

乳胶免疫层析法检测阴道炎三种病原的临床应用评价

樊晓东, 张成伟, 李官玺, 蔡德康, 王成丽, 杨生仙, 邓秀春, 雷爱林 (文山州人民医院检验科, 云南文山 663000)

摘要: 目的 评估乳胶免疫层析法联合检测阴道炎三种病原的诊断效果并对其临床应用进行评价。方法 收集2019年1~12月在妇科门诊接受阴道分泌物检查的288例标本, 分别用乳胶免疫层析法、湿片镜检法、唾液酸苷酶法以及革兰氏染色镜检法检测。根据临床症状、体征、实验室结果做出临床诊断。记录乳胶免疫层析法与湿片镜检法、染色镜检法诊断阴道炎三种病原的敏感度、特异度、Kappa系数和约登指数, 并进行统计分析。结果 与湿片镜检法相比, 乳胶免疫层析法诊断阴道炎三种病原的敏感度、Kappa系数和约登指数较高, 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.11\sim 30.13$, $P=0.01\sim 0.04$); 与染色镜检法相比, 乳胶免疫层析法对诊断细菌性阴道病、外阴阴道假丝酵母菌病的敏感度、约登指数较高, 诊断细菌性阴道病的Kappa系数也较高, 差异均有统计学意义 ($\chi^2=2.66\sim 30.13$, P 均 <0.05); 乳胶免疫层析法在诊断混合感染方面具备明显优势, 对细菌性阴道病、外阴阴道假丝酵母菌、滴虫性阴道炎的检测特异度均达到90%以上, 敏感度、Kappa系数及约登指数均高于湿片镜检法和染色镜检法, 差异均有统计学意义 ($\chi^2=4.66\sim 9.12$, 均 $P<0.05$)。结论 与传统的湿片镜检法和染色镜检法相比, 乳胶免疫层析法对于阴道炎三种病原的检测敏感度高, 与临床诊断结果的一致性高, 且对混合感染的检测有明显优势。

关键词: 乳胶免疫层析法; 阴道炎

中图分类号: R711.31; R446.19 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 05-124-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.05.032

Evaluation and Clinical Application of Latex Immunochromatography in the Detection of Three Pathogens of Vaginitis

FAN Xiao-dong, ZHANG Cheng-wei, LI Guan-xi, CAI De-kang, WANG Cheng-li, YANG Sheng-xian, DENG Xiu-chun, LEI Ai-lin

(Department of Clinical Laboratory, Wenshan People's Hospital, Yunnan Wenshan 663000, China)

Abstract: Objective To evaluate the efficacy and clinical application of latex immunochromatography in the detection of three pathogens of vaginitis, namely bacterial vaginosis, Candida vulvovaginal and trichomonal vaginitis. **Methods** 288 cases of vaginal secretions from January to December 2019 were collected and examined by latex immunochromatography, wet film microscopy (group 1), and Gram staining microscopy (group 2). Clinical diagnosis was made according to the clinical symptoms, signs and laboratory results. The sensitivity, specificity, Kappa coefficient and Joden index of three pathogens in vaginitis were recorded and statistically analyzed. **Results** Compared with the wet film microscopy group, the sensitivity, Kappa coefficient and Joden index of the bacterial vaginosis and Candida vulvovaginal of vaginitis were higher significantly in the latex immunochromatography group ($\chi^2=6.11\sim 30.13$, $P=0.01\sim 0.04$). Compared with Gram staining microscopy group, the sensitivity and Joden index of the three pathogens were higher in the latex immunochromatography group, the Kappa coefficient of bacterial vaginosis diagnosis was higher than that of Gram staining microscopy group, the difference was statistically significant ($\chi^2=2.66\sim 30.13$, all $P<0.05$). Besides, the latex immunochromatography combined detection had significant advantages in the diagnosis of mixed infection with a high specificity over 90%. The sensitivity, Kappa coefficient and Jordan index were higher significantly than that of wet film microscopy group and Gram staining microscopy group, and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.66\sim 9.12$, all $P<0.05$). **Conclusion** Compared with the traditional wet film microscopy and Gram staining microscopy, latex immunochromatography was more sensitive to the detection of three vaginitis pathogens with a high specificity and higher consistence with the clinical diagnosis results, and had obvious advantages in the detection of mixed infection.

Keywords: latex immunochromatography; vaginitis

阴道炎是妇科临床常见的多发病,多是由细菌、病毒、真菌等病原引起的女性生殖道炎性疾病。据世界卫生组织调查报告显示:女性生殖道感染已经成为全球性的重大社会及公共卫生问题。如果阴道

炎得不到及时正确的诊治,则会引起一系列严重的并发症。细菌性阴道病 (bacterial vaginosis, BV)、外阴阴道假丝酵母菌病 (vulvovaginal candidiasis, VVC) 和滴虫性阴道炎 (trichomonal vaginitis, TV)

作者简介: 樊晓东 (1983-), 男, 大学本科, 主管技师, 研究方向为分子生物学检验。

通讯作者: 雷爱林 (1984-), 女, 大学本科, 主管技师, 研究方向: 细胞形态检验, E-mail: 744130004@qq.com。

是最常见的三种阴道炎^[1]。传统的检测手段对于这三种阴道感染的诊断多倾向于病原体形态学检测,例如悬滴镜检法和革兰氏染色法检测 VVC 和 TV, 这些方法对于形态学上不具典型特征的易出现假阴性结果。近年来随着免疫学检测方法的深入研究, 针对病原体特异性抗原的检测技术发展迅速, 其较好的敏感度有望弥补传统检测手段的缺陷。循证医学证据表明, 采用免疫法检测 TV 相关抗原效果较好^[2]。本文采用传统的湿片镜检法、染色镜检法以及新型的乳胶免疫层析法对妇科门诊患者进行了病原检测, 并对其结果进行分析, 以探讨乳胶免疫层析法在诊断阴道炎上的价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 采用回顾性分析方法, 选择 2019 年 1~12 月在本院门诊妇科治疗的 288 例女性患者作为研究对象, 平均年龄 34.5 岁, 平均体重为 56.3kg。其中单一感染 163 例 (56.60%), 混合感染 57 例 (19.79%), 诊断为 BV 的病例共 153 例 (69.55%), VVC 的病例共 48 例 (21.82%), TV 的病例共 19 例 (8.63%)。

1.1.1 病例纳入标准: ①门诊就诊患者, 有性生活史且年龄小于 55 岁; ②近一周内无阴道用药史; ③需进行分泌物检测者或医生妇科检查时发现分泌物异常需进行分泌物检测者。患者必须符合以上 3 个条件方可纳入。

1.1.2 排除标准: ①无性生活史者; ②近一周内阴道用药者; ③患者不愿参与试验者。

1.1.3 伦理学: 本研究符合医学伦理学标准, 所有治疗及检测均获得患者的知情同意。

1.2 仪器与试剂 乳胶免疫层析法试剂购于北京泰格科信生物科技有限公司, 湿片镜检法和染色镜检法的试剂盒和染色液购于珠海贝索生物技术有限公司。北京明悟德生物技术有限公司提供的 37℃ 恒温仪、定时器、OLYMPUS 显微镜; 安徽双鹤药业有限责任公司提供的有效期内的生理盐水。

1.3 方法 采用乳胶免疫层析法作为实验组, 选用临床上常用的方法作为对照组。对照组一采用湿片镜检法; 对照组二采用染色镜检法。阴道炎诊断标准: 参考中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组制定的《外阴阴道念珠菌病诊治规范草案》^[3]、《细菌性阴道病诊治指南草案》^[4]、《滴虫阴道炎诊治指南草案》^[5]。实验组和对照组诊断结果不一致时, 最终诊断根据患者的临床症状、体征及辅助检查阳性结果判定^[6-7]。VVC: 典型的临床症状体征 (阴道分泌物增多, 阴道分泌物多呈白色豆渣样; 外阴潮红、水肿、可见抓痕或皲裂, 小阴唇内侧及阴道黏膜附着白色膜状物, 外阴瘙痒、灼痛, 还可伴有尿

痛、性交痛等), 或符合以下其中一条: 革兰氏染色镜检见到菌丝、芽生孢子或孢子。BV: 典型的临床症状体征 (阴道分泌物增多、稀薄均质、乳白色牛奶状, 有鱼腥臭味; 性交痛、间或有外阴阴道瘙痒、灼热感等), 或符合革兰氏染色后, Nugent 评分 ≥ 7 分。TV: 典型的临床症状体征 (阴道分泌物增多, 呈泡沫状, 黄绿色, 有时为脓性; 外阴阴道黏膜充血, 外阴瘙痒、灼热感, 部分患者有尿频), 并且革兰氏染色镜检见滴虫。单一感染: VVC, BV, TV 三者中的一种。混合感染: 诊断含有 VVC, BV, TV 三者中两种以上。

1.4 统计学分析 使用 SPSS 21.0 软件进行数据处理。计数资料的比较采用四格表资料的 χ^2 检验分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。以最终临床诊断为基准, 分析乳胶免疫层析法和对照方法诊断 VVC, BV, TV 的敏感度 (阳性符合率)、特异度 (阴性符合率)、约登指数 (敏感度与特异度之和减去 1, 指数越大说明检测结果的真实性越强) 以及 Kappa 系数 (一致性系数, 用来评价两种检测系统的一致性的指数。Kappa 系数 > 0.8 , 为高度一致, 认为两种系统等效; $0.4 < \text{Kappa 系数} < 0.8$ 认为一致)。

2 结果

2.1 乳胶免疫层析法诊断 BV 的各项参数比较 见表 1。乳胶免疫层析法诊断 BV 的敏感度 (98.98%, 194/196) 与湿片镜检法 (12.76%, 25/196) 和染色镜检法 (75.51%, 148/196) 之间的差异有统计学意义 ($\chi^2=22.68, 5.04, \text{均 } P < 0.05$); 特异度 (92.39%, 85/92) 略高于湿片镜检法 (91.30%, 84/92), 略低于染色镜检法 (97.83%, 90/92), 但差异无统计学意义 ($\chi^2=2.12, 1.89; P=0.97, 0.78$); 约登指数和 Kappa 系数, 乳胶免疫层析法 (0.91, 0.93) 与湿片镜检法 (0.04, 0.03) 和染色镜检法 (0.73, 0.65) 分别进行比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.11\sim 30.13, \text{均 } P < 0.05$)。

2.2 乳胶免疫层析法与传统方法诊断 VVC 的各项参数比较 见表 1。乳胶免疫层析法诊断 VVC 的敏感度 (79.66%) 与染色镜检法 (77.97%) 之间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但与湿片镜检法 (52.54%) 之间的差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 特异度两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 约登指数和 Kappa 系数, 乳胶免疫层析法与湿片镜检法之间的差异有统计学意义 ($\chi^2=7.34, 9.96, P < 0.05$), 与染色镜检法差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 乳胶免疫层析法与传统方法诊断 TV 的各项参数比较 见表 2。乳胶免疫层析法诊断 TV 的敏感度 (95.65%) 与染色镜检法 (95.65%) 之间的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但与湿片镜检法 (34.78%)

之间的差异有统计学意义 ($P<0.05$)；特异度两组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)；约登指数和 Kappa 系数，乳胶免疫层析法与湿片镜检法之间的

差异有统计学意义 ($\chi^2=7.57, 6.99, P<0.05$)，与染色镜检法之间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 1 乳胶免疫层析法与传统方法诊断 VVC 的各项参数比较

方法	阳性 (n=59)			阴性 (n=229)			约登指数	Kappa 系数
	敏感度 [% (n)]	χ^2	P	特异度 [% (n)]	χ^2	P		
乳胶免疫层析法	79.66 (47)			98.69 (226)			0.78	0.83
湿片镜检法	52.54 (31)	7.68	0.03	97.82 (224)	1.98	0.79	0.50	0.59
染色镜检法	77.97 (46)	2.66	0.83	100.00 (229)	2.34	0.67	0.78	0.85

表 2 乳胶免疫层析法联合检测与传统方法诊断 TV 的各项参数比较

方法	阳性 (n=23)			阴性 (n=265)			约登指数	Kappa 系数
	敏感度 [% (n)]	χ^2	P	特异度 [% (n)]	χ^2	P		
乳胶免疫层析法	95.65 (22)			96.98 (257)			0.962	0.81
湿片镜检法	34.78 (8)	6.32	0.04	100 (265)	1.74	0.85	0.345	0.50
染色镜检法	95.65 (22)	2.87	0.92	100 (265)	1.74	0.85	0.957	0.98

2.4 乳胶免疫层析法联合检测与传统方法诊断混合型感染的各项参数比较 见表 3。乳胶免疫层析法联合检测混合型感染的敏感度 (84.21%) 与湿片镜检法 (7.02%) 和染色镜检法 (66.67%) 之间的差异有

统计学意义 ($P<0.05$)；特异度两组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)；约登指数和 Kappa 系数，乳胶免疫层析法联合检测与湿片镜检法和染色镜检法之间的差异均有统计学意义 ($\chi^2=6.98\sim 9.12$, 均 $P<0.05$)。

表 3 乳胶免疫层析法与传统方法诊断混合型感染的各项参数比较

方法	阳性 (n=57)			阴性 (n=231)			约登指数	Kappa 系数
	敏感度 [% (n)]	χ^2	P	特异度 [% (n)]	χ^2	P		
乳胶免疫层析法	84.21 (48)			96.10 (222)			0.803	0.80
湿片镜检法	7.02 (4)	15.22	0.02	97.84 (226)	1.52	0.88	0.049	0.07
染色镜检法	66.67 (38)	4.66	0.04	99.57 (230)	1.66	0.82	0.662	0.75

3 讨论

阴道炎是妇产科常见病，其中 BV, VVC 和 TV 是最常见的三种阴道炎^[1]。BV 是育龄妇女的常见病和多发病，其主要特征为下生殖道微生物菌群发生变迁，表现为占绝对优势的乳酸杆菌被高浓度的阴道加德纳菌，以及与 BV 相关的一系列具有潜在致病作用的微生物所代替。阴道加德纳菌是 BV 的常见致病菌，是引起尿道炎、子宫内膜炎、子宫颈上皮不典型增生的致病菌，妊娠妇女阴道加德纳菌感染可增加一系列并发症的发生率，例如胎膜早破、羊水污染、早产以及产时、产后感染等，并且可引发早产，胎儿感染以及胎儿畸形等，严重的威胁母婴健康。VVC 主要由白色念珠菌感染所导致，是仅次于 BV 的最常见的阴道疾病。由于 VVC 通常难以根治、而且容易复发，因此，VVC 对妇女的危害很大，对孕妇的危害更大，与 BV 一样，也可严重威胁母婴健康。TV 是由阴道毛滴虫感染引起的。阴道毛滴虫是寄生在人体阴道及泌尿道的具有鞭毛的真核生物种。TV 是一种普遍的非病毒的

生殖道感染性疾病，也是目前最为流行的性传播疾病之一；它与许多围产期并发症，男性和女性生殖道感染和传播艾滋病毒的发病率增加有关^[8-10]。因此及时准确地诊断和鉴别念珠菌性阴道炎、滴虫性阴道炎和细菌性阴道病，采取积极有效的治疗策略，对女性的生殖健康水平，具有重要而深远的意义。尤其是近年来全球严峻的抗生素滥用和细菌耐药情形，对阴道常见病病原体的诊断和治疗提出了更为严格的要求。

目前，临床诊断 BV, VVC, TV 的常见实验室方法包括：湿片镜检，革兰氏染色，唾液酸苷酶等^[11-13]。本研究将上述传统方法作为对照，以探讨乳胶免疫层析法在阴道炎诊断中的应用价值。

临床实践中，阴道感染以多种病原体的混合感染为主。我们的研究表明，混合感染的比例为 19.79%，低于文献报道的混合感染比例 (41%)^[14]，可能是由于本次研究的样本量较少。鉴于高比例的混合感染的发生率，因此，能同时精准检测出多种病原体的方法越来越受到重视。白色念珠菌是

VVC的主要致病菌,阴道毛滴虫是TV的病原体,阴道加德纳菌是BV的主要致病菌^[15]。而乳胶免疫层析法主要针对的就是这三种致病微生物,采用这种技术,在硝酸纤维素膜上的检测线(T)位置包被白色念珠菌/阴道毛滴虫/阴道加德纳菌抗体,在质控线(C)位置包被生物素-BSA,在乳胶结合垫上固定红色乳胶颗粒标记的白色念珠菌/阴道毛滴虫/阴道加德纳菌特异性抗体及蓝色乳胶颗粒标记的链霉亲和素,用于定性检测阴道分泌物中白假丝酵母菌/阴道毛滴虫/阴道加德纳菌抗原。由于乳胶免疫层析法采用的是特异性的抗原抗体反应,因此针对性强。本次研究也发现,乳胶免疫层析法对VVC, BV, TV检测的特异度均达到90%以上,检测的敏感度也显著高于湿片镜检法和酶化学法(其与染色镜检法诊断TV的敏感性一致),这表明,采用乳胶免疫层析法同时诊断这三种阴道炎具备较大优势,对混合感染的诊断尤其具有优势,与对照组特异度相差不大的情况下,其敏感度(84.21%)明显高于两个对照组,因此,这种方法极具临床应用前景。

综上所述,与传统的湿片镜检法、染色镜检法相比,乳胶免疫层析法同时检测阴道炎三种病原体的敏感度较高,与临床实际诊断具备高度一致性,且对混合感染的检测具有较大优势,因此,可在临床推广应用。

参考文献:

- TERRITO H M, WROTONIAK B H, BOUTON S, et al. A new strategy for trichomonas testing female adolescents in the emergency department[J]. Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology, 2016, 29(4): 378-381.
- VAN SCHALKWYK J, YUDIN M H, INFECTIOUS DISEASE COMMITTEE. Vulvovaginitis: screening for and management of trichomoniasis, vulvovaginal candidiasis, and bacterial vaginosis[J]. Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada, 2015, 37(3): 266-274.
- 罗兰兰, 李卫, 陈娟. 复发性外阴阴道假丝酵母菌病诊治研究进展[J]. 现代医学, 2017, 45(12): 1844-1847.
LUO Lanlan, LI Wei, CHEN Juan. Research progress in diagnosis and treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis [J]. Modern Medicine, 2017, 45(12): 1844-1847.
- 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组. 细菌性阴道病诊治指南(草案)[J]. 中华妇产科杂志, 2011, 46(4): 317.
Collaborative Group of Infectious Diseases, Chinese Medical Association Obstetrics and Gynecology Branch. Guidelines for diagnosis and treatment of bacterial vaginosis (draft) [J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2011, 46(4): 317.
- 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组. 滴虫阴道炎诊治指南(草案)[J]. 中华妇产科杂志, 2011, 46(4): 318.
Collaborative Group of Infectious Diseases, Chinese Medical Association Obstetrics and Gynecology Branch. Guidelines for diagnosis and treatment of trichomoniasis vaginitis (draft) [J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2011, 46(4): 318.
- QUAN M. Vaginitis: diagnosis and management[J]. Postgraduate Medicine, 2010, 122(6): 117-127.
- MITTAL V, JAIN A, PRADEEP Y. Development of modified diagnostic criteria for bacterial vaginosis at peripheral health centres in developing countries[J]. Journal of Infection in Developing Countries, 2012, 6(5): 373-377.
- 李娅, 章迪, 张赟, 等. 阴道感染三种病原菌多重PCR检测方法的建立及其应用研究[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(2): 42-45.
LI Ya, ZHANG Di, ZHANG Yun, et al. Establishment and application of multiplex PCR detection method for three kinds of pathogens in vaginal secretions[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(2): 42-45.
- POWELL K. Vaginal thrush: quality of Life and treatments[J]. British Journal of Nursing (Mark Allen Publishing), 2010, 19(17): 1106-1111.
- ROBERTS C L, ALGERT C S, RISKARD K L, et al. Treatment of vaginal candidiasis for the prevention of preterm birth: a systematic review and meta-analysis[J]. Systematic Reviews, 2015, 4(1):31.
- 谭皓妍, 冯浩华, 何艳屏. 阴道白假丝酵母菌的耐药性与MDR1基因表达关系研究[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(1):105-107,110.
TAN Haoyan, FENG Haohua, HE Yanping. Research the expression of MDR1 genes in vaginal *Candida Albicans* resistance to azole agents[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2015, 30(1):105-107,110.
- 严家来, 梅振海. 阴道分泌物湿片法联合阴道炎化学试剂检查在诊断阴道炎的应用[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(3):140-142.
YAN Jialai, MEI Zhenhai. Application of vaginal wet film method combined with vaginitis biochemical kits examination in the diagnosis of vaginitis [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013, 28(3):140-142.
- 盛福德, 汤勇, 陈秀梅. 细菌性阴道炎患者阴道微生态的实验研究[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(3): 78-80.
SHENG Defu, TANG Yong, CHEN Xiumei. Experimental study on vaginal microecological of patients with bacterial vaginitis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013, 28(3):78-80.
- 徐怡, 王朝甘. 复发性外阴阴道假丝酵母菌菌种的鉴定及其耐药性情况分析[J]. 中国现代医生, 2016, 54(35):118-120.
XU Yi, WANG Chaogan. Identification of recurrent *Vulvovaginal candidiasis* and analysis of drug resistance[J]. China Modern Doctor, 2016, 54(35):118-120.
- KIM J M, PARK Y J. Probiotics in the prevention and treatment of postmenopausal vaginal infections: eview article[J]. Journal of Menopausal Medicine, 2017, 23(3): 139-145.