

- 性及金属 β 内酰胺酶基因型研究[J]. 临床输血与检验, 2008, 10(2): 114-118.
- [13] 石青峰, 高玲. ICU 脑膜炎败血杆菌所致医院获得性感染的临床特征及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(1): 27-28.
- [14] Hsu MS, Liao CH, Huang YT, et al. Clinical features, antimicrobial susceptibilities, and outcomes of *Elizabethkingia meningoseptica* (*Chryseobacterium meningosepticum*) bacteremia at a medical center in Taiwan, 1999-2006 [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2011, 30(10): 1271-1278.
- [15] Lin PY, Chen HL, Huang CT, et al. Biofilm production, use of intravascular indwelling catheters and inappropriate antimicrobial therapy as predictors of fatality in *Chryseobacterium meningosepticum* bacteraemia[J]. Int J Antimicrob Agents, 2010, 36(5): 436-440.
- [16] Yum JH, Lee EY, Hur SH, et al. Genetic diversity of chromosomal metallo-beta-lactamase genes in clinical isolates of *Elizabethkingia meningoseptica* from Korea[J]. J Microbiol, 2010, 48(3): 358-364.
- [17] 张嵘, 周宏伟, 陈功祥. 脑膜败血杆菌产金属 β -内酰胺酶的检测及基因型的研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(8): 734-738.
- [18] Gokce IK, Oncel MY, Ozdemir R, et al. Trimethoprim-sulfamethoxazole treatment for meningitis owing to multidrug-resistant *Elizabethkingia meningoseptica* in an extremely low-birthweight, premature infant[J]. Paediatrics Int Child Health, 2012, 32(3): 177-179.
- [19] 黄庆宁, 刘丁, 陈萍, 等. 脑膜败血伊丽莎白金菌引发成年患者下呼吸道感染的危险因素及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(14): 3028-3030.

(收稿日期: 2013-05-08 修回日期: 2013-07-12)

阴道分泌物检测方法的研究进展

李鸿滨, 韦吕伟 综述, 伍桂枝 审校 (广州军区桂林疗养院检验科, 广西桂林 541003)

【关键词】 阴道分泌物; 方法; 原理; 研究进展

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.23.070 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)23-3215-03

白带常规检查是妇产科最常规的检验项目, 通过细菌、寄生虫及清洁度检查, 对阴道内菌群状况作出综合评价, 以了解健康情况, 为妇女外生殖道感染诊断、治疗提供科学依据^[1]。因此提高阴道真菌检测阳性率, 有助于临床医生对真菌性阴道炎患者的诊治。本文对白带检查方法技术进展进行了归纳整理, 综述如下。

1 直接涂片法

白带检查最传统最常见的是湿片悬滴法和改进后效果更好的甲苯胺蓝盐水、加热、稀碱“三步法”及超高倍镜检测法^[2-3]。此类方法具有快速、方便、准确和成本低的特点, 一张白带涂片上可同时做滴虫、真菌、球菌、线索细胞、白细胞等多项常规检查。在 25~42℃ 时可见到活动的滴虫, 适合基层医疗单位和初诊检查及体检筛选。其不足是要求检验师经验高, 主观性强, 影响因素多, 同一标本, 同一检验师几次涂片检查, 可能获得不同的结果; 同一例标本, 不同检验师涂片检查, 更可能获得不同的结果; 同一患者由不同医生取材也可能获得不同的结果, 所以漏检率高^[4]。

2 染色法

染色法的灵敏度高于直接涂片法, 具有可在 1 张涂片上同时做多项检查, 不受保温措施限制, 污染小, 可保存复查、方法简单、结果准确、检出率高等优点。不足是: 操作繁琐、费用高, 易受染色时间、染色液浓度和染色液沉渣等影响, 不利于门诊和体检筛选。常见有: 革兰染色、瑞-姬姆萨染色、瑞氏染色、亚甲蓝染色、白带多功能染色(BTR)、多项检测快速染色技术(CTB)等。

2.1 革兰染色 优点为细菌、真菌(特别是淋球菌)易于判断; 不足之处为背景不够清晰, 核异质细胞、癌细胞、滴虫等不易辨别, 容易漏检^[5]。

2.2 瑞氏染色和亚甲蓝染色 二者在查滴虫、真菌、线索细胞、淋球菌、清洁度等阳性率同革兰染色结果基本一致, 但比其更便捷^[6-7]。

2.3 瑞-姬姆萨染色法 优点为背景相对清晰, 核异质细胞、癌细胞、滴虫等易辨别; 不足是淋球菌不易辨别(只能依据形态特点进行辨别), 色彩不够丰富^[5]。

2.4 BTR 优点为背景清晰, 色彩丰富, 对细菌、真菌、纤毛菌、滴虫、细胞形态结构等均易于辨别; 不需要特殊设备, 染色标本可较长时间保存以便复查及作为质量控制。不足在于淋球菌不易辨别(只能依据形态特点进行辨别)^[5,8]。

2.5 CTB 其染液由 R1(红色)和 R2(蓝色)组成, 因其染色液的效能能使病原体形态特点更加清晰显现, 可做多项检查, 还可以做阴道鳞状细胞分类计数, 观察卵巢功能; 方法简便、快速、检出率高^[8-9]。

3 培养法

培养法具有高灵敏度和高特异性, 常被誉为是诊断细菌性阴道病和滴虫性阴道炎的“金标准”, 缺点是耗时长, 需要特定的实验环境和材料, 适合科研和用于确诊, 不易于基层医疗单位和门诊体检筛选, 难以推广。

3.1 普通细菌培养法和快速培养法 文献^[10]报道普通细菌培养法灵敏度为 94.8%, 特异度为 99.2%, 阳性率为 23.6%(356/510); 快速培养法灵敏度为 94.8%, 特异度为 99.2%, 阳性率为 23.2%(350/510), 两种方法差异无统计学意义($P > 0.05$), 但是快速培养法培养时间只需 2.5 h, 而普通细菌培养法常常需要 3 d 甚至 1 周才能得到准确结果。

3.2 念珠菌显色培养基法 20 世纪 90 年代法国研究者开发, 这种培养基的原理是根据酶底物法, 通过显色来区别不同念珠菌, 25~28℃ 培养 24~48 h 后, 白色念珠菌显蓝绿色; 热

带念珠菌显蓝灰色或铁蓝色;光滑念珠菌显紫色;克柔假丝酵母显粉色;其他念珠菌显白色,细菌被抑制(常用的如 CHROMagar 念珠菌显色培养等)。其优点是可直接使用白带标本,只需 24~48 h 培养即可诊断外阴阴道念珠菌病(VVC),并鉴别引起 VVC 常见的念珠菌。它的出现是念珠菌检测鉴别技术的一个重大进展,检测简单、鉴别准确。缺点是培养时间偏长,费用高^[11]。

4 酶学法

酶学法其原理与显色培养基基本类似,利用过氧化氢(H_2O_2)是阴道乳酸杆菌的标志物;唾液酸苷酶(NA)是加德纳菌;游动弯曲杆菌是细菌性阴道炎(BV)致病菌的标志物;白细胞脂酶(LE)是炎症细胞的标志物;脯氨酸氨基肽酶(PIP)是阴道加德纳菌和动弯杆菌标志物等特异性酶与反应孔底物反应,通过显色液作用发生颜色变化,然后观察或测定呈色的深浅来鉴别诊断。常用的有:单项检测法和联合检测法。

4.1 单项检测法 是对白带某一项特异酶或特性进行检测。常见的有 NA 单项检测法和多胺快速检测法(细菌性阴道病快速检测卡)及阴道炎检测试纸法(阴道炎症自我检测卡)等。

4.1.1 唾液酸酶检测法 是检测阴道感染细菌所产生的特异性酶之一唾液酸酶,文献^[12]报道其敏感性达 92.04%,特异性达 96.85%。

4.1.2 多胺快速检测法(细菌性阴道病快速检测卡) 其原理是 BV 患者的阴道加德纳菌在代谢过程中可产生胺类物质及支原体和某些厌氧菌等微生物也可因分解尿素或蛋白质而产生氨。该法就是基于经典的胺试验设计而成,把经典胺试验与复合膜技术相结合。陈萍等^[13]报道其敏感性、特异性分别为 92.7%、81.2%;另缪丽韶等^[14]报道其敏感性、特异性达 92.5%、92.6%,该法简便、快速、灵敏度高、费用低,但其结果的影响因素较多,容易出现假阳性,特异性不强。

4.1.3 阴道炎检测试纸法(阴道炎症自我检测卡) 为我国专利发明,其原理是通过白带酸碱度 pH 值检测来初步判断健康状态。pH 为 4.0~4.5,呈酸性,正常;pH>4.5~5.5,最理想健康状态;pH>5.5~7.0,轻度炎症;pH>7.0~8.0,严重阴道炎。该法简单、方便、快速,但其误差大,准确率低,如近期性交、月经前后、阴道冲洗、大量宫颈黏液等都会造成 pH 升高,只适合于家庭自我排查检测,不适合临床实验室诊断。

4.2 联合法 由于单项检测法检查项目的局限性,临床常以联合检测法代替,主要以五联法为主,文献^[15]报道五联检测法白带中的 H_2O_2 、LE、NA、PIP 敏感性分别为 88.6%、99.5%、90.0%、91.4%;特异性分别为 55.8%、72.6%、96.4%、96.5%。联合法能进行多标本多项目同时检测,工作效率比单项检测法高。

5 免疫学法

新型免疫学方法是近年来出现的,利用抗原抗体反应检测标本中的特异性抗原或抗体,为阴道病的诊断提供了新的发展途径。此方法优点是简便、快速、不需要特殊仪器及较高准确性适合临床推广使用,不足是不能鉴别到具体菌种。常见的有胶体金法(DICA)、快速凝集法及酶联免疫吸附试验(ELISA)等。

5.1 胶体金法(DICA) 原理是利用双抗体夹心法检测标本中是否含有相应的待测抗原。将抗阴道念珠菌、滴虫分泌性蛋白纯化后包被在胶体金上成为金标抗体,检测时,当标本中含有分泌性蛋白时,在检测区(T区)时形成金标抗体-抗原-抗体复合物显示红色线条,呈阳性反应。王霞等^[15]报道该法检测阴道念珠菌的敏感性和特异性分别为 95.5%和 98.4%;周青

云^[16]报道该法检测阴道毛滴虫的敏感性和特异性分别为 82.7%和 91.5%。

5.2 快速凝集法 是近年推出的新方法,该方法用针对念珠菌的特异性抗体直接测定阴道分泌物中的念珠菌。如标本中有念珠菌,肉眼可见紫色凝集颗粒,判断阳性;肉眼若未见紫色凝集颗粒,则判断为阴性。快速凝集法检测阴道念珠菌具有简便、检出率高等特点,不需镜下鉴别,特别适合于菌量较少而有自觉症状的外阴道念珠菌病患者^[17-18]。

5.3 ELISA 常用的是双抗体夹心 ELISA,可检测白带及血清中非特异性物质如白细胞介素-2(IL-2)、IL-8、IL-10 及肿瘤坏死因子 α 水平,从而初步判断阴道炎感染情况。该法优点是可以血清作标本,重复性强,敏感性较强,不足的是操作繁琐,检测时间长,特异性不强。

6 细胞学检验法(FCM)

FCM 是 20 世纪 70 年代发展起来的一种对单细胞进行高速分析和分选的高新技术。它的基本工作原理是:90°侧向散射光的大小判断细胞内部颗粒多少,前向散射光强度反映细胞大小。吴丽娟等^[19]将流式细胞术应用于白带检查上的研究,是方法学研究上的一次有益的探索,具有独特的方法学优势。这种以流动的方式(相对静态方式)测量细胞与传统的用显微镜检测细胞比较,具有速度快、精度高、准确性好、重复性高的特点,不足是需要特定的仪器设备(流式细胞分析仪),其价格昂贵,不宜基层医疗单位推广。

7 分子生物学

随着分子生物学的发展,微生物的分类鉴定从表型特征鉴定深化为基因特征鉴定。基于 16S rRNA 基因聚合酶链反应(PCR)扩增是目前最常用的检测阴道微生物的方法^[20]。Fredricks 等利用 16S rRNA 基因 PCR,在 BV 组中检测到传统培养方法未检测到新菌属,包括阴道阿托波菌、巨型球菌属、小杆菌属/嗜血杆菌族、纤毛菌属、迟缓埃格特菌、BVAB1、BVAB2、BVAB3 等。金春子^[22]报道了采用实时定量 PCR 技术检测女性生殖道感染患者宫颈分泌物中淋球菌(NG)、解脲支原体(UU)、沙眼衣原体(CT)情况。分子生物学方法使检测阴道微生物的种类更全面、更准确。检出率高于其他方法。利用这些分子生物学方法可以研究不同微生物对阴道微生态作用,研究各种生殖道感染性疾病(如 BV)或不同生理状态下,如青春期及妊娠期时的微生态菌群变化,但其需要特殊仪器设备和特定工作环境,操作复杂、费时长、成本高,目前仅用于实验研究,尚未广泛推广。

8 结 语

白带的检查技术方法很多,不同方法有不同特点。传统方法(如直接涂片法和染色法)简捷、方便、直观,但漏检率高。培养法有较高的敏感性和特异性,常被誉为“金标准”,但操作复杂、费时长。酶学法的敏感性和特异性高,也可以区分不同菌种,与培养法相比检出时间大大缩短,但要求标本的条件高,一般需要使用分离菌株,直接使用白带难以保证有足够的酶量或酶活力。免疫学检测法方便、快速,适合批量体检筛选,但在区别具体菌种方面存在不足,基本上都是针对侵入性念珠菌感染,对于 VVC 检测实用价值不大^[11]。其他像 FCM 和分子生物学方法,鉴定准确,但设备昂贵、检测费用高、操作复杂、技术要求高、检测周期长,所以仅具有科研和确诊意义。

综上所述,没有哪种方法是“万能”的,临床上常常几种方法联合检测,避免误差,提高准确率,为临床医生早期诊断、早期治疗提供重要依据。

参考文献

- [1] 陈邹阳. 三种不同方法检测妇女白带效果观察[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(7): 865-866.
- [2] 李文峰, 张慧晶, 管建. 阴道分泌物检查新方法[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(6): 703-704.
- [3] 张雪琳. 超高倍显微仪检查阴道分泌物病原体的结果分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(20): 2237-2238.
- [4] 朱柏珍, 文艳琼, 洗中任. 阴道清洁度判断标准的困惑与建议[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(3): 342-343.
- [5] 刘念, 周云飞, 陆昊, 等. 阴道分泌物 3 种染色方法比较[J]. 检验医学与临床, 2010, 8(13): 1379-1380.
- [6] 苏贻华. 阴道真菌检测方法的比较[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(4): 475-476.
- [7] 杜拥军, 薛忠花. 三种不同检验方法对阴道念珠菌的检验比分析[J]. 中国实用医药, 2011, 6(19): 124-125.
- [8] 周禄顺, 徐晓仙. 妇科白带涂片多项检查快速染色技术应用探讨[J]. 实验与检验医学, 2008, 26(1): 77, 46.
- [9] 刘志贤, 彭素香, 李剑鸿, 等. 3 种方法对阴道分泌物中念珠菌检出率的比较[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(16): 2006-2007.
- [10] 刘志贤. 外阴阴道念珠菌检测方法的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(16): 2039-2042.
- [11] 王名南. 唾液酸酶法在细菌性阴道病诊断中的应用价值[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(8): 965-966.
- [12] 王玉莲. 快速检测卡在细菌性阴道病诊断中的应用价值[J]. 医疗装备, 2009, 22(7): 63-64.
- [13] 陈萍, 洪开听, 夏邦世, 等. 多胺检测快速诊断细菌性阴道病[J]. 检验医学, 2009, 24(3): 242-243.
- [14] 缪丽韶, 梁良英, 杨玉兴, 等. 4 项检测指标诊断细菌性阴道病的价值比较[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(13): 1324-1325.
- [15] 王霞, 何聚莲, 唐林国, 等. 胶体金法在检测外阴阴道念珠菌中的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(6): 496-497.
- [16] 周青云. 胶体金快速检测阴道毛滴虫的临床运用分析[J]. 当代医学, 2010, 16(1): 77.
- [17] 李军. 阴道念珠菌的检验方法比较分析[J]. 中国当代医药, 2010, 17(22): 100-101.
- [18] 陈卫群, 周方红. 四种不同检验方法对阴道念珠菌的检验结果对比分析[J]. 当代医学, 2011, 17(10): 46-47.
- [19] 吴丽娟, 李茂仕, 高飞, 等. 阴道分泌物清洁度流式细胞学检验方法的建立与初步应用研究[J]. 重庆医学, 2008, 37(3): 238-240.
- [20] 陈晴. 非培养法检测阴道微生态的进展[J]. 医学综述, 2012, 18(15): 2467-2470.

(收稿日期: 2013-05-14 修回日期: 2013-07-05)

卵巢粒层细胞瘤的研究进展

刘娜娜¹, 龙腾²综述, 谭兴平^{1△}审校(重庆市合川区人民医院 1. 肿瘤科; 2. 普外科 401520)

【关键词】 卵巢肿瘤; 粒层细胞瘤; 成人型卵巢粒层细胞瘤; 幼年型卵巢粒层细胞瘤

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 23. 071 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)23-3217-02

卵巢粒层细胞瘤(OGCT)是一种卵巢性索-间质性肿瘤, 占有卵巢恶性肿瘤的 5%~8%, 而 OGCT 只占有性索-间质性肿瘤的 40%, 故 OGCT 只占卵巢肿瘤的 2% 以下^[1]。国外有研究报道, OGCT 年发病率为 0. 4/10⁴~1. 7/10⁴^[2]。OGCT 的病因目前尚不很明确, 有研究发现患有不孕和诱导排卵的女性发病率增高。1999 年, 世界卫生组织(WHO)根据 OGCT 的临床表现、肿瘤病理学特征及复发潜能, 将其分为幼年型粒层细胞瘤(JGCT)和成年型粒层细胞瘤(AGCT)两种^[3]。

1 临床表现

OGCT 临床表现多为盆腔包块、腹痛、腹胀、下腹部不适、腹水等。B 超显示一侧或双侧卵巢实性或囊实性混合占位性病变, 多数患者为单侧盆腔囊实性包块, 且肿瘤多发生于右侧。OGCT 出现腹水征较少, 少数患者以腹部进行性增大即腹水的生成为主要表现, 大约 10% 的 AGCT 可出现腹水^[4]。另外, 因雌激素由非黄素化的粒层细胞产生, 故 OGCT 具有分泌雌激素的功能, 是一种功能性肿瘤, 约 3/4 的患者雌激素水平增高, 多发生于生育期和绝经后的妇女, 以 35~60 岁最多见, 临床上可表现为女性化综合征。大多数发生于儿童或青春期前的 JGCT 者表现出假性青春期或假性性早熟症状, 包括乳房发育、骨盆发育、骨骼改变、不规则的阴道流血及其他第二性征

等^[5]。有病例报道显示, 尚无月经初潮的 OGCT 患者在手术后短期内会发生初次月经, 血清抑制素的升高和随之而来的卵泡刺激素(FSH)的降低可能是导致此类患者手术后月经初潮的诱发因素^[6]。生育期 OGCT 患者可出现月经量多或月经紊乱, 绝经期患者常表现为绝经后阴道不规则流血、绝经期延迟等内分泌紊乱症状及乳腺增生等^[7]; 并多见并发子宫内膜增生, 甚至子宫内膜癌, 这是由于雌激素对子宫内膜的长期刺激导致的。绝经期患者的 OGCT 患者发生子宫内膜增生和癌变的概率高于生育期患者。相关报道指出, 绝经期 OGCT 患者子宫内膜增殖症发生率较高, 达 51%, 部分可进展为子宫内膜腺癌, 后者发生率为 15%~28%。故临床上出现上述征象时, 应考虑到本病的可能, 进一步确定附件区有无包块。另外, 有些 OGCT 可分泌雄性激素, 进一步引起男性化, 如闭经、多毛、声音变粗等。有少数患者并未表现出临床症状, 仅在治疗不孕过程中或妇科查体时被无意中发现。有些附件区包块不明显, 只有内分泌紊乱表现, 另有患者术前月经改变不明显, 容易引起误诊。因绝经期妇女常并发子宫内膜癌, 所以建议对绝经期 OGCT 患者应常规行诊刮术, 以免遗漏子宫内膜癌诊断。JGCT 患者最可能伴发其他少见疾病, 如内生软骨瘤病(Ollie's 病)、血管瘤(Maffucci's 综合征)等, 属于中胚层发育异常性疾病, 20 岁以后还可能会继发其他类型肿瘤, 如肉瘤最为常见。

△ 通讯作者, E-mail: tanxingping@126. com。