

镜检法和核酸杂交法检测念珠菌性阴道炎的差异及评价

赵运转, 史从宁, 张国军, 康熙雄(首都医科大学附属北京天坛医院检验科, 北京 100050)

【摘要】 目的 分析念珠菌性阴道炎菌种的构成及 2 种念珠菌检测方法(镜检法、核酸杂交法)的差异。**方法** 选取 2012 年 1~4 月北京天坛医院 90 例念珠菌培养阳性的阴道分泌物标本, 分析以镜检法和核酸杂交法检测的结果。**结果** 白色念珠菌是念珠菌性阴道炎的主要致病菌(77.8%), 其他所有念珠菌中克柔念珠菌的比例最高(12.2%); 镜检法对白色念珠菌检测的灵敏度为 69.2%, 对其他念珠菌的检测灵敏度为 0 或很低, 核酸杂交法对白色念珠菌的检测灵敏度为 95.4%, 对其他所有念珠菌的检测灵敏度为 100.0%, 对少量白色念珠菌的检出率为 40.0%。**结论** 白色念珠菌是念珠菌性阴道炎的主要致病菌, 2 种检测方法各有利弊, 需根据实际情况选择合适的方法。

【关键词】 念珠菌性阴道炎; 镜检法; 核酸杂交法; 培养法

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.23.017 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)23-3275-02

Comparison and validation of performance of microscopic method and nucleic acid hybridization in the diagnosis of candidal vaginitis ZHAO Yun-zhuan, SHI Cong-ning, ZHANG Guo-jun, KANG Xi-xiong (Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China)

【Abstract】 Objective To investigate the composition of pathogenic bacteria of candidal vaginitis, and analyze differences between microscopic method and nucleic acid hybridization in the diagnosis of candidal vaginitis. **Methods**

A total of 90 cases of culture-positive vaginal secretions samples were detected by microscopic method and nucleic acid hybridization, and results detected by the two methods were analyzed. **Results** *Candida albicans* was the most common pathogenic bacteria of candida vaginitis (77.8%), and the proportion of *Candida krusei* was the highest (16%) compared with other pathogenic bacteria of candidal vaginitis. The diagnostic sensitivity of microscopic method in detecting *Candida albicans* was 69.2%, while in detecting other pathogenic bacteria of candidal vaginitis was zero or very low. And the diagnostic sensitivity of nucleic acid hybridization in detecting *Candida albicans* was 95.4%, in detecting other pathogenic bacteria of candidal vaginitis was 100.0% or very high, and in detecting small amounts of *Candida albicans* was 40%. **Conclusion** *Candida albicans* could be the main pathogenic bacteria of candida vaginitis, and the two detection methods could have different advantages and disadvantages, so it might be necessary to select an appropriate method based on actual situation.

【Key words】 candida vaginitis; microscopic method; nucleic acid hybridization method; culture method

念珠菌性阴道炎或真菌性阴道炎, 是指由念珠菌感染引起的外阴阴道炎症, 是女性生殖道常见感染之一^[1-4]。检测方法目前多为生理盐水涂片镜检法, 以查见假菌丝或芽生孢子为阳性, 方法简便快捷, 灵敏度可达到 70% 左右^[5]。但最近一项研究表明, 显微镜镜检法与培养法在念珠菌检测方面的一致性明显低于核酸杂交法与培养法的一致性。为了了解念珠菌性阴道炎的菌群分布情况及核酸杂交法与常规镜检法在念珠菌检测方面存在差异的原因, 本文对 90 例念珠菌培养阳性的阴道分泌物标本的检测结果进行分析, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2012 年 1~4 月妇产科门诊就诊的念珠菌感染患者 90 例, 年龄 20~68 岁。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 由妇产科医生用 3 支无菌棉拭子取阴道、宫颈管及后穹窿分泌物, 一支放入无菌标本采集管中, 用于真菌显色培养基的接种; 另一支放入样品采集管, 用于核酸杂交法的检测; 最后一支在滴加有生理盐水的清洁载玻片上涂抹, 用于显微镜镜检。

1.2.2 显微镜检查 将涂有阴道分泌物的载玻片放在显微镜

下进行阴道分泌物常规检查, 严格按照《全国临床检验操作规程》判断阴道清洁度^[6]。然后在细胞团块的地方滴加 5% NaOH 两滴, 观察有无真菌芽生孢子或假菌丝。

1.2.3 核酸杂交法 试剂与仪器由美国 BD 公司提供。在样本采集管中滴加裂解液, 85℃ 孵育 10 min, 加入缓冲液。然后将样品滴入试剂板中, 上机进行杂交-洗脱-酶结合物-洗脱-显色流程处理, 然后肉眼观察结果, 蓝色为阳性, 无色为阴性。

1.2.4 真菌培养及鉴定 念珠菌显色培养基由法国科玛嘉公司提供。无菌条件下将棉拭子直接画线接种于科玛嘉显色培养基上, 35℃ 培养, 48 h 后观察菌落颜色进行菌种的鉴定。科玛嘉显色培养基上的绿色菌落为白色念珠菌, 蓝色为热带念珠菌, 粉色为克柔念珠菌, 紫色为光滑念珠菌, 白色为其他念珠菌。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据分析, 计数资料以百分率表示。

2 结果

2.1 念珠菌性阴道炎菌型分析 70 例患者感染白色念珠菌, 所占比例最高(77.8%); 其次为克柔念珠菌, 共 11 例(12.2%) 感染; 3 例感染其他念珠菌; 热带念珠菌和光滑念珠菌感染各

有 1 例。此外,热带念珠菌合并克柔念珠菌 3 例;白色念珠菌合并其他念珠菌感染 1 例。

2.2 两种方法对 90 例念珠菌阳性标本的检出情况 65 例白色念珠菌镜检阳性 45 例、核酸杂交法阳性 62 例,灵敏度分别为 69.2% 和 95.4%;而少量白色念珠菌、克柔念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌合并克柔念珠菌、白色念珠菌合并其他念珠菌镜检均未检出阳性,核酸杂交法少量白色念珠菌、克柔念珠菌的灵敏度分别为 40.0% 和 81.8%,其余均为 100.0%。见表 1。

表 1 两种方法对 90 例念珠菌培养阳性标本的检出情况[n(%)]

念珠菌株	n	镜检法	核酸杂交法
白色念珠菌	65	45(69.2)	62(95.4)
少量白色念珠菌	5	0(0.0)	2(40.0)
克柔念珠菌	11	0(0.0)	9(81.8)
热带念珠菌	1	0(0.0)	1(100.0)
光滑念珠菌	1	0(0.0)	1(100.0)
其他念珠菌	3	1(33.3)	3(100.0)
热带+克柔念珠菌	3	0(0.0)	3(100.0)
白色念珠菌+其他	1	0(0.0)	1(100.0)

3 讨论

念珠菌属于条件致病菌,黏附于阴道的任何部位,当机体菌群平衡被打破时,念珠菌大量繁殖引起阴道炎。近年来,复发性真菌性阴道炎越来越引起人们的注意,除了患者的免疫力下降和真菌的耐药性,不同真菌对药物的敏感性不同,也是复发性真菌性阴道炎产生的一个重要原因,因此念珠菌菌型鉴定对药物选择的指导具有重要意义。

据报道,科玛嘉显色培养基对白色念珠菌、热带念珠菌、克柔念珠菌的敏感性和特异性都超过 99%,而且操作和判读方法简便快速^[7]。本课题组最近一项研究共分析了 400 例阴道分泌物标本,以科玛嘉选择性显色培养基作为念珠菌检测的金标准,共发现 90 例念珠菌阳性标本。本文对这 90 例念珠菌的菌型进行进一步分析,发现白色念珠菌所占的比例最高(77.8%),其他念珠菌占 22.2%,与大多数报道相符^[8-9];而克柔念珠菌(12.2%)在其他所有念珠菌感染中所占比例最高,与文献^[8,10-11]的报道存在差异,可能与标本例数较少有关,也可能与地域差异有关。

本课题组最近的研究还比较了镜检法和核酸杂交法分别对 400 例阴道分泌物真菌的检出率,发现两者之间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。为了明确差异存在的具体原因,本研究分析了两种方法检出 90 例念珠菌阳性标本不同菌株的情况,发现镜检法的真菌检出率比核酸杂交法低有两方面原因:(1)镜检法对念珠菌性阴道炎主要感染菌型(白色念珠菌)的检测灵敏度为 69.2%,而核酸杂交法对白色念珠菌的检测灵敏度为 95.4%;(2)镜检法对少量白色念珠菌及其他念珠菌的检测灵敏度几乎是 0,即几乎 100.0%漏检。而核酸杂交法对其他所有念珠菌检测的灵敏度均较高,对热带念珠菌、光滑念珠菌和其他念珠菌以及混合感染的念珠菌的检测灵敏度为 100.0%,对克柔念珠菌的检测灵敏度为 81.8%,对少量白色念珠菌的检测灵敏度为 40.0%,这是因为核酸杂交法设定的真菌数大于 104 CFU/mL 即为阳性。由于念珠菌属于阴道常驻菌群,念珠菌性阴道炎属于机会感染,因此关于念珠菌数量与念珠菌性阴道炎的关系也是学者们研究的课题。

目前临床上用于检测阴道念珠菌感染的方法很多,除了需

要考虑检测方法的灵敏度、特异性、阳性似然比、阴性似然比等客观评价指标外,还应考虑临床用药,即致病菌对药物的敏感性。如果不同念珠菌对药物的敏感性相似就不必鉴定出菌株,只需提高检测的灵敏度。如果不同念珠菌对药物的敏感性不同,则需要进一步鉴别出菌种,以便于更好的治疗。此外,检测方法操作的简便性、用时长短以及所需成本等也是考虑的重要因素。科玛嘉培养法一次培养可同时鉴定出多种念珠菌,特别是对抗真菌药物有耐药性的热带念珠菌和克柔氏念珠菌,操作和判读方法都比较简便,但培养需 24~48 h,并且培养的菌落数较少时无法区分感染、污染及带菌状态。核酸杂交法检出率较高,在真菌检测方面与培养法有较好的一致性,但整个实验过程耗时约 2 h,而且无法区分菌株,不利于临床治疗。镜检法只能检查出 70.0% 左右的白色念珠菌,对少量白色念珠菌和只有酵母相的其他念珠菌的感染,几乎 100.0%漏检;但阴道念珠菌感染中白色念珠菌感染约占 80.0%,因此镜检法可检出 56.0% 左右的念珠菌感染,而且几乎都是白色念珠菌感染,有利于临床用药的选择,操作简便,耗时短(约几分钟),成本低,仍然是许多基层实验室的首选。但对于复发性或难治性真菌性阴道炎的检测仍需要做菌种鉴定及药敏试验。

综上所述,核酸杂交法的灵敏度高,但耗时较长,且不能区分不同菌型;而镜检法的灵敏度不高,但主要检出白色念珠菌,有助于临床用药,且耗时短,成本低;因此,实验室应根据具体的临床需求和实验室条件选择检测方法。

参考文献

- [1] 赵运转,史从宁,张国军,等. 妇科门诊 16 048 例阴道分泌物常规检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(20):10-12.
- [2] 石晓,王素燕. 我国阴道炎患者阴道分泌物病原体分布情况[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(1):138-140.
- [3] 王娟. 某医院门诊患者阴道分泌物检查结果分析[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(15):1872-1873.
- [4] 王聪,白丽. 阴道微生态研究进展[J]. 新医学, 2011, 42(9):628-630.
- [5] Sobel JD. Vaginitis[J]. N Engl J Med, 1888, 86(3):218-218.
- [6] 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, 2006:324.
- [7] Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important candida species[J]. J Clin Microbiol, 1994, 32(8):1923-1929.
- [8] 黎小东,宋卫忠,李平,等. 生殖系统念珠菌感染的菌型及其体外药敏分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(3):347-349.
- [9] 王玉春,杨峻,秦辛玲. 阴道分泌物念珠菌检测方法评价[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(15):1275-1276.
- [10] 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.
- [11] 彭俊,顾敏,盛桂芳,等. 含光滑念珠菌与白色念珠菌白带的比较分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(1):22-23.