

药敏纸片扩散法与仪器法在阴道加德纳菌鉴定中的比较

郭菲¹, 侯淼² (1. 陕西省商洛市第二人民医院检验科 726000; 2. 陕西省商洛市中心医院检验科 726000)

【摘要】目的 比较药敏纸片扩散法与仪器法在阴道加德纳菌鉴定中的应用效果。**方法** 收集100例宫颈分泌物标本进行研究, 分别利用药敏纸片扩散法与仪器法进行鉴定。观察记录两种方法的最终检测结果, 并进行比较。**结果** 100例标本均分别经药敏纸片扩散法与仪器法鉴定, 最后的鉴定结果显示, 药敏纸片扩散法一共鉴定出阴道加德纳菌36例, 药敏纸片周围均出现明显的抑菌环。利用仪器法进行鉴定, 同样鉴定出阴道加德纳菌36例。对2组的阴道加德纳菌鉴定结果进行比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 在对阴道加德纳菌进行鉴定, 利用药敏纸片扩散法与仪器法的最终鉴定结果一致。但药敏纸片扩散法较之仪器法更加简单经济, 实用性更强。

【关键词】 加德纳菌鉴定; 药敏纸片扩散法; 仪器法

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.17.047 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)17-2600-03

Comparison of disk diffusion method and instrument method in identification of Gardnerella vaginalis GUO Fei¹, HOU Miao² (1. Department of Clinical Laboratory, Shangluo Municipal Second People's Hospital, Shangluo, Shaanxi 726000; 2. Department of Clinical Laboratory, Shangluo Municipal Central Hospital, Shangluo, Shaanxi 726000, China)

【Abstract】Objective To compare the application effect of disk diffusion method and the instrument method in the identification of Gardnerella vaginalis. **Methods** 100 samples of cervical secretion were collected and identified by the disk diffusion method and the instrument method. The final detection result of the two methods were observed and compared. **Results** The 100 specimens were respectively identified by the disk diffusion method and the instrument method. The final identification results showed that 36 cases of Gardnerella vaginalis were identified by the disk diffusion method and there were obvious bacteriostatic ring around the drug sensitive paper. The same 36 cases of Gardnerella vaginalis were identified by the instrument method. The identification results had no statistical difference between the two kinds of method ($P>0.05$). **Conclusion** The disk diffusion method and instrument method have the same results for identifying Gardnerella vaginalis. But the disk diffusion method is more simple, more economic and stronger in practicability than the instrument method.

【Key words】 Gardnerella vaginalis identification; disk diffusion method; instrument method

阴道加德纳菌会导致细菌性阴道疾病, 临床对阴道加德纳菌进行检测的时候可以采用不同的方法, 例如药敏纸片扩散法、免疫荧光法、细菌分离培养法以及仪器法等^[1]。为寻找最佳的检测方法, 本研究收集100例宫颈分泌物标本进行研究, 分别利用药敏纸片扩散法与仪器法进行鉴定, 比较两种方法在阴道加德纳菌鉴定中的应用效果。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2014年1~7月商洛市第二人民医院收治的疑为阴道加德纳菌引起的细菌性阴道炎患者100例, 收集其宫颈分泌物标本进行比较。本研究获得医学伦理学相关部门批准。

1.2 方法

1.2.1 药敏纸片扩散法 将标本接种在血平板, 并置于35℃的培养箱中进行孵育。(1)菌液制备: 挑取孵育16~24h的血平板上数个菌落置于生理盐水管中, 校正浓度至0.5麦氏标准;(2)涂布接种: 无菌棉拭蘸取菌液, 在试管壁旋转挤去多余菌液, 于M-H琼脂表面进行3次均匀的涂布接种, 每次涂布接种的时候要将平板旋转60°。涂布接种3次之后, 沿平板的内缘进行1周涂抹;(3)贴药敏纸片: 平板在室温下干燥3~5min, 用无菌镊子将聚茴香脑磺酸钠(SPS)药敏纸片和万古霉

素药敏纸片均紧贴于琼脂表面, 各纸片中心相距应大于24mm, 纸片距平板内缘应大于15mm;(4)孵育: 35℃, 16~18h, 观察抑菌圈情况。另外, 培养基、接种细菌的菌量、抗菌药物纸片的质量、孵育温度和观察时间、操作是否规范等均能影响最终结果。为保证结果的可靠性, 需采用相应标准菌株同时进行药敏试验作为质量控制的方式。观察抑菌圈情况, 纸片周围均出现抑菌环, 则鉴定为阴道加德纳菌; 若纸片周围未出现抑菌环, 则鉴定不是阴道加德纳菌。如符合条件, 经纯化增菌后, 挑取菌落同时手工做法国生物梅里埃公司的API strep链球菌鉴定条。

1.2.2 仪器法 利用全自动细菌鉴定仪对100例标本进行检测, 对阴道加德纳菌进行鉴定。鉴定方法为: 对标本进行培养, 得到细菌的纯培养液, 对菌悬液水平进行适当调整。根据阴道加德纳菌对相应的药敏试验卡片予以选择, 并在充液仓中对卡片进行充液。然后将卡片置于孵育箱中进行孵育, 自动定时得到相应的结果, 并对得到的结果进行分析判断。

1.3 统计学处理 采用SPSS16.0软件对数据进行处理及统计学分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验; 计数资料采用百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种鉴定方法结果分析 100 例标本均分别经药敏纸片扩散法与仪器法鉴定,结果显示,药敏纸片扩散法共鉴定出阴道加德纳菌 36 例,药敏纸片周围均出现明显的抑菌环。利用仪器法进行鉴定,同样鉴定出阴道加德纳菌 36 例。两种鉴定方法阳性完全对应一致,对 2 组阴道加德纳菌鉴定结果进行比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 36 例阴道加德纳菌 API strep 鉴定条生化反应结果分析 经 API strep 鉴定条鉴定,鉴定符合率均达 90% 以上,见表 1。

表 1 36 例阴道加德纳菌 API strep 鉴定条生化反应结果分析

生化反应	阳性(n)	阳性率(%)
乙酰甲基	0	0.0
马尿酸	18	50.0
吡咯酮基芳胺酶	0	0.0
亮氨酸芳胺酶	18	50.0
核糖	10	27.8
甘露醇	0	0.0
海藻糖	0	0.0
淀粉	11	30.6

3 讨 论

细菌性阴道炎是一种常见的阴道疾病,严重影响女性的生活质量。在细菌学上,细菌性阴道炎表现为阴道内的正常菌群被一系列致病菌(如厌氧菌等)取代,阴道加德纳菌是诊断加特纳阴道炎的重要指标^[2]。健康妇女阴道内也能检出本菌,因此,一般情况下,不做阴道加德纳菌分离。余斌敏等^[3]研究发现,细菌性阴道炎可增加女性患盆腔炎的风险,但其发病机制尚不清楚,其产生及复发的致病因素亦十分复杂。其中,细菌生物膜,尤其阴道加德纳菌生物膜在阴道上皮的黏附,不能有效地被免疫系统清除或完全被抗菌药物灭活,导致细菌性阴道炎治疗后仍有慢性、持续性感染的状况。冯永玲等^[4]也报道,加德纳菌感染与细菌性阴道炎存在密切关系,临床应对高危感染人群加强防治,减少细菌性阴道炎的发生。因此,临床十分重视对阴道加德纳菌的检测。

目前临床对阴道加德纳菌进行检测的方法有很多,例如药敏纸片扩散法、免疫荧光法、细菌分离培养法以及仪器法等。有学者通过研究发现,临床在对细菌性阴道炎进行诊断的时候,可以通过建立检测阴道加德纳菌的实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)方法,从而有效地检测出阴道加德纳菌基因组 DNA 提取效率^[5]。

临床还可以利用药敏纸片扩散法与仪器法对其进行检测,阴道加德纳菌在血琼脂平板上培养 18~24 h,形成针尖大小、圆形、光滑、半透明、形似露滴状的菌落,有时有狭窄的 β 溶血环。一般出现这种形态特征的菌落,很多自动化的仪器很难鉴定出来,很多医院就将其视为污染的革兰阳性杆菌。而利用药敏纸片扩散法进行阴道加德纳菌鉴定的时候,将含有一定抗菌药物的药敏纸片贴在已接种阴道加德纳菌的琼脂平板上,然后,纸片中的药物在吸收水分之后,发生扩散现象,便呈现出一定水平梯度表现。于是,在纸片四周的一定范围内,会出现细菌生长抑制现象,出现明显的抑菌圈^[6-7]。而且,抑菌圈的具体

范围大小还可以体现出不同细菌对测定药物的敏感情况,因此,利用药敏纸片扩散法,不但可以进行细菌鉴定,还可以用来进行药敏试验。本研究中,用到的药敏试纸分别为 SPS 药敏纸片和万古霉素药敏纸片。其中,通常情况下,SPS 是作为一种抗凝剂进行使用的,可以有效抑制特定的细菌类型,例如脑膜炎奈瑟菌和淋病奈瑟菌以及阴道加德纳菌等厌氧菌和需氧细菌。而万古霉素则具有强大的革兰阳性菌抗菌活性,对革兰阴性菌则通常是耐药的。于是,在普通的培养中,厌氧菌无法生长,鉴定的时候不需要予以考虑。而 SPS 无法对其他细菌产生抑制作用,周围存在抑菌环的便只可能是阴道加德纳菌和淋病奈瑟菌或者脑膜炎奈瑟菌。但是,由于万古霉素药敏纸片的存在,在耐药作用下,淋病奈瑟菌和脑膜炎奈瑟菌在万古霉素药敏试纸的周围是不存在抑菌环的。于是,经过排除,在 SPS 药敏纸片和万古霉素药敏纸片周围都存在抑菌环的便只有阴道加德纳菌。因此,利用这两种药敏纸片的特点,结合药敏纸片扩散法的检验原理,便可以较为准确地鉴定出阴道加德纳菌。而随着时代的发展,细菌鉴定的技术近十几年得到了快速发展,从人工鉴定到自动化技术。因此,除了药敏纸片扩散法以外,还可以利用仪器法对阴道加德纳菌进行鉴定^[8]。仪器法是利用阴道加德纳菌特定的生化反应予以鉴定,本研究中,即利用全自动细菌鉴定仪对 100 例标本进行检测,对阴道加德纳菌进行鉴定。全自动细菌鉴定仪在进行鉴定的时候利用的是光电比色法,按照阴道加德纳菌的具体理化性质,分析微生物分解底物导致 pH 改变的颜色变化情况。经纯化增菌后做 API strep 鉴定条鉴定,可以保证菌种鉴定的准确性。

本次研究结果显示,100 例标本均经两种方法鉴定,对鉴定结果进行比较,差异无统计学意义($P>0.05$),表明两种检测方法效果相当。但需要注意的是,在利用仪器法进行鉴定时,如果有些细菌发生的生化反应和阴道加德纳菌发生的生化反应十分接近,则容易出现混淆,导致鉴定结果不准确。另外,如果在鉴定的过程中,受到其他一些外界因素的影响,阴道加德纳菌所发生的生化反应不够明显,则无法顺利完成鉴定,要先补充手工生化反应之后方可进行鉴定,这样会增加鉴定工序和步骤,费时费力,且更容易出现误差。而利用药敏纸片扩散法进行鉴定的过程中,操作步骤较为简单,工序较少。而且,仪器法在检测过程中所使用的自动化鉴定系统是以自身原有数据库中的相关信息和数据对不同的细菌类型进行鉴定的。因此,一旦出现数据资料不完整甚至是数据信息不准确等情况,则会直接导致最终鉴定结果的不准确。但是,就目前的实际情况来看,受到诸多因素的影响,鉴定数据库的完备性等还有待提高,鉴定系统并没有包括所有的细菌鉴定相关数据和信息等,仪器鉴定法存在十分明显的缺陷。而且,在利用仪器法进行细菌鉴定的时候,还需要对鉴定人员予以一定的技术培训,以保证鉴定时的准确操作^[9]。因此,较之仪器法,药敏纸片扩散法存在明显的应用优势,实用性更强。而且,本研究中,在利用药敏纸片扩散法对阴道加德纳菌进行鉴定的时候,为了保证鉴定结果的准确性,还进行了严格的质量控制。考虑到培养基、接种细菌的菌量、抗菌药物纸片的质量、孵育温度和观察时间、操作是否规范等均会对最终的鉴定结果产生一定的影响。因此,为提高鉴定结果的可靠性和准确性,在进行鉴定的同时,本研究采用相应标准菌株同时进行药敏试验以进行有效的质量控制。所以,较之仪器法,药敏纸片扩散法不但操作简单,而且拥有完整的质量控制措施,鉴定结果更加可靠。在利用药敏纸片扩散法对阴道加德纳菌进行鉴定的时候,要注意做好质量

控制工作。首先,在涂布接种的时候,要注意均匀密涂。贴片完成之后,不能移动纸片。如果出现操作失误的情况,要重新贴片。另外,贴片操作要准确、迅速,整个操作要在 15 min 内全部完成。本研究结果还显示,经 API strep 鉴定条鉴定,鉴定符合率均达到 90% 以上,并得到不同的生化反应阳性率。因此,阴道加德纳菌的分离培养是十分必要的。可以根据琼脂菌落特点,经纯化增菌后做 API strep 鉴定条鉴定,以保证菌种鉴定的准确性。另外,在并非所有的阴道加德纳菌都会发现线索细胞,阴道加德纳菌分为 2 个生物型,一个是黏附型,一个是分散型,如果是黏附型,则很容易见到线索细胞;如果是分散型,则见不到线索细胞,但还有菌落形态和细菌涂片革兰染色给研究者的提示,因此并不影响临床鉴定^[10]。但是,本研究受到研究时间以及样本容量等因素的限制,本研究还存在一些缺陷和不足,还需要在今后的研究中予以不断完善。

综上所述,在对阴道加德纳菌进行鉴定,利用药敏纸片扩散法与仪器法的最终鉴定结果一致,但药敏纸片扩散法较之仪器法更加简单经济,实用性更强。

参考文献

- [1] 许苏容,宗利丽,刘木彪,等. Illumina 测序 16S rRNA 标签法分析细菌性阴道病患者阴道菌群多样性[J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(5): 672-677.
- [2] 王克迪,吕治,苏建荣,等. 阴道阿托波菌组合在细菌阴道病诊断中的价值[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(12): 1167-1171.
- [3] 余斌敏,苏婷婷,隋龙,等. 加德纳菌生物膜在难治性细菌性阴道病中的研究[J]. 国际妇产科学杂志, 2014, 41(3):

267-271.

- [4] 冯永玲,李铁菊,魏炳华,等. 加德纳菌与细菌性阴道病的相关性[J]. 解放军医学院学报, 2014, 35(3): 228-230.
- [5] 姚虹,吕治,阎东辉,等. 实时荧光定量 PCR 检测阴道加德纳菌的方法及其临床应用[J]. 中国医刊, 2013, 48(11): 70-72.
- [6] 林国聪. 鹿寨县女性人群阴道分泌物检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(15): 1834-1835.
- [7] 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.
- [8] Limia OF, Betancourt A, Lesteiro M. Prevalencia por diagnóstico inmunológico de Candida spp, Trichomonas vaginalis y Gardnerella vaginalis en mujeres embarazadas a nivel primario del sistema de salud/ Prevalence by immunologic diagnosis of Candida spp, Trichomonas vaginalis and Gardnerella vaginalis in pregnant at primary level[J]. Rev Cubana Obstet Ginecol, 2010, 36(1): 126-129.
- [9] 潘楚芝,李裕军,赵子文,等. 纸片扩散法与微量肉汤稀释法检测鲍曼不动杆菌对替加环素体外敏感性的比较[J]. 广东医学, 2013, 34(14): 2132-2135.
- [10] Alexander S, Yvonne D, Vera LB, et al. Gardnerella biofilm involves females and males and ss transmitted sexually[J]. Gynecol Obst Invest, 2010, 70(4): 256-263.

(收稿日期:2015-02-25 修回日期:2015-03-20)

(上接第 2599 页)

治疗及饮食控制的决心^[12]; (3) 个性化的指导, 根据患者的病情制订了针对性的指导, 有效控制了患者病情, 提高了患者对于自身状况的了解, 提高了患者对治疗的顺应性, 从根本上解决患者的不良生活行为, 血糖得到良好的控制。

综上所述, 临床护理中采用健康教育模式大大提高了 DM 患者对疾病的认知性和治疗的依从性, 树立了患者的健康意识, 改变了患者的不良生活方式, 有效控制血糖, 促进病情稳定, 提高了患者的生活质量, 值得临床推广及应用。

参考文献

- [1] Albu JB, Heilbronn LK, Kelley DE, et al. Metabolic changes following a 1-year diet and exercise intervention in patients with type 2 diabetes[J]. Diabetes, 2010, 59(3): 627-633.
- [2] 陈素文, 陆晓伟, 王红红, 等. 社区中青年 2 型糖尿病患者遵医行为与健康信念、社会支持的相关性分析[J]. 中华现代护理杂志, 2011, 17(26): 3110-3112.
- [3] 杨树锋, 刘宁. 饮食护理在糖尿病患者康复护理中的应用[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(23): 2968-2969.
- [4] 解东, 代维松, 卞淑芬, 等. 合理情绪疗法对老年 2 型糖尿病患者心理和自我管理行为的影响[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(1): 157-158.
- [5] 胡一宇, 黄丽华. 糖尿病患者饮食教育的研究现状[J]. 中

华护理杂志, 2013, 48(6): 555-557.

- [6] 高俊香, 王丽娟, 赵秀君, 等. 理性情绪疗法对 2 型糖尿病患者应对方式及自我管理行为的影响[J]. 中华现代护理杂志, 2014, 20(21): 2621-2623.
- [7] 孙胜男, 赵维纲, 董颖越, 等. 糖尿病患者自我管理现状及影响因素分析[J]. 中华护理杂志, 2011, 46(3): 229-233.
- [8] 陈鸿尔, 郑亚华, 颜萍. 病友支持团队在改变初诊 2 型糖尿病患者生活方式中的作用[J]. 护士进修杂志, 2013, 28(5): 461-463.
- [9] 戴秀菊, 杨金娟, 方群. 健康教育在老年糖尿病患者生活方式及血糖控制中的应用[J]. 中国实用护理杂志, 2011, 27(17): 58-60.
- [10] 柴红. 健康教育在妊娠期糖尿病患者生活方式培养及血糖控制中应用的效果评价[J]. 中国实用护理杂志, 2012, 28(10): 77-78.
- [11] 陈冬英. 参与式健康教育在糖尿病患者中的应用[J]. 中华现代护理杂志, 2014, 20(10): 1127-1128.
- [12] Marauard J, Stahl A, Lerch C, et al. A prospective clinical pilot-trial comparing the effect of an optimized mixed diet versus a flexible low-glycemic index diet on nutrient intake and HbA(1c) levels in children with type 1 diabetes[J]. J Pediatr Endocrinol Metab, 2011, 24(78): 441-447.

(收稿日期:2015-03-15 修回日期:2015-04-20)