

女性生殖道样本培养

四川大学华西第二医院检验科





目录

生殖道正常菌群

生殖道标本采样

生殖道常见病原菌

常见Q&A





生殖道主要正常定植菌群

健康成年妇女阴道内可培养分离50种以上微生物（约 $10^8/\text{ml}$ ）

- 阳性需氧菌或兼性厌氧菌
 - ✓ 乳酸杆菌、棒状杆菌、链球菌（包括 α 、 β 溶血链球菌）、肠球菌、葡萄球菌（金黄色葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌）
- 阴性需氧菌或兼性厌氧菌
 - ✓ 大肠埃希菌、阴道加德纳菌、变形杆菌
- 专性厌氧菌
 - ✓ 动弯杆菌、普雷沃菌
- 支原体（解脲脲原体或人型支原体）
- 念珠菌



生殖道主要正常定植菌群

- 青春前女性：以类白喉菌+凝固酶阴性葡萄球菌为主
- 成年女性：乳杆菌占优势
- 绝经期后女性：
 - ✓ 阴道乳杆菌减少
 - ✓ 肠杆菌数量较绝经前女性更多
 - ✓ 一般无酵母菌与支原体



目录

生殖道正常菌群

生殖道标本采样

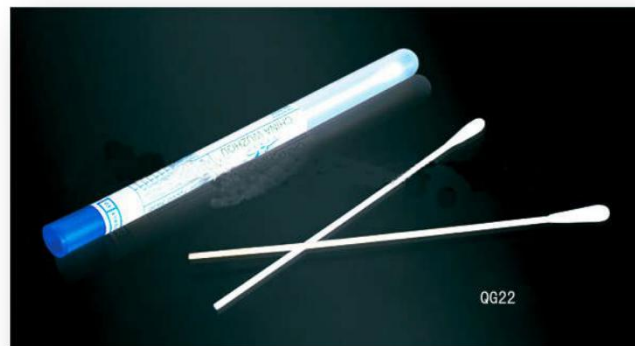
生殖道常见病原菌

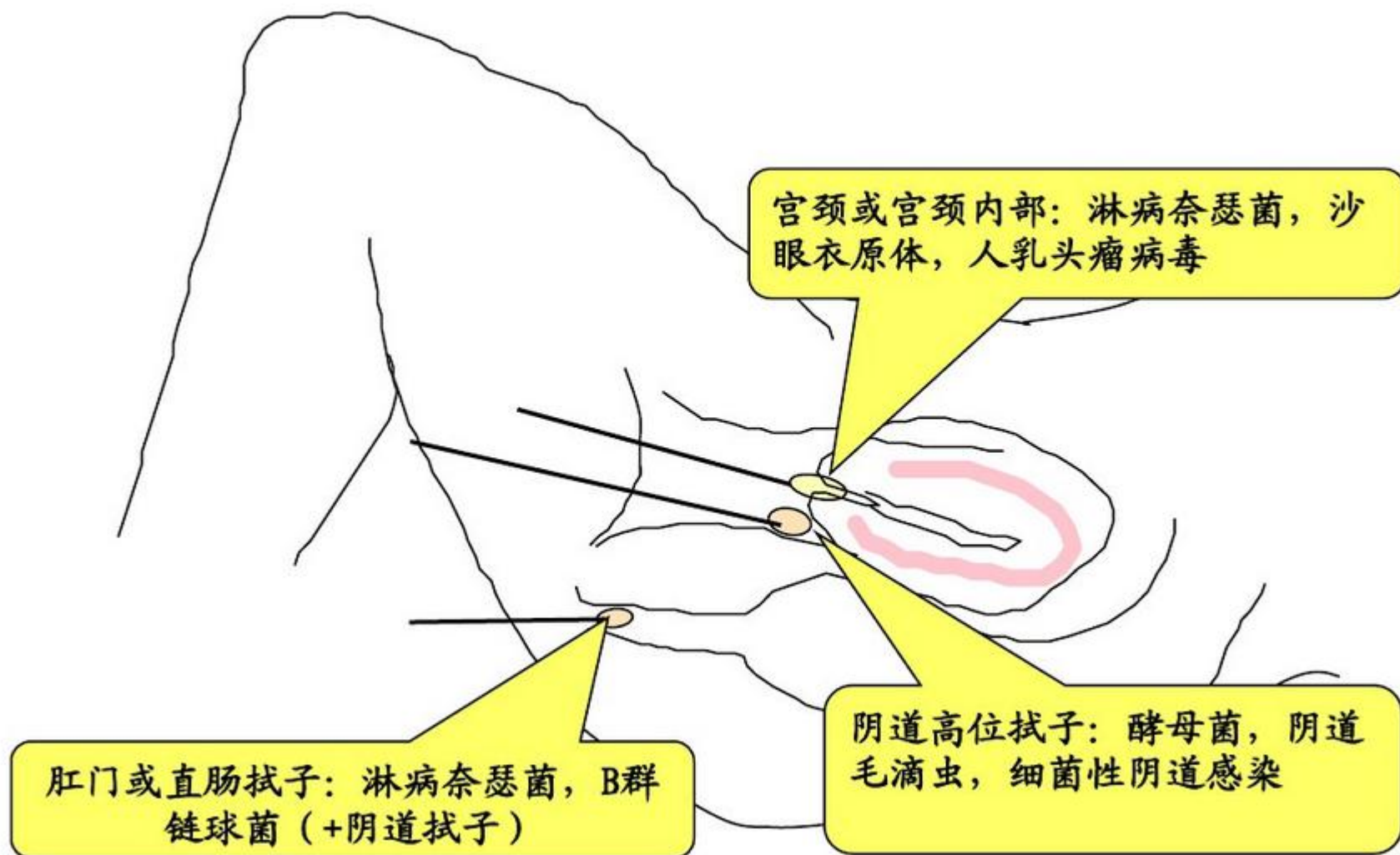
常见Q&A



抑菌区是因为：
植物分泌出的：

- 脂肪酸
- 树脂
- 福尔马林





任何不能及时送检的生殖道标本，都
应采用运送培养基采样保存。

➤ 禁止冷藏





目录

生殖道正常菌群

生殖道标本采样

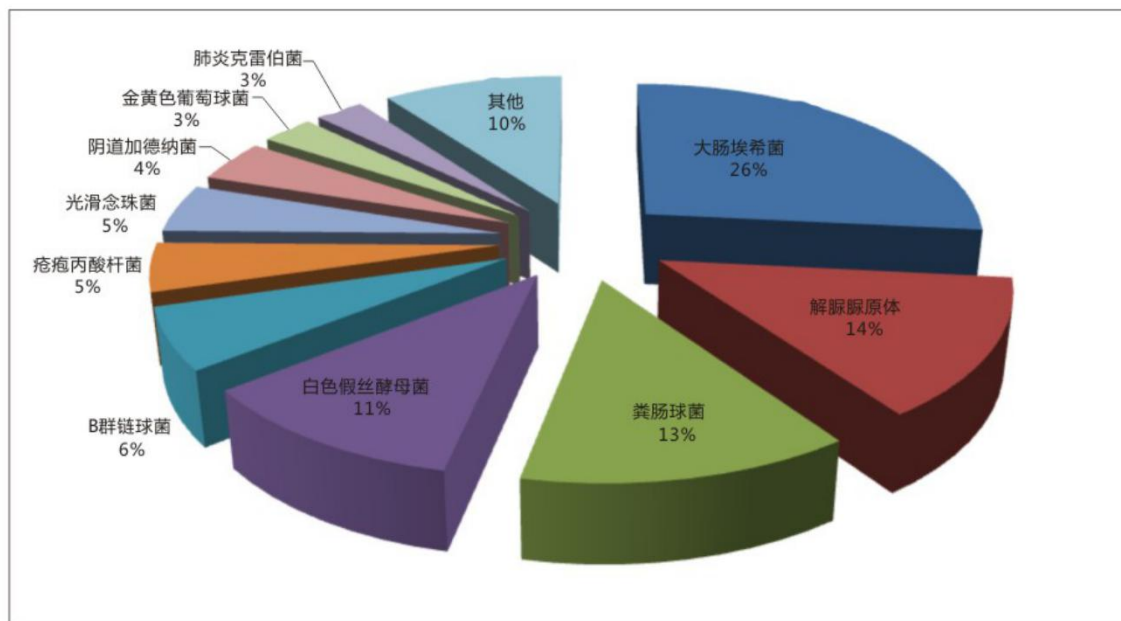
生殖道常见病原菌

常见Q&A



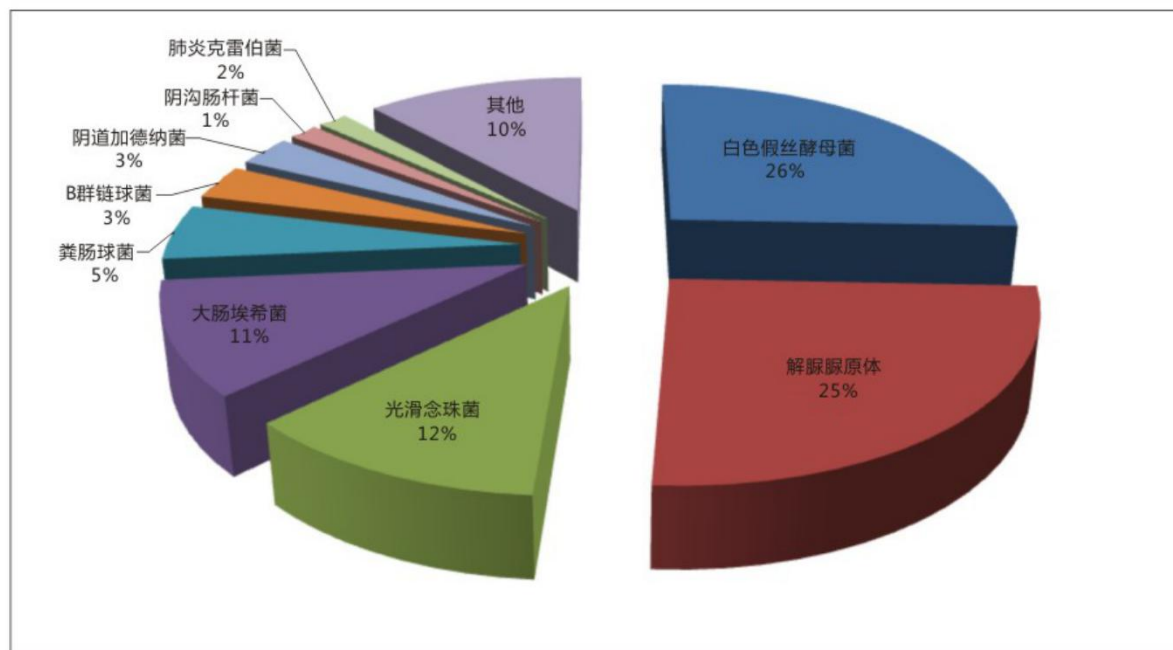
产科病房病原菌构成及药敏分析

产科病房552株病原菌构成比



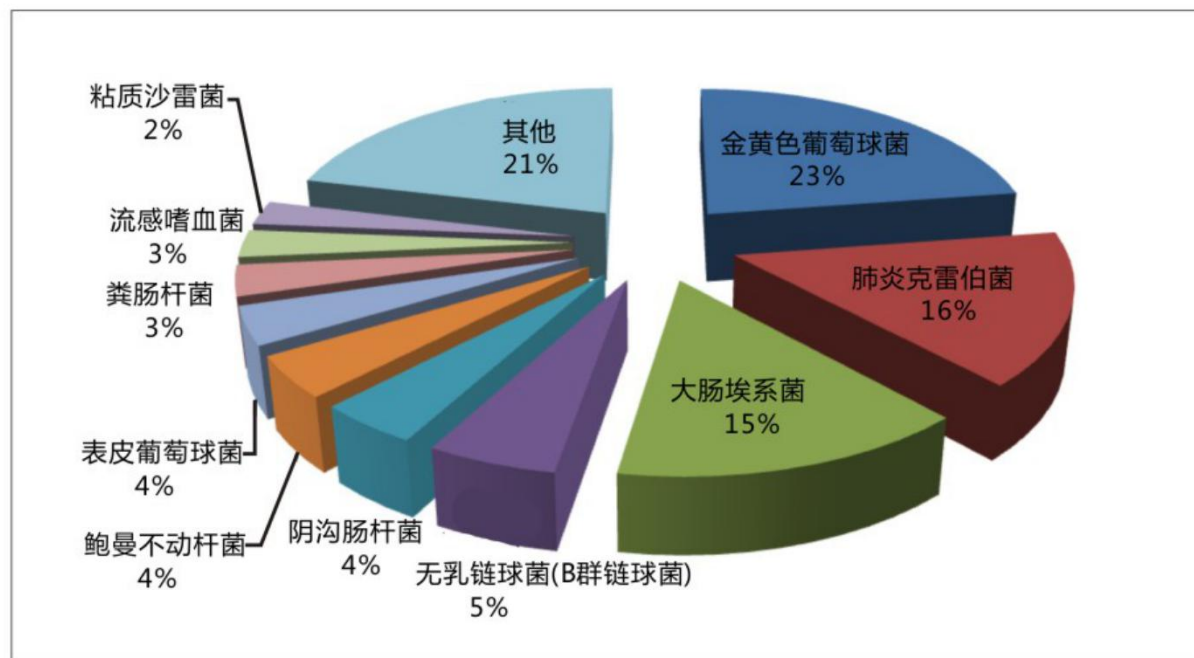
产科病房病原菌构成及药敏分析

产科宫颈/阴道分泌物521株病原菌构成比



新生儿科病房病原菌构成及药敏分析

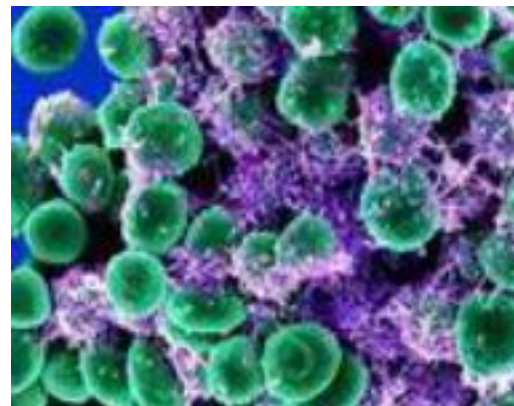
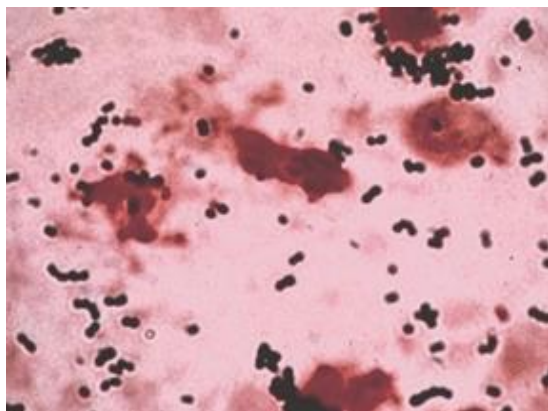
新生儿科病房283株病原菌构成比





B群链球菌 (GBS)

B群链球菌 (*Group B streptococci* , GBS) , 又名无乳链球菌 (*Streptococcus alactiae*) , 具有较强的粘附能力 , 可定植于人体的泌尿、生殖道 , 是人体重要的条件致病菌。



由于分娩时可以发生垂直传播 , 所以GBS也是导致新生儿感染的重要病原菌 , 在产科学领域具有重要地位。

B群链球菌 (GBS)

母体：

产道定植：6-45%

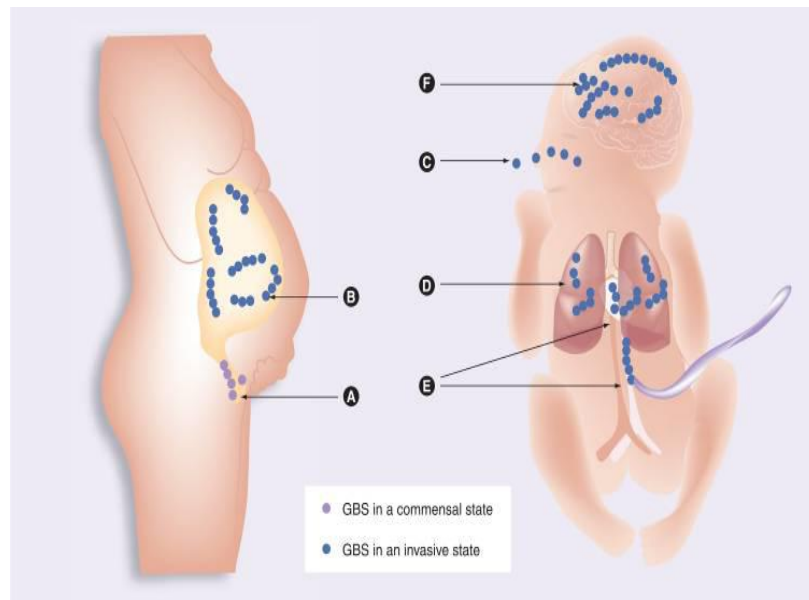
宫内侵入：流产、早产、
宫内发育迟缓

新生儿：

肺炎： }
败血症： } 死亡率5-20%

脑膜炎：20-60%神经系统后遗症

50-65%

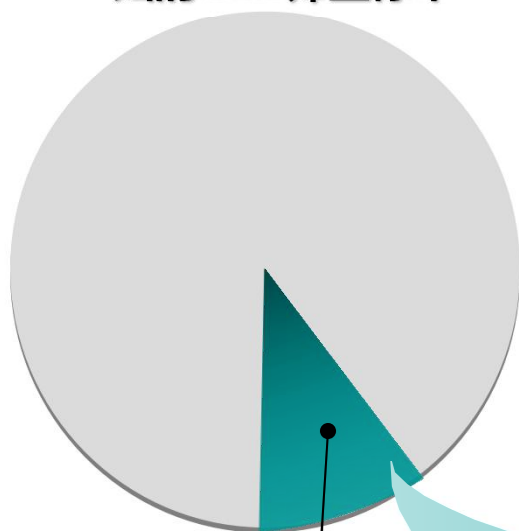




B群链球菌 (GBS)

2013年1月至2014年1月

共计收到来自275例35-37周孕
妇的GBS筛查标本



20例, 7.27%

GBS培养
阳性孕妇

100%

80%

60% **25%**

4例未用抗生素 (15%)

羊水污染2例 (10%)

胎儿宫内窘迫2例 (10%)

羊水过小2例 (10%)

16例使用抗生素
(青霉素或头孢类)

12.5%

11例

3例新生儿正常

1例新生儿因新生儿肺炎
转入新生儿科治疗, 由于
家属放弃治疗, 预后不明

13例新生儿正常

2例新生儿因新生儿肺炎
转入新生儿科治疗
1例新生儿因ABO溶血转
入新生儿科治疗
3例新生儿均治疗后康复
出院



B群链球菌 (GBS)

均未在产前进行
GBS筛查！

2011年至2015年

共计40例婴幼儿送检标本
检出GBS细菌

32例入院治疗

8例新生儿正常

5例 (12.5%) 早产
34例 (85.0%) 足月

胎膜早破13例 (32.5%)
未发生胎膜早破20例 (50%)
7例不详 (17.5%)

26例康复出院
2例有神经系统后遗症
3例放弃治疗
1例患结局不详

标本类型	送检例数	阳性例数	阳性患儿年龄		
			<7d 新生儿	7d-3月婴儿	3月-6月婴儿
血液	27	15	5	10	0
脑脊液	19	7	0	7	0
呼吸道	25	14	14	0	0
耳道分泌物	14	14	14	0	0
其他	3	3	2	0	1



B群链球菌 (GBS)

● 筛查最佳时间

在妊娠35~37周进行GBS筛查，检验结果更具意义。

- ✓ 阴性预测值95%-98%
- ✓ 分娩前≥5周的GBS培养结果参考价值较小

● 因而美国疾病控制中心制定并实施了《围产期GBS疾病预防指南》

I. 指南中建议对所有35-37孕周的孕妇阴道和直肠的GBS检测。

II. 结果阳性者分娩期应进行抗生素预防治疗；

III. 以下情况，应进行GBS检查和抗生素预防性治疗：

- 本次妊娠有GBS菌尿；
- 上次新生儿GBS感染史；
- 早产；
- 胎膜早破；
- 分娩时体温 $\geq 38.0^{\circ}\text{C}$

● 据统计,按这种方案执行，26.7%的分娩者会接受预防性治疗, 86%的新生儿可以预防早发性GBS感染

B群链球菌 (GBS)

- 美国CDC推荐同时采集阴道拭子标本和直肠拭子标本进行检测，可以提高阳性率，减少漏检。
- 无需使用扩阴器，孕妇无任何不适感，对孕妇和胎儿无任何影响。

阴道口 1 / 3



1. Wipe away excessive amount of vaginal secretion/discharge
2. Insert the swab into the vagina and sample secretions from mucosa of the lower one-third of the vagina

肛门括约肌 2~3cm



3. Insert the swab approximately 2.5 cm beyond the anal sphincter and gently rotate



B群链球菌 (GBS)

8

MMWR

November 19, 2010

Specimen Collection

Swabbing both the lower vagina and rectum (through the anal sphincter) increases the culture yield substantially compared with sampling the cervix or the vagina without also swabbing the rectum (40,141–146). Although a small number of studies have examined the ability of perianal or vaginal-perianal cultures to detect GBS colonization (147,148), the available data on their performance compared with vaginal-rectal cultures are limited. Studies have indicated that when women in the outpatient clinic setting collect their own vaginal-rectal screening specimens, with appropriate instruction, GBS yield is similar to when specimens are collected by a health-care provider (149–152).

The use of appropriate transport media can help sustain the viability of GBS in settings where immediate laboratory processing is not possible (153,154). GBS isolates can remain viable in transport media for several days at room temperature; however, the recovery of isolates declines during 1–4 days, particularly at high temperatures. Even when appropriate transport media are used, the sensitivity of culture is greatest when the specimen is stored at 4°C before culture and processed within 24 hours of collection (139,155–157).

Specimen Processing

Regardless of the test selected to identify GBS, use of an enrichment broth improves detection substantially. When direct agar plating is used instead of selective enrichment broth, as many as 50% of women who are GBS carriers have false-negative culture results (143,144,158,159). Examples of selective enrichment broths include Todd-Hewitt broth supplemented either with gentamicin (8 µg/ml) and nalidixic acid (15 µg/ml) [TransVag broth] or with colistin (10 µg/ml) and nalidixic acid (15 µg/ml) [Lim broth] (160). Although TransVag and Lim broth media are often available without blood, the addition of 5% sheep blood can increase the recovery of GBS (161). Selective enrichment broth also can contain chromogenic substrates that provide for a change in color in the setting of beta-hemolytic GBS. Such broths can facilitate the identification of beta-hemolytic GBS; however, nonhemolytic isolates will not be detected by these broths alone (162–168). Among 265 GBS isolates from invasive early-onset cases that occurred in the 10 ABCs system areas during 2006–2008, a total of 4% were nonhemolytic (CDC, unpublished data, 2006–2008).

Following enrichment, the conventional means for identifying GBS is through isolation on subculture to blood agar plates and presumptive identification by the CAMP test (169) or serologic identification using latex agglutination with group B streptococcal antisera (170). More recently, chromogenic agars

that undergo color change in the presence of beta-hemolytic colonies of GBS have become available (171,172). As with pigmented enrichment broths, these chromogenic agars can facilitate detection of beta-hemolytic GBS, but the majority will not detect nonhemolytic strains. In addition more rapid techniques for identifying GBS directly from enrichment broth, or after subculture have been developed, including DNA probes (173–176) and nucleic acid amplification tests (NAAT) such as polymerase chain reaction (177,178).

Published studies on the performance of commercially available NAAT on nonenriched samples have demonstrated varying sensitivities (range: 62.5%–98.5%) and specificities (range: 64.5%–99.6%) compared with the gold standard of enrichment followed by subculture (179–188) (Table 2). Three studies have compared both intrapartum NAAT on nonenriched samples and late antepartum enriched culture results to intrapartum enriched culture (179,182,185). When comparing swabs collected at the two different time points, two of the studies found intrapartum NAAT to be slightly more sensitive (95.8% and 90.7%, respectively) than antepartum culture (83.3% and 84.3%, respectively) (182,185), although with widely overlapping confidence intervals. One study reported a statistically significant difference between the sensitivity of swabs collected intrapartum and tested with NAAT (94.0%) compared with enriched culture performed on swabs collected prenatally (54.3%) (179). The sensitivity of NAAT for GBS increases to 92.5%–100.0% with use of an enrichment step before testing the sample (177,178,188). Use of an enrichment step lengthens the time to obtain a final result; however, for antenatal testing, the accuracy of results is much more important than timeliness.

Despite the availability of NAAT for GBS, utility of such assays in the intrapartum setting remains limited. Although a highly sensitive and specific test with rapid turnaround time could be used to assess intrapartum GBS colonization and therefore obviate the need for antenatal screening, data on currently available assays do not support their use in replacement of antenatal culture or risk-based assessment of women with unknown GBS status on admission for labor. The additional time required for enrichment of samples makes it not feasible for intrapartum testing, and the sensitivity of assays in the absence of enrichment is not adequate in comparison to culture. In addition, concerns remain regarding real-world turnaround time, test complexity, availability of testing at all times, staffing requirements, and costs. In settings that can perform NAAT, such tests might prove useful for the limited circumstance of a woman at term with unknown colonization status and no other risk factors. Even optimal NAAT would have drawbacks in the intrapartum setting, including a delay in administration of antibiotics while waiting for the result,

◆ 液体培养法为美国CDC2010版《围产期GBS疾病预防指南》中明确推荐。

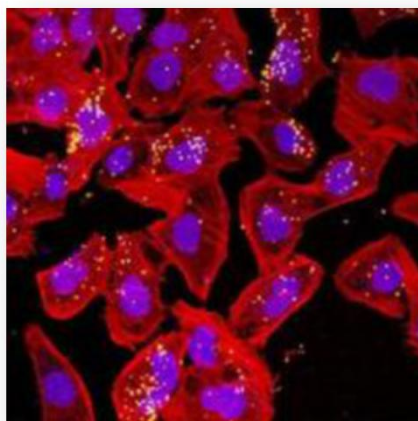
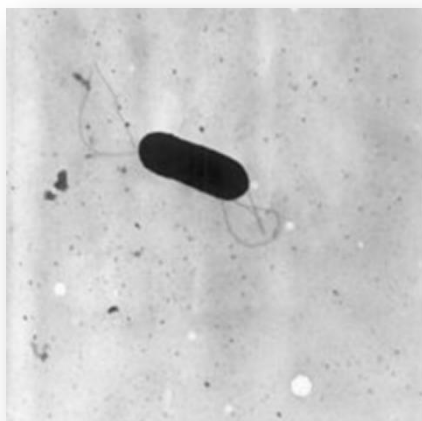
“使用液体培养可以提高检测率，如果使用平板直接接种的方式而不是增菌肉汤，那将有50%的GBS携带者被检测为假阴性”

GBS对营养条件要求高，固体平板很难培养，需要培养时间更长，经常发生平板已经干掉，还没有明显GBS菌落。根据文献记载，即使进行CO₂固体平板培养，也没有液体培养的效果好。



李斯特菌

李斯特菌是1926年英国南非裔科学家穆里在病死的兔子体内首次发现的，是一种革兰氏阳性菌，形状为圆尾带柱，是一种非芽孢兼性厌氧菌。国际上公认的李斯特菌共有七个菌株。



由于分娩时可以发生垂直传播，所以也是导致新生儿感染的重要病原菌，在产科学领域具有重要地位。



李斯特菌

● 特点

- ✓ **分布广**：存在于土壤、水域(地表水、污水、废水)、昆虫、植物、蔬菜、鱼、鸟、野生动物、家禽。
- ✓ **生存环境可塑性大**：能在2-42℃下生存(也有报道0℃能缓慢生长)能在冰箱冷藏室内较长时间生长繁殖。
- ✓ **适应范围大**：酸性、碱性条件下都适应。
- ✓ **带菌较高的食品有**：牛奶和乳制品；肉类(特别是牛肉)；蔬菜；沙拉；海产品；冰淇淋等。
- **易感人群**：包括新生儿、孕妇、老年人及免疫功能低下者，致病途径通常为粪-口途径。新生儿发病率约52.8/10 万人。感染者总病死率20%~30%。

李斯特菌

母体：

产道感染：12/10万

宫内侵入：孕中期流产、胎死宫内、
孕晚期新生儿感染

新生儿：

败血症：}
脑膜炎：} 死亡率20-30%





李斯特菌

- 2011年8月至2017年4月我院收治的由实验室病原学检查证实的的新生儿李斯特菌病患者18例
- 其中男性9例，女性9例



李斯特菌

- 患儿结局：

- ✓ 11例好转出院 ← 61.11%

- ✓ 2例死亡

- ✓ 5例放弃治疗

- ✓ 最终治疗后存活患儿的住院时间10 ~ 49天，中位数25天



李斯特菌

●19例妊娠期李斯特菌病患者

- ✓发病孕周(27.5 ± 5.7)周
- ✓最早孕周13+1W，最晚孕周38+4W
- ✓妊娠中期 (13 ~ 28周) 发病7例、妊娠晚期 (>28周) 发病12例

●19例妊娠期李斯特菌病患者共分娩21例胎儿

- ✓其中有8例(38.1%)胎死宫内
- ✓3例(14.3%)发生孕中期流产
- ✓4例(19.0%)胎儿娩出后未送新生儿科即死亡
- ✓2例(9.5%)新生儿住院治疗后家属放弃治疗
- ✓4例(19.0%)新生儿住院治疗后康复出院

最终胎儿存活率仅19.0% !



李斯特菌

病死率高：

- **该菌为胞内寄生菌，体液免疫对其无效**
- **单核细胞增多性李斯特菌虽然通常对青霉素十分敏感，但是却对**

头孢类抗生素天然耐药



沙眼衣原体（CT）

- CT仅在宿主细胞内复制
- 人类是CT的自然宿主，主要寄生于机体粘膜上皮细胞
- CT除引起沙眼外，还可引起泌尿生殖道系统感染、性病淋巴肉芽肿及其他器官疾病
- CT引起的生殖道感染已成为最常见的性传播疾病之一
 - ✓ 男性：非淋球菌性尿道炎、附睾炎
 - ✓ 女性：宫颈炎、尿道炎、子宫内膜炎、输卵管炎
 - ✓ 男性和女性均可发生直肠炎
 - ✓ 新生儿阴道和肠道感染也有发现



沙眼衣原体

- 孕妇初次产前检查，筛查CT
- 孕早期如果CT阳性，应在晚期（首次检查3-6月后）复查
- 孕晚期应筛查CT
- 有症状的人群
- 常规的筛查（ ≤ 25 岁）
- 孕妇外，女性 ≤ 25 岁，性活跃，或新增性伴/性关系紊乱，建议筛查
- 男性不建议筛查



沙眼衣原体

■ 筛查方法

- ✓ 培养方法：衣原体鸡胚培养、细胞培养、动物接种等方法
- ✓ 非培养方法：衣原体细胞Giemsa染色、**直接沙眼衣原体**

抗原检测、血清学检测



支原体

- 目前临床主要检测包括肺炎支原体、解脲脲原体、人型支原体
- 青春期、许多性活跃健康成人下生殖道能分离到脲原体和人型支原体
- 脲原体包括生物变种1型和2型，2型与非淋球菌性尿道炎密切相关，而1型则否
- 支原体不引起阴道炎，但在BV患者中与其他病原体一起增殖，人型支原体促进BV的发生，无证据表明脲原体与BV有关



支原体

- 检测方法：显色培养法



目录

生殖道正常菌群

生殖道标本采样

生殖道常见病原菌

常见Q&A





成人女性阴道分泌物是否需要培养？

- 阴道分泌物，所含微生物种类繁多，培养条件各不相同，有些需要特殊培养基，因此不建议行“常规培养”
- 应进行有目的的培养，如
 - ✓ 淋病奈瑟菌
 - ✓ 孕晚期妇女筛查GBS



生殖道样本培养或鉴定出来的微生物，哪些必须报告与治疗，哪些依据情况报告？

- 生殖道样本，无论用何种方法检出下列病原体，均有临床意义，需报告临床：
 - ✓ 杜克雷嗜血杆菌
 - ✓ 阴道毛滴虫
 - ✓ 梅毒螺旋体
 - ✓ 沙眼衣原体与淋病奈瑟菌
- 其他微生物，如：金黄色葡萄球菌， β -溶血性链球菌、肠杆菌科菌、厌氧菌仅在某些情况下（如相对数量，患者症状，是否怀孕等）成为致病菌



生殖道样本培养阴性报告方法

- 无菌部位样本培养阴性报道 “未生长”
- 有菌部位的样本：
 - ✓ 女性阴道分泌物，培养无目的病原菌，仅见正常菌群，可报告 “分离出正常生殖道菌群”
 - ✓ 报告无需注意列出正常菌群种类
 - ✓ 如果临床要求鉴定某一病原菌，如阴性，可报告 “未检出XXX”



生殖道样本如何进行厌氧培养与报告？

- 厌氧培养应放置 ≥ 5 d,方可报告无生长
- 多数情况下，厌氧菌混合感染无需逐一鉴定厌氧菌种类



生殖道感染，术中采集样本，如何处理？

- 术中采集样本，或通常无菌部位的样本
- 按照伤口或深部脓肿的样本进行培养
- 增加淋病奈瑟菌的选择培养基与厌氧菌的培养
- 如有临床需求，可依情况进行支原体培养



阴道分泌物中培养出阴道加德纳有何意义？

- 阴道分泌物分离该菌，无需使用选择性培养基。该菌株的分离是否有意义和其与乳杆菌的比例密切相关
- 如分离率小于其他阴道正常菌群，该菌应视为正常菌群
- 对于儿童患者，无论该菌多少，检出该菌均应报告
- 如果为阴道菌群优势菌，3~4+（平板第3或第4区可见），应报告



患者有宫腔内感染，病原体可能包括哪些？

- 首先明确采样方法
- 宫腔并不是绝对无菌的
- 非孕妇：淋病奈瑟菌、金黄色葡萄球菌、链球菌属（主要为A、B群链球菌）、肠杆菌科（如大肠埃希菌、奇异变形杆菌等）、阴道加德纳菌、肠球菌、厌氧菌
 - ✓ 使用宫内节育器患者，注意放线菌感染
- 产后：肠杆菌科及其他肠道革兰阴性菌、厌氧菌、阴道加德纳菌、链球菌属（主要为A、B群链球菌）
- CT、人型支原体、解脲脲原体、阴道毛滴虫等可为子宫内膜炎的重要病原微生物



Thank you!