德纳菌阳性患者中,经与Amsel金标准比较,筛选出假阳性21例;检出的279例阴道加德纳菌阴性患者中,筛选出假阴性19例,提示其检测效能尚有待提高。

免疫荧光法的检出机制为:异硫氰酸荧光素标记的阴道加德纳菌单克隆抗体特异性结合加德纳菌表面抗原,形成“抗原-抗体-荧光素”结合物,借助荧光显微镜495 nm波长照射,能够发出绝色荧光^[17-19]。而且单克隆抗体是单个B淋巴细胞杂交瘤细胞分裂出细胞系分泌抗体,仅能识别抗原分子上特定抗原,不但表现为抗体特异性均一性,而且表现为类、亚类以及亲和力上也为均一性^[20-23]。本研究中,免疫荧光法检出阴道加德纳菌阳性181例(其中假阳性13例),其检测灵敏度、特异度、准确度、阳性预测值、阴性预测值分别为96.00%、95.37%、95.61%、92.82%和97.45%,与唾液酸酶法比较,免疫荧光法灵敏度、准确度和阴性预测值显著高于唾液酸酶法,国内外文献资料也有类似报道^[24-25],提示免疫荧光法在阴道加德纳菌感染诊断中,具有更高的灵敏度与准确度。

本研究表明,不同年龄段、不同症状受检对象阴道加德纳菌感染率各不相同,免疫荧光法有助于提高检测的灵敏度、准确度和阴性预测值。由于受检对象来源与数量的限制,所得结论可能会出现偏倚,故尚有待于扩大样本、展开多中心的研究加以证实。

参 考 文 献

- 1 周华佳. 3项联合检测在细菌性阴道病治疗效果评价中的研究[J]. 检验医学与临床,2012,9(21):2714-2715.
- 2 Abdelaziz ZA, Ibrahim ME, Bilal NE, et al. Vaginal infections among pregnant women at Omdurman Maternity Hospital in Khartoum, Sudan[J]. J Infect Dev Ctries,2014,8(4):490-497.
- 3 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胞性阴道病中的临床应用[J]. 中国实验诊断学,2013,17(2):357-358.
- 4 叶顺章,张木有主编. 现代性传播疾病试验诊断技术[M]. 广州:广东科技出版社,1999:107-110.

- 5 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.
- 6 陈绮华,黎健勇,黄可佳. 探讨佛山地区育龄妇女阴道炎合并加德纳菌感染与不孕症的关系[J]. 医学检验与临床,2015,26(1):52-53,78.
- 7 Machado A, Jefferson KK, Cerca N. Interactions between lactobacillus crispatus and bacterial vaginosis (BV)-associated bacterial species in initial attachment and biofilm formation[J]. Int Mol Sci,2013,14(6):12004-12012.
- 8 林珠,陈柳青,郭永聪,等. 线索细胞和BV Blue试验在细胞性阴道病中的诊断价值分析[J]. 检验医学与临床,2014,11(Z1):323-324.
- 9 黄丽娜,范琦慧,江静逸,等. 孕妇细菌性阴道病与羊膜腔感染相关性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2014,24(22):5654-5656.
- 10 郝家明,刁志宏,黎永新,等. BV致病菌群分布状况及BV快速检测试剂盒诊断细菌性阴道病的价值[J]. 海南医学,2015,26(22):3412-3413.
- 11 姚虹,吕治,苏建荣,等. 实时荧光定量PCR检测阴道加德纳菌的方法及价值[J]. 现代中西医结合杂志,2013,22(7):768-770.
- 12 林子刚,徐瑞宏,李晶晶,等. 细菌性阴道病实验检测方法研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(23):3195-3197.
- 13 刘浩,耿春惠,黄永祥,等. 育龄期慢性前列腺炎患者精液病原体分布与耐药分析[J]. 中华医院感染学杂志,2014,24(8):1871-1873.
- 14 吴玉竹,胡秀学,张昭勇. 唾液酸酶法,多胺法与TCT找线索细胞在细菌性阴道病中的诊断价值[J]. 现代中西医结合杂志,2013,22(25):2837-2838.
- 15 杨岚,杨娟,孟西娜,等. 免疫荧光法在阴道加德纳菌检测中的临床应用[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2012,32(8):1168-1170.
- 16 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.
- 17 张贤化,魏冰,张天辉,等. 免疫荧光法检测阴道加德纳菌和唾液酸苷酶活性测定的结果比对[J]. 浙江临床医学,2014,16(12):1993-1994,1999.
- 18 蓝玉清,陆奉科. 直接免疫荧光法在阴道加德纳菌感染诊断中的应用研究[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(18):2437-2439.
- 19 黄跃深,蒲小勇,闻安民,等. 男性精液中阴道加德纳菌感染对精液质量参数影响的初步探讨[J]. 国际泌尿系统杂志,2016,36(2):213-217.
- 20 李荣琴. 河北省张家口地区育龄期妇女阴道炎病原体分布,耐药性特征及危险因素分析[J]. 中国基层医药,2013,20(12):1842-1844.
- 21 陈丽丹,黄晓燕,李明亮,等. 尿液中阴道加德纳菌的分离培养及药敏试验[J]. 现代检验医学杂志,2013,28(6):110-111,114.
- 22 黄伟忠,张莉,张扬,等. 加德纳菌感染流行病学调查及实验室快速检测方法评价[J]. 中国热带医学,2015,15(10):1198-1200,1216.
- 23 潘万俊,陆岩平,毛菊秀,等. 522例女性阴道分泌物检验结果分析[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(11):1496-1497.
- 24 Turovskiy Y, Cheryian T, Algburi A, et al. Susceptibility of *Gardnerella vaginalis* biofilms to natural antimicrobials subtilisin, ε-poly-L-lysine, and lauramide arginine ethyl ester[J]. Infect Dis Obstet Gynecol,2012:284762.
- 25 Taylor-Robinson D, Boustoullier YI. Damage to oviduct organ cultures by *Gardnerella vaginalis*[J]. Int J Exp Pathol,2011,92(4):260-265.

(收稿日期: 2015-06-20)

(本文编辑: 孙荣华)

舒少为,蔡长争,梁国琼,等. 免疫荧光法与唾液酸酶检测在阴道加德纳菌感染诊断中的应用价值[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2016,10(3):346-349.