

## 免疫荧光法在阴道加德纳菌检测中的临床应用

杨 岚,杨 娟,孟西娜,陈道楨

(南京医科大学无锡妇幼保健院检验科,江苏 无锡 214002)

**[摘要]** 目的:介绍快速检测阴道加德纳菌(*Gardnerella vaginalis*,GV)的方法,了解妊娠妇女加德纳菌的感染状况。方法:对本院住院治疗的928例妊娠妇女(其中稽留流产组441例、先兆流产组60例、不全流产组50例、难免流产组38例,同时选取339例正常妊娠者为对照组)的阴道分泌物标本采用直接免疫荧光技术进行观察测定。结果:各不良妊娠组加德纳菌的阳性率依次为:稽留流产组36.96%,先兆流产组41.67%,不全流产组30.00%,难免流产组31.58%,各组分别与对照组的阳性率(41.30%)比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。不同年龄组中,GV感染以18~25岁和26~30岁阶段最多,分别占41.69%和30.42%;但比较各年龄组的GV阳性率并无统计学差异( $P > 0.05$ )。结论:免疫荧光技术可用于快速检测阴道加德纳菌,各不同妊娠状况的孕妇均有较高的阴道加德纳菌感染率,且与年龄无明显相关性,在临床诊疗中应重视及早诊断和治疗。

**[关键词]** 阴道加德纳菌;免疫荧光技术;快速检测

**[中图分类号]** R446.6

**[文献标识码]** B

**[文章编号]** 1007-4368(2012)08-1168-03

加德纳菌(*Gardnerella vaginalis*,GV)是一类革兰氏染色阴性或有变异的球杆菌样小杆菌,菌体小,两端呈圆形,无荚膜,无鞭毛,营兼性厌氧生活。最适温度为35℃~37℃,pH4.5不宜生长,嗜血,培养困难。GV在1954年由Gardner分离出来,1955年被证明与女性阴道病有关,GV是女性细菌性阴道病(bacterial vaginosis,BV)的主要病原菌之一,可经性接触传播,女性GV感染不仅可致BV,还可引起女性尿道炎、子宫颈炎及输卵管妊娠、胎膜早破和新生儿早产等不良妊娠结局<sup>[1]</sup>。而男性感染后,虽被认为是无症状携带者,但国内外曾报道GV可与男性尿道感染、男性不育<sup>[2]</sup>等有关。由于该菌培养困难,国内已陆续针对GV进行了各种检测方法的研究,为快速诊断GV感染,本院引进了GV直接免疫荧光检测试剂,建立了GV的快速诊断法,现对2011年5~12月在本院住院治疗的各类妊娠妇女阴道分泌物涂片的检测结果进行分析,报告如下。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

本院住院治疗的妊娠妇女928例,年龄18~47岁,按临床诊断标准将其分为稽留流产组441例,先兆流产组60例,不全流产组50例,难免流产组38例,同时选取339例正常妊娠者为对照组;各組间年龄差异无统计学意义。

#### 1.2 方法

#### 1.2.1 样本采集与处理

先用无菌窥阴器扩张阴道,再用无菌棉签取阴道分泌物置于无菌试管中送检。将无菌培养管中的分泌物标本均匀涂抹于玻片中央,充分晾干后再用95%乙醇或无水乙醇固定10 min,自然晾干。

#### 1.2.2 检测

用移液器吸取5 μl GV免疫荧光试剂(深圳迈科龙生物技术公司),均匀滴加在玻片涂样处,置于37℃温育箱孵育30 min。使用去离子水或蒸馏水缓缓冲洗玻片多次后甩干,待玻片自然晾干。在载玻片上滴加1滴镜油,盖上盖玻片封片后再滴加1滴镜油,在100倍荧光显微镜下寻找发绿色荧光的典型细杆形阴道加德纳菌。发现10个及以上亮绿色典型细杆形阴道加德纳菌即为GV阳性(图1)。

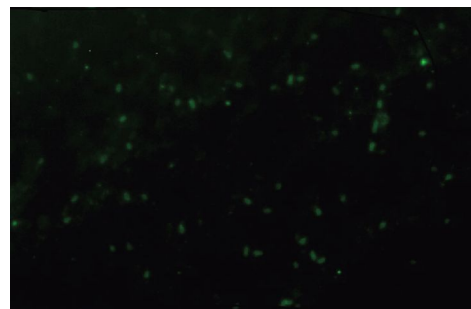


图1 荧光显微镜下GV图像(×100)

#### 1.3 统计学方法

采用SPSS17.0统计软件,GV阳性率用百分数(%)表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有

统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同妊娠组的 GV 检出率比较

各妊娠组总的 GV 阳性率为 38.25%，对照组 GV 检出率 41.30%，其余不良妊娠组(稽留流产组、先兆流产组、不全流产组、难免流产组)的检出率与对照组比较，差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ，表 1)。

表 1 各类妊娠组的 GV 检出数和阳性率

组别	总例数	GV 检出数	GV 阳性率(%)
对照组	339	140	41.30
稽留流产组	441	163	36.96
先兆流产组	60	25	41.67
不全流产组	50	15	30.00
难免流产组	38	12	31.58
合计	928	355	38.25

### 2.2 不同年龄组 GV 阳性率的比较及年龄构成比

所有 GV 检出者中，18~25 岁及 26~30 岁两组所占比例较高；但将各年龄组的 GV 阳性率相比较，差异无统计学意义( $P > 0.05$ ，表 2)。

表 2 不同年龄组 GV 检出者的年龄构成比及各组 GV 阳性率比较

组别	总例数	GV 检出数	GV 阳性年龄构成比(%)	GV 阳性率(%)
18~25 岁	361	148	41.69	41.00
26~30 岁	277	108	30.42	38.99
31~35 岁	145	42	11.83	28.97
36~40 岁	98	38	10.70	38.77
41~47 岁	47	19	5.35	40.43
合计	928	355	100.00	38.25

## 3 讨论

Aroutcheva 等<sup>[3]</sup>曾报道健康妇女中 GV 检出率为 26.4%，可见单纯 GV 感染不能作为诊断细菌性阴道病的唯一标准；但如 GV 和厌氧菌的过度生长，引起乳酸杆菌大量减少，会造成阴道微生态平衡失调和阴道分泌物性质改变从而易致相关疾病。GV 不仅被确认为细菌性阴道病的重要病原菌，还会引起不洁流产、术后感染等多种疾病<sup>[4]</sup>，因而，建立便捷、高效的检测方法尤为重要。

目前 GV 检测方法有分离培养法、显微镜检法、氨试验、ELISA 法、气相色谱法、PCR 法等。这些方法都各有利弊：GV 对营养要求高，分离培养耗时长；传统的显微镜检因易受其他成分干扰而造成漏诊、

误诊；气相色谱法操作繁琐，试验成本较高；PCR 法虽有较高的灵敏度和特异性，但较费时<sup>[5]</sup>，本院以前采用的套式 PCR 法耗时 6 h，而现采用的单克隆抗体免疫荧光检测法操作便捷，仅需 1 h，既适于急诊检验又便于批量检测，且灵敏度高，在临床有较大的应用价值。本研究采用直接免疫荧光法对临床样本中的阴道加德纳菌进行检测的原理是异硫氰酸荧光素(FITC)标记的阴道加德纳菌单克隆抗体可与阴道加德纳菌表面抗原发生特异性结合，所形成的抗原-抗体-荧光素结合物在荧光显微镜 495 nm 波长激发光照射下可发出绿色荧光。单克隆抗体为源于单个 B 淋巴细胞杂交瘤细胞分裂而产生的细胞系所分泌的抗体，仅识别抗原分子上特定的抗原决定簇，不仅在抗体的特异性上是均一的，而且类、亚类和亲和力都是均一的<sup>[6]</sup>，故加德纳抗体在病原微生物诊断上有高度的特异性和临床诊断价值。

本研究结果发现，对照组的 GV 阳性率(41.3%)略高于报道的健康妇女阳性率 26.4%<sup>[3]</sup>，分析可能与妊娠期机体免疫力相对低下易致感染有关。各不良妊娠组(除外不全流产组)的 GV 阳性率与前期沈益青等<sup>[5]</sup>对本院样本报道的情况基本相符，而不完全流产组阳性率较 PCR 法检测结果低，可能与观察样本量较少有关。各不良妊娠组与对照组比较，GV 阳性率无明显统计学差异，提示各类妊娠妇女均有较高的 GV 感染率。而 GV 感染除与细菌性阴道病密切相关外，还可引起绒毛膜羊膜炎、胎膜早破、早产、低出生体重儿、产后子宫内膜炎、剖宫产后伤口感染、输卵管炎等<sup>[7-8]</sup>，因而对妊娠妇女的 GV 感染更应重视。

再观察所有 GV 检出者的年龄构成情况，18~25 岁阶段的感染者最多，其次是 26~30 岁组，随着年龄的增长，GV 感染者所占比例逐步下降，可能因就诊者的年龄构成比不同所致。而比较各年龄组的 GV 阳性率发现，GV 感染与年龄亦无明显相关性，不同年龄组的 GV 阳性率无统计学差异。综上所述，GV 在各种妊娠状态、不同年龄段的妇女中均有较高的感染率，因而对妊娠妇女 GV 感染情况的筛查检测显得尤为重要。前述资料已述及 GV 与各类不良妊娠结局存在一定的相关性，近期还有报道妇女 GV 感染对配偶亦有较大的传染影响<sup>[9]</sup>，因而建立快速、高特异性的诊断方法，加强对孕妇 GV 感染的检测及积极治疗，及早杜绝夫妻间的交叉感染，对优生优育、提高出生人口素质都有重要的意义。

[参考文献]

- [1] McGregor JA, French JI. Bacterial vaginosis in pregnancy [J]. *Obstet Gynecol Surv*, 2000, 55(5 Suppl 1): S1-19
- [2] 楚雅玲, 岳林, 王丽芬, 等. 阴道加德纳菌感染与男性不育相关性的研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2006, 16(8): 889-890
- [3] Aroutcheva AA, Simoes JA, Behbakht K, et al. Gardnerella vaginalis isolated from patients with bacterial vaginosis and from patients with healthy vaginal ecosystems [J]. *Clin Infect Dis*, 2001, 33(7): 1022-1027
- [4] 任勇, 任军, 于志湖. 阴道加德纳菌研究近况[J]. *中国麻风皮肤病杂志*, 2005, 21(1): 39-41
- [5] 沈益青, 杨岚, 陆牡丹, 等. 妊娠妇女阴道加德纳菌的感染情况分析[J]. *中国优生优育*, 2010, 16(1): 35-36
- [6] 刘志昂. 男性非淋菌性尿道炎患者加德纳菌检测分析[J]. *中国热带医学*, 2006, 6(4): 694
- [7] 曹泽毅. 实用妇产科学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 1352
- [8] Taylor-Robinson D, Boustouller YL. Damage to oviduct organ cultures by Gardnerella vaginalis [J]. *Int J Exp Pathol*, 2011, 92(4): 260-265
- [9] 张水林, 杨岚, 臧嘉. 女性 Uu 与 GV 感染对配偶的影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(19): 4001

[收稿日期] 2011-12-25

本刊现已启用网上稿件管理系统，作者登陆  
<http://jnmu.njmu.edu.cn/>即可在线投稿并查询稿件  
审理情况。