

细菌培养法与革兰染色法在阴道细菌检验中的应用分析

孙靖*

(白山市人民医院检验科, 白山 134300)

摘要: **目的** 探究细菌培养法、革兰染色法在阴道细菌检验中的应用价值。**方法** 86例疑似细菌性阴道炎患者, 采集其阴道分泌物, 分别应用细菌培养鉴定、革兰染色法镜检诊断, 以指南标准为金标准, 分析细菌培养、革兰染色法对其诊断价值。**结果** 金标准诊断, 86例患者中细菌感染52例、非细菌感染34例; 革兰染色法诊断准确度、灵敏度分别为67.44%、69.23%, 均较细菌培养法89.53%、92.31%低($P < 0.05$); 革兰染色法诊断特异度67.71%, 与细菌培养法85.29%相近($P > 0.05$); 肠球菌阳性检出率比较, 革兰染色法均小于细菌培养法($P < 0.05$); 棒状杆菌、加特纳菌阳性检出率比较, 革兰染色法、细菌培养法结果相近($P > 0.05$); 检出时间对比, 革兰染色法 $<$ 细菌培养法($P < 0.05$)。 **结论** 阴道细菌检验中, 细菌培养法可提升诊断效能及各细菌阳性检出率, 但革兰染色法可缩短结果检出时间。

关键词: 阴道细菌; 细菌培养法; 革兰染色法

0 引言

细菌性阴道炎临床常见, 临床表现为分泌物增加、异味、外阴烧灼感等, 影响免疫功能, 增加宫颈癌发生风险^[1]。针对性使用抗生素治疗, 可降低阴道内细菌浓度, 控制病症进展, 因此对该病诊断准确性要求较高。Amsel为该病诊断金标准, 通过检测阴道分泌物pH、线索细胞数量等进行综合诊断。但该方法检测内容较多, 检测方法相对复杂^[2]。细菌培养为细菌感染性疾病常用诊断方案, 通过细菌体外培养、分离鉴定, 可满足临床诊断需求, 并结合药敏试验结果针对性用药, 为临床治疗提供精准用药方案。但细菌培养耗时较长, 难以满足临床快速诊断检出需求。革兰染色法, 为基于不同性质细菌染色反应的诊断方案, 主要优势为诊断检出用时短, 但可能存在一定诊断误差, 影响诊断效能。有学者^[3-6]研究发现, 与革兰染色法相比, 细菌培养法可显著细菌性阴道炎诊断检出率, 并提升对不同细菌类型阳性检出率。但相关研究较少, 两种诊断方案何种更具优势仍需进一步研究证实。为此, 本文研究了革兰染色法、细菌培养法对细菌性阴道炎的诊断价值, 旨在为该病临床诊断提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

86例疑似细菌性阴道炎患者。入组时间: 2023年1月—2024年6月。一般资料: 年龄23~59岁, 平均(41.05±4.12)岁。纳入标准: ①存在阴道分泌物增加、外阴瘙痒、灼热等症状; ②年龄 ≥ 18 岁; ③均接受阴道分泌物检查; ④资料完整。排除标准: ①合并恶性肿瘤; ②心脏、肝脏等器官严重功能障碍; ③精神、认知异常, 无法配合检查。

1.2 方法

采集阴道分泌物: 患者检查床上膀胱截石位, 简单清洁外阴后, 窥阴器扩张阴道口, 以无菌棉签采集患者宫颈口、阴道深处、穹隆处分泌物。采集后的棉签样本放置在生理盐水中保存待检。将样本均分为2等份, 分别用于细菌培养、革兰染色。

细菌培养法: 无菌环境下, 应用接种环在无菌肉汤琼脂培养基中划线接种。接种完成后将培养基置于二氧化碳培养箱(35℃) 48 h后观察培养基菌落生长情况。应用法国梅里埃细菌鉴定分析仪(VITEK2 Compact)及配套试剂进行菌株种类鉴定。

* 通信作者: 孙靖, 中级检验师, 研究方向为医学检验(细菌生化)。E-mail: 40069070@qq.com

革兰染色法: 阴道分泌物样本均匀涂抹于载玻片上, 覆盖盖玻片后加热黏附固定。草酸铵结晶紫染色 1 min、流水冲洗多余染色液。碘-碘化钾溶液染色 1 min、流水冲洗多余染色液。95% 乙醇处理 30 s 脱色处理。1000 倍油镜下观察细菌染色情况、细菌形态。革兰阳性菌紫色, 革兰阴性菌无染色。番红复染 30 s, 革兰阴性菌为红色。镜下观察细菌形态, 进行细菌分类。

1.3 观察指标

(1) 以指南^[4]中标准为金标准: ①线索细胞数量大于 20% 阴道上皮细胞数量(必要条件); ②阴道分泌物 pH > 4.5; ③胺试验阳性; ④阴道分泌物灰白色、稀薄、均质; 统计对比革兰染色法、细菌培养法对细菌性阴道炎诊断效能; (2) 对比两种方法对不同细菌检出率; (3) 对比两种方法检出用时。

1.4 统计学

数据均录入 Excel, 导入 SPSS 27.0 软件处理。 $\bar{x} \pm s$ 表示服从正态分布的计量资料, t 检验; % 表示计数资料, χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 两种方法诊断效能

金标准诊断, 86 例患者中细菌感染 52 例、非细菌感染 34 例; 革兰染色法诊断准确度、灵敏度分别为 67.44%、69.23%, 均较细菌培养法 89.53%、92.31% 低 ($P < 0.05$); 革兰染色法诊断特异度 67.71%, 与细菌培养法 85.29% 相近 ($P > 0.05$), 说明革兰染色法对细菌性阴道炎的诊断准确度、灵敏度低于细菌培养法, 但诊断特异度与细菌培养法相近, 见表 1、表 2。

表 1 两种方法诊断检出结果

细菌培养法		细菌感染 / 例	非细菌感染 / 例	合计 / 例
金标准	细菌感染	48	4	52
	非细菌感染	5	29	34
合计		53	33	86
革兰染色法		细菌感染 / 例	非细菌感染 / 例	合计 / 例
金标准	细菌感染	36	16	52
	非细菌感染	12	22	34
合计		48	38	86

表 2 两种方法诊断效能

方法	准确度($n=86$)/ 例(%)	灵敏度($n=52$)/ 例(%)	特异度($n=34$)/ 例(%)
细菌培养法	77(89.53)	48(92.31)	29(85.29)
革兰染色法	58(67.44)	36(69.23)	22(67.71)
χ^2	12.431	8.914	3.843
P	< 0.001	0.003	0.050

2.2 两种方法对阴道细菌种类阳性检出率

肠球菌阳性检出率比较, 革兰染色法均小于细菌培养法 ($P < 0.05$); 棒状杆菌、加特纳菌阳性检出率比较, 革兰染色法、细菌培养法结果相近 ($P > 0.05$), 说明革兰染色法的肠球菌检出率低于细菌培养法, 但与棒状杆菌、

加特纳菌诊断检出率与细菌培养法相近, 见表 3。

2.3 两种方法诊断检出用时

检出时间对比, 革兰染色法 < 细菌培养法 ($P < 0.05$), 说明革兰染色法诊断检出用时更短, 见表 4。

表 3 两种方法对阴道细菌种类阳性检出率比

方法	n	棒状杆菌 / 例(%)	肠球菌 / 例(%)	加特纳菌 / 例(%)
细菌培养法	52	13(25.00)	19(36.54)	18(34.62)
革兰染色法	52	9(17.31)	10(19.23)	15(28.85)
χ^2		0.922	3.873	0.399
P		0.337	0.049	0.527

表 4 两种方法诊断检出用时 ($\bar{x} \pm s$)

方法	n	诊断检出用时范围 /d	平均诊断检出用时 /d
细菌培养法	86	3.08~5.45	4.21±0.69
革兰染色法	86	0.31~1.20	0.49±0.10
t			49.480
P			< 0.001

3 讨论与结论

本次研究结果显示, 金标准诊断, 86 例患者中细菌感染 52 例、非细菌感染 34 例; 革兰染色法诊断准确度、灵敏度均较细菌培养法低 ($P < 0.05$); 革兰染色法诊断特异度与细菌培养法相近 ($P > 0.05$), 提示在对细菌性阴道炎诊断中, 细菌培养法诊断效能更高, 考虑原因为, 应用革兰染色法诊断中, 其诊断结果依赖于细菌数量, 若细菌数量相对较少, 可能会影响诊断质量, 出现误诊、漏诊情况。且在革兰染色法诊断中, 诊断结果易受操作、细菌污染、染色质量影响诊断质量。操作因素中, 若涂片过厚, 可能会影响细菌与染色液结合充分性, 并影响脱色充分性, 使阴性菌表面出现结晶紫附着、阳性菌表面未形成结晶紫情况, 增加假阳性、假阴性发生率^[7]。在加热固定操作中, 温度会改变染料对细胞壁通透性、维持细胞形态, 但若加热时间过长可能会破坏细胞壁结构, 影响诊断结果准确性。碘液配制后放置时间过长, 或发生氧化反应, 会降低其酶染能力, 影响细菌在染色液下反应性, 增加假阴性检出率^[8]。高浓度结晶紫会增加乙醇脱色难度, 使革兰阴性菌在脱色后仍表现为紫色, 出现假阳性结果。应用细菌培养中, 利用培养基功能使细菌增殖分裂, 形成肉眼可见的菌落, 减少因样本量较少对结果诊断误差, 满足诊断需求。但本次研究中, 细菌培养法准确度、灵敏度等均未达到 100%, 提示该方法同样存在误诊、漏诊情况, 可能与培养基污染、人为操作不当、培养条件不适宜等有关。

本次研究结果显示, 肠球菌阳性检出率比较, 革兰染色法均小于细菌培养法 ($P < 0.05$); 棒状杆菌、加特纳菌阳性检出率比较, 革兰染色法、细菌培养法结果相近 ($P > 0.05$)。在应用革兰染色法诊断中, 肠球菌、棒状杆菌、加特纳菌均属于革兰阳性菌, 正常情况下染色结果为紫色。但若在革兰染色操作中出现人为操作误差, 使细菌染色不完全, 可能会造成假阴性情况, 因此诊断检出率相对较低。且在细菌类型鉴别诊断中, 其诊断结果可能受主观因素影响出现误诊、漏诊情况, 影响细菌诊断检出率。应用细菌培养法诊断中, 可利用细菌鉴定分析仪进行菌种, 减少人为因素引发的主观诊断误差^[9]。同时在细菌培养过程中, 通过细菌不断增殖分裂可增加检测样本量, 提升诊断质量。但在应用细菌培养法鉴定中, 若培养基污染, 在培养基内可能会出现其他菌株, 干扰仪器对菌株种类鉴别诊断效能, 降低对不同菌株的诊断检出率, 可能为本次研究结果中两组棒状杆菌、加特纳菌阳性检出率差异无统计学意义影响因素之一。

本次研究结果显示, 在诊断用时中, 革兰染色法诊断用时显著少于细菌培养法, 提示在临床诊断中, 与细菌培

养法相比, 应用革兰染色法能够满足患者疾病快速诊断需求。应用革兰染色法诊断, 通过样本处理基本可在患者提供样本当天完成诊断, 诊断检出时间较短, 可帮助医生及时掌握患者病情变化, 并尽早指导应用抗生素治疗, 可控制病症进展。因此在对疑似细菌性阴道炎患者临床诊断中, 可首先应用革兰染色法诊断, 对诊断结果为阳性患者积极治疗, 对诊断结果为阴性, 但临床综合评估结果高度疑似细菌感染患者进行细菌培养法检查, 并持续随访, 以便为该病临床治疗提供更精准参考依据。

综上所述, 阴道细菌检验中, 细菌培养法可提升诊断效能及各细菌阳性检出率, 但革兰染色法可缩短结果检出时间。在临床实际诊断中可将革兰染色法作为初步筛查方案, 必要时联合细菌培养法进一步诊断, 以满足临床诊断需求。但本次研究结果显示, 应用细菌培养法同样存在误诊、漏诊情况, 因此建议临床诊断中可联合应用其他方法共同诊断, 提升诊断质量。

参考文献

- [1] 杨彩虹, 孟焕然. 宫颈癌患者阴道微生态变化及其与细胞免疫的相关性探讨[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(2): 210-215.
- [2] 张晓宇, 孙茜, 冯阳子, 等. 阴道内乳杆菌与粪肠球菌共培养生长状态及其上清液对阴道加德纳菌抑制作用的体外研究[J]. 现代妇产科进展, 2023, 32(4): 273-278.
- [3] 黎文应, 曾海深, 孔培超. 比较细菌培养法与革兰染色法在阴道细菌检验中的应用分析[J]. 黑龙江医学, 2024, 48(9): 1073-1076.
- [4] 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(2021修订版)[J]. 中华妇产科杂志, 2021, 56(1): 3-6.
- [5] 张华杰, 丁森, 何宏舸, 等. 细菌性阴道病菌群特点及感染因素分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(8): 968-971, 977.
- [6] 黄玲聪, 孙聪, 武晓敏, 等. 阴道细菌与滴虫阴道炎的相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(5): 861-864.
- [7] 范琳媛, 白会会, 刘朝晖, 等. 基于革兰染色涂片的需氧菌性阴道炎诊断标准在阴道微生态自动化检测中的应用研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2024, 40(5): 556-560.
- [8] 黎志勤, 温庆辉, 张志斌. 涂片检查快速染色在白带常规检验中的应用效果[J]. 临床和实验医学杂志, 2023, 22(8): 895-897.
- [9] 杨华, 孙天舒, 王瑶, 等. 人工智能辅助阅片与单纯人工阅片在女性阴道微生态系统形态学诊断中的比对研究[J]. 现代检验医学杂志, 2023, 38(1): 169-174, 198.